

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Ecologie Microbiologie
Spécialité/Option : Santé Eau Environnement/ Microbiologie de l'environnement

**Thème : Etude comparative de la qualité bactériologique des eaux
D'Oued EL-Hout et Oued Messida
(Parc National d'El Kala , W. d'El Taref)**

Présenté par :

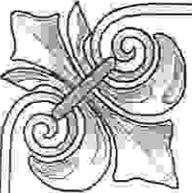
- ATTIA Chadia
- SAYAD Meryem

Devant le jury composé de :

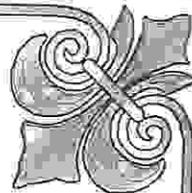
Présidente : Mme IBENCHERIF Hayat
Examineur : Mr MERZOUG Abd El Ghani
Examineur : Mr ATOUSSI Sadek
Encadreur : Mme.BENHALIMA Lamia

M.M.A(Université de Guelma)
M.A.A.(Université de Guelma)
M.A.A.(Université de Guelma)
M.A.B(Université Guelma)

Juin 2012



REMERCIEMENT



Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadreur Mme BENHALIMA LAMIA qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à Mr KEBIECHE H. et Mr Lakhdar de nous avoir Fait bénéficier de ses précieuses aides, ses encouragements, ses conseils et ses bonnes humeurs.

Nos remerciements vont également à la commission d'examen : Mme BENCHERIF H, Mr MERZOUG A et Mr ATOUSSI.S qui nous ont fait l'honneur d'accepter de juger notre travail ; qu'ils soient assurés de notre profondes gratitude.

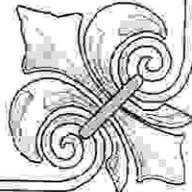
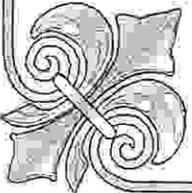
Nous tenons aussi à remercier Melles : Radja, Laila et le groupe de laboratoire de la direction de santé et de population de la wilaya de Guelma pour l'aide qu'ils m'ont apporté dans la réalisation des analyses. Je les remercie aussi pour leur accueil et pour l'ambiance exceptionnelle.

Nous voudrions aussi remercier nos familles pour ses soutiens, ses patiences, et ses compréhensions dans les moments les plus difficiles de cette expédition.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous exprimons également tous le bonheur du monde à nos collègues de promotion du master Santé, Eau et Environnement. Merci encore.

Que ceux que nous avons oubliés nous en excusent. . .



Dédicaces

Je dédie les fruits de mes 17 ans d'études aux plus précieux des trésors :

Mes parents : Ma tendre maman MAHRJA et mon cher papa BOUGERA.

Qui m'ont appris tout ce que je sais.

Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir.

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

Mes chères frères : MAHDI, WAHAB et SAIF AL DIN que Dieu les garde.

Ma seule chère sœur : KARIMA.

*A mes très chères amis : MERJEM KH, KARIMA, WAFÀ, SAFA, IBTISAM, FATMA
ASMA, BASMA, SARA, ABIR, HOUDA, AICHA, SALMA.*

A ma grande famille

A mon fiancé FOUAD

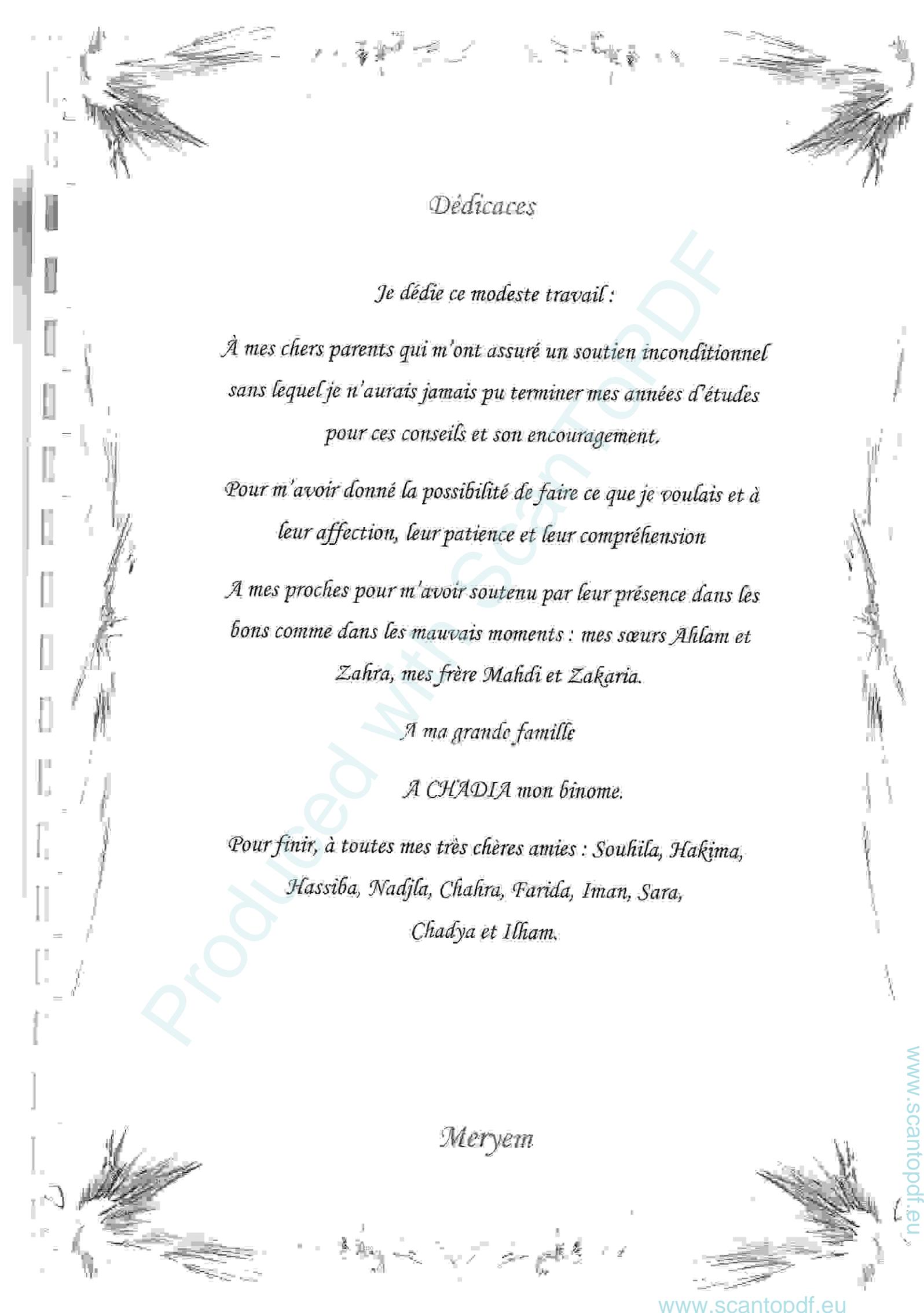
A MERIEM mon binome.

Aux amis de la post graduation. promotion 2011/2012.

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

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

Chadya



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents qui m'ont assuré un soutien inconditionnel sans lequel je n'aurais jamais pu terminer mes années d'études pour ces conseils et son encouragement,

Pour m'avoir donné la possibilité de faire ce que je voulais et à leur affection, leur patience et leur compréhension

À mes proches pour m'avoir soutenu par leur présence dans les bons comme dans les mauvais moments : mes sœurs Ahlam et Zahra, mes frère Mahdi et Zakaria.

À ma grande famille

À CHADIA mon binome.

Pour finir, à toutes mes très chères amies : Souhila, Hakima, Hassiba, Nadjla, Chahra, Farida, Iman, Sara, Chadya et Ilham.

Meryem

Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Localisation géographique de PNEK.	4
Figure 2	Contexte hydrologique de PNEK.	5
Figure 3	Situation géographique d'Oued El-Hout et Oued Messida.	6
Figure 4	Les espèces végétales remarquées au niveau de L'Oued El- Hout.	9
Figure 5	Les espèces animales remarquées au niveau de L'oued Messida.	13
Figure 6	Les espèces végétales remarquées au niveau de L'oued Messida.	14
Figure 7	Localisation des points de prélèvement.	24
Figure 8	Les deux points de prélèvement.	24
Figure 9	Test catalase.	37
Figure 10	L'API20E.	46
Figure 11	Répartition temporelle des germes totaux des eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	50
Figure 12	Répartition temporelle des coliformes totaux des eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida	51
Figure 13	Répartition temporelle d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	52
Figure 14	Test indole positif sur eau péptonée exempte d'indole incubée à 44°C confirme la présence d' <i>E. coli</i> .	53
Figure 15	Répartition temporelle des streptocoque fécaux dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	54
Figure 16	Variation temporelle des germes témoins d'une contamination fécale au niveau d'Oued El-Hout.	55
Figure 17	Variation temporelle des germes témoins d'une contamination fécale au niveau d'Oued Messida.	55
Figure 18	Aspect des colonies sur Chapman.	57
Figure 19	Cocci en amas Gram ⁺ .	57

Figure 20	Test catalase positif.	58
Figure 21	Aspect de colonies sur GNAB.	58
Figure 22	Bacilles incurvés, Gram négatif.	58
Figure 23	Profil biochimique de <i>Vibrio alginolyticus</i> .	60
Figure 24	Profil biochimique de <i>Vibrio cholerae</i> .	60
Figure 25	Aspect des colonies sur Hektoen.	61
Figure 26	bacilles Gram négatif.	61
Figure 27	Aspect des colonies sur Mac Conkey.	62
Figure 28	Bacilles Gram négatif.	62
Figure 29	Aspect des colonies sur SS.	62
Figure 30	Bacilles Gram négatif.	62
Figure 31	Profil biochimique d' <i>Hafnia alvei</i> .	63
Figure 32	Profil biochimique d' <i>Aeromonas hydrophila</i> .	63
Figure 33	Profil biochimique d' <i>E. coli</i> .	65
Figure 34	Profil biochimique de <i>Shigella spp.</i>	65
Figure 35	Profil biochimique de <i>Serratia odorifera</i> .	65

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Les principaux caractères d'Oued El-Hout.	8
Tableau 2	Les principaux caractères d'Oued Messida.	11
Tableau 3	Principales bactéries responsables des infections d'origine hydrique.	20
Tableau 4	Les virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturels	21
Tableau 5	Les infections parasitaires transmises par l'eau.	22
Tableau 6	Présentation des points de prélèvement.	25
Tableau 7	Aspects culturaux de <i>Salmonella</i> sur les milieux sélectifs.	43
Tableau 8	La galerie classique	48
Tableau 9	Dénombrement des germes totaux dans les points de prélèvement d'Oued El-Hout et Oued Messida.	50
Tableau 10	Dénombrement des coliformes totaux dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	51
Tableau 11	Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux de l'Oued El-hout et Oued Messida.	52
Tableau 12	Dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	53
Tableau 13	Dénombrement des Anaérobies Sulfite-Réductrices dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.	54
Tableau 14	Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale	56
Tableau 15	Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale dans Oued El-Hout et Oued Messida	56
Tableau 16	Résultats de l'isolement des staphylocoques pathogènes sur la gélose Chapman.	57
Tableau 17	Résultats d'identification biochimique de staphylocoque isolée	57

Tableau 18	Résultats de l'isolement des <i>Vibrio</i> sur le GNAB.	58
Tableau 19	Résultats et identification biochimique par la galerie classique.	59
Tableau 20	Aspect microscopique et macroscopique des colonies posent sur les géloses Hektœn, Mac Conkey et SS.	61
Tableau 21	Résultats d'identification biochimique par la galerie API20E.	63
Tableau 22	Résultats d'identification biochimique par la galerie classique.	64

Produced with ScanTool

Liste des schémas

Numéro	Titre	Page
Schéma 1	Recherche et dénombrement des germes revivifiables.	28
Schéma 2	Recherche et dénombrement des coliformes totaux (CT) et des coliformes thermo-tolérants.	31
Schéma 3	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.	33
Schéma 4	Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-réducteurs.	35
Schéma 5	Recherche des Vibrions cholériques	38
Schéma 6	Recherche de <i>Pseudomonas</i>	41
Schéma 7	Isolement et identification de <i>Salmonella</i>	44

Produced with Scantopdf

Liste des signes et abréviations :

- : Caractère négatif.
- + : Caractère positif.
- ± : Plus ou moins.
- % : Pour cent.
- ° : Degré.
- °C : Degré Celsius.
- ADH** : Arginine dihydrolase.
- ASR** : Anaérobies sulfite-réducteurs.³
- BCPL** : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre.
- CF** : Coliforme fécaux.
- Cit** : citrate.
- D/C** : Double concentration.
- E.coli** : *Escherichia coli*.
- EPA** : Eau péptonée alcaline.
- GN** : Gélose Nutritive.
- GNAB**: Gélose nutritive alcaline et biliée.
- h** : Heure.
- ha** : Hectare.
- H** : Hydrogène.
- Ind** : indole.
- Km** : Kilomètre.
- LDC** : Lysine déshydrogénase.
- Lac** : lactose.

- M.A.B:** Man and Biosphère Programme.
- m** : Mètre.
- ml** : Millilitre.
- N** : Nord.
- Nit** : nitrate
- NPP** : Nombre le plus probable.
- ODC** : Ornithine décarboxylase.
- ONPG** : Ortho-Nitrophényle –B-D-Galactosidase.
- pH** : Potentielle Hydrogène.
- PNEK** : Park National d'El Kala.
- RM** : Rouge de méthyle.
- S/C** : Simple concentration.
- SF** : Streptocoque fécaux..
- SFB** : Selenite-F Broth
- SS** : *Salmonella-Shigella*.
- Spp** : Espèce.
- Tab** : Tableau.
- T** : Température
- TDA** : Tryptophane décarboxylase
- TGEA** : gélose tryptone glucose à l'extrait de levure
- TSI** : Triple Sugar Iron
- UFC** : Unité formant colonie
- UV** : Ultraviolet

VF : Viande foie

VP : Voges Proskauer

Produced with ScanTOPDF

Sommaire

Produced with Scantopdf

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des schémas

Introduction 1

Chapitre I : Description des sites d'étude

I. Les zones humides en Algérie 3

II. Park national d'El-Kala (PNEK) 3

1. Situations géographique et administrative de PNEK 3

2. Description de PNEK 4

3. Hydrologie 5

III. Description des sites d'étude 6

1. Oued El-Hout. 6

1.1. Situation géographique 6

1.2. Caractéristiques 7

1.3. Description d'Oued El-Hout 8

1.4. Richesse de l'Oued El-Hout 9

2. Oued Messida. 10

2.1. Historique 10

2.2. Localisation géographique 10

2.3. Caractéristiques de l'Oued Messida 10

2.4. Description de l'Oued Messida 11

2.5. Importance de l'Oued Messida 11

2.6. Principaux rejets au niveau d'Oued Messida 12

2.7. Richesse de l'Oued Messida	12
IV- Caractéristiques climatiques.....	15
Chapitre II : Pollution des eaux de surface et problème sanitaire	
I. La pollution des eaux de surface	16
1. Définition	16
2. Les types de pollution.....	16
2.1. La pollution physique	16
2.2. La pollution chimique	16
2.1.1. La pollution toxique	17
2.1.2. La pollution nutritive.....	17
2.3. La pollution organique.....	17
2.4. La pollution microbiologique	17
II. Impact de la pollution des eaux de surface	18
I. Impact sur l'environnement	18
1.1. L'élévation de température et les modifications de pH	18
1.2. Diminution de teneur d'oxygène dans le milieu	18
1.3. Les effets des produits toxiques	19
2. Impact sur la faune et la flore	19
3. Impact sur la santé humaine	19
3.1. Les infections bactériennes	19
3.2. Les infections virales	20
3.3. Les infections parasitaires	21

Chapitre III : Matériel et Méthodes

I. Matériel	23
II. Méthodes	23
1. Objectif du travail	23
2. Echantillonnage	23
2.1. Présentation des points de prélèvement	23
2.2. Choix des points de prélèvement	25
2.3. Méthodes de prélèvement	25
2.4. Identification, transport et conservation des échantillons	26
3. Méthodes d'analyses	26
3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	27
3.2. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination	29
3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermo-tolérants	30
3.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	32
3.2.3. Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobie Sulfite-Réducteurs (A.S.R).	34
3.3. Recherche des germes pathogènes	36
3.3.1. Recherche de staphylocoques à coagulase positif	36
3.3.2. Recherche de <i>Vibrio</i>	37
3.3.3. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	39
3.3.4. Isolement et identification de <i>Salmonella</i>	42
4. Les testes complémentaires	45
4.1. Examen macroscopique des caractères culturaux	45
4.2. Examen microscopique après coloration	45

4.2.1. Après coloration simple	45
4.2.2. Après coloration de Gram	45
4.3. Examens liés aux caractères biochimiques	46
4.3.1. La galerie API20E	46
4.3.2. La galerie classique	48

Chapitre IV : Résultats et Discussion

I- Résultats	50
1. Dénombrement des germes totaux	50
2. Recherche et dénombrement de coliformes totaux	51
3. Recherche et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	52
4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (SF)	53
5. Recherche des Anaérobies sulfite-réducteurs	54
6. La variation temporelle du nombre des germes témoins d'une contamination fécale	54
7. Origine de la contamination totale fécale	56
8. Résultats de recherche des bactéries pathogènes	57
8.1. Les staphylocoques pathogènes	57
8.2. Résultats de recherche des <i>Vibrio</i>	58
8.2.1 Aspects macroscopique et microscopique	58
8.2.2 Identification biochimique	59
8.3. Résultats de recherche des <i>Pseudomonas</i>	60
8.4. Résultat de recherche de <i>Salmonella</i>	60
8.4.1. Aspects macroscopique et microscopique	60

8.4.2. Résultats de l'identification biochimique	62
II-Discussions	66
1. Variation des germes totaux.....	66
2. les coliformes totaux	66
3. Les coliformes fécaux	66
4. Les streptocoques fécaux.....	67
5. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	67
6. La variation temporelle du nombre des germes témoin d'une contamination fécale.. ..	67
7. Résultats de la recherche des germes pathogènes	68
Conclusion	69
Résumé	
Références bibliographiques	
Annexes	

Produced with Scantopdf

Introduction

Produced with ScanTOPDF

Introduction :

L'eau constitue un élément essentiel dans la vie et dans l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles [2].

En Algérie, Les ressources en eau sont estimées à environ 19,2 milliards de m³, ces ressources sont réparties comme suit: 13,5 milliards de m³ d'eau de surface et 3,3 milliards de m³ d'eau souterraine [55].

La qualité des eaux superficielles se dégrade dans des bassins d'importance vitale sous l'effet d'une surcharge en matières organiques, des substances toxiques provenant des activités agricoles et des effluents industriels et domestiques rejetés dans le milieu récepteur sans traitement [58].

La contamination des eaux de surface par des agents pathogènes est un problème de pollution qui remonte très loin dans le temps. Elle est à l'origine de différentes maladies hydriques qui ont été responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, cholera et autre. Aujourd'hui, ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé des populations [58].

Les indicateurs microbiologiques sont considérés parmi les paramètres les plus importants pour contrôler la qualité des eaux.

La présente étude vise à déterminer la qualité bactériologique des deux eaux naturelles « Oued El-Hout » et « Oued Messida » qui se situent dans le Park National d'El Kala (wilaya d'El Tarf). Et de faire une comparaison entre ces deux écosystèmes aquatiques.

Le contrôle de ces eaux est important pour essayer de conserver ses richesses biologiques et ses habitats ainsi que de connaître les effets de ses qualités sur la faune et la flore aquatique.

Ce contrôle est porté principalement sur :

- La recherche et dénombrement des germes indicateurs de pollution fécale qui regroupent les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, et les Anaérobies Sulfito-Réducteurs.

- La recherche des bactéries pathogènes telle que : staphylocoques pathogènes, Vibrions cholériques, *Pseudomonas* et les Salmonelles.

Nous avons organisé notre démarche en quatre chapitres :

- Le premier et le second est purement théorique rassemble d'une part des généralités sur les sites d'étude, et d'autre part la pollution des eaux de surface et l'influence sur la santé humaine et la faune et la flore aquatique.
- Le troisième est un chapitre expérimental consacré aux méthodes utilisées pour l'analyse bactériologique.
- Enfin, le quatrième chapitre, mentionne les différents résultats obtenus au cours de notre étude sous forme des tableaux et des graphes, avec une discussion et conclusion clôturant le mémoire.

Chapitre I

Description des sites d'étude

Produced with Scantopdf

I- Les zones humides en Algérie

Les zones humides sont des interfaces écologiques et géographiques entre les milieux aquatiques et terrestres [38].

Les zones humides regroupent une grande variété d'habitats naturels : chotts, sebkhas, lacs et marais (eau douce, saumâtre ou salée), oueds, gueltas, oasis et barrage.

Aujourd'hui, nous savons que les zones humides jouent un rôle important dans le processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs [32].

L'Algérie comporte une multitude des zones humides d'importance internationale dont 50 sites sont classés Ramsar comme : le Complexe des zones humides de la plaine de Guerbes-Sanhadja, le Réserve Naturelle du Lac de Béni-Bélaïd, le Réserve Naturelle du Lac de Réghaïa et le Parc National d'El Kala ... etc. [32].

Le Parc National d'El Kala englobe la zone humide la plus importante en Algérie, unique en son genre et classée réserve de la Biosphère en Novembre 1990 par le programme M.A.B (Man and Biosphere Programme) de l'UNESCO [50].

II- Parc national d'El-Kala (PNEK)

I- Situation géographique et administrative de PNEK :(figure 1)

PNEK se situe 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 [38].

Il est limité:

- Au Nord : la Méditerranée.
- Au Sud: les monts de la Medjedra.
- A l'Est : la frontière Algéro-Tunisienne.
- A l'Ouest : les plaines d'Annaba.

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-Aioum [38].

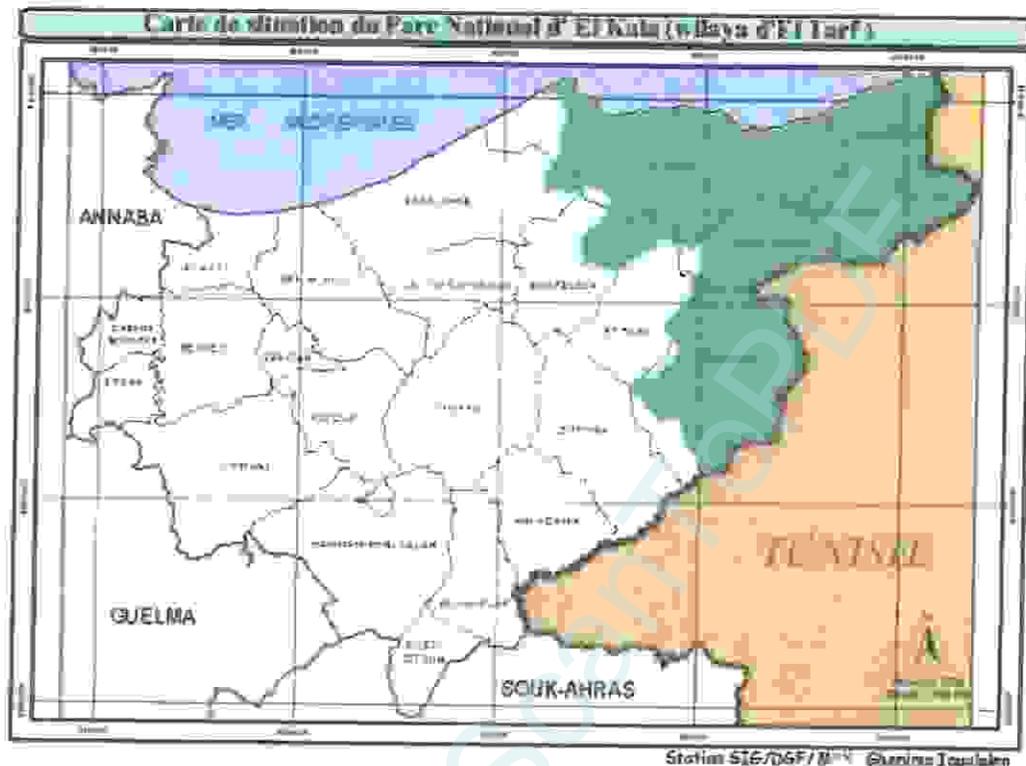


Figure 1 : Localisation géographique de PNEK [50].

2- Description du PNEK :

Le caractère exceptionnel d'El Kala réside dans sa réserve naturelle théoriquement protégée qui laisse le visiteur de cette région admiratif et contemplateur [50].

Le Parc national d'El Kala (PNEK) est un air protégé. C'est l'un des plus importants centres de biodiversité Méditerranée. Il rassemble sur une superficie relativement peu étendue plusieurs écosystèmes typiques de cette région de la planète. [50].

Le Parc est composé d'une mosaïque d'écosystèmes forestiers, lacustres, dunaires et marins, lui conférant une haute valeur biologique et écologique dans le bassin méditerranéen. Sa flore, sa faune et son patrimoine culturel lui ont valu son inscription en tant que réserve de la Biosphère par l'UNESCO en 1990 [52].

3- Hydrologie :

Le réseau hydrographique du PNEK inclut l'ensemble des cours d'eau drainant le territoire du bassin versant. [50]. (figure 2)

La partie orientale du parc national d'El Kala est mal drainée. De nombreux affluents issus des massifs formant la frontière Algéro-Tunisienne, s'écoulent suivant une direction de l'Est vers l'Ouest et aboutissent à la plaine d'Oum Teboul.

Une partie des eaux alimente alors le lac Tonga par l'intermédiaire de l'Oued El-Hout.

Une autre partie s'infiltré dans les alluvions et recharge la nappe phréatique. Le reste stagne sous la forme de marécages sur les argiles de Numidie.

Par ailleurs la partie méridionale de cette région est drainée par 3 oueds avec Oued Bougous, Oued Mellila et Oued El-Kebir lequel joue le rôle de collecteur principal. Par contre la partie occidentale englobe plusieurs chaâbet et oueds liés aux lacs Mellah et Oubeira [53].

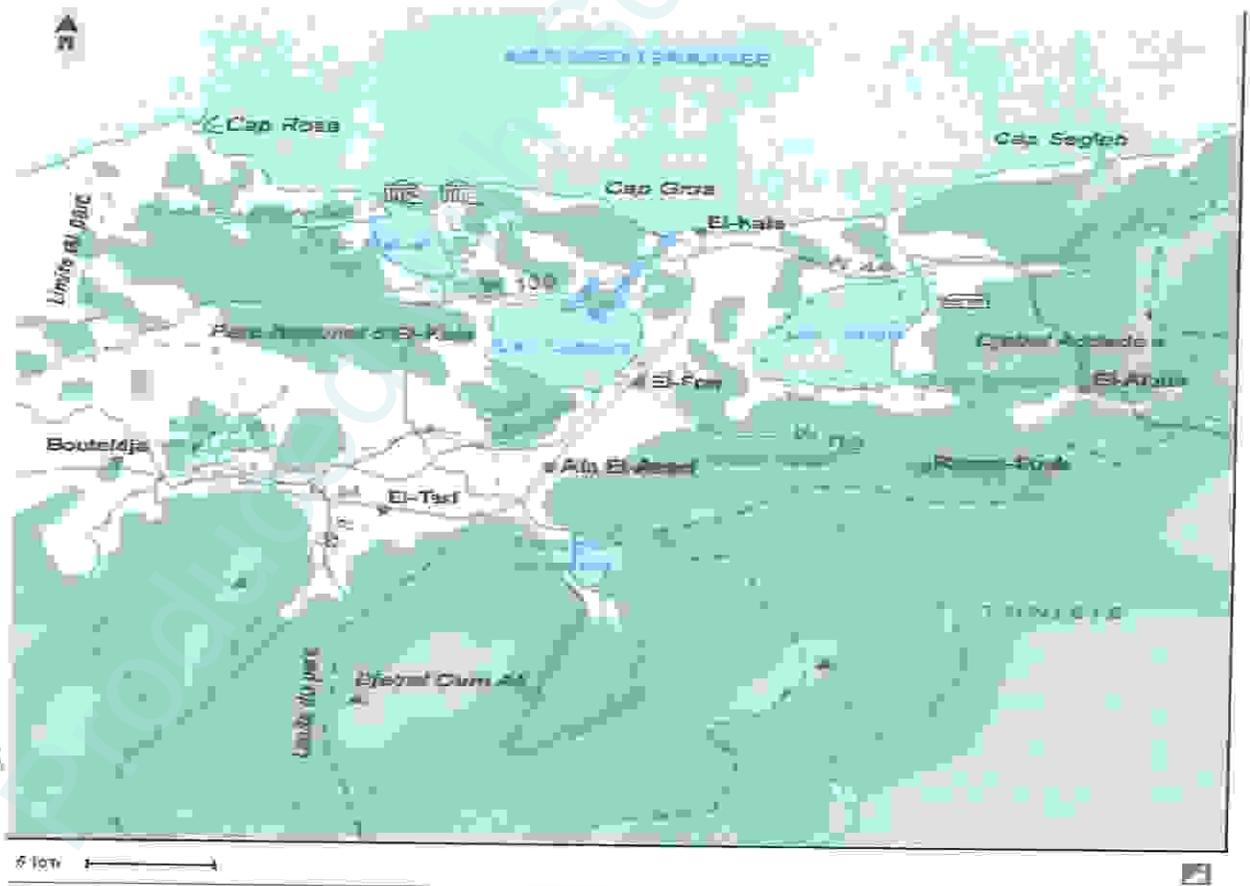


Figure 2 : contexte hydrologique du PNEK [53].

III-Description des sites d'étude :

Notre étude s'est déroulée sur deux écosystèmes aquatiques lotiques : Oued El-Hout et Oued Messida. (Figure 3).

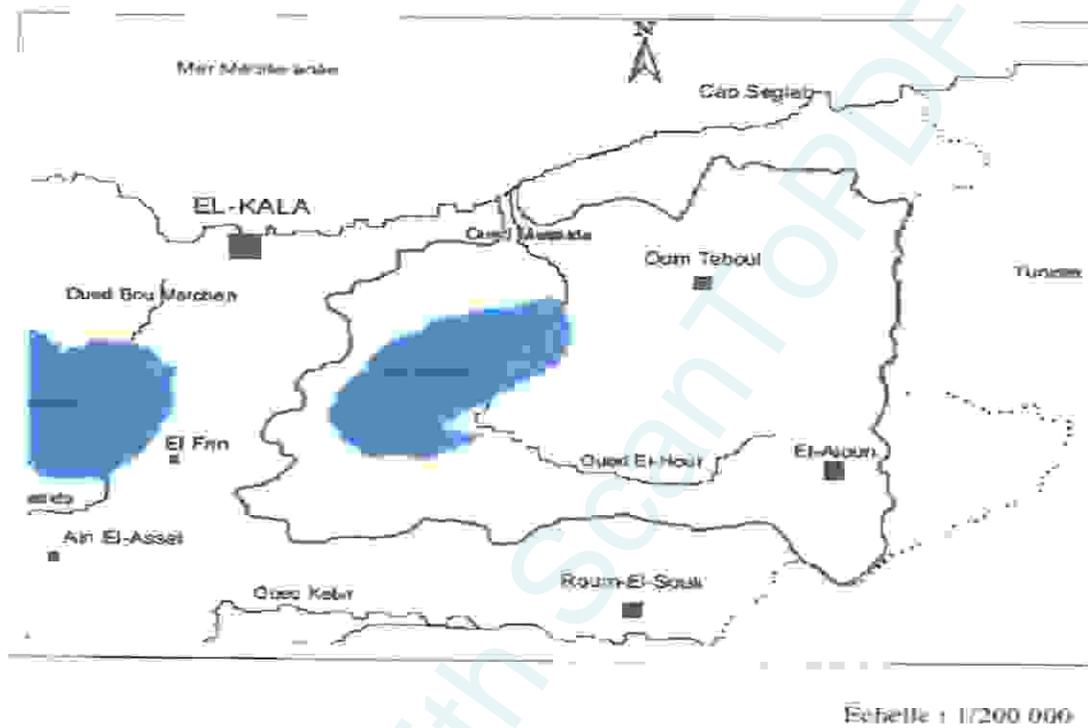


Figure 3 : Situation géographique d'Oued El-Hout et Oued Messida [31].

1- Oued El-Hout :

1-1- Situation géographique : (Figure.3.)

Oued El-Hout fait partie du bassin versant de lac tonga, il alimente ce lac dans le côté sud.

Cette zone humide est limité ;

- Par une série de Kefs (à altitude variant d'Ouest en Est entre 209 m et 513 m) au Nord
- La route d'El Aïoun à Ain Draham a l'Est.
- La route d'El Aïoun à la mechta Oued El-Hout au Sud.
- Lac Tonga à l'Ouest [31].

Ses coordonnées géographiques sont comprises $36^{\circ} 49' 0''$ N et $8^{\circ} 30' 0''$ E [52].

1-2- Caractéristiques :

- Oued El-Hout à une profondeur maximale d'environ 1 m durant la période d'hiver.
- Il s'étend sur une distance d'environ 14 km du lac Tonga à la plaine d'El Aïoun [31], avec une largeur moyenne de 3 m [52].
- C'est un oued naturel, qui naît en amont de la plaine d'El Aïoun, au niveau du col qui le sépare d'Oued Djenane ce dernier coule en sens inverse vers la Tunisie [31].
- Il a eu la capacité d'édifier des deltas grâce à un écoulement torrentiel en amont dû au développement de leurs sous bassins versants [31].
- Oued-El-Hout est le principal affluent alimentant le lac en période pluviale.
- Pendant la période sèche l'oued devient sec.
- Généralement, les eaux de ce oued ne sont pas utilisées ni par l'irrigation, ni par la pêche.
- Il reçoit des rejets domestiques de Mechta Oued El-Hout et la commune d'El Aïoun.

1-3 -Description d'Oued El-Hout :

Tableau 1 : les principaux caractères de l'Oued El-Hout.

Cours d'eau	Oued El-Hout
Type	Oued
Largeur moyenne (m)	> 3
Profondeur moyenne (m)	0.5-1
Vitesse du courant	Faible
Type du terrain (lit du cours d'eau)	<ul style="list-style-type: none"> • A dominance : de sable • Peu de : gravier, grosses pièces
Conditions du fond	<ul style="list-style-type: none"> • Boue • Feuilles • Matière organique en décomposition • Algues
Structure des bords	Naturelle
Exposition	Ouvert
Végétation aquatique	<ul style="list-style-type: none"> • Sur les bords : modérée • Au milieu : absence
Environnements aux alentours	<ul style="list-style-type: none"> • Quelques habitations • Hydraulique

1.4. Richesse de L'Oued El-Hout :

➤ La Flore :

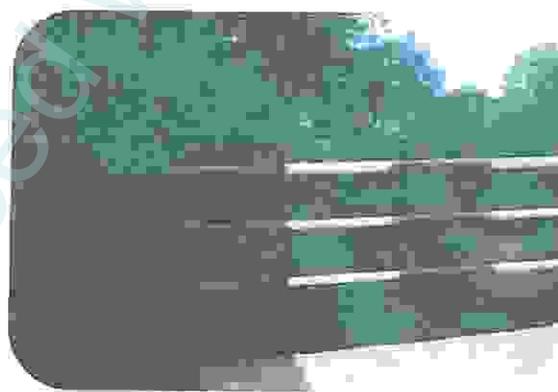
Pendant notre travail on a remarqué l'absence totale des végétaux au milieu d'Oued El-Hout mais on a remarqué la présence des deux espèces aux bords qui sont :
(figure.4.)

- *Nerium oleandu*

- *Carex spp*



Nerium oleandu



☐ *Carex sp*

Figure.4. : Les espèces végétales remarquées au niveau de L'Oued El- Hout (photos prises par Attia et Sayad).

➤ La faune :

Aucune espèce animale n'a été remarquée durant notre période d'étude

2- Oued Messida :

2-1- Historique :

Le nom de l'Oued Messida vient de l'arabe « MASYADA » qui veut dire la zone de pêche des poissons et pendant la colonisation française, ce nom est utilisé par les français sans traduction tel qu'il est en arabe « Messida ». L'Oued Messida a gardé la même appellation jusqu'à nos jours [7].

2-2- Localisation géographique : (figure.3.)

L'Oued Messida est localisé dans le Parc National d'El-Kala (PNEK), dans le bassin versant du Lac Tonga, à l'extrême Nord-Est de l'Algérie.

Cette zone humide est limitée par :

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

Ses coordonnées géographiques sont comprises $36^{\circ} 53' 60''$ N et $8^{\circ} 31' 0''$ E, à environ 22 km de la frontière Algéro-Tunisienne à l'Est et environ 11 km de la ville d'El-Kala à l'Ouest [38].

2-3- Caractéristiques d'Oued Messida:

- Oued Messida, a une profondeur maximale d'environ 2.5 m durant la période sèche et de 3.5 m durant la période d'hiver [38].
- Il s'étend sur une distance d'environ 6 km du lac Tonga à la mer Méditerranée passant par la route d'Oum Teboul avec une largeur moyenne de 4m [38].
- Le canal Messida est un oued artificiel creusé par les français pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga. Il présente une altitude égale à zéro 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 [1].

- L'Oued est alimenté par les eaux du lac qui est considéré comme le distributeur principal de l'oued, ainsi que par deux autres distributeurs secondaires : la nappe dunaire de Maloul et la nappe dunaire de la pinède Tonga voisine surtout dans la période sèche où ces deux nappes dégagent les eaux vers l'Oued [4].

2-4- Description d'Oued Messida :

Les principaux caractères de cet Oued sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : les principaux caractères de l'Oued Messida.

Cours d'eau	Oued Messida
Type	Canal
Largeur moyenne (m)	> 3
Profondeur moyenne (m)	1 – 2.5
Vitesse du courant	Modérée
Type du terrain (lit du cours d'eau)	<ul style="list-style-type: none"> • A dominance : de boue • Peu de : gravier, grosses pièces.
Conditions du fond	<ul style="list-style-type: none"> • Branches • Feuilles • Peu de déchets • Matière organique en décomposition
Structure des bords	Naturelle
Exposition	Ouvert
Végétation aquatique	<ul style="list-style-type: none"> • Sur les bords : abondante • Au milieu : modérée
Environnements aux alentours	<ul style="list-style-type: none"> • Agriculture • Pâturage • Quelques habitations

2-5- Importance d'Oued Messida :

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

- Il relie le lac Tonga avec la mer méditerranéenne [4].
- Il assure le niveau d'eau du lac Tonga de sorte que l'écoulement des eaux vers la mer soit forte lorsqu'il y a un surplus d'eau du lac et l'inverse lorsqu'il y a une diminution du niveau d'eau dans le lac [1].
- Les eaux de l'Oued sont utilisées pour l'irrigation au niveau de la pépinière du Tonga.
- L'Oued Messida se trouve dans une zone de pêche d'Anguille suivi et contrôlé par un exploitant durant la période de la pêche entre les mois d'Octobre et Avril [38].

2-6- Principaux rejets au niveau d'Oued Messida :

Les eaux usées des localités fortement peuplées dans la région ; Malloul, Oum chtab, Souarakh et Tonga, sont totalement rejetées dans l'Oued El Eurg qui est directement lié avec Oued Messida. Alors que d'autres localités ; Maizilla, Oued El- Hout et El Aioun, rejettent les eaux usées au niveau du lac Tonga et atteignent ensuite Oued Messida. Enfin, l'Oued est pollué aussi par les déchets des animaux [38].

2-7- Richesse de L'Oued Messida :

De par sa localisation, l'Oued Messida héberge une faune et une flore bien diversifiée.

- **La faune : (figure .5.)**

L'Oued Messida constitue l'habitat d'espèces animales d'immenses valeurs :

- Des oiseaux migrateurs et hivernant (dont des canards, foulques et autres).
- Des poissons d'eau douce ainsi que de nombreux groupes de la faune intérieure.
- les herbivores et les insectes.

La faune recensée, reste insuffisante et ne représente qu'une fraction de la véritable richesse biologique du site.

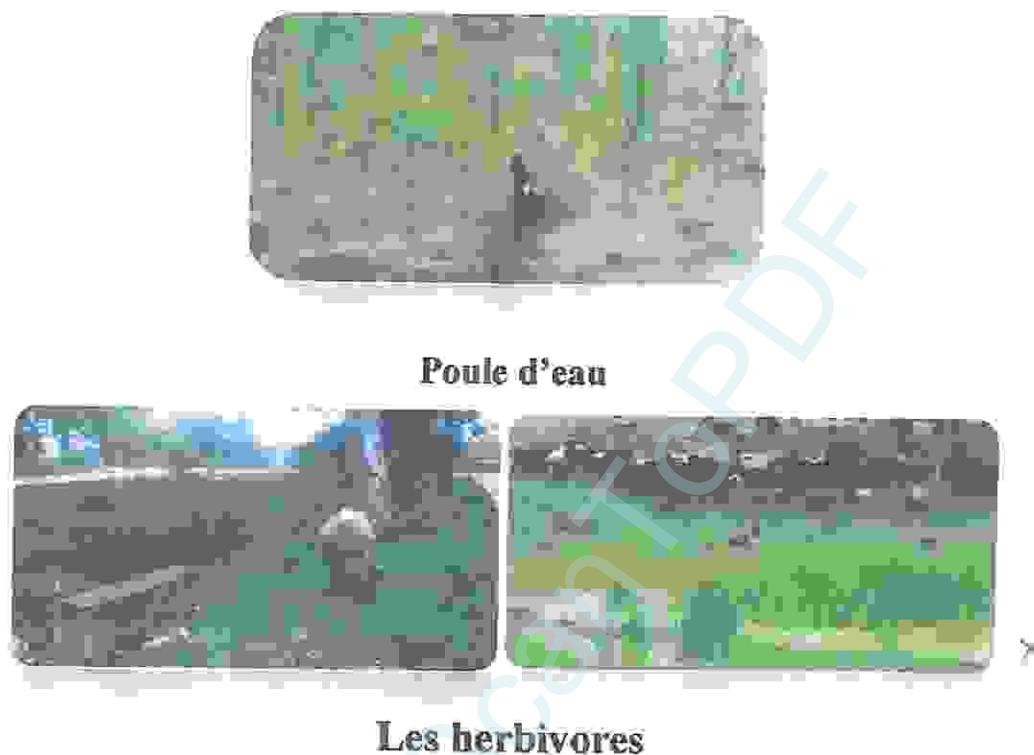


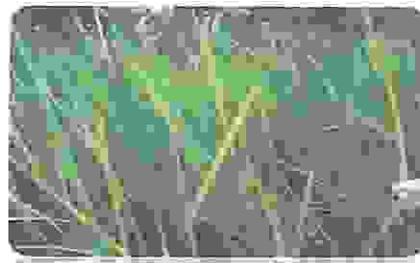
Figure.5. : Les espèces animales remarquées au niveau de L'Oued Messida (photos prises par Attia et Sayad).

- La flore :(figure.6.)

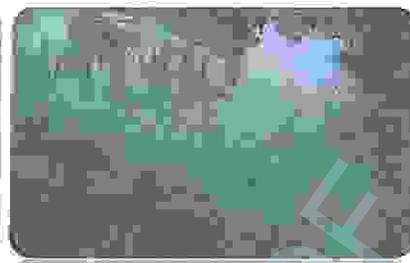
Le lit de l'Oued Messida est caractérisé par une organisation typique de végétation, sa superficie est encombrée d'herbiers flottants, d'hydrophytes courant le plan d'eau en partie.

La végétation aquatique à dominance de :

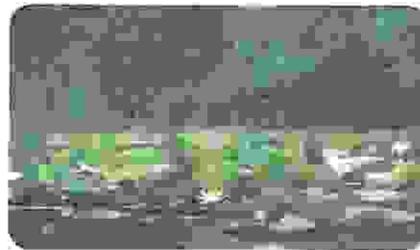
- *Juncus acutus*
- *Lemna minor*
- *Nymphaea alba*
- *Alisma plantago aquatica*
- *Alium tripuitrum*
- *Sella aristidis*
- *Hortica sp*
- *Iris pseudoacacus*



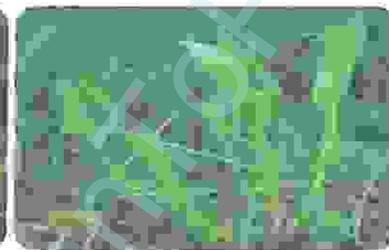
Juncus acutus



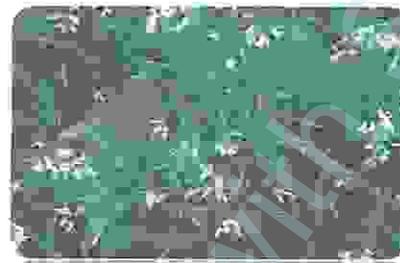
Lemna minor



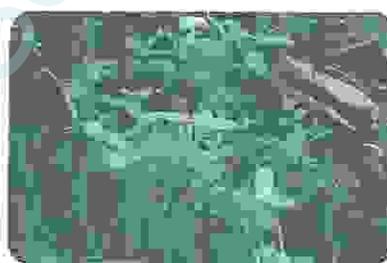
Nymphaea alba



Alisma plantago aquatica



Allium triquetrum



Scilla aristidis



Hortica sp



Iris pseudoacacicus

Figure.6. : Les espèces végétales remarquées au niveau de L'Oued Messida (photos prises par Attia et Sayad).

VI / Caractéristiques climatiques

La zone d'étude est sous l'influence d'un climat subhumide, caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec.

La forte humidité de la région est causée par :

- la forte évaporation de nombreuses zones humides.
- la proximité de la mer.
- la richesse de la région en écosystèmes forestiers [27].

Le régime pluviométrique est de type Méditerranéen. Le niveau moyen de précipitations atteint 800 mm et 700 mm respectivement. Le maximum des pluies se situe en hiver, aux mois de janvier et décembre surtout [27].

La température moyenne annuelle est de l'ordre de 18°C. Les mois les plus chauds sont Juillet et Août où la température moyenne oscille autour de 25°C. Les mois les plus froids sont Décembre et Janvier avec des températures moyennes de l'ordre de 12°C [50].

Les vents du Nord-Est sont prédominants, surtout en hiver, et leur stabilité depuis le Quaternaire est attestée par l'orientation des dunes dans toute la Numidie. Ils sont caractérisés par leur fréquence, direction et vitesse [50].

Chapitre II

Pollution des eaux de surface et problèmes sanitaires

I-La pollution des eaux de surface :

1. Définition :

La pollution des eaux de surface est une dégradation physique, chimique ou biologique de ses qualités naturelles. Elle perturbe les conditions de vie de la flore et la faune et l'équilibre du milieu aquatique et compromet les utilisations de l'eau [41]

2. Les types de pollution :

Il existe différentes type de pollution :

2.1.La pollution physique :

Les trois principaux agents physiques de la pollution sont la chaleur, la radioactivité et le transport de matière solide en suspension [19].

Elle provient essentiellement des centrales thermiques et nucléaires et des usines utilisant l'eau comme liquide de refroidissement. L'eau prélevée dans le milieu naturel va être rejetée par ces structures à une température plus élevée. Ceci va provoquer une élévation de la température. La pollution thermique qui est liée à l'utilisation de l'eau comme liquide de refroidissement par les industries, apparaît souvent mineur. Mais il s'accroît, du fait de l'augmentation des besoins de l'industrie [42]

Ensuite, un autre facteur de la pollution physique de l'eau serait celui lié aux risques de pollution radioactive [15]. Les déchets radioactifs demeurent le polluant physique le plus dangereux, les centrales nucléaires ne dégagent que des quantités limitées de déchets, mais le risque d'accidents subsiste et les problèmes radioactives, les déchets restent toxiques pendant des périodes allant de quelques siècle a plusieurs millions d'année [11], [28].

Dernièrement, on peut aussi constater une pollution physique de l'eau par des matières en suspension provenant des mines ou des cimenteries qui peuvent alors modifier la turbidité de l'eau, c'est-à-dire réduire la transparence de celle-ci [49].

2.2.La pollution chimique :

La pollution chimique est une pollution engendrée par des substances chimiques normalement absentes, ou présentes dans l'environnement dans des concentrations naturelles (beaucoup) plus faibles. [39]

On peut distinguer deux types :

2.2.1. La pollution Toxique :

Les principaux toxiques rencontrés dans l'environnement lors des pollutions chroniques ou aiguës sont généralement :

- des métaux lourds (plomb, mercure, cadmium, zinc,...),
- des halogènes (chlore, brome, fluor, iode), des molécules organiques complexes d'origine synthétique (pesticides,...) ou naturelle (hydrocarbures) [41].

2.2.2. La pollution nutritive :

Cette pollution provient de la surabondance, dans les écosystèmes aquatiques, d'éléments nutritifs, tels que le phosphore et l'azote. Les eaux usées ainsi que les fertilisants agricoles et domestiques en sont les principales sources [51].

2.3. La pollution organique :

Les matières organiques ont longtemps été les principaux polluants des milieux aquatiques. Elles proviennent des déchets domestiques (ordures ménagères, excréments), agricoles (lisiers) ou industriels (papeterie, tanneries, abattoirs, laiteries, huileries, sucreries...), lorsque ceux-ci sont rejetés sans traitement préalable [40].

2.4. La pollution microbiologique :

La pollution microbiologique des eaux est le terme utilisé pour désigner la présence des microorganismes qui sont à l'origine de contamination des eaux littorales, proviennent d'homme ou d'animaux [59].

Parmi les microorganismes susceptibles d'être présent dans l'eau, on peut mentionner, les virus, les bactéries, les protozoaires et d'autre [29]

Les rejets provenant de l'intestin des animaux et de l'homme sont évacués dans le sol, ils y subissent une épuration naturelle [60]. Mais s'il pénètre dans un environnement aquatique, les germes pathogènes, et les indicateurs fécaux sont transférés à ce dernier, où ils se diluent [46].

Les coliformes totaux, les coliformes thermo-tolérants et les streptocoques fécaux sont dénommés germes indicateurs de pollution fécale et leur présence témoigne de l'existence

d'une contamination fécale au moment du prélèvement. Leur mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence de pathogènes, mais elle permet de la suspecter fortement [57].

Les bactéries et les virus transportés par l'homme et les animaux peuvent affecter la qualité de l'eau et les organismes marins. Par exemple l'accumulation de ces microorganismes dans les coquillages cause après leurs consommations des gastroentérites, l'hépatite A et autres maladies [61].

II. Impact de la pollution des eaux de surface :

Une eau est dite polluée lorsque sa qualité naturelle est modifiée. Les conséquences de cette pollution se répercutent sur notre environnement et sur la santé des êtres vivants [55].

1. L'impact de la pollution sur l'environnement :

L'incidence des rejets sur notre environnement peut s'apprécier par :

- L'élévation de températures et les modifications du pH
- Diminution de teneur d'oxygène dans le milieu.
- Les effets des produits toxiques [54].

1.1.L'élévation de températures et les modifications du pH.

Les modifications de température de pH, perturbent le développement normal de la faune et de la flore.

L'augmentation de la température modifie la densité et la viscosité, augmente l'évaporation, diminue la solubilité des gaz, modifie les vitesses des réactions chimiques [43].

1.2.Diminution de teneur d'oxygène dans le milieu:

Les polluants nutritifs comme l'azote et le phosphore vont permettre une augmentation de la production primaire dans un premier temps. Puis, quand l'apport sera trop important, on observe une forte activité de dégradation de la matière organique et une chute de l'oxygène dissous, il y a donc accumulation de l'azote et du phosphore qui ne peuvent plus être dégradés [41].

Quand l'algue fleurit, l'eau peut devenir verte et nuageux, sentir gluant, et développer une mauvaise odeur.

Les plans d'eau sont alors pleins de cyanobactéries, qui perturbent les conditions de vie de la faune et la flore aquatique et interdisent même les activités de loisir [56].

1.3. Les effets des produits toxiques :

Les substances toxiques déversées dans le milieu aquatique, contribuent à l'appauvrissement des écosystèmes aquatiques. Certaines d'entre elles s'accumulent dans les êtres vivants, et passent d'un maillon de la chaîne alimentaire à un autre. Elles entraînent des dommages importants pour les équilibres biologiques [45].

2. Impact sur la faune et la flore :

L'augmentation de la température :

- Augmente la respiration des organismes (et donc diminue la concentration d'oxygène dissous).
- Augmente la sensibilité des organismes aux substances toxiques.
- Augmente l'effet toxique des substances chimiques [43].
- La pollution de l'eau affecte la flore et la faune en eux. En outre, les oiseaux et les animaux qui consomment cette source de nourriture contaminée peut périr. Maladies du sang, des troubles du système nerveux et les maladies cardiaques sont quelques-uns des effets de la pollution de l'eau [58].

Lorsqu'il y a un excès dans la matière organique dans le milieu, leur décomposition peut entraîner l'asphyxie de la faune aquatique. Ce sont les poissons qui souffrent le plus du manque d'oxygène, les invertébrés étant moins affectés, et les bactéries encore moins. En cas de forte pollution, la vie végétale aussi tend à disparaître [47].

De nombreuses espèces animales et végétales ont déjà disparu et beaucoup d'autres sont en voie de disparition mais la lutte contre la pollution de l'eau n'est pas toujours évidente car les produits contaminants sont parfois difficiles à détecter [48].

3. Impact sur la santé humaine :

La pollution microbiologique résulte des déchets organiques, en particulier les excréments qui contiennent des germes pathogènes (virus, bactéries ou parasites) véhiculés par l'eau. Ces germes peuvent provoquer des maladies graves qui ont été responsables d'épidémies dramatiques dans nos pays [50].

3.1. Les infections bactériennes :

Le tableau 3 présente les principales bactéries pathogènes rencontrées dans les infections bactériennes d'origine hydrique.

Tableau.3. Principales bactéries responsables des infections d'origine hydrique [33].

Bactéries	Maladies induites
<i>Aeromonas</i>	Gastro-entérite syndrome cholériforme.
<i>Clostridium perfringens</i>	Gastro-entérite.
<i>Escherichia coli</i> entérotoxiques et entéroinvasifs	Gastro-entérite et autres maladies.
<i>Campylobacter jejuni</i> ou <i>coli</i>	Gastro-entérite.
<i>Legionella pneumophila</i>	Pneumopathie, fièvre.
<i>Leptospira</i>	Leptospirose ictéro-hémorragique.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection cutanée, pus.
<i>Salmonella typhi</i> et <i>paratyphi A</i>	Fièvres typhoïde et paratyphoïdes.
<i>Salmonella sp</i>	Gastro-entérite.
<i>Shigella dysenteriae</i>	Dysenterie bacillaire.
<i>Shigella sp</i>	Gastro-entérite.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection cutanée.
<i>Vibrio</i>	Choléra, gastro-entérite, infections cutanées.

3.2. Les infections virales :

Les virus responsables d'infections hydriques sont excrétés dans les selles d'individus infectés. Il a été démontré que plus de 130 virus pathogènes, que l'on peut dénommer virus entériques, peuvent être éliminés dans les fèces humaines [60].

Le tableau 4 présente les principaux virus responsables de pathologies liées à l'ingestion d'eau ou de coquillages, ou au contact avec une eau contaminée [33].

Tableau.4. les virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturels [33].

Famille	Genre	Espèces	Maladies provoquées
<i>Picornaviridae</i>	<i>Enterovirus</i>	Virus de la poliomyélite	Poliomyélite, paralysie,
		Virus coxsackie A	Méningite, infection
		Virus coxsackie B	Myocardite, éruption
		Echovirus,	Méningite, infection
		Virus de l'hépatite A	Hépatite infectieuse.
<i>Reoviridae</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Rotavirus</i> humains	Gastro-entérite.
<i>Caliciviridae</i>	<i>Calicivirus</i>	<i>Calicivirus</i> humains	Gastro-entérite
		Virus de Norwalk	Gastro-entérite.
		Virus de l'hépatite E	Hépatite infectieuse.
		<i>Astrovirus</i>	Gastro-entérite.
<i>Adenoviridae</i>	<i>Mastadenovirus</i>	<i>Adenovirus</i>	Gastro-entérite, pharyngite, conjonctivite.
<i>Papovaviridae</i>	<i>Papillomavirus</i>	<i>Papillomavirus</i> humains	Verrues.

3.3. Les infections parasitaires (tableau.5.):

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

- les protozoaires : organismes unicellulaires eucaryotes dont plusieurs sont des agents

d'épidémies hydriques. Ces dernières années, des épidémies de ce type ont fait leur apparition dans les pays industrialisés, ce qui a bouleversé complètement non seulement la notion même des transmissions par voie hydrique mais aussi le traitement de potabilisation nécessaire pour leur élimination ;

- les helminthes : organismes pluricellulaires de type vers [33].

Tableau.5. Les infections parasitaires transmises par l'eau [33]

Type d'organisme	Nom	Maladie	Type de contamination
Protozoaire	Amibe	Amibiase.	Ingestion des kystes
Protozoaire	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Gastro-entérite.	Ingestion
Protozoaire	<i>Giardia lamblia, intestinalis</i>	Gastro-entérite.	Ingestion des kystes
Protozoaire	<i>Plasmodium</i>	Paludisme.	Piqûre d'Anophèle
Protozoaire	<i>Trypanosome</i>	Maladie du sommeil.	Piqûre par Glossine
Helminthe	<i>Anguillule</i>	Anguillulose.	Contact ou ingestion
Helminthe	<i>Fasciola hepatica</i>	Douve du foie.	Ingestion
Helminthe	<i>Schistosoma</i>	Bilharziose.	Contact
Helminthe	Filaires	Filariose.	Ingestion
Helminthe	Ver de Guinée	Dracunculose.	Ingestion de crustacés

Chapitre III

Matériel et méthodes

I. Matériel :

L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

II. Méthodes :

1. Objectif du travail :

Notre travail a pour objectif le suivi de la qualité bactériologique des deux eaux de surfaces font partie de bassin versant du lac Tonga :

- Oued El-Hout qui est la source principale d'alimentation du lac.
- Oued Messida qui est l'exutoire du même lac.

Ces deux écosystèmes constituent des milieux récepteurs des eaux usées, la détermination de la qualité bactériologique de ces deux oueds, nous permet d'évaluer leurs états de pollution ensuite faire une comparaison entre ces deux écosystèmes aquatiques ainsi que de retirer les effets qu'ils peuvent engendrer sur la santé humaine et animale.

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de la direction de santé et de population de la wilaya de Guelma.

Pour aboutir au travail présentée, des sorties mensuelles ont été organisé durant la période d'étude (Mars 2012 → Avril 2012).

2. Echantillonnage :

2.1. Présentation des points de prélèvement : (tableau.6.)

Pour analyser la qualité bactériologique des eaux d'Oued « El-Hout » et Oued « Messida » on a choisi deux points de prélèvements (une de chaque oued) (figures 7, 8):

- *Premier point de prélèvement d'Oued El-Hout (P1)* : Près de l'entrée du lac Tonga à 50 m du lac.
- *Deuxième point de prélèvement d'Oued Messida (P2)* : Près de la route nationale N44 où lac Tonga environ 20 m.

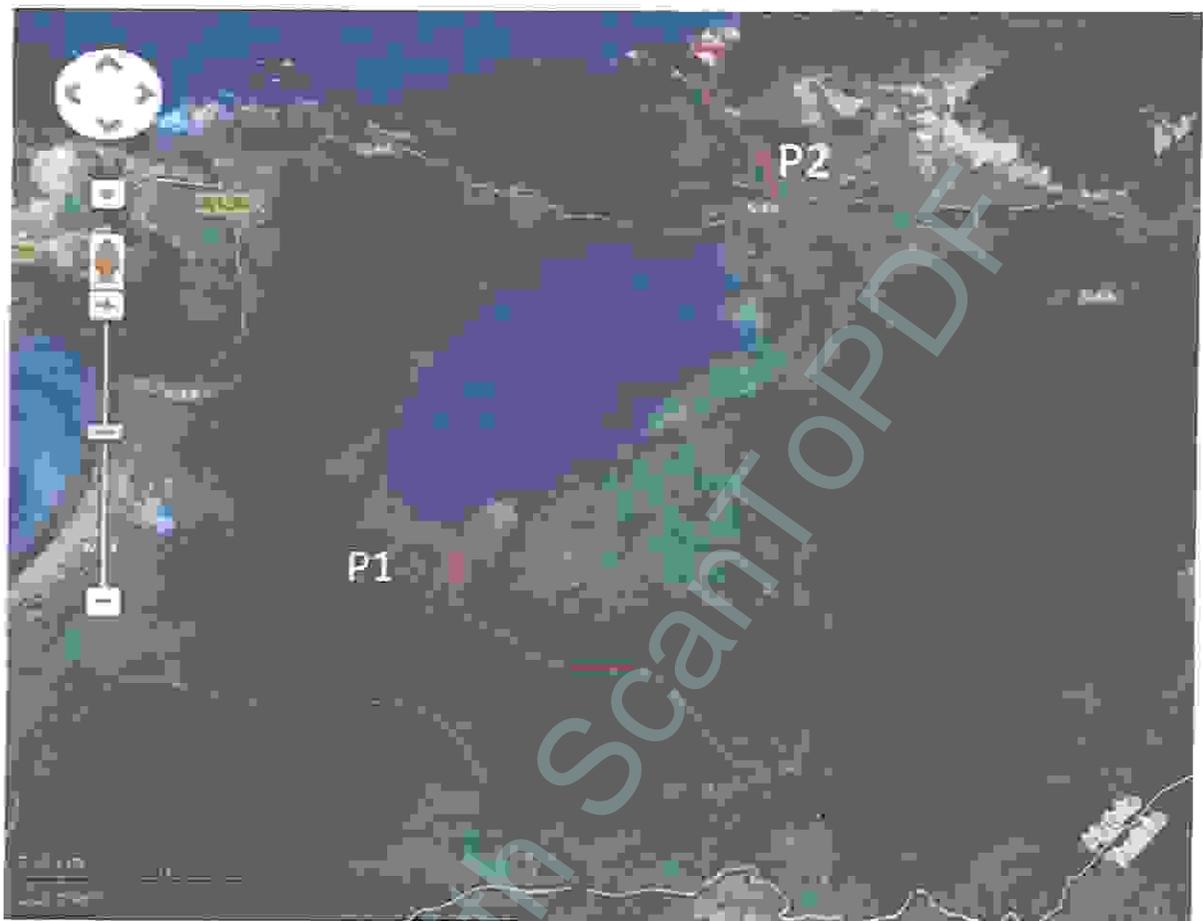
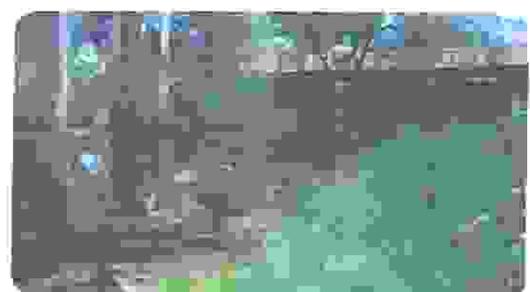


Figure.7. : Localisation géographique des points de prélèvement
 (Source : Google Earth 2012).



P1 : Oued El-Hout



P2 : Oued Messida

Figure.8. : Les deux points de prélèvement.
 (Source : photos prises par Attia et Sayad)

Tableau.6. : Présentation des points des prélèvements.

	Date de prélèvement		Heure de prélèvement	Caractéristiques
Oued El-Hout (P1)	Prélèvement 1	06-03-2012	11 :33h	Près de l'entrée du lac Tonga. Environ 50 m.
	Prélèvement 2	03-04-2012	10 :30 h	
Oued Messida (P2)	Prélèvement 1	06-03-2012	10 :35 h	Près de linge N44 où lac Tonga (l'auberge) Environ 20 m.
	Prélèvement 2	03-04-2012	09:27 h	

2.2. Choix des points de prélèvement:

⚡ Premier point de prélèvement :

Ce point situé à côté de l'entrée de lac Tonga, près de la route d'El Aïoun. Il reçoit des effluents domestiques de la zone.

Le site représente une source d'alimentation du lac en hiver, donc peut être une source de contamination.

⚡ Deuxième point de prélèvement :

Le site représente un point focal entre le lac et oued Messida et le début de son cours.

Il reçoit des déchets d'origine humaine et animale des quantités importantes (près d'une auberge).

2.3.Méthodes de prélèvement:

L'échantillon destiné à l'analyse est prélevé de façon à être le plus exactement possible représentatif du milieu d'où il provient [35]. Les prélèvements sont effectués dans des flacons en verre stériles, ces derniers 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 [20].

2.4. Identification, transport et conservation des échantillons :

Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant :

- Point du prélèvement.
- Lieu et la nature.
- Date et heure.
- Conditions météorologique (pluies, vents...).

Il est important de procéder à l'analyse dans un délai très court, inférieur à 8 heures. En aucun cas l'analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24 heures. Si le transport doit dépasser une heure, il faut utiliser une boîte isotherme munie d'éléments réfrigérants [38].

3. Méthodes d'analyse :

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

- Les germes totaux (la flore totale).
- Les coliformes (coliformes totaux CT), et les coliformes fécaux thermo-tolérants (*E. coli*),
- Les streptocoques fécaux. (SF)
- Les Anaérobies Sulfito-Réducteurs. (ASR)
- Des germes pathogènes tels que *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Vibrio*,

3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale : (Schéma n°1).

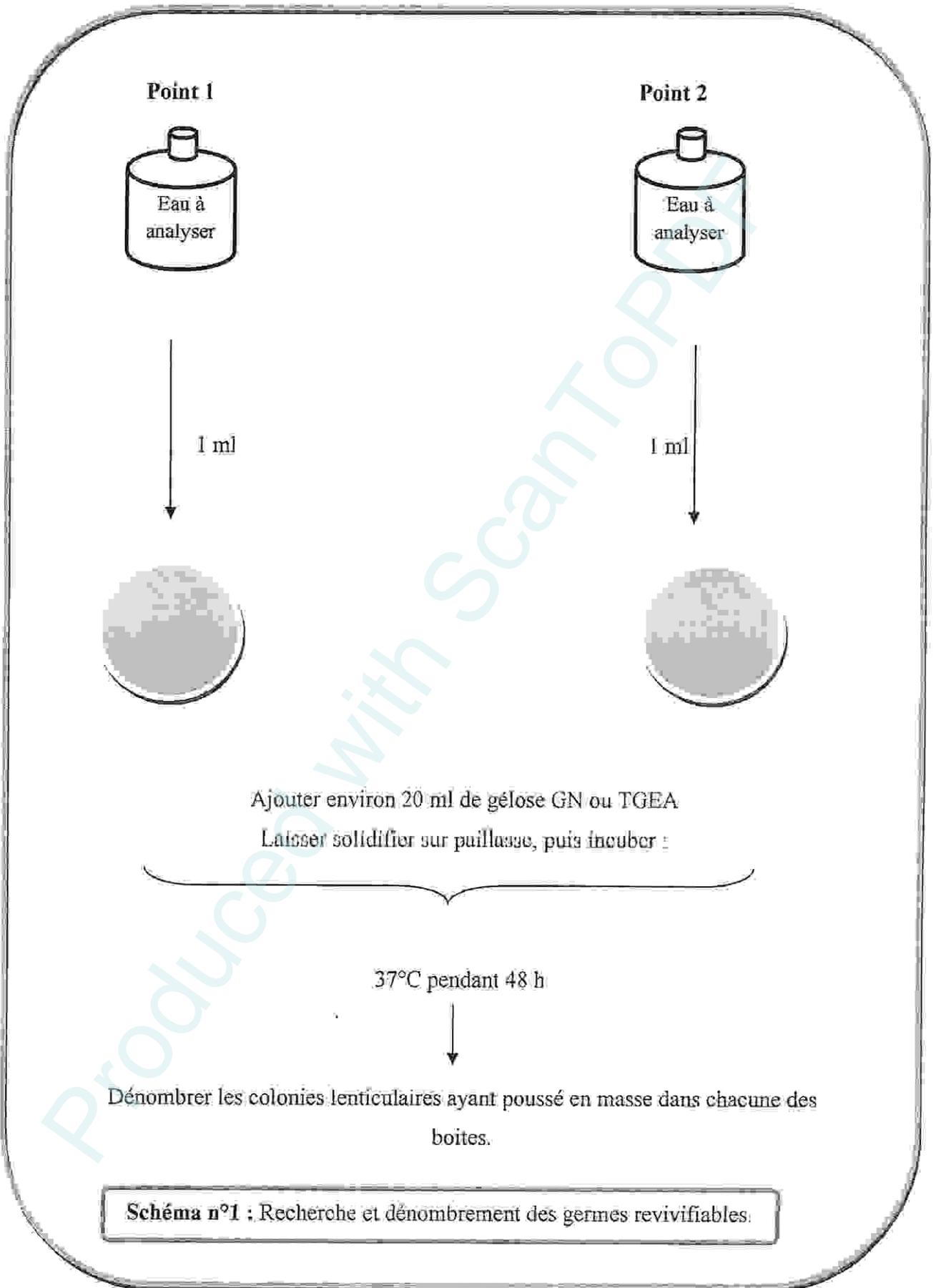
Le dénombrement de la microflore totale a été réalisé sur milieu GN ou TGEA à une température de 37°C.

Technique : [34].

- ⚡ A partir des deux échantillons à analyser, et qui sont considérés comme des solutions mères ; porter aseptiquement 1ml de chaque échantillon dans des boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage.
- ⚡ Compléter ensuite avec environ 19 ml de milieu GN ou TGEA fondue puis refroidie à 45 ± 2 °C.
- ⚡ Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire de bulles d'air et sans mouiller les bords de la boîte.
- ⚡ On fait retourner les boîtes et on incube à 37°C pendant 48 heures.

Lecture :

- ⚡ Les germes revivifiables se présentent sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.
- ⚡ Les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont dénombrées avec précision. Le nombre de colonies dénombrées est ensuite ramené au nombre de microorganisme présents dans 1 ml, en suite au nombre d'UFC/100 ml



3.2. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination fécale :

3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux (CT) et des coliformes thermotolérants : (schéma n°2)

Les coliformes totaux sont des bactéries provenant du sol et de l'environnement ces coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives [20].

Mode opératoire : [16]

4 Test présomptif :

Sur BCPL ou bouillon lactosé au pourpre bromocrésol avec cloche de Durham à simple ou à double concentration et à partir de l'eau à analyser de chaque point (p_1 et p_2) :

- Ensemencer :
 - 3 tubes de bouillon lactosé à double concentration avec 10 ml d'eau par tube (série A).
 - 3 tubes de bouillon lactosé à simple concentration avec 1 ml d'eau par tube (série B).
 - 3 tubes de bouillon lactosé à simple concentration avec 0,1 ml d'eau par tube (série C).
 - Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche),
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui signifie la fermentation du lactose présent dans le milieu) [13].

Dénombrement :

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série, puis nous nous reportons à la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes présents dans 100 ml d'eau [13].

⚡ Test de confirmation :

Le test de confirmation est basé sur la recherche de coliformes thermo-tolérant parmi les quels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*. Les coliformes thermo-tolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C [13].

Mode opératoire: [16]

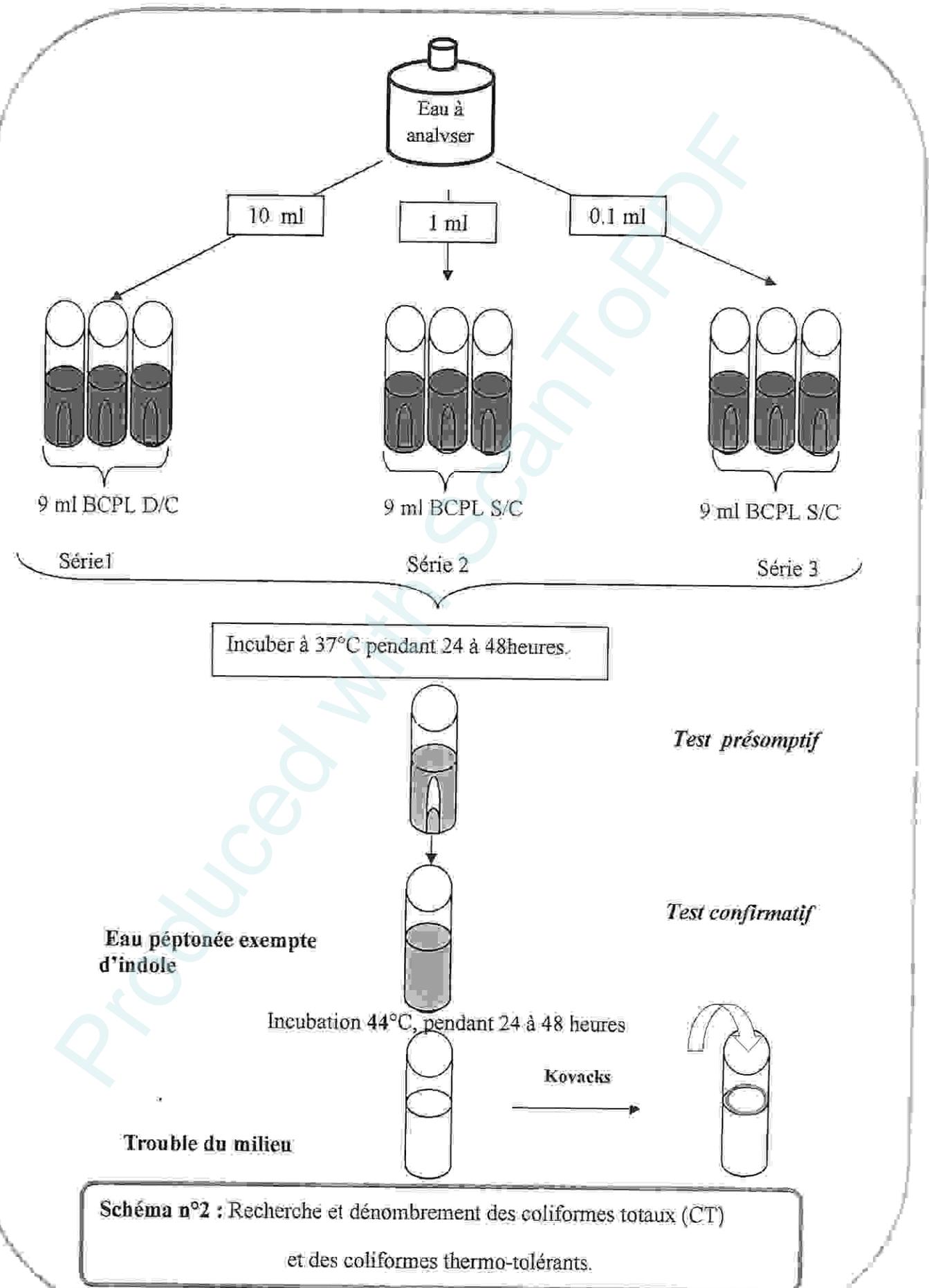
- La confirmation de la présence de coliformes thermo-tolérant est réalisée à partir des tubes d'inoculation positifs, sur un milieu plus spécifique: milieu eau péptonée exempté d'indole.
- L'incubation se fait à 44°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture:

- Dans les tubes montrant un trouble, ajouter quelques gouttes de réactif Kovacks. Une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneau rouge à la surface de tube autrement dit présence de coliformes fécaux *E.coli*.

Dénombrement :

- On note le nombre des tubes positifs et on exprime le résultat selon la table de Mac Grady de coliformes fécaux par 100 ml d'échantillon [9].



3.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (SF) : (Schéma n°3)

*Ces bactéries appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*, sont des cocci généralement déposés en diplocoque ou en courte chaîne, à Gram négatif, asporulantes, immobiles, aérobies facultatifs et possèdent un métabolisme fermentatif.

*Ces germes colonisent l'intestin de l'homme et des animaux.

*Leur présence dans le milieu hydrique prouve une pollution d'origine fécale de l'eau.

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

* Test présomptif : réservé à la recherche présomptive des streptocoques fécaux.

* Test confirmatif : réservé à la confirmation réelle de la présence des streptocoques du groupe D [12].

A) Mode opératoire : [16]

Test présomptif :

Sur milieux de ROTHE simple ou à double concentration et à partir de l'eau à analyser de chaque point (p_1 et p_2) :

- Ensemencer :
 - 3 tubes de ROTHE à double concentration avec 10 ml d'eau par tube (série A).
 - 3 tubes de ROTHE à simple concentration avec 1 ml d'eau par tube (série B).
 - 3 tubes de ROTHE à simple concentration avec 0,1 ml d'eau par tube (série C).
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

-Lecture :

Les tubes présentant un trouble microbien lors de la période d'incubation seront susceptibles de contenir des streptocoques fécaux ; doivent subir un test confirmatif.

- **Test de confirmation :**

À partir des tubes de bouillon positif, ensemencer 2 ou 3 gouttes dans un bouillon à l'éthyle violet et acide de sodium (Eva Litsky). On incube les tubes à 37°C pendant 24 h et/ou 48 heures.

-Lecture :

Les tubes pour lesquels, nous observons un trouble dû au développement bactérien, avec ou sans dépôt violet sont considérés comme positifs. On compte les tubes positifs dans chaque

série et on se reporte à la table de Mac Grady pour obtenir le nombre de streptocoques fécaux présent dans 100 ml d'eau à analyser [13].

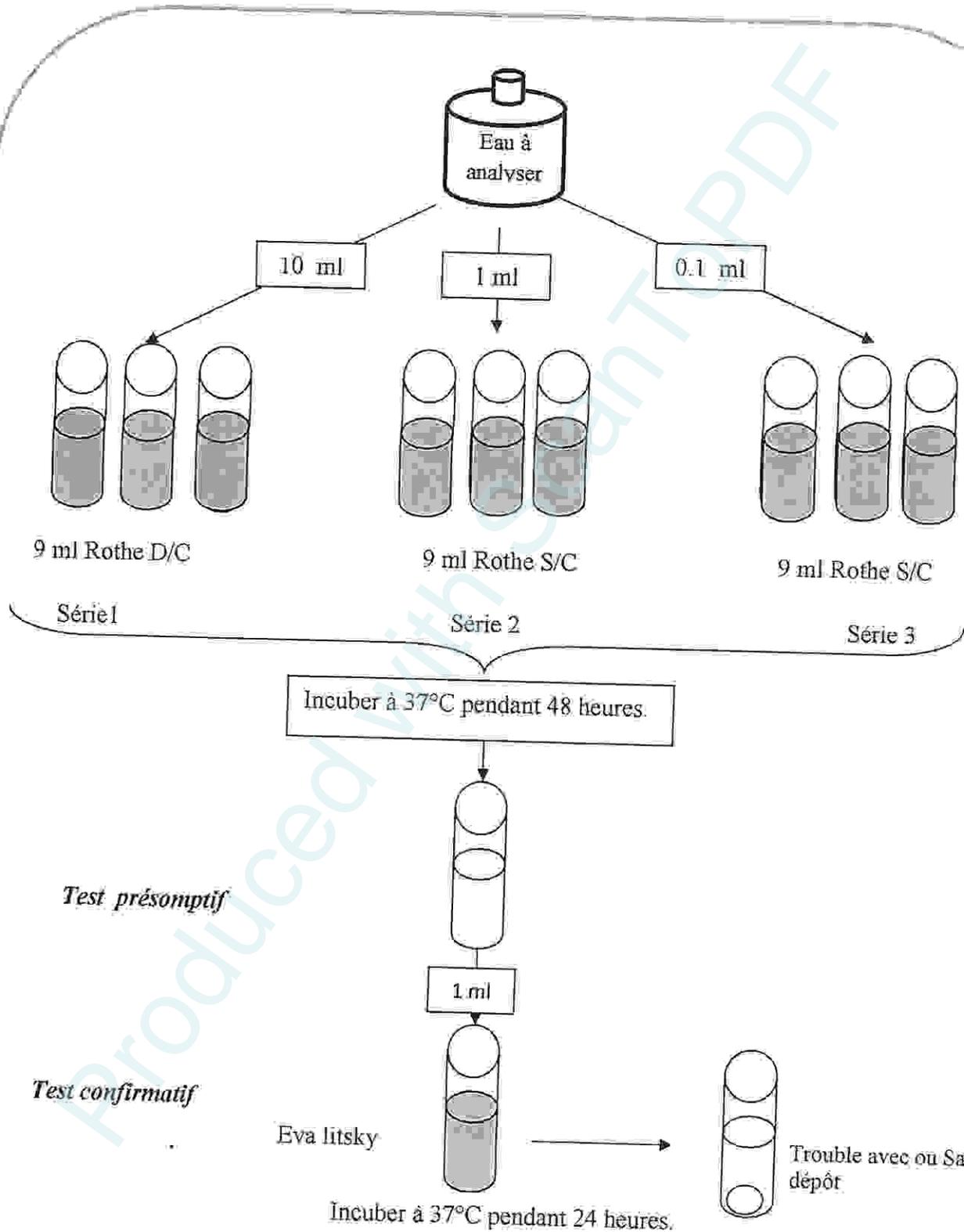


Schéma n°3 : Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.

3.2.3. Recherche et dénombrement des Spores de Anaérobies Sulfite-Réducteurs (A.S.R) : (schéma n°4)

Les Anaérobies Sulfite-Réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram (+), se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire [29].

Technique : [57].

A partir de l'eau à analyser de chaque oued, prendre environ 20 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 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 (55°C).
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 15 ml de gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Refroidir les tubes de l'eau du robinet.
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C , pendant 24 à 48 heures.

Lecture :

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

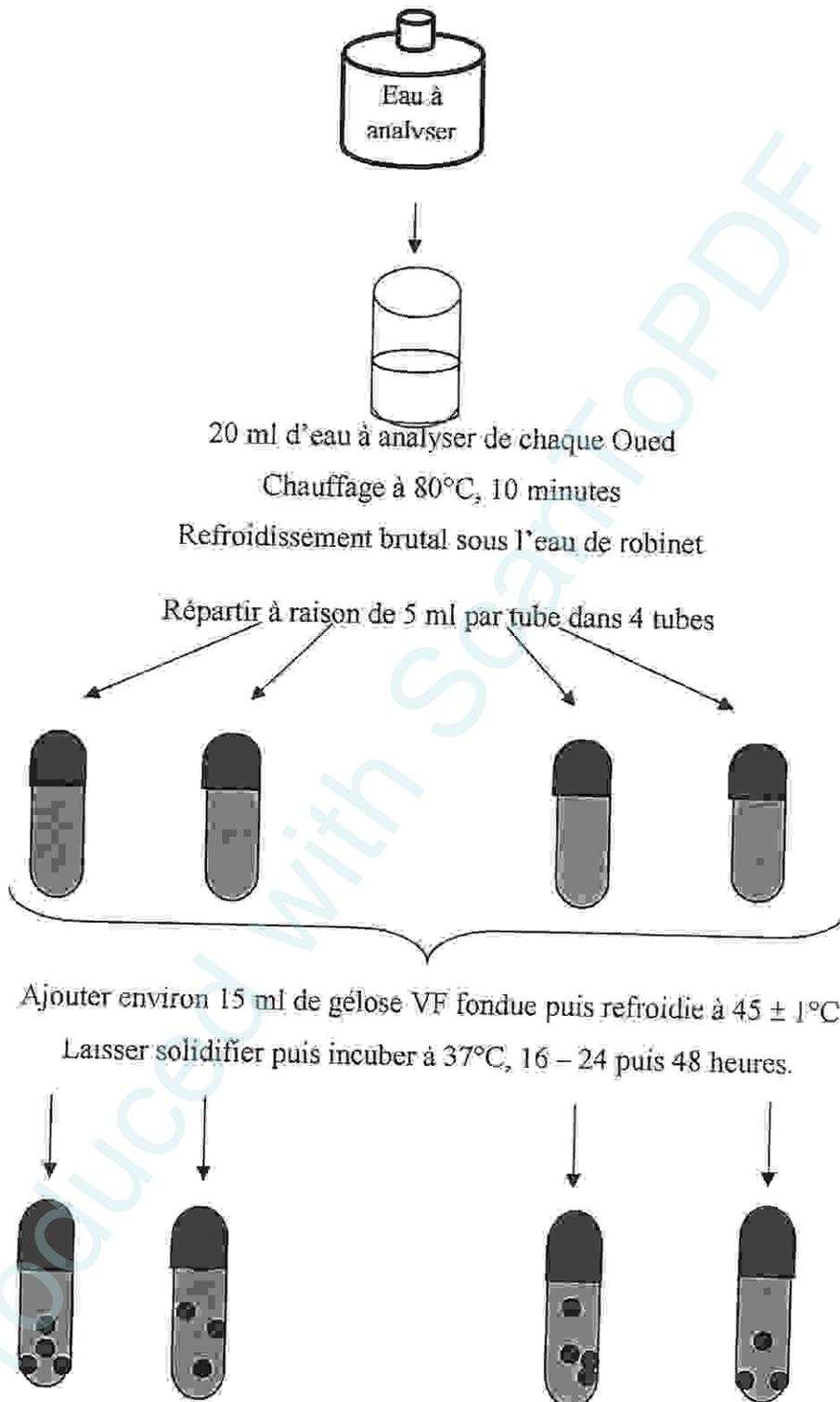


Schéma n°4 : Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs.

3.3. Recherche des germes pathogènes :

3.3.1. Recherche de Staphylocoques à coagulase positive.

Les staphylocoques à coagulase positive, sont des bactéries qui se représentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase [29], [10], [23].

- Mode opératoire :

a. Isolement

Le milieu Chapman permet l'isolement sélectif de *Staphylococcus* sur la base d'une tolérance à une forte teneur en NaCl, et la différenciation de l'espèce *Staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment. Ensemencer une boîte de milieu Chapman. Incuber à 37° C pendant 24 h [26].

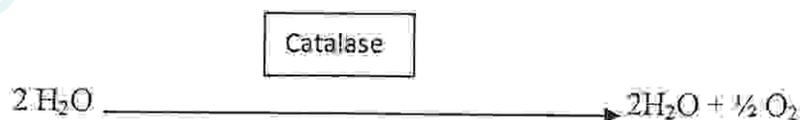
b. Lecture et interprétation

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

• Test catalase (figure.5.)

*Principe

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (issus de la voie respiratoire oxydative directe) en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



Placer séparément deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 sur une lame de microscope. Prélever une demi-colonie avec une tige de verre (pipette Pasteur) et l'émulsionner doucement avec la goutte d' H_2O [26].

- Observer immédiatement et après 5 minutes s'il y a apparition (catalase positive) ou absence (catalase négative) de bulles d'oxygène. Dans le cas où il y a doute ; recouvrir

chacune des gouttes avec lamelle de microscope et comparer l'apparition des bulles sous les deux lamelles. Les observations peuvent se faire macroscopiquement ou à l'aide d'un microscope à faible grossissement [24]

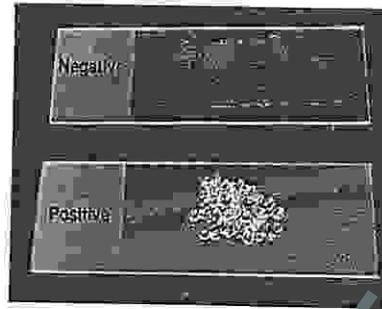


Figure.9. : Test catalase [26].

3.3.2. Recherche des *Vibrio* : (schéma n°5)

Les *Vibrionaceae*, sont des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles Gram négatifs droits ou incurvés; très mobiles possédant une oxydase ; aéro-anaérobies facultatifs ; fermentent le glucose sans production de gaz ni d' H_2S , hautement pathogène [29], [30], [23].

• Mode opératoire :

a. Enrichissement

L'enrichissement primaire s'effectue sur le milieu Eau peptonée Alcaline (EPA), contenue dans deux tubes de 9 ml ; auquel 2ml d'eau à analyser.

Sans oublier d'étiqueter les tubes (p_1 , p_2).

Les tubes seront ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures.

b. Isolement

Une fois les boîtes de Pétris sont coulées ; avec de la gélose GNAB, s'assurer aussi de l'étiquetage des boîtes.

- Les tubes incubés qui représentent l'enrichissement, feront l'objet d'un isolement sur milieu gélosé GNAB, dont le prélèvement sera effectué à partir de la surface du milieu (EPA) [22].

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

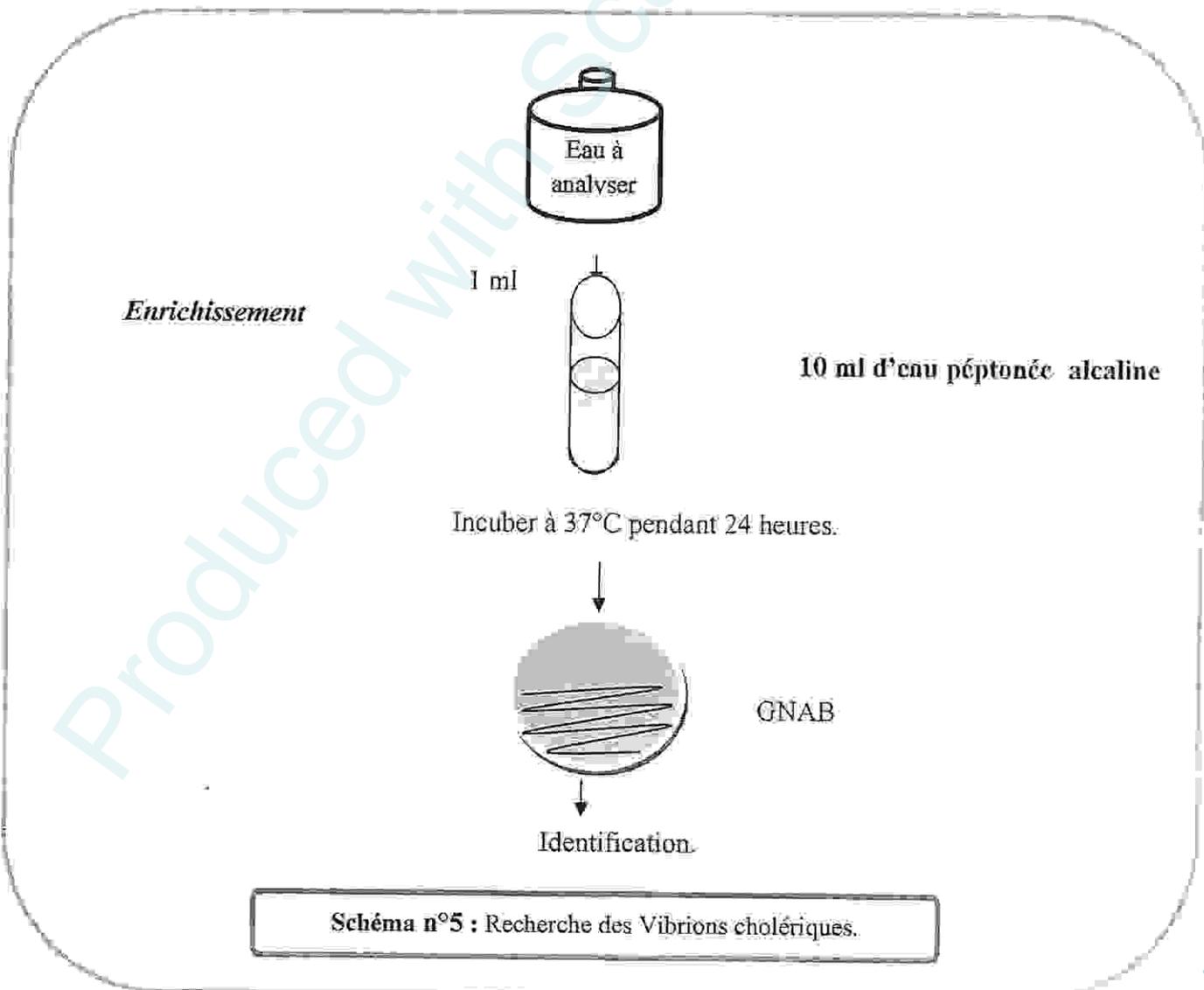
c. Lecture

- Après incubation ; la boîte de gélose GNAB subira une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques [24].

- **Identification:**

Une identification morphologique et biochimique est basée essentiellement sur :

- * Etat frais (bacilles, mobilité).
- * Test Oxydase (+).
- * Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) [6].



3.3.3. Recherche de *Pseudomonas* : (schéma n°6)

Mode opératoire :

a. Isolement :

- Lorsque le germe *Pseudomonas* a la capacité de se cultiver très facilement sur un milieu ordinaire à cause de leur faible exigence nutritive, son isolement a été réalisé sur GN ordinaire.
- L'incubation se fait à 37° C pendant 24 h [14].

b. Lecture :

- Sur GN, les colonies de *Pseudomonas* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3 mm), à bord irréguliers, lisses bombées.
- Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments : la pyocyanine et la pyoverdine [14].
- **Identification :**
 - Examen microscopique : état frais et coloration de Gram.
 - Recherche de l'oxydase.
 - Recherche de la pyoverdine et la pyocyanine.
 - Tests biochimiques : par galerie classique et API 20E (selon la disponibilité) [6].

***Recherche des pigments spécifiques : pyocyanine et pyoverdine :**

Technique :

- A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée stérile), ensemencer deux milieux gélosés : King A et King B.
- Le milieu King A est destiné à favoriser sélectivement la synthèse de la pyocyanine (pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) [2].

- Le milieu King B est destiné à favoriser la synthèse du pigment jaune-vert fluorescent (pyoverdine) par le bacille pyocyanique et divers autres *Pseudomonas*. Exemple : *Pseudomonas fluorescens*. [2]
- Les milieux sont inoculés par une strie médiane.
 - L'incubation se fait à 37° C pendant 1 à 4 jours [4].

Lecture :

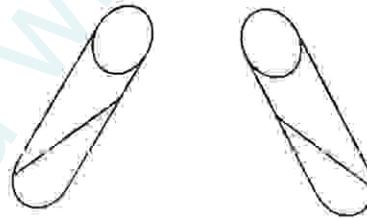
- Couleur bleue sur le milieu King A : présence de pyocyanine.
- Couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B sous UV : présence de pyoverdine [4].



Incuber à 37°C pendant 24 heures.

- Examen microscopique : état frais et coloration de Gram.
 - Recherche de l'oxydase.
- Recherche de la pyoverdine et la pyocyanine (pigmentation spécifique).

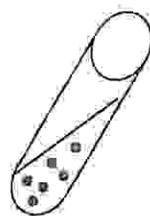
Ensemencer sur le milieu : King A et King B



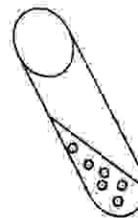
King B

King A

Incuber à 37°C pendant 24 heures.



Présence de pyoverdine sous UV



Présence de pyocyanine.

Schéma n°6 : Recherche de *Pseudomonas*.

3.3.4. Isolement et identification de *Salmonella* : (schéma 7)

Les *Salmonelles* sont des bactéries entériques en forme de bâtonnets, anaérobies facultatives, Gram négatif, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, et qui produisent du sulfure d'hydrogène.

Se développent à une température de 37°C pendant 24 à 48 heures sur milieu Hektoen, formant ainsi de petites colonies lisses à contours réguliers, pigmentées en vert ou en bleu vert à centre noir.

Les *Salmonelles* se divisent en deux grands groupes : les mineures et les majeures qui sont hautement pathogènes [29], [10], [23].

Mode opératoire

a. Enrichissement :

Effectuer un enrichissement dans des tubes contenant 9 ml du milieu SFB. Ajouter 1 ml d'eau à analyser (p_1 , p_2). Et incuber à 37°C pendant 24 heures [1].

b. Isolement :

L'isolement se fait soit :

- Onensemencer 0.1 ml de l'eau de chaque échantillon sans enrichissement par des stries avec une anse de platine après avoir coulé la gélose (Hektoen au/et Mac Conkey) dans les boites de Pétris [25].
- Onensemencer 0.1 ml de milieu d'enrichissement de chaque échantillon par des stries avec une anse de platine après avoir coulé la gélose (Hektoen au/et SS) dans les boites de Pétris [25].

Dans les deux cas, incuber à 37°C pendant 24 heures.

c. Lecture

La lecture des différents milieux de culture est faite selon le tableau.

Tableau.7. : Aspects culturels de *Salmonella* sur les milieux sélectifs [16].

Milieu d'isolement	Micro-organismes	Colonies
Mac Conkey	<i>Salmonella</i> ou <i>Shigella</i> et autres	Incolores, transparentes
Hektøn	<i>Salmonella</i> , <i>Paracolobacterium</i> , <i>Proteus</i>	Bleu vert, avec ou sans centre noir
SS	- Shigelles et la plupart des Salmonelles	- Incolores, transparentes

- **Identification morphologique et biochimique**

Une identification morphologique et biochimique est basée essentiellement sur :

- * Etat frais (bacilles, mobilité).
- * Test Oxydase (+).
- * Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) [5].

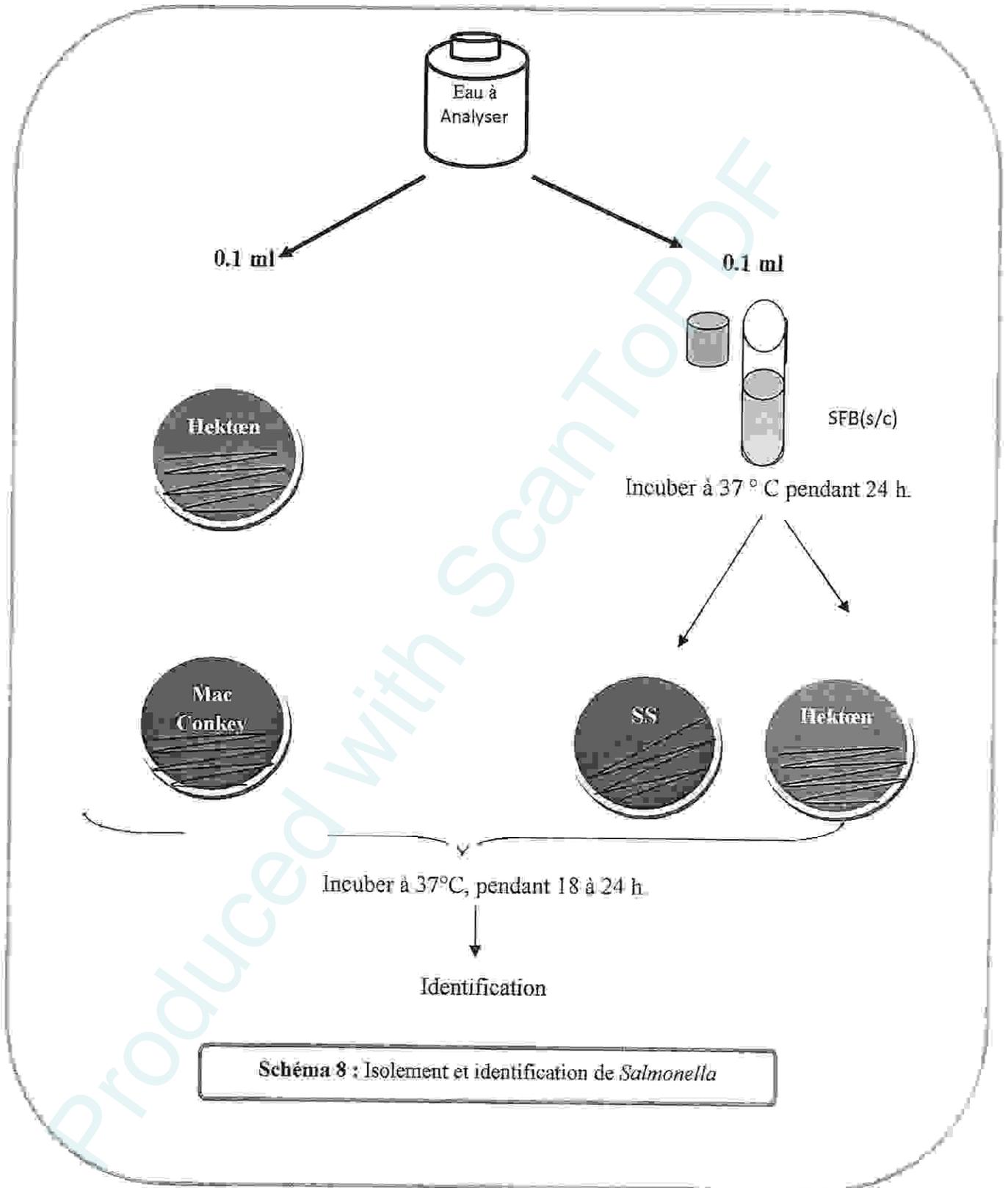


Schéma 8 : Isolement et identification de *Salmonella*

4. Les testes complémentaires :

4.1. Examen macroscopique des caractères culturaux :

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

- La taille.
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparente.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèches, muqueuse.
- Pigmentation [18].

4.2. Examen microscopique après coloration :

4.2.1. Après coloration simple :

C'est une coloration d'orientation : elle permet d'étudier la taille, la forme et le mode de regroupement des cellules bactériennes. Un seul colorant est généralement utilisé, le plus souvent c'est le bleu de méthylène. Ces renseignements peuvent être fournis par une simple préparation à l'état frais (coloration vitale) entre lame et lamelle, ou à l'état tué [21]

4.2.2. Après coloration de Gram :

➤ Principe :

Le principe de cette coloration est que le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi riche en lipides laisse passer l'alcool qui décolore le cytoplasme et adopte la couleur rosâtre de la Faustine, alors que chez les bactéries à Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet [57].

Mode opératoire :

- Un frottis fixé à la chaleur et coloré pendant une minute avec une solution de violet de gentiane, le frottis coloré est rincé rapidement avec une solution iode-ioduré le Lugol, et il y est maintenu pendant une minute.
- Le frottis est ensuite décoloré avec l'alcool à 95 pendant quelques secondes jusqu'à élimination de l'excès du colorant puis rincé immédiatement avec l'eau de robinet.
- Le frottis est ensuite traité avec un colorant qui est une solution de Fushine pendant 30 seconds, rincé rapidement au robinet et séché.

Après ce traitement, les cellules gram négatif apparaissent roses et les cellules Gram positif apparaissent sous une couleur violette [57].

4.3. Examen liés aux caractères biochimiques :**4.3.1. La galerie API20E : (figure.6.)**

La galerie API20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram négatif utilisant 20 testes biochimiques standardisés et miniaturisés ainsi qu'une base des données [36].

Principe :

La galerie API20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les testes sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API20E [36].



Figure.10. : L'API20E

➤ **Mode opératoire :**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Remplir les tubes et les cupules des tests : Remplir tubes et cupules des tests : [CIT], [VP], [GEL], avec la suspension bactérienne.
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures [14].

➤ **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 20 [3].

4.3.2. La galerie classique :

Nous avons utilisé la galerie biochimique présentée dans le tableau suivant :

Tableau.8. : Les caractères de la galerie classique [8].

Milieu	Mode d'ensemencement	Caractères recherches	Résultat attendu
TSI (tri-sugar-iron)	-ensemencer abondamment la surface par des stries serrées, puis le culot par simples pique -mettre à l'étuve 24h à 37°	- utilisation du glucose -utilisation du saccharose -utilisation du lactose -Production H ₂ S -Production du gaz.	-virage de la couleur vers le jaune -formation de tache noire
Citrate de Simmons	_ la pente est ensemencée par une strie longitudinale _ mettre à l'étuve 24h à 37°	_ utilisation du citrate comme seule source de carbone	_ virage de l'indicateur de pH au bleu
Clark et lubs	_ ensemencer largement _ incubé 24h à 37° test VP _ ajouter 10 gouttes d'alpha naphтол et le même volume de soude concentrée(ou de potasse)	_ production de lactoine _ mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le test RM	Test VP _ rouge : VP+ _ jaune : VP_ Test RM _ rouge : RM+ _ jaune : RM_

Suit de Tableau 8

	<p>_ attendre quelques min a 1 heure</p> <p><u>Test RM</u></p> <p>_ ajouter 2 a3 gouttes de rouge de méthyle</p> <p>_ la lecture est immédiate</p>		
<p>Mannitol</p> <p>Mobilite</p>	<p>_ ensemercer par piqure centrale à laide d'un fil droit</p> <p>_ incuber 24h T optimale</p>	<p>_ Mannitol</p> <p>_ Mobilité</p>	<p>_ caractère mannitol</p> <p>_ milieu jaune</p> <p>_ la mobilité: les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle</p>
<p>Urée indole</p>	<p>_ ensemercer largement</p> <p>_ incuber 24h a37°</p> <p>_ test d'indole</p> <p>_ après incubation on ajoute à la culture le réactif à l'indole de kovacks</p>	<p>_ uréase</p> <p>_ formation d'indole</p>	<p>_ apparition de couleur rose</p> <p>_ test positif: apparition d'un anneau rouge à la surface</p>

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Produced with ScanTOPDF

I- Résultats :

I. **Dénombrement des germes totaux:** les résultats de dénombrement des germes totaux sont les suivants :

Tableau.9. : Résultats de dénombrement des germes totaux dans les points de prélèvement d'Oued El-Hout et Oued Messida.

Prélèvement		Température
		37°C
P1	Mars	220000 UFC/100ml
	Avril	420000 UFC/100ml
P2	Mars	280000 UFC/100ml
	Avril	470000 UFC/100ml

La figure 11 représente la répartition temporelle des germes totaux au niveau des deux points de prélèvement des eaux de l'Oued El-Hout et l'Oued Messida.

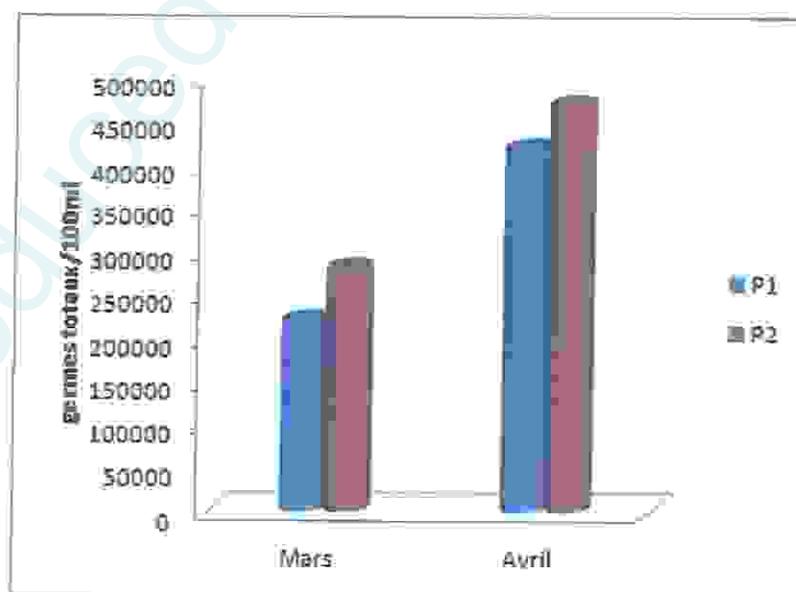


Figure 11 : Répartition temporelle des germes totaux des eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.

2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux (CT) :

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux sont les suivants :

Tableau.10. : Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans les deux points de prélèvement.

Les points de prélèvement	Point 1	Point 2
Mars	150 CT/100 ml	460 CT /100 ml
Avril	460CT/100 ml	1400 CT /100 ml

La figure 12 représente la répartition temporelle des coliformes totaux dans les deux points de prélèvement.

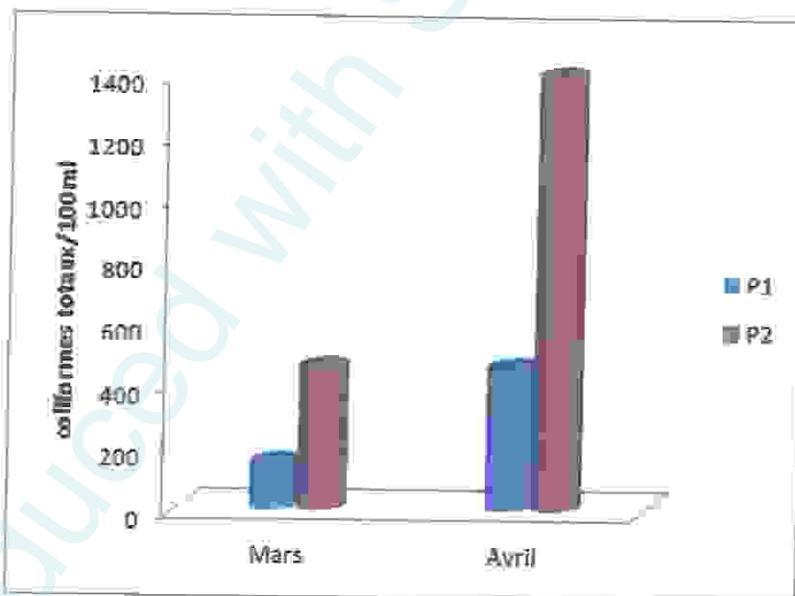


Figure 12 : Répartition temporelle des coliformes totaux des eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.

3. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* :

Tableau.11. : Résultats de dénombrement d'*Escherichia coli* dans les eaux d'Oued El-Hout et Oued Messida.

Les points de prélèvement	P 1	P 2
Mars	3 <i>E. coli</i> /100 ml	150 <i>E. coli</i> /100 ml
Avril	150 <i>E. coli</i> /100ml	93 <i>E. coli</i> /100 ml

La figure 13 représente la répartition temporelle d'*Escherichia coli* dans les deux points de prélèvement.

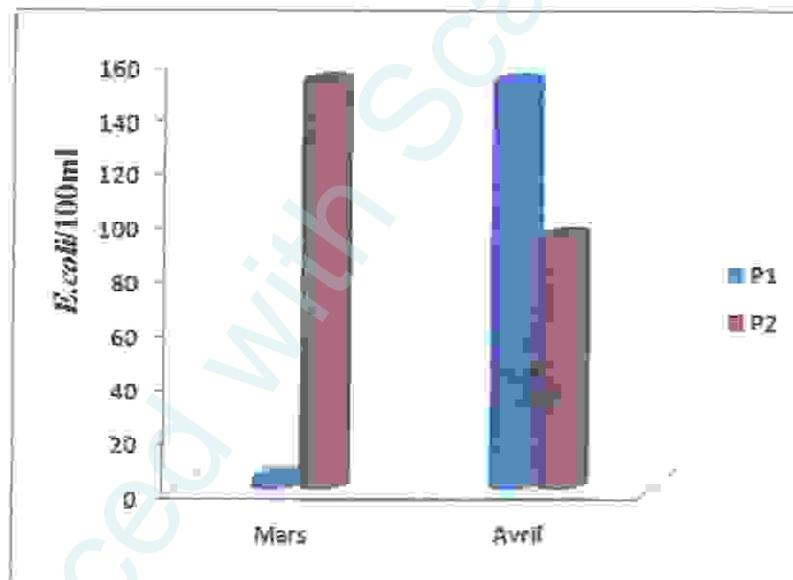


Figure 13: Répartition temporelle d'*Escherichia coli* dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.

Les résultats des tests présomptif et confirmatif de la présence d' d'*Escherichia coli* sont représentés par la figure 14.



Teste présumptif



Teste confirmatif

Figure.14. : Test indole positif sur eau peptonée exempte d'indole incubée à 44°C confirme la présence d'*E.coli*.

4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (SF):

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Résultats de dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux d'Oued El-Hout et Oued Messida.

Les points de prélèvement	P1	P2
Mars	0SF /100 ml	11 SF /100 ml
Avril	460 SF /100 ml	1100SF /100 ml

La figure 15 représente la répartition temporelle des streptocoques fécaux dans les deux points de prélèvement pendant les deux mois.

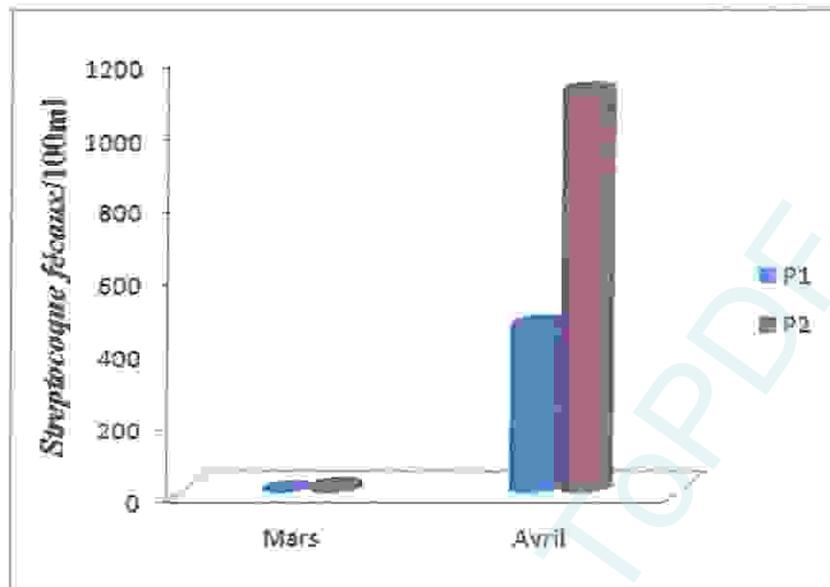


Figure.15. : Répartition temporelle des streptocoque fécaux dans les eaux de l'Oued El-Hout et Oued Messida.

5. Recherche des Anaérobies sulfito-réducteurs :

Les résultats de dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs sont les suivants :

Tableau.13. : Résultats de dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs dans les points de prélèvement d'Oued El-Hout et Oued Messida.

Les points de prélèvement	P 1	P 2
Mars	0 germes/100 ml	0 germes/100ml
Avril	0 germes/100 ml	0germes/100ml

6. La variation temporelle du nombre des germes témoins d'une contamination fécale :

La variation des germes témoins de contamination fécale au niveau des deux points de prélèvement représenté dans les figures 16 et 17.

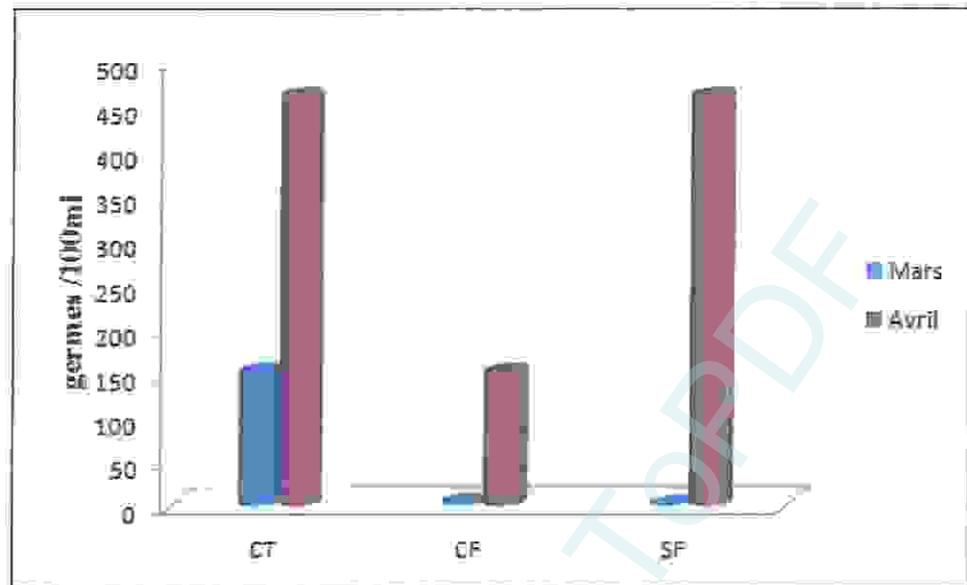


Figure.16. : Variation temporelle des germes témoins d'une contamination fécale au niveau d'Oued El-Hout.

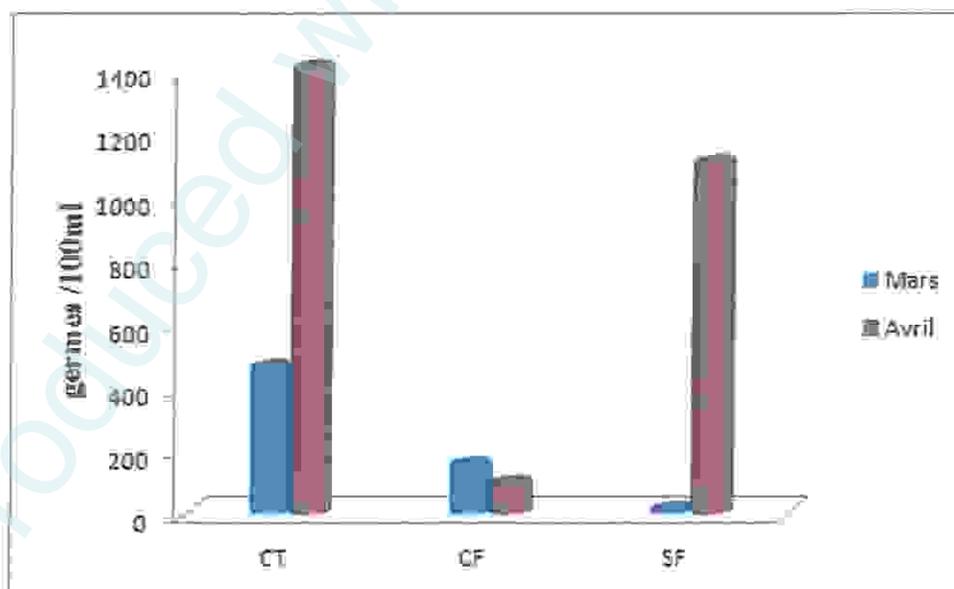


Figure.17. : Variation temporelle des germes témoins d'une contamination fécale au niveau d'Oued Messida.

7. Origine de la contamination fécale :

Pour déterminer cette origine on a calculé le rapport CF/SF (Tableau.15.)

Le rapport CF/SF: Selon la classification adoptée par Borrego et Romero 1982 [37], présenté dans le tableau 14.

Tableau .14. : Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale.

Rapport CF/SF	Observation
$r < 0.70$	entièrement d'origine animale
$0.7 < r < 1$	Mixte à prédominance animal
$1 < r < 2$	D'origine incertaine
$2 < r < 4$	Mixte à prédominance humaine
$r > 4$	Source exclusivement humaine

Tableau.15. : Rapport CF/SF pour la connaissance de l'origine de la pollution fécale dans Oued El-Hout et Oued Messida.

Points	Mois	Rapport CF/SF	Observation
P1	Mars	0	entièrement d'origine animale
	Avril	0.32	entièrement d'origine animale
P2	Mars	13.6	Source exclusivement humain
	Avril	0.08	entièrement d'origine animale

8. Résultats de recherche des bactéries pathogènes :

8.1. Les staphylocoques pathogènes:

Les résultats de la recherche des staphylocoques pathogènes sont représentés dans les tableaux suivants.

Tableau 16 : Résultats de l'isolement des staphylocoques pathogènes sur la gélose Chapman.

Points de prélèvement	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
P1	(-)	(-)
P2	Petites colonies jaunes, bombées, lisses, à contour régulier, brillantes, avec virage de la couleur du milieu du rouge au jaune. (Figure.18.)	Cocci en amas, Gram positif. (figure.19.)

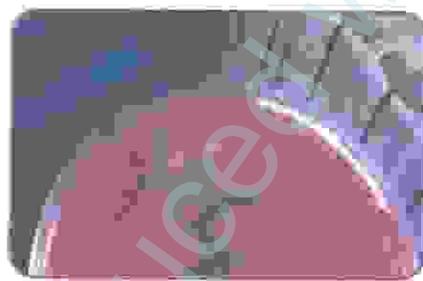


Figure.18.Aspect des colonies sur Chapman

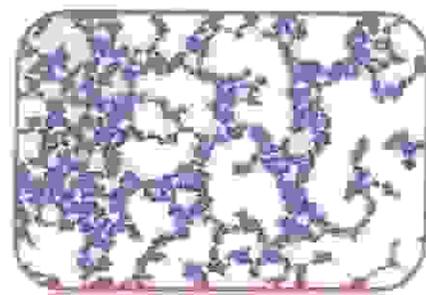


Figure.19.Cocci en amas Gram+

Tableau.17.: Résultats d'identification biochimique de staphylocoque isolée :

Caractères	Man	Mob	Cat (figure.20)
Colonie	+	-	+

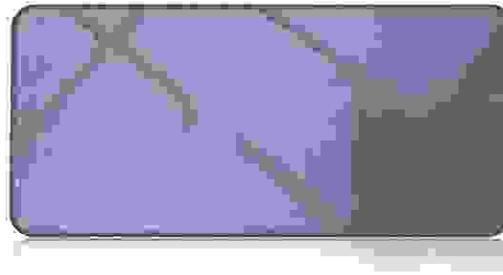


Figure.20. Test catalase positif

Selon l'aspect des colonies, l'examen microscopique et les tests biochimiques effectués nous avons trouvé que ces colonies sont des *Staphylococcus saprophyticus*.

8.2. Résultats de recherche des *Vibrio* :

8.2.1. Aspects macroscopiques et microscopiques:

Tableau.18. Résultats de l'isolement des *Vibrio* sur le GNAB.

Ponts de prélèvements	Milieu de culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
P1	GNAB	Blanchâtres, ponctiformes, plates, lisses à contour réguliers. (figure.21.)	- Bacilles, Gram négatif. (Figure.22.)
P2			



Figure .21.Aspect des colonies sur GNAB

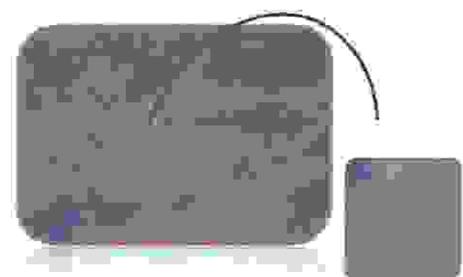


Figure.22. Bacilles incurvés, Gram négatif.

8.2.2. Identification biochimique :

Les résultats sont représentés dans le tableau 19 et dans les figures 23 et 24.

Tableau.19. : Résultats et identification biochimique par la galerie classique.

Milieu Caractères	GNAB P1	GNAB P2
Cit	+	-
Man/Mob	+/+	+/+
Lac	+	+
H ₂ S	-	-
Gaz	+	-
Uré	-	-
Ind	+	+
Nit	+	+
VP	-	-
RM	+	+
ONPG	-	+
TDA	-	-
ADH	-	+
LDC	-	+
ODC	+	+
Oxy	+	+
Espèce	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>

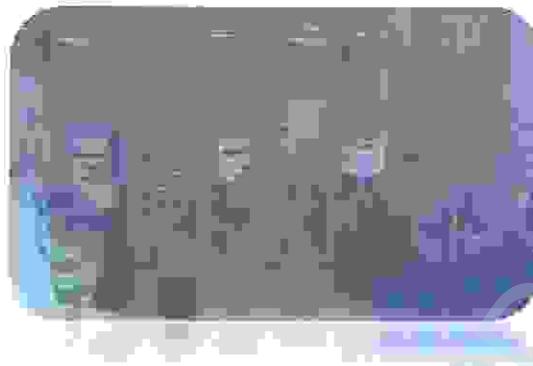


Figure.23. Profil biochimique de *Vibrio alginolyticus*.



Figure.24. Profil biochimique de *Vibrio cholerae*.

8.3. Résultats de recherche des *Pseudomonas* :

On n'a pas détecté les *Pseudomonas* pendant notre étude.

8.4. Résultats de recherche des Salmonelles :

8.4.1. Aspects macroscopiques et microscopiques sur les différentes géloses :

Nous avons trouvée les même colonies sur les géloses utilisés quelque soit le prélèvement.

Tableau.20 : Aspect microscopique et macroscopique des colonies posent sur les géloses Hektoen, Mac Conkey et SS.

Point de prélèvement	Milieu de culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
P 1	Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies, lisses, à contours irréguliers, opaques, bombées, pigmentées en vert à centres noirs (figure.25.). - Colonies moyennes, crémeuses, à contours irréguliers, brillantes, jaunes surélevés au centres. (Figure.25.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Longs Bacilles, Gram négatif (figure.26.). - Bacilles, Gram négatif (figure.26.).
	Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies moyennes à grandes, à contours irréguliers, de couleur marron (figure.27.). 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles à Gram négatif. (Figure.28.).
P 2	SS	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies moyennes à grandes, à contours irréguliers, de couleur marron. (figure.29.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles, Gram négatif. (figure.30.)

Tableau.21. : Résultats d'identification biochimique par galerie API20E.

API20E	Milieu	Numéros et codes	Espèce
1	} Hektaen	5304517	<i>Hafnia alvei</i>
2		7307121	<i>Aeromonas hydrophila</i>

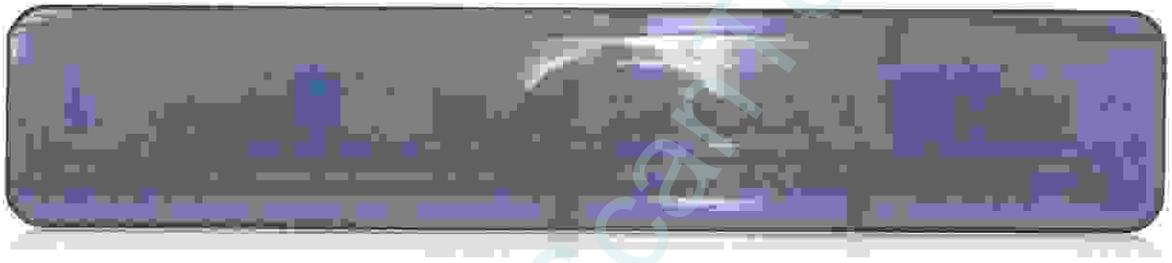
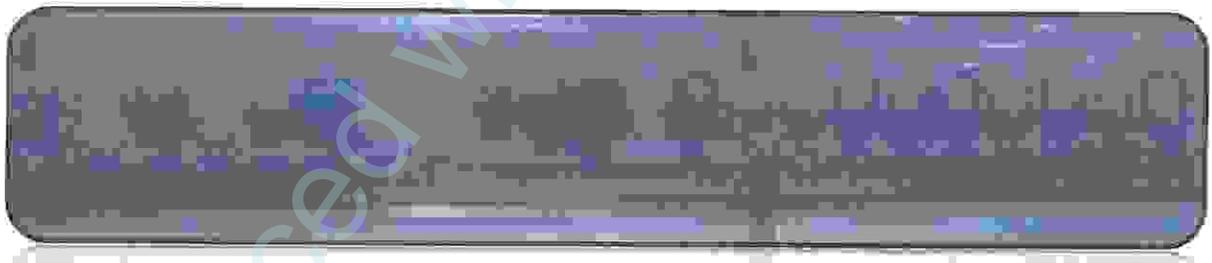
Figure.31. Profil biochimique d'*Hafnia alvei*.Figure.32. : Profil biochimique d'*Aeromonas hydrophila*.

Tableau.22. : Résultats d'identification biochimique par la galerie classique.

Caractères \ Milieu	SS	Mac Conkey	Hektœn Colonie Verte
Cit	-	-	+
Man/Mob	+/-	-/-	+/-
Lac	+	-	+
H ₂ S	-	-	-
Gaz	+	-	+
Uré	-	-	-
Ind	+	-	+
Nit	+	-	-
VP	+	-	+
RM	-	-	-
ONPG	+	-	+
TDA	-	-	-
ADH	+	-	+
LDC	+	-	+
ODC	+	-	+
Oxy	-	-	-
Glu	+	+	+
Espèces	<i>E. coli</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Serratia odorifera</i>



Figure.33. Profil biochimique d'*E. coli*.

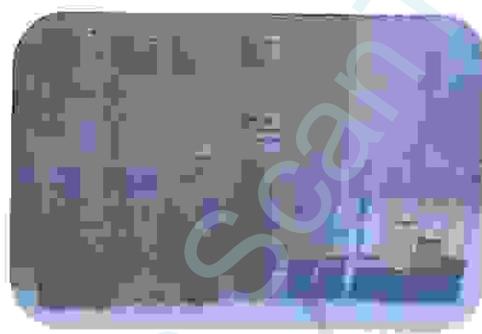


Figure.34. Profil biochimique de *Shigella spp.*

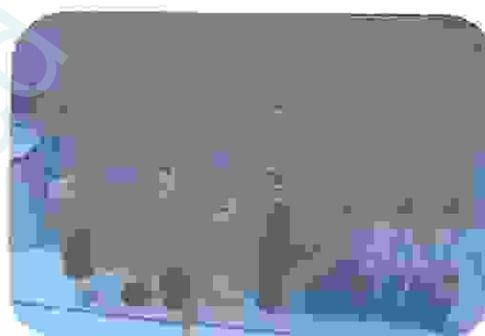


Figure.35. Profil biochimique de *Serratia odorifera*.

II. Discussions :

1. Variation des germes totaux

Les résultats des dénombrements des germes totaux durant notre période d'étude nous ont montrés un nombre important de la flore totale dans les eaux des deux Oueds compris entre 220000 et 470000 germes /100 ml d'eau, la valeur maximale a été enregistrée au niveau d'Oued Messida durant le mois d'Avril, le minimum a été enregistré au niveau d'Oued El-Hout pendant le mois de Mars.

La comparaison entre les nombres des germes totaux, montre que le canal Messida et oued El-Hout révèlent une contamination biologique pendant notre période d'étude avec des concentrations qui diffèrent d'un mois à l'autre. Cela se traduit par l'influence de la température de l'eau et la précipitation sur la croissance des bactéries.

2. Les coliformes totaux:

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux, nous a montré que la teneur en coliformes totaux varie d'un Oued à l'autre et d'un mois à l'autre.

Le nombre minimal des germes a été obtenu au niveau de Oued El-Hout (150CT/100 ml) pendant le mois de Mars, tandis que la valeur maximale a été enregistrée au niveau de Oued Messida (1400 CT/100 ml) durant le mois d'Avril.

Selon la norme algérienne des eaux de surface destinée à la consommation humaine 10 CT/100ml [18], les eaux de ces deux sont impropre pour cet utilisation.

3. Les coliformes fécaux :

Le dénombrement d'*Escherichia coli* le plus important des coliformes fécaux, a montré que le taux de ces bactéries dans les deux oueds dépasse les normes internationale pour la qualité de l'eau d'irrigation (100 CF/100ml)

Le nombre maximale a été détecté au niveau de Oued El-Hout durant le mois de Mars et au niveau d'Oued Messida durant le mois d'Avril avec une valeur de 150 *E.coli* /100 ml, ceci est expliqué par la contamination des eaux par les matières fécales des animaux qui se trouvent près des points de prélèvement. Le nombre minimal d'*E.coli* a été détecté au niveau d'Oued El-Hout durant le mois de Mars avec une valeur de 3 *E. coli*/100 ml. Cette diminution bactérienne est expliquée soit par la dilution des eaux par les pluies durant le mois de Mars; soit par la présence de prédateurs bactériens tels que les protozoaires.

4. Les streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux sont des flores intestinales dominantes chez les animaux herbivores domestiques, donc la présence de celle-ci indique un signal de pollution fécale récente d'origine animale.

La concentration maximale en Streptocoques fécaux a été enregistrée au niveau d'Oued Messida durant le mois d'Avril avec un nombre de 1100 SF/ml. Tandis que les valeurs les plus faibles (0 SF/100ml) ont été notées pendant le mois de Mars au niveau d'Oued El-Hout. Les valeurs obtenues pour l'Oued Messida sont supérieures à les normes citées pour les eaux potables et pour l'irrigation (1000SF/100ml).

5. Les Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) :

La détermination des spores des bactéries anaérobies sulfito- réducteurs est un indice de pollution ancienne à cause de la résistance de leurs spores contrairement aux formes végétatives.

Nos résultats montrent l'absence totale des spores des anaérobies sulfito- réducteurs dans les deux eaux de surface étudiées pendant les deux mois.

Ces résultats confirment l'absence des germes résistants (sporulants) comme les *Clostridium* considérés comme germes extrêmement pathogènes.

6. La variation temporelle du nombre des germes témoins d'une contamination fécale :

La comparaison des résultats du nombre des germes témoins d'une contamination fécale, sur la base du contenu en coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoque fécaux montre que la charge bactérienne varie d'une manière importante. La charge la plus élevée a été notée pendant le mois d'Avril, alors que la charge la plus basse a été enregistrée pendant le mois de Mars pour les deux Oueds.

La diminution de la charge pendant le mois de Mars est expliqué par, la forte précipitation donc une dilution des eaux des deux Oueds.

L'élévation de la charge pendant le mois d'Avril est expliquée par la diminution des précipitations qui augment la concentration des bactéries.

D'après notre comparaison on a trouvée que le nombre des germes témoins d'une contamination fécale est plus élevée dans l'oued Messida ceci est expliquée par :

- Les apports qui viennent du Lac Tonga hébergeant un effectif élevé d'espèces animales.
- Les rejets des égouts qui se trouvent au niveau d'Oued Messida.
- L'Oued Messida est aussi alimenté par des différentes Oueds liés à des installations septiques des différentes communes localisées dans le bassin versant du lac.

Les résultats du calcul du rapport CF / SF ont montré que la contamination au niveau de l'oued EL Hout est d'origine animale ; alors que au niveau d'Oued Messida elle est d'origine humaine pendant le mois de Mars.

7. Résultats de la recherche des germes pathogènes :

A partir des eaux d'Oued El-Hout, nous avons isolé les bactéries suivantes : *Serratia odorifera*, *Shigella spp*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Vibrio alginolyticus*.

A partir des eaux d'Oued Messida, nous avons isolé les bactéries suivantes : *Serratia odorifera*, *Shigelles spp*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Aeromonas hydrophila* , *Vibrio cholerae*. *Staphylococcus saprophyticus*.

Selon ces résultats, la recherche des germes pathogènes a révélé la présence des pathogènes opportunistes avec la présence des pathogènes : *Vibrio cholerae* et *Shigella spp* dans les eaux de l'oued Messida ce qui peut poser des problèmes sanitaires réels sur la santé de l'homme et sur la vie de la faune. La détection de ces espèces peut être expliquée par les rejets des eaux usées non traités (la présence de ces germes dans la matière fécale des hommes et des animaux).

❖ L'étude comparative entre la qualité bactériologique des eaux des deux Oueds étudiés « Oued El-Hout et Oued Messida » a permis de déduire que le taux de pollution au niveau d'Oued Messida est plus élevé par rapport a celui détecté au niveau d'Oued El-Hout.

❖ L'étude de la qualité bactériologique des eaux d'Oued El-Hout et Oued Messida durant les deux mois a permis de constater que l'eau de ces deux écosystèmes nécessite

un traitement complexe (traitement physique, chimique, affinage et désinfection...) pour destiner à être utilisée pour la production d'eau livrée à la consommation humaine et à l'irrigation .

Produced with ScanTOPDF

Conclusion

ScantOPDF
Produced with

Conclusion

La bonne qualité des eaux est un facteur important pour le bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Soumise au développement industriel et urbain et à l'utilisation massive de produits chimiques, les qualités naturelles de l'eau sont dégradées et l'intégrité des écosystèmes aquatiques se trouvent perturbés, on parle de la pollution de l'eau.

Dans le but de déterminer la qualité bactériologique on a choisi deux écosystèmes aquatiques lotiques (Oued El-Hout et Oued Messida, Willaya d'El Tarf, Nord-Est de l'Algérie), a fin de faire une comparaison entre ces deux oueds ainsi que de retirer les effets qu'ils peuvent engendrer sur la santé humaine et animale.

Les régions d'études situés dans le Nord-Est Algérien et au niveau du Parc National d'El-Kala. Ils font partie du bassin versant du Lac Tonga.

Les analyses réalisées lors de notre étude pendant les mois de Mars et Avril ont portées sur le dénombrement des bactéries indicatrices d'une contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les germes Anaérobies sulfite-réducteurs (ASR), et les germes non spécifiques d'une contamination fécale qui sont les germes totaux. Ces dénombrements des bactéries sont suivis d'une recherche de toutes les espèces bactériennes susceptibles de vivre dans les eaux de ces deux Oueds.

Les tests d'identification des souches isolées sur les différents milieux de culture ont permis d'identifier les espèces suivants : *Serratia odorifera*, *Shigella spp*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Vibrio alginolyticus*.

L'étude comparative nous a permis de déduire que Oued El-Hout est moins polluée que Oued Messida.

Les résultats de dénombrement et d'identification des germes, ont montré que les eaux de ces deux écosystèmes aquatiques renferment un taux élevé des bactéries indicatrices d'une contamination fécale avec présence des germes pathogènes au niveau d'Oued Messida qui nous a amené à les classer comme impropre à la consommation humaine ainsi qu'à l'irrigation.

Résumé

Produced with ScantOPDF

Résumé

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

Dans notre étude, nous avons choisi de suivre la qualité bactériologique des eaux d'Oued El-Hout et Oued Messida qui font partie de bassin versant du lac Tonga (le premier est la source principale d'alimentation du lac Tonga et le deuxième l'exutoire du même lac). Ce travail a été étalé sur une période de deux mois « Mars et Avril ».

La recherche a été portée sur l'évaluation des germes totaux, la recherche et le dénombrement des germes témoignant d'une pollution fécale ainsi que la recherche des bactéries pathogènes.

Les résultats obtenus ont montré qu'une pollution bactériologique importante traduite par des fortes charges des CT, CF et SF, avec présence des germes pathogènes (*Vibrio cholerae*, *Shigella spp*).

La comparaison des deux Oueds montre que les eaux de l'Oued Messida sont fortement polluées par rapport à celle d'Oued El-Hout.

Mots clés :

Qualité bactériologique, Contamination fécale, PNEK, Oued El-Hout, Oued Messida.

Abstract

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

In our study, we chose to follow the Bacteriological quality of the waters of Oued El-Hout and Oued Messida are a part of Tonga's pouring basin, « the first is the principal alimentation source of Tonga and the second is the outlet of the same lake ». This work was spread over two months « March and April ».

The search is concerned the evaluation of total bacteria, and the detection and the enumeration of bacteria indicating fecal pollution and the search of pathogenic bacteria.

The results obtained showed an important bacteriologic pollution result in the forts charges of CT, CF and SF, with presence of pathogenic germs (*Vibrion cholerae*, *Shigella spp*).

The comparative study of the water of the two Oued showed that Oued Messida is heavily polluted from Oued El-Hout.

Key words:

Bacteriological quality, fecal contamination PNEK, Oued El-Hout, Oued Messida

المخلص

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

في دراستنا اخترنا رصد النوعية البكتريولوجية لمياه واد الحوت وواد المسيدة اللذان يمثلان جزء من المستجمع المائي لبحيرة طونقة حيث الأول يمثل منبع التغذية الرئيسي لبحيرة طونقة والثاني مخرج نفس البحيرة. وقد دام هذا العمل مدة شهران (مارس و أبريل).

وتركز البحث على تقييم إجمالي للبكتريا، الكثف وتعداد البكتيريا التي تشير إلى تلوث برازي والبحث عن الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض.

وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن تلوثا بكتريولوجيا مهما متمثل في شدة التحويل ب ؛ CT,CF,SF ، مع وجود البكتريا المتسببة للأمراض .

المقارنة بين مياه الواديين أظهرت أن مياه واد المسيدة أكثر تلوثا بالنسبة لمياه واد الحوت.

كلمات المفتاح :

الجودة البكتريولوجية، تلوث برازي، البنك، واد الحوت، واد المسيدة.

Références bibliographiques

Produced with ScantOPDF

Références bibliographiques

1. Ait Hamlet, S. (1998). Contribution à l'étude de la qualité de huit oueds de la Wilaya d'El Taref; aspects microbiologique et écologique .Mémoire de Magister en microbiologie appliquée, université de Annaba. p 150.
2. Aouissi, A.(2010). Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie).Mémoire de Magister. Université 8 mai Guelma.
3. Aouissi A., Fouzari A. et Meziane N. (2007). Qualité bactériologique de l'eau de Oued Seybouse. Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. p 57.
4. Bazine N., Bourenane A. (2011). Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued Messida (Parc National d'El Kala, W. d'El Taref). Mémoire de Master. Université 8 mai 1945 Guelma. Pp 70, 71
5. Behailil Meriem., Hamlaoui Bochra. ; Laraiassa Hadjer (2011). Qualité bactériologique et physico-chimique des eaux de sources de la région de Guelma. Memoire de Master. Université 8 mai 1945 Guelma. Pp 36,38
6. Belahssini K ,Goumeidane A et Naili O.(2011).Étude de la qualité microbiologique et étude physico-chimique de l'eau de Hammam Essalihine (El Hamma, Wilaya de Khonchcla).
7. Berrbib N, Daif K (2011). Contribution à la caractérisation de l'avifaune aquatique nicheuse au niveau d'Oued Messida. Mémoire de Licence. Université El Taref. P 14
8. Bounab R., Chekakla M. et H (2011). Les infections nosocomiales chez les nouveaux nés. Mémoire de Master Université 8 mai 1945.Pp 49-50
9. Bourgeois C.M., et Leveau J.Y. (1980). Techniques d'Analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. APRIA. P 331.
10. Carbonelles D. & Kouyoumdjian S. (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Med. Mal. Infé. P 251.
11. Castany G., (1982). Hydrogéologie principes et méthodes, édition DUNOD.
12. Chaouch R. (2007), Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba, aspect physico-chimique et bactériologique des eaux. Memoire de magister, Université Badji-Mokhtar. Annaba. P 105

13. Degremont. (2005). Memento technique de l'eau. Dixième édition. Edition Tec et Doc. Pp: 144-173.
14. Delarras. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaëtan morin éditeur. Pp : 117-136
15. Jskson R.E., (1980). Pollution et protection des aquifères. Edition UNESCO.
16. Jean Rodier et coll. (2005). l'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8eme édition. Dunod. Pp : 749-847.
17. Jofin J J-N et Leyrol G. (2001). Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3 de magister. Univrsité des sciences et de la technologie Oran. p 71.
18. Journal officiel de la République Algérienne n 18 (2011).
19. Habila, (2008). Habila S., étude de l'impact du barrage Beni Haroun sur l'environnement : effets ecotoxocologique.
20. Guergueb El-Yamin. (2012). Diversité microbiologique et étude physico-chimique de l'eau de la zone humide Garaet Timerganine (Wilaya d'Oum El Bouaghi, Hauts plateaux du constantinois)
21. Guezlane-Tebibel N., kahlouche B., Athmani S. et Guemouri.(2010).Microbiologie travaux pratiques deuxième année TCB et LMD ; office des publications universitaires. P 133.
22. Labres E., Azizi D., et Boudjellab B. (2006). Cours d'Hygiène et de Microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons, Institut Pasteur d'Algérie.
23. Labres et Mouffok F. (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. P 53.
24. Larpent J.C., (1998). Microbiologie alimentaire. Edition TEC et DOC
25. Larpent JP. (1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire : Technique de labo. Edition Tec et Doc. pp : 294-718.
26. Marchal N., Bourdon J-I et Richard C. (1982) - Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .biologie appliquée. Editions Douin, Paris pp 50-364
27. M^{lle} Boussadia Meriem Imen. (2008). thèse. Les cyanobactéries peuplant les lacs Tonga et Oubeira « Parc National d'El kala » inventaire et distribution spatio-temporelle. P 70.
28. Metiche M., (2004). Environnement phénomène de pollution et technique de protection. Centre universitaire de Bachar.

29. Péchere J. (1982), Reconnaître traiter les infections. 4^{ème} édition. Edisem ST Hyacinthe. Québec. P 509.
30. Pilet C & Col. (1987), Bactériologie médicale et vétérinaire systématique bactérienne. Doin, p 371.
31. Raachi M, (2007). Étude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au Nord-Est Algérien. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en géographie. Université du Québec à Montréal. p 58.
32. Ramsar. (2011). The List of Wetlands of International Importance, Ramsar Convention Secrétariat, Gland, Switzerland, p 43.
33. Rejsek F. (2002), Analyse des eaux. Tec et Doc, P 358.
34. Rodier J. (1996). L'analyse d'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eau mer. 8ème édition. Dunod. P p: 749-847-1130.
35. Rodier. J., Llguebe. B., Merlet. N., et coll. (2009). L'Analyse de l'eau, 9ème Edition. Dunod. P 1525
36. Rouaiguia M. et Cheeriet M. (2010). Qualité microbiologique des eaux d'Oued Messida (wilaya d'El-Tarf). Mémoire de Master. Université 8 mai 1945. Guelma. P 74.
37. Tuffery C (2008) ., Indice écologique de pollution, Edition peson.
38. Zeraoula A (2012)., Microbiologie de l'eau d'une zone humide lotique exoreique cas d'ouedmessida(oum teboul - el-tarf-).Memoire de Magister. Université 8 mai 1945 Guelma
39. http://www.webreview.dz/l/pollution_organique_des_eaux_de_l_oued_seybose
40. <http://www.eau-rhin-meuse.fr/patrimoine/pollu/pol02.htm>
41. <http://www.memoireonline.com/Determination-des-volumes-nets-delivres-auxcultures>
42. <http://www.conservation-nature.fr/article2.php?id=132>
43. <http://membres.multimania.fr/powl/Pollution/pollution.htm>
44. <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/degradation/pollution.htm>
45. <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt>.
46. <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/degradation/pollution.htm>
47. <http://dveloppementdurable.blogspot.com/la-pollution-de-leau-et-les.html>
48. <http://expose-pollution-de-l-eau>.
49. <http://www.algerie-monde.com/tourisme-algerie/parcs-nationaux.html>
50. [http://www.fichier-.fr/timer.php? atlas de parcs nationaux alge](http://www.fichier-.fr/timer.php?atlas%20de%20parcs%20nationaux%20alge)
51. <http://www.google.com/url?sa=ouedn>
52. www.ornithomedia.com/pratique/voyages/voyage_art65_2.htm

53. http://www.ornithomedia.com/pratique/voyages/voyage_art65_2.htm
54. http://www.dictionnaire-environnement.com/pollution_de_eau
55. <http://btsesf-belorme.forumactif.com-expose-pollution-de-l-eau>
56. [http:// memoreonline.com/Contribution—letude-des-paramètres-physico-chimiques](http://memoreonline.com/Contribution—letude-des-paramètres-physico-chimiques).
57. <http://www.forumdz.com/showthread.php?5070-Parc-National-d-El-Kala>
58. http://www.citesciences.fr/francais/ala_cite/eau_pour_tous/maladies_hydriques.
59. <http://www.ars.alsace.sante.fr/Les-risques-sanitaires-lies-a.91203.0.html>.
60. http://qsr2010.ospar.org/fr/ch09_10.html
61. <http://www.arnobio2.com/techniques/20-e>
62. http://www.eau-seine-normandie.fr/index.php?id=3283_micro

Produced with ScanTopdf

Annexes

Produced by ScantOPDF

Annexes

Annexe I : Milieux de culture et Réactifs:• **Eau péptonée exempte d'indole :**

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

• **B.C.P (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) :**➤ **Simple concentration :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Lactose.....	5 g/l
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l
Eau distillée.....	1000 ml
PH final=6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

• **Milieu Chapman :**

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

• **Milieu de Mac Conkey:**

Peptone bactériologique.....	20 g/l
Sels biliaires.....	1.5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Lactose.....	10 g/l

Rouge neutre.....	0.03 g/l
Cristal violet.....	0.001 g/l
Agar.....	15 g/l
PH=7.1 (environ)	

- **Milieu de Hektoen:**

Protease peptone.....	12 g/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
Fushine acide.....	0.04 g/l

- **Viande foie (VF):**

- **Milieu de base:**

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

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

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

- **Gélose nutritive :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	1 g/l
Extrait de levure.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Agar.....	15 g
PH=7.4 (environ)	

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

- **Simple concentration :**

Tryptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g

Phosphate bi potassique.....	2,7 g
Acide de sodium.....	0.2 g
Eau distillée.....	1000 ml

PH=6.8, autoclavage 15 minutes à 121°C

- **Eva-Litsky :**

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

PH=7

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

Tryptone.....	5 g
Glucose.....	1 g
Extrait de levure.....	2.5 g
Gélose.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

PH=7

- **B.C.P.L (bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre) :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Lactose.....	5 g/l
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l

PH final=6.9

- **Milieu Clarck et Lubs :**

Peptonethropsine de caséine.....	5 g
Glucose.....	5 g
Phosphate bipotassique.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Eau physiologique :**

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

- **Bouillon nitrate réductase :**

Infusion cœur-cerveille.....	25.0 g
Nitrate se sodium.....	10.0 g
Eau distillée.....	1L

- **Salmonella-Shegilla (SS) :**

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

- **Milieu TSI :**

Agar.....	12 g
-----------	------

Extrait de bœuf.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Peptone.....	20 g
Lactose.....	10 g
Saccharose.....	10 g
NaCL.....	5 g
Glucose.....	1 g
Citrate ferrique.....	3 g
Thiosulfate de sodium.....	3 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Eau distillée.....	1000 ml

• **Citrate de simmons :**

Chlorure de sodium.....	5 g
Sulfate de magnésium 7420.....	0.2 g
Phosphate d'ammo.....	1 g
Phosphite dipotassique PO_4HK_2	2 g
Citrate trisodique.....	2 tg
Solution de bleub bromothymol.....	8 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

• **Milieu Mannitol-mobilité :**

Peptone pancréatique de viande.....	20 g
Agar-Agar.....	4 g
Mannitol.....	2 g
Nitrate de potassium.....	1 g
Rouge de phénol en solution à 1%.....	4 ml
Eau distillée.....	1000 ml

B/les Réactifs :

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

Paradiméthylamino-benzaldéhyde.....	5 g
Alcool amylique.....	75 ml
HCl pur	25 ml

- **Réactif TDA** : pour la recherche du tryptophane désaminase :

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

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

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

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

- **VP 1** :

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

- **VP 2** :

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

- **Rouge de Methyl** :

Rouge de Methyl.....	0.1 g
Alcool éthylique à 95%.....	300 ml
Eau distillée.....	500 ml

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

- **NIT 1** :

Acide sulfanilique.....	0.8 g
Acide acétique 5 N.....	100 ml

- **NIT 2** :

N-N-diméthyl- 1-naphtylamine.....	0.6 g
-----------------------------------	-------

Acide acétique 5 N..... 100 ml

• **Colorant :**

➤ **Violet de gentiane :**

Violet de gentiane..... 1 g
Éthanol à 90%..... 10 ml
Phénol..... 2 g
Eau distillée..... 100 ml

➤ **Lugol :**

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

➤ **Fushine :**

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

Produced with ScantOPDF

Annexe II :

- **Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E [61].**

Tests	Substrat	Caractère recherché	résultat	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiat	
IND	Tryptophane	Production d'indole	jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	O ₂ / 5 10 mn	
			incolore	Anneau violet
NO₃-NO₂	Tube GLU	Production de NO ₂ Réduction au stade N ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Milieu de Mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
OF	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'aire	Vert Vert	Jaune Jaune
CAT		Possession d'une catalase	H ₂ O ₂ / 1-2 mn	
			Pas de bulles	Bulles

- Tables de Mac Grady [16].

Nombre des tubes donnant une réaction positive			Indice de NPP
3 tubes de 10 ml	3 tubes de 1 ml	3 tubes de 0.1 ml	
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	2
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	29
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	1400

Annexe III :

Tableau : Normes algériennes de la qualité bactériologique des eaux destinées à la consommation humaine [18].

Paramètres	Nombre
Coliformes totaux	10 CT/100ml
Coliformes fécaux	0 CF/100ml
ASR	0 germes/ 100 ml
Entérocoques	0 germes/ 100 ml

Tableau : Normes internationales de la qualité bactériologique des eaux destinées à l'irrigation [62].

Paramètres	Nombres
Coliformes totaux	1000 CF/100ml
Coliformes fécaux	100 SF/100ml
Streptocoques fécaux	1000 SF/100ml
Vibrions	Absence dans 450 ml