

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DU 8 MAI 1945 DE GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES ET DE L'INGENIERIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE MASTER

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
SPECIALITE : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE  
OPTION : BIOLOGIE MOLECULAIRE DES PROCARYOTES

Thèmes

**Qualité microbiologique des eaux de Oued Messida  
(wilaya d'El-Tarf)**

Présenté par :

- Rouaiguia Meriem.
- Cheriet Malika.

Membre de jury :

**PRESIDENT :** Dr Djekoun Mohamed M.A.A. (Université de Guelma)  
**ENCADREURS :** Pr Houhamdi Moussa Prof. (Université de Guelma)  
Melle Aouissi Amina Doctorante (Université de Guelma)  
**EXAMINATEUR :** Melle Boussadia Meriem Imené M.A.B. (université de Guelma)

Année 2009/2010

## **Remerciement**

*Nous vifs remerciements s'adresse au monsieur **Houhamdi Moussa** Professeur en biologie au département de biologie de l'université de Guelma et mademoiselle **Aouissi Amina** Magister en Hydro-écologie et doctorante en biologie qui nous ont fait l'honneur de nous guider et nous diriger tout le long de notre travail.*

*Nous remercions aussi profondément les deux personnes qui nous ont été d'un grand secours pendant la réalisation de ce travail : messieurs **Guergueb El- Yamine** et **Zeraoula Ali** (magistrants en écologie, département de biologie à l'université de Guelma).*

*Nos remerciements vont également à la commission d'examen :*

*Monsieur **Djekoun Mohamed**, Maitre Assistant A, mademoiselle **Boussadia Meriem Imene** Maitre Assistant B, tout deux enseignants au département de biologie de l'université de Guelma, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce modeste travail ; qu'ils soient assurés de ma profonde gratitude.*

*Nos remerciements vont également à monsieur **Kebieche Hacène**, Chef de service du laboratoire régional de la direction de la santé de la wilaya de Guelma.*

*Nous nous saurons finir sans remercier tous les enseignants du département de biologie de l'université de Guelma et les responsables de laboratoire du département, surtout Melle.*

**Houria.**

*Enfin, Nous exprimons également tous le bonheur du monde à nos collègues de la première promotion sortante 2010 du Master Biologie Moléculaire des Procaryotes.*



## SOMMAIRE

Introduction	01
<b>Première partie : étude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : description de site</b>	
λ 1. Présentation de la région d'El-Kala	02
1.1. Situation géographique et administrative du PNEK	02
1.2. Les objectifs du parc national d'El-Kala	04
× 2. Caractère physique	04
3.1. Pédologie	04
3.2. Hydrologie	04
× 3. Caractéristiques climatiques	06
4.1. La température	06
4.2. Données pluviométriques	07
4.3. L'hygrométrie	08
4.4. Les vents	08
4.5. Expression synthétique du climat	09
4.5.1. Climagramme d'Emberger	09
4.5.2. Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gausson	11
× <b>Chapitre II : Les maladies à transmission hydriques</b>	
λ 1. Définition des maladies hydriques	12
× 2. Les principales infections d'origine hydrique	13
2.1. Les infections bactériennes	13
2.1.1. La fièvre Typhoïde	13
2.1.2. Le cholera	18

2.1.3. La gastro-entérite	21
2.2. Les infections virales	25
2.2.1. L'hépatite A	26
2.2.2. L'hépatite E	28
2.3. Les infections parasitaires	31
2.3.1. L'amibiase	32
2.3.2. La bilharziose	33
2.4. Les infections par des agents fongiques	36
2.4.1. La candidose	36
✱ <b>Deuxième partie : étude expérimentale</b>	
✱ <b>Chapitre III : Matériel et méthode :</b>	
- 1. Prélèvement	42
- 2. Transport et conservation des échantillons	42
- 3. Méthodes d'analyse	42
3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables	42
3.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	45
3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes thermo tolérants	45
3.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	49
3.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)	52
3.3. Recherche des germes pathogènes	54
3.3.1. Recherche de <i>Salmonella</i>	54
3.3.2. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
3.3.3. Recherche des <i>Staphylocoques</i>	56
3.3.4. Recherche des levures ( <i>Candida albicans</i> )	58
4. L'identification	59



4.1. Examen macroscopique des caractères culturaux	59
4.2. Examen microscopique après coloration de Gram	59
4.3. Examen liés aux caractères biochimiques	60
4.3.1. L'API 20 E	60
4.3.2. La galerie classique	60
<b>* Chapitre VI : Résultats et discussion :</b>	
✕ 1 Résultats de la recherche et le dénombrement des micro-organismes de l'eau	66
1.1. Germes totaux	66
1.2.1. Coliformes totaux	66
1.2.2. Coliformes fécaux	67
1.2.3. Streptocoques fécaux	68
1.2.4. Les Anaérobies sulfite-réducteurs (A3R)	69
1.3. Identification des souches bactériennes	69
1.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	69
1.3.2. Résultats de l'identification biochimique	71
1.3.3. Résultats de profil biochimique de <i>Staphylococcus</i>	73
1.3.4. Identification des levures ( <i>Candida albicans</i> )	73
✕ 2. Discussion	74
Conclusion	76
Résumé	
Abstract	
✕ ملخص	
Références bibliographiques	
Annexes	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ASR : Anaérobies sulfitoréducteurs
- BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.
- °C : Degré Celsius
- CF : Coliformes fécaux
- CT : Coliformes totaux
- D/C : Double concentration.
- ECEH : Entérohémorragiques
- ECEI : Entéroenvahisseur
- ECEP : Entéropathogène
- ECET : Entérotoxigène
- Fig : Figure.
- g/l : Gramme par litre
- h : Heure
- IND : Indole.
- LDC : Lysine déshydrogénase.
- NPP : Nombre le plus probable.
- OMS : Organisation mondiale de santé.
- ONPG : Ortho-Nitrophényle-B-D –Galactosidase.
- P : précipitations moyennes annuelles
- pH : Potentielle Hydrogène.
- PNEK : Parc National d'El-Kala
- Q<sub>2</sub> : quotient pluviométrique.

RM : Rouge de méthyle.

S/C : Simple concentration.

SF : streptocoque fécaux

T : Température

Tab : Tableau

TDA : Tryptophane décarboxylase.

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

TSI : Triple Sagar Iron.

UFC : Unité formant colonie

VF : Viande Foie.

VP : Voges Proskawer.

Produced with ScanTOPDF

## Liste des figures

<b>Fig. 1</b>	Situation géographique de Oued Messida	4
<b>Fig. 2</b>	Carte de localisation du Parc National d'El- Kala	5
<b>Fig. 3</b>	Carte du réseau hydrographique de la région d'étude (PNEK)	6
<b>Fig. 4</b>	Graphe d'Emberger pour la région d'El Kala	7
<b>Fig. 5</b>	Diagramme ombro-thermique de la région d'El Kala	10
<b>Fig. 6</b>	Cycle de vie de <i>Schistosoma</i>	13
<b>Fig. 7</b>	Localisation des points de prélèvement	14
<b>Fig. 8</b>	présentation des points de prélèvement	15
<b>Fig. 9</b>	Recherche et dénombrement des germes revivifiables,	16
<b>Fig. 10</b>	Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes thermotolérants	17
<b>Fig. 11</b>	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	18
<b>Fig. 12</b>	Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)	19
<b>Fig. 13</b>	Recherche de <i>Salmonella</i>	23
<b>Fig. 14</b>	Recherche bactériologique sur les milieux gélosés	57
<b>Fig. 15</b>	Evolution du nombre des coliformes totaux	67
<b>Fig. 16</b>	Résultat de la recherche des coliformes fécaux	67
<b>Fig. 17</b>	Evolution du nombre de coliformes fécaux	68
<b>Fig. 18</b>	Résultat de la recherche des streptocoques fécaux	68
<b>Fig. 19</b>	Evolution de nombre des streptocoques fécaux	69
<b>Fig. 20</b>	Bâtonnets Gram (-)	70

<b>Fig. 21</b>	Cocci Gram (+)	70
<b>Fig. 22</b>	Résultat de la galerie classique pour <i>Klebsiella oxytoca</i>	71
<b>Fig. 23</b>	Résultat de la galerie classique pour <i>E.coli</i>	71
<b>Fig. 24</b>	Profil biochimique de <i>Aeromonas Hydrophila g2</i>	72
<b>Fig. 25</b>	profil biochimique de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	72
<b>Fig. 26</b>	profil biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72

Produced with ScanTOPDF



## Liste des tableaux

<b>Tab. 1</b>	Données climatiques de la région d'El-Kala	06
<b>Tab. 2</b>	Température de l'air période (1997-2006)	07
<b>Tab. 3</b>	Valeurs météorologique de la région d'El-Kala période (1997-2006)	09
<b>Tab. 4</b>	Valeurs météologique de la région d'El Kala. Source : Station météologique d'El Kala (1997-2006)	10
<b>Tab. 5</b>	Les principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique	13
<b>Tab. 6</b>	Les propriétés d' <i>E. coli</i> responsable de diarrhée	23
<b>Tab. 7</b>	Virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturelles	26
<b>Tab. 8</b>	Infections d'origine parasitaire transmises par l'eau	31
<b>Tab. 9</b>	présentation des points du prélèvement	40
<b>Tab. 10</b>	Résultats de la recherche et du dénombrement des microorganismes revivifiables	56
<b>Tab. 11</b>	Evolution du nombre des coliformes totaux	66
<b>Tab. 12</b>	Evolution du nombre des coliformes fécaux	67
<b>Tab. 13</b>	Evolution du nombre des Streptocoques fécaux	68
<b>Tab. 14</b>	Résultat de la recherche des Anaérobies sulfitoréducteurs(ASR)	69
<b>Tab. 15</b>	L'aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau de Oued Messida	70
<b>Tab. 16</b>	Résultats de l'identification biochimique	71
<b>Tab. 17</b>	Résultats de profile biochimique de <i>Staphylococcus</i>	73
<b>Tab. 18</b>	Résultats des tests d'identification des <i>Candida</i>	73

# *Introduction*

Produced with ScantOPDF

L'eau est indéniablement un élément vital et indispensable pour une vie normale, elle couvre 70% de la planète, c'est une molécule simple aux propriétés complexes qui existe dans la nature sous les trois formes « gaz, liquide et solide » et joue un rôle important dans tous les cycles biogéochimiques des éléments. Son importance pour l'économie ne cesse de croître, sa demande et son approvisionnement deviennent de plus en plus difficile à acquérir.

Les besoins en eau sont alors élargies ce qu'à évoqué en revanche un énorme problème menaçant la nature et l'homme de façon générale. La pollution par les eaux usées issus de différentes activités humaines que ce soit domestiques et/ou industrielles demeurent un problème de santé publique. Le contrôle biologique de ces eaux est cependant devenu impératif car il peut dans certains cas éviter de grandes catastrophes. Ce contrôle est basé principalement sur des dénombrements microbiens des différents écosystèmes aquatiques associé à la recherche des bactéries pathogènes et des indicateurs de pollution fécale. Ce problème a été sérieusement signalé ces dernières années et demande des solutions immédiates et efficaces, pour cela nous avons essayé d'étudier et déterminer la qualité microbiologique d'un système aquatique lotique Oued Messida.

Nous avons organisé notre démarche en quatre chapitres interdépendants :

- Le premier et le second purement théoriques rassemblent d'une part des généralités sur le site : climatologie, géologie, et une contribution à l'étude de son cadre biotique et d'autre part d'une description des maladies pouvant être véhiculés par l'eau (maladies à transmission hydrique) que ce soit bactériens, viraux ou parasitaires.
- Le troisième chapitre est cependant consacré aux méthodes utilisées pour l'analyse microbiologique (recherche et dénombrement des micros organismes) de l'eau de Oued Messida (El-Kala, wilaya d'El-Tarf).
- Enfin, le quatrième et dernier chapitre, mentionne les résultats obtenus au cours de notre étude pratique. Il est esquissé par une conclusion finale clôturant le mémoire.



*Première partie*



***ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE***



Produced with ScanTOPDF

**Chapitre 1**  
***Description de site***

Produced by ScantOPDF



La Messida est localisé dans le Parc National d'El-Kala (PNEK) à l'extrême Nord-Est de l'Algérie. Ses coordonnées géographiques sont comprises entre OS' 29' et OS' 3S' E et 36' 30' N, à environ 3km de la frontière Algéro-Tunisienne à l'Est, et à l'Ouest d'environ 3 km des complexes industriels d'Annaba.

Le canal Oued Messida est un oued artificiel creusé par les français pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga. Il présente une altitude égale à 0 et de ce fait coule dans les deux sens suivant le niveau d'eau du lac. Ainsi, en hiver l'écoulement se fait du lac vers la méditerranée et en été, il coule dans le sens inverse (Fig.1).

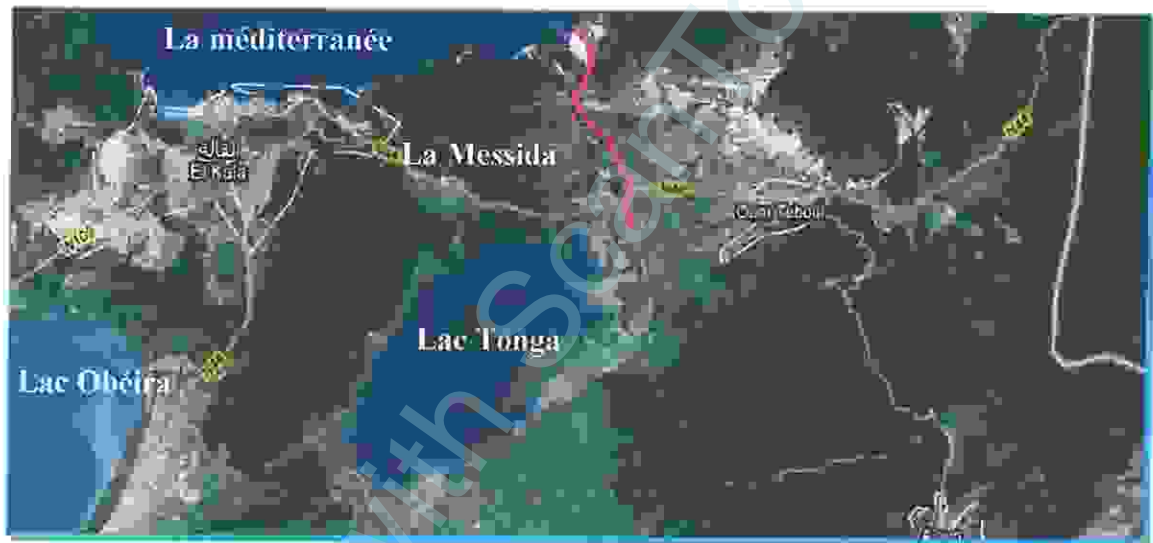


Fig.1 : Situation géographique de Oued Messida

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

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

### 1.1. Situation géographique et administrative du PNEK :

Le parc national d'El-Kala est situé dans le Nord-Est Algérien à 70 km de l'Est de la ville d'Annaba et environ 80 km au Nord de celle de Souk-Ahras, il s'étend sur une superficie de 76,438 ha (SARRI. 2002). Il est limité:

- Au Nord : la Méditerranée.

### 3. Caractéristiques climatiques :

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, Samraoui et De Belair, 1998).

Les données fragmentaires sur la climatologie de la région ne permettent malheureusement pas de dresser un tableau détaillé des conditions climatiques qui y règnent. Si le méso climat reste connu dans ses grands traits, il reste bien des faits, tels que la nature et la répartition de la végétation par exemple, qui ne peuvent s'expliquer que par la présence d'un climat plus localisé dont nous ne connaissons aucune caractéristique (Benyacoub et Chabbi, 2000, in Zeraoula, 2009)

#### 3.1. La température:

Elle dépend de l'altitude, de la distance du littoral et de la topographie (Seltzer, 1946, in Zeraoula, 2009)

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 (moye/an)	18	15	10
P mm/an (moye /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)

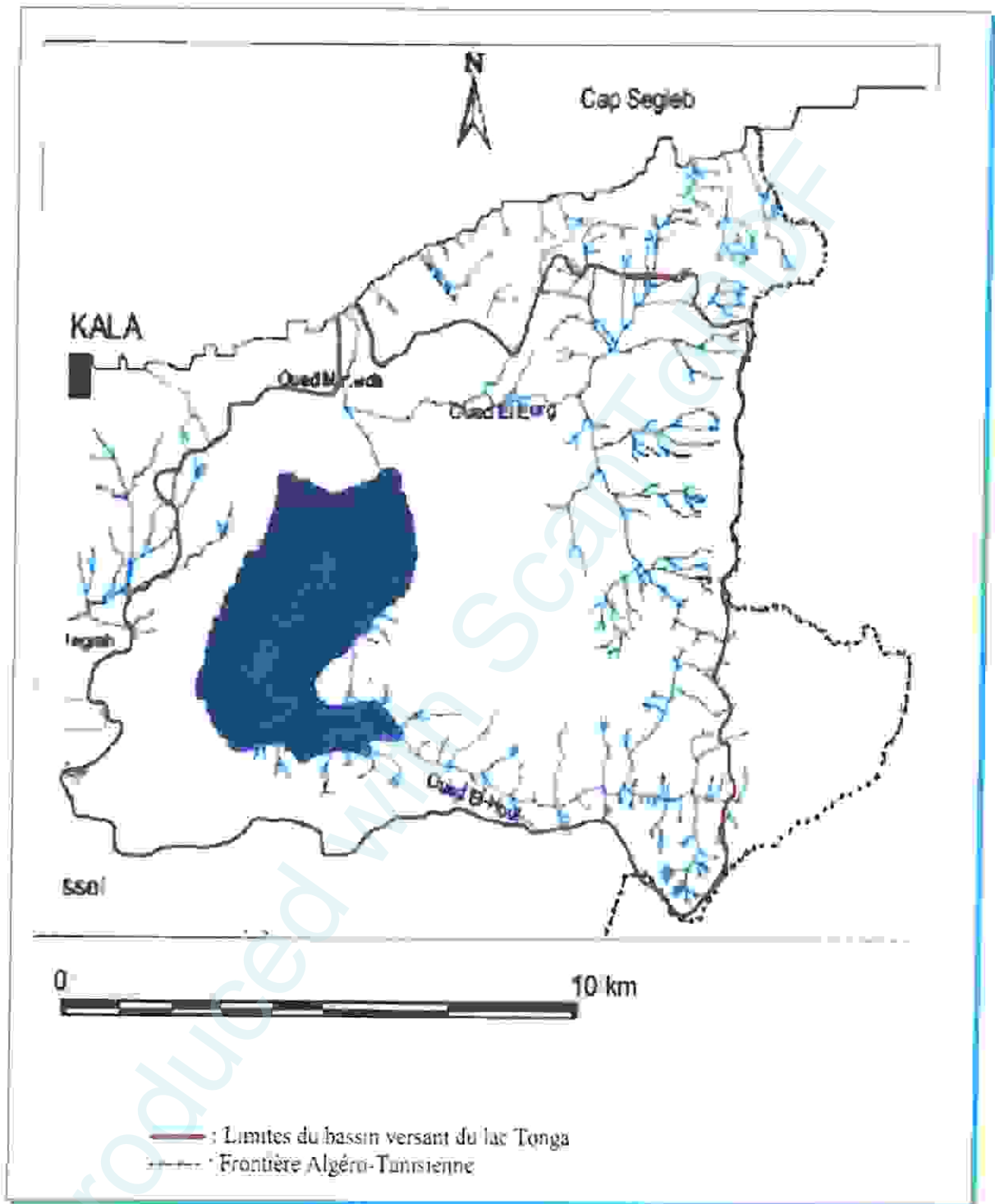


Fig. 3 : Carte du réseau hydrographique du PNK. (Source: LANDSCAPAMENAGEMENT. 1998)

## 1.2. Les objectifs du parc national d'El-Kala :

- La protection et la conservation de toutes les richesses d'un milieu naturel.
- Le maintien de l'aspect naturel de tous les paysages, sites, monuments historique et préhistorique et la préservation de toute intervention artificielle incompatible avec le milieu.
- L'assurance de la reproduction et de développement des espèces forestiers et animales.
- L'association de l'Université aux activités de recherche scientifique dans le parc. (MELOUAH, 1986, in Zeraoula, 2009).

## 2. Caractère physique :

### 2.1. Pédologie:

Les précieux travaux de Durand (1952) ont contribué considérablement à la connaissance de la pédologie de la région. En 1983, les travaux de ce pionnier ont été repris et affinés par la société d'études hydrologique de Constantine (Durand, 1952) distinguant dix (10) types de sols qu'il classa en deux grandes catégories. Les sols zonaux et les sols azonaux. Les types décrits sont :

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

### 2.2. Hydrologie :

Le réseau hydrographique inclus tous les canaux et les ruisseaux pour aboutir au cours d'eau principal appelé dans notre cas Oued. (Fig.3) (Raachi, 2007)

- Au Sud : les monts de la Medjerda.
- A l'Est : la frontière Algéro-tunisienne.
- A l'Ouest : les plaines d'Annaba.

Administrativement, le parc national d'El-Kala est inclus dans la wilaya d'El-Tarf et comporte huit communes qui sont : El-Kala, Bouteldja, Berihane, El-Tarf, Bougous, Oum-Theboul, Ain Assel et El-Aioun (Kadid, 1989) (Fig.2).

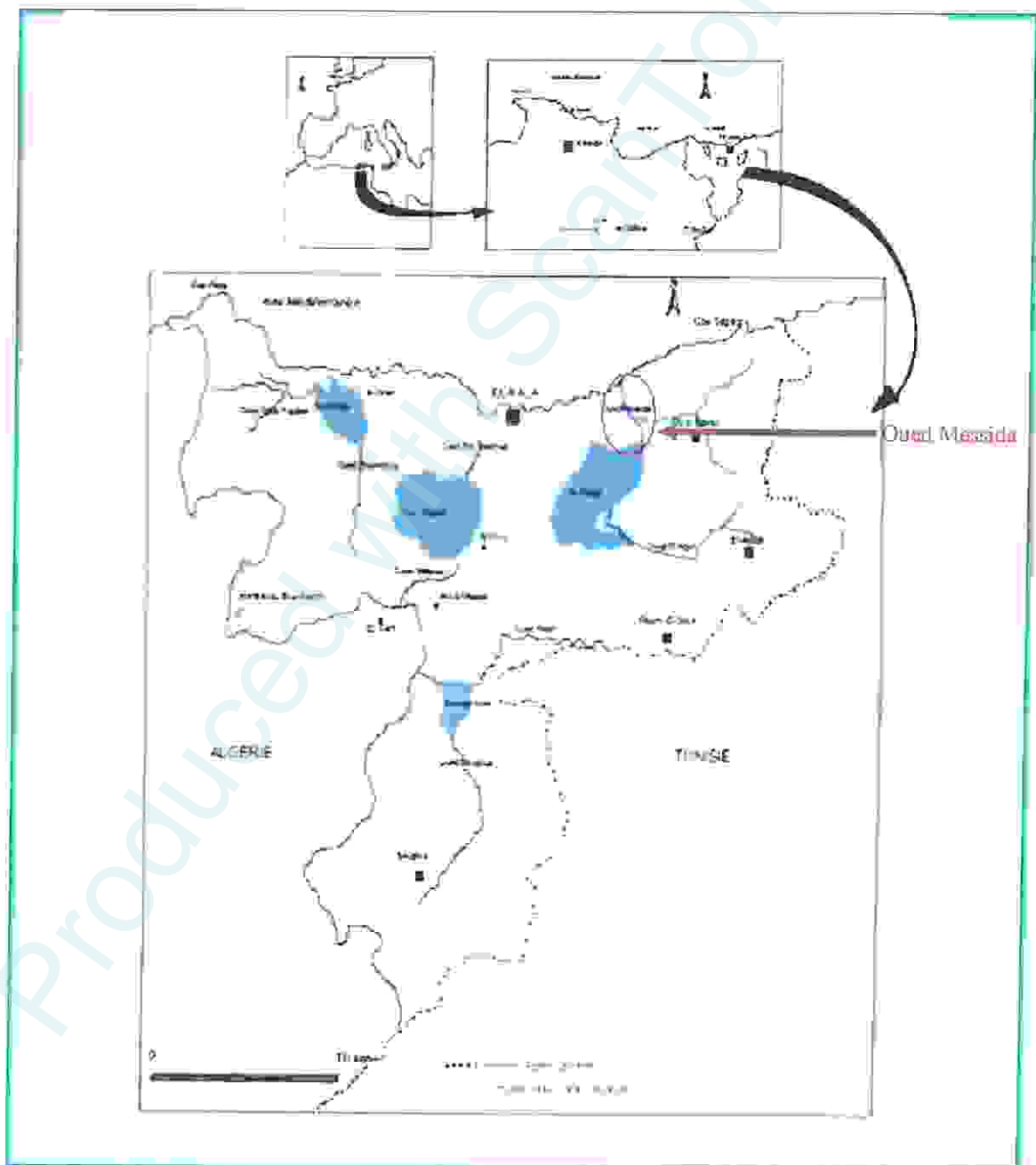


Fig. 2 : Carte de localisation du PNEK (Source: LANDSCAPAMENAGEMENT.1998)



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

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

### 3.2. Données pluviométriques:

Les précipitations sont régularisées par trois facteurs : l'altitude, la longitude (elle augmente de l'Ouest vers l'Est) et la distance à la mer. (Seltzer, 1946, in Zeraoula, 2009)

La région de l'extrême Nord-Est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées 1300 mm/an (d'après 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. Le maximum des pluies se situe en hiver, aux mois de janvier et décembre.

### 3.3. 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). (Raachi, 2007)

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

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

### 3.4. 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 <sub>moy</sub> 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

### 3.5. Expression synthétique du climat :

#### ♦ Climagramme d'Emberger :

En 1955, Emberger a classé les climats méditerranéens en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la température. (Fig.4)

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

$Q_2$  : quotient pluviométrique

P : précipitations moyennes annuelles

M : T°max du mois le plus chaud (K°)

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

Le quotient pluviométrique de la région d'El-Kala  $Q_2 = 103.71$ , calculer à partir du tableau 4. Le PNEK est localisée dans l'étage bioclimatique subhumide à hiver chaud.

Tab. 4 : Valeurs météorologique de la région d'El Kala. Source : Station météorologique d'El Kala (1997-2006), in (Guergueb 2009)

mois	Précipitation moyennes (mm)	température			Humidité moyenne (%)	Fréquence moyenne de vents (Km/h)
		moyenne	max	min		
Janvier	85.19	10.96	16.15	6.66	77.36	13.86
Février	64.16	11.27	16.60	6.49	76.94	14.26
Mars	35.77	13.63	19.41	8.11	73.82	13.73
Avril	52.09	15.64	21.50	9.86	72.99	13.94
Mai	38.00	19.02	24.62	13.28	74.00	13.13
Juin	7.14	23.00	28.99	16.78	69.48	13.77
Juillet	2.46	25.39	31.20	19.26	68.86	14.58
Aout	13.29	26.02	31.84	20.14	69.01	14.01
Septembre	52.15	23.38	29.07	18.07	72.42	13.36
Octobre	43.69	20.63	27.08	15.08	72.18	12.40
Novembre	107.47	15.89	21.57	11.22	75.94	13.69
Décembre	133.42	12.17	17.39	7.84	77.49	14.66

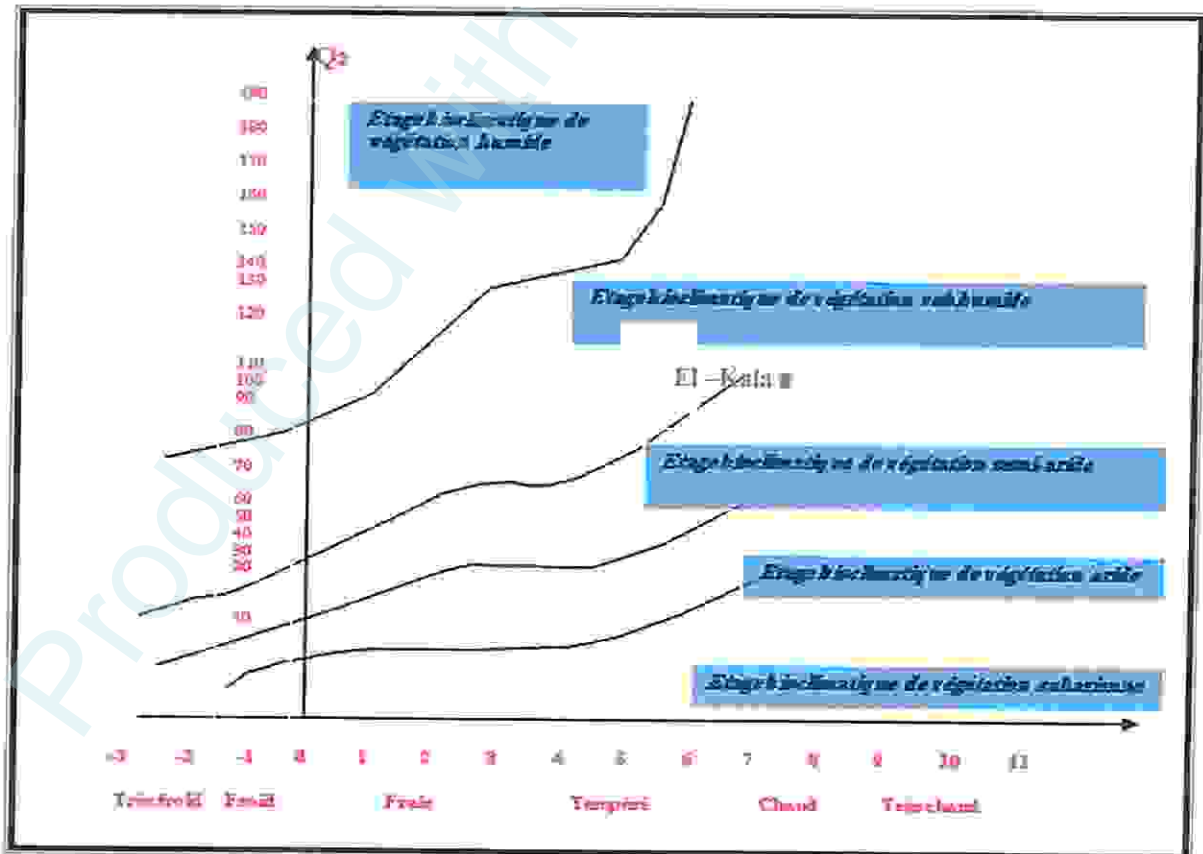


Fig. 4 : Graphe d'Emberger pour la région d'El Kala.



◆ **Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen:**

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen (1957) nous avons tenu comptes des données climatiques bien précises qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide. (Fig. 5)

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)

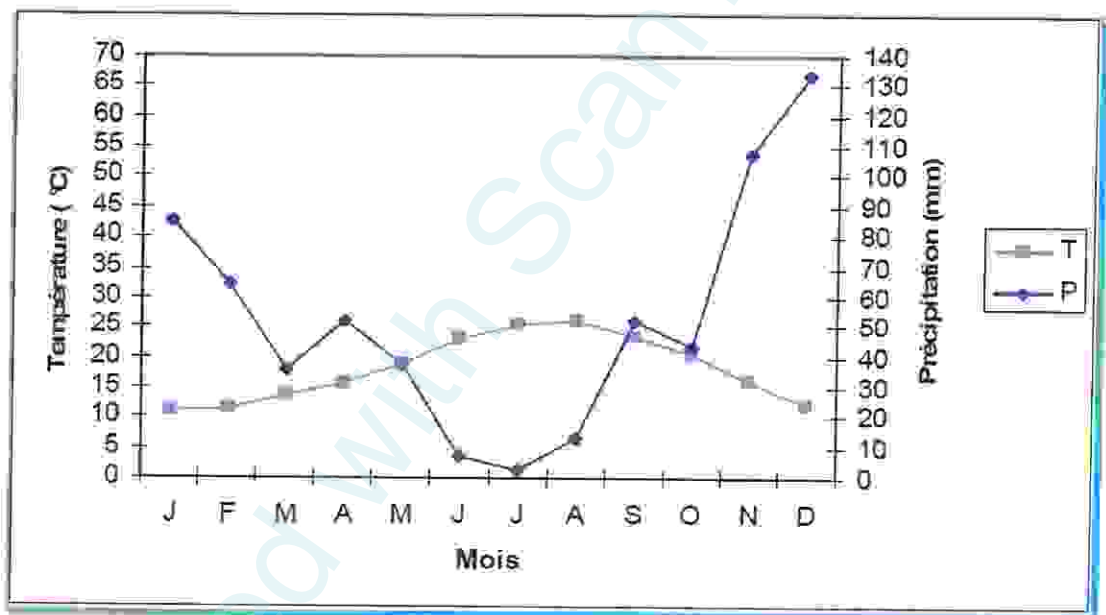


Fig. 5 : Diagramme ombro-thermique de la région d'El Kala.



## *Chapitre 2*

# *Les maladies à transmission hydrique*

Au cours du 19<sup>e</sup> siècle, les maladies d'origine hydrique ont été responsables dans le monde de vastes épidémies de dysenteries, fièvre typhoïde, choléra... etc. Aujourd'hui, l'O.M.S considère que la mauvaise qualité microbiologique des eaux consommées reste la première cause des problèmes de santé. (Lesne, 1998)

Les maladies d'origine hydrique sont le plus souvent transmises par voie féco-orale et la contamination de l'homme se réalise alors soit par consommation d'aliments contaminés par l'eau, soit lors d'un bain ou d'un contact avec des eaux à usage récréatif. Ces maladies sont généralement liées à la présence de bactéries strictement pathogènes ou opportunistes. Des protozoaires, des parasites et des virus sont également impliqués. (Guiraud, 1998).

Toutefois les maladies à transmissions hydriques recouvrent un large éventail de manifestations pathologiques d'origine bactérienne, parasitaire ou virale. (Kreisel, 1991 ; in Aouissi, 2009).

Les progrès scientifiques associées aux progrès de l'hygiène collective et individuelle, au développement des techniques de production d'eau potable et à des contrôles stricts des eaux destinées à la consommation humaine ont permis l'éradication presque complète dans le monde occidental des plus graves de ces maladies, qui continuent à constituer un fléau dans certains pays en voie de développement.

### **1. Définition des maladies hydriques :**

Les maladies hydriques sont n'importe quelles maladies causées par la consommation d'eau contaminée par des fèces animales ou humaines, qui contiennent des microorganismes pathogènes. Les maladies hydriques s'étalent par la contamination des systèmes de distribution d'eau potable par l'urine et les fèces des personnes ou animaux infectés. (1)

## 2. Les principales infections d'origine hydrique :

### 2.1. Les infections bactériennes :

Le tableau 5 présente les principales bactéries pathogènes rencontrées dans les infections bactériennes d'origine hydrique. (Rejsek, 2002)

Tab. 5 : Les principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique. (Rejsek, 2002)

Bactéries	Maladies induites	Indication de la recherche
<i>Aeromonas</i>	Gastro-entérite syndrome cholériforme.	
<i>Clostridium perfringens</i>	Gastro-entérite.	Contamination fécale peu spécifique.
<i>Enterococcus</i>		Contamination fécale.
<i>Escherichia coli</i> entérotoxiques et entéroinvasifs	Gastro-entérite et autre maladies.	Contamination fécale.
<i>Campylobacter jejuni</i> ou <i>coli</i>	Gastro-entérite.	
<i>Legionella pneumophila</i>	Pneumopathie, fièvre.	
<i>Leptospira</i>	Leptospirose ictéro-hémorragique.	Maladie professionnelle.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection cutanée, pus.	Contamination de proximité
<i>Salmonella typhi</i> et <i>paratyphi</i> A	Fièvres typhoïde et paratyphoïdes.	
<i>Salmonella</i>	Gastro-entérite.	
<i>Shigella dysenteriae</i>	Dysenterie bacillaire.	
<i>Shigella</i>	Gastro-entérite.	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection cutanée.	Contamination de proximité.
<i>Vibrio</i>	Cholera, gastro-entérite, infection cutanée.	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastro-entérite.	

#### 2.1.1. La fièvre Typhoïde :

##### ◆ Description :

La typhoïde (du grec taphos, torpeur) ou typhus abdominal est une maladie infectieuse décrite en 1818 par Pierre Bretonneau, causée par la bactérie *Salmonella typhi*. Dans le monde, la typhoïde infecte annuellement près de 17 millions de personnes; environ 600 000 d'entre elles

en meurent. La typhoïde est généralement curable, mais certaines souches bactériennes deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques. (2)

#### ◆ **Biologie des Salmonella :**

##### ➤ **Habitat et rôle pathologique :**

Salmonelles sont classées dans la famille des Entérobactérie, du genre des salmonella, et dont les espèces responsables sont surtout connues par les noms de leur sérotypes. Les sérotypes tels que : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, certaines souche de *Salmonella paratyphi B* sont strictement humains ; d'autres concernent les animaux (bovins, volailles...). (Délarras, 2008)

Chez l'Homme les salmonelles peuvent être responsables :

- De la fièvre typhoïde : due a *Salmonella typhi*, ou de fièvre paratyphoïde généralement provoqué par *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B* et *Salmonella paratyphi C*,
- Gastro-entérites : cet aspect clinique n'est pas spécifique des affections à salmonella, mais au contraire commun à la plus part des gastro-entérites à entérobactéries. (Pilet et al, 1987)

##### ➤ **Caractères biochimiques :**

L'étude des caractères biochimique doit toujours précède l'étude sérologique. Il est possible de distinguer des caractères communs à tous les salmonelles. La majorité des salmonelles sont :

- Orthonitrophenyl-BGalactosidase : ONPG(-)
- Gaz en glucose(+)
- H<sub>2</sub>S (+)
- Lysine décarboxylase LDC (+)
- Indole (-)
- Tétrathionatereductase TTR (-)
- Citrate de Simmons (+)
- Gélatine (-), d-tartrate(+)
- Ces bactéries sont constamment uréase et TDA (-). (Pilet et al, 1987).



➤ **Caractères antigéniques :**

Les caractères antigéniques des salmonelles permettent d'établir une classification en fonction de la formule «antigénique» de chacun de sérotypes. (Pilet et al, 1987).

Chaque sérotype possède une mosaïque d'antigènes : somatique O, capsulaire Vi, flagellaire H.

- L'antigène O : de nature glucidolipidique, correspond à l'endotoxine. Il est composé de plusieurs facteurs, désignés par des chiffres. Il provoque l'apparition d'anticorps spécifiques dans le sérum des malades.
- L'antigène Vi : est un antigène de surface que possèdent *S. typhi*, *S. Paratyphi C* et *S. Dublin*.
- L'antigène H : de nature protéique, est formé de plusieurs facteurs désignés soit par des lettres, soit par des chiffres. Le sérum des malades possèdent des agglutinines H spécifiques.

L'identification précise de chaque sérotype s'effectue par séro-agglutination en présence de divers anti-sérums mono-spécifiques O et H. (3)

◆ **Transmission :**

La typhoïde est généralement transmise par l'eau ou les aliments. Les personnes infectées excrètent des bactéries vivantes dans leurs selles et leur urine. Elles sont généralement contagieuses pendant quelques jours avant que des symptômes se manifestent, aussi ne savent-elles pas qu'elles devraient prendre des précautions particulières. Si elles ne se lavent pas convenablement les mains, le bacille de la typhoïde peut être transmis aux aliments ou à l'eau et de là infecter une autre personne. Il peut aussi être transmis directement de personne à personne par des doigts contaminés. (2)

◆ **Symptômes et Complications :**



Quarante-huit heures après la contamination, survient un épisode de diarrhée transitoire. Cet épisode dure une dizaine de jours (8 à 15), et correspond à la période d'incubation, pendant laquelle il y a multiplication des salmonelles dans les ganglions mésentériques; il précède la phase de dissémination du germe dans le sang (septicémie). (4)

La typhoïde entraîne une fièvre élevée et soutenue, allant souvent jusqu'à 40 °C (104 °F) et un épuisement extrême. D'autres symptômes habituels sont :

- Céphalées.
- Constipation.
- Douleurs d'estomac.
- Perte d'appétit.
- Toux.

Avec un traitement aux antibiotiques, les symptômes commencent à régresser après 5 à 7 jours, mais sans traitement ils continuent de s'aggraver pendant plusieurs semaines, et de 10 % à 20 % environ des personnes non traitées peuvent mourir. (2)

#### ◆ Diagnostic :

Le diagnostic de la fièvre typhoïde est obtenu à l'aide de cultures d'échantillons de sang, d'urine ou de selles; et aussi, mais rarement, de moelle osseuse. (5)

Les techniques d'isolement des salmonelles, en bactériologie médicale, sont essentiellement l'hémoculture et la coproculture. (Pilet et al, 1987).

Dans les pays en voie de développement, on utilise souvent un test sanguin, le test Widal, qui a été abandonné dans les pays industrialisés à cause de son manque de fiabilité. (5)

#### ◆ Traitement :

La typhoïde est traitée avec des antibiotiques, ce qui amène généralement une disparition des symptômes en moins d'une semaine. Très peu de gens meurent de la typhoïde s'ils sont traités adéquatement. (5)

Après avoir hospitalisé et isolé le malade, le traitement fait appel actuellement aux fluoroquinolones de deuxième génération ou à la ceftriaxone. La réhydratation, souvent par voie intraveineuse, est impérative pour compenser les pertes liquidiennes secondaires à la diarrhée. Un traitement contre la fièvre (antipyrétique) peut parfois être nécessaire. (4)

Toutefois, ils sont susceptibles d'être contagieux pendant au moins une semaine après la disparition des symptômes. Environ 10 % des sujets demeurent contagieux pendant trois mois ou plus et continuent à excréter l'organisme infectieux dans leurs selles. (5)

◆ **La prévention :**

La prévention de la typhoïde consiste essentiellement à éviter les aliments et l'eau contaminés (contrôle bactériologique des eaux et des aliments).

Ces mêmes règles d'hygiène vous aideront également à vous protéger contre des maladies telles que le choléra et l'hépatite A, qui sont transmises de la même façon. Suivez ces conseils afin de minimiser vos risques :

- Cuisez bien tous les aliments et mangez-les pendant qu'ils sont chauds.
- Eloignez les mouches des aliments.
- Epluchez tous les fruits et les légumes avant de les manger.
- Faites bouillir ou désinfectez toute eau avant de la boire.
- Méfiez-vous des aliments dangereux - crustacés, salades, fruits et légumes crus
- Méfiez-vous des glaçons, des crèmes glacées et du lait non pasteurisé, qui peuvent être infectés

Il existe des vaccins contre la typhoïde qui offrent une protection d'environ 70 % pendant 2 à 4 ans. La durée de la protection dépend du vaccin utilisé. Même les personnes vaccinées doivent suivre les consignes d'hygiène alimentaire énumérées ci-dessus. Il est recommandé de se faire vacciner au moins une semaine avant d'être exposé au risque. (5)

### 2.1.1. Le choléra :

#### ◆ Description:

Le choléra est une toxi-infection entérique grave causée par une entérotoxine de *Vibrio cholerae*, découverte par Pacini en 1854 et redécouverte par Koch en 1883. Principalement répandue, de nos jours, dans les pays en voie de développement. La maladie sévit de façon endémique dans les zones tropicales humides d'Afrique et d'Asie et de façon épidémique dans les zones sèches (sahel). (7)

#### ◆ Biologie de *Vibrio cholerae* :

##### ➤ Habitat et rôle pathologique :

Ce sont des bactéries à Gram négatif, incurvées, très mobiles grâce à une ciliature polaire, aéro-anaérobies facultatives. (Nauciel et Vildé, 2005) *Vibrio* est asporuler et capsulé. (Madigan et al 2007). La bactérie se multiplie dans l'intestin de l'Homme (malade ou porteur sain) ainsi que dans les eaux contaminées par les matières fécales. Le principal facteur de pathogénicité est la toxine du cholera. (Nauciel et al, 2005) Soit :

- Une toxine glucidolipidique.
- Une toxine protéique : thermolabile, neutralisée par une antitoxine spécifique, elle a une action locale sur les cellules de l'intestin (en altérant leur membrane, permettant ainsi la fuite de l'eau et des ions intracellulaire).
- Enfin *V. Choléra* élabore une enzyme, la mucinase, jouant un rôle dans la pathogénie du cholera en digérant le mucus intestinal. (Pilet et al, 1987).

##### ➤ Caractères biochimiques :

Nous pouvons distinguer des caractères communs au genre *Vibrio* :

- Arginine-dihydrolase (-)
- Lysine-décarboxylase (+)
- Nitrates réduit en nitrites
- Oxydase, catalase, Indole (+)
- Urée, TDA(-)

- Licithianase, Lipase, Protéolyse, ONPG (+)
- H<sub>2</sub>S(-) ou trace.
- Métabolisme fermentatif, sans production de gaz, de nombreux sucres, dont glucose et lactose.
- Sensible au composé vibréostatique O<sub>129</sub>. (Pilet et al, 1987).

#### ➤ Caractères antigéniques :

Nous distinguons :

- Des facteurs antigéniques H : protéiques thermolabiles et dénaturés par l'alcool.
- Des facteurs antigéniques O : (glucido-lipo-polypeptidiques) thermostables spécifiques de *V. Cholerae*. Parmi eux, trois facteurs principaux A, B, C, permettant de distinguer trois variétés de *V. Cholerae* :
  - ↳ Variété Ogawa (facteurs A et B).
  - ↳ Variété Inaba (facteurs A et C).
  - ↳ Variété Hikojima (facteurs A, B, C). (Pilet et al, 1987)

Jusqu'à ces dernières années les souches pathogènes exprimaient l'antigène O1. A l'intérieur de ce sérotype on distingue deux variantes :

- ↳ Le biotype classique.
- ↳ Le biotype El Tor. (Nauciel et al, 2005)

#### ◆ Transmission :

L'homme se contamine par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Les aliments peuvent être contaminés par l'eau utilisée pour l'arrosage ou le lavage ou bien par l'eau de mer lorsqu'il s'agit de coquillages. Les aliments peuvent aussi être contaminés par les mains d'un sujet porteur de la bactérie. La maladie se propage sur le mode épidémique dans les régions à faible niveau d'hygiène, ne disposant pas d'eau potable. (Nauciel et al, 2005)

Le cholera se répand souvent sur plusieurs continents, réalisant des pandémies.



L'antibiothérapie a pour but d'écourter la maladie et de diminuer le risque de transmission. On utilise généralement des tétracyclines ou parfois le cotrimoxazole ou une fluoroquinolone.

#### ◆ La prévention :

La prévention débute par l'amélioration de l'hygiène générale. La vaccination est peu efficace : l'immunité est de courte durée (6 mois) et ne survient que dans 40% des cas ; elle est cependant exigée pour se rendre dans certains pays. (Pilet *et al*, 1987).

### 2.1.3. La gastro-entérite :

#### ◆ Description :

Une gastro-entérite est une infection inflammatoire caractérisée par l'émission brutale et fréquente de selles liquides et abondantes (diarrhée). (9)

La gastroentérite est provoquée par de nombreux virus, bactéries ou autres micro-organismes qui contaminent la nourriture ou l'eau. L'intensité des symptômes varie selon la cause. (10)

#### ◆ Biologie d'*Escherichia coli* :

#### ➤ Habitat et rôle pathologique :

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E. coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale à gram négatif. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers. Le germe se retrouve dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sol et eaux. Sa présence dans le milieu environnant signe toujours une contamination fécale.

*E. coli* est impliqué dans de nombreuses infections : urinaire, néonatale, et intestinale. (Nauciel et Vildé, 2005). Lorsqu'*E. coli* est responsable d'une diarrhée aiguë, on peut le classer selon quatre pathotypes :

- Entéropathogène (EPEP).
- Entéroenvahisseur (ou entéroinvasifs -ECEI).



- Entérohémorragiques (EHEC).
- Entérotoxigène (ETEC).

Les souches se caractérisent par la capacité de produire une entérotoxine (entérotoxine thermolabile ou thermostable ou bien une toxine analogue à la toxine de la *Shigella dysenteriae*, la Shiga-like) dont l'action sur les entérocytes perturbe les fonctions d'absorption normalement assurées par la muqueuse intestinale. (11)

➤ **Caractères biochimiques :**

- Lactose (+).
- Indole (+).
- Urée (-).
- Gaz (+). (Pilet et al, 1987).

➤ **Caractères antigéniques :**

La structure antigénique des colibacilles est complexe : ces bactéries comportent des antigènes majeurs O, K, H et des antigènes mineurs : R, M...

- Les antigènes O ou somatiques : chaque antigène O permet de définir un sérotype O correspondant, grâce à des réactions d'agglutination. Les antigènes O conditionnent le pouvoir pathogène des souches, ainsi que l'immunité conférée.
- Les antigènes K, capsulaires ou d'enveloppe : inhibent l'agglutinabilité O lorsqu'ils sont présents. On distingue les antigènes K selon leur nature biochimique :
  - ↳ Les antigènes capsulaires polysaccharidiques (types A, B).
  - ↳ Les antigènes capsulaires protéiques (type L) : correspondent à la présence des pili ou fimbriae.
- Les antigènes H : au nombre de 50 et sont de nature protéiques. Le tableau 5 présente les propriétés d'*E. coli* responsable de diarrhée. (Pilet et al, 1987).

Tab.6: Les propriétés d'*E. coli* responsable de diarrhée. (Avril *et al.*, 2000 ; in Aouissi, 2009)

<i>E. coli</i>	Entéropathogène ECEP	Entéromoraxigène ECEH	Entérotoxiques ECET	Entéroinvasifs ECIE
<b>Diarrhée</b>	Aigue et chronique	sanglante	liquide	Dysentérique
<b>Cible</b>	Enfant moins de 1 an	Intoxication alimentaire	Enfant et voyageurs	Adultes et Intoxication alimentaire
<b>Sérotype</b>	O <sub>26</sub> , O <sub>55</sub> , O <sub>66</sub> , O <sub>111</sub> , O <sub>114</sub> , O <sub>119</sub> , O <sub>125</sub> , O <sub>126</sub> , O <sub>127</sub> , O <sub>128</sub> , O <sub>142</sub>	O <sub>157</sub>	O <sub>5</sub> , O <sub>6</sub> , O <sub>15</sub> , O <sub>20</sub> , O <sub>25</sub> , O <sub>27</sub> , O <sub>63</sub> , O <sub>78</sub> , O <sub>85</sub> , O <sub>115</sub> , O <sub>128</sub> , O <sub>148</sub> , O <sub>159</sub>	O <sub>26</sub> , O <sub>112</sub> , O <sub>124</sub> , O <sub>136</sub> , O <sub>143</sub> , O <sub>144</sub> , O <sub>147</sub> , O <sub>152</sub> , O <sub>164</sub>
<b>Mécanisme</b>	Adhérence	Pas invasif	Attachement	Envahissement
<b>Plasmide</b>	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Toxines</b>	dysentérique	dysentérique	Toxine thermolabile/toxine thermostable	dysentérique
<b>taille</b>	55-75 Md	30-75 Md	/	140 Md

#### ◆ Transmission :

La gastroentérite se contracte par l'une ou l'autre des deux voies suivantes :

- Par intoxication alimentaire : La consommation d'aliments ou d'eau contaminés par des germes peut causer la gastroentérite.
- Par le contact avec les selles ou les vomissements de personnes victimes d'une gastroentérite infectieuse. (10)

#### ◆ Symptômes et Complications :

Les symptômes que présentent les patients concernés sont :

- Une perte d'appétit.
- Des crampes abdominales.

➤ **Pour prévenir l'intoxication alimentaire :**

- Bien cuire les aliments, surtout la viande rouge, la volaille et les œufs.
- Rincer à l'eau du robinet les fruits et légumes qui sont consommés frais.
- Ne pas cuisiner sur une surface qui est entrée en contact avec de la viande ou de la volaille crue.
- Manger des produits laitiers pasteurisés de préférence.

➤ **Mesures pour prévenir les complications :**

- Bien se réhydrater afin de remplacer les liquides perdus. (10)

## 2.2. Les infections virales :

Les virus responsables d'infections hydriques sont excrétés dans les selles d'individus infectés. Il a démontré que plus de 130 virus pathogènes, que l'on peut dénommer virus entériques, peuvent être éliminés dans les fèces humaines.

Le tableau 7 présente les principaux virus identifiés responsables de pathologies liés à l'ingestion d'eau ou de coquillages, ou au contact avec une eau contaminée. (Rejsek, 2002)

Tab. 7: Virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturelles. (Rejsek, 2002)

Famille	Genre	Espèce	Maladies provoquées	Contamination
Picornaviridae	Entérovirus	Virus de la poliomyélite	Poliomyélite, paralysie, méningite.	ingestion
		Virus coxsackie A	Méningite, infection respiratoire.	ingestion
		Virus coxsackie B	Myocardite, éruption cutanée.	ingestion
		Échovirus	Méningite, infection respiratoire	ingestion
		Virus de l'hépatite A	Hépatite infectieuse.	ingestion
Reoviridae	Rotavirus	Rotavirus humains	Gastro-entérite.	ingestion
Caliciviridae	Calicivirs	Calicivirs humains	Gastro-entérite.	ingestion
		Virus de Norwalk	Gastro-entérite.	
		Virus de l'hépatite E	Hépatite infectieuse.	ingestion
		Astrovirus	Gastro-entérite.	ingestion
Adenoviridae	Mastadéno-virus	Adénovirus	Gastro-entérite, pharyngite, conjonctive.	Ingestion et contact
Coronaviridae	coronavirus	Coronavirus humains	Entérocolite.	ingestion
		Coronavirus like	Gastro-entérite.	ingestion
Papovaviridae	Papillomavirus	Papillomavirus humains	Verrues.	Contact

### 2.2.1. L'hépatite A:

#### ◆ Description :

L'hépatite A est l'hépatite virale la plus répandue au monde avec des zones de haute endémicité en Afrique et dans l'Asie du Sud-Est. Elle est bénigne dans près de 99 % des cas. L'hépatite A survient habituellement au cours de l'enfance ou chez l'adulte jeune (50 % des cas avant l'âge de 30 ans). (13)

#### ◆ Biologie du virus :

Le virus de l'hépatite A fait partie des *picornavirus*, eux-mêmes inclus parmi les *entérovirus*. Il s'agit d'un virus non enveloppé, détruit par le chauffage (autoclavage 20 min à 120 °C). Le génome est un ARN linéaire simple brin à polarité positive de 7 500 nucléotides. Le virus n'a pas d'effet cytopathogène mais agit par un mécanisme d'immunité cellulaire. (13)



**◆ La transmission :**

La transmission se fait par voie entérale (eaux et aliments contaminés par des matières fécales, coquillages, crudités). L'hépatite A survient habituellement au cours de l'enfance ou chez l'adulte jeune (50 % des cas avant l'âge de 30 ans). Elle peut réaliser de petites épidémies dans des collectivités (crèche, école, institution d'enfants handicapés). Elle peut se transmettre par voie intrafamiliale. (13)

**◆ Symptômes et Complications :**

L'hépatite A est le plus souvent asymptomatique (90 % des cas) et est pratiquement toujours bénigne. La plupart des personnes qui sont infectées par le virus de l'hépatite A ont des symptômes de la grippe :

- fatigue.
- Fièvre.
- mal de tête. Alors que d'autres ont :
- des maux de ventre.
- de la diarrhée.
- une jaunisse (la peau ou les yeux jaunes) environ un mois après que le virus ait pénétré l'organisme.
- En plus de la jaunisse (appelée aussi « ictère »), l'urine peut devenir très foncée et les selles très pâles (comme de l'argile).

**◆ Diagnostic :**

Le diagnostic est affirmé par la présence de l'anticorps anti-VHA de type IgM dont l'apparition est précoce dans le même temps que l'augmentation des transaminases. Les IgM disparaissent en moyenne vers la 10<sup>ème</sup> semaine et font place aux IgG anti-VHA qui persistent longtemps. (14) et (15)



**◆ Y a-t-il un traitement pour l'hépatite?**

Les hépatites A et E guérissent d'elles-mêmes sans aucun traitement. Un traitement de support peut être prescrit pour soulager vos symptômes pendant que votre système immunitaire élimine le virus.

Après une exposition connue au virus de l'hépatite A, l'administration d'une dose d'immunoglobulines durant les 14 premiers jours peut aider à prévenir ou à tout le moins à atténuer la maladie. (13)

**◆ Prévention :****➤ Règles d'hygiène :**

Une hygiène élémentaire des mains est nécessaire ainsi qu'un soin rigoureux pour les aliments et les boissons dans les régions d'endémie.

Il existe également une transmission parentérale faible pour les toxicomanes intraveineux mais aussi pour les personnels de santé après piqûre accidentelle.

**➤ Vaccination :**

Le vaccin utilisé s'appelle " Havrix 1440 " dont le schéma de vaccination comporte une injection intramusculaire dans la région deltoïde avec un rappel à 6 mois puis tous les 10 ans. Le taux de séroconversion est de 100 % au 21<sup>e</sup> jour. Pour les nourrissons au-dessus de 1 an et les enfants jusqu'à 15 ans, on utilise le vaccin " Havrix 360 " avec 2 injections à un mois d'intervalle, un rappel 6 à 12 mois après la primovaccination, puis un rappel tous les 10 ans. (13)

**2.2.2. L'hépatite E :****◆ Description :**

L'Hépatite E est une hépatite virale (inflammation du foie) provoquée par une infection par le virus de l'hépatite E (HEV). L'infection par ce virus a été décrite pour la première fois en 1955 au cours d'une épidémie à New Delhi, en Inde. (16)

L'hépatite E est particulièrement dangereuse pour les femmes enceintes, et elle peut même leur être fatale. (15)

#### ◆ Biologie de virus :

Le virus de l'hépatite E fait partie de la famille des *Caliciviridae* ou *Togaviridae*. Il s'agit d'un virus sphérique, ne présentant pas d'enveloppe, dont la taille est comprise entre 32 et 34 nm. Le génome contient un ARN simple brin à polarité positive avec 7 194 nucléotides. (13)

Le virus n'agit pas par un mécanisme cytopathogène et les lésions hépatiques sont probablement liées à la réponse immunitaire de l'hôte. (17)

#### ◆ La transmission :

L'hépatite E est une maladie à support hydrique et on a mis en cause l'eau ou des produits alimentaires contaminés dans le cas de flambées majeures. La consommation de l'eau de boisson ayant subi une contamination fécale a provoqué des épidémies et la consommation de fruits de mer crus a été à l'origine de cas sporadiques dans les zones d'endémie. (17)

Il est possible que le virus se propage à partir d'animaux car plusieurs primates non humains, de même que le porc, la vache, le mouton, la chèvre et les rongeurs sont sensibles à l'infection.

On estime que la transmission interhumaine n'est pas courante. Rien n'indique que la transmission puisse se faire par les voies sexuelle ou transfusionnelle. (17)

#### ◆ Symptômes et Complications :

La période d'incubation suivant l'exposition au HEV est de 3 à 8 semaines. On ignore toutefois pendant combien de temps un sujet infecté peut transmettre la maladie.

L'infection symptomatique à HEV touche surtout le jeune adulte entre 15 et 40 ans. Fréquente chez l'enfant, l'infection est le plus souvent asymptomatique ou très bénigne et sans jaunisse ; elle n'est alors pas diagnostiquée.

Les signes et symptômes typiques de l'hépatite sont les suivants :

- Jaunisse (coloration jaunâtre de la peau et de la sclérotique, urines sombres et selles pâles).
- Anorexie (perte d'appétit).
- Hépatomégalie (hypertrophie du foie qui est douloureux au toucher).
- Douleurs abdominales et sensibilité à la palpation.
- Nausées et vomissements, et fièvre.

On observe des cas de gravité différente aussi bien des affections bénignes que des cas engageant le pronostic vital. (17)

#### ◆ Diagnostic :

Le diagnostic résulte d'examens sanguins mettant en évidence des taux élevés d'anticorps spécifiques de l'hépatite E dans l'organisme ou des fragments de matériel génétique par un test appelé RT-PCR qui malheureusement n'est pas largement disponible. Nous devons suspecter l'hépatite E en cas de flambée d'origine hydrique dans un pays en développement, surtout si l'affection est plus grave chez la femme enceinte ou si l'hépatite A a été exclue. En l'absence de tests de laboratoire, les données épidémiologiques peuvent contribuer à l'établissement du diagnostic. (17)

#### ◆ Traitement :

L'hépatite E est une maladie virale et, par conséquent, les antibiotiques ne sont d'aucune utilité pour le traitement de l'infection. Il n'y a pas d'immunoglobulines anti-hépatite E hyperimmunes disponibles pour la prophylaxie avant ou après l'exposition. Les infections à HEV sont habituellement autolimitées et l'hospitalisation n'est en général pas nécessaire. Nous ne disposons d'aucun traitement permettant d'infléchir l'évolution de l'infection aiguë, et par conséquent la prévention constitue l'approche la plus efficace contre la maladie.

L'hospitalisation s'impose en cas d'hépatite fulminante et doit être envisagée pour la femme enceinte infectée. (17)

#### ◆ Prévention :

La quasi-totalité des infections à HEV étant propagées par la voie féco-orale, une bonne hygiène personnelle et des normes élevées de qualité concernant l'approvisionnement en eau et



l'évacuation des eaux usées sont les interventions les plus importantes concernant la santé publique pour la prévention de l'hépatite E.

Pour les voyageurs qui se rendent dans des zones à forte endémicité, les précautions d'usage en matière d'hygiène concernant l'eau et les produits alimentaires sont recommandées. Il s'agit notamment d'éviter l'eau de boisson et/ou la glace de qualité inconnue et de consommer des fruits de mer crus et des fruits ou des légumes crus qui ne sont pas pelés ou apprêtés par le voyageur lui-même. (17)

### 2.3. Les infections parasitaires :

On distingue deux types différents d'organismes impliqués dans ces infections :

- **Les protozoaires** : organismes unicellulaires eucaryotes dont plusieurs sont des agents d'épidémies hydriques.
- **Les helminthes** : organismes pluricellulaires de types vers.

Le tableau 8 présente les principaux parasites responsables des infections d'origine hydrique. (Rejsek, 2002)

Tab.8 : Infections d'origine parasitaire transmises par l'eau. (Rejsek, 2002)

Type d'organisme	Nom	Maladie	Type de contamination
Protozoaire	Amibe	Amibiase	Ingestion des kystes
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Gastro-entérite.	Ingestion
	<i>Giardia lamblia</i> et <i>Giardia intestinalis</i>	Gastro-entérite.	Ingestion des kystes
	<i>Plasmodium</i>	Paludisme	Piqûre d'anophèle
	<i>Trypanosome</i>	Maladie du sommeil	Piqûre par glossine
Helminthe	<i>Anguillule</i>	Anguillulose	Contact ou Ingestion
	<i>Ankylostoma duodénale</i>	Ankylostome	Contact
	<i>Fasciola hepatica</i>	Douve du foie	Ingestion
	<i>Schistosoma</i>	Bilharziose	Contact
	Filaires	Filariose	Ingestion
	Ver de guinée	dracunculose	Ingestion de crustacés

### 2.3.2. Amibiase :

#### ◆ Description :

L'amibiase occupe, derrière le paludisme, le troisième rang des maladies parasitaires les plus meurtrières au monde. Selon la dernière estimation, un peu surestimée, de l'Organisation mondiale de la Santé en 1993, 10% de la population mondiale serait infectée par *Entamoeba histolytica*, le parasite de l'amibiase.

#### ◆ Biologie d'*Entamoeba histolytica*:

*Entamoeba histolytica* est une amibe anaérobie spécifique de l'homme. De nombreuses espèces d'amibes vivent dans l'intestin de l'homme sans engendrer de maladie - elles font partie de la flore dite commensale de l'intestin. Seule *E. histolytica* est pathogène. Il s'agit d'un protozoaire, constitué d'une seule cellule mobile. Celle-ci peut s'entourer d'une fine coque pour former un kyste amibien de quelques microns à quelques dizaines de microns de diamètre. (18)

#### ◆ La transmission :

Les organismes sont habituellement ingérés de kyste à l'état dormant dans des aliments ou de l'eau contaminés par des selles ou des eaux d'égouts. Bientôt, il se produit une exkystation et les amibes se transforment en trophozoïtes fragiles qui se multiplient rapidement (Nauciel et al 2005).

La transmission et la prolifération de l'amibe en cause, favorisée par les mauvaises conditions sanitaires des pays les plus touchés (18)

#### ◆ Symptômes et Complications :

Les trophozoïtes amibiens peuvent parfois s'implanter dans la muqueuse de l'intestin. En la traversant, ils provoquent des diarrhées douloureuses et sanglantes, traduites sous le terme de dysenterie amibienne, qui constituent les premiers symptômes de l'amibiase proprement dite.

La destruction de la paroi intestinale peut par la suite entraîner la formation d'ulcères. Lorsque le parasite parvient à gagner la circulation sanguine, il peut infecter le foie, et donner naissance à des abcès qui, non traités, conduisent à une issue fatale. La maladie peut en outre



évoluer vers d'autres complications locales, comme des abcès au niveau des poumons et, beaucoup plus rarement, au cerveau. (Frobisher et Fuerst, 1976)

#### ◆ Le diagnostic :

Le diagnostic de laboratoire repose sur la mise en évidence de kystes d'*E. histolytica* dans les selles ou de trochoïdes dans les tissus. Dans les formes viscérales ou tissulaires, des anticorps dirigés contre *E. histolytica* sont mise en évidence dans le sang par technique ELISA. (Madigan et al 2007)

#### ◆ Traitement :

Les amibiases aiguës sont traitées par la prise d'antiparasitaires à large spectre et d'amoebicides tissulaires (tinidazole ou métronidazole). D'amoebicides de contact agissant localement dans la lumière du tube digestif (tilbroquinol, tiliquinol) dans le cas d'une amibiase chronique asymptomatique.

Les diarrhées amibiennes se résolvent spontanément en quelques semaines si la réponse immunitaire de l'hôte est normale. (Madigan et al, 2007)

#### ◆ Prévention :

La prévention, visant à limiter la transmission des kystes, reste donc essentielle. Elle repose avant tout sur l'élimination de la contamination fécale de l'eau, des aliments et des mains. (19)

### 2.3.3. La bilharziose :

#### ◆ Description :

Seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme, la bilharziose ou schistosomiase est une maladie chronique et débilitante dont la prévalence atteint les 180 millions d'individus. Le parasite responsable, *Schistosoma haematobium*, a été identifié en 1851 par le parasitologiste allemand Théodore Bilharz, d'où le nom de la maladie.

**♦ Biologie de *Schistosoma haematobium* :**

Le schistosome, appartenant à l'embranchement des Plathelminthes (vers plats non segmentés), à la classe des Trématodes (appareil digestif avec cæcum), à l'ordre des Strigeatida (ventouses ventrale et buccale), à la famille des Schistosomatidés (cercaires libres) et enfin au genre *Schistosoma*, car l'hôte définitif est un mammifère.

Le genre *Schistosoma* comporte 18 espèces dont 5 sont pathogènes pour l'homme :

- *S.mansoni* : bilharziose intestinale.
- *S.haematobium* : bilharziose urogénitale.
- *S.intercalatum* : bilharziose rectale et génitale.
- *S.japonicum* : bilharziose intestinale avec complications artério-veineuses.
- *S.mekongi* : bilharziose intestinale avec complications artério-veineuses.

**♦ La transmission :**

Il se multiplie et se transforme, d'une part chez l'être humain et d'autre part dans le bulin, mollusque qui séjourne dans les eaux douces des pays chauds.

Dans les eaux douces, sous sa forme furcocercaire les Schistosomes traversent la barrière cutanée des personnes en quelques minutes.

Puis, ils passent dans la lumière des vaisseaux sanguins, les gros troncs veineux, se dirigent vers les organes par les gros vaisseaux hépatiques et mésentériques, traversent les poumons : ils colonisent alors le foie, la rate, les intestins, la vessie, les organes génitaux, ...

En circulant dans l'organisme, les Schistosomes se multiplient. Au bout de plusieurs mois, les œufs traversent les vaisseaux et les parois des organes en particulier la vessie : les œufs tombent dans la lumière de la vessie, dans la lumière intestinale. Les œufs peuvent aussi être prisonniers dans le foie, dans la rate, le système nerveux.

Ils sont éliminés par les urines et les fèces et se retrouvent dans la nature et dans les eaux douces et chaudes : à ce moment ils colonisent les bulins, continuent leur transformation, puis des formes mobiles, les cercaires, sont libérées dans l'eau et peuvent à nouveau infester un être humain. (19)

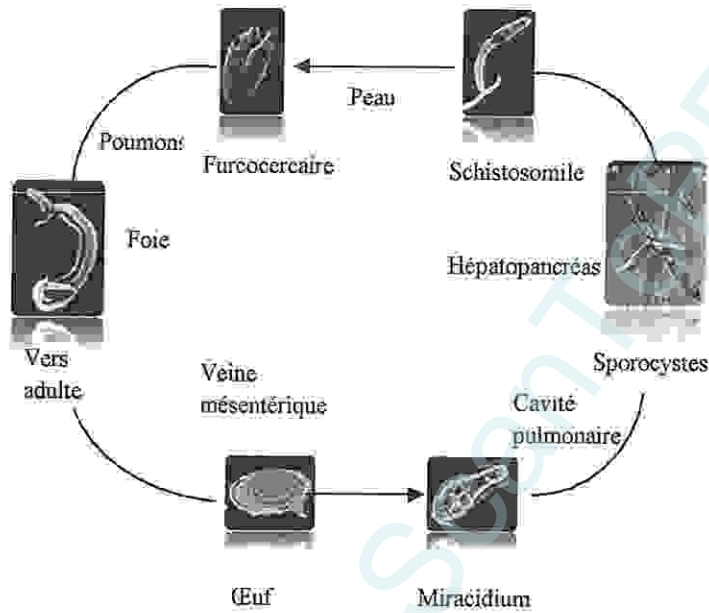


Fig.6 : Cycle de vie de *Schistosoma*. (20)

#### ◆ Symptômes et Complications :

- A la période d'infestation : c'est-à-dire quand les Furcocercaires pénètrent dans l'organisme, il peut y avoir une réaction cutanée inflammatoire aux points d'entrée des parasites avec des démangeaisons, une rougeur, ...
- La période d'invasion : correspond à la période où les schistosomes migrent vers les organes en passant par les poumons. Elle peut se manifester par des troubles respiratoires de type allergique avec une dyspnée asthmatiforme.
- La période d'état : elle se manifeste par des signes variables selon les organes atteints.
- La bilharziose urinaire : elle se manifestera par des hématuries ; ces hématuries sont récidivantes ; d'autres signes peuvent être associés : des douleurs pelviennes à la miction, une polyurie.

- **La bilharziose intestinale :** elle se manifestera par des diarrhées, des rectorragies associées à des douleurs abdominales. (19)

◆ **Le diagnostic :**

Une hyperéosinophilie (augmentation des globules blancs éosinophiles dans le sang) est retrouvée en période d'invasion, elle n'est pas caractéristique de la bilharziose mais évocatrice d'une parasitose.

La présence d'anticorps sériques spécifiques de la bilharziose dès le 1er mois confirmera le diagnostic. On peut retrouver les œufs dans les urines, dans les fèces. (19)

◆ **Traitement :**

Ce sont des médicaments antiparasitaires, efficaces en quelques jours. Quand des nodules sont présents et qu'ils entraînent des complications, qu'ils sont accessibles par la chirurgie, il faut les enlever. (19)

◆ **Prévention :**

Dans les zones d'endémie, les voyageurs sont invités à ne pas s'immerger (ni se baigner ni marcher) dans les eaux douces.

## 2.4. Les infections par des agents fongiques ;

### 2.4.1. La candidose :

◆ **Description :**

Les candidoses sont des maladies insidieuses, pratiquement inconnues il y a 50 ans, mais qui touchent actuellement des millions de personnes dans le monde. Non traitée, cette affection peut s'étendre et détériorer progressivement et gravement la santé en contribuant à l'affaiblissement du système immunitaire. (21)

Différents facteurs sont responsables de cette situation, et en particulier l'alimentation moderne dégradée, trop raffinée et trop sucrée, une concentration de plus en plus importante de métaux lourds comme le cadmium ou le mercure (amalgames dentaires, poissons pollués,



pollution de l'air, de l'eau...), l'utilisation dans le domaine alimentaire de conservant et colorants, l'utilisation sans limites des pesticides, herbicides et antibiotiques dans l'agriculture, etc., etc...

♦ **Les causes :**

Les candidoses sont dues à un champignon de type levure, dont le plus commun est le *Candida albicans*. Cette levure vit normalement en saprophyte dans l'intestin humain ou animal en se nourrissant de matières organiques en décomposition. Dans certaines conditions pourtant, elle peut se multiplier de manière excessive et envahir tout l'appareil digestif (bouche, intestin, anus). Après dissémination par voie sanguine, elle peut même se propager dans tout l'organisme (bronches, peau, vagin, etc.) sous forme de muguet ou de mycoses. (21)

-A l'état saprophyte, il est sous forme de levure



*Candida albicans* (levure)

- Sous diverses conditions il se transforme en champignon et devient pathogène. Il se présente alors sous une forme de filaments



*Candida albicans* (champignon)

Les causes réelles sont celles qui favorisent l'oxydation de l'organisme. Cette oxydation se traduit sur le plan bioélectronique par une augmentation du facteur d'oxydoréduction qui dépasse souvent 28 ( $rH_2 > 28$ ) alors que la norme de bonne santé se situe à 22.

Les principales causes responsables sont :

- les médicaments, les aliments et les boissons oxydantes (eaux d'adduction chlorées et stérilisées et certaines eaux minérales, toutes les boissons instantanées ou celles à base de jus de fruits ou de cola et certaines boissons alcoolisées).



- les stress (physiques, énergétique, émotionnels et affectifs) et les pollutions (électromagnétiques, chimiques, électriques...). (21)

#### ♦ Symptômes :

Les symptômes sont de 4 types : digestif, énergétique, immunitaire et mental. On trouve :

- Des colites intestinales avec gaz, ballonnements, démangeaisons anales, diarrhée, constipation.
- Une fatigue progressive et inexplicée avec sommeil médiocre et récupération insuffisante.
- Des allergies aggravées (cutanée, respiratoire ou alimentaire) et des mycoses.
- Des troubles du comportement alimentaire :
- Problèmes gynécologiques : champignons vaginaux répétitifs, inflammations glandulaires, kystes et endométriose; cystite et infections rénales.
- Problèmes de peau : eczéma, séborrhée, psoriasis, acné, champignons aux ongles, aux pieds.
- Problèmes respiratoires : asthme, bronchite.
- Des troubles du comportement , dépressions, anxiété, fatigue chronique, maux de têtes,
- troubles du sommeil (difficulté d'endormissement), de la concentration (mémoire, volonté en baisse) et de l'humeur (irritation, inquiétude, agressivité, insatisfaction...).
- Problèmes d'oreilles, de thyroïde.
- Douleurs articulaires et musculaires. (21)

#### 4.4- Le diagnostic :

L'établissement du diagnostic de candidose est souvent assez difficile à établir. On se basera sur :

##### ➤ **Eléments cliniques :**

Il est possible de faire plusieurs études cliniques comme la recherche des anticorps pour le Candida dans le sang, la recherche du candida dans les sécrétions vaginales ou du pénis, l'hyperglycémie provoquée.

☞ Coproculture : la recherche directe du Candida dans les selles.

↳ **Intradermo-réaction** : Faire le test "Stallerpoint" (PRICK-TEST - utilisé pour la recherche des allergies) : avec un petit appareil spécial, on fait une dizaine de petites piqûres sur une zone du bras. Le produit imprégné va activer tous les symptômes de l'albicans. (21)

On note tous les jours, pendant 5 jours, sur un tableau, pendant une semaine, l'évolution des réactions cutanées (apparition d'une petite zone de 1 à 3 centimètres de diamètre). S'il n'y a pas de réaction, il n'y a pas d'albicans. (21)

• **Questionnaire d'évaluation :**

En plus de l'anamnèse classique et de l'observation, le questionnaire est un outil de dépistage très utile afin de découvrir si un sujet est susceptible d'être porteur d'une candidose chronique. (21)

**4.5- Traitement :**

Le traitement de la candidose est indispensable, il ne faut pas le négliger. Il peut sembler difficile, il sera toujours long. La rapidité et la qualité des résultats obtenus dépendront principalement du sérieux et de la persévérance du patient.

- Traiter d'abord les symptômes (c'est l'urgence, pour sécuriser le patient).
- Traiter ensuite le "terrain" (pour qu'il n'y ait pas de rechute).
- Correction du régime alimentaire.
- hygiène intestinale (irrigation colonique).
- les probiotiques. Ensuite :
- Un draineur généraliste (Pekana).
- Les remèdes isopathiques (Sanum).
- 1 ou 2 produits lytiques.
- les draineurs digestifs et hépatiques.
- un alcalinisant ("mélange de base" chez Burgerstein).
- mise en place d'une complémentation nutritionnelle. (21)

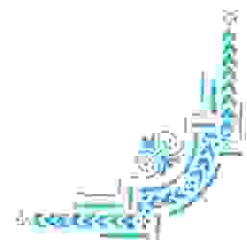
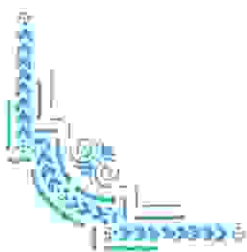


*Deuxième partie*



***ETUDE EXPÉRIMENTALE***

Produced with ScanTOPDF



## Chapitre 3

### *Matériel et méthodes*

Produced by Scantopdf

Pour le suivi de la teneur et l'évolution microbienne des eaux de Oued Messida, Nous avons choisi trois points de prélèvement. (Fig.7)

♦ **Le but de l'analyse bactériologique :**

L'analyse bactériologique permet de mettre en évidence la pollution fécale de l'eau, elle représente également un bon moyen pour contrôler l'efficacité des mesures de protection ou de traitement.

♦ **Présentation des points de prélèvement :**

Nous avons concentré notre étude à la recherche et l'identification des bactéries indicatrices de contamination fécale dans l'eau de cet écosystème aquatique, pour cette étude deux prélèvements ont été effectués dans les mois d'avril et de mai (Tab.9)

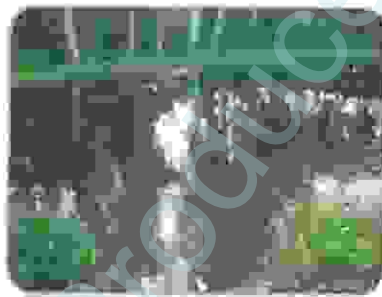
**Tab.9 : présentation du point de prélèvement.**

		Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Coordonnées géographiques
<b>Site 1</b>	<b>Prélèvement 1</b>	10-04-2010.	8 :00 h	Près du Mer Méditerranée,
	<b>Prélèvement 2</b>	10-05-2010.	7 :00 h	36°54'23 67''N 8°31'05.79''E
<b>Site 2</b>	<b>Prélèvement 1</b>	10-04-2010.	8 :30 h	Après le rejet d'un égout.
	<b>Prélèvement 2</b>	10-05-2010.	7 :30 h	36°53'40 13''N 8°31'29 71''E
<b>Site 3</b>	<b>Prélèvement 1</b>	10-04-2010.	10 :00 h	Près de la route nationale N44.
	<b>Prélèvement 2</b>	10-05-2010.	8 :00 h	36 ° 53' 13.33'' N 8° 31' 27 70'' E

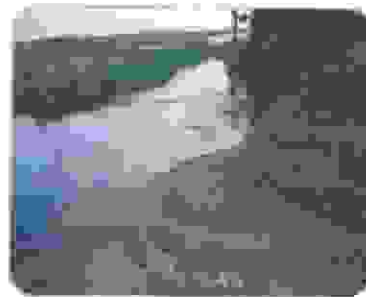




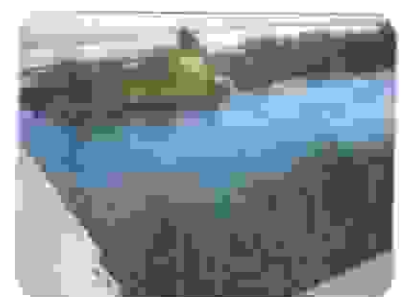
Fig.7 : Localisation du point de prélèvement.



Premier site de prélèvement



Deuxième site de prélèvement



Troisième site de prélèvement

Fig.8 : présentation du point de prélèvement.

## 1. Prélèvement de l'eau :

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vise métallique. Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont prolongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels. Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'au bord, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. (Rodier, 1996)

## 2. Transport et conservation des échantillons :

Les flacons doivent être soigneusement étiquetés et transmis sans retard au laboratoire, il importe de procéder à l'analyse dans un délai très court, inférieur à 8 heures. En aucun cas l'analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24 heures. Si le transport doit dépasser une heure, il faut utiliser une boîte isotherme munie d'éléments réfrigérants. (Cuiraud, 1998)

## 3. Méthodes d'analyse :

### 3.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables :

#### ◆ Principe :

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

#### ◆ Mode opératoire :

- A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées comme l'indique la figure 9.
- Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ .

- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- Laisser solidifier sur pailleasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (TGEA). Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

◆ **Incubation :**

- La première boîte sera incubée, couvercle en bas à 22°C.
- La seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C.

◆ **Lecture :**

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

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

◆ **Dénombrement :**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte 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)



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

#### ◆ Méthode d'ensemencement sur milieu liquide (NPP):

Cette méthode est une estimation statistique du nombre des micros organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (loi de poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la positivité (trouble ou virage de l'indicateur). Cette technique présente des avantages par rapport à la technique de dénombrement sur plaque :

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

#### 3.2.1. Recherche et le dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants :

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

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



**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 porte dans le premier tube de la série contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ .
- Transférer 1ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-3}$ .
- Refera 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 :**

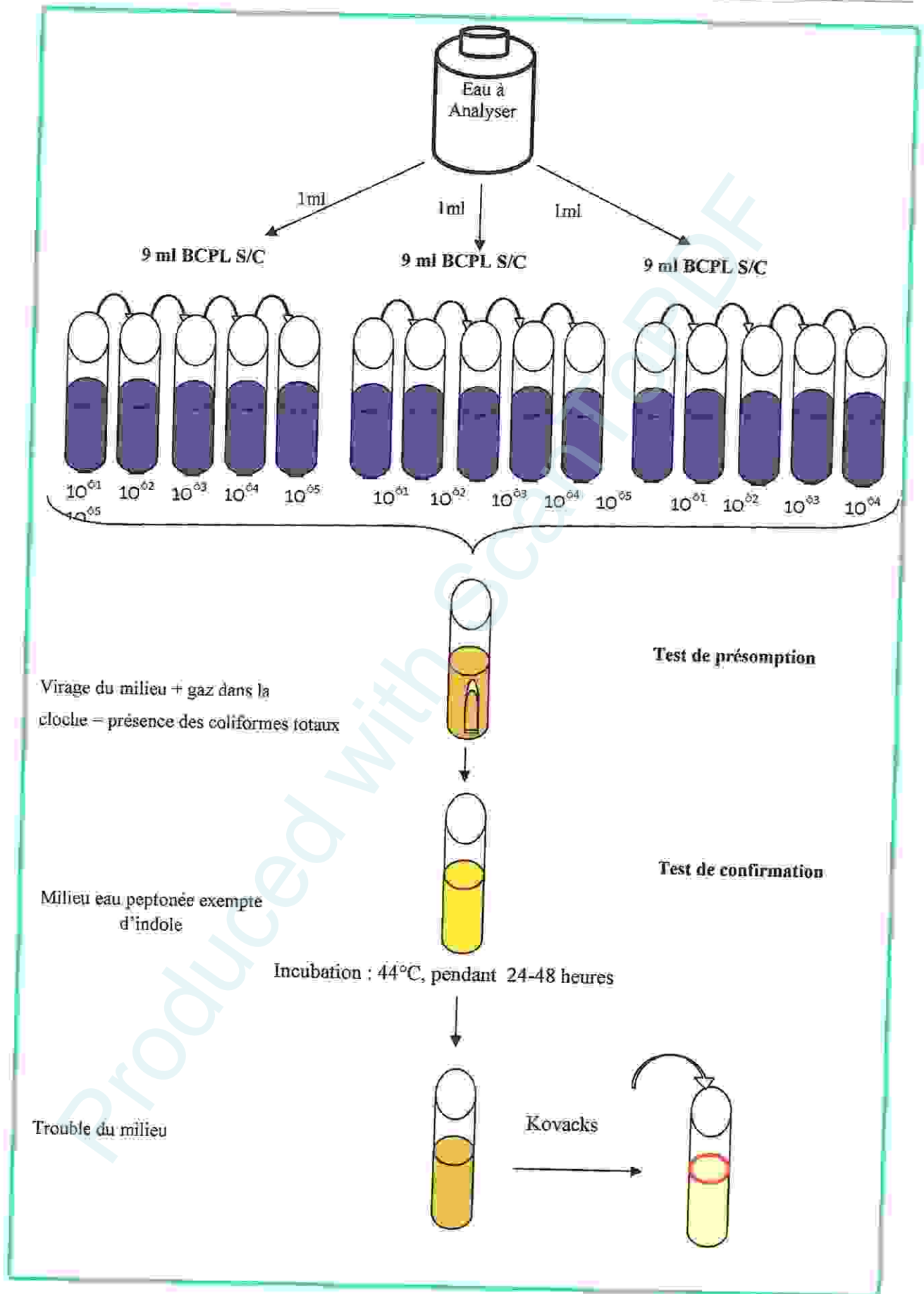
Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans tube contenant le milieu Eau Peptonée Exempte d'Indole.

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.10 : Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes Thermotolérants.**

### 3.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

La recherche et le dénombrement des streptocoques du groupe (D) dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, 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 mettre 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 5 fois pour avoir 5 tubes de Rothe, et refaire 2 autres séries.
- L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  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 osé bouclé dans tube contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C, 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)



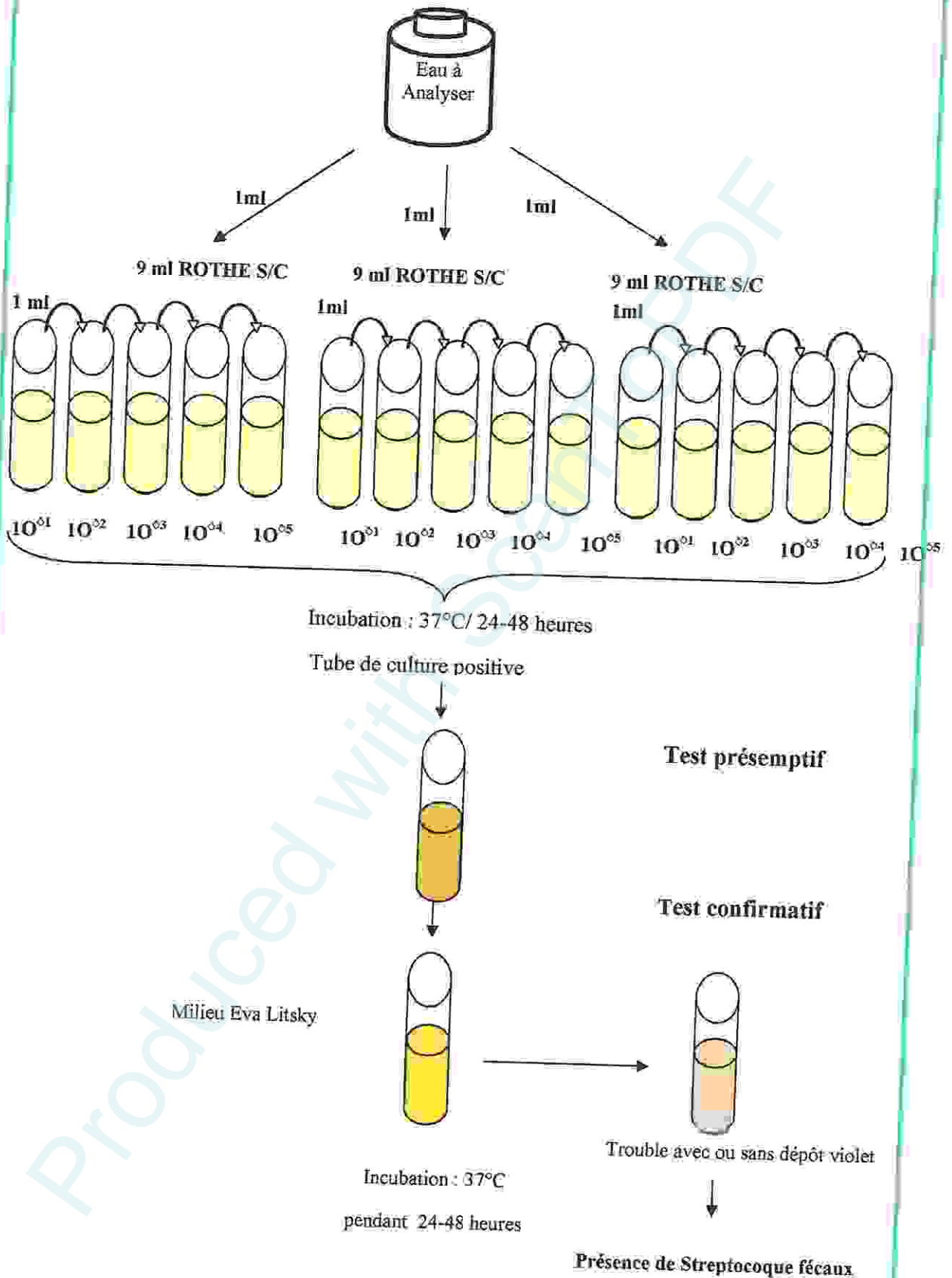


Fig. 11 : Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

### 3.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) :

Les anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) de couleur noire. (LEBRES, 2006)

#### ◆ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser :

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

#### ◆ Lecture :

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

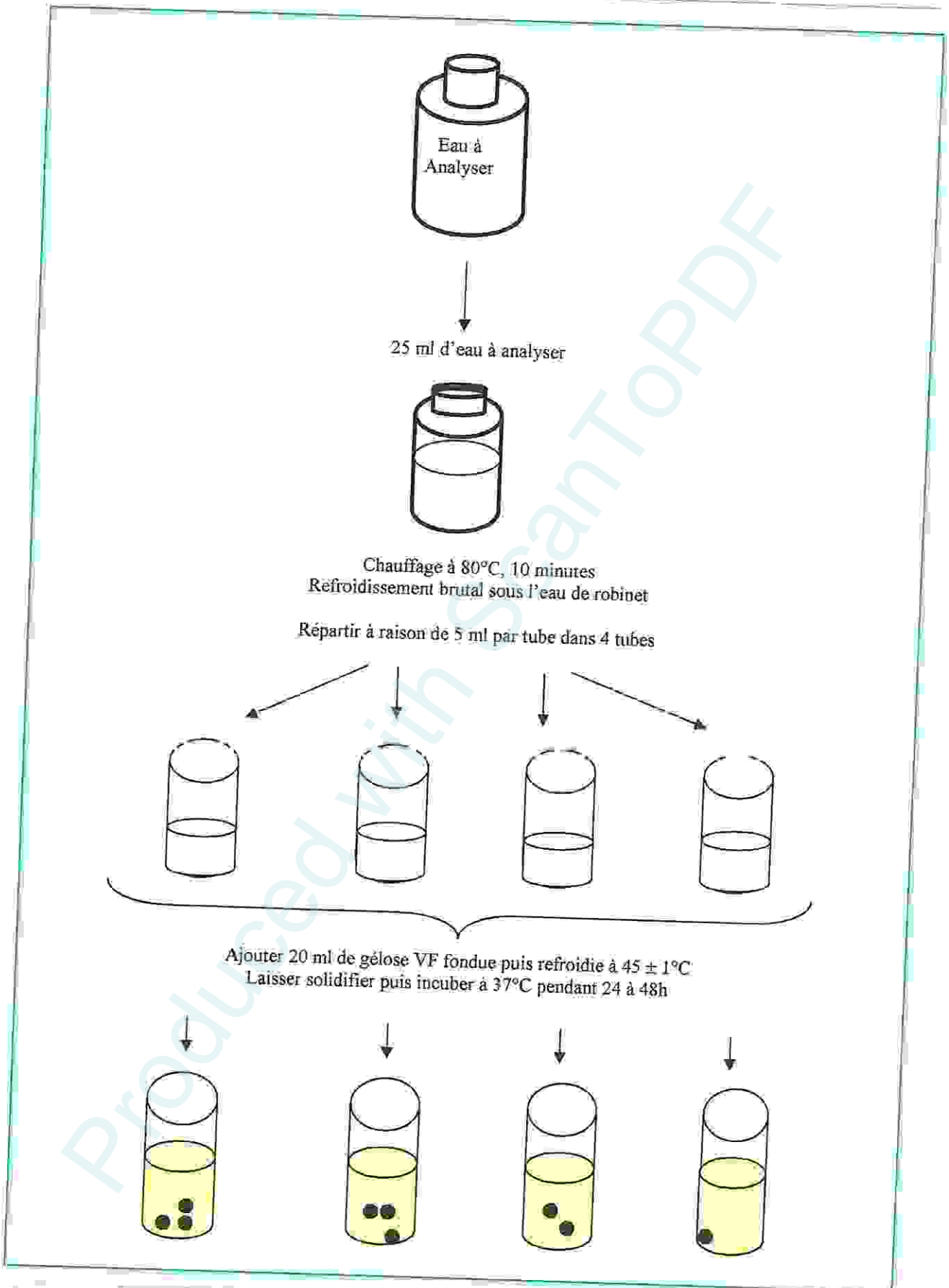


Fig.12 : Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfitoréducteurs (ASR).

### 3.3. Recherche des germes pathogènes :

Les milieux utilisés sont : Mac Conkey, Hektoen, Salmonelle-Schigelle (SS), Chapman, et gélose nutritive (GN). L'inoculum est prélevé directement à partir de l'eau à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface de la boîte de Pétri. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C.

L'identification d'entérobactéries pathogènes repose sur le non utilisation des glucides présents dans le milieu.

#### 3.3.1. Recherche des *Salmonella*:

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

##### ◆ Mode opératoire :

##### • Jour 1. Premier Enrichissement :

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu de Sélénite - Cystiné D/C réparti à raison de 100 ml par flacon.

Ce dernier sera donc ensemencé 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 H<sub>2</sub>S). (Lebres, 2005)
- ↳ Identification biochimique par l'API20E.

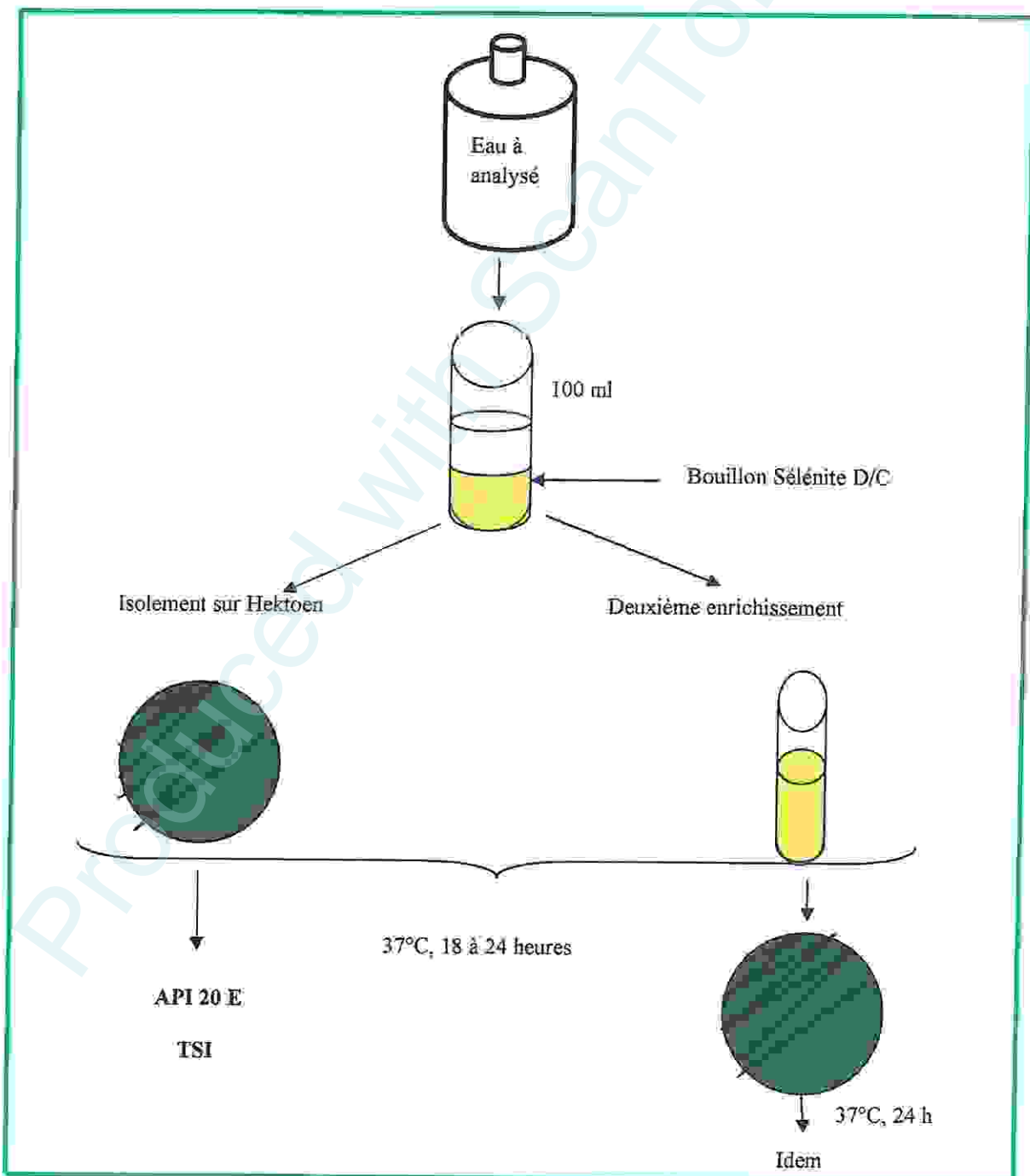


Fig.13 : Recherche des *Salmonella*



### 3.3. 2. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

#### ♦ 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)

### 3.3. 3. Recherche des *Staphylocoques* :

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

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

#### ♦ Milieu Chapman (dégradation de mannitol) :

##### • Principe :

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, ce milieu contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g/l), ce qui

permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl. (Joffin et Leyrol, 2001)

• **Résultat :**

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

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

◆ **Recherche de catalase :**

• **Principe :**

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



• **Mode opératoire :**

À partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame. (Joffin et al, 2001)

• **Résultat :**

Si un dégagement de bille de gaz (oxygène) apparaît, le test est dite positif. (Délarras, 2008)

◆ **Recherche de la Staphylocoagulase :**

a) **Principe :**

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

b) **Mode opératoire :**

Nous avons ensemencé un bouillon cœur cervelle à 37°C pendant 24h par des colonies de Chapman, ensuite en prend 0,1 ml de bouillon cœur cervelle est ajouté au plasma de lapin en suite incubé à 36±2°C. Examiner les tubes 2 h, 6 h puis 24 h après.

- **Résultat :**

Les résultats du teste est de voir le coagulum occupe plus de  $\frac{3}{4}$  du volume du liquide initial. (Bourgeois et al. 1980 ; Délarras, 2008)

### 3.3.4. Recherche des levures (*Candida albicans*):

- ◆ **Milieu Sabouraud :**

L'isolement des levures peut être pratiqué sur le milieu Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture et rendu sélectif par addition de chlorom-phénicol ou de gentamicine. L'identification des levures est effectuée par une coloration simple entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide, ayant permis d'observer les caractères culturaux, la forme (sphérique, ovoïde, allongée) et la taille des colonies.

- ◆ **Test de filamentation :**

- **Principe :**

L'étude morphologique des champignons éventuellement pathogènes comme *Candida* fait appel à des techniques spécifiques de mise en évidence d'élément de structure particulier : les tubes germinatifs.

En présence de sérum, parmi les levures du genre *Candida*, seule *Candida albicans* produit des chlamydospores et des tubes germinatifs.

- **Mode opératoire :**

- Mettre en suspension 1 ml de souche de levures avec 1 ml de sérum ou de plasma afin d'obtenir une culture légèrement opalescente. Le trouble doit être à peine visible à l'œil nu.
- Incuber à 37 °C pendant 3 heures.

- ◆ **Lecture :**

Examiner à l'état frais le mélange : certaines cellules (*Candida albicans*) peuvent présenter un tube de germination en doigt de gant caractéristique sans étranglement à la base, ni séparation, ni membrane visible. (Joffin et al, 2001)

## 5. L'identification :

### 5.1. Examen macroscopique des caractères culturaux :

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

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

### 5.2. Examen microscopique après coloration de Gram :

#### ◆ Les étapes de coloration de Gram :

- A partir de la culture à étudier préparer un frottis.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes.

#### ◆ Lecture :

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram négatif sont roses.
- Les bactéries Gram positif ont de coloration violette (Bourdon et Marchal, 1981)



### 5.3. Examen liés aux caractères biochimiques :

#### ◆ La Galerie API 20E :

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

#### • 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], [H<sub>2</sub>S] 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 y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons<sup>+</sup>.

##### ➤ 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<sup>+</sup>.
- Milieu rouge : mannitol<sup>-</sup> (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 brumâtre.

#### ➤ Teste de réduction du nitrate :

Le milieu bouillon nitraté permet de rechercher la réduction des nitrates en nitrites ( $NO_3^-$ ) en ( $NO_2^-$ ). Plus la fermentation du fructose. Nous avons ensemencé le bouillon nitraté et incubé à  $37^\circ C$  pendant 24 heures. Après incubation nous ajoutons deux gouttes du réactif nitrate réductase 1.

- 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 ajoutant de la poudre de Zinc, et la couleur apparaîtra, 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<sup>+</sup>, ou bien devient jaune VP<sup>-</sup>.

#### • Test RM (Rouge de Méthyle) :

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

### ➤ Recherche du tryptophane désaminase (TDA) :

La désaminase agit sur le L-tryptophane en donnant l'acide indole-pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration Brun rouge.

- Nous ensemencions le milieu urée-indole avec une suspension épaisse de bactéries. Après 2h d'incubation, nous ajoutons 02 gouttes de perchlorure de fer dilué au 1/3.
- Résultat TDA<sup>+</sup> : coloration brune-rouge avec présence d'un précipité.
- Résultat TDA<sup>-</sup> : coloration jaune orangé.

### ➤ Mise en évidence de l'uréase :

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation d'un contenant de l'urée d'où l'utilisation du milieu urée indole.

- Nous réalisons à partir d'une culture Hektoen une suspension aussi dense des bactéries à étudier dans 0,5 ml de milieu urée-indole. Nous incubons à 37°C pendant 12 à 18 heures.
- Uréase positive : virage de l'inducteur du jaune au rouge violacé au rose rouge.

- Uréase négative : pas de changement de coloration ou virage au jaune citron.

➤ **Recherche de l'oxydase :**

Nous entendons par l'oxydase 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.

➤ **Recherche de l'ONPG :**

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

Son principe repose sur le fait que comme le lactose, l'ONPG composé incolore, est scindé par l'enzyme en libérant de l'ortho-nitro-phénol, composé soluble jaune.

- Nous ajoutons un disque ONPG 0.5ml d'une suspension dense d'une culture de bactérie prélevée sur un milieu Hektoén.
- Les tubes après 15mn, 30mn, 1h, et 24h d'incubation. la majorité des réactions positives sont observées entre 15 et 30 mn.
- réaction ONPG<sup>+</sup> : coloration jaune.
- réaction ONPG<sup>-</sup> : pas de coloration. (Sayad, 2008)



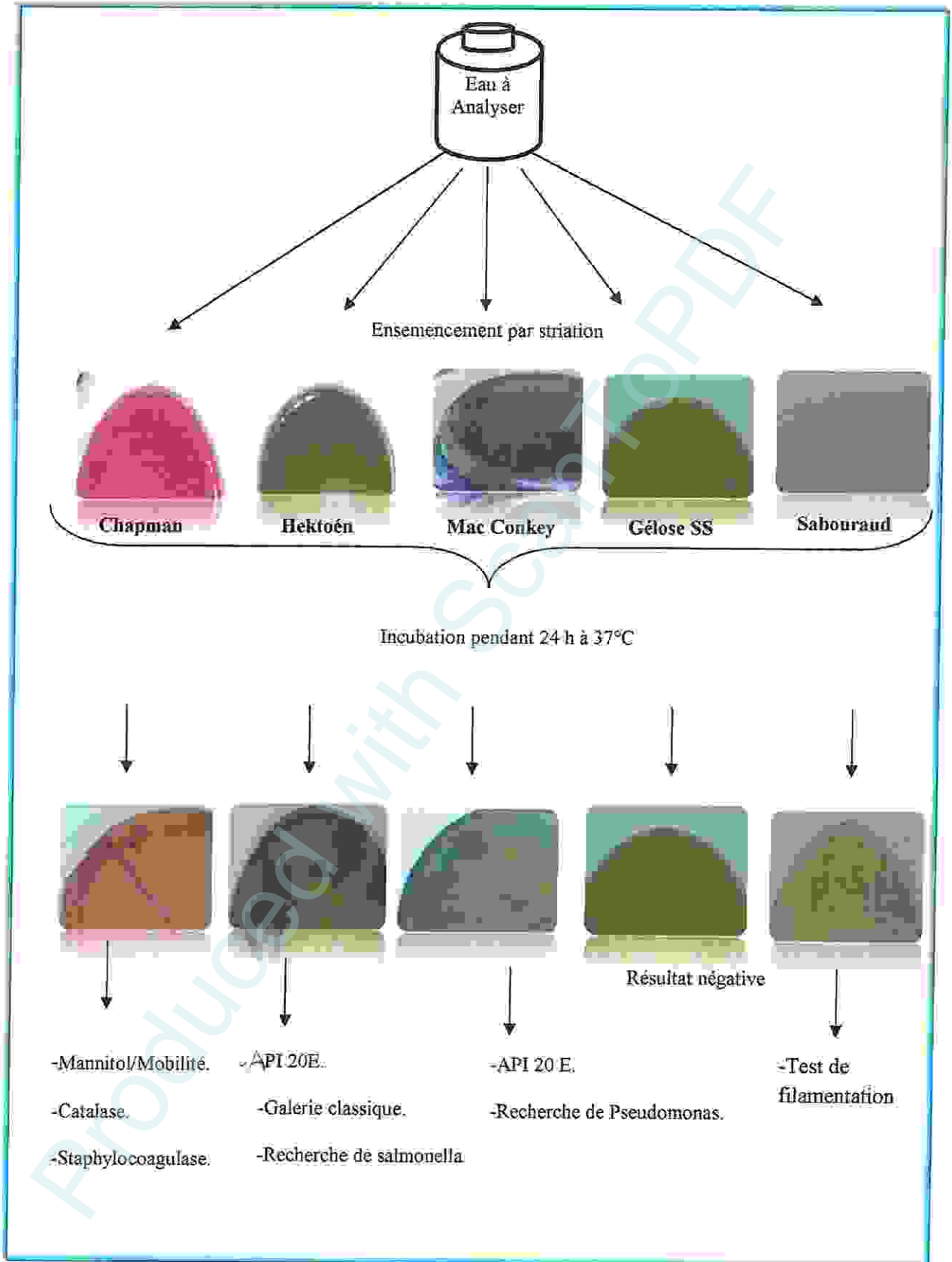


Fig.14 : Recherche bactériologique sur les milieux gélosés.



## *Chapitre 4*

### *Résultats et discussion*

ScantOPDF

Produced by ScantOPDF

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

Les résultats des analyses bactériologiques des échantillons d'eau prélevés et que nous avons obtenues sont présentés sous forme des tableaux et des diagrammes exprimant les différents variations de tous les paramètres étudiés.

**1.1. Germes totaux :**

Les résultats de la recherche et le dénombrement des germes totaux des eaux de Oued Messida durant le mois de mai sont présentées dans le tableau 10.

**Tab. 10 : Recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables.**

	Température	Site 1	Site 2	Site 3
10-05-2010	22°C	11 UFC/ml	9 UFC/ml	150 UFC/ml
	37°C	25UFC/ml	70 UFC/ml	100UFC/ml

**1.2. Recherche et dénombrement des témoins de contamination fécale :**

**1.2.1. Coliformes totaux :**

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance (Duffour, 1977 ; In Aouissi 2009).

La variation du nombre des bactéries dans les différents sites de prélèvement situés sur l'Oued Messida sont illustrés dans le Tab 11 et la Fig.15.

**Tab.11 : Evolution du nombre des coliformes totaux.**

	Avr	Mai
S1	40000 CT/ml	200000 CT/ml
S2	40000 CT/ml	40000 CT/ml
S3	1500000 CT/ml	110000 CT/ml

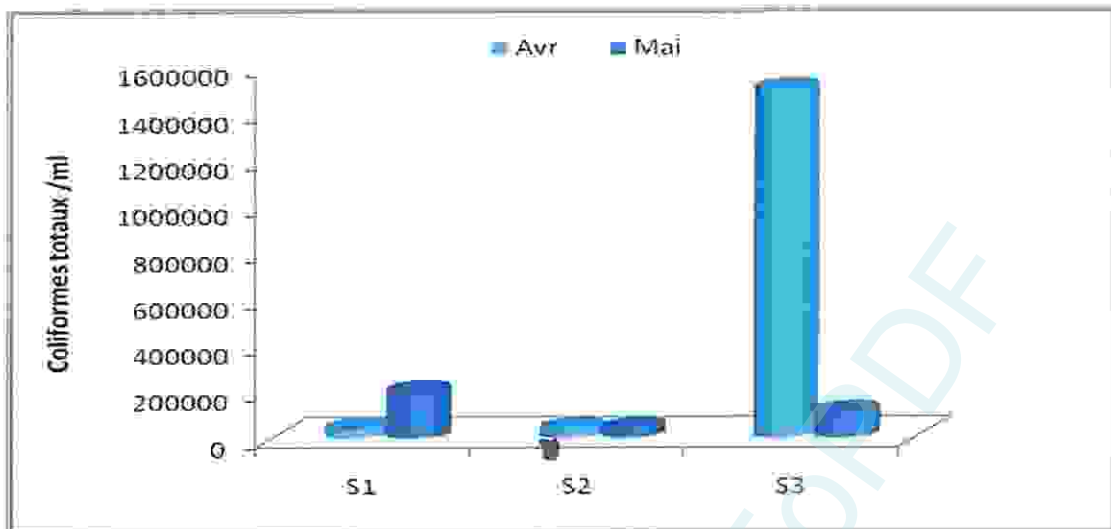


Fig.15 : Evolution du nombre de coliformes totaux dans les eaux de Oued Messida

### 1.2.2. Coliformes fécaux :

*Escherichia coli* est le type de coliforme d'habitat fécal exclusif ; sa recherche est donc extrêmement importante. L'évolution du nombre de coliformes fécaux dans les eaux d'Oued Messida est présentée dans le Tab.12 et la Fig.17.

Tab.12 : Evolution du nombre des coliformes fécaux.

	Avr	Mai
S1	2000 CF/ml	90000 CF/ml
S2	1500 CF/ml	1500 CF/ml
S3	90000 CF/ml	4500 CF/ml

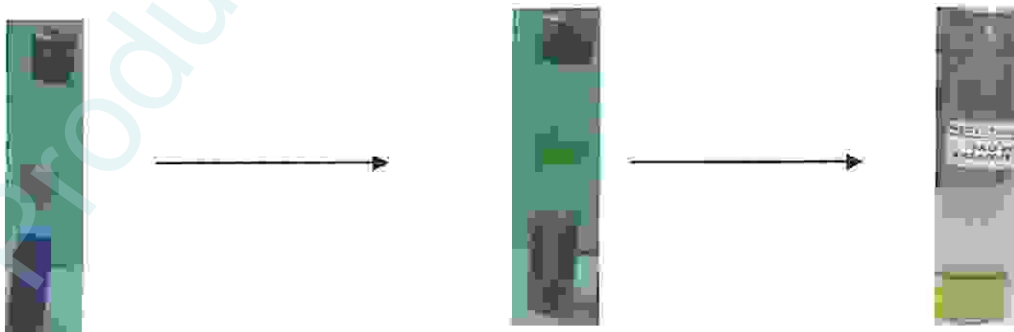


Fig.16 : Résultat de la recherche des coliformes totaux dans les eaux de Oued Messida.

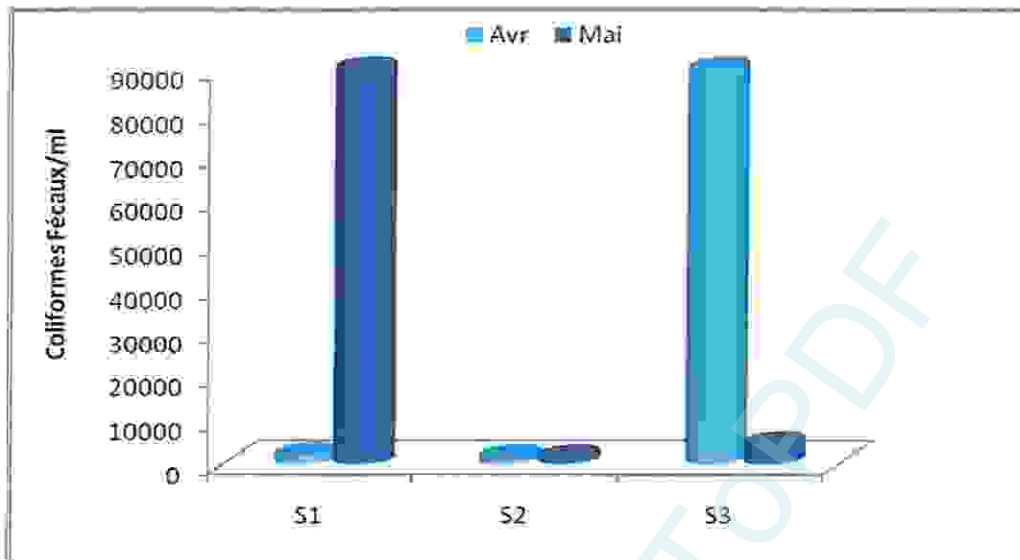


Fig.17 : Evolution du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de Oued Messida

1.2.3. Streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux. Les résultats de dénombrement de ces derniers sont présentés dans le Tab13 et Fig. 19. (Rodier, 1996)

Tab.13 : Evolution du nombre des Streptocoques fécaux.

	Avr	Mai
S1	900 SF/ml	450000 SF/ml
S2	400 SF/ml	70000 SF/ml
S3	400 SF/ml	15000 SF/ml

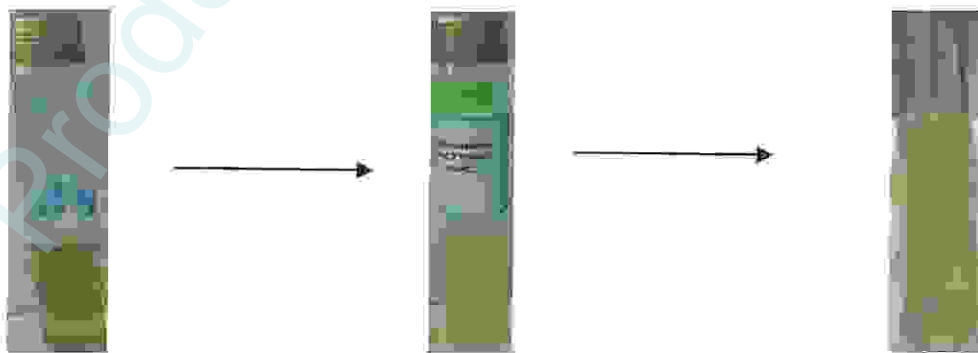


Fig.18 : Résultat de la recherche des streptocoques fécaux.

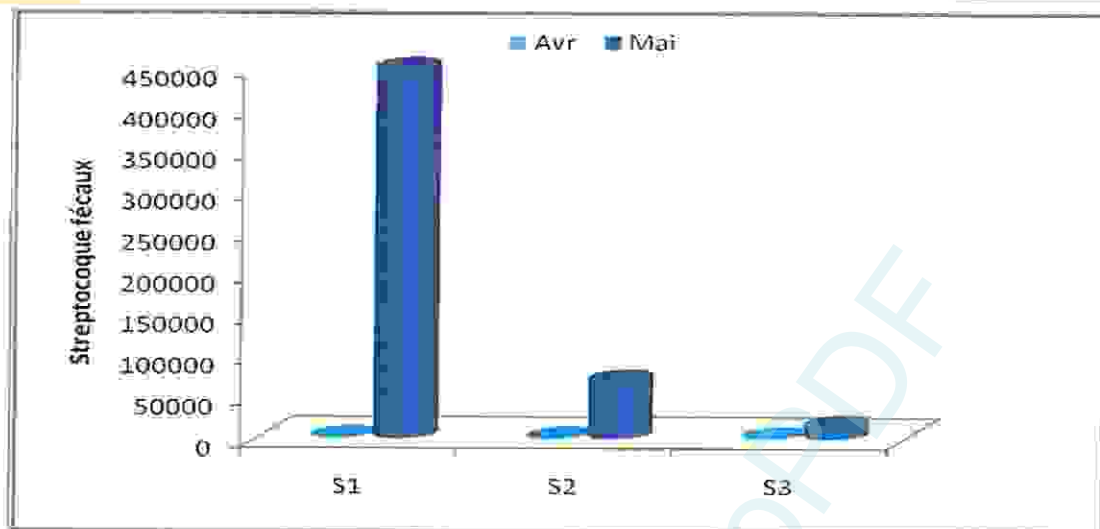


Fig.19 : Evolution de nombre des streptocoques fécaux.

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

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des indices de contamination ancienne. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes exclusivement végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale.

Tab.14 : Résultat de la recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR).

	Site 1	Site 2	Site 3
Prélèvement 1	-	-	-
Prélèvement 2	-	-	-

### 1.3. Identification des souches bactériennes:

#### 1.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram:

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement. Ces données sont résumées dans le Tab 15.



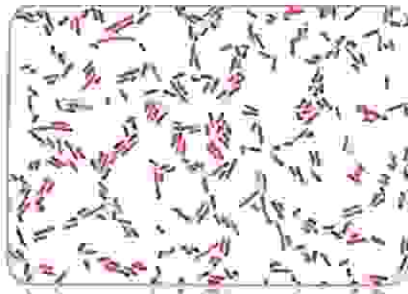


Fig. 20 : Bâtonnets Gram (-)

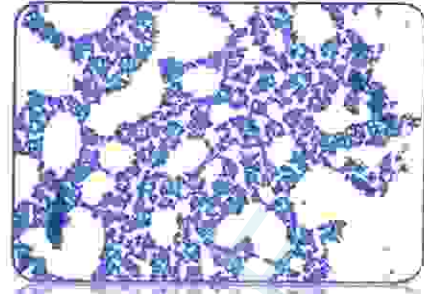


Fig. 21 : Cocci Gram (+)

Tab. 15 : Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau de Oued Messida

Milieu	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 1 mm de diamètre.</li> <li>- Irrégulière, lisse, plate, jaune, 1 mm de diamètre.</li> <li>-Bombée, lisse, brillante, à contour régulier, de couleur jaune.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bacilles isolées ou en chaînettes, Gram négatif.</li> <li>-Bacilles isolés, Gram négatif.</li> </ul>
<b>Gélose Mac Conkey (MC)*</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Circulaire, ondulés, bossue, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre.</li> <li>-Rose claire, bombée, lisse, brillante circulaire, 1 mm de diamètre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bacilles isolés, Gram négative.</li> <li>-Bacilles isolés, Gram négative.</li> </ul>
<b>Gélose Hektoen (GH)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Vertes ou bleuâtre, bossue, circulaire, ondulés, rigoureuse.</li> <li>-Transparente légèrement blanchâtre.</li> <li>- Jaune saumon, bombée, lisse, 1mm de diamètre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bacilles isolés, Gram négative.</li> <li>-Bacilles isolés, Gram négative.</li> </ul>
<b>Milieu Chapman (G Ch)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, de couleur blanche.</li> <li>-Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de couleur du milieu entourant les colonies au jaune brillant.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cocci groupées en amas, Gram positif.</li> <li>-Cocci, groupés en amas, en paires, Gram positif.</li> </ul>
<b>Milieu Sabouraud</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Colonie blanchâtre, bombée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cellules ovalaires ou fortement Gram positif.</li> </ul>
<b>Gélose SS</b>	(-)	(-)

(-) : résultat négative

(MC)\* : résultat négative pour le deuxième prélèvement.

### 1.3.2. Résultats de l'identification biochimique:

Les résultats de l'identification biochimique par l'API20E et la galerie classique sont représentés dans le Tab.16.

Tab.16 : Résultats de l'identification biochimique.

site de prélèvement	Espèces bactériennes isolées
Site 1	- <i>Klebsiella oxytoca</i> . - <i>Aeromonas hydrophila</i> g2.
Site 2	- <i>Pseudomonas fluorescens</i> . - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Site 3	- <i>E. coli</i> .

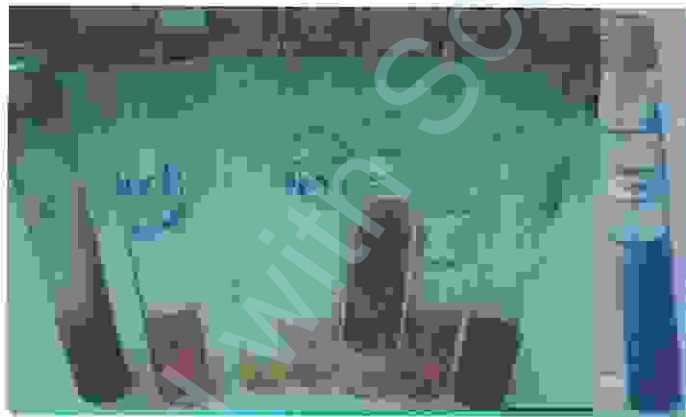


Fig. 22 : Résultat de la galerie classique pour *Klebsiella oxytoca*.

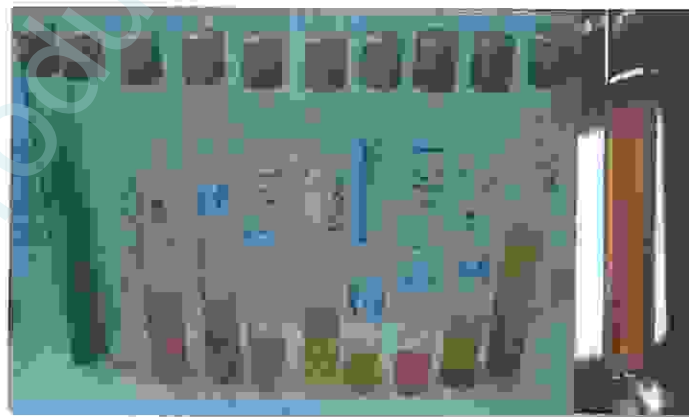


Fig. 23 : Résultat de la galerie classique pour *E. coli*.



Fig. 24 : Profil biochimique de *Aeromonas Hydrophila* g2.



Fig. 25: profil biochimique de *Pseudomonas fluorescens*.

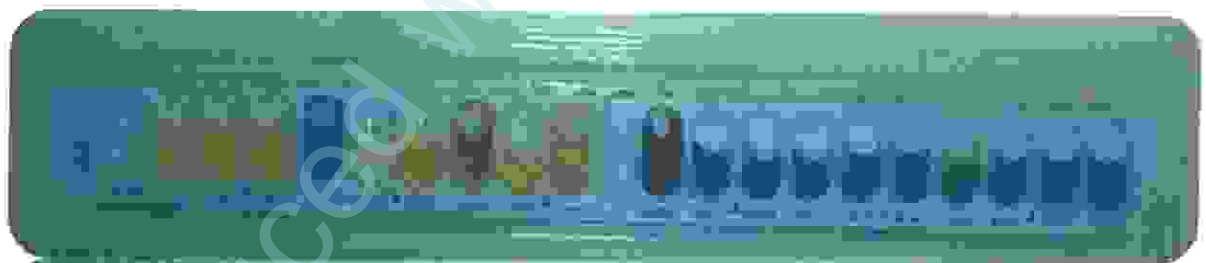


Fig. 26: profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.

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

Les résultats des différents tests effectués sur les *Staphylocoques* sont représentés dans le Tab 17.

Tab.17 : Résultats du profil biochimique de *Staphylococcus*.

	Site 1	Site 2	Site 3
Mannitol/mobilité	+/-	+/-	+/-
Catalase	+	+	+
Staphylocoagulase	-	-	-

### 1.3.4. L'identification des levures :

Les résultats des tests de filamentation réalisés sur les souches de *Candida* sont résumés dans le Tab. 18

Tab. 18. Résultats des tests d'identification des *Candida*

Date de prélèvement	Group	Test de filamentation	Espèce identifiée
10/04/2010	Cellules ovalaires ou rondes fortement Gram (+)	-	<i>Candida non pathogène</i>
10/05/2010			

## 2. Discussion :

La valeur et la qualité d'une eau courante dépendent essentiellement de la prolifération des cellules bactériennes et de leurs nombres. En effet, durant deux mois d'étude, soit les mois d'avril et de mai 2010, nous avons constaté que l'eau de Oued Messida est très riche en microorganismes.

Il est néanmoins important de signaler que durant le mois de mai le nombre des bactéries étaient plus élevé, ceci est du principalement à l'élévation des températures ce qui a entraîné une surcharge minérale de ces eaux.

Du point de vue coliforme, les effectifs sont plus importants dans le site 3 ( $15.10^5$  CF/ml) que dans les deux premiers sites (S1, S2) (Fig. 15). Le niveau de l'eau au cours du prélèvement de mois mai est plus élevé qu'au cours du prélèvement de mois d'avril dans le site 3 à cause des chutes de pluie, ce qui permet d'expliquer le nombre très élevé des coliformes durant le mois d'avril.

Quand au graphique de l'évolution des coliformes fécaux (Fig. 17), nous constatons des différences notables dans le dénombrement. Les sites S1 et S2 exhibent la valeur la plus élevée ( $9.10^4$  CF/ml), alors que le site S2 montre une légère stabilité durant les deux mois de l'étude.

Le graphique des Streptocoques D (Fig. 19) nous montre que les effectifs les plus élevés ont été observés durant les mois de mai au niveau des 3 sites. Le maximum est cependant dénombré dans le site S1 ( $4,5. 10^5$ ) SF/ml.

Pour les spores des ASR les résultats négatifs obtenus (Tab.14) montrent l'absence des espèces sulfitoréductrices (*Clostridium* Sp) responsable des maladies graves telles le botulisme et le tétanos.

Du point de vue recherche microbiologique, notre étude nous a conduit à observer des colonies bactériennes de différentes tailles (Tab.15). Une étude microscopique basée sur la coloration différentielle de Gram nous a confirmé que les bâtonnets Gram (-) sont plus représentés par rapport aux cocci Gram (+) qui demeurent faiblement représentés.



L'identification de ces bactéries par l'étude de leurs métabolismes (anabolisme + catabolisme) et de leurs arsenaux enzymatiques cellulaires par le biais de la galerie Api 20 E et la galerie classique, nous a permis d'identifier 5 espèces bactériennes : *Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila* g2. dans le site 1, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* dans le site 2, et *E. coli* dans le site 3 durant les deux mois d'étude. Ces bactéries très communes dans les eaux et peuvent dans certains cas considérées comme synonyme de maladie à transmission hydrique et de ce fait peuvent constituer un problème de santé publique.

Les tests réalisés sur les staphylocoques nous ont permis d'identifier des *Staphylococcus* non pathogènes (*Staphylococcus epidermidis*).

L'étude de pouvoir pathogène de *Candida* qui a été déterminé par le test de filamentation est virer négatif pour tous les échantillons ce qui implique que les souches isolées sont non pathogène.

Ainsi, au terme de cette étude, bien que dans nos deux prélèvements, la qualité bactériologique de l'eau de Oued Messida, s'est montrée insalubre et impropre ni à la consommation urbaine ni à une utilisation agricole, il serait préférable de multiplier le nombre d'analyse et de les répéter sur une période plus longue, voire pendant la période estivale où ces eaux se chargent de plus en plus en éléments minéraux et en éléments organiques facilement biodégradables permettant ainsi une prolifération bactérienne plus intense.

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la qualité microbiologique des eaux de Oued Messida situé dans le Parc National d'El Kala (wilaya d'El Tarf).

La région d'étude est dominée par un climat méditerranéen, subhumide à hiver chaud, caractérisée par deux saisons distinctes, l'une sèche et chaude de mai à septembre et l'autre pluvieuse et froide d'octobre à avril. Les températures moyennes oscillent entre 31.84°C durant le mois d'aout et 6.49°C durant le mois de février. Elle reçoit une précipitation annuelle moyenne équivaux à 1300 mm/an.

L'analyse réalisée pendant les mois d'avril et de mai 2010 a portée principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les germes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs avec la recherche de bactéries pathogènes. Une recherche complémentaire des levures a été aussi réalisée. Par ailleurs, les tests d'identification des souches isolées ont permis d'identifier cinq souches rapprochées aux différents genres : *Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila* g2. dans le site1, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* dans le site 2, et *E. coli* dans le site 3.

Les résultats de l'analyse bactériologique nous ont aussi montrés que les eaux étudiées renferment des nombres élevés de bactéries surtout pendant le mois de mai ce qui nous a amené à les classés impropre à la consommation et à l'irrigation.

Les écosystèmes du Nord-Est algérien dont le Parc National d'El-Kala (wilaya d'El-Tarf) renferment un grand nombre de zones humides classées site Ramsar. Ces dernières restent encore banalisées.

Ainsi, afin de déterminer la qualité microbiologique de l'eau de Oued Messida deux analyses ont été réalisées soit pendant les mois d'avril et mai.

Les résultats de ces analyses bactériologiques nous ont montrés une contamination fécale de l'eau de cet écosystème lotique qui est représenté par la forte concentration en coliformes fécaux et en streptocoques fécaux. Cette pollution affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur la santé de ces habitats biologiques.

**Mots clés :** Qualité microbiologique, pollution de l'eau, Oued Messida, Parc National d'El Kala (PNEK), contamination fécale.

The ecosystems of the north-East of Algeria contain many of areas listed in the Ramsar site, including the national park of El Kala (El Tarf Wilaya).

To determine the microbiological quality of waters of Oued Messida two analysis were conducted during the months of May and April.

The results of bacteriological analysis expose us feecal contamination of waters of Oued Messida reported by the high concentration of fecal coliforms, fecal streptococci. This pollution affects the environment and constitutes a major threat to the health of these habitats.

**Keywords:** microbiological quality, water pollution, Oued Messida, National Park of El Kala (PNEK), feecal contamination.

Produced with Scan PDF

الأنظمة البيئية لشمال شرق الجزائر و من بينها العظيرة الوطنية للقالة (ولاية الطارف) تضم محمدا كبيرا من المناطق الرطبة و المصهجة ضمن موقع ومسار.

من أجل تحديد التلوث الميكروبيولوجية لمياه واد مسيجة أجريننا تحليلين خلال شهري أفريل و ماي.

البكتيرية. بيئته لنا وجود تلوث برازي لمياه هذا التظلم البيئي النتائج المتحصل عليها من التحليل المائي و التي تظهر من خلال التراكم العالية لكتيريا القولون و بكتيريا المكورات السببية البرازية. هذا التلوث يؤثر على البيئة، و يشكل خطرا كبيرا على صحة السكان.

الكلمات المفتاحية : التلوث الميكروبيولوجية، التلوث المائي، واد مسيجة. العظيرة الوطنية للقالة، تلوث برازي.



*Références  
bibliographiques*

Produced with ScantOPDF

- **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.
- **Aouissi A, (2009)**, *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie)*, Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945, Guelma. 141p.
- **Bourdon J.L et Marchal N, (1981)**, Technique bactériologique. *DOIN*.335p.
- **Bourgeois C.M et Leveau J.Y, (1980)**, Technique D'analyse Et De Contrôle Dans Les Industries Agro-alimentaire. T<sub>3</sub>. *Apria* 331p.
- **Délaras C, (2008)**, surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux : Réglementation-Prélèvements-Analyses. *TEC & DOC*.269p.
- **Frobisher M et Fuerst R, (1976)**, Microbiologie clinique. *HRW*.507p.
- **Guergueb E, Menaia M et Trea CH, (2009)**, *Structure de l'avinofaune aquatique hivernante dans le Lacs des Oiseaux (Wilaya d'El-Tarf)*. Mémoire d'Ingénieur, Université 08 mai 1945, Guelma. 63p
- **Guiraud J-P, (1998)**, Microbiologie alimentaire. *Dunod*.625p.
- **Joffin J J-N et Leyrol G, (2001)**, Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3<sup>ème</sup> éditions. *CRDP d'Aquitaine*. 320p
- **Kadid Y, (1989)**, *Contribution à l'étude de la végétation aquatique du lac Tonga*. *PNEK*. Mémoire d'Ingénieur. INA. Alger.106p.
- **Lesne J, (1998)**, Hygiène publique, microbiologie et gestion de l'eau. Ecole nationale de la santé publique, Rennes, France, 7p.
- **Lebres E, (2005)**, Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, Institut Pasteur d'Algérie.60p.
- **Lebres E, (2006)**, Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, Institut Pasteur d'Algérie.60p.
- **Madigan M et Martinko J, (2007)**, Brock : Biologies des micro-organismes. 11<sup>ème</sup> édition. *PEARSON*.1047p.
- **Nauciel CH et Vildé J-L**, Bactériologie médicale : connaissance et pratique.2<sup>ème</sup> éditions. *MASSON*.2005.257p.
- **Ozenda P, (1982)**, Les végétaux dans la biosphère. *Doim*. Paris, 431p.
- **Pilet C, Bourdon J.L, Toma B, Marchal N, Balbastre C et Person J-M, (1987)**, Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. *Doim*. 372p.
- **Rejsek F, (2002)**, Analyse des eaux : aspects réglementaires Et techniques. *Sceran*. Paris.360p.

- **Rodier J, (1996).** L'analyse de l'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux de Mer. 8<sup>ième</sup> édition. *Dunod*.1365p.
- **Samraoui B et De Belair G, (1998).** Les zones humides de la Numidie orientale : Bilan des connaissances et perspectives de gestion. Synthèse.90p.
- **Sarri, (2002).** *Etude de la végétation du PNEK forêt domaniale du djebel El Ghorra (Algérie).* Mémoire de Magister, FSN, Sétif, 119p.
- **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.
- **Touati L, (2008).** Distribution spatio-temporelle des genres Daphnia et Simocephalus des mares temporaire de la Numidie. Mémoire de Magistère. univ de Guelma. 70p.
- **Zeraoula A, Bounnab CH, Brahmia H, (2009).** Inventaire et écologie des oiseaux d'eau fréquentant pendant leurs hivernages le secteur sud ouest du lac Tonga (Wilaya d'Étarf) : Saison d'hivernage 2008/2009.

#### Sites web :

1. <http://www.lenntech.fr/bibliotheque/maladies/maladie-hydrique/maladie-hydrique.htm> DATE 30/03/2010
2. [http://santecheznous.com/condition\\_info\\_details.asp?channel\\_id=0&relation\\_id=0&disease\\_id=232&page\\_no=1](http://santecheznous.com/condition_info_details.asp?channel_id=0&relation_id=0&disease_id=232&page_no=1) 30/03/2010
3. [http://www.esculape.com/infectio/zz\\_salmonellose.htm](http://www.esculape.com/infectio/zz_salmonellose.htm) DATE 30/03/2010
4. [http://fr.wikipedia.org/wiki/Fi%C3%A8vre\\_typho%C3%AFde](http://fr.wikipedia.org/wiki/Fi%C3%A8vre_typho%C3%AFde) DATE 30/03/2010
5. [http://santecheznous.com/condition\\_info\\_details.asp?channel\\_id=0&relation\\_id=0&disease\\_id=232&page\\_no=2](http://santecheznous.com/condition_info_details.asp?channel_id=0&relation_id=0&disease_id=232&page_no=2) DATE 30/03/2010
6. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chol%C3%A9ra> 12/04/2010.
7. [http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa\\_1450\\_cholera.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_1450_cholera.htm) 12-04-2010
8. <http://www.liste-hygiene.org/CHOLERA.html> 12/04/2010
9. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Gastro-ent%C3%A9rite>.

10. [http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=gastroenterite\\_pm](http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=gastroenterite_pm)  
[12-04-2010](#)
11. <http://www.liste-hygiene.org/ESCHE.html> 12-04-2010
12. <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/gastro-enterite-a-escherichia-coli-entero-invasif-0157-h7-9005.html> 12-04-2010
13. <http://hepatoweb.com/hepatobase/hepatite.html> DATE 30/03/2010
14. [http://www.phac-aspc.gc.ca/std-mts/phone\\_f.html](http://www.phac-aspc.gc.ca/std-mts/phone_f.html)
15. [http://www.cliniquelactuel.com/fr/infections/hepatite#Les\\_hepatites\\_A\\_et\\_E](http://www.cliniquelactuel.com/fr/infections/hepatite#Les_hepatites_A_et_E) DATE  
[30/03/2010](#)
16. [http://fr.wikipedia.org/wiki/H%C3%A9patite\\_E](http://fr.wikipedia.org/wiki/H%C3%A9patite_E) DATE 30/03/2010
17. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/fr/index.html> DATE 30/03/2010
18. <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-000010-009/presse/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/amibiase> 12-04-2010
19. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Bilharziose> 12-04-2010
20. [http://www.ateliersante.ch/candida2\\_traitement.htm](http://www.ateliersante.ch/candida2_traitement.htm) DATE 30/03/2010
21. <http://sante-az.aufeminin.com/w/sante/s187/maladies/bilharziose.html> 12-04-2010
22. <http://annaba.net.free.fr/html/kala.parc.htm>

Produced with

*Annexes*

Produced with ScantOPDF



**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 (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 biliaries.....	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- viote.....	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

Tab.1 : Table de Mac-Grady (NPP)

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

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

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