

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université du 8 Mai 1945 Guelma

Faculté SNV-STU
Département : Ecologie et Génie de l'Environnement
Option: Santé, Eau et Environnement
(Microbiologie de l'environnement

570.230

11/427



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : eau, santé, environnement

Thème

**Etude de la qualité bactériologique et physicochimique du
Lac Tonga**

Présenté par :

- Bouzaaroura Asma.
- Hadri Meriem.
- Obeidi Asma

Devant le jury composé de :

Président : *Mr. Houhamdi Moussa*
Examineur : *Mr. Atoussi Sadek*
Encadreur : *Mr. Rewibi Abdelhakim*

Prof. Université de Guelma.
M.A.A. Université de Guelma.
M.A.A. Université de Guelma.

Juin 2011

Remerciement

Au terme de ce travail, nous adressons mes sincère remerciements au dieu tout puissant pour son aide durant ces longues années d'études et qu'a nous permis de réaliser ce travail en nous donnant la force la puissance et la volonté.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciement au professeur Mr Houhamdi Moussa Pour nous avoir proposé le thème de notre mémoire et qui à été toujours présent pour nous aider.

Nos remerciements s'achement également à notre encadreur Rouibi Abdelhakim pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils et ses orientation et l'aide précieuse qu'elle nous à fournie

Nous remercions tout particulièrement M Houhamdi Moussa d'avoir accepté de présider notre travail.

Nous remercions aussi M. Attoussi Sadek pour avoir fait l'insigne honneur de juger ce modeste travail.

Nous remercions toutes particulièrement Lamine, Soumia, Mehdi et Houssam pour votre conseils et votre aide.

Nous rendons hommage à tous les enseignants qui se sont tout dépensés pour nous assurer une formation de qualité durant les cinq ans.

Asma, Meryem, Asma

Dédicaces

Je décide ce modeste travail de tout mon cœur à ceux qui m'ont et encourage de loin et de près à l'intérieur de l'établissement et à l'extérieur

Je l'offre avec tendresse et amour par ordre sentimental :

A ma raison de vivre ma bien aimée chère maman « Zoubaida » que je lui souhaite une longue vie pleine de bonheur et de prospérité :

A cher papa « Abdallah » pour sa contribution de puis ma naissance jusqu'à mon objectif souhaité

A mon frère Khaled que je lui souhaite un prospère avenir

A mes sœurs qui m'ont éclairée les moments le plus dure de ma vie

Celle qui m'ont redonnés l'espoir et m'ont encouragé.

A tous mes amis : asma obeidi, sara, hadjer, bohra, Meryem, Amina

A mes chiers :

Mehdi, houssam, lamine, seyf'Edie ,mouslim,

Un mot de remerciement a tout mes collègues qui a un moment ou un autre ont su etre la par leur présence amicale ou par leur aide.

Dédicaces

Je décide ce modeste travail de tout mon cœur à ceux qui m'ont et encouragé de loin et de près à l'intérieur de l'établissement et à l'extérieur

Je l'offre avec tendresse et amour par ordre sentimental :

A ma raison de vivre ma bien aimée chère maman « Nora » que je lui souhaite une longue et paisible plaine de bonheur et de prospérité :

A cher papa « Bachir » pour sa contribution de puis ma naissance jusqu'à mon objectif souhaité

A mes freres et mes sœurs qui m'ont éclairée les moments le plus dure de ma vie

Celle qui m'ont redonnés l'espoir et m'ont encouragé.

A tous mes amies : meryem hadri , khadija , nessrine , faiza aisaoui , faiza kybab , nadjiba , asma bou

A mes chers amis :

Houssam, Mehdi, lamine, seyf eddine , mouslim.

Un mot de remerciement a tout mes collègues qui a un moment ou un autre ont su être la par leur présence amicale ou par leur aide

Asma. Obeidi

DEDICACE

Je dédie cette mémoire à ...

À mon Père ;

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À ma très chère Mère :

Honorable, Aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours.

À Ma petite sœur Bouthaina et À Mes deux frères Rahim et Salah ;

Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce soit mon témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

À tous ceux qui m'ont aidé.

Sur tout les étudiante de Doctorat ; Somia Hadad, Rouaiguia Meriem et Guergueb El-Yamine (magistrant en écologie, département de biologie à l'université de Guelma).

Enfin, Nous exprimons également tous le bonheur du monde à nos collègues de la première promotion sortante 2011 du Master Eau, Santé et Environnement.

ASMA

Sommaire

CHAPITRE I : DESCRIPTION DU SITE :

INTRODUCTION GENERALE

| | |
|---|-----------|
| 1. Parc national d'El-Kala (PNEK)..... | 01 |
| 1.1. Objectif du P.N.E.K..... | 01 |
| 2. La Numidie Algérienne | 02 |
| A. La Numidie occidentale..... | 02 |
| B. La Numidie orientale..... | 03 |
| 3. Présentation du site d'étude (Lac Tonga)..... | 04 |
| 3.1. Caractéristique du Lac Tonga | 04 |
| 3.2. Historique sur Lac Tonga..... | 05 |
| 3.3. Coordonnées géographiques..... | 06 |
| 3.4. Situation administrative..... | 06 |
| 3.5. Les conditions physiques | 07 |
| • Géologie | 07 |
| • Pédologie..... | 08 |
| • Hydrologie | 09 |
| 3.6. Etude climatique..... | 10 |
| 3.6.1 La Température..... | 10 |
| 3.6.2 Données pluviométriques | 11 |
| • Précipitations littorales | 12 |
| • Pluies orographiques..... | 12 |
| 3.6.3 L'hygrométrie..... | 12 |

| | |
|--|-----------|
| 3.6.4 Les vents..... | 12 |
| 3.6.5 Expression synthétique du climat..... | 13 |
| A. Climagramme d'Emberger..... | 13 |
| B. Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen..... | 14 |
| 3.7. Cadre biotique..... | 15 |
| 3.7.1 Caractéristiques écologiques..... | 15 |
| a. Flore remarquable..... | 15 |
| b. Faune remarquable..... | 16 |
| ➤ Les mammifères..... | 16 |
| ➤ Les oiseaux d'eau..... | 16 |
| 4. Exploitation de site..... | 16 |
| • L'agriculture..... | 16 |
| • Elevage et pastoralisme..... | 17 |
| • Chasse et braconnage..... | 18 |
| • Pêche..... | 19 |
| • Tourisme..... | 19 |

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

| | |
|--|-----------|
| 1. Echantillonnage..... | 20 |
| 1.1 Technique de prélèvement..... | 20 |
| 1.2 Présentation des points de prélèvement..... | 22 |
| 2. L'analyse bactériologique..... | 22 |
| 2.1. Evaluation des germes totaux..... | 22 |
| 2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totales et fécales identifications d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide..... | 26 |
| 2.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques: méthode générale par ensemencement en milieu liquide..... | 30 |

| | |
|--|----|
| 4.5.4 Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs: Méthode par incorporation en gélose en tubes profonds... | 33 |
| 4.5.5 Recherche des germes pathogènes..... | 36 |
| ◆ Recherche de Staphylocoques à coagulase positive dans les eaux..... | 36 |
| ○ -Test à la catalase | 37 |
| ○ -Test à la coagulase libre | 37 |
| ◆ Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 39 |
| ◆ Recherche et <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i> | 40 |
| ○ - <i>Salmonella</i> | 40 |
| ○ - <i>Shigella</i> | 42 |
| ◆ Recherche des levures et de moisissure..... | 44 |
| 5. L'identification :..... | 45 |
| 5.1. Examen macroscopique des caractères cultureux..... | 45 |
| 5.2. Examen microscopique après coloration de Gram..... | 45 |
| 5.3 Examen liés aux caractères biochimiques..... | 46 |
| ◆ 1. La Galerie API 20E | 46 |
| 1. La Galerie classique : | 48 |
| ◆ L'utilisation de citrate de Simmons : | 48 |
| ◆ Utilisation des hydrates de carbone..... | 49 |
| ◆ Test de l'indole :..... | 49 |
| ◆ Teste de réduction du nitrate :..... | 50 |
| ◆ Recherche de l'acétone : | 50 |
| ◆ Test VP (Voges-Proskauer) | 50 |
| ◆ Test RM (Rouge de Méthyle) :..... | 50 |
| ◆ Recherche de l'oxydase :..... | 51 |

| | |
|--|----|
| 1. Paramètres bactériologiques..... | 60 |
| 1.1 Les germes totaux..... | 60 |
| 1.2. Les coliformes totaux et fécaux | 67 |
| 1.3. Les streptococques fécaux..... | 63 |
| 4. Les ASR..... | 64 |

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION :

| | |
|---|----|
| 6. Détermination de la qualité physico-chimique de l'eau..... | 51 |
| 6.1. La couleur apparente:..... | 51 |
| 6.2. La température:..... | 52 |
| 6.3. Le pH:..... | 52 |
| 6.4. L'oxygène dissous..... | 52 |
| 6.5. La turbidité :..... | 52 |
| 6.6. La salinité..... | 53 |
| 6.7. Les chlorure:..... | 53 |
| 6.8. Le taux des sels dissous (TDS)..... | 54 |
| 6.9. La matière organique | 54 |
| 6.10. Dosage de calcium (Ca^{+2}) : Méthode par complexométrie..... | 55 |
| 6.11. Dosage de Mg^{+2} :..... | 56 |
| 5.9 Résidus secs | 56 |
| 6.12. Matières en suspension (MES)..... | 57 |
| 6.13. Détermination de l'alcalinité (HCO_3^-):..... | 57 |
| 4.15. l'azote de nitrate..... | 58 |
| 4.16.l'azote de nitrite..... | 59 |

| | |
|--|-----------|
| 1.5. Recherches de germes pathogènes..... | 65 |
| 2. Paramètres physico-chimiques | 68 |
| 3.1. La couleur apparente..... | 68 |
| 3.2. La température | 69 |
| 3.3. Le pH..... | 69 |
| 3.4. La conductivité électrique..... | 70 |
| 4.5. La matière en suspension..... | 71 |

Conclusion

Produced with ScanTopDF

Liste de figure

| | | |
|---------|--|----|
| Fig. 1 | Carte représentative du parc national d'EL Kala. | 2 |
| Fig. 2 | Localisation de la Numidie occidentale. | 3 |
| Fig. 3 | Le complexe de zones humides de la Numidie orientale | 4 |
| Fig. 4 | Image satellite du Lac Tonga | 5 |
| Fig. 5 | Dessin à main levée de Lac Tong | 6 |
| Fig. 6 | Carte géologique du bassin versant du lac Tonga | 7 |
| Fig. 7 | Carte des sols du bassin versant du Lac Tonga | 8 |
| Fig. 8 | Carte du réseau hydrographique de la région d'étude | 9 |
| Fig. 9 | Graphé d'Emberger pour la région d'El Kala | 14 |
| Fig. 10 | Diagramme Ombro-thermique de la région d'El Kala | 15 |
| Fig. 11 | Localisation du point de prélèvement | 21 |
| Fig. 12 | Présentation du point de prélèvement | 21 |
| Fig. 13 | Recherche et dénombrement des germes revivifiable | 25 |
| Fig. 14 | Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants | 29 |
| Fig. 15 | Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux | 32 |
| Fig. 16 | Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréducteurs (ASR). | 35 |
| Fig. 17 | Lecture de la catalase | 38 |
| Fig. 18 | Lecture de la staphylocoagulase | 38 |
| Fig. 19 | Lecture de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 40 |
| Fig. 20 | Recherche des <i>Salmonella</i> | 43 |
| Fig. 21 | Image de la galerie Api 20 E | 46 |
| Fig. 22 | Test de citrate | 48 |

| | | |
|----------------|---|-----------|
| Fig. 23 | Réaction d'indole négative. | 49 |
| Fig. 24 | Réaction d'indole positive. | 49 |
| Fig. 25 | Test d'oxydase | 51 |
| Fig. 26 | Dosage des chlorures. | 54 |
| Fig. 27 | Dosage de calcium | 56 |
| Fig. 28 | Évaluation de la flore mésophile totale à 37°C de l'eau du Lac Tonga | 61 |
| Fig. 29 | Évaluation de la flore mésophile totale à 22°C de l'eau du Lac Tonga | 61 |
| Fig. 30 | Estimation des coliformes totaux /ml dans l'eau de Lac Tonga | 62 |
| Fig. 31 | Estimation des coliformes fécaux /ml dans l'eau de Lac Tonga | 63 |
| Fig. 32 | Estimations des streptocoques fécaux / ml dans l'eau du Lac Tonga. | 63 |
| Fig. 33 | Aspect des colonies sur gélose Chapman | 66 |
| Fig. 34 | Aspect des colonies sur gélose Mac- Conkey. | 66 |
| Fig. 35 | Aspect des colonies jaunes sur gélose Héктоène | 67 |
| Fig. 36 | Résulta de l'identification biochimique par API 20 | 67 |
| Fig. 37 | Résulta de l'identification biochimique par galerie classique | 68 |
| Fig. 38 | Variations spatio-temporelles de la Température de l'eau du Lac Tonga | 69 |
| Fig. 39 | Variations spatio-temporelles du pH de l'eau du Lac Tonga | 70 |
| Fig. 40 | Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Lac Tonga | 71 |
| Fig. 41 | Variations des MES en mg/l de l'eau du Lac Tonga. | 72 |

Liste d'abréviations

An : année.

ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs.

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

°C : Degré Celsius.

CF : Coliformes fécaux.

CFWS : Conservation des forêts du la wilaya de Skikda.

CT : Coliformes totaux.

DSA : direction des services agricoles.

D/C : Double concentration.

E : Est.

E. coli : Escherichia coli.

E.D.T.A : Acide éthylène diamine tétraacétique.

Fig : Figure.

h : Heure.

ha : hectar.

Km : kilomètre.

m : mètre.

Mm : millimètre.

Mg : milligramme.

N : Nord.

NPP : Nombre le plus probable.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

pH : Potentielle Hydrogène.

PNEK : Parc National d'El-Kala

RM : Rouge de méthyle.

S.A.U ; surface agricole utilisée.

S/C : Simple concentration.

D/C : Double concentration.

T : Température.

T.A : Taux d'alcalinité.

T.A.C : Taux d'alcalinité complet.

Tab : tableau.

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

TSI : Triple Sagar Iron.

UNESCO : Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture.

VF : Viande Foie.

VP : Voges Proskawer.

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|----------------|--|----|
| Tab. 1 | Données climatiques de la région d'El-Kala | 11 |
| Tab. 2 | Température de l'air (station météorologique d'El-Kala) | 11 |
| Tab. 3 | Valeurs météorologique de la région d'El-Kala | 13 |
| Tab. 4 | Pourcentages des terres cultivées par commune | 17 |
| Tab. 5 | Effectifs de bovins, ovins et caprins dans bassin versant du Lac Tonga | 18 |
| Tab. 6 | Présentation des points de prélèvement | 22 |
| Tab. 7 | Les principaux staphylocoques isolés en microbiologie | 39 |
| Tab. 11 | Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR). | 64 |
| Tab.12 | Aspect macroscopique et microscopique des colonies | 65 |
| Tab. 13 | Résultat des paramètres physico-chimiques | 72 |
| Tab. 14 | Résultat des paramètres physico-chimiques | 72 |

L'eau joue un rôle primordial dans l'environnement. Indispensable à toutes les formes de vie, elle façonne et embellit le paysage, agit sur le climat, influe sur le milieu ambiant et représente une ressource vitale pour l'agriculture, l'industrie, la production d'hydro-électricité, les loisirs et le tourisme.

L'Algérie est riche en zones humides qui jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant poissons et oiseaux migrateurs. Pourtant, de nombreuses menaces pèsent sur elles. Tout comme les forêts tropicales, les zones humides sont détruites à un rythme sans précédent. Privées parfois de leur eau par des pompages excessifs ou par la construction irréfléchie de barrages, elles sont même complètement drainées au profit de l'agriculture.

La conservation de ces zones humides apparaît comme l'une des priorités. Cela tient à l'importance du patrimoine qu'elles constituent et les fonctions qu'elles assurent. Les dernières décennies ont été marquées par la régression des zones humides dans le monde entier pourtant leur préservation est une absolue nécessité car l'utilité de ces territoires est aujourd'hui clairement démontrée : bassins naturels d'expansion des crues, lieux d'autoépuration performants capables d'absorber une grande quantité d'azote et participent à la régulation des microclimats. Les zones humides assument dans leur globalité les différentes fonctions essentielles à la vie des organismes qui y résident, et se caractérisent ainsi par une productivité biologique nettement plus élevée que les autres milieux.

La production du milieu naturel conserve la bonne qualité des eaux contre toute pollution urbaine ou industrielle. Le besoin est urgent d'une approche intégrée et plus appropriée de la gestion des bassins versants et des eaux à des fins de conservation des zones humides. Il faut prendre dès maintenant les mesures qui s'imposent pour freiner le déclin de ces écosystèmes actuellement exploités à des niveaux insoutenables.

Les zones humides, espaces de transition entre la terre et l'eau, constituent un patrimoine naturel exceptionnel. Cette exception ne tient pas à leur superficie globale qui représente 6% des terres émergées soit environ 1,5% de la planète (Mitsch, Gosselink, 1993), mais à leur richesse et diversité biologique. Elles fournissent l'eau et les aliments à d'innombrables espèces de plantes

et d'animaux ainsi qu'à des fonctions naturelles qu'elles remplissent autant qu'infrastructures naturelles irremplaçables. Ces écosystèmes caractérisés par une dynamique et en fonctionnement singuliers, rencontre de très graves menaces qui se généralisent :

- Détérioration et méfaits sur milieu environnementale.
- Épuisement des ressources naturelles.
- Pollution des eaux qu'est une préoccupation majeure.

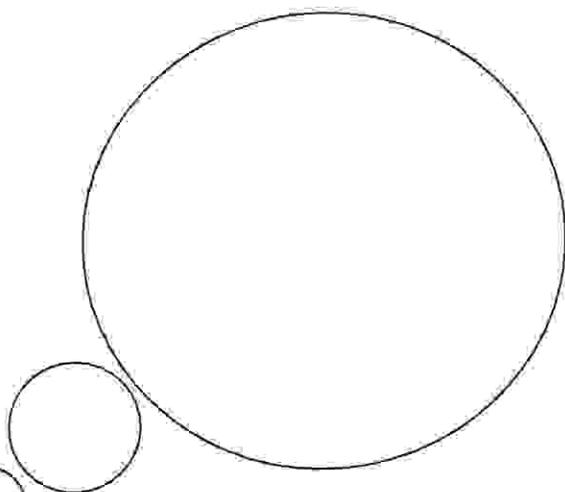
C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour thème l'étude la qualité bactériologique et physico-chimique du Lac Tonga cette étude sera présentée en trois parties :

- Une partie bibliographique regroupant la description de la zone d'étude
 - Une partie expérimentale dans laquelle nous avons effectué des analyses Physicochimiques, microbiologiques des eaux du Lac Tonga.
- Enfin, une dernière partie englobant les résultats obtenus avec une conclusion

Produced with Scantopdf

Chapitre I :

DESCRIPTION DU SITE



Produced with ScantopDF

1. Parc national d'El-Kala (PNEK):

La région d'El-Kala est considérée comme la région la plus humide d'Algérie du fait de sa grande diversité et sa richesse biologique. Sa richesse tant floristique que faunistique a fait l'objet de plusieurs études depuis le siècle dernier. (Anonyme ; 1996)

Le Parc National d'El Kala est situé dans la wilaya d'El Tarf à l'Est Algérien et s'étend sur une superficie 80 000 ha. Créé 1983 ; il constitue un laboratoire naturel pour de nombreux chercheurs. Sa richesse biologique et paysagère lui ont valu d'être érigé en réserve de biosphère par l'UNESCO. (Adjami 2006).

Le Parc National d'El Kala présente un ensemble lacustre unique en Algérie et en Afrique du Nord. Ces lacs sont représentés par: le Lac Tonga et le Lac Oubeira (classés comme zones d'importance internationale (RAMSAR), le Lac El-Mellah, le Lac Bleu, le Lac Noir et le Marais de Bourdhim. 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.

1.1. Objectif du P.N.E.K :

- La conservation de la faune, de la flore, du sol, du sous sol, de l'atmosphère, des eaux.
- La préservation de ce milieu contre les interventions artificielles et les effets de dégradations naturelles, susceptibles d'altérer son aspect, sa composition et son évolution.
- L'initiation et le développement avec les autorités et les organismes concernés de toutes activités de loisirs et sportives en rapport avec la nature.
- L'observation et l'étude du développement de la nature et de l'équilibre écologique. (Abbaci, 1999).



Fig.1 : Carte représentative du parc national d'EL Kala. [1]

2. La Numidie Algérienne :

La Numidie, située dans le Nord-Est Algérien, est réputée pour ses zones humides réparties en deux grands complexes séparés par l'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).

2.1. La Numidie occidentale :

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 :

- Au nord par la Méditerranée
- L'Est par la Wilaya d'Annaba
- Au Sud par la plaine de Bekkouche Lakhdar.
- A l'Ouest par les forêts 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 côtier de Chitaibi. Les altitudes de la zone se situent entre 0 et 200m. 48,5 des terres ont une pente inférieure à 3 (CF WS, 2002 Metallaoui et Houhamdi, 2008).

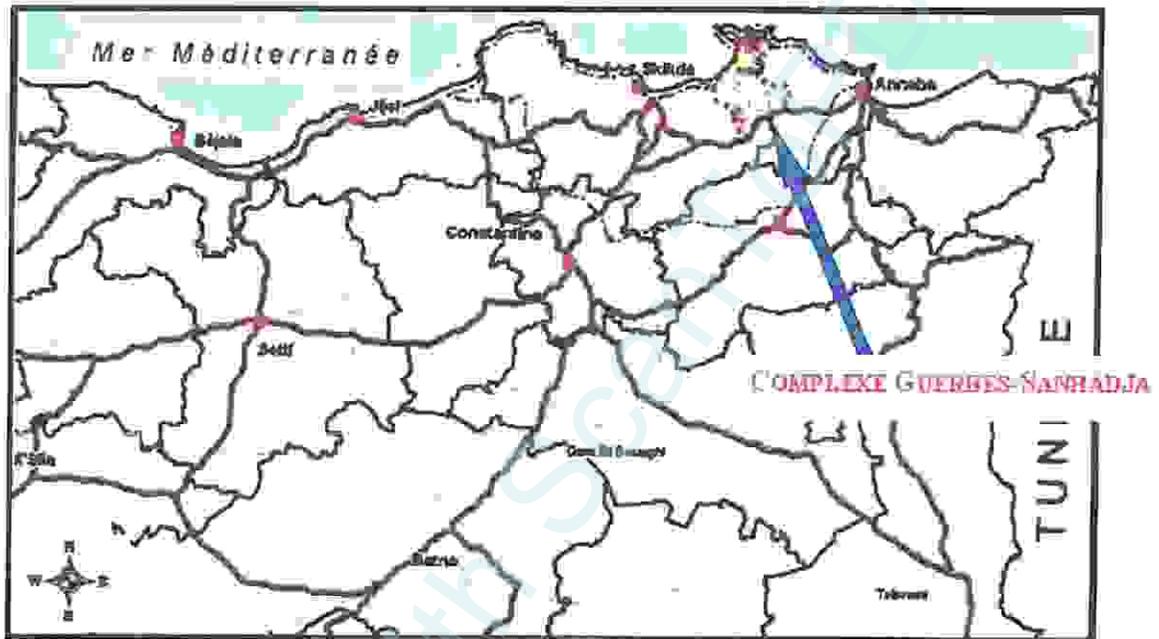


Fig. 2 : Localisation de la Numidie occidentale. (Boumezbeur, 2001).

2.2. La Numidie orientale :

Délimitée dans sa partie occidentale par Oued Seybouse, a pour limite septentrionale la Méditerranée et pour limite méridionale les collines de l'Atlas Tellien, tandis que les frontières Algéro-tunisiennes, la délimitent à l'Est (Samraoui et De Belair, 1998).

Cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels possédant une grande diversité des écosystèmes marins lacustres et forestiers qui renferment une richesse animale et végétale élevée. Ces zones humides s'étendent sur une superficie de 156 000 ha. (Metallaoui et Houhamdi, 2008).

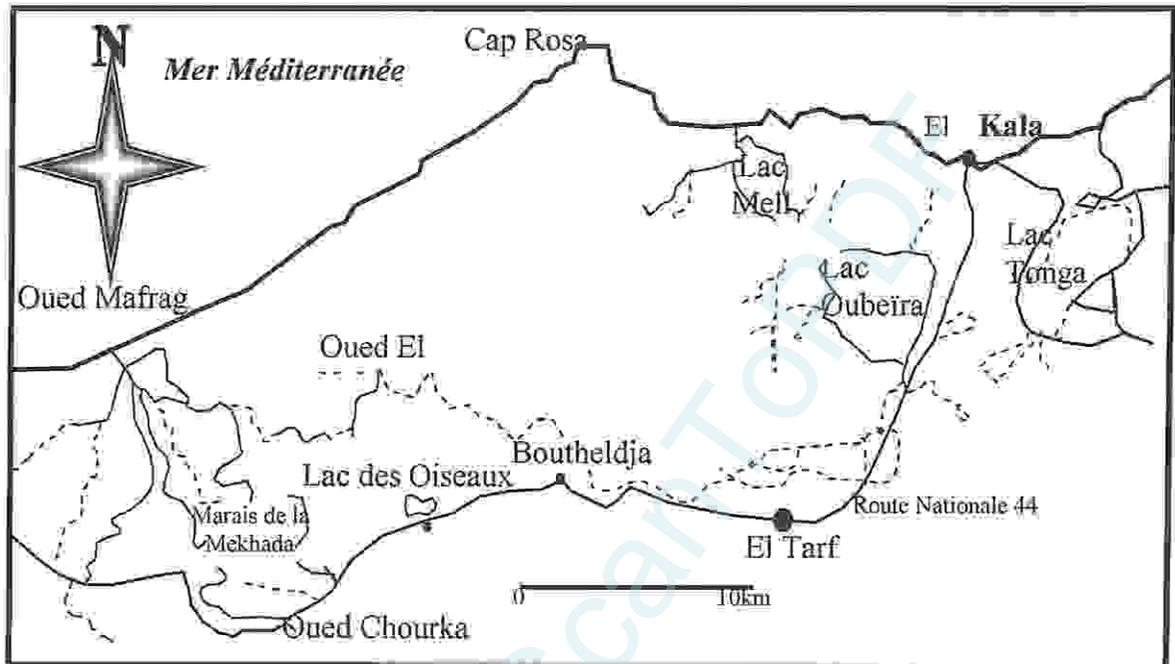


Fig.3. Le complexe de zones humides de la Numidie orientale (Houhamdi, 2002)

3. Présentation du site d'étude (Lac Tonga) :

Le Lac Tonga est un étang (moins 6 m de profondeur) d'eau douce communiquant avec la mer chenal artificiel de la messida, localisée à 5 km au sud-est de la ville d'el- kala et 65 km à l'est-sud-est de la ville d'Amaba.

De forme allongée, on peut définir des axes d'allongement remarquables.

- Sa longueur selon un axe Nord-Est – Sud –Ouest, est de 7.1 km.
- La largeur selon un axe Est-Ouest passant par le centre est de 3.5 km en moyenne.
- Le périmètre est égal à 22 km environ.

La superficie en situation de pleine eau est égale à 2500 ha environ. Elle est sensiblement réduite en été du fait de l'évaporation. Les zones exondées sont localisées à l'ouest et à l'ensemble de la partie sud du lac. (Bouchaar, 2006).

3.1. Caractéristique du Lac Tonga :

Il se caractérise par la présence d'îlots flottants colonisés par des saules, de grandes plages d'eau libres occupées partiellement par le nénuphar blanc et une importante ouverture végétale en forme de mosaïque végétation abondante recouvrent 90 % de la surface du Lac.

Le lac Tonga c'est la plus importante zone de nidification d'Afrique du Nord, c'est une zone humide d'importance internationale inscrite sur la liste RAMSAR est une réserve intégrale du parc national d'El Kala (Bouchaar, 2006).

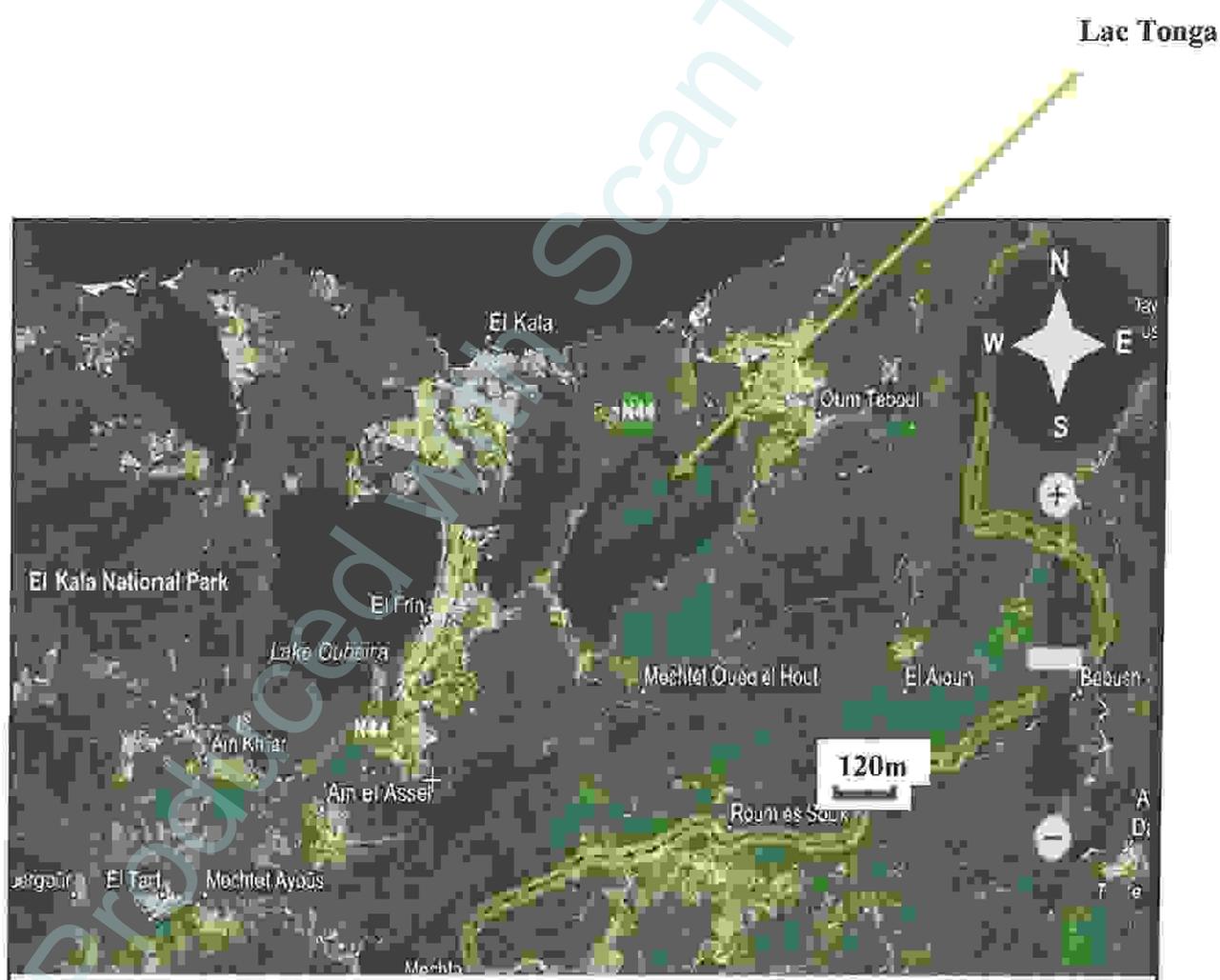


Fig. 4 : Image satellite du Lac Tonga. (2)

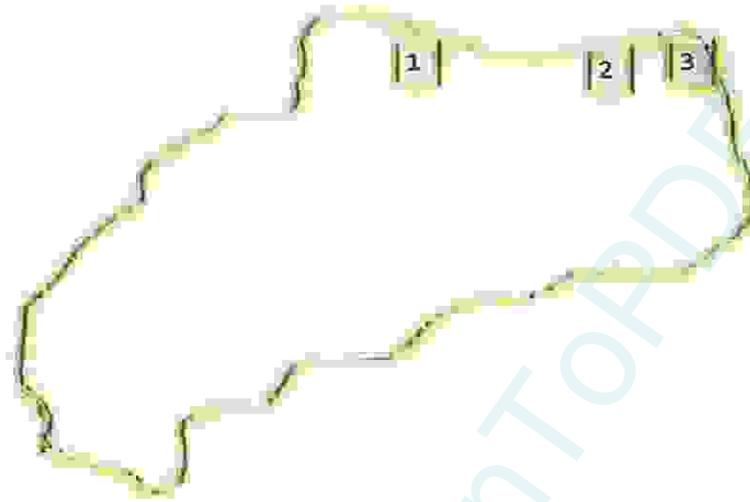


Fig. 5. Dessin à main levée de Lac Tonga.

3.2. Historique sur Lac Tonga:

Le lac Tonga est à l'origine, avant les tentatives d'assèchement entreprises dès la fin du XIX siècle, le réceptacle des eaux de deux cours d'eau, l'oued El-Hout dont le réseaux hydrographique s'étend au sud puis a l'est et l'ouest El-Eurg qui draine le Nord-Est. son émissaire est un canal aménagé pour drainer les eaux du Lac vers la mer. Il ne reçoit plus aujourd'hui les eaux de l'Oued El-Eurg. (Bouchaar, 2006).

3.3. Coordonnées géographiques:

Lac Tonga se situe entre:

Latitude de 36°53 N.

Longitude de 08°31 E.

3.4. Situation administrative:

Sur le plan administratif, lac tonga dépend de la Wilaya d'El-Tarf, de la Daïra d'El Kala et de la commune d'El Kala.

3.5. Les conditions physiques :

❖ Géologie :

L'origine du Tonga date du Quaternaire, les mouvements tectoniques ont permis le creusement de sa cuvette. Au fond du lac se développent les argiles de numidie qui assurent l'imperméabilité de cette dépression laguno-marine qui s'est transformée en lac d'eau douce par l'envasement du fond à la suite de dépôts importants de limons arrachés aux collines.

Le bassin versant du Tonga de 150 km² 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 quartzeux, blanchâtres, formant des reliefs abrupts,
- Argiles de numidie, formées de marnes argilo-schisteuses,
- Argiles, grès et calcaires noirs de l'Eocène moyen qui constituent les contreforts entourant le Lac. (Mebarki 2006).

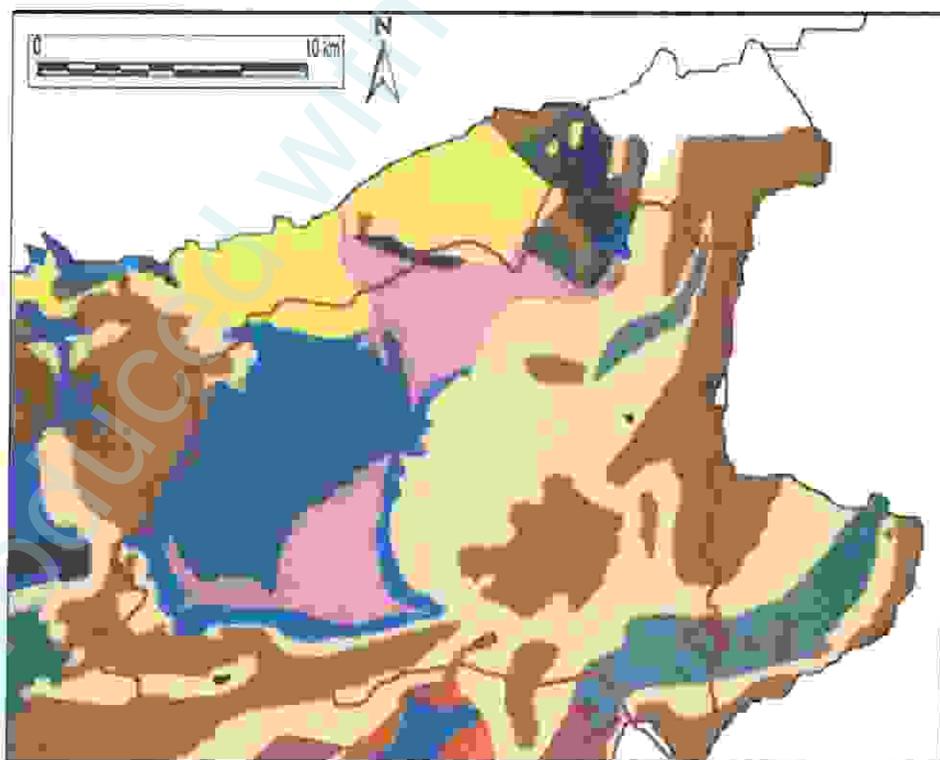


Fig.6. Carte géologique du bassin versant du lac Tonga. (Raachi 2007)

❖ Pédologie:

On y distingue 4 types de sols, les sols des marais dans la partie centrale du lac, les sols tourbeux au niveau de l'aulnaie au Nord du Tonga, les dépôts alluvionnaires d'oued El-Hout et oued El- Eurg et autour du Lac et les sols de prairies marécageuses qui s'assèchent en été. (Mebarki 2006).

Durand (1952) distingua dix types de sols qu'il classa en deux grandes catégories :

- Sols zonaux, dépendants surtout du climat.
- Sols azonaux, indépendants du climat.

Les types décrits sont :

- | | |
|------------------------------|--------------------|
| 1- Les sols dunaires | 6- solod |
| 2- Les sols de marais | 7- sols acides |
| 3- Sols tourbeux non inondés | 8- sols alluviaux. |
| 4- Sols oxyhumiques | 9- podzol. |
| 5- Sols de prairie | 10- sols saturés. |

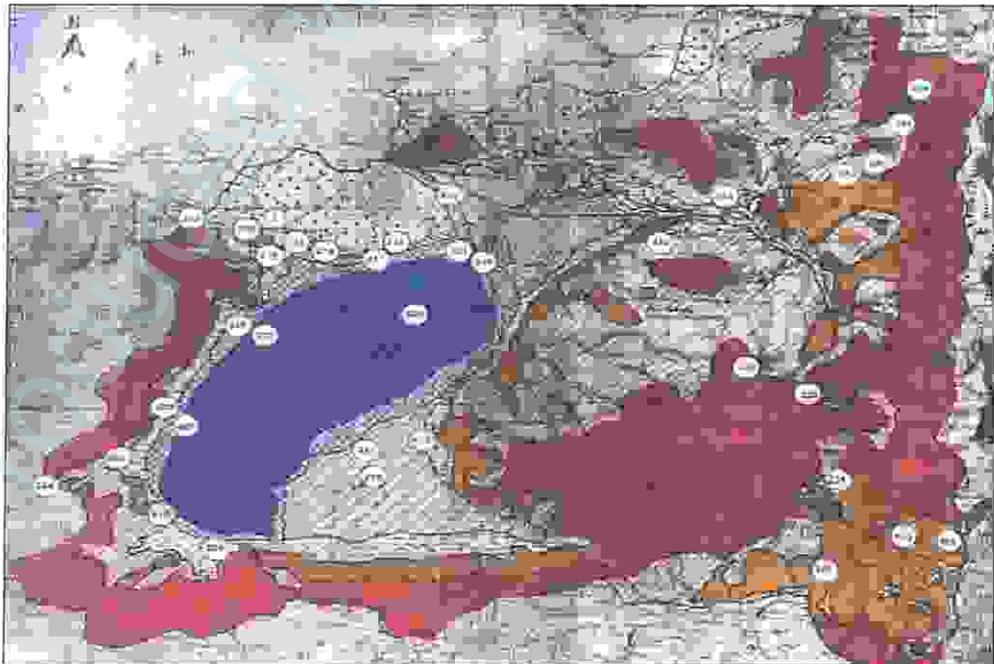
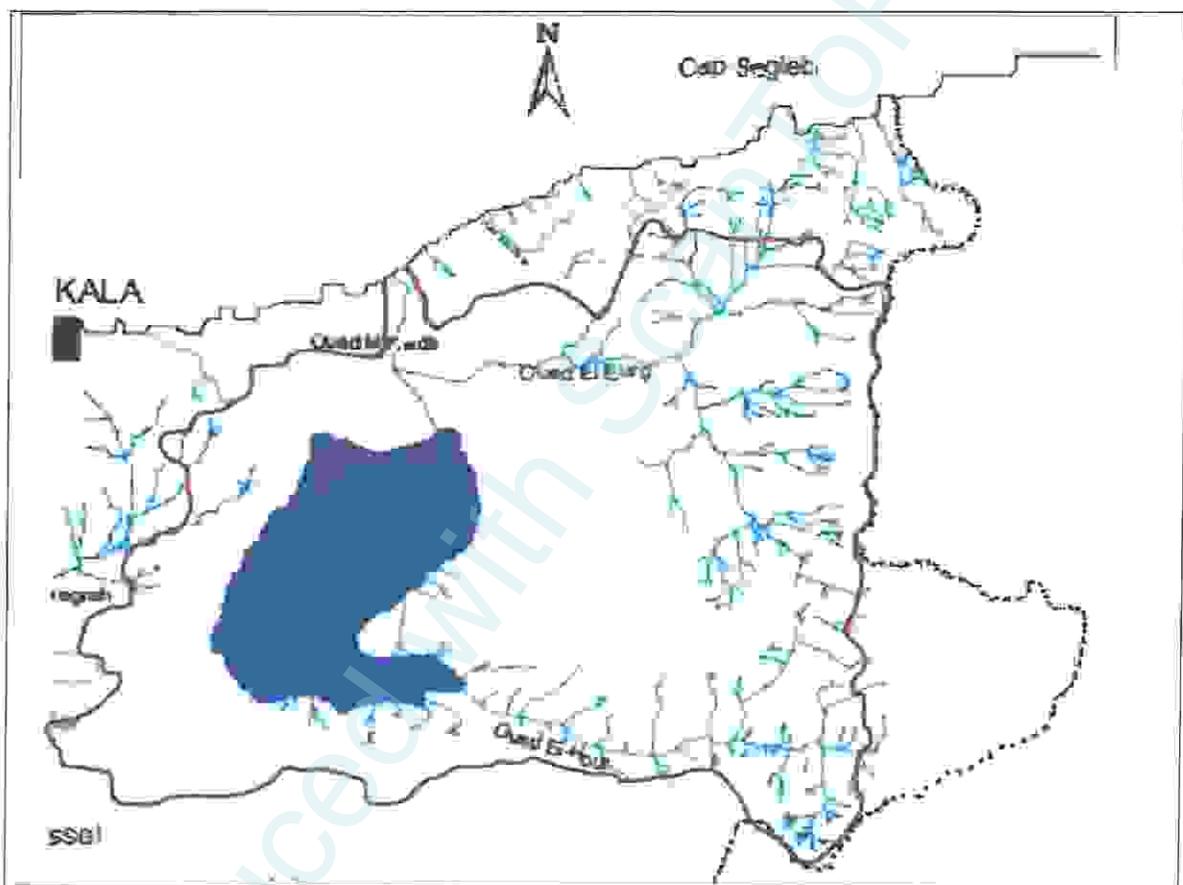


Fig.7. Carte des sols du bassin versant du Lac Tonga (Raachi 2007).

❖ Hydrologie :

Le Lac Tonga est alimenté d'une part par de nombreux affluents (petits ravins) secs en été tout au long des rives Ouest et sud et d'autre part par à l'Est et au Nord Est par des oueds et de 02 sous bassins versants, celui d'oued EL-Hout au sud et d'oued EI -Eurg au Nord ; L'exutoire du Tonga étant de la Messida (Mebarki 2006).



| | |
|---|--|
|  | Limites du bassin versant du Lac Tonga |
|  | Frontières Algéro-Tunisienne |

Fig.8 : Carte du réseau hydrographique de la région d'étude (Source : LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998)

3.6. Etude climatique:

Le climat est certainement un facteur du milieu très important. Il a une influence directe sur la faune et la flore. Un climat méditerranéen règne sur la région caractérisé par une pluviométrie abondante pendant la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été (Ozenda, 1982).

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 (Benyacoub et Chabbi, 2000).

3.6.1 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.

(Tab.1)

Tab.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. 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 _{max} | 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 _{min} | 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 _{moy} | 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.

3.6.2 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 (BNEF, 1985).

La pluviosité dans cette région est conditionnée par deux phénomènes météorologiques importants: 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 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.

3.6.3 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 propicer, 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 (Tab.3).

3.6.4 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 Belair, 1998).

Tab. 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 |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| P_{moy} mm | 85.19 | 64.16 | 35.77 | 52.09 | 38.00 | 7.14 | 2.46 | 13.29 | 52.15 | 43.69 | 107.47 | 133.42 |
| Humidité moy % | 77.36 | 76.94 | 73.82 | 72.99 | 74.00 | 69.48 | 68.86 | 69.01 | 72.42 | 72.18 | 75.94 | 77.49 |
| Vitesse de vents km/h | 13.86 | 14.26 | 13.73 | 13.94 | 13.13 | 13.77 | 14.58 | 14.01 | 13.36 | 12.40 | 13.69 | 14.66 |

3.6.5 Expression synthétique du climat :

A. Climagramme d'Emberger :

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

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

Q₂ : 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. **Fig.9.**

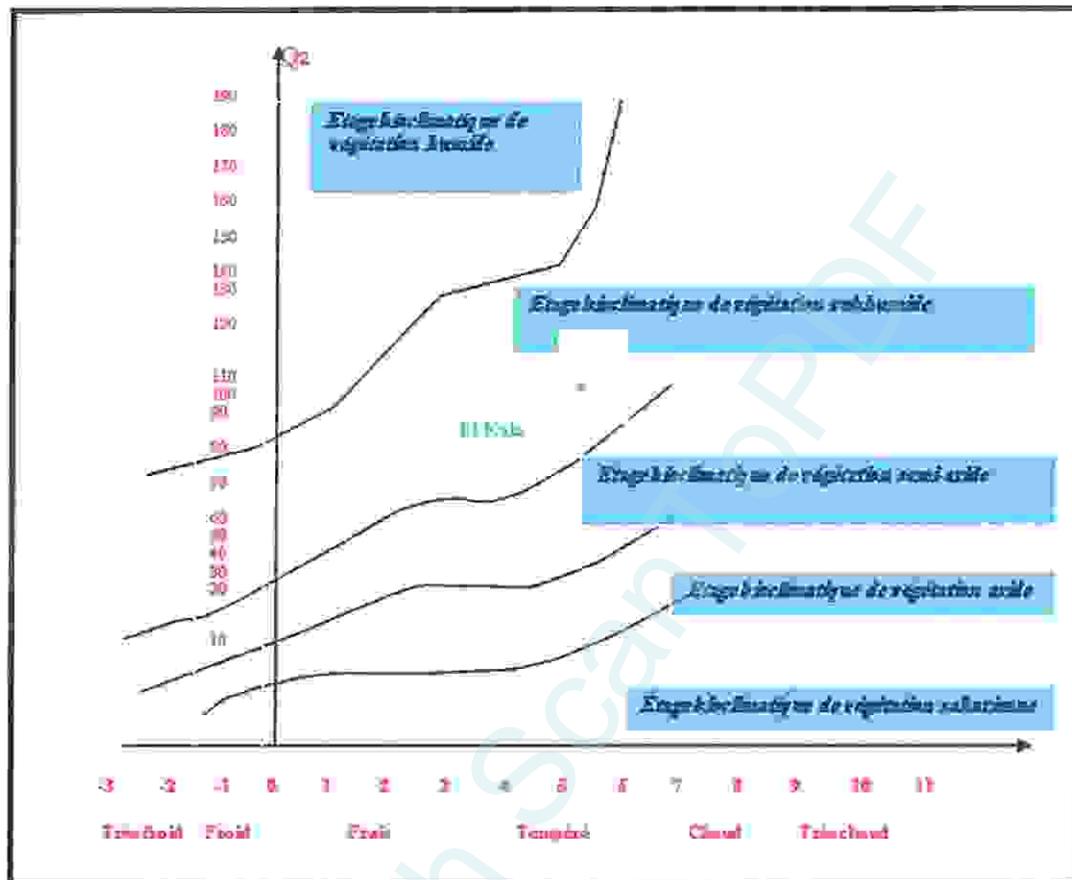


Fig.9. Graphe d'Emberger pour la région d'El Kala (Emberger 1957 in Zeraoula 2009)

B. Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen:

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen (1957) nous avons tenu compte des données climatiques bien précises qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide. (Fig.10)

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).

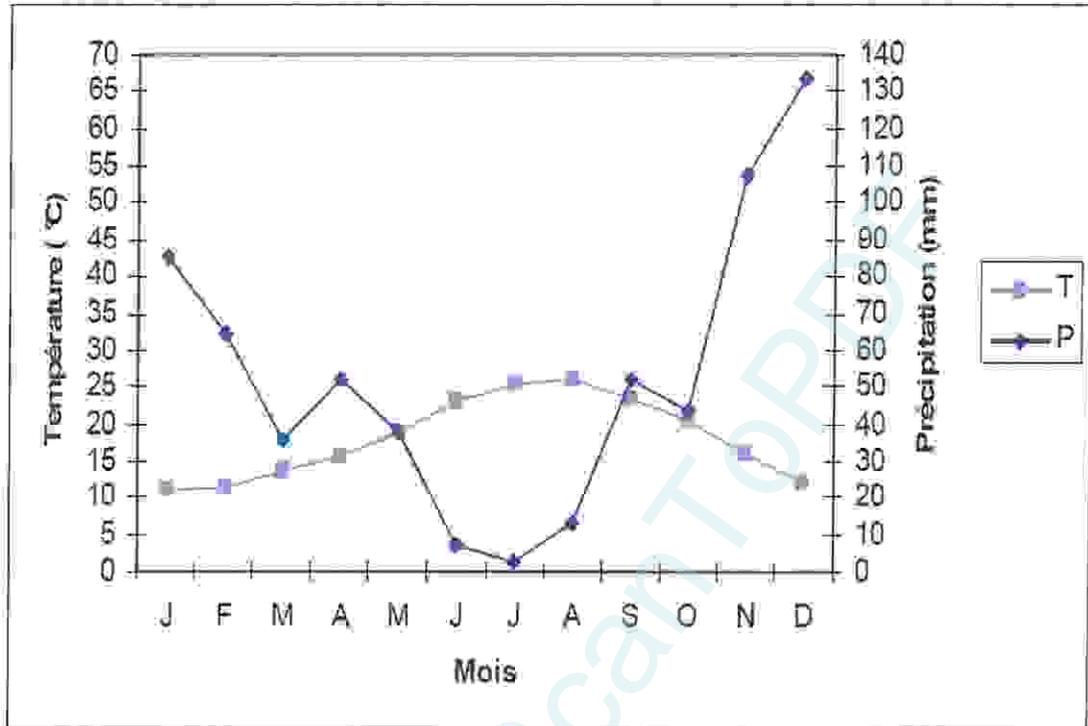


Fig. 10 : Diagramme Ombro-thermique de la région d'El Kala (Touati, 2008).

3.7. Cadre biotique :

3.7.1 Caractéristiques écologiques:

C'est un site d'hivernage pour des dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autres), un site de nidification d'un nombre important d'espèces aviaires et une zone de mue et d'escala. Ces fonctions sont assurées par la grande diversité des milieux au sein même du lac et la présence de grandes surfaces d'eau libre.

Le Lac Tonga est un site qui abrite une faune très importante (anguille, reptiles et amphibiens, insectes au moins pendant leurs stades larvaires).

a. Flore remarquable :

La surface du lac est recouverte à 90 % d'une végétation émergente, il y existe 14 groupements dont dix associations, 82 espèces recensées dont 32 sont classées d'assez rares à rarissimes.

b. Faune remarquable :**➤ Les mammifères :**

La loutre d'Europe *Lutra lutra* et le Cerf de Barbarie *Cervus elaphus barbarus*, espèce endémique de l'Algérie et de la Tunisie:

➤ Les oiseaux d'eau :

Quelques dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autres), hivernent au Tonga, c'est aussi un site de nidification pour un nombre important d'espèces aviaires. Parmi elles, nous avons une colonie d'Ardéidés représentée par des Hérons et des Aigrettes. Le Busard des roseaux *Circus aeruginosus*, la Poule d'eau *Gallinula chloropus*, le Râle d'eau *Rallus aquaticus*, l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, le Fuligule nyroca *Aythya nyroca*, la Talève sultane *Porphyrio porphyrio*, le Blongios nain *Ixobrychus mininus*, la Guifette moustac *Chlidonias hybridus*, l'Ibis falcinelle *Plegadis falcinellus*. On y rencontre également la Sarcelle marbrée *Marmaronetta angustirostris* et la sarcelle d'été *Anas querquedula*, le Flamant rose, la spatule blanche et d'autres espèces (Boumezbear, 1990 ; 1993 ; Belhadj et al., 2007).

4. Exploitation de site :**❖ L'agriculture :**

L'agriculture autour du lac 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. (Tab. 4)

Tab. 4: Pourcentages des terres cultivées par commune (1993-97)

| 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 AYOUD | 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), pratiqués 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 autrement dit la densité de la population selon la S.A.U est de 5 habitants / ha ou 1 habitant / 2 000 m² (Raachi, 2007)

❖ 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 incontrôlé.

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) (Tab. 5).

Tab.5: Effectifs de bovins, ovins et caprins dans bassin versant du Lac 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 |

En été, avec l'assèchement d'une partie du lac, une grande surface de prairies et de roselier se libère surtout sur le côté de la rive orientale, mais cela ne suffit pas à nourrir la totalité des vaches qui tentent alors à entrer dans le lac à des profondeurs importantes, et comme un résultat à cet effet une biomasse importantes de végétations aquatique est prélevées menaçant ainsi la destruction et même la disparition de la végétation (Abbaci, 1999)

Dans la partie des terres basses, les plaines et autour du lac, 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).

❖ Chasse et braconnage :

Les oies et les canards sont les gibiers d'eau les plus recherchés par les chasseurs. La saison de la chasse n'est jamais respectée surtout sur le côté Ouest du lac (Oued El-Hout) où la chasse des canards est presque tout le long de l'année même en période de nidification. Les juvéniles des canards qui volent avec efforts et à faibles hauteurs sont victimes des chasseurs.

Les espèces les plus menacé sont l'Oie cendrée *Anser anser*, le Canard colvert *Anas platyrhynchos*, le Canard Chipecau *Anas strepera*, la Sarcelle d'hiver *Anas crecca*, le Filugule milouin *Aythya ferina*.

Durant la période de nidification, certains riverains, surtout les enfants, s'adonnent au braconnage. La partie Sud-Ouest (Fedj El-Alleg) et Sud-Est (coté de Oued El-Hout) abrite un grand nombre d'oiseaux (Abbaci, 1999).

❖ **Pêche :**

La seule activité de pêche pratiquée concerne surtout l'Anguille *Anguilla anguilla* L, espèce abondante au niveau du Lac.

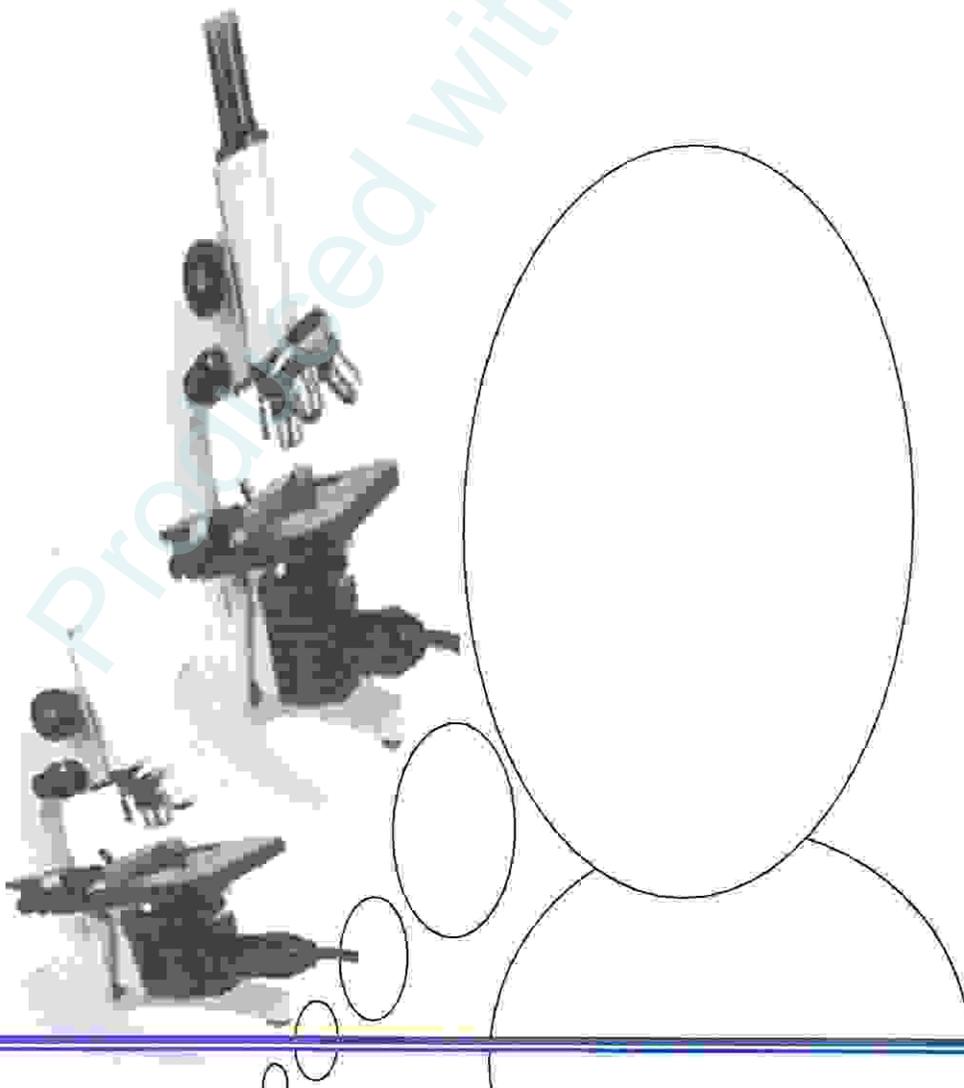
Autre espèces de poissons : Gambuses, Carpes... vivent également dans ces eaux riches en phytoplancton et zooplancton. Nous n'avons pas noté une pression de pêche importante dans ce Lac (Abbaci, 1999).

❖ **Tourisme :**

Surtout durant la période estivale, le tourisme balnéaire est pratiqué loin du site 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).

Chapitre II :

MATERIELS ET METHODES



1. Echantillonnage :

1.1 Technique de prélèvement :

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 visse 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).

Pour l'analyse bactériologique il faut utiliser des flacons débouchés et immergé complètement en position verticale renversée en le tenant par le fond : il est alors retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigée dans le sens contraire du courant. Après le prélèvement, les flacons doivent être soigneusement rebouchés. De toutes façons, il faut éviter de heurter les rives, le fond, la proximité de la surface (au moins 30 cm) (Guiraud, 1998).

Les flacons doit être lisiblement étiqueté et envoyé sans retard au laboratoire, accompagné d'une note portant tous les renseignements nécessaires.

Pour l'analyse physico-chimique, les échantillons ont été prélevés dans des bouteilles en polyéthylène propres, rincés plusieurs fois avec l'eau à analyser, puis fermés hermétiquement sans laisser de bulles d'air, ils ont été utilisés à environ 50 cm, en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier, 1984).

Les prélèvements sont transportés dans des glacières à une température de 4 à 8°C, et la durée de transport ne doit pas dépasser 8 h après la recueil de l'échantillon.

La teneur des échantillons en coliformes se modifie entre le moment du prélèvement et celui d'examen. Il importe donc de procéder à l'analyse le plus rapidement possible après le prélèvement, de préférence dans l'heure suivante et en aucun cas après 24 heures (Rodier et al, 1996).

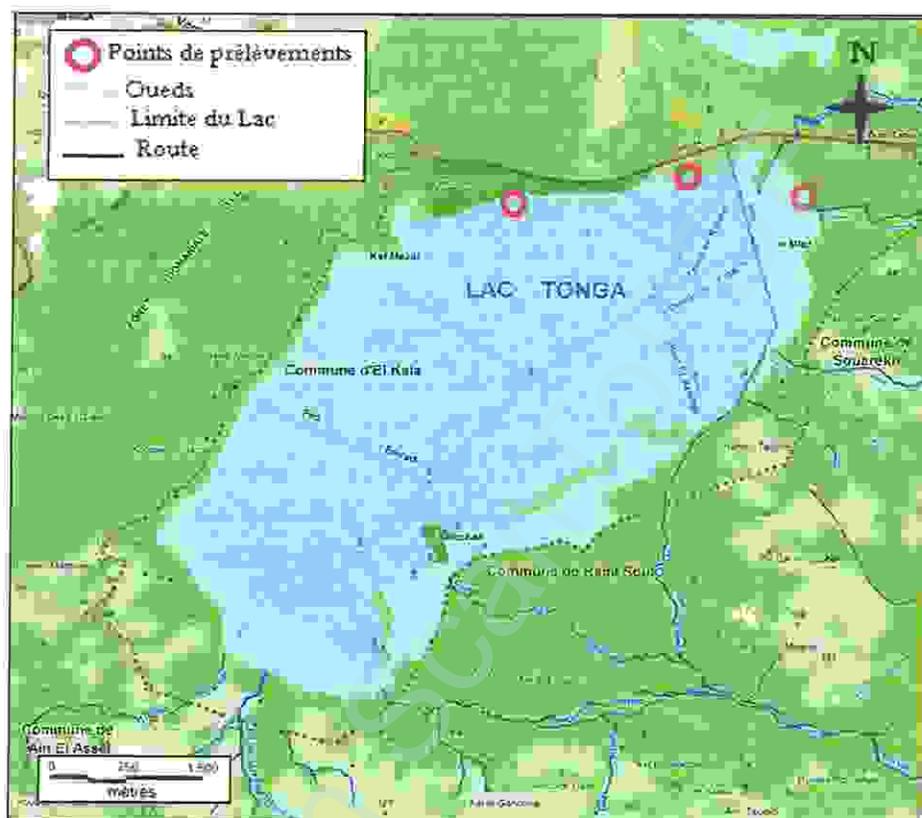


Fig.11 : Localisation du point de prélèvement. (3)



Premier site de prélèvement



Deuxième site de prélèvement



Troisième site de prélèvement

Fig.12 : présentation du point de prélèvement.

1.2. Présentation des points de prélèvement :

| | Date de prélèvement | Coordonnées G.P.S | Caractéristiques |
|----|----------------------|-------------------|--------------------------|
| P1 | 10/04/2011 | N 36°52.857' | Absence de végétation. |
| | 04/05/2011 10 :45 | E 0.08°31.0380' | Localisation en Nord-est |
| P2 | 10/04/2011 | N 36°52.909' | Faible végétation |
| | 04/05/2011 11 :15 | E 0.08°31.802' | Localisation en sud. |
| P3 | 10/04/2011 | N36°52.915' | Présence de végétation |
| | 04/05/2011 11 :45 | E 0.08.31.811' | localisation en ouest |

2. L'analyse bactériologique :

L'analyse bactériologique permet de mettre en évidence la pollution fécale de l'eau d'origine animale ou humaine, elle représente également un bon moyen pour contrôler l'efficacité des mesures de protection ou de traitement. (Rodier 1996).

2.1. Evaluation des germes totaux :

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits "revivifiables" permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle.

La méthode de référence pour l'analyse consiste en un dénombrement des germes psychrophiles à 22°C et des germes mésophiles à 37°C.

Mode Opératoire :

A partir de l'eau à analyser (Solution mère = 1) et/ou des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma ci-après. (Fig.13)

Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes.

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

Laisser solidifier les boîtes sur la paille.

◆ **Incubation :**

Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

- La première série sera incubée, couvercle en bas à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures.
- La seconde série sera incubée, couvercle en bas à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 44 ± 4 heures.

◆ **Lecture :**

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

- Première lecture à 24 heures.
- Deuxième lecture à 48 heures.
- Troisième lecture à 72 heures.

◆ **Dénombrement :**

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

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

Calculer ensuite la valeur du nombre \underline{N} , de microorganismes revivifiables à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ à part et celle du nombre \underline{N} de microorganismes revivifiables à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

Où :

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

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

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule.

Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22°C et à 37°C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10. (Labres *et al.* 2008).

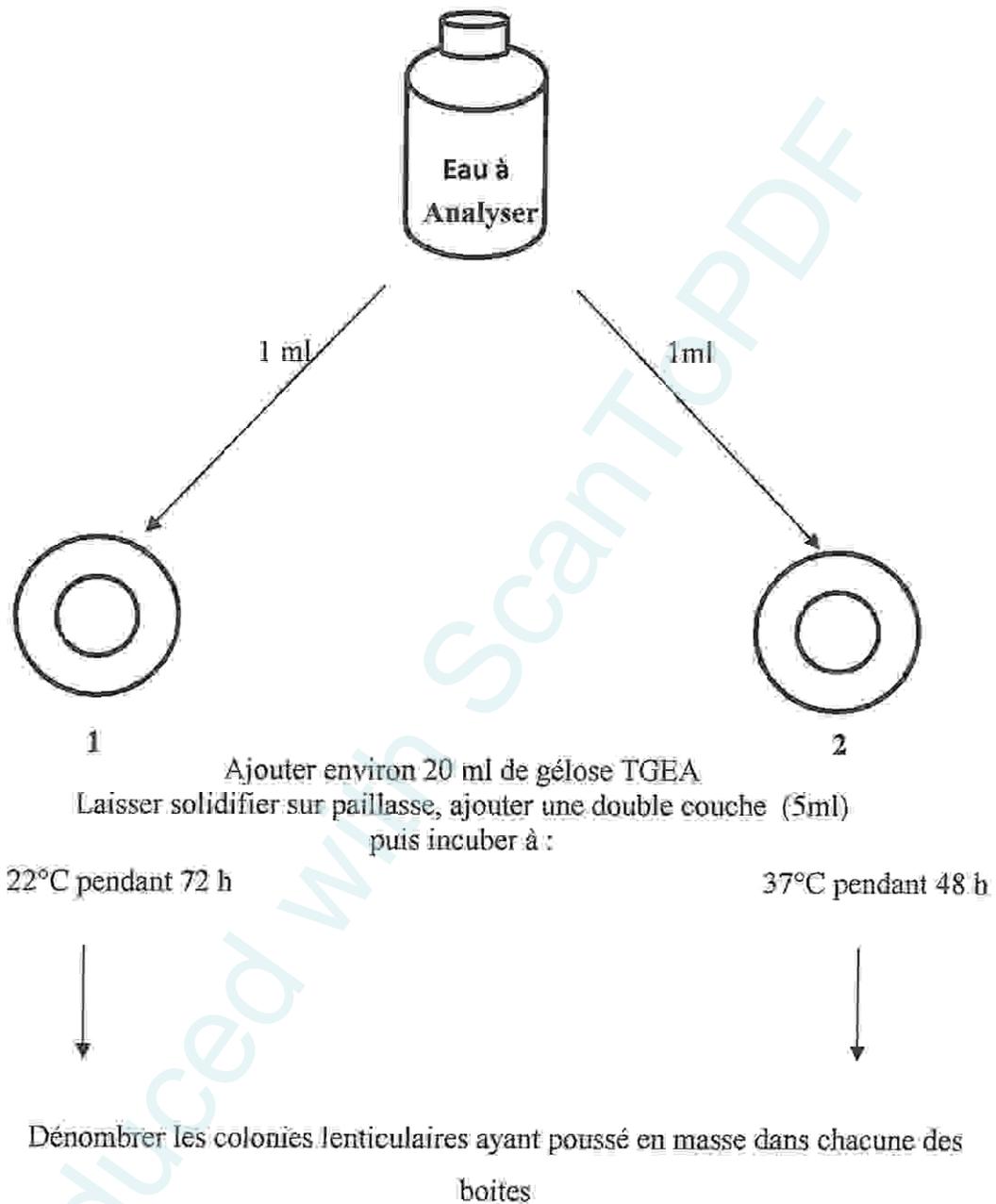


Fig.13 : Recherche et dénombrement des germes revivifiables.

2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et identification d'*Escherichia coli* en milieu liquide:

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

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermo-tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capable de fermenter le lactose à une température de 44°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*), qui a la particularité de produire l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à une température comprise entre 42 ± 2°C. (Bourgeois et Leveau, 1980; Denis *et al.*, 1983).

Mode opératoire :

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

- Le test de présomption: réservé à la recherche des coliformes.
- Le test de confirmation : réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérants et d'*Escherichia coli*. (Chaouch, 2007 ; Labres *et al.*, 2008).

a. Test de présomption :

◆ Mode opératoire :

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

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

- ❖ Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la série contenant 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} .
- ❖ Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- ❖ Répéter la technique pour 2 autres tubes de BCPL afin d'obtenir 5 tubes de BCPL, et refaire pour 2 autres séries. (Délarras, 2008).

◆ **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).

Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et déterminer le nombre caractéristique avoir le tableau de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes présent dans 100ml d'échantillon. (Délarras, 2008).

b. Test de confirmation :

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

◆ Mode opératoire :

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans tube contenant le milieu Eau Peptonée Exempte d'Indole.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 44°C pendant 24 heures.

◆ Lecture :

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant :

- ❖ Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacks. (Rejsek, 2002).

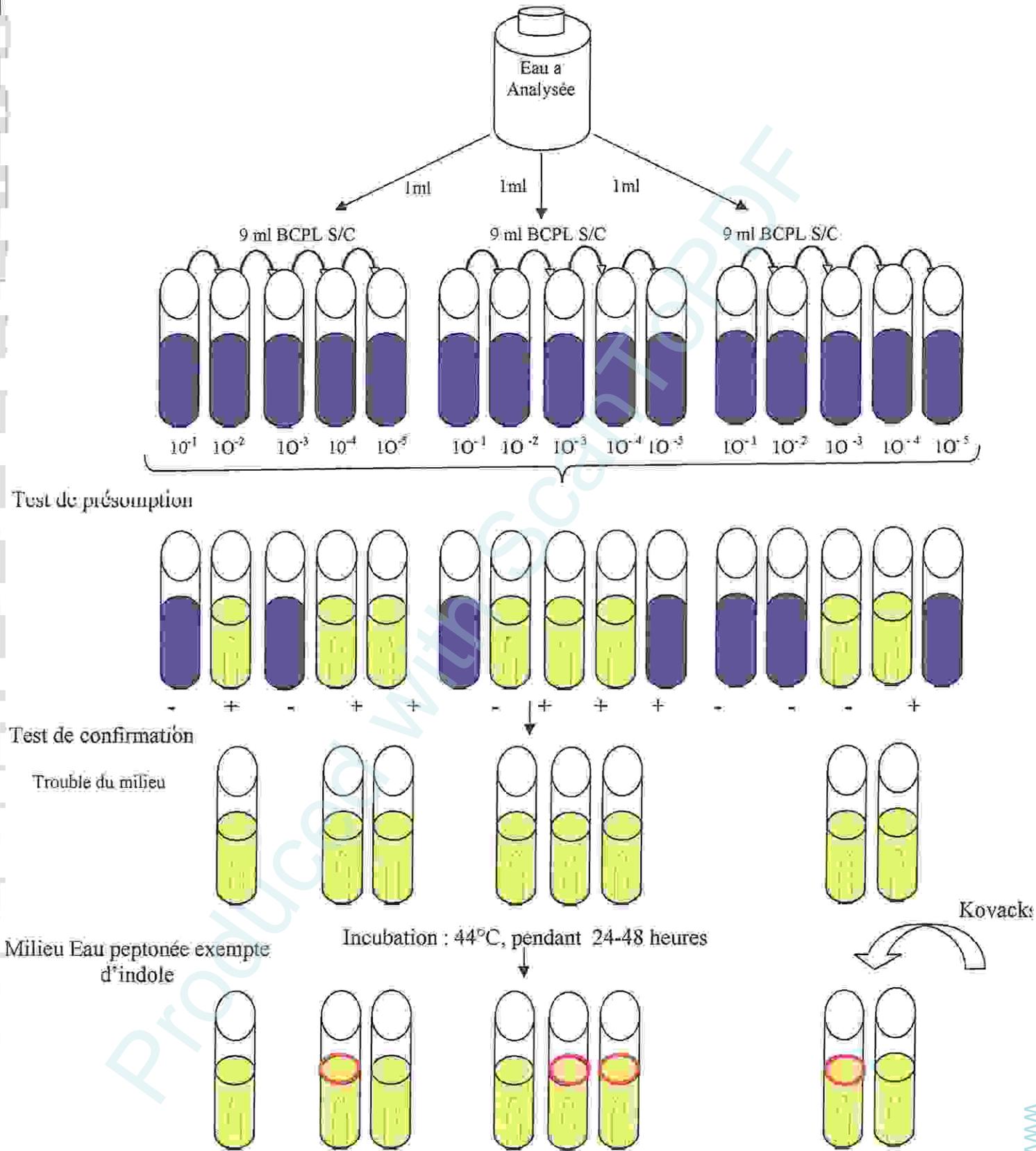


Fig.14: Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants.

2.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques: méthode générale par ensemencement en milieu liquide.

Cette méthode de référence, consiste en la recherche et le dénombrement des entérocoques intestinaux ou streptocoques du groupe « D » de la classification de Lancefield, nommés aussi streptocoques fécaux dans les eaux.

Se fait aussi en deux étapes consécutives :

- ❖ Le test de présomption : réservé à la recherche des streptocoques.
- ❖ Le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe (D).

a. Test de présomption :

◆ Mode opératoire :

- ❖ A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- ❖ Prélevé 1ml de tube précédent 10^{-1} et metre dans le seconde tube Rothe pour avoir la dilution 10^{-2} .
- ❖ Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9ml de milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- ❖ Refaire la technique 3 fois pour avoir 3 tubes de Rothe.
- ❖ L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

◆ Lecture :

Seront considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. (Rejsek, 2002 ; Délarras, 2008)

b. Test de confirmation :**♦ Mode opératoire :**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques du groupe (D) éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans tube contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 37°, pendant 24 heures. (Délarras, 2008)

♦ Lecture :

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- ❖ Un trouble microbien.
- ❖ Une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP. (Lebres, 2006)

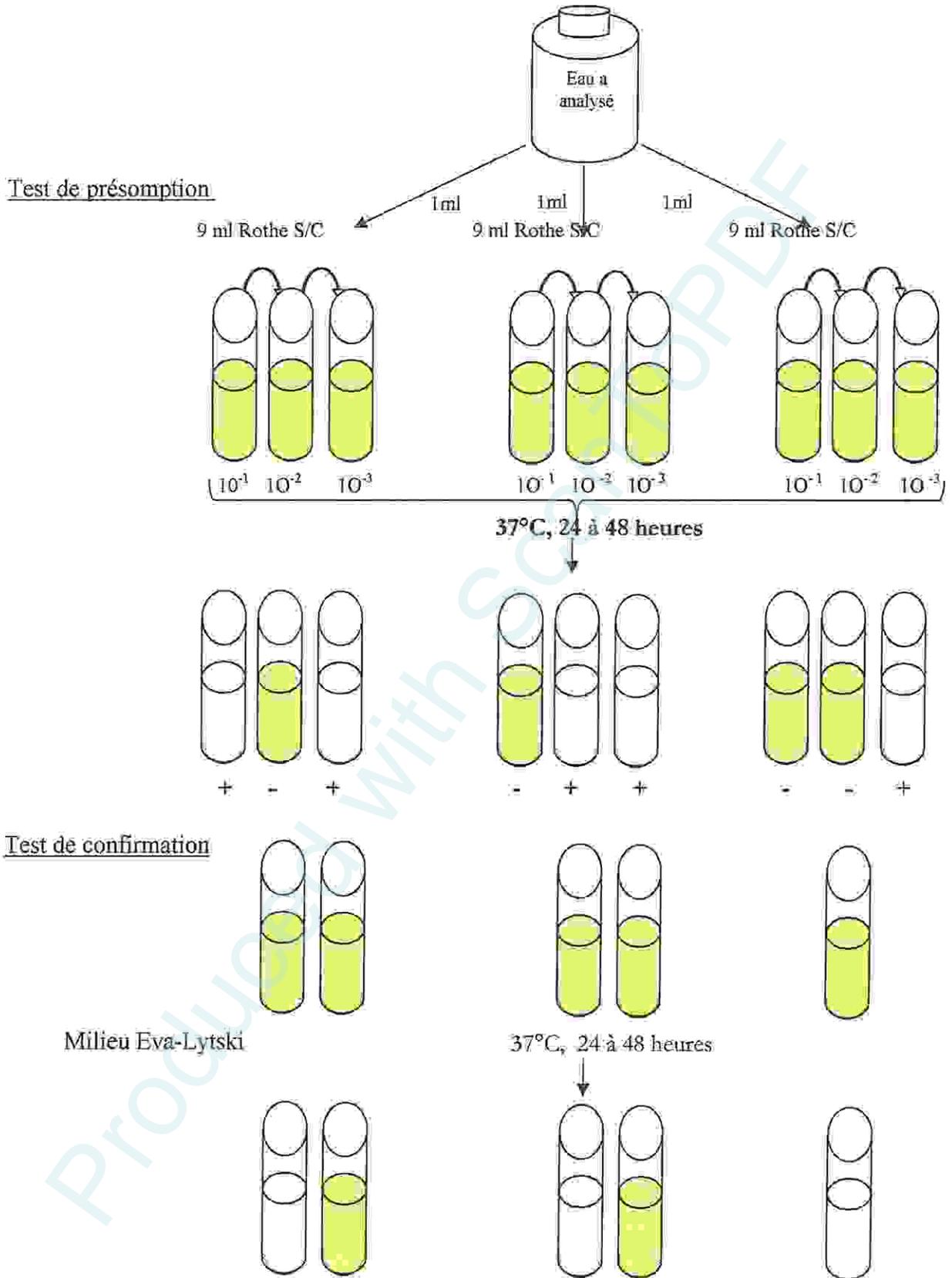


Fig. 15 ; Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.†

2.4 Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de *Clostridium* sulfito-réducteurs: Méthode par incorporation en gélose en tubes profonds.

Cette méthode consiste à rechercher, et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de clostridium sulfito-réducteurs dans les eaux, par incorporation en gélose en tubes profonds.

➤ Définition :

On entend par bactéries anaérobies sulfito-réductrices des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram positif et qui en se développant à une température de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en 24 à 48 heures en gélose profonde de type gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine ou Tryptose Sulfite Néomycine ou encore gélose Viande Foie, donnent des colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noire. Cette dernière est le témoin de la réduction du sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. (Labres *et al.* 2008).

La présence de spores de bactéries ASR dans les eaux, sans flore d'accompagnement, constitue généralement un véritable indice de contamination ancienne.

◆ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser :

- ❖ Transférer environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 75°C pendant 15 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes. Un autre flacon rempli d'une autre eau servira de témoin de température.
- ❖ Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
- ❖ Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- ❖ Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine ou Tryptose Sulfite Néomycine ou encore gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à $47 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée de leurs additifs spécifiques.

- ❖ Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène

Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 44 ± 4 heures, dans le cas de la gélose Viande Foie. (Labres *et al.*, 2008).

❖ **Lecture et interprétation :**

La première lecture doit être absolument faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries anaérobies sulfite-réductrices sont envahissantes sinon on se trouvera en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales de 10^{-1} voire 10^{-2} . La deuxième lecture se fera à 24 heures.

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

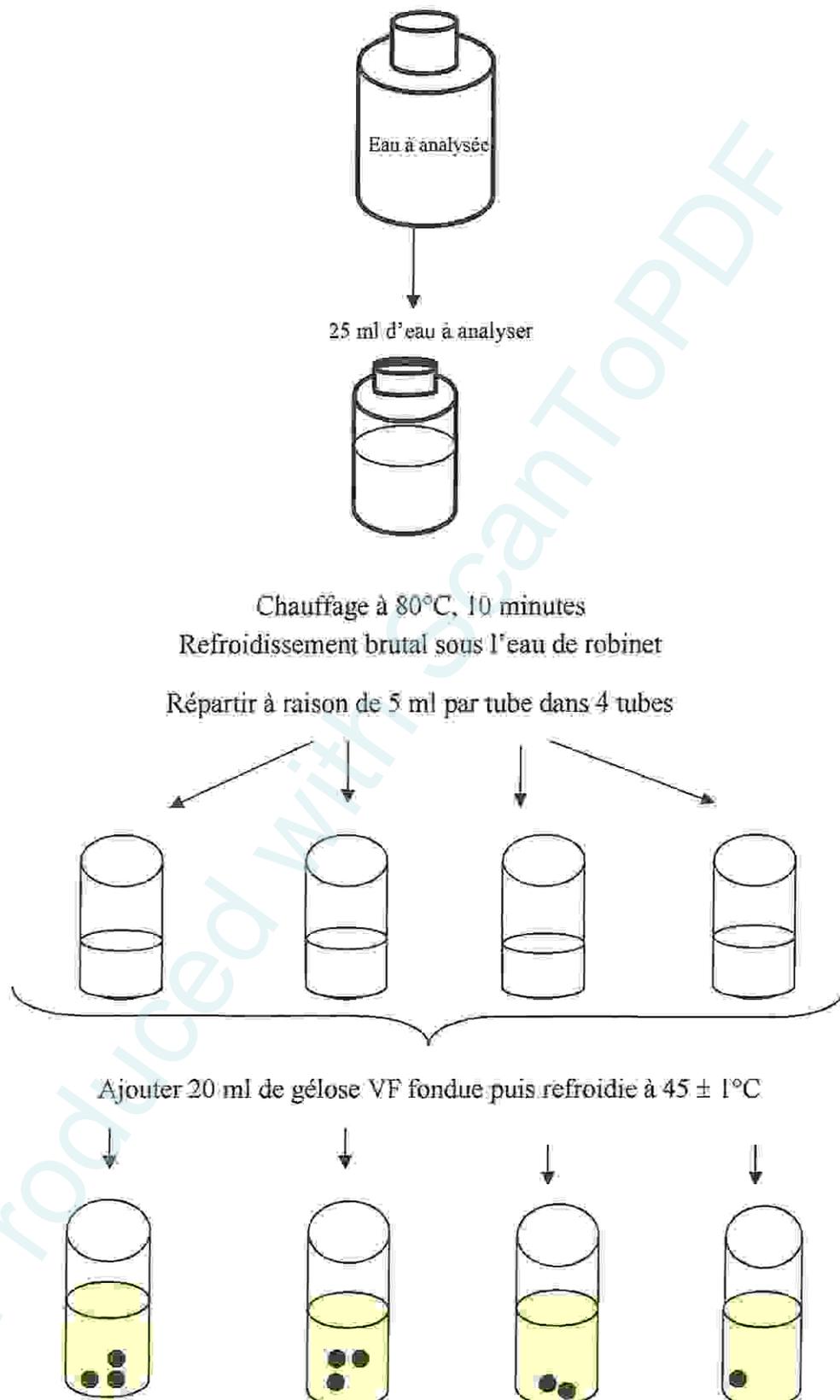


Fig.16 : Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréductrices (ASR).

2.5 Recherche des germes pathogènes:

➤ Recherche de *Staphylocoques* à coagulase positive dans les eaux

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

L'espèce type du genre est *Staphylococcus aureus*. Elle est pathogène et la plus redoutée.

◆ Mode opératoire :

La recherche des Staphylocoques à coagulase positive ou plus particulièrement *Staphylococcus aureus*, par filtration sur membrane nécessite une préparation au préalable, qui se déroule selon les étapes suivantes :

- ❖ Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec Bunsen.
- ❖ Les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec de l'eau distillée stérile.
- ❖ Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de $0,45 \mu$ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- ❖ Fixer ce dispositif avec la pince correspondante.
- ❖ Déposer ensuite aseptiquement 100 ml d'eau à analyser. Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane.
- ❖ Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, à la surface d'une plaque de gélose Chapman au mannitol préalablement préparée.
- ❖ Cette dernière sera incubée couvercle en bas à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 44 ± 4 heures.

◆ Lecture et interprétation :

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

Staphylococcus aureus, possède ces deux enzymes. (Pechère *et al.*, 1982 ; Labres *et al.*, 2008).

➤ **Test à la catalase :**

Placer séparément deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 sur une lame de microscope. Prélever une demi-colonie avec une tige de verre (pipette Pasteur) et l'émulsionner doucement dans une des deux gouttes.

Observer immédiatement et après 5 minutes s'il y a apparition (catalase positive) ou absence (catalase négative) de bulles d'oxygène. Dans le cas où il y a doute, recouvrir chacune des gouttes avec lamelle de microscope et comparer l'apparition des bulles sous les deux lamelles. Les observations peuvent se faire macroscopiquement ou à l'aide d'un microscope à faible grossissement. (Fig.13).

➤ **Test à la coagulase libre :**

Après incubation, prendre aseptiquement une demi-colonie dans un tube stérile à hémolyse contenu 0,3 ml de plasma de lapin (ou de l'homme), et incuber de nouveau à $36 \pm 2^\circ C$ pendant 2 à 6 h.

Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber et examiner de nouveau à 20 ± 4 heures.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. (Fig.18). (Pechère *et al.*, 1982 ; Labres *et al.*, 2008).

Le tableau suivant résume quelques caractères biochimiques de différentes espèces de Staphylocoques. (Tab.7)

Tab.7. Les principaux staphylocoques isolés en microbiologie. (Sayad, 2008).

| Staphylocoque | <i>aureus</i> | <i>Intermedius</i> | <i>saprophyticus</i> | <i>epidermitis</i> |
|--|---------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Catalase | + | + | + | + |
| Coagulase | + | + | - | - |
| Mannitol en anaérobie | + | - | - | - |
| Résistance à la Novobiocine (5 Micro-gr) | S | S | R | S |



Fig.17. Lecture de la catalase.



Fig.18. Lecture de la staphylocoagulase.

➤ Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

On entend par *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie qui se présente sous forme de bacille à Gram négatif possédant l'enzyme oxydase et capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide.

Pseudomonas aeruginosa, est également une bactérie hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques.

C'est une bactérie lactose négative, autrement dit dépourvue d'enzymes dégradant le lactose, pourvue d'une odeur de seringa (fleur de la famille des Philadelphacées encore appelée "jasmin des poètes"). (Pechière *et al.*, 1982 ; Pilet, 1987 Labres *et al.*, 2008.,).

➤ Isolement :

L'isolement est fait directement sur milieu sélectif King A et King B 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 :

- ❖ Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle (il permet d'observer la mobilité des germes) et la coloration de Gram.
- ❖ Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- ❖ Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Pilet *et al.*, 1987)

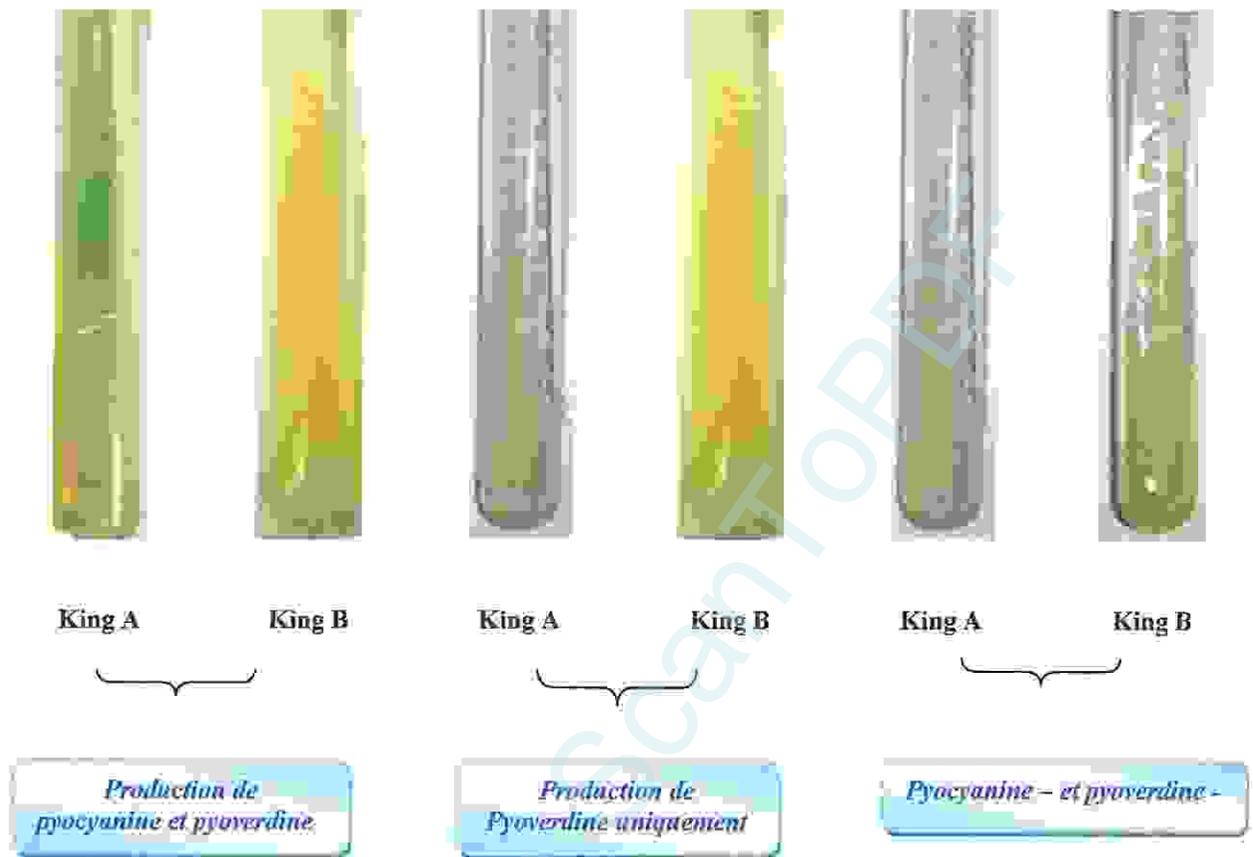


Fig.19. Lecture de *Pseudomonas aeruginosa*. (4)

➤ Recherche de *Salmonella* et de *Shigella* :

➤ *Salmonella* :

On entend par *Salmonella*, des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram négatif et qui en se développant à température de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en 24 à 48 heures, sur milieu Hektoen, forment de petites colonies, lisses à contours réguliers, pigmentées en vert ou en bleu vert à centre noir.

Les *Salmonella* se divisent en deux grands groupes : les mineures et les majeures qui sont hautement pathogènes. (Pechère *et al.*, 1982; Carbonnelle, 1988; Labres *et al.*, 2008).

◆ Mode opératoire :**◆ Jour 1. Premier Enrichissement :**

Le premier enrichissement 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, comme l'indique la figure 13

◆ Jour 2. 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
- ❖ d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoén. L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h.

◆ Lecture des boîtes et Identification :

- ❖ D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement,
- ❖ D'autre part, la boîte de gélose Hektoén subira une lecture en tenant compte du fait que les Salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies de couleur gris bleu à centre noir.

❖ Identification morphologique et biochimique :

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

- ❖ Ensemencement d'un tube de Kligler-Hagia ou TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S). (Lebres, 2005)
- ❖ Identification biochimique par l'API20E.

➤ *Shigella* :

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

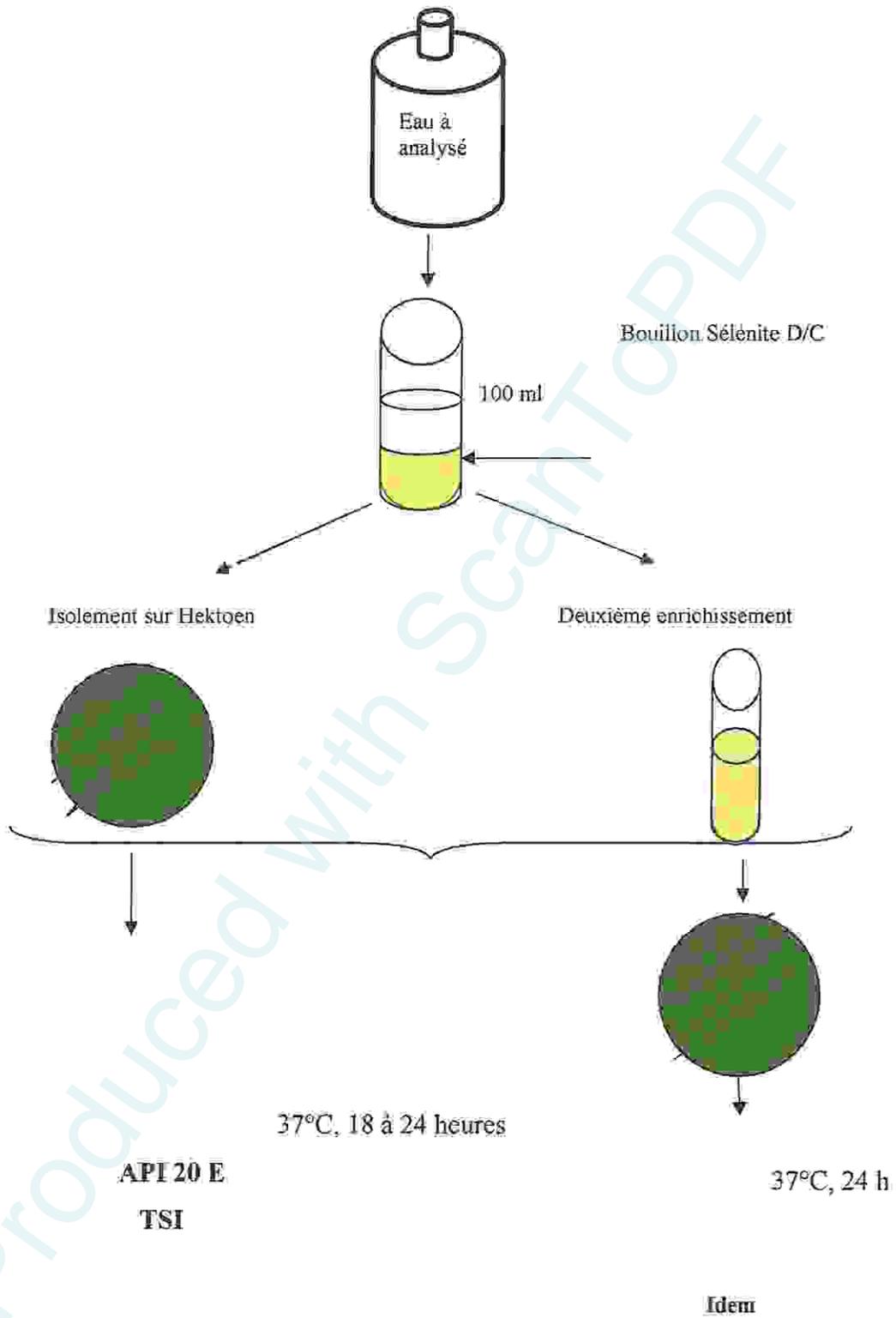


Fig.20 : Recherche des *Salmonelles*

➤ Recherche des levures et des moisissures :

Les moisissures et les champignons sont des éléments naturels de l'environnement et jouent un rôle essentiel dans la décomposition des feuilles, des arbres et des débris végétaux.

L'humidité est l'élément vital de la croissance des champignons et des moisissures.

❖ Milieux de culture

N'importe quel milieu de culture glucosé convient. Cependant on utilise de façon préférentielle certains milieux et dans des conditions particulières (incubation à 28 °C pendant 24 à 48 heures) :

❖ Milieux non-sélectifs :

Milieu ordinaire

Milieu BCP

Milieu à l'extrait de malt (Extrait de malt, agar-agar et eau)

❖ Milieux sélectifs :

Gélose Sabouraud (sélectif par pH acide, auquel on peut ajouter du chloramphénicol ou gentamicine)

Gélose OGA (Guiraud, 1998)

❖ Caractéristiques des colonies

Les levures :

- Colonie de contour bien défini
- De couleur beige-rosé à bleu-vert
- Colonie pouvant apparaître en relief (" 3D ")
- Normalement sans centre de couleur intense .

Les moisissures :

- Grandes colonies
- Thalle aux contours diffus
- Couleur variable (moisissures pouvant produire leur propre pigmentation)
- Thalles apparaissant plats
- Le centre du thalle présente normalement une coloration intense.

3. L'identification :**3.1. Examen macroscopique des caractères culturels :**

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments : (Joffin *et al*, 2001)

- ❖ La taille.
- ❖ La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- ❖ L'aspect de la surface: lisse, rugueux.
- ❖ L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- ❖ La consistance: grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- ❖ Pigmentation.

3.2. Examen microscopique après coloration de Gram :**➤ Les étapes de coloration de Gram :**

La coloration de Gram permet une observation grossière des cellules. Elle est irremplaçable pour différencier les bactéries Gram positif et Gram négatif.

Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à:

- 1- Fixer le frottis, s'il s'agit d'une culture en milieu liquide, une goutte de bouillon sera prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, déposée sur lame, et étalée soigneusement. S'il s'agit d'une culture en milieu solide, une colonie bien isolée sera prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile.

- 2- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet. Laisser agir 1 minute.
- 3- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- 4- Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1 minute.
- 5- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- 6- Décolorer à l'alcool 95°. La durée de décoloration doit être adaptée à l'épaisseur du frottis.
- 7- Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir quelques secondes.
- 8- Rejeter la Fuchsine. Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres. (Dégrément, 1998).

Résultats: Les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram sont colorées en rose. (Carbannelle, 1988 ; Boukrouma, 2008)

3.3 Examen liés aux caractères biochimiques :

➤ La Galerie API 20E :

La galerie API 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autre bacilles Gram négatif, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

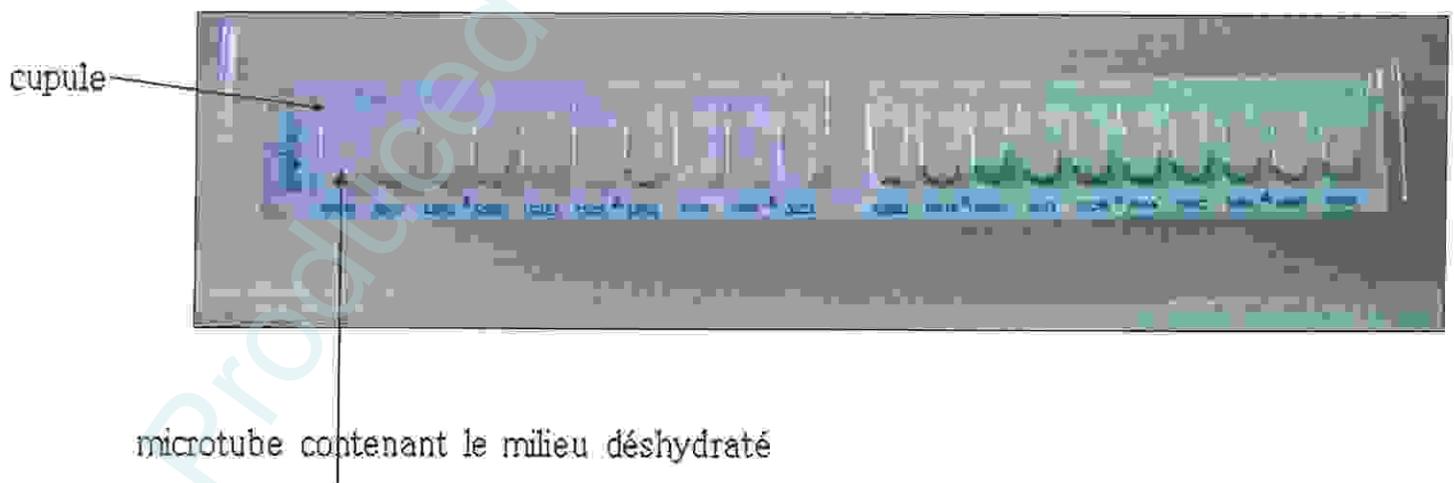


Fig. 11. Image de la galerie API 20 E.

◆ Principe :

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

◆ Mode opératoire :

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

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

◆ Lecture :

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

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

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

➤ **La Galerie classique :**

❖ **L'utilisation de citrate de Simmons :**

Ce milieu est un exemple de milieu synthétique. L'ensemencement réalisée à l'aide d'une suspension de la culture solide (gélose Mac Conkey ou gélose nutritive), ensemencer en ligne centrale sur le milieu de Simmons et incubé à 37°C.

Virage de l'indicateur de pH au milieu : il ya eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons⁺.



Fig.22. Test de citrate.

❖ **Le mannitol mobilité :**

Est un milieu permet l'étude de la dégradation de mannitol qui est un produit de dégradation du mannose. L'ensemencement par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit, et incubé à 24 h à T° optimale. Ce milieu est utilisable uniquement pour la bactérie fermentative.

- Virage de milieu en jaune dit que mannitol⁺.
- Milieu rouge dit mannitol⁻. (Sayad, 2008)

❖ Utilisation des hydrates de carbone :

Le milieu triple Sagar iron. (TSI) est utilisé pour l'identification rapide des entérobactéries, et permet de mettre en évidence la fermentation de saccharose, de glucose (avec ou sans production de gaz) et plus précisément du lactose ; la production d'hydrogène sulfureux (H_2S) à partir de la cystéine. 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 $37^{\circ}C$ pendant 24 heures. (Sayad, 2008)

❖ 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.

- Nous ensemençons un tube d'eau peptonée d'indole. Après 24 h d'incubation à $37^{\circ}C$, nous ajoutons quelques gouttes de réactif de Kovacks.
- La lecture est immédiate :
 - Réaction indole positive : anneau rouge ou rose.
 - Réaction indole négative : anneau brunâtre.



Fig. 23. Réaction d'indole négative.



Fig. 24. Réaction d'indole positive.

❖ Teste de réduction du nitrate :

Le milieu bouillon nitraté permet de recherche de la réduction des nitrates en nitrites (NO_3) en (NO_2). Plus la fermentation du fructose. Nous avonsensemencé le bouillon nitraté et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation nous ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase I.

- Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.
- Si le milieu reste incolore, dans ce cas on a deux événements :
 - Ou bien les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.
 - Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

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

❖ Recherche de l'acétone :

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

• Test VP (Voges-Proskauer) :

- Ajouter 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de coude concentré (ou de potasse)
- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelque minute à une heure. Lorsque le milieu devient rouge le VP^+ , ou bien devient jaune VP^- .

• Test RM (Rouge de Méthyle) :

- Ajouter 2 à 3 gouttes de méthyle.
- La lecture est immédiate. Les résultats sont comme suit : teinte rouge : RM^+ , teinte jaune : RM^- . (Sayad, 2008).

❖ Recherche de l'oxydase :

Nous entendons par l'oxydase (Enzyme intervenant dans divers couples d'oxydoréduction), la recherche de phénylène-diamine-oxydase.

- Un disque pré-imprégné de réactif est placé sur une lame et est imbibé à l'aide d'une goutte d'eau physiologique. Une parcelle de culture est déposée sur le disque.
- La présence d'oxydase se manifeste par une coloration violette : les bactéries sont oxydase positive.
- Pas de modification de la couleur du disque : les bactéries sont oxydase négatives.

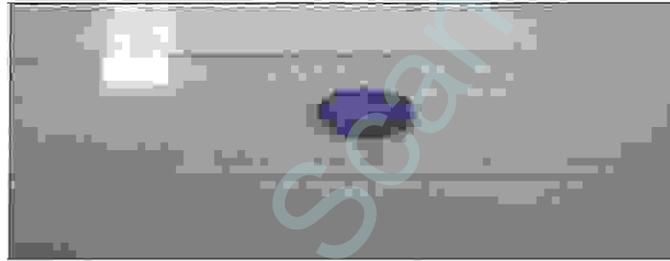


Fig. 25. Test d'oxydase.

4. Détermination de la qualité physico-chimique de l'eau

4.1. La couleur apparente:

Deux mesures de couleur sont possibles: la *vraie couleur* dépend seulement des composés colorants dissous, alors que la *couleur apparente* est influencée par les matières en suspension dans l'échantillon. La couleur de l'eau est due à la présence de matières organiques et minérales; et les différents composés absorbent différentes fréquences de la lumière. La couleur est mesurée selon une échelle au platino-cobalt, en comparant la couleur de l'eau de l'échantillon avec celle d'une série de solutions chimiques normalisées.

La couleur apparente et la vraie couleur des eaux peu turbides sont pratiquement identiques. Les eaux dont la turbidité est supérieure à 3 JTU (Jackson Turbidity Unit) ont généralement une teinte jaune, rouge ou brune. (5).

4.2. La température:

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

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

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

4.3. Le pH:

Le pH représente le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu aquatique. Le pH des écosystèmes aquatiques est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques. (Benlatrech et Benslimen, 2002).

Un pH compris entre 7 et 10 permet un développement à peu près correct de la faune et de la flore aquatique. (Nisbet et Verneaux, 1970).

4.4. L'oxygène dissous:

La concentration de l'oxygène dissous est un paramètre important pour caractériser la qualité de l'eau.

La concentration en oxygène dissous varie avec la température et la salinité du milieu et la pression atmosphérique (6).

4.5. La turbidité:

La turbidité de l'eau est causée par des matières en suspension composées d'argile, de limon, de particules organiques, de plancton et de divers autres organismes microscopiques(7).

L'appareillage utilisé est un turbidimètre et une cuve stérile.

Mode opératoire :

- ❖ Remplir la cuve stérile avec l'eau à analyser.
- ❖ Appuyer sur le bouton mesure.
- ❖ Faire la lecture après la stabilisation de turbidimètre. (Amino, 1983 Rodier, 1996).

4.6. La salinité:

La salinité présente peu de variations, s'observant essentiellement durant la période pluvieuse.

La salinité moyenne mesurée est 0.3. Elle arrive à un maximum de 0.7 pendant la période sèche, et à un minimum de 0.1 due probablement à l'effet de dilution pendant la période pluviale.

Pour la mesure de la salinité en utilise un multi-paramètre.

4.7. Les chlorure:

Les chlorures sont répandues dans la nature, on les trouve sous forme de Na Cl, KCl ou Ca Cl₂. (Sayad, 2008).

-Principe de dosage:

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

-Mode opératoire :

Introduire 25ml d'eau à analyser dans un erlemmeyer au col large, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%, verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3 minutes (Fig. 26). (Rodier, 1996).



Fig. 26. Dosage des chlorures.

4.8. Le taux des sels dissous (TDS):

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale de sels minéraux dissous dans l'eau qu'est appelée le TDS.

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

4.9. La matière organique :

(Ou l'oxygène utilisé pour la réduction de permanganate de potassium).

Ce test à caractère conventionnel du permanganate a pour but d'approcher la teneur en matière organique présentes dans l'eau.

-Principe :

L'opération consiste à mesurer en milieu acide et en milieu alcalin, la quantité d'oxygène utilisé pour la réduction du permanganate de potassium par les matières organiques d'origine animales ou végétales contenues dans une eau.

-Réactifs :

- Solution acide sulfurique 50%

- Solution de permanganate de potassium N/80 à préparer à partir d'une solution N/10 récemment titrée, vérifier le titre de cette solution 1ml de la solution N/80 correspond à 0.1mg d'oxygène.
- Solution d'acide oxalique N/80 à préparer à partir d'une solution N/10 récemment titrée.

Mode opératoire :

Introduire dans un erlemmeyer de 500, 100ml d'eau à analyser et 10ml d'acide sulfurique à 50%, ajouter 10ml de solution de permanganate de potassium N/80, porter l'échantillon à l'ébullition ménagée pendant 10 minutes à partir du moment où les bulles en formation au fond du ballon viennent avec la surface du liquide, ajouter ensuite 10ml d'acide oxalique N/80 pour décolorer, prévenir immédiatement à la teinte rose faible mais persistante à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium N/80 faire un essai à blanc en opérant les mêmes conditions. (Amino, 1983 ; Rodier, 1996).

4.10. Dosage de calcium (Ca^{+2}) : Méthode par complexométrie

-Principe :

Le principe est identique à celui de la méthode complexométrique décrite pour la dureté totale.

Comme le dosage se fait à un pH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. Par ailleurs, l'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium.

-Réactif :

- Indicateur coloré : Murexide
- Solution d'EDTA (N/50)
- Solution d'hydroxyde de sodium à 2N

-Mode opératoire :

- Introduire 50ml d'eau à analyser dans un erlemmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques grains d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet. (Fig.25). (Amino1983 ; Rodier, 1996).

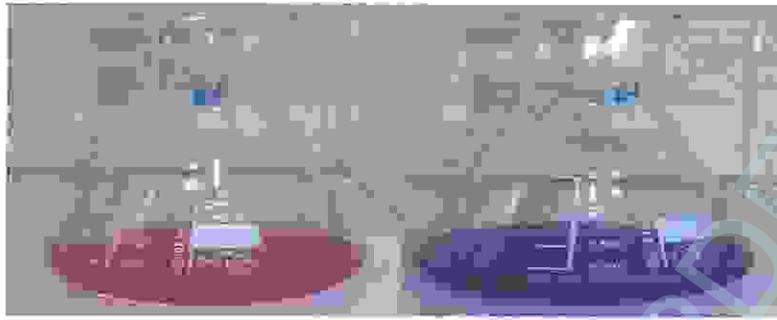


Fig. 27. Dosage de calcium.

4.11. Dosage de Mg^{+2} :

-Réactifs :

- Solution d'EDTA (N/50)
- Noir d'eriochrome T
- NH_4OH à PH=10

-Mode opératoire :

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un erlemmeyer au col large, ajouter 02ml de NH_4OH à PH=10 et une pincée de noir d'eriochrome T, titrer par l'EDTA (N/50), jusqu'au virage de la couleur bleu. (Hakmi, 2002).

4.12. Résidus secs :

Principe :

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

Mode opératoire :

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.
- Prélever 200ml d'eau à analyser.
- Porter à l'étuve à $105^{\circ}C$ pendant 24 heures.

- Laisser refroidir pendant ¼ heures au dessiccateur.
- Peser immédiatement et rapidement. (Amino, 1983 ;Rodier, 1996).

4.13. Matières en suspension (MES) :

Principe :

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

-Matériel spécial :

- Dispositif de filtration sous vide ou sous pression (rampe).
- Membranes de filtration.

Mode opératoire :

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105°C pendant 20minutes.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les pesée : soit p1=poids des membranes avant filtration.
- Placer les membranes dans la rampe à filtration et faire passer 200ml d'eau à analyser a travers.
- Rendre les membranes à l'étuve (à105°C) a fin de sécher pendant 20minutes.
- Les laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une deuxième fois soit p2= poids des membranes après filtration. (Rodier, 1996; Hakmi, 2002).

4.14. Détermination de l'alcalinité (HCO_3^-):

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

-Principe :

Ces déterminations sont basés sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un incolore ;

-Réactifs :

- Acide chlorhydriques ou sulfuriques N/50
- Solution de méthylorange à 0.5

- Eau permutée exempte d'acide carbonique libre (par ébullition de 15 minute)

Mode opératoire :

T.A :

- 100ml d'eau à analysé
- 02 à 03 gouttes de phénol phalline
- Si une coloration rose apparaît titrer avec L'H₂SO₄ jusqu'au disparation de couleur
- Si la couleur n'apparaît pas Ta =0 (PH< 8.3 ⇔ TA =C).

T.A.C :

- 100 ml d'eau à analysé
- 02 à 03 gouttes de méthylorange à 0.5

Titrer par l'H₂SO₄ (N/50) jusqu'au virage rouge orange (Rodier, 1996).

4.15. L'azote des nitrates:

Ils jouent un rôle important comme engrais, car ils constituent le principal aliment azoté des plantes, dont ils favorisent la croissance. Toutes les eaux naturelles contiennent normalement des nitrates à des doses variant selon les saisons. Les ions nitrates se forment naturellement dans le cycle de l'azote. Les concentrations de nitrates d'origine naturelle dans les eaux de surface sont généralement de quelques milligrammes par litre. (8).

Pour le dosage des nitrates les méthodes proposées sont la chromatographie ionique, applicable aux teneurs supérieures à 1mg/L., la réduction au cadmium de 0.01 à 1 mg/L en N, avec une adaptation en automatique de 0.05 à 20 mg/L. Les méthodes spectrophotométriques exigent un échantillon limpide : les échantillons turbides doivent être filtrés sur membrane de 0.45µm après avoir effectué le dosage.

-Principe:

Les nitrates sont réduits, à travers une colonne de cadmium. En nitrites qui sont dosés par spectrophotométrie.

-Mode opératoire:

Faire passer 100 ml d'un mélange composé de 25 ml d'échantillon et de 75 ml de solution de chlorure d'ammonium EDTA à travers la colonne. Ecarter les 30 premiers millilitres et réaliser la détermination des nitrites sur 50 ml de la fraction restante par la méthode de dosage des nitrites. (Amino, 1983 ; Rodier, 1996).

4.16. L'azote des nitrites:

Les nitrites sont des composés azotés solubles dans l'eau qui se forment lorsque la dégradation microbiologique des nutriments (résidus de nourriture) est incomplète. Leur présence peut aussi être due à un apport d'eaux chargées en nitrites ou d'eaux pluviales (surtout après les orages). Lorsque l'écosystème est intact, l'analyse de l'eau ne doit détecter aucun nitrite. Même à très faible concentration (0,2 mg/l), les nitrites peuvent avoir des incidences extrêmement négatives sur un bassin et intoxiquer tous les poissons qu'il contient. Cette toxicité est due principalement à ce qu'en se fixant dans le sang, les nitrites empêchent le transport de l'oxygène. (Amino, 1983).

-Réactif:

Réactif1 : solution de sulfanilamide.

Réactif 2 : solution de N-naphtyl-ethylenediamine.

-Mode opératoire :

La température des échantillons doit être comprise entre 15 et 25 °C .On procède comme suit :

- Rincer une éprouvette de 50 ml avec l'eau à analyser.
- Introduire 50 ± 1 ml de l'échantillon.
- Ajouter 1ml du réactif 1 et mélanger.
- Laisser reposer 2 à 8 min.
- Ajouter 1 ml du réactif 2 et mélanger à nouveau
- Attendre au moins 10 min mais pas plus de 2 heures.
- Mesurer l'absorbance en cuve de 10 cm de trajet optique à la longueur d'onde de 543nm en prenant de l'eau distillée comme référence. (Amino, 1983 ; Rodier, 1996).

Chapitre III :

DISCUSSION ET RESULTATS



Les résultats des analyses bactériologique et physicochimique des échantillons d'eau Prélevés et que nous avons obtenus sont présentés sous forme des graphes et des diagrammes Exprimant les différentes variations de tous les paramètres étudiés.

I. Paramètres bactériologiques :

Nous avons effectué pendant notre travail un dénombrement et une recherche systématique des germes indicateurs de pollution et qui sont .

- Les germes totaux. (Flore mésophile totale).
- Les coliformes totaux et fécaux (thermo tolérant).
- Les streptocoques fécaux.

1.1. Les germes totaux:

D'une manière générale, les dénombrements de la flore totale sont plus élevés dans les trois points de prélèvements durant la période estivale. Cependant les nombre sont plus faibles pendant la période humide. Cela se traduit par l'influence saisonnière et beaucoup plus par la température sur la croissance de ces micro-organismes.

Pour la flore à 22°C, nous observons que le nombre est encore plus important pendant la période sèche (Fig.28) Ici la température n'influe pas de la même manière que pour les germes à 37°C.

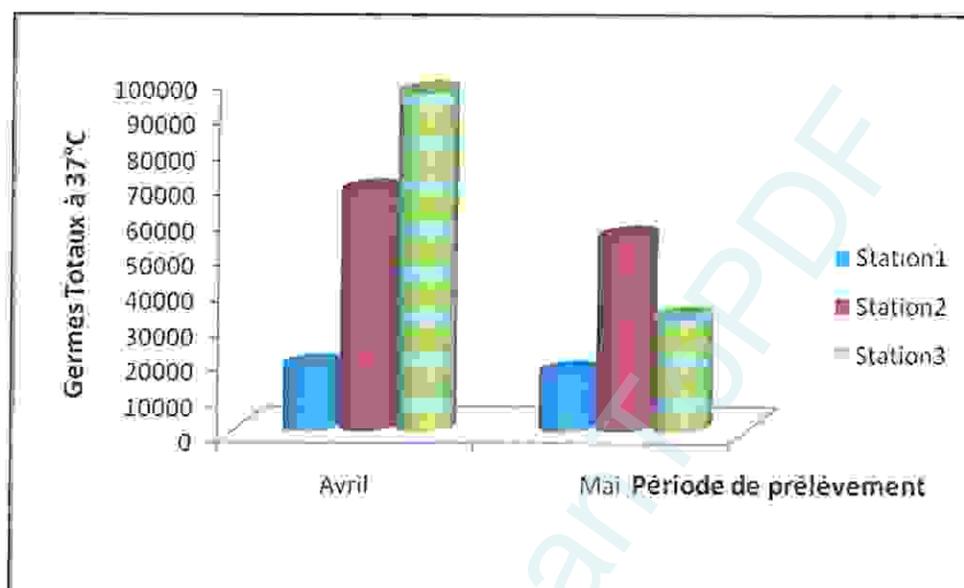


Fig.28. Evaluation de la flore mésophile totale à 37°C de l'eau du Lac Tonga.

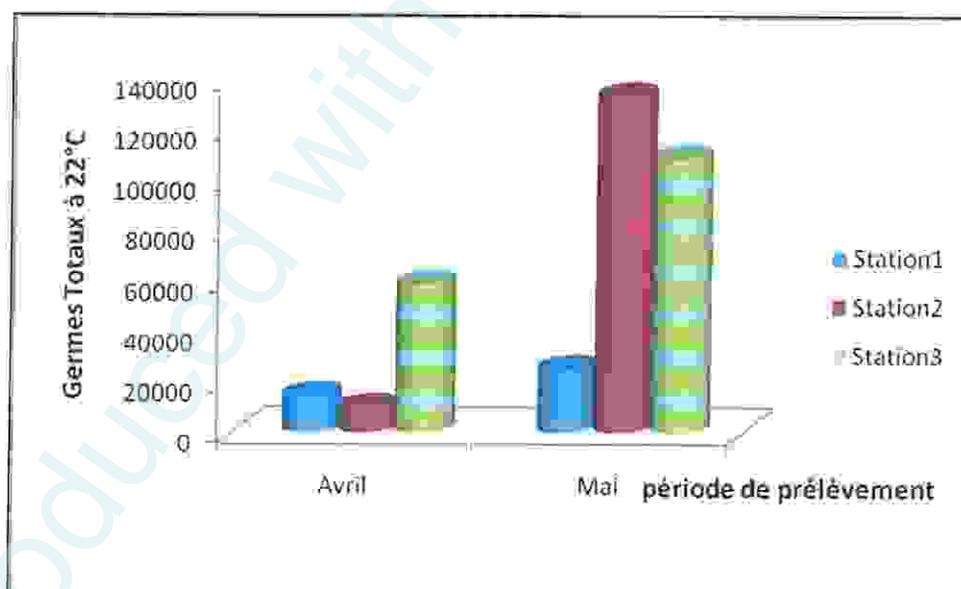


Fig. 29. Evaluation de la flore mésophile totale à 22°C du l'eau de Lac Tonga.

1.2. Les coliformes totaux et fécaux:

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 in Aouissi 2009).

Les variations du nombre de bactéries dans les différentes stations, situées sur le Lac Tonga, sont illustrées. Fig. (30).

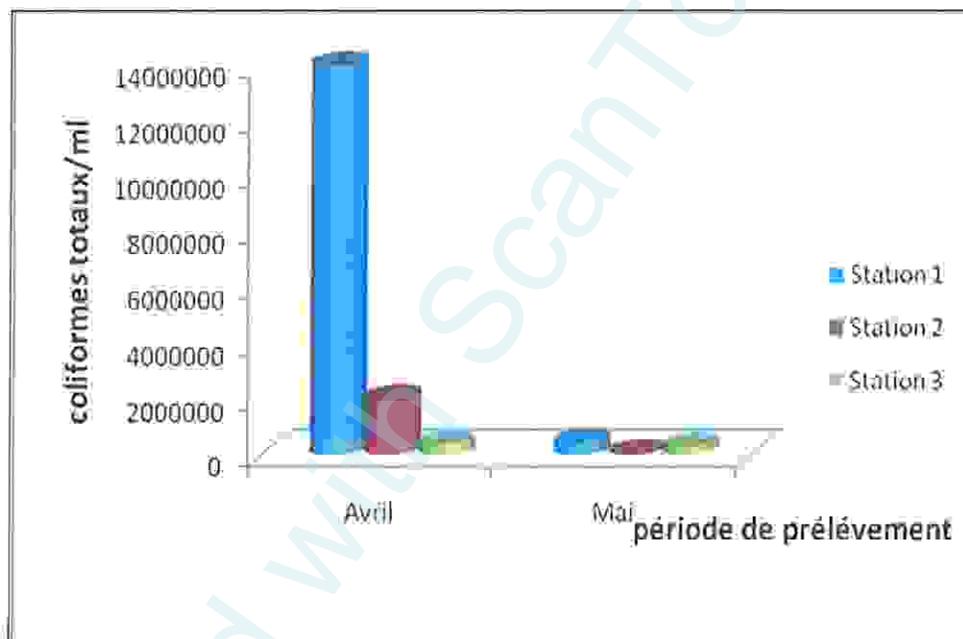


Fig. 30. Estimation des coliformes totaux /ml dans l'eau de Lac Tonga.

Le nombre des coliformes totaux est élevé durant le mois d'avril par rapport au mois de mai à cause de la précipitation. La précipitation durant le mois de mai explique la diminution du nombre de coliformes totaux par rapport au mois d'avril qui a été caractérisé par une température élevée et une précipitation faible.

Les effectifs des coliformes présents dans le site (1) « 1.4×10^7 » sont plus importants dans la station (1) que dans les deux autres stations (2 et 3). Cette variation est due à la situation de la station (1) qui est près d'un village contrairement aux autres sites qui sont plus loin.

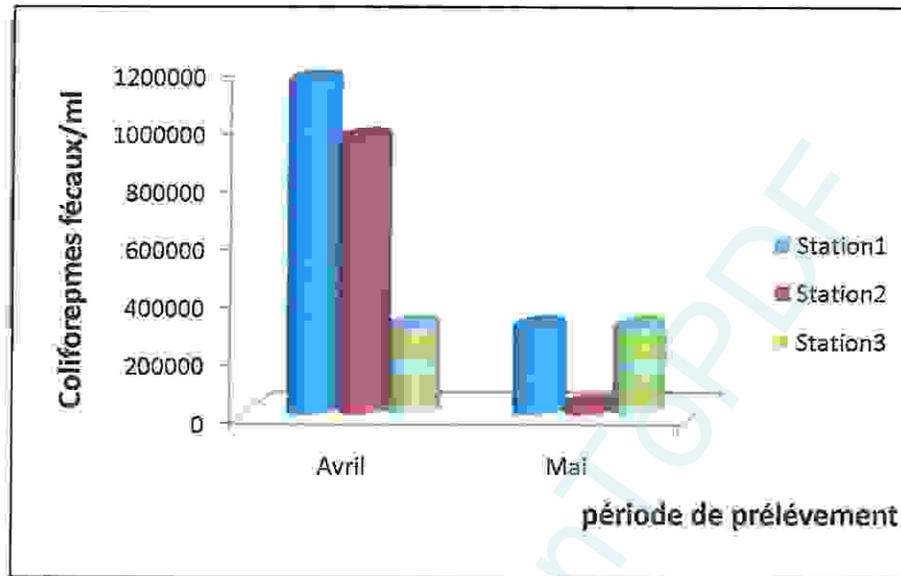


Fig. 31. Estimation des coliformes fécaux /ml dans l'eau du Lac Tonga.

Le graphe nos montre un nombre élevé des coliformes fécaux dans le la station (1) $1,2 \times 10^7$ qui indique une contamination fécale due a un nombre remarquable à cause de l'élevage des vaches dans le village Fig(31)

1.3. Les streptocoques fécaux:

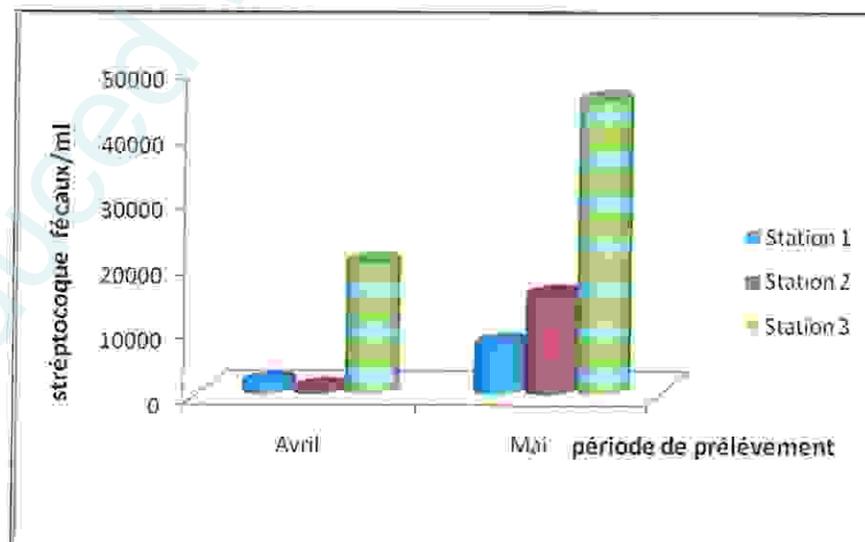


Fig.32. Estimations des streptocoques fécaux / ml dans l'eau du Lac Tonga.

L'estimation des streptocoques fécaux nous montrent que durant les deux mois, les effectifs les plus élevés ont été observés dans la station (3) et la charge la plus élevée dans le mois de mai.

Ce phénomène est due à l'abondance de l'avifaune aquatique (oiseaux) dans cette station.

1.4. Les ASR:

Les anaérobies sulfite-réducteurs sont souvent considérés comme des indices de contamination ancienne. L'absence des spores ASR dans nos résultats indique l'absence des espèces sulfite-réductrices (*Clostridium* sp).

Tab 11. : Résultat de la recherche des Anaérobies sulfite-réducteurs (ASR).

| | | |
|------------------|-------------------------|---|
| Vlande foie (VF) | Colonie noire de 0.5 mm | - |
|------------------|-------------------------|---|

D'après les résultats de dénombrement : les conditions environnementale et les activités humaines jouent toujours un rôle important dans la variation et l'abondance des micro-organismes dans le site étudié.

Tab. 12. Aspect macroscopique et microscopique des colonies.

| Culture | Observation macroscopique des colonies | Observation microscopique des colonies |
|-----------------------|---|--|
| Gélose nutritive (GN) | Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 2mm de diamètre. | Bacilles isolés ou en chaînettes, Gram négatif. |
| Mac-Conkey | Rose élevée, lisse brillante, circulaire, 1mm à 2 mm de diamètre (Fig.34). | Bacilles isolés, Gram négatif (Fig. 34). |
| Chapman | Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche ou jaune. (Fig.33). | Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif. (Fig.33). |
| Hektoène | Petites colonies à contours régulier, soit pigmenté en: -vert ou bleu vert pour les germes lactose négatif. - jaunes quand le lactose est positif. (Fig. 35). | Bacilles isolés, Gram négatif |
| SS | Culture négative | - |

Les résultats de l'ensemencement sur les milieux gélosés donnent des colonies distinctes d'aspects morphologiques différents.

L'étude microscopique des colonies par coloration de Gram montre que les bacilles Gram (-) sont les plus répondus que les cocci Gram (+)

1.5. Recherches de germes pathogènes:

La recherche de germes pathogènes a été effectuée sur plusieurs milieux de cultures en utilisant plusieurs méthodes, (ensemencement par stries, par inondation, ...). De plus pour la recherche de certains germes: (staphylocoques, les entérobactéries..... et autres), on a utilisé plusieurs milieux

(Figs.33, 34 et 35) et testes biochimiques. Les résultats trouvés sont résumés dans les tableaux suivants (Tabs. 11 et 12).

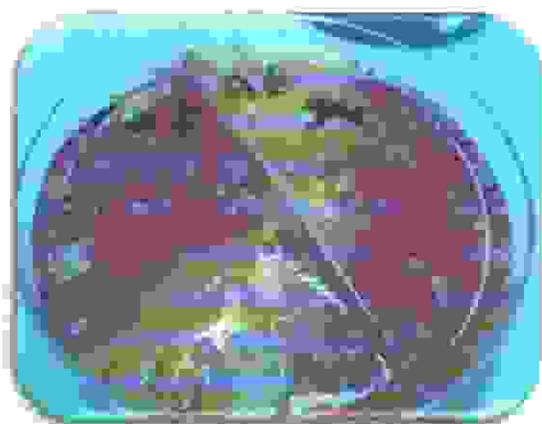
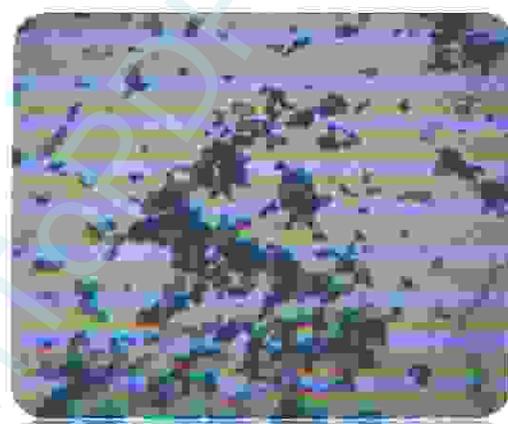


Fig.33. Aspect des colonies sur gélose Chapman.



**Fig. 33'. Aspect des cocci Gram(+)
Regroupées en amas**



Fig. 34. Aspect des colonies sur gélose Mac-Conkey.



Fig. 34'. Aspect des bacilles Gram(-).

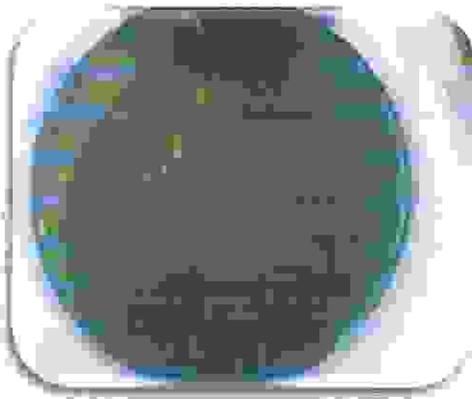


Fig.35. Aspect des colonies jaunes

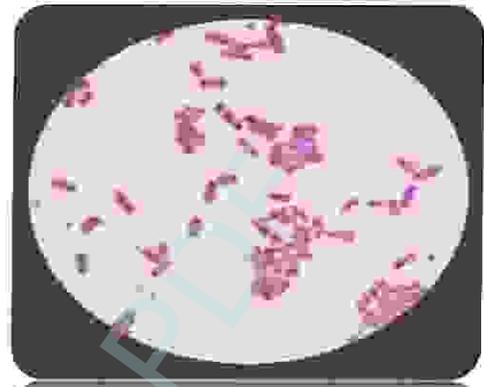


Fig.35', aspect des bacilles Gram

2-1. Résultats de l'identification biochimique:

LES RESULTATS DE L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE PAR LA GALERIE CLASSIQUE.

➤ La Galerie API20E :

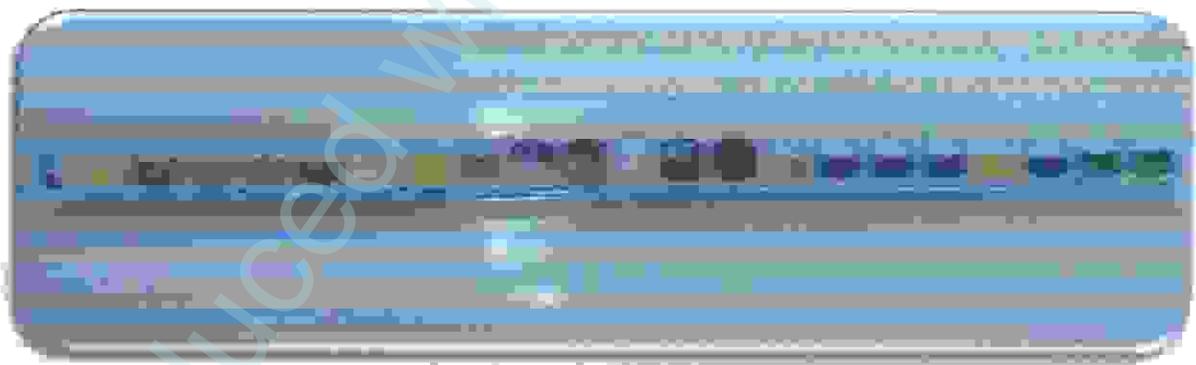


Fig. 36. Résultats de quelques identifications biochimiques par API20E.

(*aeromonas hydrophila*)

➤ **La Galerie classique :**

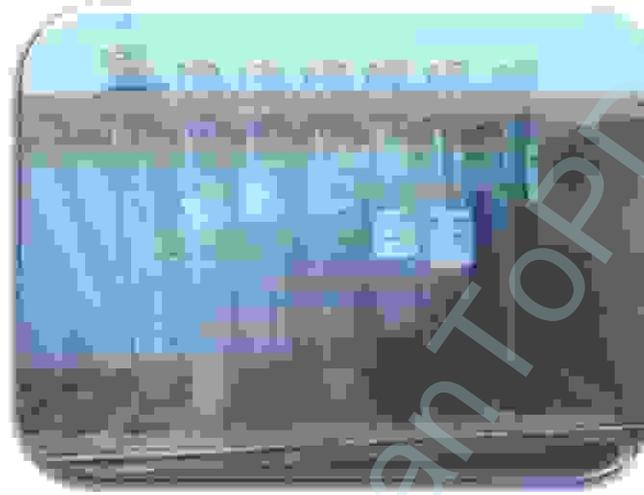


Fig. 37. Résultats de quelques identifications biochimiques par Galerie classique (*Serratia marcescens*).

2. Paramètres physico-chimiques

2.1. La couleur apparente:

La coloration de l'eau peut être causée par la présence de minéraux naturels (le fer et le manganèse), Les algues, les protozoaires, les produits de la décomposition des végétaux de même que les composés organiques et inorganiques provenant d'effluents industriels et des eaux de ruissellement des terres agricoles peuvent aussi teinter l'eau (Rejsek, 2002).

Pour Lac Tonga on a constaté que ses eaux ont été légèrement troubles durant toute la période de notre étude. Cette couleur a été altérée a partir du mois de mai surtout en période de crue ou elle a pris une couleur jaunâtre brune, surtout au niveau de la station 2.

2.2. La température:

La température est une mesure momentanée, qui dépend de l'heure et du lieu de prélèvement

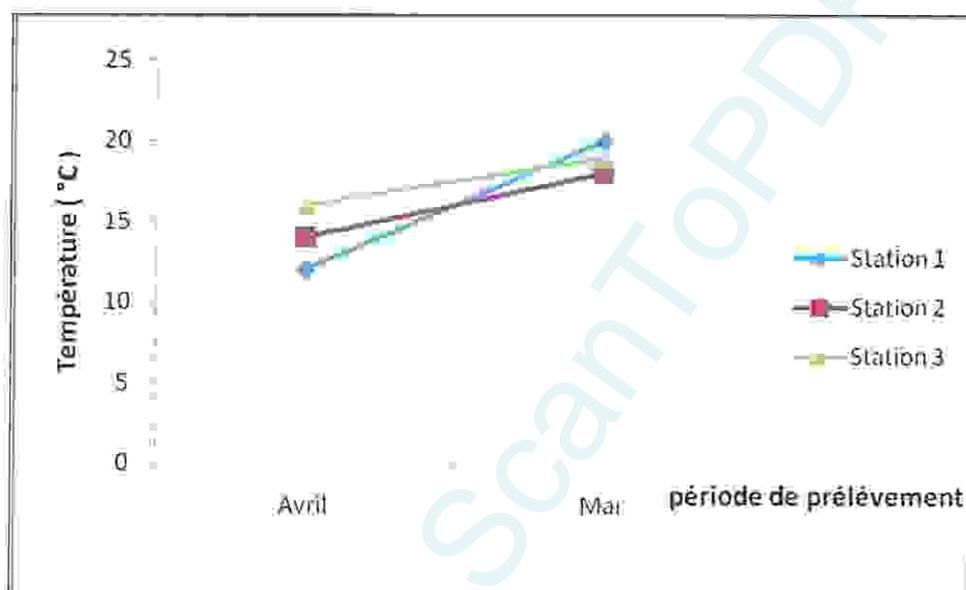


Fig. 38. Variations de la température de l'eau du Lac Tonga.

D'après les résultats (Fig.38), la température minimale de l'eau de Lac Tonga est 12°C enregistrée dans le mois d'avril à la station (S1). La température maximale est 20°C notée pendant le mois de mai à la station (S1).

En effet, la température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques (Ramade, 1993). Elle conditionne les possibilités de développement et la durée du cycle biologique des espèces aquatiques (Angelier, 2003)

2.3. Le pH:

Le pH représente le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu aquatique. Le pH des écosystèmes aquatiques est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques. (Benlatrech et Benslimen, 2002).

Le pH de l'eau de Lac Tonga est plus au moins neutre. Il oscille entre 5.5 et 6.3 (Fig.39).

La valeur la plus faible est observée à la station (S3) pendant le prélèvement de (Mai), la plus élevée est relevée au prélèvement de (Avril) à la station (S3).

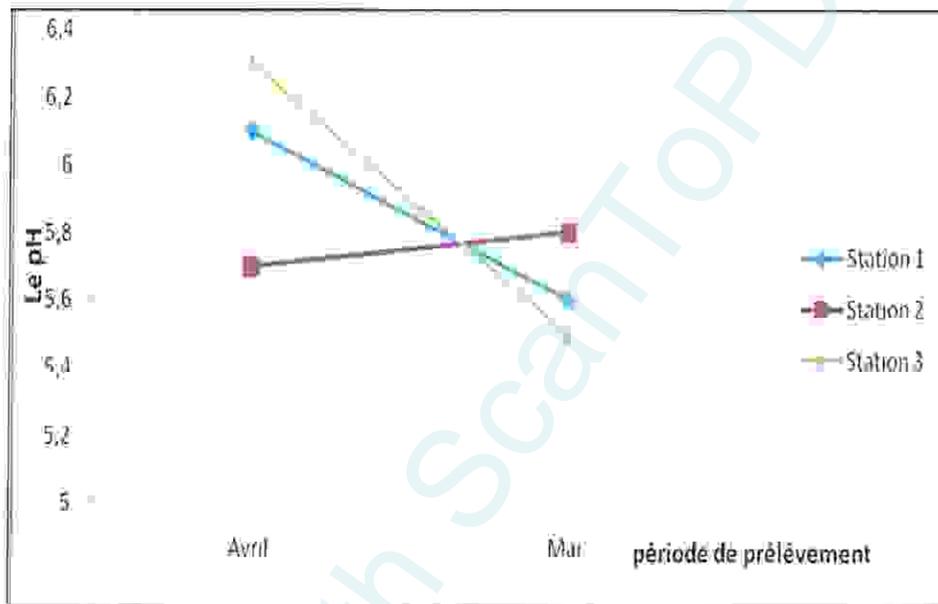


Fig. 39. Variations spatio-temporelles du pH de l'eau du Lac Tonga.

Un pH compris entre 7 et 10 permet un développement à peu près correct de la faune et de la flore aquatique. (Nisbet et Verneaux, 1970).

La grille d'appréciation de la qualité de l'eau (Ministère algérien des ressources en eau), nous permet de conclure que la qualité de l'eau de Lac Tonga est bonne (5.95)

2.4. La Conductivité électrique:

La conductivité électrique présente des variations importantes s'observant essentiellement durant la période pluvieuse (Fig.40).

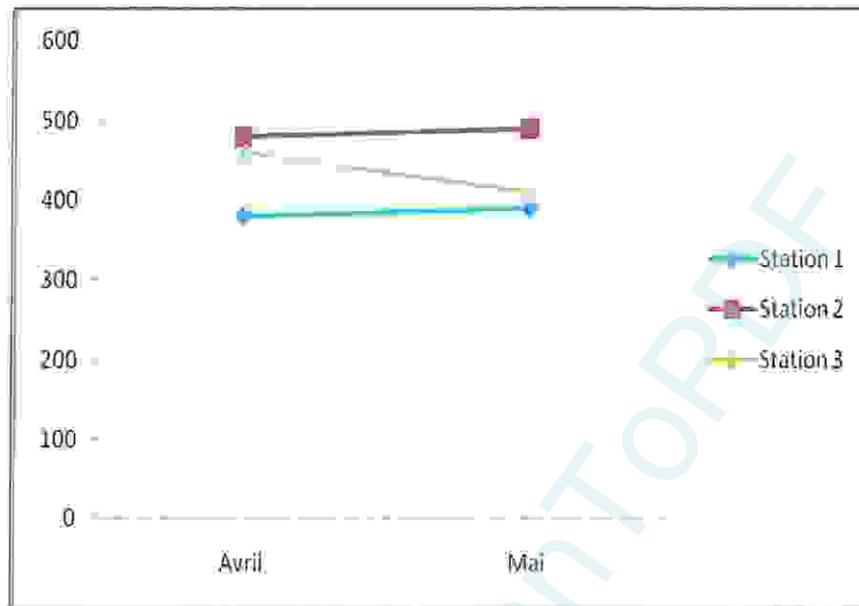


Fig. 40 Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Lac Tonga

- La valeur la plus faible est $380\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S1) au mois de mai, la plus élevée est $490\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée au niveau de la station (S2) au mois d'Avril.
- La mesure de la conductivité électrique permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau. (Rodier, 2005).
- Elle dépend de la qualité des sels ionisables. Elle constitue une bonne appréciation des concentrations globales des matières en solution dans l'eau.
- D'une manière générale, la diminution de la conductivité électrique dans les périodes pluviales peut être attribuée à un phénomène de dilution (Mehennaoui, 1998). Cependant, ce paramètre croît progressivement avec l'évaporation de l'eau (période estivale).

D'après la grille de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989). L'eau de Lac Tonga est passable à bonne selon la période de prélèvement.

2.5. La matière en suspension :

Toutes les eaux superficielles contiennent des Matières en suspension et des teneurs de quelques mg/l ne posent pas de problèmes majeurs. Leurs teneurs et leurs compositions minérales et organiques sont très variables (Mebarki, 1982).

- Les valeurs des MES varient de manière régulière dans toutes les stations. Elles sont importantes durant la saison pluvieuse (mais) (Fig.41).

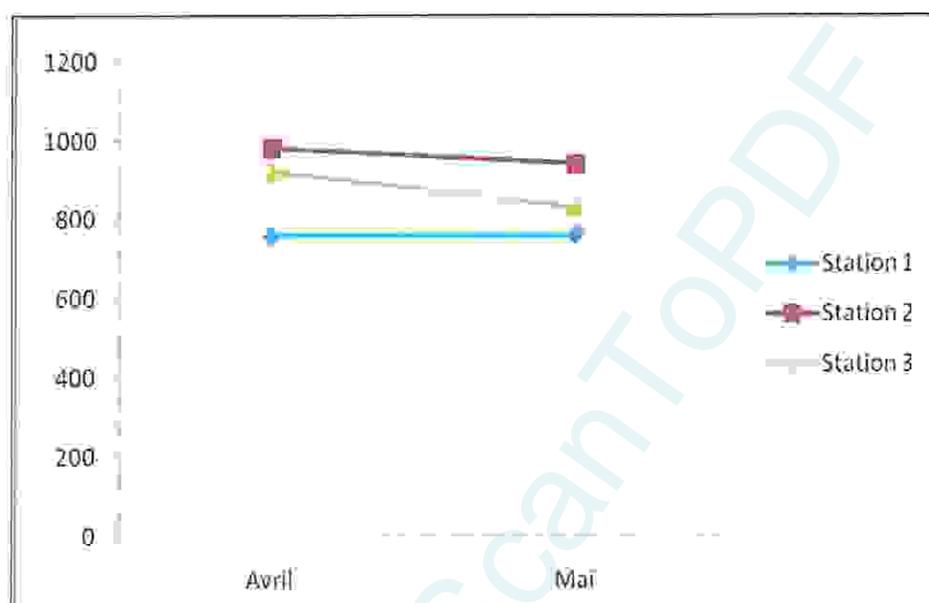


Fig. 41. Variations des MES en mg/l de l'eau du Lac Tonga.

Tab.13. Résultat des paramètres physico-chimiques :

| Paramètres | Résultats |
|------------------------------|------------|
| Nitrites (NO_2^-) | 0.010mg/ |
| Nitrates (NO_3^-) | 0.0569mg/L |
| Ammonium (NH_4^+) | 0 |
| Sulfate | 8.6mg/L |
| Le Fer (Fe^{+2}) | 0.46mg/L |

Tab.14. Résultat des paramètres physico-chimiques :

| Paramètres | Résultats |
|-----------------------------------|------------|
| La dureté (TH) | 140mg/L |
| Calcium (Ca^{++}) | 32.144mg/L |
| Magnésium (Mg^{++}) | 11.28mg/L |
| Les chlorures | 99.4mg/L |
| L'alcalinité (HCO_3^-) | 1060mg/L |
| HCO_3^- | 129.32mg/L |
| Les TDS | 210 mg/L |
| La matière organique | 8.5 |
| Résidus sec à 105°C | 381mg/L |
| Matières en suspension | 52mg/L |

Conclusion

Le Lac Tonga (36° 53' N, 08° 31' E) est un lac d'eau douce permanent qui s'étale sur une superficie de 2500ha. Il est caractérisé par sa richesse floristique et faunistique.

Afin de déterminer la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau du Lac Tonga, des analyses ont été réalisées pendant deux mois (avril et mai 2011) et qui ont portées principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale et sur la détermination de la concentration de certains éléments physico-chimiques dans l'eau du Lac.

Les résultats des analyses chimiques ont montrés que la variation de la concentration des éléments est étroitement liée à l'interférence de plusieurs facteurs (pluies, substrat géologique, activités anthropiques....) alors que les résultats des analyses microbiologiques nous exposent une contamination fécale de l'eau du lac signalée par une forte concentration en coliformes fécaux et en streptocoques fécaux.

Cette pollution affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur la santé de ces habitants.

Produced with Scantopdf

Les Annexes

1-Composition des milieux de culture :

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

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

| | |
|--------------------------------|---------|
| Peptone exempte d'indole | 10 g/l. |
| Chlorure de sodium | 5 g/l. |
| pH final | 7.2. |

➤ **Préparation** :

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

◆ **B.C.P.L (bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre)**: il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

Il y a deux types:

➤ **Double concentration** :

| | |
|--|-----------|
| Peptone | 10 g/l. |
| Extrait de viande | 6 g/l. |
| Lactose | 10 g/l. |
| Pourpre de bromocrésol | 0,05 g/l. |
| Eau distillée | 1000 ml. |
| pH final =6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. | |

➤ **Simple concentration** :

| | |
|--|------------|
| Peptone | 5 g/l. |
| Extrait de viande | 3 g/l. |
| Lactose | 5g/l. |
| Pourpre de bromocrésol | 0,025 g/l. |
| Eau distillée | 1000 ml. |
| pH final =6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. | |

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

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

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

➤ **Préparation :**

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

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

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

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

➤ **Préparation :**

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

◆ **Milieu de Hektoen :**

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

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| Protéase peptone..... | 12g/l |
| Extrait de levure | 3.0 g/l |
| Saccharose..... | 12.0 g/l |
| Lactose..... | 2.0 g/l |
| Solicine..... | 2.0 g/l |
| Chlorure de sodium..... | 5.0 g/l |
| Thio sulfate de sodium..... | 5 g/l |
| Citrate ferrique ammoniacal | 5 g/l |
| Sels biliaires | 9.0 g/l |
| Bleu de bromothynol..... | 0.064 g/l |
| Fuchsine acide | 0.04 g/l |

➤ **Préparation :**

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 15 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7,7±0,1.

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

➤ **Milieu de base :**

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

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

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

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

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

| | |
|-------------------------|------|
| Peptone | 5g/l |
| Extrait de viande | 1g/l |

| | |
|--------------------------|-------|
| Extrait de levure | 2g/l |
| Chlorure de sodium | 5 g/l |
| Agar | 15g |
| pH =7.4 (environ) | |

➤ **Préparation :**

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

◆ **Rothe (bouillon glucose l'acide de sodium) :** il y a deux types :

➤ **Double concentration :**

| | |
|------------------------------------|--------|
| Tryptone..... | 40 g |
| Glucose..... | 10 g |
| Chlorure de sodium | 10 g |
| Phosphate bi potassique | 5.4 g |
| Acide de sodium | 0.4 g |
| Eau distillée..... | 1000ml |
| pH =6.8 autoclavage=15 mn à 121°C. | |

➤ **Simple concentration :**

| | |
|-----------------------------------|--------|
| Tryptone | 20 g |
| Glucose..... | 5 g |
| Chlorure de sodium..... | 5g |
| Phosphate bi potassique..... | 2.7 g |
| Acide de sodium | 0.2 g |
| Eau distillée..... | 1000ml |
| pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C. | |

◆ **Eva-Litsky :**

| | |
|------------------------------|---------|
| Peptone..... | 20g/l |
| Glucose | 5g/l |
| Chlorure de sodium | 5g/l |
| Phosphate bi potassique..... | 2.7 g/l |
| Azosphate de sodium..... | 0.3 g/l |
| Ethyle- vliote..... | 5g/l |
| pH =7 | |

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

| | |
|------------------------|--------|
| Tryptone..... | 5g |
| Glucose..... | 1g |
| Extrait de levure..... | 2,5 g |
| Gélose..... | 15g |
| Eau distillée..... | 1000ml |
| pH =7 | |

-Milieu BHIB : pH=7.4

| | |
|-----------------------------------|---------|
| Protéose peptone..... | 10g/l |
| Infusion de cervelle de bœuf..... | 12.5g/l |
| Chlorure de sodium..... | 5g/l |
| Phosphate disodique..... | 2.5g/l |
| Glucose..... | 15g/l |
| Eau distillée..... | 1000ml |

2. Réactifs :

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

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

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

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

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

➤ **VP 1 :**

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

➤ **VP 2 :**

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

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

Coloration de Gram :

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

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

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

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

Réactifs utilisés dans les analyses physico-chimiques

1. Réactifs des phosphates :

-Réactif Mixte :

- molybdate d'ammonium.....13 g.
- Eau distillée.....100 ml.
- Tartrate d'antimoine.....0,35 g.
- Eau distillée.....100 ml.
- Acide sulfurique pur.....150 ml.
- Eau distillée.....150 ml.

(A + B) + C 500 ml d'eau distillée.

-Acide ascorbique

- Acide ascorbique.....10 g.
- Eau distillée.....100 ml.

-Solution mère à 50 mg/l PO4

-Solution fille à 2 mg/l PO4

2. Réactifs de nitrate :

-Solution de salicylate de sodium à 0.5 % (renouveler toutes les 24 h). 0,5 g de salicylate de sodium dans 100 ml d'eau distillée.

-Solution d'hydroxyde de sodium 30 %. 30 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillée.

-H2SO4 concentré.

-Tartrate double de sodium et de potassium.

-Hydroxyde de sodium Na OH.....400 g.

-Tartrate de sodium et de potassium.....60 g.

-Eau distillée..... qsp 1000 ml.

-Laisser refroidir avant de compléter à 1000 cc.

-Cette solution doit être conservée dans un flacon de polyéthylène

Solution mère d'azote d'origine nitrique à 1000 mg/l.

-Nitrate de potassium anhydre0,722 g.

-Eau distillée1000 ml.

-Chloroforme 1 ml.

Solution fille d'azote d'origine nitrique à 5 mg/l.

3. Réactifs de tensioactifs:

-Solution tampon

Borate de sodium..... 9,535 g.

Ajouter gouttes à gouttes de NaOH à 0,1 N jusqu'à PH = 10,5

Eau distillée..... q.s.p 1000 ml.

-Solution mère de bleu de méthylène

Bleu de Méthylène0.25 g.

Eau distillée..... q.s.p 1000 ml.

Solution mère de bleu de méthylène, dissoudre 0,25 g de bleu de méthylène dans 1 litre d'eau distillée. Filtrer la solution sur membrane millipore (0,22 μ).

-Solution acide de bleu de méthylène

Solution acide de bleu de méthylène: à 1 litre d'eau distillée, ajouter 100 ml de solution tampon borate puis 50 ml de solution mère de bleu de méthylène. L'extraction est effectuée de la même manière que pour la solution de bleu de méthylène alcalin. Après la dernière extraction par le chloroforme, ajouter 100 ml d'acide sulfurique 1 N.

Cette solution ne se conserve que 24 heures.

-Chloroforme

1 ml d'éthanol dans 100 ml de chloroforme.

-Solution mère étalon de surfactif

Dodécylbenzènesulfonate de sodium..... 1 mg.

Eau distillée..... q.s.p 1000 ml.

Solution fille étalon de surfactif à 1mg/l: Amener 100 ml de la solution mère à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Table de Mac Grady :

Tableau N°1 : Détermination du nombre caractéristique, en fonction du nombre de tubes positifs pour des séries de 04 tubes par dilution.

| Nombre de tubes positifs dans chacune des 3 dilutions consécutives | Nombre de germes | Nombre de tubes positifs dans chacune des 3 dilutions consécutives | Nombre de germes |
|--|------------------|--|------------------|
| 000 | 0.0 | 320 | 1.4 |
| 001 | 0.2 | 321 | 1.7 |
| 002 | 0.4 | 322 | 2.0 |
| 010 | 0.2 | 330 | 1.7 |
| 011 | 0.4 | 331 | 2.0 |
| 012 | 0.6 | 340 | 2.0 |
| 020 | 0.4 | 341 | 2.5 |
| 021 | 0.6 | 350 | 2.5 |
| 030 | 0.6 | 351 | 5.0 |
| 100 | 0.2 | 500 | 2.5 |
| 101 | 0.4 | 501 | 3.0 |
| 102 | 0.6 | 502 | 4.0 |
| 103 | 0.8 | 503 | 6.0 |
| 110 | 0.4 | 504 | 7.5 |
| 111 | 0.6 | 510 | 3.5 |
| 112 | 0.8 | 511 | 4.5 |
| 120 | 0.6 | 512 | 6.0 |
| 231 | 1.4 | 513 | 8.5 |
| 240 | 1.4 | 520 | 5.0 |
| 300 | 0.8 | 521 | 7.0 |
| 301 | 1.1 | 522 | 9.5 |
| 302 | 1.4 | 523 | 12.0 |
| 310 | 1.1 | 524 | 15.0 |
| 312 | 1.4 | 325 | 17.5 |

313

1.7

530

8.0

Tab.2 : Lecture et interprétation des résultats de l'API 20 E

| Test | Substrat | Enzyme | Résultat | |
|----------------------------------|--|--|----------------------------------|---------------------------|
| ONPG | Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside | Beta-galactosidase | Positive | Négative |
| | | | Incolore | Jaune |
| ADH | Arginine | Arginine désahydrolase | Jaune | Rouge/orange |
| LDC | Lysine | Lysine décarboxylase | Jaune | Orange |
| ODC | Ornithine | Ornithine décarboxylase | Jaune | Rouge/orange |
| <u>CIT</u> | Sodium citrate | Utilisation de citrate | Vert | Bleu-ver/orange |
| <u>H₂S</u> | Thiosulfate de sodium | Production de H ₂ S | Incolore | Noir |
| URE | Urée | Uréase | Jaune | Rouge/orange |
| TDA | Tryptophane | Tryptophane désaminase | Jaune | Marron |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | Incolore | Rose |
| <u>VP</u> | Pyruvate de sodium | Production d'acétoïne | VP1+ VP2 | |
| | | | Incolore | Rose/rouge |
| <u>GEL</u> | Gélatine emprisonnant de charbon | Gélatinase | Pas de diffusion de pigment noir | Diffusion de pigment noir |
| GLU | Glucose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune/vert jaune |
| MAN | Mannitol | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| INO | Inositol | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| SOR | Sorbitol | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| RHA | Rhamnose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| SAC | Sucrose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| MEL | Melibiose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| AMY | Arabinose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| ARA | Arabinose | Fermentation /oxydation | Bleu/bleu vert | Jaune |
| NO ₃ -NO ₂ | GLU tube | Production de NO ₂ réduction N ₂ gaz | NIT 1+NIT 2, 2-3 min | |
| | | | Jaune | Rouge |

Les Normes de POMS :

| | Excellente | Bonne | Passable | Médiocres | Pollution excessive |
|---|------------|-------------|----------|-------------|---------------------|
| La dureté (TH) | <500 | / | / | / | / |
| Calcium (Ca ⁺⁺) | / | >32 et ≤160 | / | <32 ou ≥160 | / |
| Magnésium (Mg ⁺⁺) | / | 0-30 | 30-50 | 400 | 300 |
| Les chlorures | / | 0-25 | 250 | / | 250 |
| L'alcalinité (HCO ₃ ⁻) | / | | | | |

| | excellente | Bonne | Passable | Médiocres | Pollution excessive |
|------------------------------|------------|-------------|----------------|--------------------|---------------------|
| La matière organique | 2 | 5 | 8 | 10 | >10 |
| Résidus sec à 105°C | >3000 | 140 ET <300 | > 300 et <2000 | <140 et >2800<3000 | >3000 |
| Matières en suspension (MES) | >100 | 0_30 | 30-75 | 75-100 | >100 |

| | Excellente | Bonne | Passable | Médiocres | Pollution excessive |
|--|------------|---------|----------|-----------|---------------------|
| Nitrites (NO ₂ ⁻) | / | 0 -0,01 | | 0,1-3 | / |
| Nitrates (NO ₃ ⁻) | 2 | 5-20 | 25-50 | 50-80 | >50 |
| Ammonium (NH ₄ ⁺) | / | 0-05 | 0,5-2 | 2-8 | / |

| | Excellente | Bonne | Passable | Mediocres | Pollution excessive |
|----------------------------|------------|-------|----------|-----------|---------------------|
| Sulfate | | 0-25 | 25-250 | / | >35 |
| Le Fer (Fe ⁺²) | | 0,05 | 0,2 | 10 | / |

Les Références Bibliographiques :

- **-Abbaci H 1999** ; Écologie du Lac Tonga. Cartographie de la végétation, Palynothèque et Utilisation de l'espèce lacustre par l'avifaune. Thèse de magister, Université Badji Mokhtar, Annaba, 143 p.
- **-Adjami Y 2006** ; Etude des facteurs de dépérissement dans la subraie d'El Kala (Nord_Est Algérien) cas de la suberaie d'El Maïlah. Magister p3.
- **-Amino A 1983** ; Manuel des analyses chimiques en milieu marin. C.N.E.X.O.FRANCE. 395p.
- **-Angeli E 2003** ; Ecologie des eaux courantes. Technique et documentation. Lavoisier, Paris. 199p.
- **-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.
- **-Belair G 1990** ; Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre Écocomplexes lacustres et marécageux (El Kala, Est algérien) Thèse de doctorat, Montpellier, Université des sciences et techniques du Languedoc, 326p.
- **-Bellhadj G, B. Chalabi, Y. Chabi, Y. Kayser & M. Ghontier-Clerc 2007** ; Le retour de l'ibis falcinelle *Plegadis falcinellus* nicheur en Algérie. Aves 44 (1) : 29-36.
- **-Benyacoub S. & Y. Chabbi 2000** ; Diagnose écologique de l'avifaune du Parc National d'EL Kala .composition –statut-répartition.synthèse. Revue des sciences et technologie Publication de l'université d'Annaba (Algérie) no7 juin .98p
- **-Berche P, J-L. Gaillard, & M. Simonet 1988** ; Bactériologie, les bactéries des infections Humaines. Flammarion, 660p.

- **-Bouchaar S 2006** ; Les Cyanobacteries dans le lac tonga.
Pathologie des écosystèmes.
Université Badji Mokhtar, Annaba, 18p.
- **-Boukrouma N 2008** ; Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel: cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi).
Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p
- **-Boumezbeur A 1990** ; Contribution à la connaissance des Anatidés nicheurs en Algérie (cas du Lac Tonga et du Lac des Oiseaux).
Mémoire de D.E.A. USTL. Montpellier. 101p.
- **-Boumezbeur A 1993** ; Ecologie et biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (*Oxyra leucocephala*) et du fuligule nyroca (*Fuligula nyroca*) sur le Lac Tonga et le Lac des Oiseaux) Est algérien.
Thèse doctorat USTL. Montpellier. 250p.
- **-Bourgeois C.M. & J.Y. Leveau 1980** ; Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. T3.
Apria, 331p.
- **-BNEF** ; bureau national d'études forestiers (1979).
- **-Bremoud R. & R. Vuichard 1973** ; Les paramètres de la qualité des eaux. La documentation française, Paris, 173p.
- **-Camille D 2003** ; Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses.
Tec et Doc 156 p.
- **Carbonnelle D 1998** ; Bactériologie médicale techniques usuelles.
Méd. Mal. Inf. 251 p.
- **-Chaouch R 2007** ; Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba: aspect physico-chimique et bactériologique des eaux.
Mémoire de Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba. 105p.
- **-Dégrément 1998** ; Mémento technique de l'eau 8ème édition.
Tec et Doc. Paris 986p.

- **-Délarras C 2008** ; surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux :
Règlementation-Prélevements-Analyses.
TEC & DOC.269p.
- **-Denis F 2007** : Bactériologie médicale techniques usuelles.
Masson. 384p.
- **-Direction de la flore et la faune** : Atlas des 26 zones humides Algérienne
d'importance internationale.
- **-Benlatreche M. C. & Benslimen S 2002** ; Evaluation du niveau de pollution
organique et métallique (Zn, Cu et Ni) dans l'Oued Rhumel et son affluent
Oued Bumerzoug en zone urbaine (Constantine).
Mémoire d'ingénieur. Université Mentouri de Constantine. 101p.
- **-Joffin J-N. & G. Leyrol 2001**; Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des
techniques.
CRDP d'Aquitaine, 3^{ème} éditions. 320p.
- **-Hakmi A 2002** ; Traitement des eaux " analyse de l'eau de source bousfer
ORAN.
Mémoire de magister. Université des sciences et de la technologie Oran.71p.
- **-Houhamdi M 2002** ; Ecologie des peuplements aviens du Lac des oiseaux.
(Numidie orientale).
Thèse de doctorat d'état. Université Badji Mokhtar, Annaba 138p.
- **Guiraud J. P 1998** ; Microbiologie alimentaire.
Dunod. France. 652p.
- **-Labres E 2006** ; Manuel des travaux pratique : analyse des eaux.
Institut Pasteur d'Algérie.60p.
- **-Labres E 2008** ; Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de
boisson. Manuel des travaux pratique des eaux.
Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
- **-Landscape Aménagement 1998**; Plan directeur de gestion du Parc National
d'EL kala et du complexe des zones humides.
Agence nationale pour la conservation de la nature Algérie 234p

- **-Lébres E 2006** ; Manuel des travaux pratique : analyse des eaux.
Institut Pasteur d'Algérie.60p.
- **-Leclerc. 1996** ; Microbiologie générale.
Doin.368p.
- **-Mechennaoui F. Z 1998** ; Contribution à l'étude physico-chimique et biologique de l'Oned Kébir-Rhumel et ces principaux affluents.
Mémoire de magister en écologie. Université de Constantine. 238p.
- **Metallaoui S. & M. Houhamdi. 2008** ; Données préliminaires sur l'avifaune aquatique de la Garaet Hadj Taher (Skikda, nord-est algérien).
ABC Bull Vol 15 (1) : 71-76.
- **Mebarki A 1982** ; Le bassin du Kébir- Rhumel (Algérie). Hydrologie de surface et aménagement des ressources en eau.
Thèse de Doctorat de 3^{ème} cycle. Nancy II. 304p
- **-Mebarki W. 2006** ; Contribution à l'étude de certaines propriétés physico-chimiques des eaux des lacs Tonga et Obeira (nord-est algérien).
Mémoire fin d'étude. Université Badji Mokhtar, Annaba, 143 p.
- **-Ministère Algérien des ressources en eau 2005** ; Qualité des eaux superficielles dans le bassin hydrographique constantinois-Seybouse-Mallegue.
DHCNE.
- **-Monod T 1989** ; Méharées géographie.
France loisire. 233p.
- **-Nisbet M. & J. Verneaux 1970** ; Composantes chimiques des eaux courantes: discussion et proposition de classe en tant que base d'interprétation des analyses chimique.
Tome 6, 161-190.
- **-Ozenda P 1982** ; Les végétaux dans la biosphère.
Doin. Paris, 431p
- **-Pechère J, J. Acar, B. Grenier & E. Niboul 1982** ; Reconnaître, comprendre et traité les infections.
Edisem ST-Hyacinthe. 4^{ème} édition. Québec. 509p.

- **Pilet C, J.L Bourdou, B.Toma, N. Marchal, C. Balbastre, & J-M. Person 1987** ; Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. Doin. 372p.
- **-Raachi 2007** ; Etude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au Nord –Est Algérienne. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en géographie. p14, 44, 45. Université du Québec à Montréal
- **Ramade F 1993** ; Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Science Internationale. Paris, 822p.
- **-Rejsek F. 2002** ; Analyse des eaux ; aspects réglementaires Et techniques. Scerari. Paris.360p.
- **-Rodier J. 1996** ; L'analyse de l'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer. Dunod. 8ième édition. 1365p.
- **-Rodier 2005** ; L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Résiduaires. Eau de mer. Dunod. Paris; 8^{ème} édition. 1383p.
- **-Samraoui B. & G. Belair 1997** ; Connaissance du fonctionnement écologique des Zones humides du parc national d'El Kala et établissement des règles de gestion spécifiques
Étude d'expertise,
Projet GEF/Banque mondiale. ANN. 1997, 55 p.
- **-Samraoui B. & G. Belair 1998** ; Les zones humides de la Numidie orientale : Bilan des connaissances et perspectives de gestion. Synthèse.90p.
- **-Sayad L 2008** ; Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre lac des Oiseaux (Wilaya EL Tarf).
Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar. Annaba. 110p.

- -Seltzer P 1946 ; Le climat de l'Algérie.
Imp. La Typo-Litho et J. Carbonel, Algiers
- -Touati L 2008 ; Distribution spatio-temporelle des genres *Daphnia* et *Simocephalus* des mares temporaire de la Numidie .
Thèse de Magistère. Université de Guelma, 70p.

Les sites web

- (1) ; http://www.google.com/search?tbm=isch&client=firefox-a&rls=org.mozilla%3Afr%3Aofficial&hl=fr&source=hp&hiw=1366&bih=575&q=parc+national+d%27el+kala&btnG=Recherche+d%27images&gbv=2&oq=parc+national+d%27el+kala&aq=f&aql=&aql=&gs_sm=s&gs_upl=13078588404791-13078588404791010101010101010101
- (2) ; <http://googleearthonline.blogspot.com/>
- (3) ; <http://www.google.com/cse?cx=partner-pub-8184715702658212%3A162fla-20di&ie=UTF-8&q=lac+tonga&sa=Search>
- (4) ; http://www.google.com/imgres?imgurl=http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Milieu_culture/KING_fichiers/image008.jpg&imgrefurl=http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Milieu_culture/KING.htm&usg=__YNQ4wjO19j92O4hK8tJUJX5dyHI=&h=264&w=55&sz=3&hl=fr&start=31&zoom=0&um=1&itbs=1&fbid=sMiGIYW5eVLLfM:&tbnh=112&tbnw=23&prev=/search%3Fq%3Dmilieu%2Bking%2Ba%2Bet%2Bking%2Bb%26start%3D20%26um%3D1%26hl%3Dfr%26sa%3DN%26ndsp%3D20%26biw%3D1003%26bih%3D570%26tbn%3Disch&ei=b3PETYC_J4aM4gbq67ydbA
- (5) ; <http://91.121.162.160/MISC/gest/ficouleu.htm>
- (6) ; (http://www.ahlborn.fr/cbx/s4_gloss1101.htm)
- (7) ; (<http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA103Tur10.pdf>)