

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث 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



273

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement/Microbiologie de l'environnement

Thème : Evaluation de la Qualité Physico - Chimique et Bactériologique de l'eau du  
Lac Oubeira.

Présenté par :

ADAMOU O. Aboubacar

AG EHIYA Attaher

BOURSACE Sara



Devant le jury composé de :

Président : Pr. HOUHAMDI Moussa

Professeur

Université de Guelma

Examineur : Mr. ATOUSSI Sadek

M. A. A

Université de Guelma

Examinatrice: Mme. ZIDI Sarourir

M. A. B

Université de Guelma

Encadreur : Mme. BIDIOUI Soraya

M. A. A

Université de Guelma

Juin 2012

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE 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'ÉCOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement/Microbiologie de l'environnement

Thème : Évaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologique de l'eau du  
Lac Oubeira.

Présenté par :

ADAMOU O. Aboubacar

AG EHIYA Attaher

BOURSACE Sara

Devant le jury composé de :

Président	: Pr. HOUHAMDI Moussa	Professeur	Université de Guelma
Examineur	: Mr. ATOUSSI Sadek	M. A. A	Université de Guelma
Examinatrice	: Mme. ZIDI Sarourir	M. A. B	Université de Guelma
Encadreur	: Mme. BEDIQUI Soraya	M. A. A	Université de Guelma

Juin 2012

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

# Dédicace

*En premier lieu et avant tout, Louange à Dieu le Miséricordieux qui m'a éclairé la voie de la science et de la connaissance.*

*Je dédie cette thèse, fruit de recherche et d'étude:*

*A mon respect et mon exemple dans ma vie, mon très chère père « OUMAROU Adamou », qui m'a très bien élevé et ma pousser à devenir ce qui je suis. Vous avez fait d'énormes sacrifices pour vos enfants et vous n'avez jamais cessé de nous prodiguer des conseils pour le droit chemin. Que votre simplicité, votre disponibilité, et votre respect pour les autres me servent d'exemples, que Dieu vous garde pour nous.*

*A la femme que son amour est creusé dans mes fonds les plus profond depuis ma naissance, à ma mère « MOUSSA Fati ». Les mots me manquent pour vous qualifier, tout ce que j'aurais à dire ne saurait exprimer à fond tout le sacrifice et l'endurance que vous avez du subir pour nous élever. Je vous demande pardon et vos bénédictions nuits et jours. Je ne saurais jamais vous remercier assez. Seul Dieu peut vous gratifier de tout ce que vous avez fait pour nous. Que Dieu le tout puissant vous garde pour nous.*

*A ma très chère Tante « Aminā », Que Dieu le tout puissant vous garde pour nous.  
A mes chers frères et sœurs, « Issoufou, A.Kader, A.Aziz, Mahamadou et Balkissa » qui ont été toujours là pour me soutenir et m'aider dans les moments difficiles.*

*A mes oncles et mes tantes et leurs enfants chacun de son nom, pour leurs soutiens, surtout mes très chère oncle « Mahamadou et Abdoua » qui m'ont soutenus durant toute ma vie. Que Dieu les assure le paradis.*

*A toi ma cousine préférée « Aichatou »,*

*A ma chère et tendre « Dayaba », je ne t'oublierai jamais.*

*A mes chers amis « Attaher », « Sarah », « Magawata, Zakari, Jaé, Al-Moustapha, Mahamadou et tous les nigériens... ».*

*A toute la communauté étrangère en Algérie en particulier nigérienne.*

*A tous mes collègues de promotion avec qui j'ai passé des moments inoubliables, merci pour tous les souvenirs que je garderai à jamais.*

*A tous mes amies qui m'aiment et que j'aime.*

*A tous ceux qui m'ont enseigné un jour.*

ABOUBACAR

# Dédicace

*La foi précède et l'intelligence suit ; c'est grâce a Allah, que nous discernons ce la, c'est grâce a lui que nous sommes la, donc je ne peux le remercié assez de m'avoir donné la force et le courage d'accomplir ce travail.*

*Je dédie le fruit de mes études :*

*A mes très chers parents, qui m'ont tout donné leurs amours et leurs affections, ma chère mère Hada Walet Ahmed, et mon père Thiya Ag Bada.*

*A mes frères Mahamed et Mohamed, et a ma grande sœur préféré Founou qui est aussi ma meilleur amie qui m'ont toujours encouragés et soutenus pour continuer mes études.*

*A mes autres sœurs : Lalaicha et son mari, Chana et son mari ainsi que tous leurs enfants.*

*A tous mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines et toute ma grande famille.*

*A mes amis les plus chers: Madogaz, Rhissa, Seidina, Bintou, Ibrahim Ag.*

*A mes amis les plus proches: Adamou, Sahra, S.meryam,*

*A tous mes professeurs de tous les cycles de ma scolarité.*

*A tous les enseignants et les étudiants de l'université de Guelma.*

*-ATTACHER-*



### Dédicaces

*Je dédie ce mémoire de fin d'études*

*A*

*-Mon très cher père et ma très chère mère*

*En témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour mon éducation.*

*A*

*-Mes chères sœurs Ilhem, Djehane, Belkis,*

*Pour leur affection, compréhension et patience.*

*A*

*-Mon mari. Bilel*

*Pour son soutien moral et ses sacrifices le long de ma formation.*

*A*

*-Mes collègues de travail. Adamou O. Aboubacar et Attaher Ag Ehiya*

*Qui ont partagé avec moi les moments difficiles de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.*

*A*

*-Tous mes amis.*

*-Mes enseignants de l'école primaire jusqu'à l'université dont les conseils précieux m'ont guidé.*

*-Tous ceux qui ont une relation de proche ou de loin avec la réalisation de ce modeste travail.*

*-SARA-*

## A-merciements

*Louange à Dieu le Miséricordieux qui nous a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce on a réussi à achever ce modeste travail.*

*Nos reconnaissances, nos vives gratitude et nos sincères remerciements vont à Madame **RETEM Chahira**, enseignante au département de Biologie, d'avoir bien accepté de présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier Madame **SANDRA Amri**, enseignante au Département de biologie à l'Université de Guelma pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Madame **BIDIOUI Soraya**, enseignante au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui nous a fait l'honneur de nous dirigé et nous guider avec patience et gentillesse tout au long de la réalisation de ce travail. Ses encouragements, sa disponibilité constante et surtout ses conseils nous ont été d'une précieuse aide.*

*On remercie également tous les personnels de l'ADE, surtout les responsables de laboratoire de bactériologie et chimie pour l'aide qu'ils nous ont apporté dans la réalisation du stage pratique, en suivant de près les diverses étapes du développement de ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont à tous les enseignants du Département d'Ecologie et génie de l'environnement de l'Université de Guelma, et les responsables de laboratoire du Département surtout Melle. **Houria**.*

*Nous remercions aussi profondément tout ceux de près ou de loin qui ont participé à l'élaboration directe et /ou indirecte de ce modeste travail.*

*Enfin, nous exprimons tous le bonheur du monde à nos collègues de la promotion sortante 2012 du Master Eau, Santé et Environnement.*

## Liste des figures

N° de tableau	Titre de la figure	N° de page
1	Le complexe de zones humides de la Numidie orientale.	1
2	Localisation du Lac Noir sur carte topographique.	2
3	Photos de la tourbière du Lac Noir prises en mois d'avril 2012.	2
4	Localisation générale du la oubeira	4
5	Photos représentant la flore remarquable.	6
6	Photos de la tourbière du Lac Noir indiquent l'exploitation en irrigation et l'agriculture.	8
7	Localisation des points de prélèvement.	20
8	Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 et à 37°C dans les eaux.	30
9	Recherche et dénombrement des clostridium sulfato-réducteur.	33
10	Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants.	35
11	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.	37
12	Recherche des bactéries dans l'eau.	39
13	Galerie APi20E.	44
14	Lecture de la catalase.	45
15	Test oxydase	46
16	Variation du pH pendant le mois de mars et d'avril.	45
17	Variation de la température pendant le mois de mars et d'avril.	46
18	Variation de la conductivité dans l'eau du Lac oubeira.	47
19	Variation spatio-temporelles du taux des sels dissous (TDS) dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	48
20	Variations de la turbidité de l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et avril).	49
21	Variations des teneurs en Calcium dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	50
22	Variation de la dureté totale de l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	51
23	Variations des teneurs en Calcium dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	52
24	Variation des chlorures dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	53

25	Variations des matières en suspension (MES) en mg/l dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	54
26	Variations des teneurs en résidu sec (RS) en mg/l dans l'eau du Lac Oubeira en du mois de (mars et avril).	55
27	Variations des teneurs des nitrates dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	56
28	Variations des teneurs des nitrites dans l'eau du Lac Oubiera en fonction du mois de (mars et d'avril).	57
29	Variations des teneurs de l'ammonium dans l'eau Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	58
30	Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	59
31	Evaluation du nombre des coliformes totaux dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).	60
32	Evaluation du nombre des coliformes fécaux dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et avril).	61
33	Evaluation du nombre des streptocoques fécaux dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et avril).	62
34	Résultats de la galerie classique pour <i>E.coli</i> .	63
35	Profil biochimique de <i>Serrasia liquefaciens</i> par la galerie API20E.	66
36	Profil biochimique d' <i>E.coli</i> par la galerie API20E.	67
37	Schéma de mannitol positif(+).	68
38	Schéma de mannitol négatif (-).	68

Produced with

## Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du tableau	N° de page
1	différent catégories de pollution d'origine naturelle	14
2	différent catégories de pollution d'origine humaine	14
3	les différents types de pollution	15
4	Caractéristique des points de prélèvement	22
5	Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	63
6	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau du Lac Oubeira	65
7	Résultats de la galerie biochimique classique	66
8	Résultats d'identification des germes par API20E	66
9	Identification de <i>Staphylococcus aureus</i> par la staphylocoagulase	67
10	Tableau de lecture de l'API20E.	Annexe
11	Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.	Annexe
12	Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.	Annexe
13	Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit).	Annexe
14	Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium.	Annexe
15	Grille de qualité des eaux en nitrates.	Annexe
16	Grille de la qualité des eaux en nitrite.	Annexe

## Sigles/Abréviations

- : Caractère négatif
- % : Pour cent
- + : Caractère positif
- ± : Plus ou moins
- ° : Degré
- ADE** : Algérienne des eaux
- Afnor** : Norme française
- ASR** : Anaérobies sulfitoréducteurs
- BEA** : Bile Agar Esculine
- 
- °C : Degré Celsius
- Ca<sup>+</sup> : Calcium
- CF : Coliforme fécaux
- Cl : Chlorure
- cm : Centimètre
- CSR : Clostridium sulfato-réducteur
- CT : Coliforme totaux
- d : Variable
- D /C : Double concentration
- E : Est
- E.coli** : *Escherichia coli*
- °F : Degré français
- Fig : Figure.
- g /l : Gramme par litre
- GT : Germes totaux
- h : Heure

**H<sub>2</sub>O** : Eau  
**H<sub>2</sub>S** : Hydrogène sulfuré  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Eau oxygéné  
**ha** : Hectare  
**ISO** : Organisation internationale de standardisation  
**Km** : Kilomètre  
**m** : Mètre  
**Mg<sup>+</sup>** : Magnésium  
**mm** : Millimètre  
**mn** : Minute  
**m/s** : Mètre par seconde  
**µm** : Micromètre  
**µs** : Micro-Siemens  
**mg/l** : Milligramme par litre  
**MES** : Matière en suspension  
**N** : Nord  
**Na cl** : Chlore de sodium  
**nm** : Nanomètre  
**NH<sub>3</sub>** : Ammoniac  
**NH<sub>4</sub>** : Ammonium  
**NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote  
**NTU** : Nephelometric turbidity unit  
**O<sub>2</sub>** : Oxygène  
**OMS** : Organisation mondiale de santé  
**ONPG** : Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase  
**pH** : Potentielle Hydrogène  
**RM** : Rouge de méthyle

**RN** : Route Nationale

**Roth** : Bouillon à l'azide de sodium

**S** : Station

**SF** : Streptocoque Fécaux

**Sp** : Espèce

**T** : Température

**Tab** : Tableau

**TDA** : Tryptophane décarboxylase

**TDS** : Taux des sels dissous

**TH** : Dureté totale

**TGEA** : Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar

**TSI** : Triple Sagar Iron

**UFC** : Unité formant colonie

**VF** : Viande foie

**VP** : Voges Proskawer

# SOMMAIRE

<b>DEDICACES</b>	i
<b>REMERCIEMENTS</b>	iv
<b>LISTE DES FIGURES</b>	v
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	vi
<b>SIGLES/ABREVIATION</b>	vii
<b>SOMMAIRE</b>	ix
<b>INTRODUCTION</b>	
<b>Chapitre I : Description du site</b>	
1. Les principaux sites de la Numidie oriental	1
3.31 Le Lac des oiseaux (site Ramsar)	1
3.32 Le lac noir (site Ramsar)	2
3.33 Le Lac Tonga (site Ramsar)	3
3.34 Le Lac Mellah	3
3.35 Le Lac Bleu	3
2. Présentation du site d'étude (le lac Oubeira)	3
3.31 Coordination géographique	3
3.32 Localisation générale	3
3.33 Justification des Critères Ramsar	4
3.34 Géologie, géomorphologie	5
3.35 Hydrologie	5
3.36 Etude climatique	5
3.37 Caractéristiques écologiques	6
3.38 Cadre biotique	6
2.8.1. Flore remarquable	6
2.8.2. Faune remarquable	7
3. Valeurs sociales et culturelles	7
4. Exploitation de site	7
5. Facteurs défavorables	8
6. Mesures de Conservation en Vigueurs	9



## Chapitre II : La pollution de l'eau

1. Définition de la pollution	12
2. Les effets de la pollution sur les eaux de surface	12
2.1 Une diminution de la teneur en oxygène dissous	12
2.2 La présence de produits toxiques	12
2.3 Une prolifération d'algues	13
2.4 Une modification physique du milieu récepteur	13
2.5 La présence de bactéries ou virus pathogènes	13
3. Les grands types de pollution	13
3.1. Quelques types de pollution de l'eau	15
4. Les sources de pollution anthropiques	15
4.1. L'usage du sol	15
4.2. Usages domestiques	15
4.3. Pollution industrielle	15
4.4. La pollution agricole	15
4.5. Pollution due aux activités minières	16
4.6. Pollution due aux activités liées aux hydrocarbures	16
5. Lutte contre la pollution	16

## Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Echantillonnage	20
1.1. Matériel d'échantillonnage	21
1.2. Mode de prélèvement	21
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons	21
1.4. Transport et conservation de l'échantillon avant l'analyse	21
1.5. Caractéristique des points de prélèvement	21
2. Les analyses physico-chimiques	22
1.1. Mesure in situ	22
2.1.1. Le Ph	23
2.1.2. La température	23
2.1.3. La conductivité	23



2.1.4.	Le taux des sels dissous(TDS)	24
1.2.	Les mesures au laboratoire	24
2.2.1.	La turbidité	24
2.2.2.	Le dosage du calcium	24
2.2.3.	La dureté totale TH	24
2.2.4.	Le Chlorure $CL^{-2}$	25
2.2.5.	La matière en suspension(MES)	25
2.2.6.	Le résidu sec	25
2.2.7.	Le nitrate	25
2.2.8.	Le nitrite	26
2.2.9.	L'ammonium	26
3.	Les analyses bactériologiques	27
3.1.	La filtration sur membrane	27
a.	Principe de la filtration sur membrane	27
b.	Volumes d'eau à filtrer	27
c.	Matériel de filtration	28
d.	Mode opératoire	28
3.2.	Détermination des germes totaux (GT)	29
3.3.	Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs et des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR)	31
3.3.	Dénombrement des coliformes fécaux	34
3.4.	Dénombrement des streptocoques fécaux	35
3.5.	Recherche des germes pathogènes	38
3.5.1.	Recherche des staphylocoques	40
3.5.2.	Coloration de Gram	40
3.5.3.	Identifications biochimiques	40
A.	Galerie biochimique classique	41
B.	La Galerie Api20E	44



**Chapitre IV : Résultats et discussion**

1. Les analyses physicochimiques	45
1.1. Le pH	45
1.2. La température	45
1.3. La conductivité	46
1.4. Le taux des sels dissous(TDS)	47
1.5. La turbidité	48
1.6. Le calcium	49
1.7. La dureté totale TH	50
1.8. Le magnésium	51
1.9. Le chlorure	52
1.10. Les matières en suspension (MES)	53
1.11. Le résidu sec à 105°C.	54
1.12. Les nitrates	55
1.13. Les nitrites	56
1.14. L'ammonium	57
2. Qualité bactériologique de l'eau de la tourbière du Lac noir	59
2.1. Germes totaux	59
2.2. Coliformes totaux	60
2.3. Coliformes fécaux	61
2.4. Streptocoques fécaux	61
2.5. Les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR)	62
2.6. Recherche des germes pathogènes	63
2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	63
2.6.2. Identification biochimique	65
A. Galerie classique	65
B. Galerie Api 20E	65
2.6.3. Tests complémentaires	66

**Conclusion**

**Résumé**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

Produced with ScanTOPDF



### Introduction :

L'eau est très irrégulièrement répartie à la surface de la planète : 97 % du volume total s'accumule dans les océans, 2 % sur les continents, 0,6 % en phase solide dans les inlandsis polaires et les glaciers, enfin une part très modeste en phase gazeuse dans l'atmosphère. (Dercourt, 2006)

Elle est utilisée par l'homme depuis le début de leur existence pour différents usages et en ont ainsi modifié la qualité. Aujourd'hui la nature n'est plus en mesure de dépolluer les milieux naturels, les habitudes que nous avons prises de considérer les cours d'eau, les lacs, les rivières, les fleuves comme des décharges susceptibles d'accueillir l'ensemble de nos déchets ont engendré des pollutions irrémédiables. Les déchets créés par l'homme sont trop nombreux et plus polluants qu'autrefois, particulièrement à cause de l'urbanisation et aux pratiques agricoles. C'est pourquoi maintenir les eaux douces en bon état représente un enjeu important. (1)

Cependant l'eau peut être contaminée et peut véhiculer de nombreux microorganismes qui des fois sont considérés comme une source de nuisance intense pour l'homme en causant d'innombrables maladies épidémiques. Le contrôle biologique de ces eaux est cependant devenu impératif car il peut dans certains cas éviter de grandes catastrophes. Ce contrôle est basé principalement sur des dénombrements microbiens des différents écosystèmes aquatiques avec la recherche des bactéries pathogènes et des indicateurs de pollution fécale. (saliha, 2011).

Ces dernière années, Le Lac Oubeira a subit une exploitation intensif par l'homme, qui tend a déformé son équilibre écologique.

Notre objectif est de mesurer l'impacte de ce changement sur la qualité biologique du site via une analyse physicochimique et bactériologique de cette eau.

Nous avons structuré ce travail en quatre chapitres:

Le premier est réservé à la description de la Numidie orientale et particulièrement celle du Lac Oubeira avec une présentation géologique, hydrologique, climatique, caractère écologique et du cadre biotique.

Le second décrit la pollution de l'eau d'une façon générale tout en incluant les effets, différents types et sources de cette pollution ainsi que la lutte contre cette dernière.

Le troisième présente les matériels et les méthodes utilisées pour la réalisation de cette étude (Méthodes d'analyse physicochimique et bactériologique).

Enfin, un dernier chapitre illustre les résultats obtenus des ces analyses avec leur interprétations.

Produced with ScanTOPDF

### Introduction :

La Numidie orientale (Fig. 1) délimitée dans sa partie occidentale par l'Oued Seybouse, a pour limite septentrionale la Méditerranée et pour limite méridionale les collines de l'Atlas tellien, tandis que les frontières Algéro-tunisiennes, la délimitent à l'Est. Cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels possédant une grande diversité des écosystèmes marins, lacustres et forestiers qui renferment une richesse animale et végétale élevée. Ces zones humides s'étendent sur une superficie de 156 000 ha. (Merzoug, 2008).

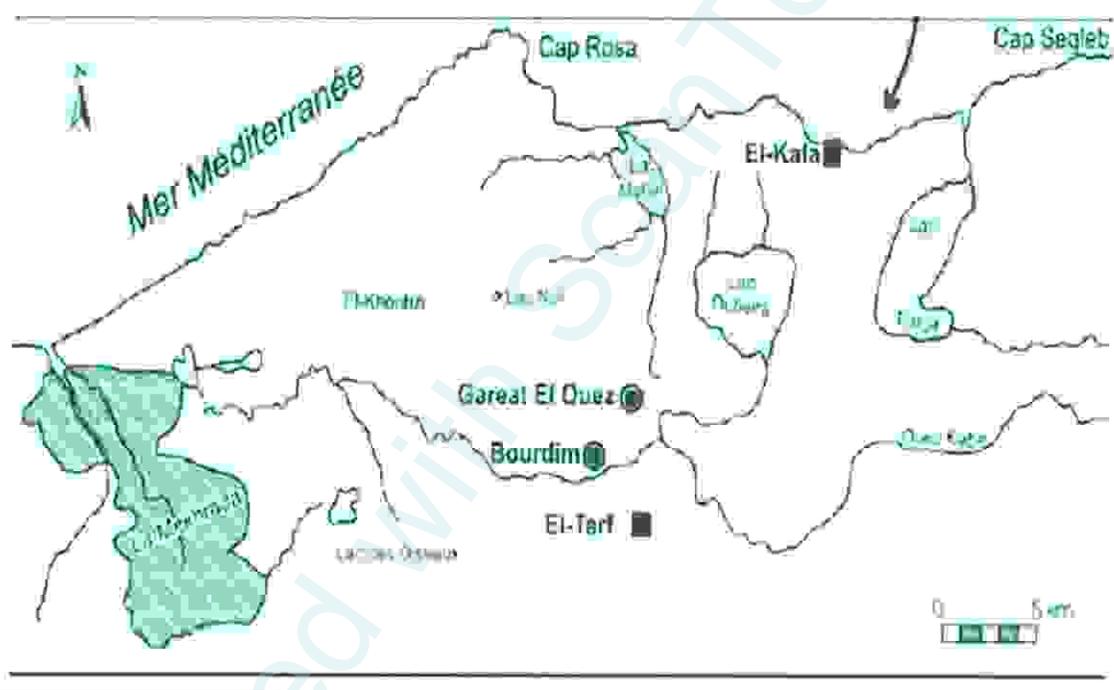


Fig. 1. Le complexe de zones humides de la Numidie orientale (Benslama et al, 2010).

## 1. Les principaux sites de la Numidie orientale :

### 1.1. Le Lac des oiseaux (site Ramsar) :

Le Lac des Oiseaux ou Garaat Ettouyou (36°47'N ,08°7' E) (fig.1) se trouve dans la commune (Lac des Oiseaux) qui est rattachée administrativement à la Wilaya d'El Taraf, c'est un lac d'eau douce qui doit son nom a sa richesse ornithologique, il est classé site Ramsar depuis le 02 février 1999.



D'après Joleaud (1936) , le lac s'étendait sur 150 ha avec une profondeur de 2.5m au maximum et un dépôt de matières organiques allant de 1 a 3cm.(Samraoui et al, 1998) ont précisé que diverses pressions s'exercent sur le lac menaçant son intégrité écologique et que se dernier occupe uniquement 70ha en période de pluie et 40ha en période sèche, avec un dépôt de matière organique de 20 cm.

**1.2. Le Lac Noir (site Ramsar) :**

Le Lac Noir (fig.1) est situé dans le complexe des zones humides d'El-Kala, c'est un lac asséché accidentellement par l'ouverture d'un forage important à proximité du site. Depuis, seule resté la tourbière sous-jacente, présentant une superficie de 5 hectares, formés de deux bassins. (Amri, 2008):

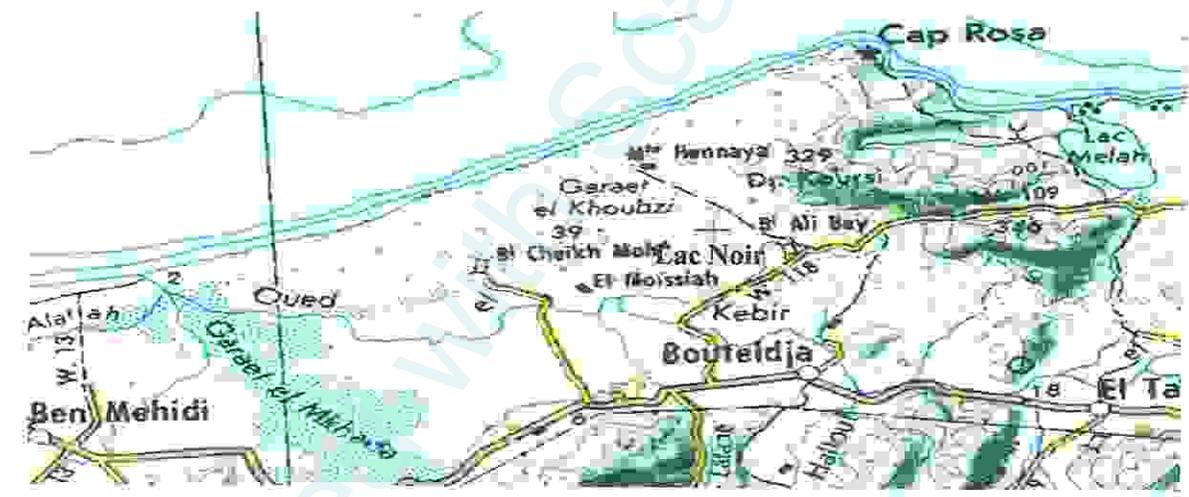


Fig. 2. Localisation du lac noir sur carte topographique 1/500000 (2).



Fig.3 : Photos de la tourbière du lac noir prises en mois d'avril (Bounar et Hambli, 2011).



### 1.3. Le Lac Tonga (site Ramsar) :

Le Lac ( $36^{\circ} 53' N$ ,  $08^{\circ} 31' E$ ) (Fig. 1) s'étale sur une superficie de 2 400 ha. La côte du lac est située à 2,20m au dessus de la mer et sa profondeur a voisine 2,80m ce qui permet d'avoir un écoulement lent et pourrait expliquer l'échec des travaux d'assèchement entrepris par le gouvernement français au début des années 1920. (Merzoug, 2008).

### 1.4 Le Lac Mellah :

Le Lac ( $36^{\circ} 53' N$ ,  $80^{\circ} 20' E$ ) (Fig. 1) est en réalité une lagune de 873 ha du fait de son contact direct avec la mer grâce à un chenal qui lui confère une salinité voisine de 8,5 g/l. Les deux principaux affluents qui l'alimentent sont Oued Bouaroug et Oued Mellah. (Merzoug, 2008)

### 1.5 Le Lac Bleu :

C'est un petit lac d'eau douce, d'une superficie de 1.5 à 3 ha. Sa profondeur ne dépasse pas 2m. Il localisé dans une formation dunaire au Nord-Est du Lac Mellah. Il est délimité au Nord par Koudiat El Rhar, au Sud-Ouest par Koudiat Ain Er Roumi, à l'Ouest par Koudiat Terch et à l'Est par Koudait El Achêch. (Merzoug, 2008).

## 2 .Présentation du site d'étude (le lac Oubeira) :

### 2.1 Coordonation géographique :

Le Lac Oubeira est situé au Nord- Est Algérien, à une latitude  $36^{\circ} 50'$  Nord et une longitude de  $08^{\circ}23'$  Est, et une altitude de 25 mètres. (Boumezbeur, 2003).

### 2.2 Localisation générale :

Le Lac Oubeira est situé à 4 Km à l'Ouest de la ville d'El-Kala, dans la Wilaya d'El-Tarf à l'extrême Nord-Est de l'Algérie.



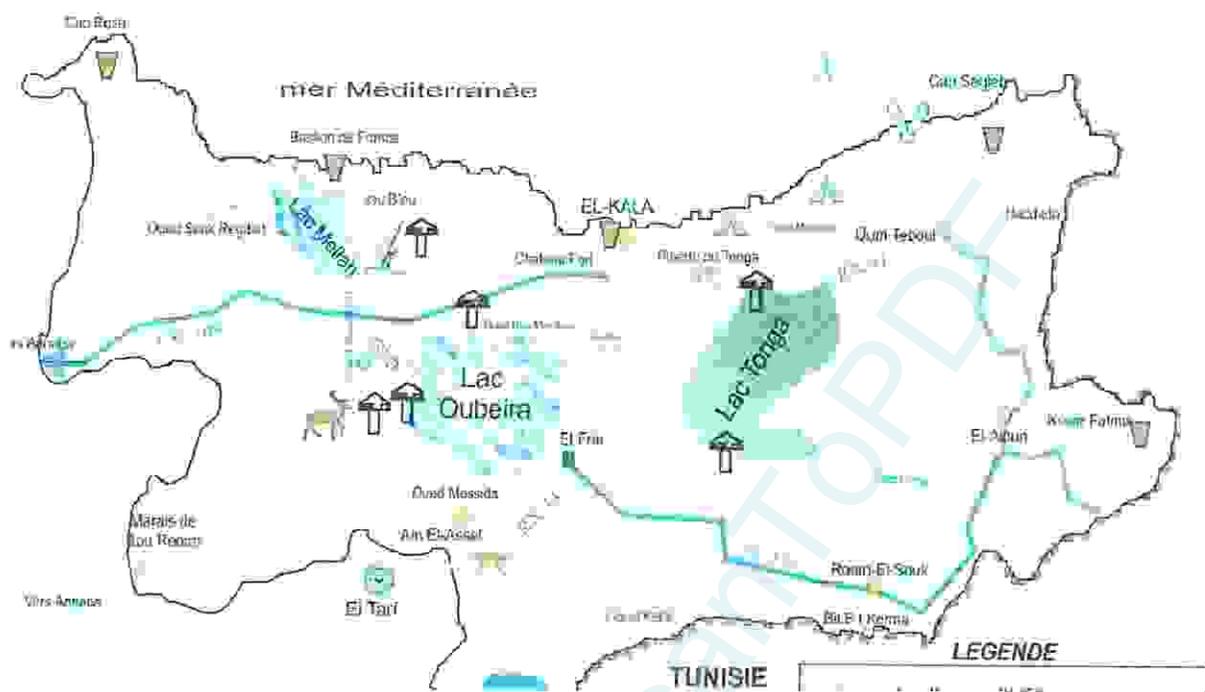


Fig.4. : localisation du Lac Oubeira (saliha,2010)

### 2.3 Justification des Critères Ramsar

Le lac Oubeira abrite des populations d'espèces animales et végétales parmi lesquelles plusieurs sont rares. Une ceinture d'Hélophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau. Parmi les espèces rares et très rares, nous citons: la châtaigne d'eau *Trapa natans* (unique station en Algérie), le Nénuphar blanc *Nymphaea alba*, le Nénuphar jaune *Nuphar luteum*, dont le site est désormais la seule station nord-africaine pour cette espèce qui auparavant existait aussi au niveau du Lac Noir, situé au nord-ouest de l'Oubeira, aujourd'hui sec. Le Polygonome *Polygonum senegalense*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus*, et l'Utriculaire *Utricularia exoleta*. [5]

Le lac Oubeira est le seul site algérien abritant la châtaigne d'eau *Trapa natans* et le nénuphar jaune *Nuphar luteum*. On note également le nénuphar blanc *Nymphaea alba*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus*, le *Sparganium erectum* et le Rubanier rameux *Zanichelia palustris*. [3]

### 2.4 Géologie et géomorphologie :

L'Oubeïra est un lac endoréique, d'eau douce, permanent. Il est en forme de cuvette à fond plus ou moins plat légèrement incliné vers le Nord, d'origine naturelle ayant une profondeur maximale de 4m, la profondeur moyenne étant de 1,24 m. Cette première profondeur constitue le toit d'une couche de vase dont la profondeur moyenne est de 1,30m et une valeur maximale de 2,50 m. Le fond de cette dernière constitue le substratum réel du lac avec une forme concave inclinée vers le Sud- Ouest. Le lac contient un volume de vase de 30.207.685,30 m<sup>3</sup>, par contre son volume d'eau varie selon les saisons. En période estivale, il est de 22.031.078,80 m<sup>3</sup> avec une profondeur moyenne de 0,96 m et en période hivernale un volume d'eau de 32.535.096,80 m<sup>3</sup> avec une profondeur moyenne de 1,24 m. Le substrat est entièrement composé d'argile de Numidie datant du Tertiaire, avec la présence tout autour du Lac de dépôts récents du Quaternaire. Les alluvions limoneuses du fond de vallée, datant du Quaternaire, sont localisées au Sud-Est du lac. Le bassin versant occupe une superficie de 9919,35 ha. ( Saliha, 2011).

### 2.5. Hydrologie :

Le réseau hydrologique de la région se limite à quelques châabets (ruisseaux et ruisselets) à écoulement temporaire, l'alimentation en eau de l'ancien lac se faisait par un écoulement en nappe en raison de la nature sablonneuse des sols. Actuellement, le lac est complètement sec car la nappe est exploitée par un double forage alimentant en eau douce la région d'El Kala. La sortie du peu d'eau qui s'accumule se fait par évaporation ce qui confirme le bilan hydrique négatif de l'ancien Lac Noir. (Boumezbeur, 2003).

### 2.6. Etude climatique :

Le lac Oubeïra, avec la région d'El Kala, se place dans l'étage sub-humide à hiver chaud, avec des vents permanents à dominance Nord-Ouest. La pluviométrie annuelle moyenne est située entre 800 et 1000 mm et s'étale essentiellement du début du mois de d'octobre jusqu'à la fin mars. La région est caractérisée par deux saisons, l'une sèche de mai jusqu'à septembre et l'autre humide de septembre à avril. La température de l'eau varie de 8,8à 15,2° au mois de janvier. La température moyenne de l'air, calculée sur une période de 28 ans allant de 68/69 à 95/96 est de 17,50° avec 11,65° pour janvier le mois le plus froid et avec une moyenne de 25° en août qui est le mois le plus chaud. L'évaporation moyenne est de



74,15 mm, avec un maximum de 152,08 mm et un minimum de 22,47 mm. Les eaux du lac sont très turbides surtout en hiver (10 à 15 m au disque de Secchi en 1976) avec un pH variant entre 8 et 10,65. (Saliha, 2011).

## 2.7. Caractéristiques écologiques

Le seul grand site du complexe humide de la région qui présente une organisation spatiale typique en ceintures de végétation (Helophytes) avec une importante superficie colonisée par des herbiers flottants d'Hydrophytes. En été, les ceintures de végétation sont bien visibles et pratiquement ininterrompues tout autour du Lac et ont une largeur et une densité différentes selon les rives; les ceintures les plus larges (environ 400 m) sont formées essentiellement d'Hélophytes, *Phragmites australis*, *Thypha* *Typha angustifolia* et le Scirpe *Scirpus sp.*). Les herbiers flottants sont constitués par les Hydrophytes, Châtaigne d'eau *Trapa natans*, Myriophylle *Myriophyllum sp.*, Potamots *Potamogeton sp.* etc. Ces formations occupent la grande surface d'eau libre. [4]

## 2.8. Cadre biotique :

### 2.8.1. Flore remarquable :

Une ceinture d'Hélophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau. Parmi les espèces rares et très rares, nous citons, la châtaigne d'eau *Trapa natans* et le Nénuphar jaune *Nuphar luteum* (seule station en Algérie), le Nénuphar blanc *Nymphaea alba*, le Polygonum *Polygonum senegalense*, le Scirpe incliné *Scirpus inclinatus* et l'Utriculaire *Utricularia exoleta*. (Saliha, 2011).



Fig. 5. Photo représentant la flore remarquable.



### 2.4.1 Faune remarquable :

#### Oiseaux d'eau:

##### ➤ Les sédentaires :

Le Blongios nain, la Talève sultane, la Rousserolle turdoïde, le Butor étoilé, le Busard des roseaux et le balbuzard pêcheur.

##### ➤ Les hivernants :

L'Erismature à tête blanche, la Grande aigrette, la Spatule blanche, l'Oie cendrée, le Grand cormoran, la Grue cendrée et plusieurs espèces de limicoles, telles que l'Avocette, les chevaliers, les bécasseaux, la bécassine des marais etc.

Ainsi, les oiseaux d'eau observés tout au long de l'année mais de façon irrégulière sont l'Ibis et le Flamant rose.

Les insectes sont représentés par au moins 28 espèces d'Anisoptères (Odonates), parmi elles nous citons *Anax imperator*. [2]

### 3. Valeurs sociales et culturelles:

Le lac Oubeïra est d'un intérêt social et culturel de par la Production halieutique, l'exploitation de l'eau pour l'agriculture autour du Lac (il s'agit surtout de cultures spéculatives telles que la culture d'arachides consommatrice d'eau), la présence d'un site archéologique (Mégalithique) au Sud-est du Lac et l'éducation et la recherche scientifique (aspect paysager ouvert et présence de deux postes d'observation ornithologique). [3]

### 4. Exploitation de site :

L'eau Lac Oubeira est souvent utilisée par les riverains de cette zone humide soit pour l'irrigation des terres agricoles avoisinantes, soit par son utilisation pour le pâturage de leurs bétails. [2]





**Fig.6. Photos du Lac Oubeira indiquant l'exploitation en pêche.**

En outre, durant nos sorties, nous avons trouvé plein de carpes, révélant une exploitation par une introduction de cette espèce, ce qui va modifier (déséquilibre) la nature biotique et abiotique de l'eau du lac.

### **5. Facteurs défavorables :**

- **Introduction d'espèces exotiques :** L'office National de Développement et de Production Aquacole (ONDPA) a procédé à l'introduction de la carpe dans le cadre d'une opération de valorisation du lac, sans étude d'impact.
- **En 1990, le Lac a connu un assèchement total** probablement dû à un effet conjugué de la sécheresse des dernières années et au pompage de l'eau.
- **Extension de l'agriculture spéculative autour du Lac :** Il s'agit de la culture des arachides, pastèque et melon, nécessitant un pompage pendant la saison d'étiage.
- **Déversement des eaux usées :** Ces eaux usées Proviennent de l'agglomération du village El Frine, d'une partie d'El Kala et de la cité Djeflal Turki. [5]

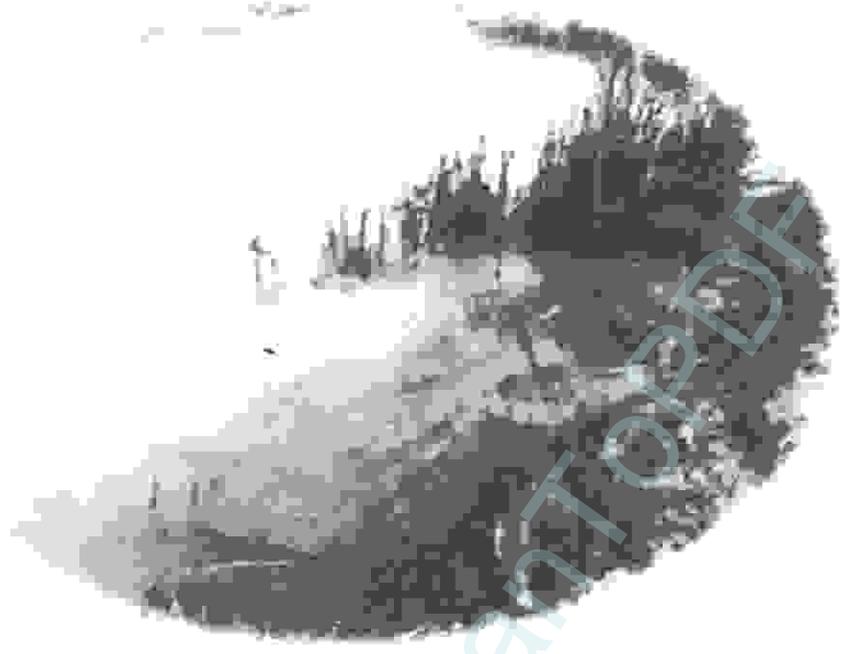


### 6. Mesures de Conservation en Vigueurs :

Le lac est classé en réserve intégrale du Parc National d'El-Kala, Loi de l'environnement N° 83/462 du 05 février 1983, Décret N° 83/462 du 23 juillet 1983 portant Statut type des Parcs Nationaux, Décret n°82-439 du 11 décembre 1982 portant adhésion de l'Algérie à la convention internationale relative aux zones humides.[8]

Produced with ScanTOPDF





Produced with Scantopdf

### 1- Définition de la pollution

La pollution est une dégradation de l'environnement par l'introduction dans l'air, l'eau ou le sol de matières n'étant pas présentes naturellement dans le milieu.

Généralement la pollution de l'eau peut résulter de la contamination des eaux usées, des rejets de produits (les produits phytosanitaires, ceux présents dans les engrais, les hydrocarbures...) (1)

### 2. Les effets de la pollution sur les eaux de surface :

Les problèmes de pollution de l'eau concernent la qualité des milieux naturels comme la santé et le bien-être de l'écosystème. Ils peuvent provoquer à court ou à long terme des conséquences graves pour la santé et l'environnement. (2)

#### 2.1. Une diminution de la teneur en oxygène dissous :

Les matières organiques peuvent devenir un élément perturbateur quand leur quantité est présente en quantité trop importante, parmi les substances qui entraînent une importante consommation d'oxygène, notons en particulier les sous produits rejetés par l'industrie laitière, le sang rejeté par l'industrie de la viande, les déchets contenus dans les eaux usées et domestiques. (3)

Cette diminution d'oxygène dissous peut provoquer dans certains cas des mortalités importantes de poissons. (4)

#### 2.2. La présence de produits toxiques

Ces substances provoquent des effets qui peuvent être de deux formes :

- Effet immédiat conduisant à un effet toxique brutal et donc à la mort rapide de différents organismes.
- Effet diffère par accumulation au cours du temps des substances chez certains organismes. (5)



### 2.3. Une prolifération d'algues :

Bien que la présence d'algues dans les milieux aquatiques soit bénéfique pour la production d'oxygène dissous, celles-ci peuvent proliférer de manière importante et devenir extrêmement gênant en démarrant le processus d'eutrophisation. (5)

### 2.4. Une modification physique du milieu récepteur :

Le milieu peut être perturbé par des apports aux effets divers :

- Augmentation de la turbidité de l'eau (ex : lavage de matériaux de sablière ou de carrière)
- Modification de la salinité (ex : eaux d'exhaure des mines de sel)
- Augmentation de la température (ex : eau de refroidissement des centrales) (6)

### 2.5. La présence de bactéries ou virus pathogènes :

Les foyers domestiques, les hôpitaux, l'élevage et certaines industries agroalimentaires rejettent des germes susceptibles de présenter un danger pour la santé. (7)

## 3. Les grands types de pollution

Deux grands types de pollutions : la pollution de l'eau d'origine naturelle et la pollution de l'eau d'origine humaine

- La première se définit comme toute pollution dont les effets modifient de façon indésirable les différentes propriétés de l'eau et ceci de façon naturelle et non pas humaine.
- La seconde est une pollution de l'eau d'origine anthropique qui provient des eaux usées domestiques, des eaux usées industrielles ou d'activité agricole. (8)



En pollution des eaux d'origine naturelle, on classe les polluants en 4 catégories :

**Tableau n° 1: différent catégories de pollution d'origine naturelle. (8)**

<b>les agents physiques</b>	sont des matières inertes insolubles et de toutes dimensions. Le sable est un exemple.
<b>les agents chimiques organiques</b>	proviennent de la dégradation de matières végétales. Ils provoquent une coloration de l'eau plus ou moins importante.
<b>les agents chimiques inorganiques</b>	sont présents dans les eaux lorsque le sol et les formations géologiques sont lessivés par les précipitations.
<b>les agents biologiques</b>	trouvent leurs origines dans la multitude d'organismes et de microorganismes présents dans les cours d'eau.

En pollution des eaux d'origine humaine, les polluants sont aussi divisés en 4 catégories :

**Tableau n° 2: différent catégories de pollution d'origine humaine (8).**

<b>les agents physiques</b>	comprennent la matière inerte contenue dans les eaux usées.
<b>les agents chimiques organiques</b>	comprennent des protéines, des sucres et divers éléments du métabolisme.
<b>les agents biologiques</b>	renferment les différents organismes présents dans les fèces. Les coliformes et les streptocoques sont les plus connus.
<b>les agents chimiques inorganiques</b>	se trouvent souvent en solution dans les eaux usées. Par exemple, les quantités de phosphore inorganique dépassent parfois les 10 g par m <sup>3</sup> . Ces proportions sont toutefois à peu près les mêmes que l'eau de consommation.



### 3.1. Quelques types de pollution de l'eau :

Les différents types de pollution qui touchent le plus notre environnement sont notés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau n° 3: les différents types de pollution (5)**

Type de pollution	Nature	Source ou agent causal
Pollution thermique	Rejets d'eaux chaudes	Centrales électriques
Fertilisants chimiques	Nitrates, phosphates, mercure	Agriculture
Pesticides	Insecticides, Fongicides	Agriculture
Composés organiques	PCB, solvants chlorés	Industries
Matière organique	Glucides, lipides, protides	Effluents domestiques
Pollution microbiologique	Bactéries, virus	Effluents urbains

## 4. Les sources de pollution anthropiques

Les sources de pollution anthropiques sont dues aux activités humaines.

Nous pouvons citer :

### 4.1. L'usage du sol

Le débit d'un cours d'eau et sa qualité se trouvent en effet affectés par le changement d'utilisation des sols du bassin versant.

**4.2. Usages domestiques :** Les rejets domestiques sont d'ors et déjà les principaux pollueurs des cours d'eau récepteur en milieu urbain.

**4.3. Pollution industrielle :** matière organique pour les industries agroalimentaires (canne à sucre, café...) ou produits toxiques, métaux lourds pour les usines de détergents par exemple.

**4.4. La pollution agricole :** L'agriculture moderne, le plus souvent, pollue l'eau qu'elle utilise, avec les déjections animales (vaches, etc.), les nitrates et les phosphates contenus dans les engrais, aussi que les pesticides, insecticides, et désherbants. (7)



Son influence apparaît par l'effet de l'utilisation intensive des produits fertilisants. (Chimiques ou organiques) sur les terrains perméables. (10)

**4.5. Pollution due aux activités minières :**

Les activités minières sont particulièrement polluantes et posent de nombreux problèmes environnementaux, menant parfois à des conflits entre utilisateurs de la ressource en eau. (10)

**4.6. Pollution due aux activités liées aux hydrocarbures :**

Même si la prospection peut poser des problèmes environnementaux, c'est surtout l'exploitation qui est source de pollution. Il s'agit par exemple de fuites dans les réservoirs, lors du transport, de rupture d'oléoducs, ou de dilution dans les eaux souterraines ou de ruissellement. (9)

**5. Lutte contre la pollution :**

Il convient donc de lutter de manière individuelle mais aussi collective, dans la mesure du possible, à la source même de celle-ci :

- Diminuer les sources de pollution (les polluants)
- Diminuer notre consommation (diminuer les traitements chimiques et les infrastructures nécessaires)
- Réduire la dose de détergents (vaisselle, carrelage, agriculture)
- Utiliser les détergents qui respectent l'environnement (sans phosphates ni décolorants)
- Éviter les engrais chimiques (nitrates), utiliser des engrais biologiques
- Ne pas jeter des déchets dans l'eau (les trier)
- Ne pas jeter les huiles de vidange, huiles ménagères, herbicides et autres rejets de produits polluants dans le réseau d'eaux usées (éviter), une fosse septique (toilettes) ou une rivière
- Protéger de la pollution : assainir (diminuer la concentration en matières organiques)
- Utiliser de nouveaux procédés de traitement de l'eau plus « sain » comme l'ultrafiltration et la nano filtration (filtres constitués d'une membrane permettant d'extraire physiquement les micropolluants). (8)

La lutte contre la pollution de l'eau n'est pas toujours évidente car les produits contaminants sont parfois difficiles à détecter : enfouis au fond des océans, mélangés avec

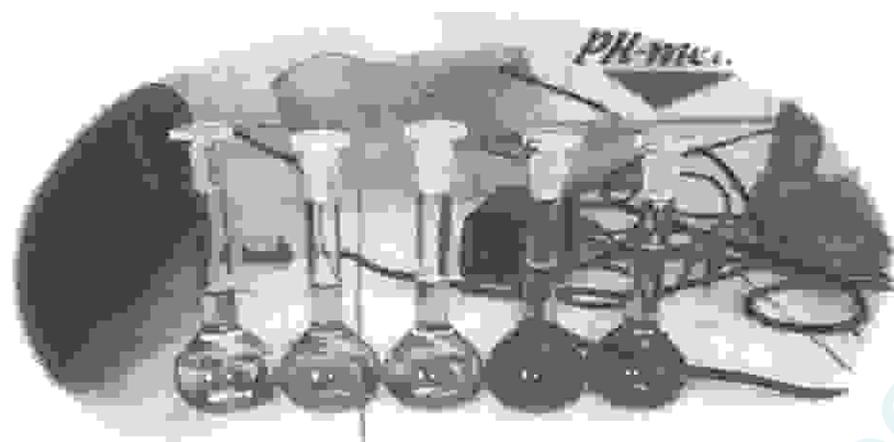


l'eau et donc invisibles à l'œil nu... il arrive en outre qu'une matière polluante ne produise ses effets toxiques que beaucoup plus tard, alors qu'elles se sont déjà infiltrées très profondément dans le sol. La qualité de l'eau dépend alors de la dissolution des polluants jusqu'à leur disparition totale. (1)

Les agences de l'eau apportent des conseils techniques aux élus, aux industriels et aux agriculteurs. Elles leur fournissent des aides financières afin d'entreprendre les travaux nécessaires à la lutte contre la pollution des eaux et de protection des ressources en eau permettant de sensibiliser financièrement les pollueurs. Il y a notamment des taxes à la pollution de l'eau, qui ont été mises en œuvre au niveau de la facture d'eau. Ces fonds sont ensuite redistribués sous forme d'aides financières (prêts, subventions) aux collectivités locales, aux industriels et aux agriculteurs pour la réalisation de lutte contre la pollution (construction, extension ou amélioration des stations d'épuration et des réseaux de collecte des eaux usées, mise en place de procédés de production plus propres....). (2)

Produced with SCA PDF





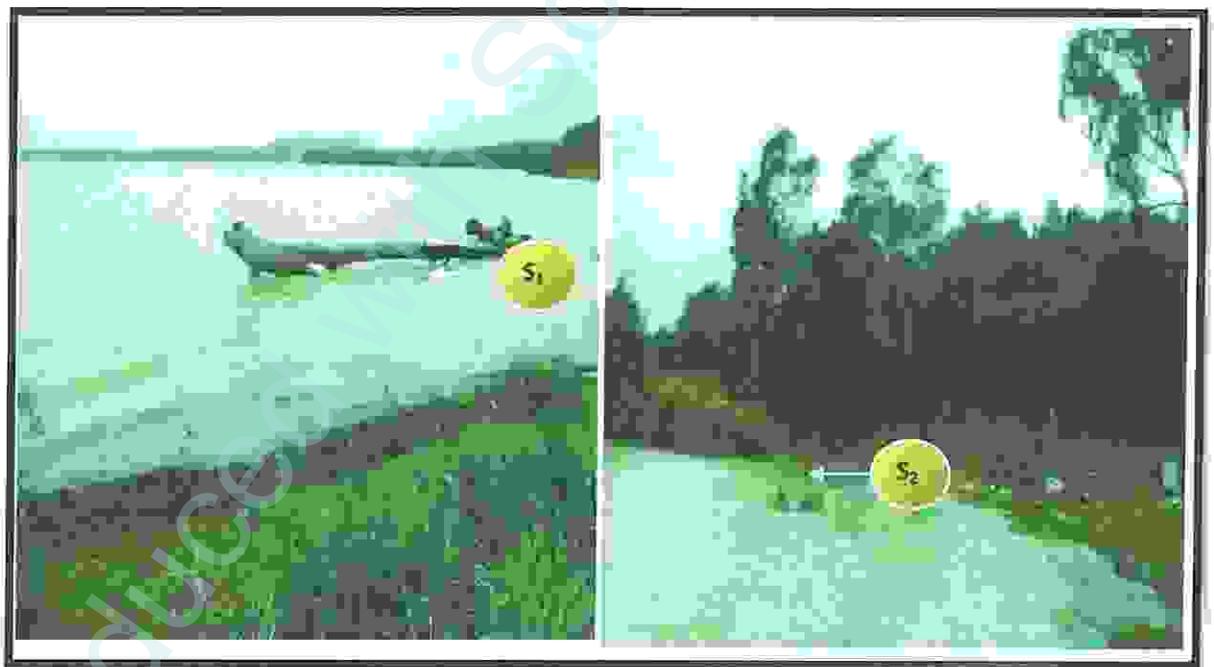
# Chapitre III

Produced with ScantOPDF

### 1. Echantillonnage :

Un examen bactériologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans des flacons stériles, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes. (Rodier 2009).

Le Lac Oubeira est un plan d'eau naturel, mais vu les changements introduits par l'homme ces dernières années, on a choisi de faire des échantillonnages dans différentes parties du lac afin de comparer la qualité microbiologique et physico-chimique des deux sites. (Saliha *et al.*, 2011)



Photos de la première station.

Photos de la deuxième station.

Fig.7. Présentation des points du prélèvement

### 1.1. Matériel d'échantillonnage :

Les échantillons d'eaux doivent être prélevés dans des flacons en verres borosilicaté stérilisés à l'autoclave (15 minutes à 120°C) ou dans des flacons en matière plastique à usage unique pour les paramètres physicochimiques. (Deliarras, 2000).

### 1.2. Mode de prélèvement :

Les flacons d'échantillonnages ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'échantillon. Une fois l'échantillon est prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse. (Merzoug, 2009).

### 1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Les échantillons doivent être clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on doit noter avec précision ; la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Lightfoot, 2002).

### 1.4. Transport et conservation de l'échantillon avant l'analyse :

Les flacons d'échantillonnages doivent être hermétiquement fermés et conservés dans une glacière à 4°C. Il est important que le travail analytique soit réalisé le plus tôt possible après l'échantillonnage, de manière à éviter les modifications de la composition chimique due au dégazage et aux réactions photo-lytiques ou microbiennes. (Boukertouta *et al.*, 2009).

### 1.5. Caractéristique des points de prélèvement :

Pour évaluer la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau du Lac Oubeira, nous avons choisis deux points de prélèvements (ou deux stations) (S1 et S2) détaillés dans le tableau 3 (Fig.7). Ces deux points se trouvent respectivement du côté Est et Ouest du lac. La distribution des microorganismes et des éléments chimiques dans les eaux superficielles n'est pas homogène. Elle a été décrite comme étant aléatoire ou propagatrice (distribution en amas ou en agrégats). (Saliha *et al.*, 2010).

La totalité de nos analyses bactériologiques et physico-chimiques ont été réalisés au niveau des laboratoires de microbiologie du département d'écologie et génie de



l'environnement de l'université 08 Mai 1945 de Guelma et au niveau des laboratoires de l'Algérienne des eaux (ADE) de Guelma.

**Tab.3. Caractéristique des points de prélèvement**

Période	Points de Prélèvement(P)	Date	Heure	Caractéristiques
	S 1	06-03-2012	11 :26	N 36°51,969 ; E008°22,964 ; 25
Mars	S 2	06-03-2012	11 :58	
Avril	S 1	08-04-2011	10 :52	
	S 2	08-04-2011	11 :10	N 36°51,947 ; E008°22 ,982 ; 26

## 2. Les analyses physico-chimiques :

Les substances présentes dans l'eau peuvent être classées selon deux modes différents :

- Nature chimique : organique ou minérale ;
- L'état physique : matières dissoutes, colloïdes ou en suspension.

Ces distinctions sont arbitraires dans la mesure où, d'une part une substance peut se trouver soit à l'état dissous, soit en suspension selon les conditions du milieu, et d'autre part l'eau est le siège de phénomènes de dégradation biologique qui peuvent transformer des substances organiques en substances minérales. (Merzoug, 2009).

### 2.1. Mesure in situ :

Pour chaque prélèvement d'échantillon, des mesures in situ sont effectuées afin de déterminer certaines caractéristiques de l'environnement des prélèvements comme la température, le pH, la conductivité, l'O<sub>2</sub> dissous et la couleur apparente. (Rodier, 2009)

Ces paramètres sont très sensibles aux conditions de milieu, elles peuvent disparaître ou se modifier au cours du stockage et transport de l'échantillon au laboratoire. (Rodier, 1996).

### 2.1.1. Le pH :

La valeur du pH permet de déterminer l'acidité, la neutralité ou la basicité de l'eau, autrement dit la concentration en ions hydrogène. (Zerluth, 2004).

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre de terrain «HANNAN», la mesure est réalisée selon les étapes suivantes:

- Plonger la sonde du pH mètre dans l'eau.
- Attendre quelques secondes la stabilisation de l'affichage sur l'écran, puis lire le résultat de la mesure. (Amri, 2008).

### 2.1.2. La température :

Il est très important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc la conductivité électrique dans la détermination de pH. (Nadhra et *al.*, 2008).

La mesure de la température est effectuée sur terrain à l'aide d'un thermomètre ou multi paramètre. (Brahem et *al.*, 2009).

### 2.1.3. La conductivité :

La conductivité est la propriété que possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique (elle dépend de la nature de ces ions dissous et de leurs concentrations). (Rejsek, 2002).

Dans une eau stagnante, il existe toujours des « flux » invisible. L'eau conduit la chaleur, le courant électrique et le son, ce dernier étant propagé encore plus rapidement que dans l'air. (Zerluth, 2004).



#### 2.1.4. Le taux des sels dissous(TDS) :

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, la mesure qui permet de déterminer la quantité totale des sels minéraux dissous dans l'eau qu'est appelée le TDS. (Rodier, 2005).

### 2.2. Les mesures au laboratoire :

#### 2.2.1. La turbidité :

La turbidité mesure la quantité de matière en suspension qui est à l'origine d'un trouble. (Beaux, 1998).

A l'aide d'un turbidimètre, il est recommandé d'effectuer la mesure aussi rapidement que possible après prélèvement, de préférence le même jour. Les échantillons doivent être agités avant la mesure. (Boukertouta et al, 2009).

#### 2.2.2. Le dosage du calcium :

Le calcium est un métal alcalino-terreux extrêmement répondu dans la nature. C'est le cation le plus commun trouvé dans les eaux de surfaces, sa présence dépend principalement de la géologie, en particulier lorsqu'il y a des dépôts de carbonates ou de gypse présents.

On utilise la méthode titrimétrique qui permet de doser rapidement les ions calcium et magnésium. Toutefois, comme le dosage se fait à un pH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas. (Djebbar et al., 2008).

#### 2.2.3. La dureté totale TH :

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

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium. (Boukertouta et al., 2009).

La dureté peut s'exprimer en degré français (°F). (Aouissi, 2007) :



#### 2.2.4. Le chlorure $CL^{-1}$ :

Les chlorures existent dans toutes les eaux à des concentrations variables. Une forte fluctuation des chlorures dans le temps peut être considérée comme indice de pollution.

Ils peuvent avoir plusieurs origines :

- Percolation à travers des terrains salés.
- Infiltration d'eaux marines dans les nappes phréatiques.
- Activité humaines et industrielles. (Chaouch et *al.*, 2009).

#### 2.2.5. Les matières en suspension (MES) :

La définition ISO des matières en suspension (Afnor, 1999a) indique qu'il s'agit des « matières éliminées par filtration ou centrifugation dans des conditions définies ». En Océanographie, on considère comme dissous ce qui passe au travers d'un filtre dont la porosité est d'environ  $0,5 \mu m$  (Strickland & Parsons, 1972).

La matière en suspension représente l'un des paramètres globaux de pollution les plus facilement perceptible mais l'un des plus difficilement mesurables en continu. En effet les matières en suspensions ne sont des particules solides véritablement en suspension que dans des conditions moyennes d'écoulement des effluents correspondant à une vitesse minimale de  $0.5 \text{ m/s}$ . En fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètre supérieur à  $100 \mu m$ ) et les matières en suspension. (Djebbars et *al.*, 2008).

#### 2.2.6. Le résidu sec :

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporisée dans une capsule tarée de résidu desséché et ensuite pesé. (Merzoug, 2009).

#### 2.2.7. Le nitrate :

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote et ils se trouvent naturellement dans les eaux de surfaces aussi que dans les eaux souterraines, leurs concentrations dans les eaux naturelles ne dépassent pas  $10 \text{ mg/l}$ .

La méthode d'analyse est par photomètre 5000 (Afnor, Nf on ISO 13395) en utilisant une longueur d'onde  $\lambda = 570 \text{ nm}$ . (Resjek, 2002).



### 2.2.8. Le nitrite :

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammonium et les nitrates, leur présence dans l'eau est souvent due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammonium, soit à la réduction des nitrates, ils ne présentent ainsi qu'en stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates, leur présence dans les eaux naturelles est faible (<0.1mg/ml).

Une eau contenant des nitrates est considéré comme suspecte car cette présence est souvent liée à une détérioration de la qualité microbiologique. La méthode d'analyse utilisée est par photomètre (Afnor, NF en ISO 13395) avec une longueur max = 543nm. (Sayad, 2008).

### 2.2.9. L'ammonium :

L'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) provient de la dégradation des protéines animales (cycle d'azote), la principale source d'ammoniaque est anthropique. Les effluents domestiques (urée) représentent la plus importante source de pollution. (Saliha et al. 2011).

L'azote peut aussi provenir de ruissellement urbains, de l'agriculture (engrais) ou de l'industrie (pharmaceutique, alimentaire, pâte à papier, textile ...).

La biodégradation et l'autoépuration étant ralentie en hiver, est presque nulle en 5°C, l'azote ammoniacal remonte en hiver, de même il subit des variations au printemps et en été avec l'activité du phytoplancton (qui peut trouver dans les eaux). (Karaali et al. 2008).



### 3. Les analyses bactériologiques :

Compte tenu des matériels et milieux de cultures disponibles à l'ADE, nous avons suivi les mêmes techniques qu'ils utilisent : la méthode de filtration sur membrane pour le dénombrement des streptocoques, et des coliformes.

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

- Les germes totaux (la flore totale) ;
- Les Clostridium sulfite-réducteurs ;
- Coliformes fécaux
- Les streptocoques fécaux ;
- Les coliformes (coliformes totaux) ;

Avant de procéder aux méthodes utilisées pour l'évaluation de la qualité de l'eau, la stérilisation de matériel à utiliser s'effectue avant chaque prélèvement. (Sayad, 2008).

#### 3.1. La filtration sur membrane :

##### a. Principe de la filtration sur membrane:

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

Après incubation, les colonies développées seront dénombrées et éventuellement prélevées pour être confirmées ou étudiées. (Camille Delarras et *col*).

##### b. Volumes d'eau à filtrer :

L'exactitude et la facilité des dénombrements de colonies bactériennes sur les membranes après incubation sont étroitement liées à la quantité d'eau filtrée sur ces membranes.

A titre indicatif nous avons filtré un volume de 100 ml de chaque échantillon d'eau.



NB : Avant de commencer nous avons dilué nos échantillons d'eau de ces deux différentes stations à cause de la turbidité de ces eaux (dilution de 1/100). Donc nous nous trouvons avec une solution mère et une solution fille pour chaque station (site).

### c. Matériel de filtration :

L'appareil utilisé est un appareil à filtration (appareil millipore) qui comprend :

Une rampe de filtration sous vide avec trois supports de filtration, qui sont équipés d'un système de verrouillage des entonnoirs (trois entonnoirs). Des entonnoirs en aluminium de 100 ml viennent s'adapter sur les supports de filtration.

### d. Mode opératoire :

#### ➤ Filtration de l'eau et mise en culture :

Avant chaque usage on doit flamber les supports pendant 3s (ce que nous avons fait) c'est-à-dire stériliser les supports, les entonnoirs respectivement. (3min avant).

NB : Il ne faut jamais stériliser les entonnoirs avant les supports car cela risque de contaminer les membranes afin de contaminer les éventuelles colonies et donc de fausser les résultats.

Ensuite nous plaçons les membranes circulaires et quadrillées stériles (en emballage individuel) de 0.45µm de diamètre de pores sur les supports de l'appareil, et nous plaçons les entonnoirs des différents supports la dessus et les verrouiller par simple pression sur le col, versons l'échantillon (50ml) d'eau dans les entonnoirs et appliquons le vide pour filtrer : retirons les entonnoirs ; par simple pression sur le levier, le vide est cassé et les membranes sont soulevées des supports ; enfin nous saisissons les membranes à l'aide de pinces stériles et les placer sur des milieux solides coulés dans des boîtes de pétri différentes (poser au centre) en évitant d'inclure des bulles d'air.

### 3.2. Détermination des germes totaux (GT):

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

#### - Définition :

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24 h à 37°C et 72h à 22°C).

Bien que la présence en grande quantité de bactéries revivifiables ou la microflore totale aérobie mésophile n'est, a priori, aucune valeur indicative, leur dénombrement dans les conditions doit être régulièrement effectué car une évolution importante, peut être représentative d'un apport contaminant (matières organiques par exemple). (Bouchaala L, 2010).

#### - Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser (Solution mère = 1) et/ou des dilutions décimales  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ , porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma ci-après (Fig.8).

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

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

Laisser solidifier les boîtes sur la pailleasse. (Labres et *al.*, 2006., Merzoug, 2009).

#### - Incubation :

- La première boîte sera incubée, couvercle en bas à  $22^\circ\text{C}$ .
- La seconde sera incubée couvercle en bas à  $37^\circ\text{C}$ .

#### - Lecture :

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



- Première lecture à 24 heures.
- Deuxième lecture à 48 heures.
- Troisième lecture à 72 heures.
- **Interprétation :**

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

$$N = \frac{\sum c}{1,1 \times d} \quad \text{où}$$

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

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

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

Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à  $22^\circ\text{C}$  et à  $37^\circ\text{C}$  par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où  $x$  est la puissance appropriée de 10. (Lebres et *al.*, 2006 ., Amor Abda, 2009) .

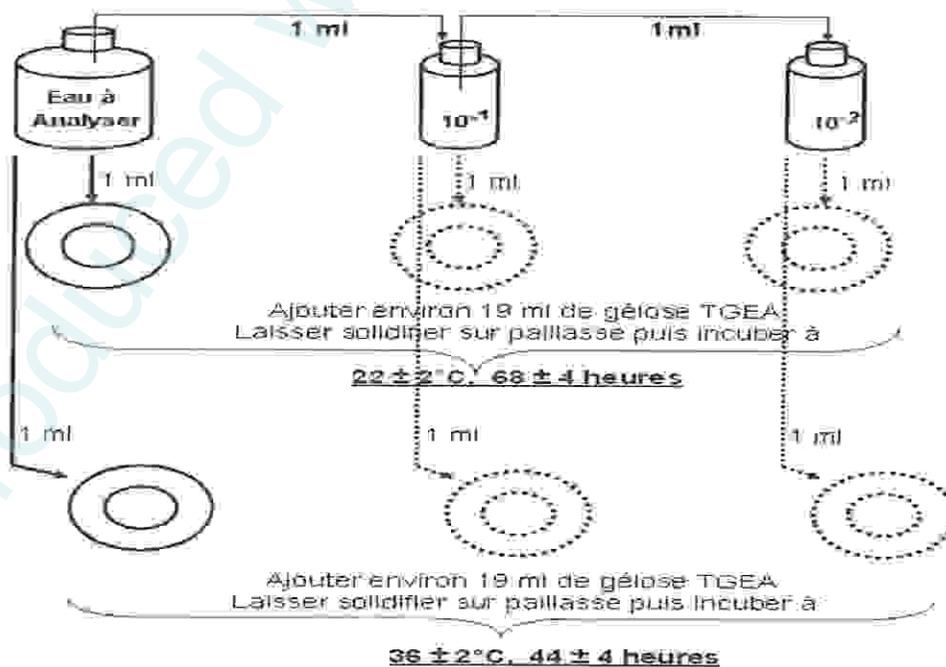


Fig.8. Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables à  $22$  et à  $37^\circ\text{C}$  dans les eaux (Merzoug, 2009).



### 3.2. Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs et des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) :

Dans ce test, on utilise la méthode «par incorporation en gélose en tubes profonds» dans le but de rechercher et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de clostridium sulfito-réducteurs dans ces eaux.

#### - Définition :

On entend par les bactéries anaérobies sulfito-réductrices des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram positif et qui en se développant à température de  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  en 24 à 48 heures en gélose profonde de type gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine ou Tryptose Sulfite Néomycine ou encore gélose Viande-Foie, donnent des colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noir, cette dernière est le témoin de la réduction du sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{+2}$  qui donne  $\text{FeS}$  (sulfure de Fer) de couleur noir. (Saliha, 2011).

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

#### - Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser :

- Transférer environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre à  $75^\circ\text{C}$  pendant 15 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives de bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes. Un autre flacon rempli d'une autre eau servira de témoin de température (Fig. 9).
- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande- Foie, fondus puis refroidie à  $47 \pm 1^\circ\text{C}$ , additionnée de leurs additifs spécifiques.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.



- Laisser solidifier sur paille pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ , pendant  $44 \pm 4$  heures.

- **Lecture et interprétation :**

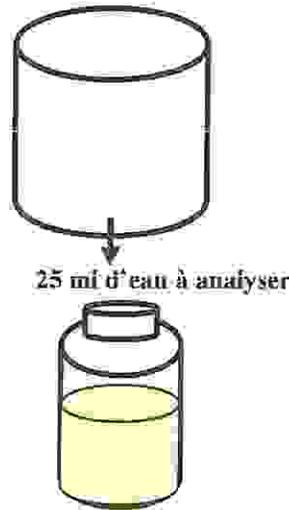
La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries anaérobies sulfite-réductrices sont envahissantes auquel cas on se trouvera en face d'un tube complètement noir, la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à  $44 \pm 4$  heures.

Dénombrer toute colonie noire de 0.5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml d'eau à analyser.

Produced with ScanTOPDF

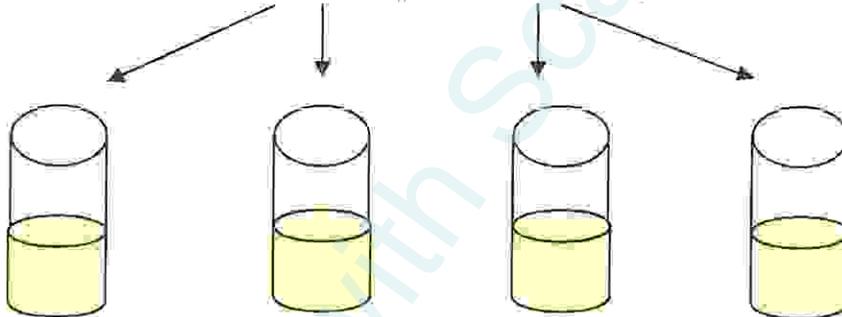


Eau à Analyser

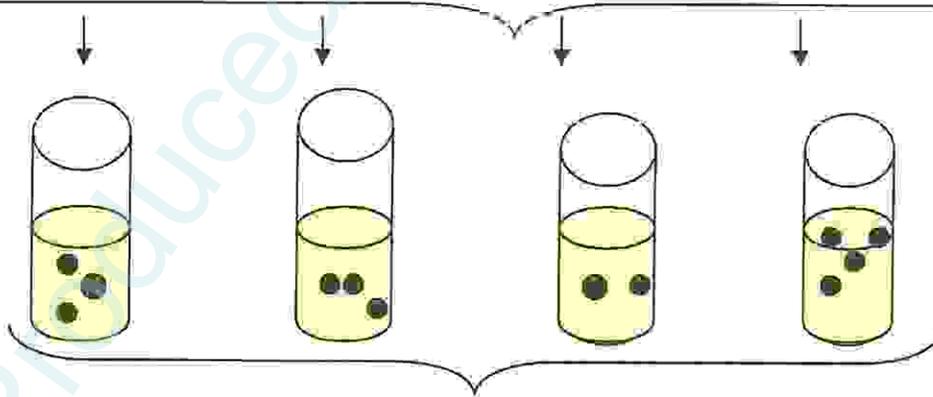


Chauffage à 80°C, 10 minutes

Refroidissement brutal sous l'eau de robinet Répartir à raison de 5 ml par tube dans 4 tubes



Ajouter environ 18 ml de gélose VF fondue puis refroidie à  $47 \pm 2^\circ\text{C}$  Laisser solidifier puis incuber à  $36 \pm 2^\circ\text{C}/44 \pm 4 \text{ h}$ .



3 + 3 + 2 + 4 = 12 Spores d'CSR dans 20 ml

Fig.9. Recherche et dénombrement des clostridium sulfato-réducteur (Amor Abda, 2009).



### 3.3. Dénombrement des coliformes fécaux :

#### Définition :

- Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase «-», aérobies ou anaérobies facultatifs ;
- Ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents ;
- Ils fermentent le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35 à 37°C. ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ). (Dellarras, 2003).

Les coliformes thermo tolérants ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à  $42 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Les *Escherichia Coli* sont des coliformes thermo-tolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à  $42 \pm 2^\circ\text{C}$ . (Labres *et al.*, 2008).

#### - Test présomptif : Dénombrement sur gélose lactosée au TTC et au tergitol :

- Réaliser la filtration et diluer si nécessaire, en suite on dépose les membranes sur la gélose TTC tergitol et on incube à 37°C (pour les coliformes totaux) et 44°C (pour les coliformes fécaux) pendant 24 heures.

#### Lecture :

Après 24h d'incubation, On observe :

- la couleur des colonies :
  - Colonie rose-rouge : réduction du TTC
  - Colonie jaune : absence de réduction du TTC
- la couleur des halos dans la couche de gélose sous-jacente aux colonies :
  - Halo bleu-vert : lactose<sup>-</sup>
  - Halo jauné : lactose<sup>+</sup>

*E. coli* et *Enterobacter aerogenes* donnent des colonies jaunes tandis que Les autres coliformes donnent des colonies rouges.



- **Test confirmatif : Ensemencement sur milieu « Schubert avec cloche de Durham »**

La confirmation est réalisée à partir des colonies jaunes ou orangées, sur un milieu plus spécifique : milieu de Schubert.

Après incubation à 44°C pendant 24 heures, les tubes dans lesquels est apparu un anneau rouge après l'ajout de réactifs Kovacs, avec production de gaz, sont considérées positifs (indole positif).

**N.B:** Le dénombrement des coliformes totaux se fait directement à partir du test présomptif par contre la présence des coliformes thermo tolérants nécessite un test de confirmation réalisé sur un milieu spécifique : « milieu de Schubert avec cloche de Durham » ;

Test présomptif : Filtration et Ensemencement sur le milieu TTC Tergitol à 44°C/24H

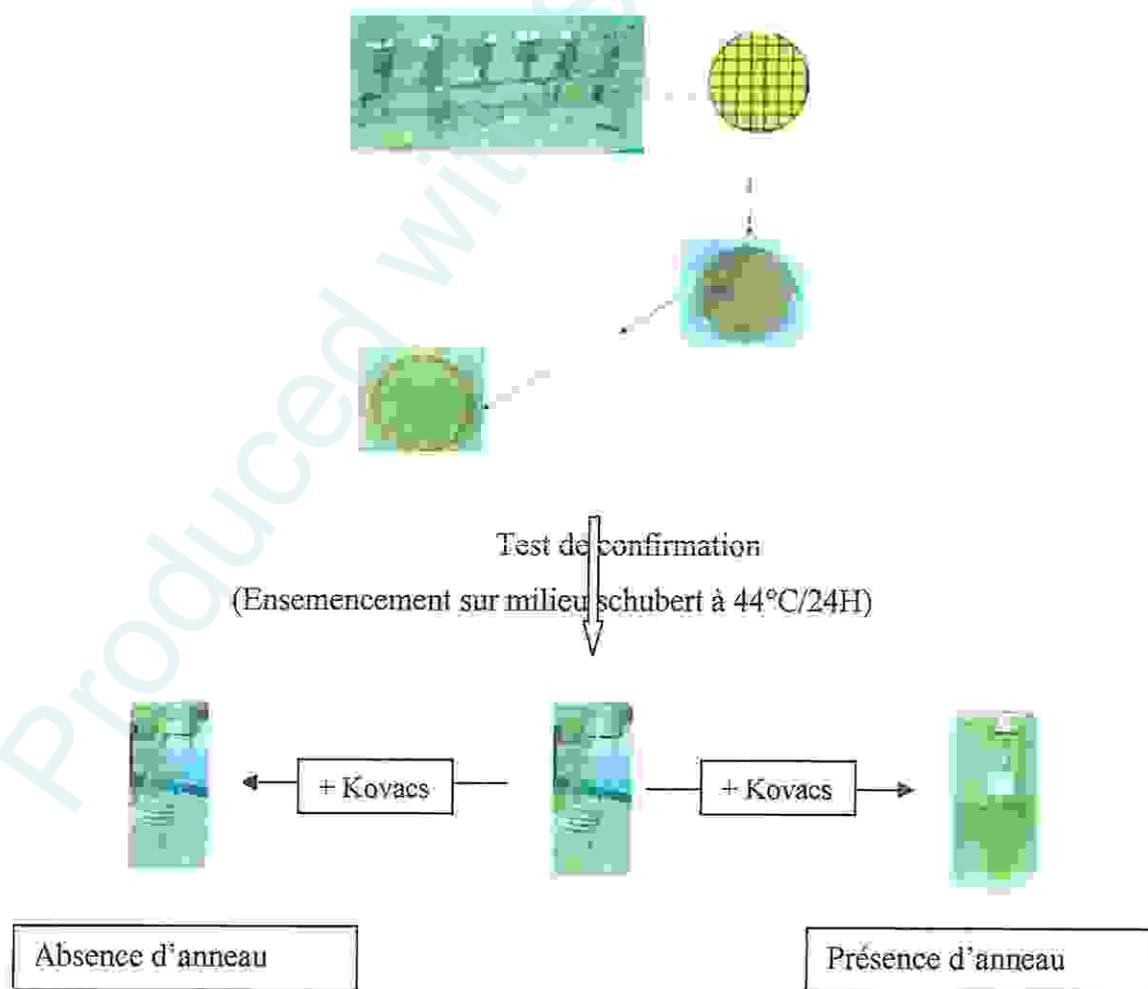


Fig.10. Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants.



### 3.4. Dénombrement des streptocoques fécaux :

#### - Définition :

Les streptocoques se caractérisent par leur morphologie (coques en chainettes), Gram positif, et un métabolisme anaérobie. (Pechère, 1982).

Les Streptocoques fécaux ou Streptocoques du groupe D ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D. Ils sont capables de se développer de 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques et hydrolysent l'esculine en 48 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine.

Les techniques d'analyses sont comparables à celles décrites pour les coliformes fécaux. Dans ce cas il est prescrit de faire successivement un test présomptif sur le milieu Slanetz et Bartley et un test confirmatif en transférant la membrane sur la gélose BEA. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures pour le test présomptif, à 44°C pour le test confirmatif.

#### - Lecture:

##### ➤ Test présomptif :

Après incubation les colonies convexes rouges, roses ou marrons, avec ou sans auréole blanche sont considérées comme typiques de streptocoques du groupes D (streptocoques fécaux) et plus précisément d'entérocoques intestinaux.

##### ➤ Test confirmatif :

Après incubation on dénombre les colonies présentant une couleur noire à brun, esculine +, typiques des streptocoques du groupe D.

#### - Expression des résultats :

Les résultats du dénombrement des streptocoques fécaux sont exprimés comme ceux des coliformes en UFC /ml. (Amor Abda, 2009).



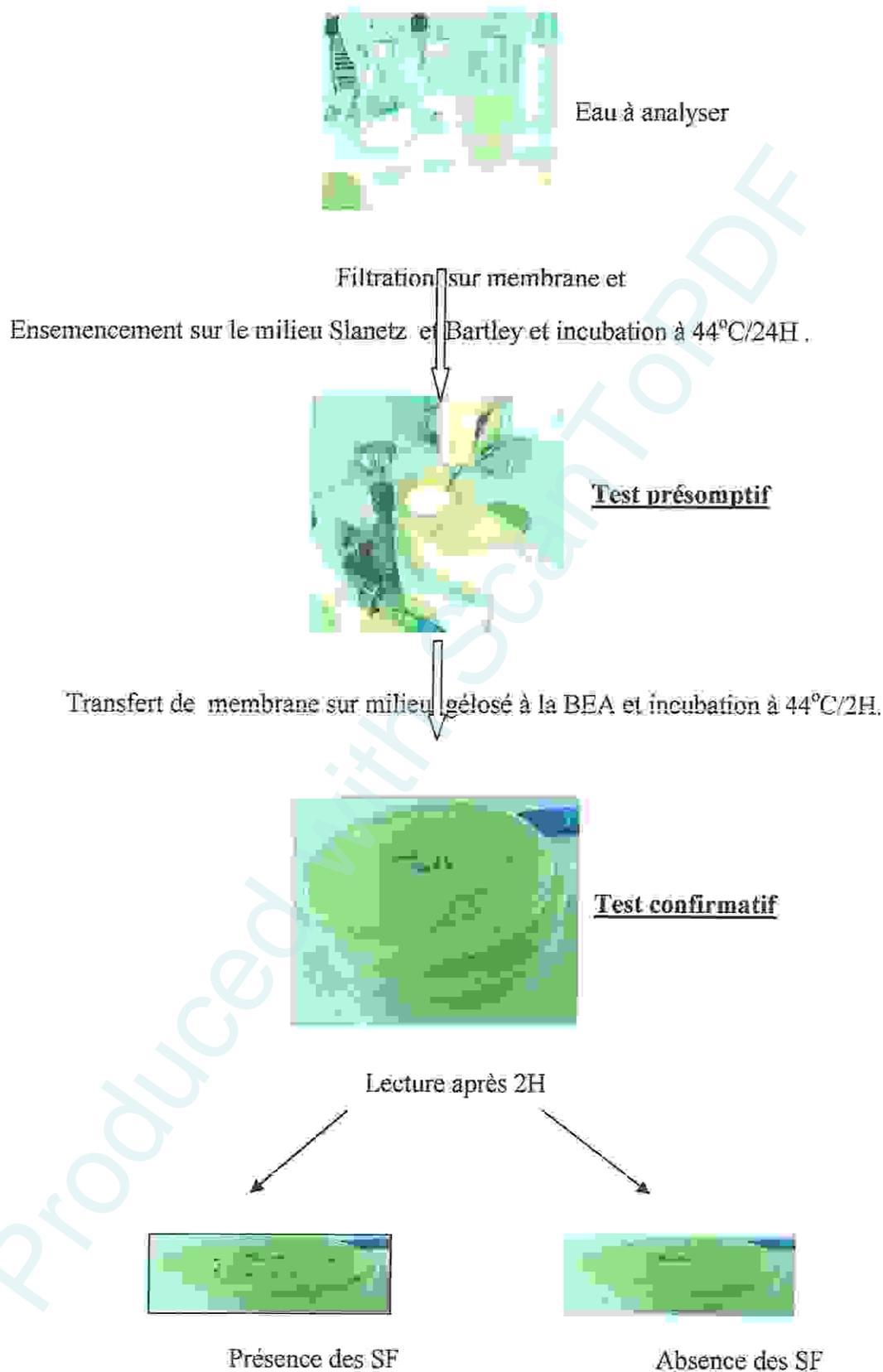


Fig.11: Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.



### 3.5. Recherche des germes pathogènes :

Pour chercher et identifier les bactéries de la solution mère (l'échantillon) nous avons utilisés la technique d'isolement par strie sur gélose coulées dans des boîtes de pétri.

Les milieux utilisés sont : Mac conkey, Chapman, Gélose nutritive. L'inoculum est prélevé directement a partir de l'eau à analyser et déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface de la boîte de pétri. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24-48 heures. (Bouchaala, 2010).

Produced with ScanTOPDF



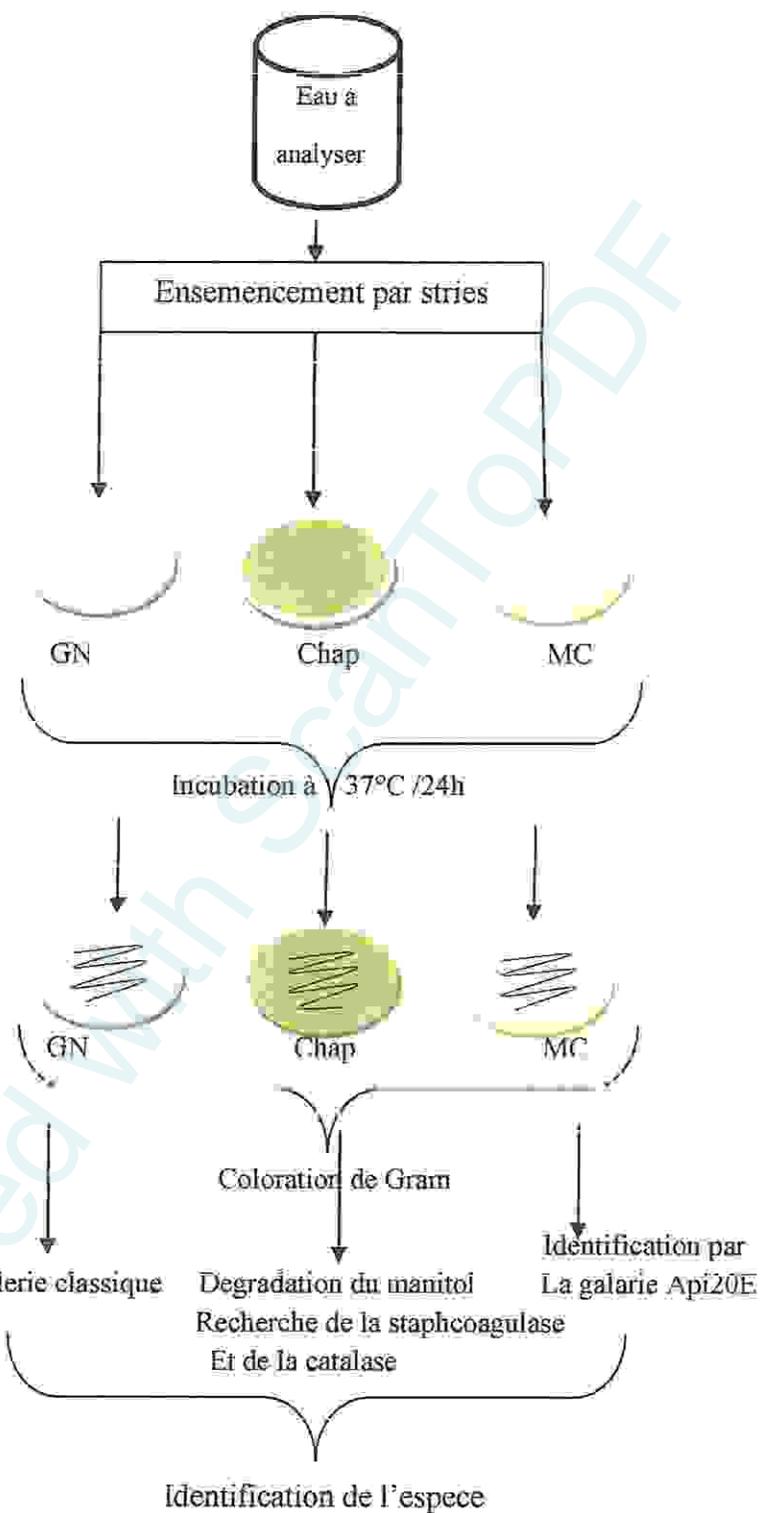


Fig.12 : Recherche des bactéries dans l'eau



### 3.5.1. Recherche des staphylocoques:

On entend par staphylocoques à coagulase positive, les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  sur un milieu sélectif Chapman au mannitol. (Labres *et al.*, 2006).

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

C'est un milieu sélectif pour les bactéries Gram (+) halophiles autrement dit les staphylocoques ou microcoques.

Contient du NaCl à 7.5 % qui est inhibiteur pour la plupart des micro-organismes et favorise la croissance des staphylocoques. (Perry *et al.*, 2004).

#### - Résultat :

- Les colonies mannitol « + » sont entourées d'une auréole jaune.
- Le milieu Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus* mais des testes de confirmation est obligatoire.

### 3.5.2. Coloration de Gram :

La coloration de Gram a pour but de différencier les bactéries Gram positives des bactéries Gram négatives et aussi d'observer leur morphologie.

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

- Préparation par le violet : Verser et laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn. Laver à l'eau.
- Mordançage : Verser et laisser agir le lugol 1 mn. Laver à l'eau.
- Décoloration : Verser et laisser agir l'alcool pendant 30 secondes. Laver à l'eau.
- Recoloration : Verser et laisser agir la solution de Fushine pendant 30 à 40 secondes. Laver à l'eau et sécher. (Aouissi, 2007).

### 3.5.3. Identifications biochimiques

L'identification biochimique des bactéries se réalise depuis des nombreuses années par les deux méthodes :

- Galerie classique avec un nombre limité de caractères ;
- Galeries API qui sont très performantes.



**A. Galerie biochimique classiques :**

La galerie est composée de trois milieux solides et quatre liquides.

**❖ Les milieux solides :****➤ Utilisation de citrate :**

Pour ce test, nous utilisons le milieu citrate de Simmons, celui-ci contient qu'une seule source de carbone: le citrate.

Seules les bactéries possédant une perméase sont capables de se développer sur ce milieu. Il contient également du phosphore mono-ammoniac servant à la fois source d'azote et de phosphore. (Carbannelle, 1988, Merzoug, 2009, Benabda, 2010).

**- Technique :**

- La pente du milieu estensemencée à partir d'une suspension bactérienne en eau distillée.
- Incuber à 37°C pendant 24h.
- Bactéries citrate positive : culture avec alcalisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu);
- Bactéries citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée). (Sayad, 2008).

**➤ Utilisation des hydrates de carbone :( Milieu TSI)****- Principe :**

Ce milieu complexe permet de confirmer la fermentation du glucose (caractère d'identification de famille, avec ou sans production de gaz) et d'orienter l'identité du genre par l'attaque du lactose et de la production d' $H_2S$ .

**- Technique :**

Ensemencer la pente (du milieu TSI) par une strie centrale, puis le culot par piqûre en profondeur. Nous incubons à 37°C pendant 24h.

La lecture est toujours effectuée entre 18 et 14h. ce milieu fournit plusieurs indications :

- Changement de la couleur du milieu du rouge au jaune (la pente et le culot) donc fermentation du glucose, lactose et saccharose.



- Production de gaz : bulles dans la masse du milieu ou encore les parois ou poche gazeuse décollant le culot.
- Noircissement du milieu donc H<sub>2</sub>S positif. (Rouaiguia, 2010).

➤ **Etude de la mobilité :**

- **Principe :**

Cette étude est faite sur milieu mannitol-mobilité qui permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.

- **Technique :**

Nous ensemençons par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit, chargé de culture en milieu solide. Nous incubons de 18 à 24h à 37°C.

La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu :

- Si le germe est très mobile, la masse microbienne envahit tout le tube ;
- S'il est peu mobile, elle se développe le long de la piqûre et se réduit à de petites ramifications ;
- Enfin, s'il est immobile, il se développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette. (Carbonnelle, 1988., Sayad, 2008).

❖ **Le milieu liquide :**

➤ **Recherche des VP-RM :**

- **Principe :**

Certaines bactéries sont capables de produire de l'acétyl méthyle carbinol. En présence d'une base forte, l'acétoïne qui donne une coloration rouge en milieu très oxygéné (oxydation en diacétyl).



- **Technique :**

Nous ensemençons un tube Clark et Lubs, puis nous ajoutons 2 gouttes du VPI (R<sub>3</sub>) et laissons 30 mn, puis nous ajoutons 2 gouttes du réactifs VPII [R<sub>3</sub>].

- Une réaction positive se manifeste par une coloration rose ou rouge.



➤ **Production d'indole :**

Certaines bactéries transforment le tryptophane en indole

- **Principe:**

L'indole provient de la dégradation du tryptophane sous l'action de la tryptophanase, certaines bactéries sont incapables d'amputer le tryptophanase de sa chaîne latérale.

- **Technique :**

Ensemencer un tube d'eau peptonée avec la bactérie à étudier. Après 24 heures de culture à 37°C. Ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu et le fait d'une réaction positif. Si l'anneau reste jaune-brun, la réaction est négative (Fig.24, 25). (Benabda et al., 2010).

➤ **Test Urée :**

- **Principe :**

L'uréase libère de l'ammonium à partir de l'urée.

- **Technique :**

Nous piquons une colonie isolée sur le milieu GN dans un tube Urée-indole. Après incubation à 37°C pendant 24h, la réaction est positive s'il y a apparition de couleur rouge ou orangée. (Rouaiguia, 2010).

➤ **Recherche de la nitrate réductase :**

- **Principe :**

La dégradation du mannitol conduit à la formation du fructose dont l'attaque aboutit à des acides à chaînes très courtes (acide acétique, acide formique).

Le milieu mannitol –mobilité – nitrate, permet de recherche en plus de la fermentation du mannitol et de la mobilité, la réduction des nitrates en nitrites en utilisant les réactifs de Grises.



- **Technique:**

Nous ensemençons par piqûre centrale le milieu à l'aide d'un fil droit, chargé de culture. Nous incubons 18 à 24 heures à 37°C.



Pour la recherche du nitrate réductase, nous déposons à la surface du milieu 4 gouttes du réactif 1, puis 4 gouttes du réactif 2.

- Une coloration rouge traduit la transformation des nitrates en nitrites ;
- Une absence de coloration correspond à une réduction négative. (Merzoug, 2009).

#### B. La Galerie Api 20E :

La galerie Api 20 E est un système pour l'identification des Entérobactériaceae et d'autre bacille Gram (-), utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés dont 8 testes conventionnels et 12 d'assimilation (Fig.26). (Saliha et al., 2011)

A partir d'une colonie bien isolée, on réalise une suspension bactérienne dans l'eau physiologique qu'on répartira dans les micros tubes selon l'indication du revendeur.

Après incubation à 37 °C pendant 24h, les réactions positives se manifestent par une coloration, parfois après addition des réactifs. La coloration tout comme les réactifs sont bien déterminés pour un caractère déterminé (Catalogue Api20E système).



Fig.13. Galerie APi20E.

#### 3.5.4. Tests complémentaires :

##### ❖ Test catalase :

##### - Principe :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. (Camille, 2008).

Le catalase permet la dégradation de l' $H_2O_2$  oxygéné à l'eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



Elle permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif les *staphylocoques* et les *streptocoques*. (Reggam, 2010).

- **Mode opératoire :**

Sur une lame porte-objet, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, puis émulsionner une anse de bactéries prélevées sur la culture en milieu gélose de la souche.

- **Résultat :**

Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît (Fig.15), le test est dit positif. (Camille, 2008).



Fig.14. Lecture de la catalase.

❖ **Test Coagulase :**

- **Principe :**

Après enrichissement par passage en milieu contenant le tellurite de potassium comme inhibiteur, la culture sur un milieu de Chapman mannité. Ce milieu, du fait de la haute concentration de sodium (7.5%) inhibe le développement des germes Gram - et certaines bactéries. (Sayad, 2008).

- **Mode opératoire :**

- Après incubation, prendre aseptiquement une demi-colonie dans un tube stérile à hémolyse contenu 0,3 ml de plasma de lapin (ou de l'homme), et incuber de nouveau à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 2 à 6 h.
- Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber et examiner de nouveau à  $20 \pm 4$  heures.



**- Résultat :**

On considère que la réaction de la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. (Labres et *al.*, 2008., Merzoug, 2008)

**❖ Test d'oxydase :**

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette. (Carbannelle, 1988).



**Fig.15: Test oxydase.**

# Chapitre IV

Produced with ScantOPDF

## 1. Les analyses physicochimiques :

L'analyse de la qualité physico-chimique des eaux du lac Oubeira a pour but d'avoir un bilan sur l'état du milieu, en faisant un point aussi exhaustif que possible sur la situation de la qualité de cette eau ainsi que son impact sur la santé humaine. C'est ainsi qu'on présente les résultats des différents paramètres mesurés :

### 1.1. Le pH :

Pour ce paramètre, on n'a pas remarqué de grande variation entre les points de prélèvement ; ces valeurs sont comprises entre 5,8 et 7,2 pour les deux stations pendant le mois de mars et de 6,1 et 7 pendant le mois d'avril ; les valeurs enregistrées sont globalement proche de la neutralité selon les normes OMS 2006.

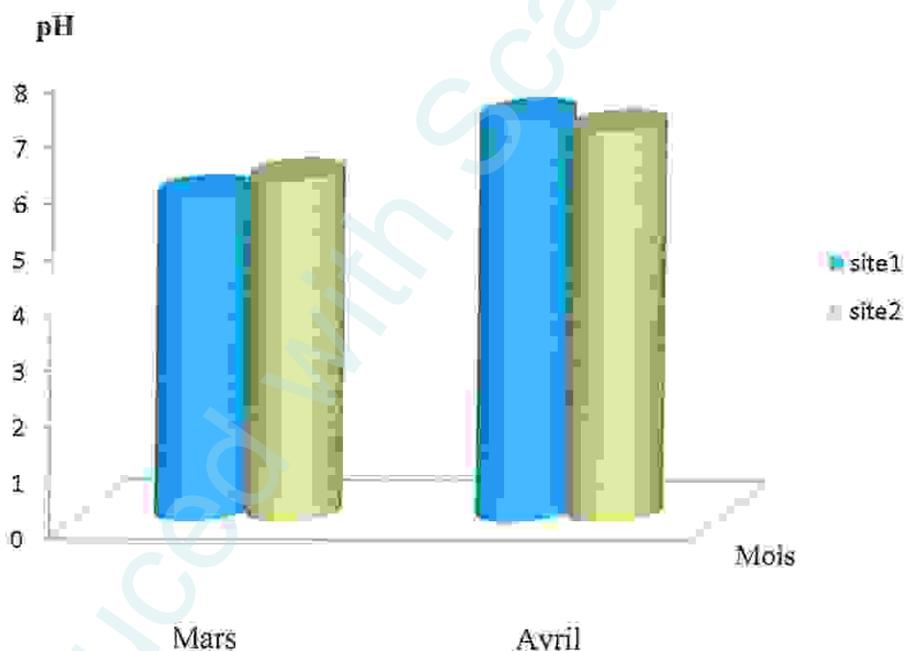
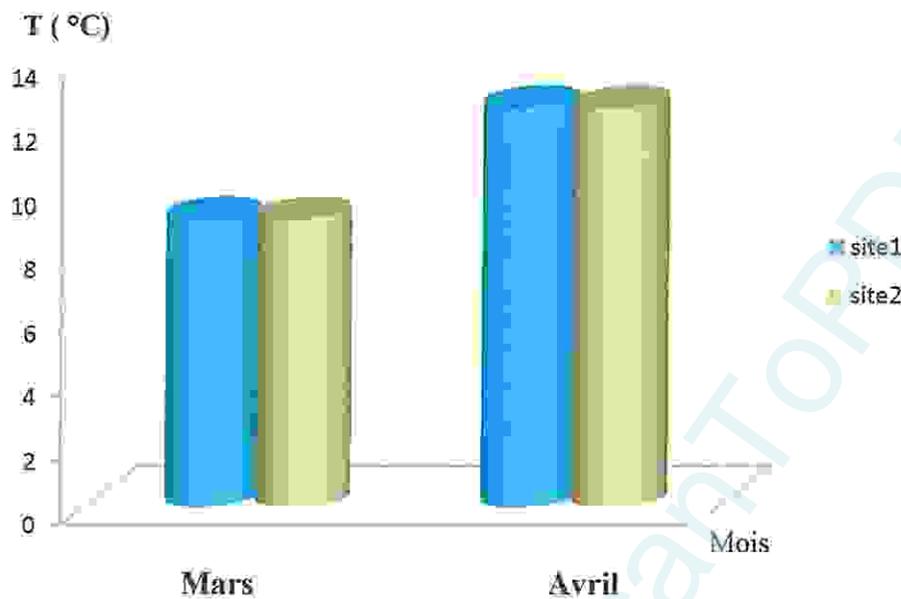


Fig.16. Variation du pH pendant dans l'eau du lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).

### 1.2. La température :

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques. Elle conditionne les possibilités de développement et la durée du cycle biologique des espèces aquatiques. (Merzoug, 2009).



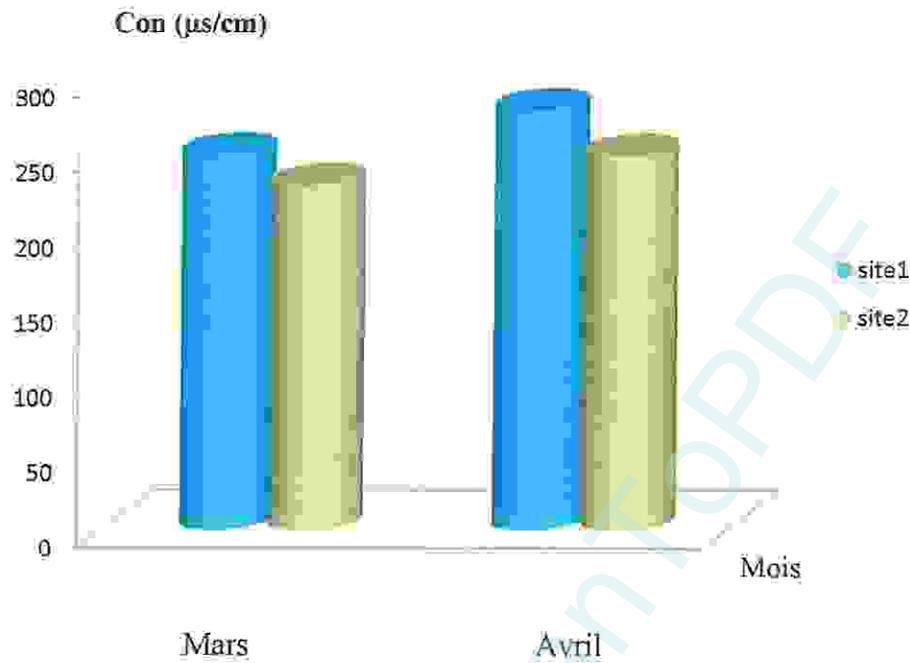
**Fig.17. Variation de la température dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).**

Les températures enregistrées pendant le deux mois varient entre 9 et 12.5 respectivement 9°C en mars et 12.5 en avril (Fig. 17):

Ces valeurs ne sont pas loin de la température de l'air ambiant pour les deux mois, mais beaucoup plus basse pendant le mois de mars ce qui s'explique par la saison pluvieuse, en plus le lac oubeira est une zone humide ce qui explique la baisse de la température globale. Néanmoins, nous ne pouvons pas dire pour le moment que la qualité de cette eau est mauvaise en fonction de la température selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau (Merzoug, 2009).

### 1.3. La conductivité :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution. D'une façon générale, la conductivité s'élève progressivement de l'amont vers l'aval des cours d'eau. (Rodier, 2005).

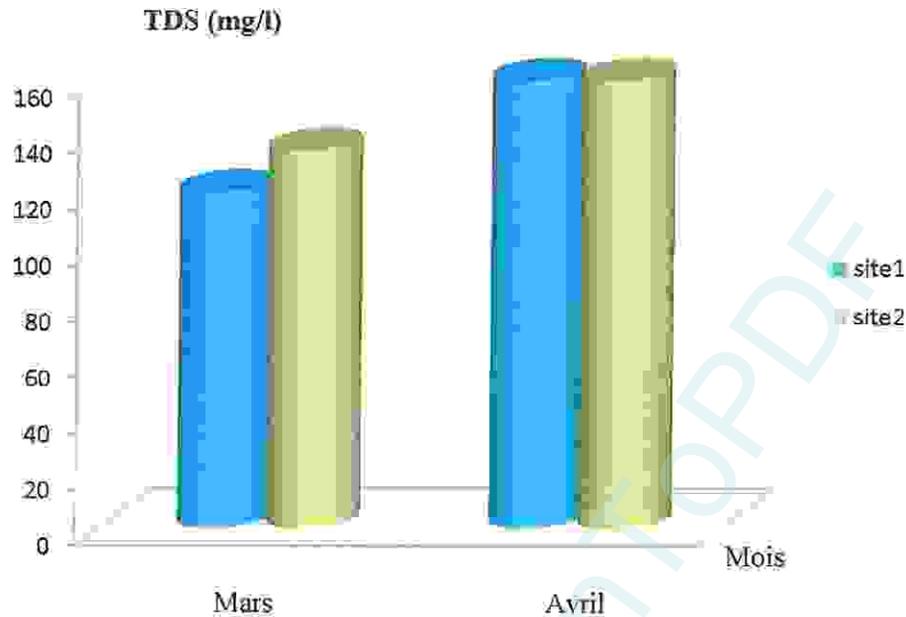


**Fig.18. Variation de la conductivité dans l'eau du Lac oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).**

La conductivité de l'eau du lac durant le mois de mars, varie entre 250 et 230  $\mu\text{s}/\text{cm}$  et durant le mois d'avril elle varie entre 280 et 250  $\mu\text{s}/\text{cm}$  respectueusement dans les stations 1 et 2 (Figure 18), ce qui signifie que l'eau est moyennement minéralisée. (Merzoug, 2009).

#### 1.4. Le taux des sels dissous(TDS) :

Les teneurs en sels dissous de l'eau peuvent être mesurées et exprimées de différentes manières selon la période des prélèvements. (Rodier, 1996).

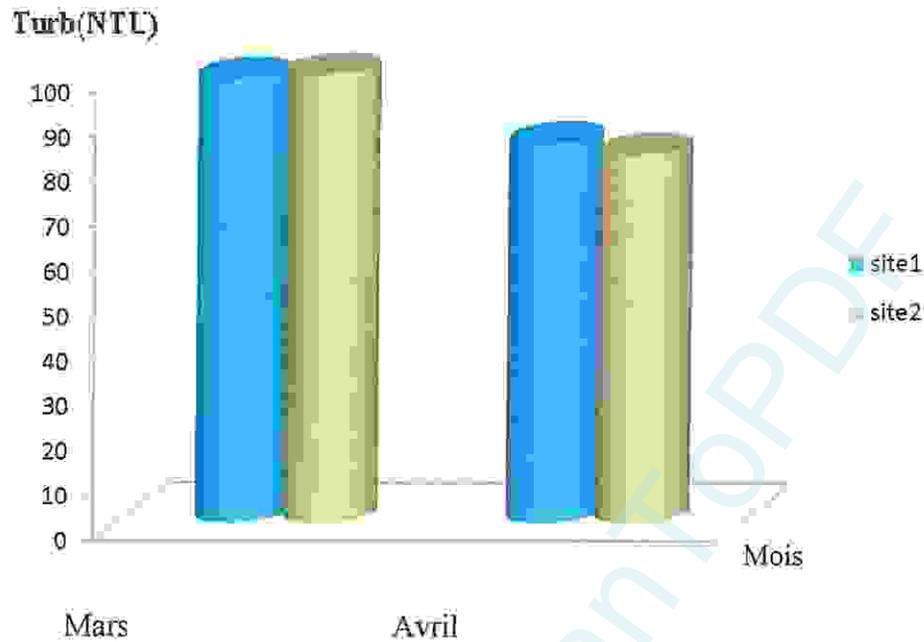


**Fig.19. Variation spatio-temporelles du taux des sels dissous (TDS) dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).**

La mesure de TDS pendant le mois de mars permet d'illustrer que la valeur maximale enregistrée est 135 mg/l dans la station 1, tandis que la valeur minimale 120 mg/l est enregistrée au niveau de la deuxième et durant le mois d'avril la valeur est de 160 mg/l pour les deux stations cette légère différence s'explique par l'effet d'autres paramètres tel que la minéralisation de l'eau ; la conductibilité. (Fig.19) (Merzoug, 2009).

### 1.5. La turbidité :

La turbidité est favorisée par la pluviométrie. Dans les eaux profondes, la turbidité empêche la lumière de passer et influence ainsi la végétation. (Rodier, 2005).



**Fig.20. Variations de la turbidité de l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et avril).**

Les résultats obtenus pour les deux sites, pendant les deux prélèvements se situent entre 99 et 100 (NTU) pendant le mois de mars, et de 84,8 à 82,3 pour le moi d'avril, ce que signifie que les eaux du lac sont très troubles surtout en mars ( $5 < NTU < 30$ ) soit par les particules organiques soit par des colloïdes ou de plancton. (Merzoug, 2009).

D'après les résultats (Fig. 20), Les grandes valeurs sont enregistrées dans les deux stations pendant le mois de mars dues à une période pluviale; ce qui nous permet de dire que l'eau du lac est polluée durant cette période selon les normes OMS de 2006

#### 1.6. Le calcium :

Le calcium est un élément de la dureté de l'eau. Ces teneurs dans les biotopes terrestres ou limniques présentent une importance écologique majeure. (Merzoug, 2009).

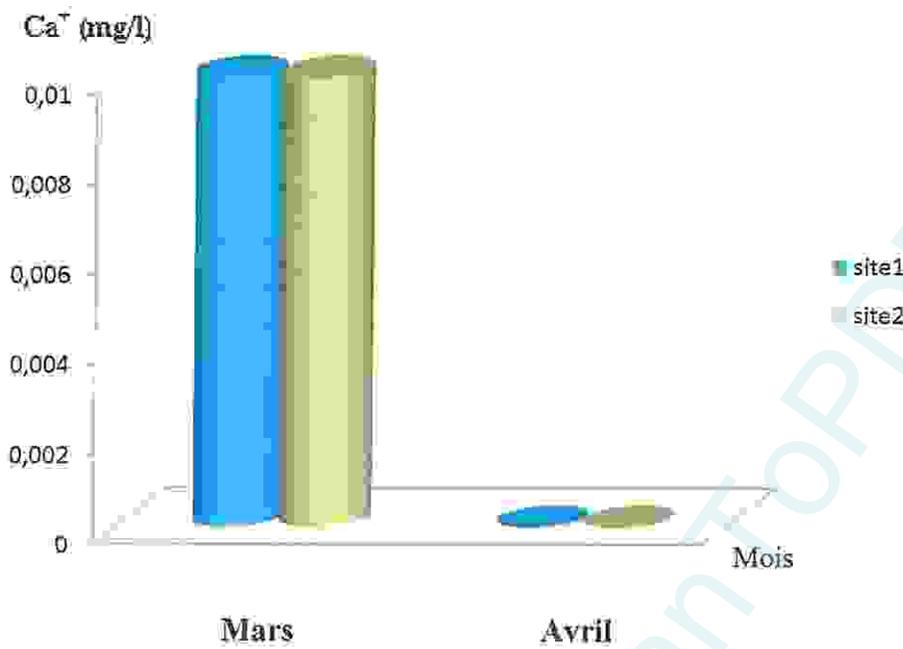


Fig.21. Variations des teneurs en Calcium dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois (mars et d'avril).

L'eau de lac Oubeira présente une valeur dans les deux stations de 0.01mg/l en mars et une valeur nulle 0,0 mg/l dans les deux stations durant le mois d'avril (Fig.21). Ceci peut être lié directement à la nature géologique des terrains traversés par l'eau. (Merzoug, 2009).

### 1.7. La dureté totale TH :

La dureté d'une eau est due principalement à la présence de sels de calcium sous forme de bicarbonates, de sulfates, et de chlorures ; la concentration en ions alcalino-terreux, que l'on mesure globalement par le titre hydrotimétrique (TH). (Aouissi, 2007).

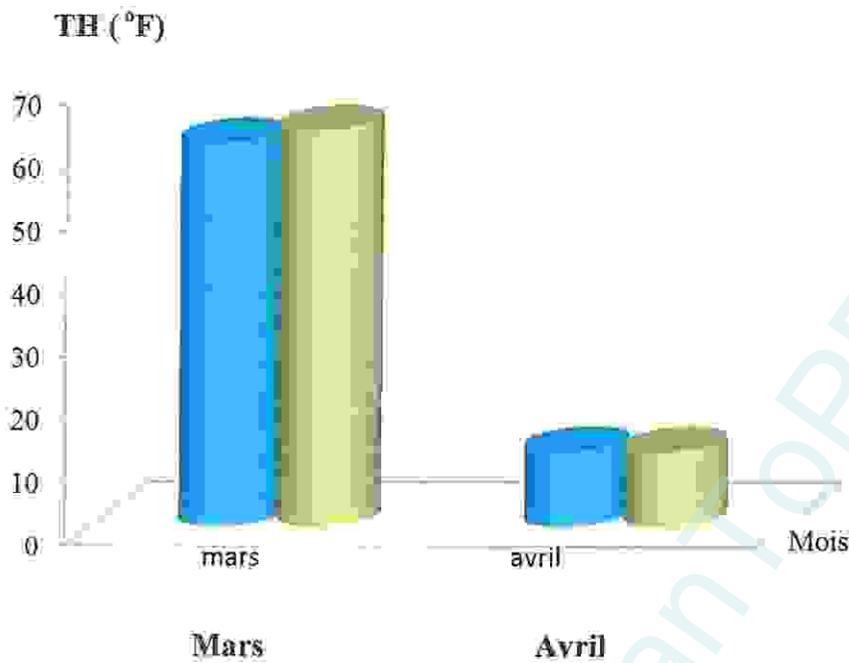
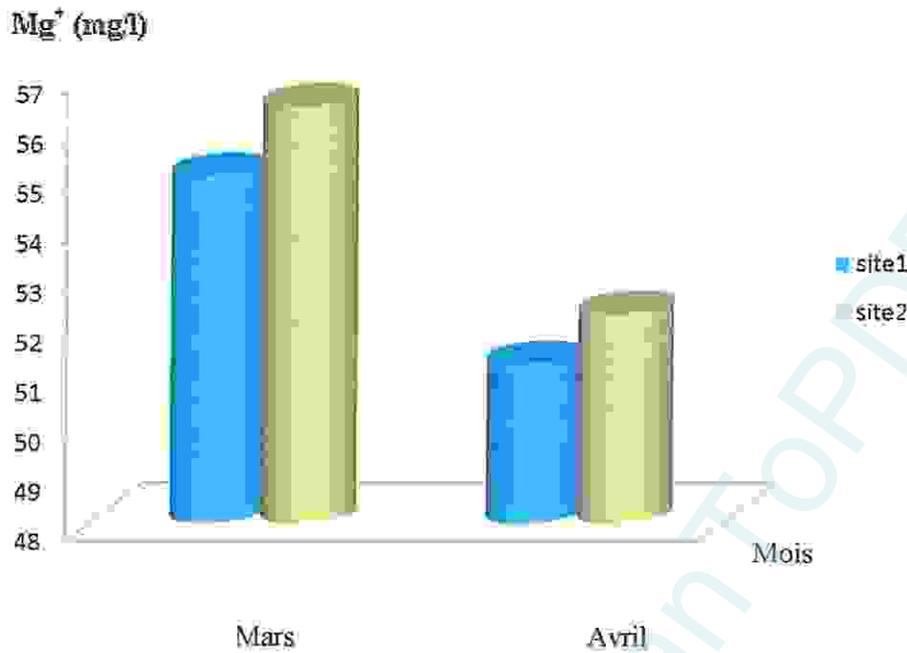


Fig.22. Variation de la dureté totale de l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).

La dureté enregistrée au niveau du lac Oubeira est comprise entre 14°F et 13.5°F pour le mois de mars et selon le classement français l'eau du lac est moyennement douce contrairement à celle enregistrée durant le mois d'avril qui nous permet de dire que l'eau du lac est dure.

#### 1.8. Le magnésium :

Le magnésium constitue un élément majeur dans la dureté de l'eau, il est présent sous forme de carbonates ou de bicarbonates (Merzoug, 2009).



**Fig.23. Variations des teneurs en Calcium dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois (mars et d'avril).**

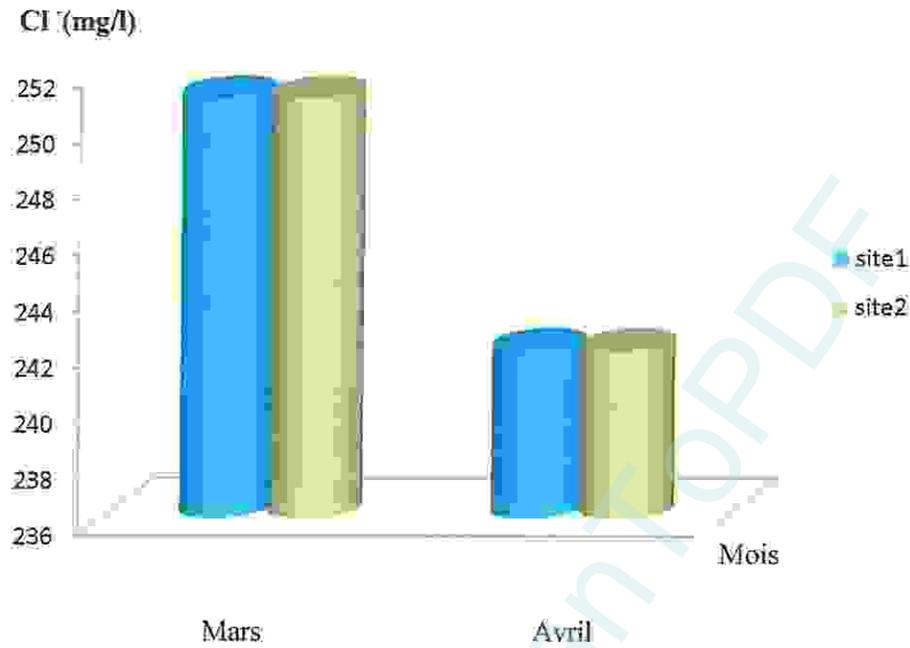
Les teneurs du magnésium (Fig.23) sont assez proches les unes des autres. Les valeurs maximales (55 et 56,4 mg/l) sont observées pendant le mois de mars, due probablement à la pluviométrie et les valeurs minimales en avril (51,22 et 52,23 mg/l).

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau du Ministère des ressources en eaux, l'eau du Lac oubeira est polluée.

#### 1.9. Le chlorure :

L'eau contient presque toujours des chlorures mais en proportion très variables, leur teneur augmente avec le degré de minéralisation de l'eau.

Les ions de chlorures proviennent des lentilles argileuses présentes dans les alluvions. (Chaouch *et al.*, 2009).



**Fig.24. Variation des chlorures dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois (mars et d'avril).**

Les teneurs calculées dans les deux stations sont identiques arrivées à 251mg/l pour le mois de mars et 242,6mg/l pour le mois d'avril, cette valeur a dépassée la norme de potabilité « 250 mg/l » donc l'eau du lac oubeira est polluée selon les normes OMS de 2006.

#### **1.10. Les matières en suspension (MES) :**

Les eaux superficielles contiennent des matières en suspension et des teneurs en mg/ml qui ne posent pas de problème majeur. (Benabda et al, 2010).

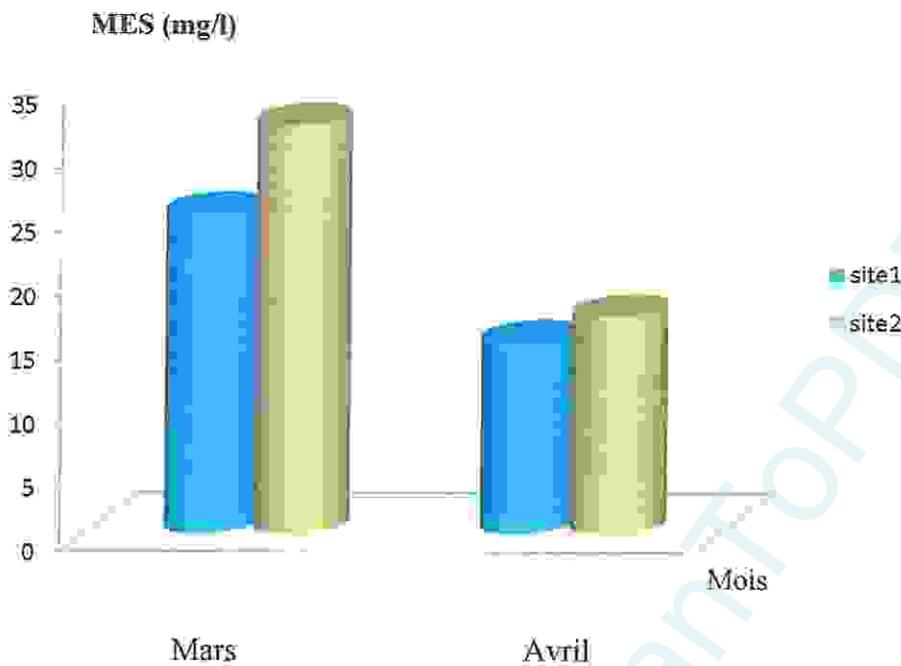
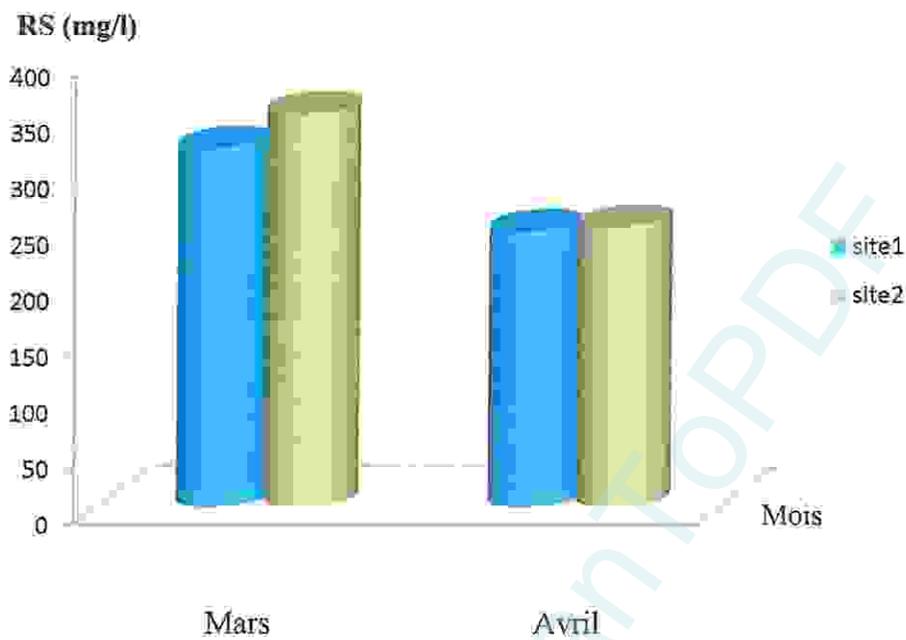


Fig.25. Variations des matières en suspension (MES) en mg/l dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois (mars et d'avril).

L'histogramme ci-dessus montre que le taux des matières en suspension le plus élevé (25 mg/l et 32mg/l) est enregistré pendant le mois de mars c'est qui est due principalement à la pluviométrie. (Merzoug, 2009).

#### 1.11. Le résidu sec à 105°C:

Le résidu sec est la quantité de la matière solide dans l'eau, la somme des matières en solution et en suspension. Ces dernières donnent à l'eau sa couleur brunâtre et parfois sombre, qui conditionne la pénétration de la lumière dans le milieu influençant ainsi la faune et la flore aquatique. (Merzoug, 2009).



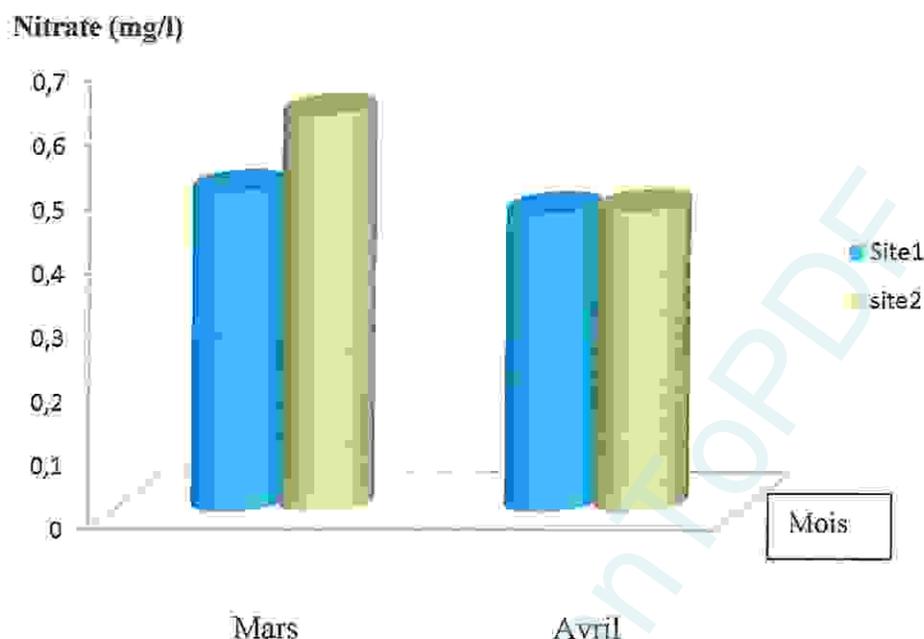
**Fig.26. Variations des teneurs en résidu sec (RS) en mg/l dans l'eau du Lac Oubeira en du moi de (mars et avril).**

Les résultats obtenus (Fig.26) montrent que les valeurs du résidu sec enregistrées pendant le mois de mars (320(S1) et 351(S2) ) sont supérieures à celles calculées pendant le mois d'Avril (246(S1) et 250(S2)) au niveau de deux stations. Ces résultats justifiés par la présence d'une grande quantité de tourbe durant le mois de mars par rapport au mois d'avril.

Néanmoins ces valeurs semblent être moins importantes selon l'OMS qui recommande une valeur limitée moins de 1000 mg/l.

### 1.12. Les nitrates :

Les nitrates existent à l'état naturel, dans les sols, dans les eaux et dans toutes les matières végétales. Ils proviennent de la décomposition naturelle par des micro-organismes, de matières organiques azotées telles que les protéines des végétaux, des animaux et des excréta d'animaux. Ils parviennent ainsi aux eaux superficielles par les nappes d'eau souterraines et par le ruissellement des terres agricoles en hiver. (Merzoug, 2009).

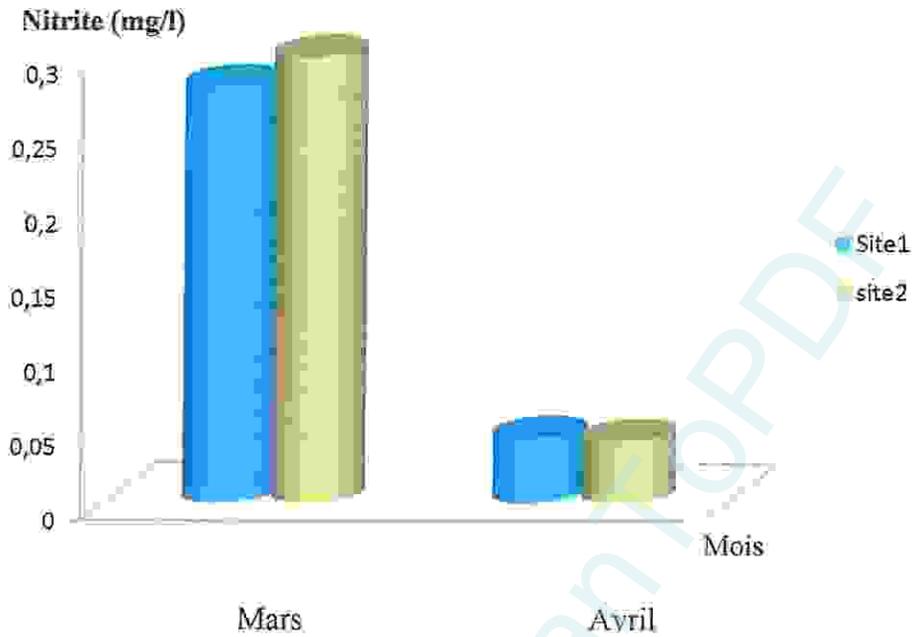


**Fig.27. Variations des teneurs des nitrates dans l'eau du Lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).**

Les teneurs en nitrate dans la deuxième station sont légèrement élevés par rapport à la première (Fig.27) pendant les deux mois, ce qui est due probablement à l'utilisation des engrais dans l'agriculture. (Merzoug, 2009).

### 1.13. Les nitrites :

Le nitrite est un élément toxique, le  $\text{NO}_2$  est la forme la moins stable dans le cycle de l'azote. Il est issu de la réduction de l'ammonium  $\text{NH}_4$ . Son origine est liée à l'agriculture et aux rejets urbains et industriels. (Sayad, 2008).



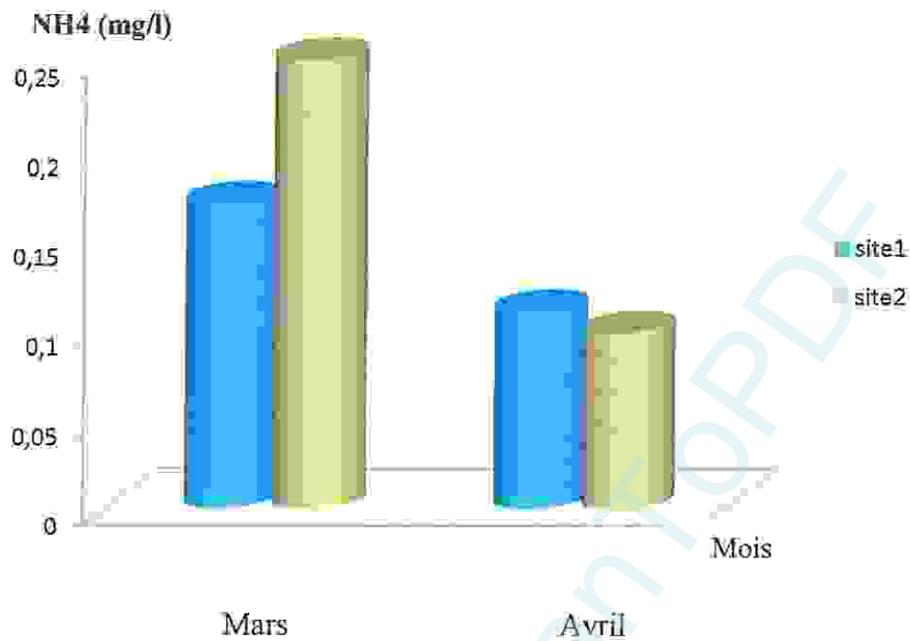
**Fig.28. Variations des teneurs des nitrites dans l'eau du Lac Oubiera en fonction du mois (mars et d'avril).**

La (fig 28.) montre que les teneurs en nitrites enregistrées durant les deux mois ne dépassent pas les normes OMS requises. Le maximum enregistré est de 0. 30 mg/l au niveau de la deuxième station du mois de mars due probablement aux activités agricoles.

#### **1.14. L'ammonium :**

L'ammonium est souvent trouvé sous forme ionisée ( $\text{NH}_4^+$ ) ou ionisée ( $\text{NH}_3$ ), il peut avoir pour origine dans les eaux superficielles : la matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou humaine, les rejets industriels, les engrais, etc. (Boukertouta, 2009).

Sa présence est à rapprocher des autres éléments azotés identifiés dans l'eau comme les nitrates et les nitrites.



**Fig.29. Variations des teneurs de l'ammonium dans l'eau Lac Oubeira en fonction du moi de (mars et d'avril).**

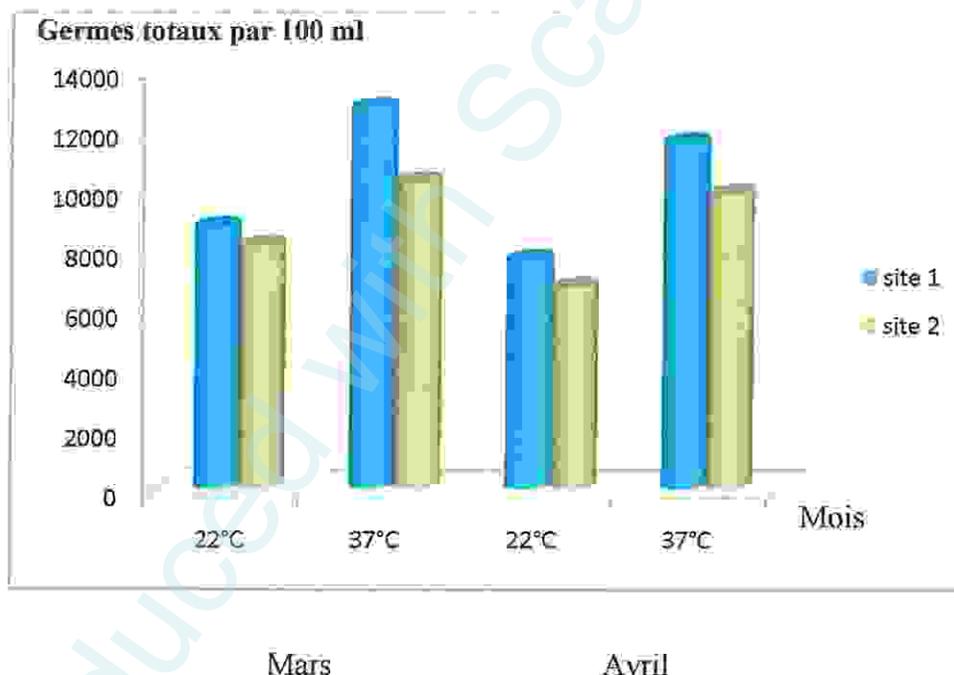
La teneur en ammonium durant le mois de mars est élevée par rapport au mois d'avril (Fig.29.), à cause de la teneur en nitrites et en nitrates, ces derniers sont utilisés et transformés en ammoniums par les bactéries nitrifiantes (pollution bactériologique), donc l'ammonium est oxydé par ces derniers. (Merzoug, 2009).

**2. Qualité bactériologique de l'eau de du Lac Oubeira :**

L'analyse bactériologique d'une eau est très importante pour juger sa qualité. Les résultats obtenus sont explicités ci-dessous :

**2.1. Germes totaux :**

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits "revivifiables" permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.



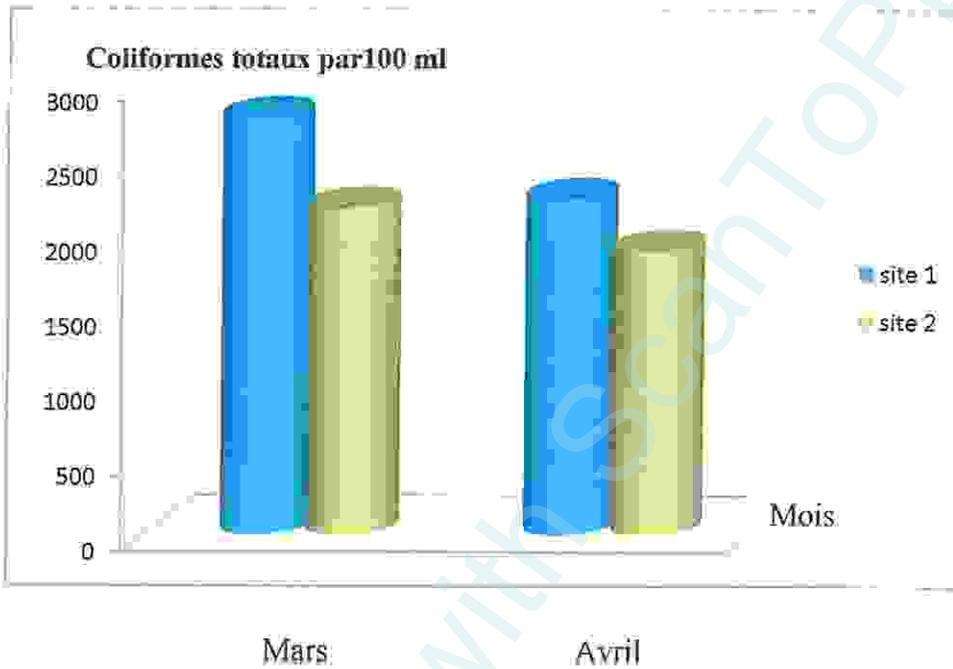
**Fig.30. Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables dans l'eau du lac Oubeira en fonction du mois de (mars et d'avril).**

Nos résultats ont montrés que le nombre des germes totaux incubés à 22°C en mois de mars est plus élevé qu'en mois d'avril dans les deux parties du lac, avec un taux maximum de 8754 GT/ml dans la station 1 (en mars) et un minimum de 7680 GT/ml (en avril) (Fig.31) et même chose est observé pour ceux qui ont été incubés à 37°C avec 10230 GT/ml dans la

station 1 et 9840 GT/ml dans la station 2, cela peut s'expliquer par une diminution des chutes de pluies.

### 2.2. Coliformes totaux :

La présence des coliformes dans un milieu signifie forcément une contamination fécale d'origine humaine (Camille *et al.*, 2003).



**Fig.31. Evaluation du nombre des coliformes totaux dans l'eau du lac oubcira en fonction du moi de (mars et d'avril).**

L'effectif des coliformes totaux a atteint son maximum en mois de mars dans les deux stations 1 et 2 respectivement avec 2780 UFC/100ml et 2178 UFC/100ml (Fig.32). Par contre le minimum est observé dans la station 2 en mois d'avril avec 1894 UFC/100ml, ce la s'explique par l'abondance des pluies et les déchets importés par les eaux des ruissellements durant ce mois.

### 2.3. Coliformes fécaux :

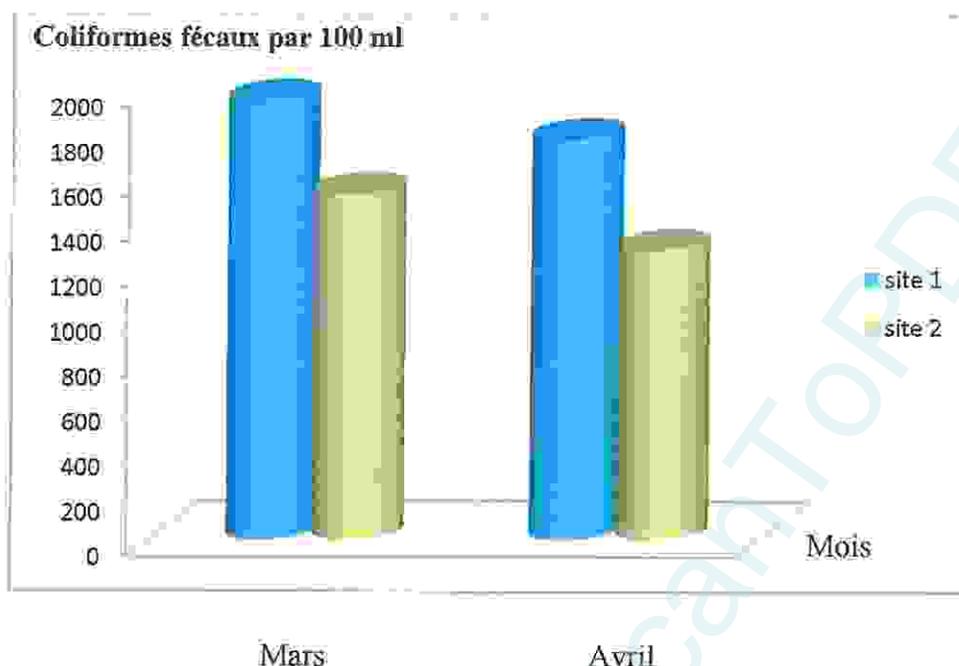


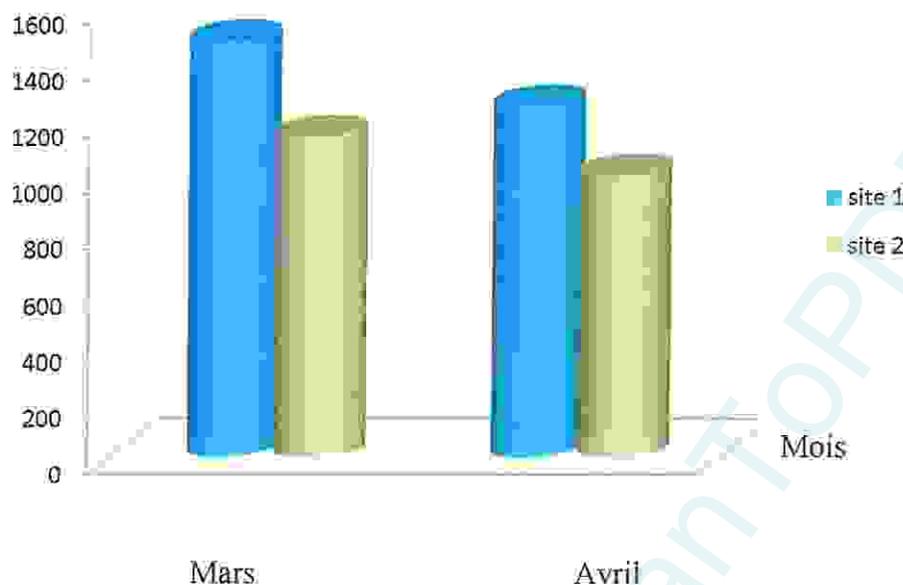
Fig.32. Evaluation du nombre des coliformes fécaux dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et avril).

Le dénombrement des micro-organismes fécaux, dans les deux stations, a montré une différence non significative entre les stations 1 et 2 par un maximum enregistré avec 1954 UFC/100ml en mois de mars dans la station 1 et un minimum de 1290 UFC/100ml en mois d'avril (Fig.33). Ces eaux sont polluées et inutilisables en irrigation selon les normes OMS de 2006.

### 2.4. Streptocoques fécaux :

Le nombre de streptocoques fécaux est directement lié à la quantité de matière fécale animale se trouvant dans l'eau. (Camille *et al.*, 2008).

Streptocoques fécaux



**Fig.33. Evaluation du nombre des streptocoques fécaux dans l'eau du lac oubeira en fonction du mois de (mars et avril).**

Le résultat du dénombrement des streptocoques D, nous montre que les effectifs les plus élevés ont été observés durant le mois de mars au niveau de la station 1 avec un maximum de 1480 streptocoques fécaux par/100 ml, et un minimum 1290 au niveau de la station 2 cela peut être due à l'introduction locale d'une matière fécale. selon les normes OMS l'eau du lac oubeira est très polluée.

### 2.5. Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) :

Les spores des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) constituent généralement des indices de contamination ancienne. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

**Tab.5. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR).**

Période	Station1	Station2
Avril	80	78
Mai	58	65



D'après nos résultats, l'eau du Lac oubeira contient de germes sulfito-réducteurs responsables des maladies graves donc l'eau du lac oubeira est très polluée. (Merzoug, 2009).

### 2.6. Recherche des germes pathogènes :

Pour la recherche de germes pathogènes (Les staphylocoques, les entérobactéries et autres), on a utilisé plusieurs milieux et tests biochimiques. Les résultats des aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées et leur identification biochimique sont résumés dans les tableaux et figures ci-dessous :

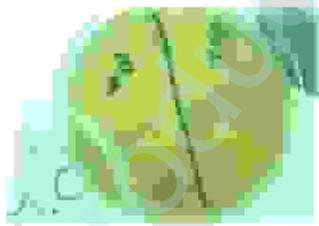
#### 2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram

Les caractères morphologiques et les colorations sont détaillés dans le tableau suivant :

Produced with Scantopdf



Tab.6. Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées de l'eau du Lac Oubeira.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopiques
<p>Gélose nutritive (GN)</p> 	<p>Circulaire, lisse, plate, blanchâtre transparente</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Irrégulière, lisse, plate blanchâtre</li> <li>- Bombée, lisse, à contour</li> </ul>	<p>Bacilles isolés, Gram négatif.</p> 
<p>Milieu Chapman (G Ch)</p> 	<p>Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche ou jaune.</p>	<p>Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p> 
<p>Gélose Mac Conkey (MC)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Marron élevée, lisse brillante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif</li> </ul> 

2.6.2. Identification biochimique :

A. Galerie classique

Les résultats de la galerie classique sont notés dans le tableau ci-dessous :

Tab : 7. de la galerie classique d'*E.coli*.



Nitrate réductase	+
Uréase	-
Citrate de Simmons	-
Amplasme test - VP	-
Rouge du nitrate	+
Hydrogène	-
Test de réduction	-
Prothine	+
Production d'indole	+

Fig.34. Résultats de la galerie classique (*E.coli*).

B. La galerie Api20E

Les résultats de la galerie API20E sont notés dans le tableau ci-dessous :

Tab : 8. Résultats d'identification des germes par API20E

Milieu	Nom des bactéries
Gélose Hecktoen	<i>E.coli</i>
Gélose Hecktoen	<i>Serratia liquefaciens</i>



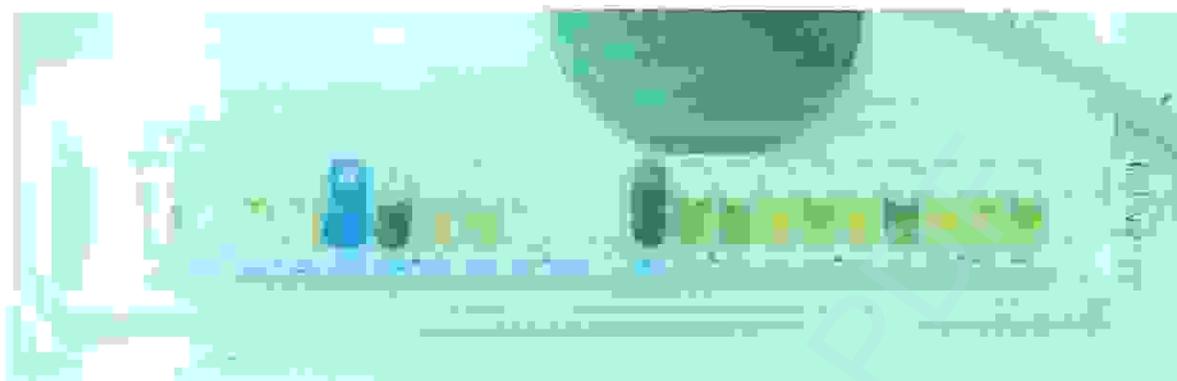


Fig.35. Profil biochimique de *Serratia liquefaciens* par la galerie API20E.



Fig.36. Profil biochimique d'*E.coli* par la galerie API20E.

2.6.3. Test complémentaire:

Dans de nombreux laboratoire, la recherche de la staphylocoagulase libre est souvent le seul test d'identification des souches de *Staphylococcus aureus* à cause de sa sensibilité (92 à 99%) et surtout de sa spécificité (100%). Cependant, ce test a des inconvénients dont la possible dissolution du caillot avant lecture et un temps de réalisation longue.

Tab.9. Identification de *Staphylococcus aureus* par la staphylocoagulase.

	catalase	Mannitol	mobilité	staphylocoagulase
Station1	+	+	-	-
Station2	+	-	-	-

D'après les résultats, la coagulase est négative pour les deux échantillons cela se traduit par l'absence de l'espèce *Staphylococcus aureus*



- Pour l'échantillon 1 : la coagulase est négative et le mannitol est positif donc l'espèce présente est : *Staphylococcus saprophyticus*.



Fig. 37 : mannitol positif(+).

- Pour l'échantillon 2 : la coagulase est négative et le mannitol est négatif donc l'espèce présente est : *Staphylococcus epidermidis*.



Fig. 38 : mannitol négatif(-).

Produced with ScantopDF



Les écosystèmes aquatiques algériens classés site Ramsar sont très protégés. Leur fonctionnement et leur hydrologie tributaires souvent des conditions climatiques permettent durant certaines périodes de l'année (périodes des hautes températures, principalement en été) l'installation et la prolifération de microorganismes pathogènes. Le Lac Oubeira (36° 50' N, 08°23' E), occupant une superficie de 2200 ha est l'un des hydro-systèmes les plus importants d'Algérie et fait partie du complexe de zones humides du Nord-est algérien, d'ancien marais, très riche, entouré d'une forêt dense de chênes liège.

Une analyse physico-chimique et bactériologique est souvent utilisée pour étudier et vérifier l'état de santé d'un écosystème aquatique.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'état de l'eau du Lac Oubeira pendant les deux mois (Mars et Avril) en comparant les paramètres physico-chimiques et bactériologiques des deux stations du côté Est et Ouest du lac.

L'étude bactériologique réalisée (dénombrements et recherche de germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et les germes sulfite-réducteurs), a permis d'évaluer un degré de contamination sérieux surtout au niveau de la première station. Les résultats ont révélés la présence des germes de contamination fécale (*E. coli*, *streptococcus*..). Aussi nous avons dénombré un taux important de bactéries pathogènes, tel que (*Serratia et Staphylococcus*), capable de causer des maladies graves.

Les analyses physico-chimiques nous ont montré durant la période de notre étude, que l'eau du Lac Oubeira, dans les deux stations est dure à cause des concentrations en ions calciums et magnésiums, qui ont arrivées à des valeurs maximale situées entre 61° et 63 °F. Aussi les autres éléments minéraux (Nitrate, Nitrite et Ammonium), ont des concentrations normales, ce qui indique, globalement, une pollution chimique minime de ce plan d'eau.

Reste à signalé que, notre étude a révélé que la première station est plus polluée que la deuxième, à raison de l'utilisation excessive des engrais chimiques et les rejets domestiques qui influencent négativement sur la physionomie, l'écologie et la qualité biologique de l'eau. Cette influence va fragiliser cet écosystème qui s'y dégrade progressivement malgré son statut.

En perspectives, le Lac Oubeira est un écosystème agréable, et malgré l'utilisation de son eau, elle reste une eau qui peut être sauvée. Donc, il faut la protéger pour rendre la vie à la flore et la faune disparue par les activités humaines.



Produced with ScantOPDF

## Les livres :

**Beaux J-F., (1998).**L'environnement.Repère pratique.NATHAN.155P.

**Cardot C., (1999).**Les traitements de l'eau. Procédés physico-chimiques et biologiques. Ellipses .247p.

**Delarras C., (2003).**Microbiologie de l'environnement avec législation.Travaux pratiques commentés.gaetan morin éditeur.223p.

**Dellarras C avec la participation de Trébaol., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux.Reglementation-Prélevements-Analyses.Tec et Doc.249p.

**Dercourt J., (2006).** Les eaux continentales. Edition EDP Sciences. 230p.

**Gobat J-M., M Aragno., W Matthey, (2003).** Le sol vivant. Deuxième édition revue et augmentée, PPUR, 289p.

**Lightfoot N.F., (2002).**Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau.Directive pour l'assurance qualité.387p.

**Pechère J-C et collaborateurs. (1982).**Les infections.edisem inc.497p.

**Perry J., Staley J.,Stephen L.(2004).**Micrbiologie.DUNOD.856p.

**Rejesek F., (2002).**Analyse des eaux.Tec et Doc.358p.

**Rodier J.,(2005).**L'analyse de l'eau.8<sup>ème</sup> édition.DUNOD.1383p.

**Zerluth J., Gienger M., (2004).**L'eau et ses secrets. Edition désirés.223p.

## Les mémoires:

**Amor Abda W., (2009).***Etude physicochimique et bactériologique des eaux d'un lac artificiel : cas du barrage de Zit-Emba (wilaya de Skikda).* Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma.79p.

**Amri S., (2008).** *Inventaire des cyanobactéries potentiellement toxique dans la tourbière du lac Noir « PARC NATIONAL D'EL-KALA » (ALGERIE).* Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar d'Annaba.122p.

**Aouissi A ., (2009)** *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie).* Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma.132p.

**Benabda N .,Seridi H .,(2010).***Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel :cas du barrage ZIT-EMBA(W .SKIKDA).*Mémoire de Master . Université 8 Mai de Guelma.74p.

**Bouchaala L., (2010).***Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati(Guelma).*Mémoire de Magister Université 8 Mai 1945 de Guelma.135.

**Boukertouta S.,Sellaoui C.,Tahraoui C.,(2009).***Contribution à l'étude des paramètres physicochimiques et l'identification fongiques à partir des eaux du lac Oubeta.*Mémoire d'ingénieurat.Université 8 Mai 1945 Guelma.36p.

**Chaouch R.,Moumed S.,Mebarki F.,(2009).***Suivi de quelques paramètres physicochimiques et bactériologiques dans les eaux du barrage et de l'Oued de Bouhamdane.*Mémoire d'ingénieurat.Université 8 Mai 1945 de Guelma.56p.

**Djebbar S., Zahed N., (2008).** *Caractérisation de quelques paramètres physicochimiques et l'identification fongiques à partir des eaux du lac Oubeia.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai 1945 Guelma. 62p.

**Karaali R., Khettal M., Reggam R., (2008).** *Etude comparative de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées avant et après épuration : cas de la station d'épuration de la ville de Guelma (Nord-est Algérien).* Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai de Guelma. 110p.

**Merzoug A., (2008).** *Comportement diurne du Canard chipeau *Anas strepera* et de la Foulque macroule *Fulica atra* hivernant à Garaet Hadj Taher (wilaya de Skikda).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 85p.

**Merzoug S., (2009).** *Étude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 113 p.

**Raggam A., (2010).** *Évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux potables : cas de la station de traitement de Hammam Debagh- Guelma.* Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 91p.

**Rouaiguia M., Cheriet M., (2010).** *Qualité bactériologique des eaux de Oued Messida (wilaya d'El-Taref).* Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 120p.

**Sayad L., (2008).** *Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (Wilaya EL Tarf).* Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar-Annaba. 76p.

## Les articles:

**Amri S., Branes Z. et Oudra B., (2010).** Inventaire des Cyanobactéries potentiellement toxique dans la tourbière du lac Noir (Parc national d'El-Kala) (Algérie). *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, Vol. 4, N°1, p. 49-68.

**Dagnra A.Y., e-KettC H. Fa, Hounkpatil A, David M., Dosso M., (2000).** Evaluation de deux tests d'identification de *Staphylococcus aureus*. Editions scientifiques et médicales.Elsevier SAS. 533p.

**Boumezbeur A., (2003).** Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar, Lac Noir, Wilaya d'El Tarf.

**Djamali M., (2010).** Comptes Rendus Biologies. Vol. 333, p. 744–754.

**Benslama M., Zanache H. et Djili K., (2007).** Morphoanalytical characteristics of lac Noir Peat Bog (North East of Algeria). *European Journal of Scientific Research*. ISSN 1450-216X Vol.17 No.3, p.416-424.

**Institut Pasteur, (1978).** Les milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. Publibab.575p.

**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.

**Sayad L., Houhamdi M., Drouiche N., et Mouchara N., (2009).** Qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de surface de l'écosystème lacustre « lac des oiseaux » (Wilaya d'El Tarf- site Ramsar).

**BioKar diagnostics, (09/02/2009).** Bouillon cœur- cerveau.2p.

## Webographie

1. **Membres Multimania**, (page consultée le 11 Juin 2011 à 9:00 ). La pollution. [en ligne]. <http://membres.multimania.fr/pollutioneauxdouces/newpage.html>
2. **Asal**, (page consultée le 05 Mai 2012 à 17:43 ).Le cirque de Ain Ourka. [en ligne]. <http://www.asal.dz.org/files/atlas/Zones%20humides1.pdf>
3. **Nord Nature Environnement**, (page consultée le 18 Avril 2012). La tourbière. [en ligne]. <http://www.nordnature.org>
4. **Boufroy K., Meimarakis G., Tariel G.**, (page consultée le 12 Avril 2012 à 02 :28). Le temps de décomposition de la matière organique végétale. <http://www.scribd.com/doc/48945759/Joan-Frigole-delimitacion-objeto-investigacion>
5. **Bourganeuf Royère de Vassivière**, (page consultée le 15 Avril 2012 à 23 :11). Qu'est ce qu'une tourbière ?[en ligne]. <http://www.cc-bourganeuf-royeredevassiviere.fr/-Qu-est-ce-qu-une-tourbiere->
6. **Futura-Environnement**, (page consultée le 15 Avril 2012 à 23 :00). A travers les tourbières de Saint-Pierre et Miquelon [en ligne]. [http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/geographie/t/saint-pierre-et-miquelon/d/a-travers-les-tourbieres-de-saint-pierre-et-miquelon\\_457/c3/221/p2/](http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/geographie/t/saint-pierre-et-miquelon/d/a-travers-les-tourbieres-de-saint-pierre-et-miquelon_457/c3/221/p2/)
7. **Québec**, (page consultée le 12 Avril 2012 à 01 :34). Identification et délimitation des écosystèmes aquatique, humides et riverains [en ligne]. <http://www.scribd.com/doc/42850654/Retention-d%E2%80%99azote-par-les-zones-humides-riveraines>
8. **Espace des sciences**, (page consultée le 15 Mai 2012 à 23 :00). La tourbière [en ligne]. <http://www.espace-sciences.org/archives/science/17186.html>
9. **Frasne**, (page consultée le 25 Juin 2011 à 23 :00). La tourbière [en ligne]. <http://www.frasne.net/tourbieres/tourbiere.htm>

## MODE OPERATOIRE DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES :

### Dosage des ions nitrites par la méthode spectrophotométrique (Rodier) :

#### ➤ Principe:

Les ions nitrites réagissent en milieu acide (PH=1,9) avec la sulfamide en formant de sel di azonium (diazotation) qui forme avec le N – (1-naphtyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté un colorant azoïque rouge. Longueur d'onde max. = 543 nm

#### ✓ Réactifs :

##### ○ Solution de nettoyage :

Solution d'acide chlorhydrique (à  $d=1,12g=2,5\%$ ).

##### ○ Solution du réactif :

20g de Sulfamide, ( $C_6H_8N_2O_2S$ ) à dissoudre dans un mélange de 50ml d'acide phosphorique ( $d=1,71g/ml=85\%$  de masse) et 250 ml d'eau distillée.

Dans cette solution dissoudre 1g de : N – (1-naphtyl)-éthylènediamine--dichlorohydraté ( $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ )

Compléter avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée à un volume de 500ml, cette solution est stable pendant un mois si elle est gardée à l'obscurité (bouteille en verre marron bien fermée) et 4 ° C au réfrigérateur.

##### ○ Solution d'acide phosphorique :

Dans une fiole jaugée, de 250 ml, dissoudre 25 ml d'acide phosphorique ( $d= 1,71.g/ ml=85\%$  en masse) dans 150ml d'eau distillée. Après refroidissement à la température ambiante, on complète à l'eau distillée à 250ml.



○ **Solution standard de 100mg/l :**

Dissoudre 0,4 926g ± 0,0002 de Nitrites de Sodium (NaNO<sub>2</sub>), sécher pendant 2 heures à 105 °C dans 750 ml d'eau distillée compléter à 1L. 1 ml=100gr = 0.1mg de NO<sub>2</sub>-N. Cette solution est stable pendant 1 mois à l'obscurité et à 4°C.

**Dosage de nitrates NO<sup>3-</sup> [Méthode au salicylate de sodium] :**

➤ **Principe :**

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

✓ **Réactifs :**

Solution de salicylate de sodium à 0.5% (renouveler toutes les 24 h).

0.5 gr de salicylate de sodium dans 100 ml d'eau distillée.

○ **Solution d'hydroxyde de sodium 30%**

30 gr de NaOH dans 100ml d'eau distillée.

○ **H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré.**

○ **Tartrate double de sodium et de potassium.**

Hydroxyde de sodium NaOH .....400g.

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

Eau distillée .....qsp 1000 ml

Laisser refroidir avant de compléter à 1000 ml.

Cette solution mère doit être conservée dans un flacon de polyéthylène.

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

Nitrate de potassium anhydre .....0,722 g

Eau distillée .....1000 ml

Chloroforme .....1 ml



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

✓ **Appareillage.**

Spectrophotomètre U.V visible.

✓ **Mode opératoire**

Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser.

Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30 %

Ajouter 1 ml de salicylate de sodium.

Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve 75-88°C.

(Ne pas surcharger ni surchauffer très longtemps) laisser refroidir.

Reprendre le résidu avec 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, laisser reposer 10 min.

Ajouter 15 ml d'eau distillée.

Ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium puis passer au Spectro au 415 nm.

✓ **Expression des résultats :**

Le résultat est donné directement en mg/l à une longueur d'onde de 415 nm

**Légende :**

S : solution ; gr : gramme ; Spectro : spectromètre ; qsp : quantité suffisante pour.

**Dosage de l'ammonium [méthode spectrophotométrique ISO 7150/1-1984(F)] :**

➤ **Principe :**

Mesure spectrométrique du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et Hypochlorite en présence de nitrosopentacyanoferrate (III) de sodium (nitroprussiate de sodium).



✓ **Réactifs :**

- eau exempte d'ammonium.

- **Réactif coloré** : Peser 13g + ou - 1g de salicylate de sodium, 13 g + ou - 1 g de citrate trisadique dihydraté et 0.097g de sodium nitropentacyanoferrat (III) dihydraté à dissoudre dans 100 ml d'eau distillée. Conserver dans un récipient en verre brun.

RII

Cette solution est stable pendant 2 semaines.

- **Dichloroisocyanurate de sodium** : prendre 3,2g d'hydroxyde de sodium dans 50ml d'eau distillée, + 0,2g +ou - 0,002g de dichloroisocyanurate dihydraté. Dissoudre dans 100 ml d'eau distillée. Conserver dans un récipient en verre brun.
- **solutions étalons** : chlorures d'ammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ou le sulfate d'Ammonium.

RI

✓ **Mode opératoire :**

- prendre 40 ml d'eau à analyser
- ajouter 4 ml du réactif I
- Ajouter 4 ml du réactif II et ajuster à 50 ml avec le  $\text{H}_2\text{O}$  distillée et attendre 1h.30

L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de  $\text{NH}_4^+$

Effectuer la lecture à 655 nm.

- **Expression des résultats :**

Le résultat est donné directement en mg/L

**Légende :**

S : solution



### **Détermination du Résidu Sec [Mode opératoire (volumétrie)] :**

#### ➤ **Principe :**

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Pendant 24 h une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans un bécher taré. Le résidu desséché est ensuite pesé.

#### ✓ **Mode opératoire :**

- Tarer une capsule préalablement lavée. Rincer avec de l'eau à analyser ;
- Prélever 200 ml d'eau à analyser ;
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures ;
- Laisser refroidir pendant 1/4 heure au dessiccateur ;
- Peser immédiatement et rapidement.

#### ✓ **Expression des résultats :**

$$R/S \text{ (mg/l)} = (P_p - P_v) \times 5 \times 1000$$

$P_p$ : Poids plein de la capsule

$P_v$ : Poids vide de la capsule

### **Déterminations des matières en suspension (MES) [Mode opératoire (volumétrie)] :**

#### ➤ **Principe :**

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

#### ✓ **Mode opératoire :**

- Membranes de filtration ;



- Mettez les membranes filtrantes dans une étuve à 105 °c pendant 20 minutes ;
- Laisser refroidir dans le dessiccateur ;
- Ensuite les peser soit  $P_1$  : poids des membranes avant filtration ;
- Placer les membranes dans les rampes à filtration et faire passer 200ml d'eau à analyser à travers ;
- Rendre les membranes à l'étuve (à 105°C) afin de les sécher pendant 20 min ;
- Laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une 2<sup>ème</sup> fois soit  $P_2$  = Poids des membranes après filtration.

✓ **Matériel spécial :**

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

✓ **Expression des résultats :**

$$\text{M.E.S (mg /l)} = (P_2 - P_1) \times 5 \times 1000$$

**Dosage du Calcium ( $\text{Ca}^{+2}$ ) [Mode opératoire (volumétrie)] :**

❖ **Méthode par complexométrie :**

➤ **Principe :**

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

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



✓ **Mode opératoire :**

-Introduire 50ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 2ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur coloré ;

-Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet soit V le volume de solution d'EDTA versé.

✓ **Réactifs :**

-Indicateur coloré : Murexide ;

-Solution d'EDTA (N/50) ;

-Solution d'hydroxyde de sodium à 2N.

✓ **Expression de résultats :**

$$\text{Ca}^{+2}(\text{mg/l}) = V_{(\text{EDTA})} \times F \times 8$$

**Titre hydrotimétrique par (E.D.T.A). (TH) [Mode opératoire (volumétrie)] :**

➤ **Principe**

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe du type chélate par le sel di sodique de l'acide éthylène diaminetétracétique à pH 10.

La disparition des dernières traces d'élément libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique. En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium.

✓ **Mode opératoire**

Prélever 100ml d'eau à analyser. Ajouter 2 ml de solution tampon (PH= 9,5- 10) et quelques graines d'indicateur coloré. Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rouge vieux au bleu.

Soit V le volume de solution d'EDTA versé.



✓ **Réactifs :**

- Indicateur noir d'Euriochrome T ;
- Solution d'EDTA. (0,2N) ;
- Solution tampon ;
- Ammoniaque 34%.

✓ **Expression des résultats :**

$$TH (\%F) = V_{(ml)} \times 10$$

Expression des résultats : M.O (O<sub>2</sub>/l) = (V<sub>échantillon</sub> - V<sub>O blanc</sub>).

**Chlorure (Cl<sup>-</sup>) [Mode opératoire (volumétrie)] :**➤ **Principe :**

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

✓ **Mode opératoire :**

Introduire 25 ml d'eau à analyser, dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 02 à 03 gouttes de solution de chrome de potassium à 10%.

Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une rougeâtre qui doit persister 1 à 3 mn.

Soit V le nombre de millimètres de nitrate d'argent N/50 utilisés.

✓ **Réactifs :**

- Solution de chromate de potassium à 10% ;
- Solution de nitrate d'argent N/10.



## ✓ Expression des résultats :

$$\text{Teneur} = V_{(ml)} \times 142$$

**Dosage du magnésium ( $Mg^{+}$ ) [Mode opératoire (volumétrie)] :**➤ **Mode opératoire :**

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large. Ajouter 02 ml de  $NH_4$  à pH=10 et une pincée de noir d'eurochrome T.

Titrer par EDTA (N/50) jusqu'au virage de la couleur bleu ( $V_2$ ).

✓ **Réactifs :**

- Solution d'EDTA (N/50) ;
- Noir d'Eurochrome T ;
- $NH_4OH$  à pH=10.

✓ **Expression des résultats :**

$$[Mg^{+}] \text{ mg/l} = (V_2 - V_1) \times F \times 4,8$$

$$F = 12,5 / V(E.D.T.A)$$

$V_2$  : volume titré de calcium et de magnésium

$V_1$  : volume de calcium

○ **Facteur :**

- 50ml de solution mère de  $CaCl_2$  ;
- 02 ml de  $NaOH$  (2N) ;
- Une pincée de murexide ;



- Titrer par EDTA (N/50) jusqu'au virage de la couleur violette.

## Dosage du phosphore (minéral) :

Référence AFNOR : NF EN 1189

### Matériel :

- burette de 25 mL
- fioles jaugées de 50 mL (au moins 6 fioles)
- pipette jaugée de 5 mL ou 10 mL ou 20 mL ou 40 mL pour la prise d'essai
- pipette graduée de 10 mL pour les réactifs de coloration
- poire d'aspiration
- solution mère de phosphore à  $rN = 2,0 \text{ mg/L}$
- eau déminéralisée
- solution de molybdate acide CORROSIF
- acide ascorbique
- Spectrophotomètre réglé à 880 nm + cuves propres

### Mode opératoire :

Le volume de solution étalon est mesuré et versé à la burette

Les prises d'essai d'eau à doser sont réalisées à la pipette jaugée

Les autres réactifs sont prélevés à la pipette graduée

Suivre le protocole :

fiole n°	0	1	2	3	4	5	Essai 1	Essai 2
volume de solution mère à 2 mg/L (mL)	0	2	4	6	8	10	/	/
Échantillon (mL)	/	/	/	/	/	/	PE (voir tableau ci-dessous)	PE (voir tableau ci-dessous)
Masse de P par fiole (µg)	0	4	8	12	16	20	Entre 0 et 10,4	

Les prises d'essai sont normalisées et doivent respecter les consignes suivantes. La concentration de référence est celle de l'échantillon en ions orthophosphate :



**Précautions :**

solution de molybdate acide C : porter des gants

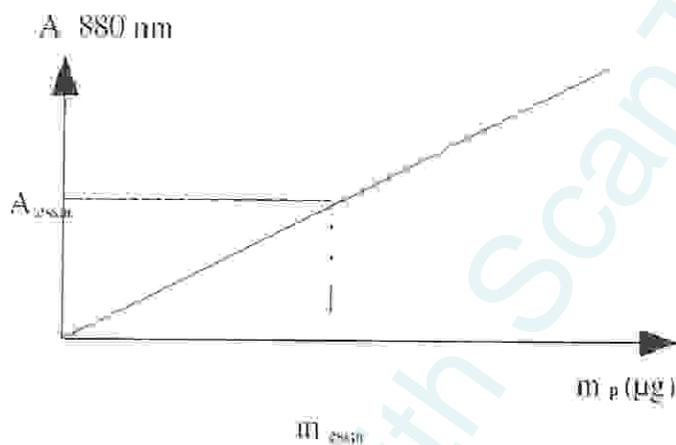
Les déchets seront recyclés avec les métaux lourds

Précision des volumes de solution étalon et des essais

Travailler avec les masses : tracer  $A=f(m)$

Confusion, dans l'expression numérique des grandeurs mesurées, entre P (31 g/mol) et  $PO_4$  (95 g/mol)

Vérifier que la prise d'essai rentre dans la gamme (diluer en cas de besoin).

**Expression des résultats :**

$$\rho_P = \frac{m_P}{PE} \quad \text{ou} \quad \rho_{PO_4} = \left( \frac{m_P}{PE} \right) \times \left( \frac{M_{PO_4}}{M_P} \right)$$

$m_P$  en  $\mu\text{g}$        $PE$  en mL       $\rho_P$  en  $\text{mg/L}$

**Remarque :** il est également possible de doser les phosphates hydrolysables par minéralisation de l'échantillon avec de l'acide sulfurique à  $120^\circ\text{C}$  pendant 30 minutes.



Tab.10. Tableau de lecture de l'API20E (Amor Abda, 2009)

micro tube	SUBSTRAT	REACTIONS/ENZYME	RESULTATS	
			NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	ortho-nitro-phenyl-B-D-galactopyranoside	beta-galactosidase	incoloré	jaune
ADH	arginine	arginine dés hydrolase	jaune	rouge / orange
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	Orange
ODC	ornithine	ornithine décarboxylases	jaune	rouge / orange
[CIT]	sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	bleu-vert/ bleu
<u>H<sub>2</sub>S</u>	Thiosulfate de sodium	production d'H <sub>2</sub> S	incoloré	Noir
URE	urée	Uréase	jaune	rouge / orange
TDA	tryptophane	tryptophane désaminase	jaune	Noir
IND	tryptophane	production d'indole	incoloré	Rose
[VP]	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 (5) incoloré rose/rouge	
[GEL]	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	diffusion de pigment noir
GLU	glucose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	jaune/ vert jaune
MAN	mannitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune

SAC	sucrose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
MEL	melibiose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
AMY	amygdalin	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
ARA	arabinose	fermentation/oxydation	bleu / bleu-vert	Jaune
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	GLU tube	production de NO <sub>2</sub> reduction N <sub>2</sub> gas	NIT 1 + NIT 2 2-3 min jaune	rouge

**Tab. 11. Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température. (Merzoug, 2009).**

Température	Qualité	Classe
<20°C	Normale	1A
20°C-22°C	Bonne	1B
22°C-25°C	Moyenne	2
25°C-30°C	Médiocre	3
>30°C	Mauvaise	4

**Tab. 12 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique (Merzoug, 2009).**

Conductivité électrique (µs/cm)	Qualité des eaux	Classe
CE<400	Bonne	1A
400<CE<750	Bonne	1B
750<CE<1500	Passable	2
1500<CE<3000	Médiocre	3

**Tab.13. Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit). (Merzoug, 2009)**

NTU<5	Eau claire
5<NTU<30	Eau légèrement trouble
NTU>50	Eau trouble

**Tab.14. Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium. (Merzoug, 2009)**

Magnésium mg/l	Qualité
<30	Bonne
.50	Acceptable
400	Médiocre
>400	Extrêmement polluée

**Tab.15. Grille de qualité des eaux en nitrates. (Merzoug, 2009)**

Teneurs en nitrate (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) mg/l	Qualité des eaux
<10	Bonne
10<NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> <20	Moyenne avec signe de pollution
20<NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> <40	Polluée avec une pollution nette
>40	La pollution est importante

**Tab.16. Grille de la qualité des eaux en nitrite. (Merzoug, 2009).**

Teneurs en nitrites NO2 mg /l	Qualité des eaux	Classe
<0.1	Excellente	1A
0.1 < NO2 < 0.3	Bonne	1B
0.3 < NO2 < 1	Passable	2
1 < NO2 < 2	Médiocre	3
>2	Excessive	4

**Tab. 17. Grille d'appréciation de la dureté totale. (Merzoug, 2009).**

Dureté	Qualité
0 à 7°	Eau très douce
0 à 14°	Eau douce
14 à 20°	Eau moyennement dure
20 à 30°	Eau assez dure
30 à 50°	Eau dure

Produced with Scantopdf