

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire des procaryotes

---

**Thème : Evaluation de la Qualité Physico – Chimique  
et Microbiologique de l'eau du lac souterrain ; *Bir Osman  
Hammam Debagh - Guelma***

---

Présenté par : - BENAMIRA Mounira

- HALASSI Imane

Devant le jury composé de :

Président : Mme. DHAFRI AYAD Hayat (M.A.A)

Encadreur : M. BENOURETH Djamel Eddine (Pr.)

Examineur : Mme. NADJAH TORCHE Asma (M.A.A)

Examineur : Mme. BOUMAAZA Awatif (M.A.B)

Juin 2012

## **Remerciements**

*La réalisation de ce travail ne saurait être considérée comme le fruit d'un effort individuel. Tout au contraire, ce travail est la résultante d'un ensemble conjugué d'apports humains, financiers et intellectuels. Certes, nous ne pouvons pas citer ici toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien, mais nous tenons tout de même à remercier particulièrement :*

*Avant tout à **Dieu** le tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour réaliser ce modeste travail, et à qui nous adressons nos remerciements par sa grâce infinie pour nous.*

*Puis nous aimerions adresser nos plus sincères gratitudee à notre encadreur, **Monsieur BENOUARETH Djamel Eddine** Docteur d'état et Professeur en biologie. Merci infiniment pour vos conseils, votre soutien et votre confiance qui nous ont beaucoup aidé.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Madame DHAFRI AYAD Hayat**, Maître assistante (A) au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre très haute.*

*Nous tenons à remercier aussi **Madame NADJAH TORCHE Asma**, Maître assistante (A) au département de SV à l'Université de Guelma et **Madame BOUMAAZA Awatif**, Maître assistante (B) au département de Biologie à l'Université de Guelma pour avoir exprimé leur entière disponibilité à participer à ce jury.*

*Nos remerciements vont également à :*

***Melle HALASSI Ismahane**, pour ces aides précieuses qu'elle nous a apporté dans la réalisation des analyses Bactériologiques.*

***M. BOUCHELAGHEM El-hadi** le chef de département des Sciences de la nature et de la vie qui nous a facilité l'accès et l'acquisition des données nécessaires à la réalisation de ce travail.*

***M. KESSOURI Samir** pour son aide pratique.*

*Sans oublier de remercier tout le personnel de la station de traitement des eaux potables de Hammam debagh surtout **M. ELLAGGOUNE Abdelghani**.*

## *Dédicaces*

*Nous dédions ce modeste travail à nos plus chers êtres au monde :*

*Nos parents pour leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien moral et matériel durant toutes les étapes de notre vie.*

*A notre grand père et notre grande mère.*

*A nos chères soeurs: Houda, Nabila, Ismahane et Asma.*

*A nos chères frères : Abd Rezak, Mounir, Abd Raouf, et Moustafa.*

*A nos petits : Anis, Aicha, Ali, Abdou, Nour, Chaima et Mohamed.*

*Nous dédions également à nos oncles, nos tantes et tout nos cousins et cousines*

*Et à nos chères amies*

*Enfin, nous exprimons également tous le bonheur du monde à nos collègues de promotion du Master Biologie Moléculaire des Procaroyotes*

*Imane et Mounira*

Produced with Scantopdf

## Liste des tableaux

<b>Tableau.1.</b> Les échelles de concentration de $\text{Ca}^{2+}$ et $\text{Mg}^{2+}$ généralement rencontrées	15
<b>Tableau.2.</b> Paramètres physicochimiques mesurés in situ	23
<b>Tableau.3.</b> Paramètres dosés par méthodes spectrométrique (Rodier, 2009)	24
<b>Tableau.4.</b> Les paramètres mesurés par méthodes volumétriques (Rodier, 2009)	25
<b>Tableau.5.</b> Lecture du test confirmatif des coliformes fécaux	30
<b>Tableau.6.</b> Caractéristiques des colonies de levure et champignon	39
<b>Tableau.7.</b> Caractères des colonies de staphylocoques isolées	53
<b>Tableau.8.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées	54
<b>Tableau.9.</b> Les espèces identifiées	56
<b>Tableau.10.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies des champignons isolées	57

## Liste des figures

<b>Figure.1.</b> Carte de situation géographique du lac souterrain (Office de Tourisme de Guelma et sa Région)	2
<b>Figure.2.</b> L'entrée de la grotte	3
<b>Figure.3.</b> L'escalier rudimentaire de la grotte	3
<b>Figure.4.</b> Lac souterrain de <i>Bir Osman</i>	3
<b>Figure.5.</b> Evolution des précipitations moyennes mensuelles (Station Météorologique de Guelma de 1994 – 2009)	6
<b>Figure.6.</b> Evolution des températures moyennes mensuelles (Station Météorologique de Guelma de 1994 – 2009)	6
<b>Figure.7.</b> Diagramme Ombrothermique de la région de Guelma (1994-2009).	7
<b>Figure.8.</b> Multiparamètre : HANNA HI 9812-5	23
<b>Figure.9.</b> Oxymètre : HANNA HI 9146	23
<b>Figure.10.</b> Recherche et dénombrement des germes revivifiables	28
<b>Figure.11.</b> Recherche et dénombrement des coliformes	31
<b>Figure.12.</b> Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	33
<b>Figure. 13.</b> Recherche et dénombrement des Spores d'ASR	35
<b>Figure. 14.</b> Evolution de la température	41
<b>Figure.15.</b> Evolution de l'oxygène dissous	41
<b>Figure.16.</b> Evolution du PII	42
<b>Figure.17.</b> Evolution du TAC	42
<b>Figure.18.</b> Evolution du HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	43
<b>Figure.19.</b> Evolution du Ca <sup>+2</sup>	43
<b>Figure.20.</b> Evolution du Mg <sup>+2</sup>	43
<b>Figure.21.</b> Evolution du TH	43
<b>Figure.22.</b> Relation entre PH, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , TAC, Ca <sup>+2</sup> , Mg <sup>+2</sup> , TH	44
<b>Figure.23.</b> Evolution de la Turbidité	44
<b>Figure.24.</b> Evolution de la Matière organique	44
<b>Figure.25.</b> Evolution de la Matière en suspension	45
<b>Figure.26.</b> Evolution du Fe <sup>+2</sup>	45
<b>Figure.27.</b> Evolution du Cl <sup>-</sup>	45
<b>Figure.28.</b> Evolution du SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	46
<b>Figure.29.</b> Evolution du NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	46

Figure.30. Evolution de la salinité	47
Figure.31. Evolution de la conductivité électrique	48
Figure.32. Evolution du TDS	48
Figure.33. Evolution des résidus secs	49
Figure.34. Evolution du nombre de germes totaux	50
Figure.35. Evolution du nombre de coliformes totaux	50
Figure.36. Evolution du nombre de coliformes fécaux	51
Figure.37. Evolution du nombre de streptocoques fécaux	52
Figure.38. Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Figure.39. Test catalase positif	53
Figure.40. Test coagulase positif	53
Figure.41. Colonies de bactéries ASR	54
Figure.42. Bacilles Gram positif	54
Figure.43. Colonies rose élevé sur Mac Conkey	55
Figure.44. Diplobacilles, Gram négatif	55
Figure.45. Colonies rose clair sur Mac Conkey	55
Figure.46. Bacilles isolés, Gram négatif	55
Figure.47. Colonies jaune saumon et colonies vertes sur Hektoen	55
Figure.48. Coccobacille, Gram négatif	55
Figure.49. Bacilles, Gram négatif	55
Figure.50. Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter cloacae</i>	56
Figure.51. Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>	56
Figure.52. Profil biochimique de la souche <i>Pasteurella caballi</i>	56
Figure.53. Colonie d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	58
Figure.54. Têtes aspergillaires d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	58
Figure.55. Colonie d' <i>Alternaria sp</i>	58
Figure.56. Dietyospores d' <i>Alternaria sp</i>	59
Figure.57. Colonie de <i>Cladosporium sp</i>	59
Figure.58. Hyphes septés et blastospores de <i>Cladosporium sp</i>	59

### Liste des abréviations

**APC** : Assemblée populaire communale  
**API 20E** : Analytical Profile Index 20 enterobacteria  
**BCPL** : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol  
**CE** : La conductivité électrique  
**CF/ml** : Coliformes Fécaux par millilitre  
**cm** : Centimètre  
**CT/ml** : Coliformes totaux par millilitre  
***E. coli*** : *Escherichia coli*  
**EDTA** : Ethylène-Diamine-tétra-Acétique.  
**°F** : Degré Français  
**g/kg** : Gramme par Kilogramme  
**ISO** : International Organization for Standardization  
**km** : Kilomètre  
**MES** : Matières en suspension  
**mg/l** : Milligramme par litre  
**ml** : Millilitre  
**mm** : Millimètre  
**µm** : Micromètre  
**MO** : Matière organique  
**Moy** : Moyenne  
**µS/cm** : Micro-Siemens par centimètre  
**n°** : Numéro  
**nm** : Nanomètre  
**NPP** : Nombre le Plus Probable  
**NTU** : Nephelometric Turbidity Unit  
**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**RS** : Résidus sec  
**S** : Salinité  
**S1** : Site d'obscurité  
**S2** : Site de lumière  
**SF/ml** : Streptocoques fécaux par millilitre  
**SS** : *Salmonelle* – *Shigelle*  
**TDS** : Taux des solides dissous  
**TH** : Titre hydrotimétrique  
**TGEA** : Tryptone Glucose Extract Agar  
**UCV** : Unité de coloration vraie  
**UFC** : Unité formant colonie

## TABLE DES MATIERE

<b>Introduction</b>	1
<b>Première partie : Étude bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1 : Caractéristiques générales de la zone d'étude</b>	
1. Présentation du site d'étude	2
1.1. Localisation du site d'étude	2
1.2. Description du site	3
1.3. L'origine naturelle de la formation du lac	4
1.4. Histoire des tentatives d'exploration du lac souterrain de <i>Bir Osman</i>	4
2. Les conditions climatiques et l'occupation du sol de la zone d'étude	5
2.1. Les changements climatiques	5
2.1.1. Précipitations	6
2.1.2. Température	6
2.1.3. La relation température – précipitation (Diagramme Ombrothermique)	7
2.2. L'influence de l'agriculture intensive sur la qualité de l'eau du lac souterrain	7
<b>Chapitre 2 : Qualité des eaux</b>	
1. Les paramètres organoleptiques	9
1.1. Goûts et Odeurs	9
1.2. La couleur	9
2. Les paramètres physicochimiques	10
2.1. Le Ph	10
2.2. La turbidité	10
2.3. La température	10

2.4. La conductivité	11
2.5. La dureté de l'eau TH	11
2.6. TA et TAC	11
2.7. La salinité de l'eau	12
2.8. L'oxygène dissous	12
2.9. TDS	13
2.10. La matière en suspension	13
2.11. Résidus sec	14
2.12. Le fer	14
2.13. Ions majeurs	14
2.13.1. Calcium et magnésium	14
2.13.2. Chlorures	15
2.13.3. Sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ )	16
2.13.4. Bicarbonates $\text{HCO}_3^-$	16
2.14. Paramètres indésirables	17
2.14.1. La matière organique	17
2.14.2. Les nitrates	17
2.14.3. Les nitrites	17
2.14.4. L'ammonium	18
2.14.5. Le phosphate	18
3. Les paramètres biologiques	19
3.1. Les Entérobactéries	19
3.1.1. Les coliformes	19
3.1.1.1. Les coliformes fécaux	20
3.2. Les streptocoques du groupe D	20

3.3. Les Clostridium sulfito-réducteurs.	20
3.4. Les bactéries revivifiables	21
3.5. Les Levures.	21
<b>Deuxième partie : Etude expérimentale</b>	
<b>Chapitre 3 : Matériel et méthodes</b>	
1. L'échantillonnage	22
2. Analyses physicochimiques	23
2.1. Mesures <i>in situ</i>	23
2.2. Mesures au laboratoire	24
2.2.1. La turbidité	24
2.2.2. Dosage des paramètres par méthodes spectrométrique	24
2.2.3. Analyses physico-chimiques par méthodes volumétriques	25
3. L'analyse microbiologique	27
3.1. Dénombrement des micro-organismes dans l'eau	27
3.1.1. Le dénombrement des germes totaux	27
3.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo-tolérants et identification d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide	29
3.1.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques (méthode en milieu liquide)	32
3.1.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	34
3.1.5. Recherche et isolement des micro-organismes pathogènes	36
3.1.5.1. Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
3.1.5.2. Recherche de <i>Staphylococcus</i>	37

3.1.5.3. Recherche et isolement des salmonelles	38
3.1.6. Les levures et les champignons	39
3.2. Identification des bactéries à partir des milieux solides	40
3.2.1. Identification morphologique	40
3.2.2. Identification biochimique et métabolique	40
3.2.2.2. Galeries classiques des <i>Enterobacteriaceae</i>	40
3.2.2.3. Galerie moderne API 20 E	40
<b>Chapitre 4 : Résultats et discussions</b>	
1. Analyses physicochimiques	41
1.1. La température	41
1.2. L'oxygène dissous	41
1.3. Le PH, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , TAC, Ca <sup>+2</sup> , Mg <sup>+2</sup> , TH	42
1.4. Turbidité, matière en suspension, matière organique	44
1.5. Cl <sup>-</sup> , Fe <sup>+2</sup>	45
1.6. Les sulfates	46
1.7. Les nitrates	46
1.8. Ammonium et nitrite	47
1.9. La salinité	47
1.10. Conductivité	48
1.11. TDS	48
1.12. Les résidus secs	49
2. Analyses microbiologiques	50
2.1. Les germes totaux	50
2.2. Les coliformes totaux	50
2.3. Les coliformes fécaux	51

2.4. Streptocoques fécaux	52
2.5. Les staphylocoques	53
2.6. Les anaérobies Sulfito-réducteurs (ASR)	54
2.7. Identification des souches bactériennes isolées	54
2.7.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	54
2.7.2. Résultats de l'identification biochimique	56
2.8. Les levures et les champignons	57
<b>Conclusion</b>	60

Produced with ScanTOPDF

# Introduction

Produced with ScantOPDF

L'Algérie est riche en zones humides, ces milieux, qui font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle, jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une faune et flore importante [1].

De nos jours, le fait de s'intéresser à ces milieux nous a permis de mieux comprendre leur importance. En effet, la connaissance de ces zones a permis de montrer leur utilité tant au niveau écologique que humain. Les zones humides sont en effet de véritables réservoirs de valeurs en tous genres.

Il existe une diversité de milieux humides dont les plus communs sont les marais temporaires, les lacs, les réservoirs, les cours d'eau, les deltas et les lagunes [2].

Le lac est une grande étendue d'eau intérieure, généralement douce, souvent qualifiée selon son origine, il est alimenté par un cours d'eau ou par des eaux de ruissellement et dans certains cas par des eaux souterraines [3].

De façons naturelles, le lac établit un équilibre, souvent fragile, avec son environnement et toute perturbation de celui-ci se répercute invariablement sur l'avenir du lac. Ainsi, si le rivage du lac se trouve perturbé, ou si la végétation côtière est détruite, ou si sa source d'approvisionnement en eau est modifiée, le lac perd de précieux attributs, son équilibre écologique en est affecté et ses propriétés changent. Malheureusement, de telles modifications du milieu, sont souvent apportées par des facteurs anthropiques, ou par des facteurs climatiques notamment les eaux de pluie [4]. Cette dernière constitue en outre un facteur principal d'altérations de ces écosystèmes aquatiques comme c'est le cas de notre site d'étude qui est le lac souterrain de *Bir Osman*.

Pour cela on a effectué ce travail qui s'intéresse à l'étude de la qualité de l'eau du lac. Un suivi de paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux de 2 points représentatifs du site est réalisé afin de déterminer la qualité de l'eau de ce lac et de préciser le degré de la pollution et d'en déterminer l'origine.

**Première partie**  
**Etude bibliographique**

Produced with ScantPDF

# **Chapitre I**

## **Caractéristiques générales de la zone d'étude**

Produced with SCANTOPDF

## 1. Présentation du site d'étude :

### 1.1. Localisation du site d'étude :

Willaya : Guelma

Daira : *Hamman Debagh*

Commune: *Hamman Debagh*

Longitude: E 007°16. 493

Latitude: N 36°26. 454

Altitude: 425.6 m

Le lac souterrain de *Bir Osman*, près de Guelma. Distant de 2 km seulement de *Hamman Debagh*, une région réputée pour ses sources thermales et ses cascades, non loin de la Route Nationale n° 20 (Guelma-Constantine). Un chemin vicinal passant par le hameau qui s'appelait *Sanguet* relie le lac souterrain, au nord, à la localité de *Hamman Debagh* et, au sud, à l'axe *Bordj Sabath Aïn Kharouba* [5].

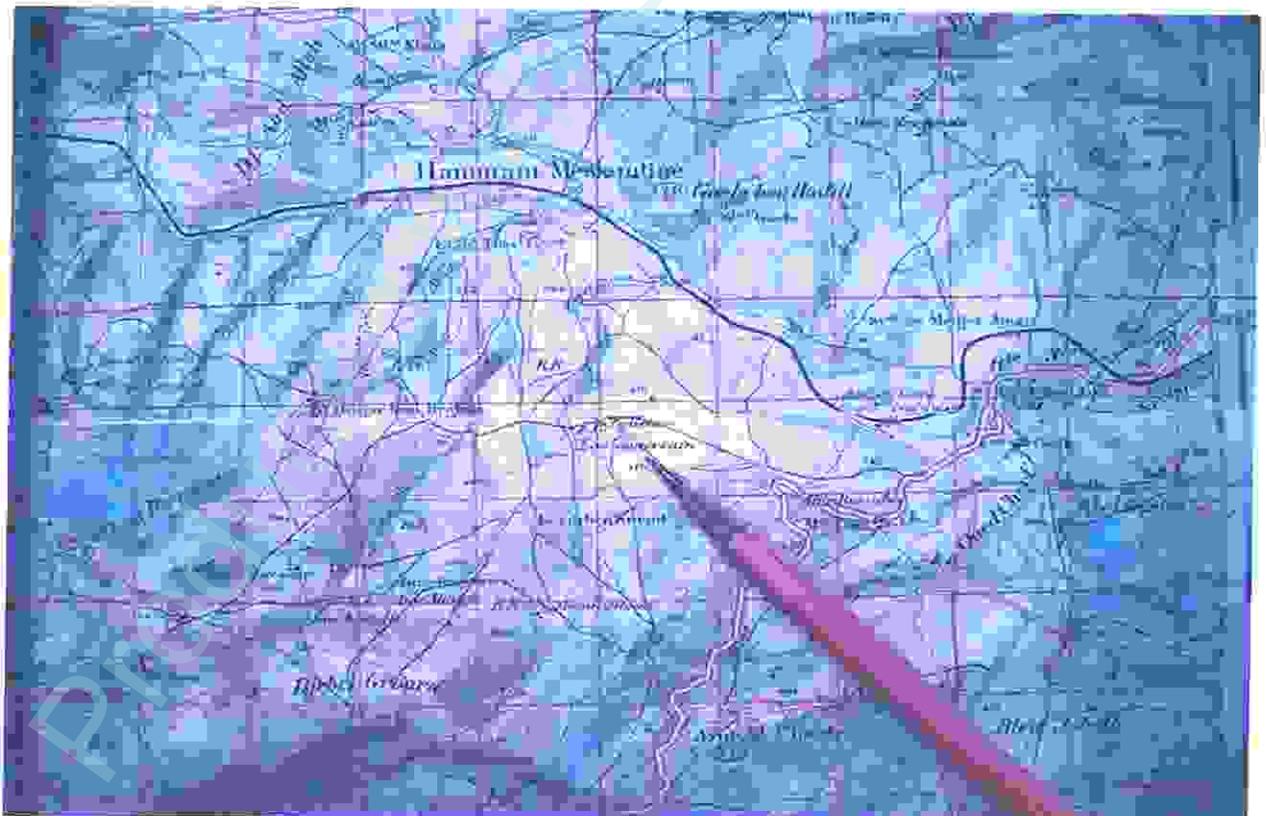


Figure.1. Carte de situation géographique du lac souterrain (Office de Tourisme de Guelma et sa Région).

## 1.2. Description du site :

Le nom du site archéologique : le lac souterrain ou *Bir Osman* [6].

La nature du site archéologique : phénomène géologique [6].

Une grotte est ouverte sur le côté nord au point 416 (distant de 2 km du complexe touristique). L'entrée de la grotte est une cassure dans la falaise (Figure.2). Un escalier rudimentaire glissant à cause de l'humidité (Figure.3), permet de descendre une pente de 5 mètres conduisant à un plan d'eau froide sur une superficie de 2.500 à 3.000 mètres carrés et 30 mètres de diamètre, c'est le lac naturel souterrain (Figure.4) [5].

C'est un réservoir naturel, d'une longueur de 100m, de largeur varie entre 35 et 40m à gauche, 50 et 60m à droite et 25m au centre et concernant la profondeur, elle est environ de 14 à 18 m. L'eau du lac est froide caractérisée par sa toute clarté et son goût agréable [6]. La couverture du sol rocheux est de calcaire qui est un peu boueux et de couleur rose en raison de la présence d'oxyde de fer. Ce site est dissimulé au milieu de trois hectares de surfaces verdoyantes, de champs de blé et d'oliviers et certaines histoires des habitants informent même que la grotte s'étendrait sur des centaines de kilomètres pour déboucher à proximité d'une des plages de la wilaya de Skikda [7].

*Bir Osman* ou le lac souterrain accueille des centaines de familles, d'étudiants et d'écoliers qui y viennent en excursions. Le moment le plus propice pour la visite, sans éclairage, est l'après-midi, quand le soleil s'incline vers l'ouest et se trouve en position de diriger ses rayons vers la falaise où s'ouvre l'entrée [5].



Figure.2. L'entrée de la grotte

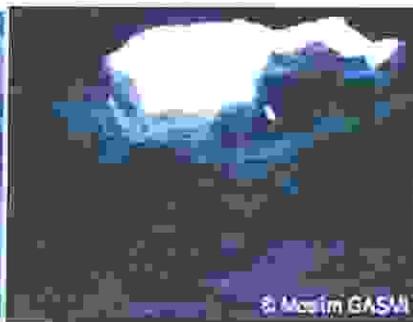


Figure.3. L'escalier de la grotte

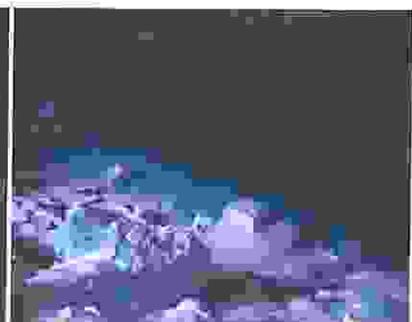


Figure.4. Lac souterrain de *Bir Osman*

### 1.3. L'origine naturelle de la formation du lac :

Des données historiques et scientifiques indiquent que ce lac s'est constitué à la suite d'un effondrement de terrain qui s'est produit au cours du 19<sup>e</sup> siècle (à la suite d'un séisme en juillet 1878, plus précisément ), donnant naissance à des poches souterraines que des infiltrations d'eau ont tôt fait de remplir, sur un cercle mesurant 30 m de diamètre, dans la voûte d'une des cavernes enveloppées par le sol qui résonne d'ailleurs sous les pas du promeneur [6].

Le périmètre attribué au site dépasse les 4 ha et comprend, également, des vestiges des temps géologiques et d'autres de l'époque antique. Probablement, c'est le plus grand lac souterrain accessible à l'échelle nationale. La cartographie des lieux, inexistante à ce jour, aussi bien auprès de la direction de l'hydraulique qu'à l'échelle locale (APC, daïra..) est en cours de réalisation [8].

### 1.4. Histoire des tentatives d'exploration du lac souterrain de *Bir Osman* :

Au cours de ces dernières années, plusieurs tentatives ont été réalisées en vue d'exploiter ce lac :

1. Rouyer en 1889 [9].
2. Ververs' en 1953 [9].
3. Durant le printemps 1998, « dans le cadre de la constitution du projet de classement de cette curiosité à la demande de la direction de la culture et de l'Office local du tourisme », le moudjahid *Mohamed Hanafi* et ses six fils, tous plongeurs amateurs racontent que la grotte est constituée de deux excavations. La première est visible dès la pénétration à l'intérieur de la grotte et la seconde qui se trouve sur l'autre côté, n'est accessible qu'après une traversée en plongée. Mais ces investigations de *Mohamed Hanafi* et de ses fils n'ayant pas quitté les « cercles initiés » [7].
4. Le dimanche 5 juin 2011, le lac souterrain de *Bir Osman* avait accueilli l'expédition Hippone Sub-Addem, organisée dans le cadre de la caravane verte initiée sous la tutelle des ministères de l'Éducation et de l'Environnement ; et selon le directeur de l'environnement de la wilaya de Guelma, cette expédition devrait permettre le classement et la protection du site.

Pour le peu que les plongeurs ont pu explorer, à cause du manque d'éclairage et la vase qui se soulève au passage :

- Ils savent qu'il y a, non pas 2 boyaux, mais 3, le dernier est situé à 13 m de profondeur sous l'entrée de la grotte ; ils sont tapissés de stalactites et de stalagmites.
  - Ils ont découvert une barque en bois de 4 m, baptisée Bône [10].
5. Les 5 et 6 décembre 2011, une expédition de spéléo-plongée, est dirigée au lac souterrain de *Bir Osman*, par *Pascal Bernabé*, (actuel champion du monde en scaphandré autonome « -330 m », spécialiste en plongée souterraine et épaves), le Tunisien *Selim Baccar*, (photographe sous-marin professionnel), et *Karim Chiri*, (plongeur et président du club Hippone Sub) et à l'initiative du club Hippone Sub Annaba.

Le bilan de cette expédition se résume par la découverte :

- De deux galeries : *la première est de 120 m de long*, découverte lundi au premier jour de l'exploration ; et *la deuxième est de 80 m de long*, découverte mardi à la seconde journée de l'exploration, la largeur de cette dernière galerie atteint 40 m et est de 10 à 12 m dans certaines autres zones.
- D'une lampe à huile dans une embarcation qui se trouve à 13,9 m au fond, elle est de 4 m de long et 1,5 m de large, portant les inscriptions « *Georgette Renée* » et « *Bône* » des deux côtés de sa proue (les inscriptions de cette barque vont permettre son identification ainsi que son propriétaire).
- D'une troisième galerie, non encore visitée, nécessite une autre expédition [11]

## 2. Les conditions climatiques et l'occupation du sol de la zone d'étude :

### 2.1. Les changements climatiques :

Pour caractériser écologiquement l'influence des changements climatiques de la région d'étude sur l'eau du lac nous avons eu recours pour deux indicateurs climatiques importants : température et précipitations ; en appuyant sur les valeurs moyennes mensuelles observées à Guelma, durant la période de réalisation de notre étude (février – mars – avril) sur 15 années d'observation de 1994 à 2009, ces moyennes donnent une image lissée de la réalité, ce qui permet de justifier leur emploi.

2.1.1. Précipitations :

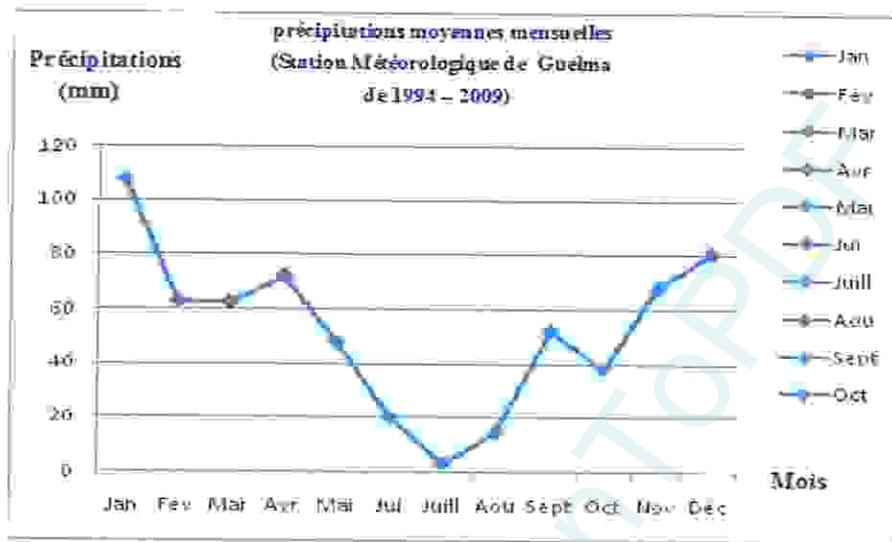


Figure.5. Évolution des précipitations moyennes mensuelles (Station Météorologique de Guelma de 1994 - 2009)

Dans la région de Guelma et sur 15 années complètes d'observation, le mois d'avril reçoit les précipitations les plus abondantes : 71,86 mm par rapport au mois de février avec 63,04 mm, et le mois de mars vient en troisième position avec 62,49 mm (Figure.5).

2.1.2. Température :

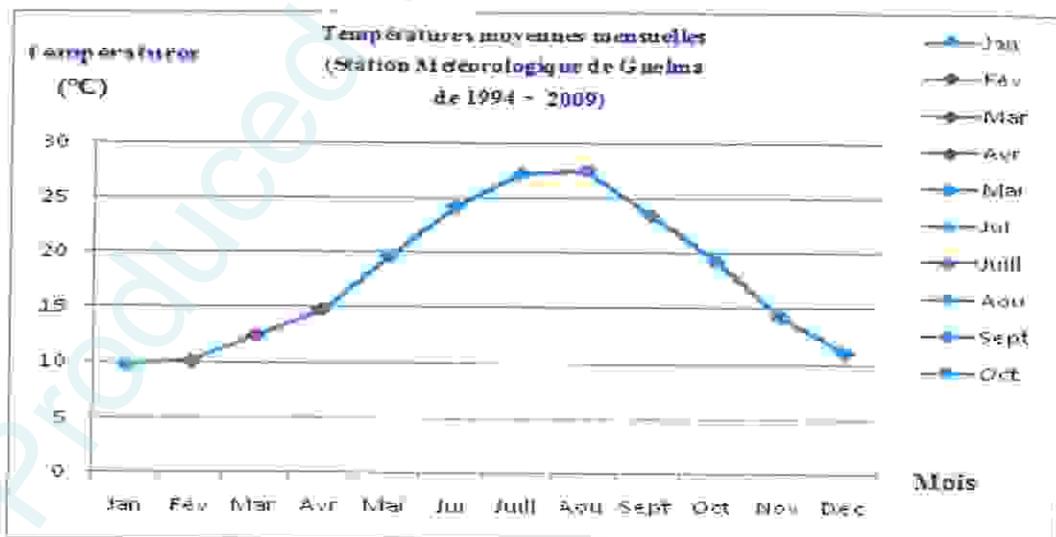


Figure.6. Évolution des températures moyennes mensuelles (Station Météorologique de Guelma de 1994 - 2009)

Les températures moyennes de ces trois mois sont comprises entre une valeur minimale de 10,14°C au mois de février, et une valeur maximale de 14,78°C au mois d'avril (Figure.6).

### 2.1.3. La relation température – précipitation (Diagramme Ombrothermique) :

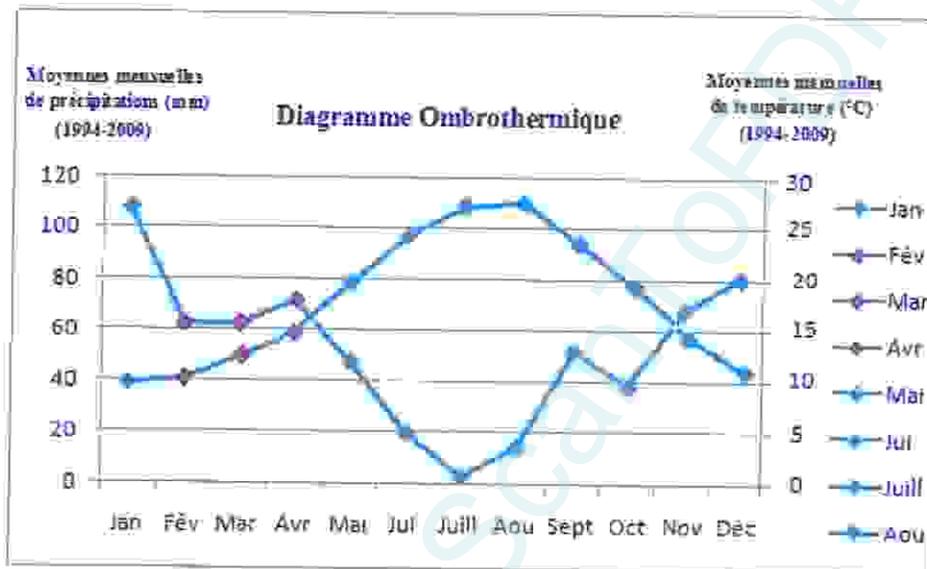


Figure.7. Diagramme Ombrothermique de la région de Guelma (1994-2009)

Selon *Bagnouls et Graussen*, une période sèche est due au croisements des courbes de température et des précipitations.

D'après le diagramme, qui présente une relation entre la température et la précipitation à Guelma pendant 15 années (1994 – 2009) (Figure.7), la saison sèche s'étale sur une période de 6 mois, elle commence de la fin d'avril jusqu'au début de novembre (*Bouchelaghem I et Dardar f, 2010.*). Donc notre étude a été effectuée durant la saison pluvieuse au mois de février, mars et avril.

### 2.2. L'influence de l'agriculture intensive sur la qualité de l'eau du lac souterrain :

Au cours de ces dernières années l'agriculture a complètement évolué et le paysage rural sur la région d'étude s'est profondément modifié. Cette modification pose de nombreux problèmes dans la gestion de l'eau (*Bouchelaghem I et Dardar f, 2010.*).

L'agriculture est responsable de 2/3 des rejets azotés et phosphoriques provenant des engrais utilisés pour la fertilisation des sols tout on n'oublions pas les déjections animales et les phytosanitaires (*Bouchelaghem I et Dardar f, 2010.*).

Ces substances chimiques ont un effet néfaste sur l'environnement.

# **Chapitre II**

## **Qualité des eaux**

Produced with SCANTOPDF

Les méthodes qui permettent l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques sont schématiquement réparties en trois catégories distinctes : les méthodes d'analyse physico-chimique de l'eau, celles de diagnostic du milieu physique et les méthodes biologiques.

La mise en œuvre de l'approche physicochimique constitue la démarche la plus ancienne et la plus utilisée pour apprécier la qualité des eaux ; il s'agit de comparer les valeurs obtenues avec des valeurs seuils ou des valeurs de références.

Toutefois, cette approche physico-chimique de l'évaluation de la qualité des eaux présente de nombreuses limites : valeur ponctuelle dans le temps et dans l'espace ; limitation des contaminants détectés ; limites de détection parfois supérieures aux concentrations provoquant des effets biologiques ; absence d'information sur les effets toxiques liées aux conditions environnementales , ainsi que sur les synergies ou antagonismes entre molécule ; pas d'information sur la variabilité de l'impact biologique.

Les méthodes physico-chimiques ne peuvent donc pas être utilisées pour évaluer un état de déséquilibre écologique, mais seulement pour en analyser les causes.

Les approches biologiques visent quant à elles à apprécier les effets d'une perturbation d'origine humaine, telle que l'introduction d'un polluant dans un écosystème aquatique ou une modification du milieu physique. Ces effets peuvent se produire à différents niveaux d'organisation biologique, depuis celui des individus et des populations jusqu'à celui de l'écosystème dans son ensemble, en passant par les assemblages d'espèces et les communautés. Des paramètres biologiques peuvent être mesurés à différents niveaux et constituer autant de signaux indiquant qu'une perturbation a eu lieu [12].

## 1. Les paramètres organoleptiques

### 1.1. Goûts et Odeurs :

La plupart des eaux, qu'elles soient ou non traitées, dégagent une odeur plus ou moins perceptible et ont une certaine saveur [13].

Les goûts et odeurs ont diverses origines, mais, la plupart du temps, les substances qui provoquent un mauvais goût sont des composés inorganiques, alors que celles qui produisent des mauvaises odeurs sont associées à la présence de composés organiques dont une proportion importante est d'origine naturelle [14].

Ces deux propriétés, purement organoleptiques, sont extrêmement subjectives et il n'existe aucun appareil pour les mesurer. Selon les physiologistes, il n'existe que quatre saveurs fondamentales : salée, sucrée, aigre et amère.

Les odeurs sont causées par la présence dans l'eau de substances relativement volatiles. Ces substances peuvent être inorganiques comme le chlore, les hypochlorites, le bioxyde de soufre  $SO_2$  ou le sulfure d'hydrogène  $H_2S$  ; ou organiques comme les esters, les alcools, les nitrites, les dérivés aromatiques et des composés plus ou moins bien identifiés résultant de la décomposition de matières animales ou végétales (comme les algues) ou encore dus à la pollution [13].

### 1.2. La couleur :

Une eau naturelle, même une fois traitée n'est jamais rigoureusement incolore (si on la compare, par exemple à une eau distillée). Pour l'eau potable, le degré de couleur maximale acceptable est de 15 UCV.

Elle peut être due à certaines impuretés minérales (fer) mais également à certaines matières organiques (acides humiques, fulviques). Elle doit être éliminée pour rendre l'eau agréable à boire. L'élimination de la couleur s'accompagne également de celles de certaines matières organiques indésirables (précurseurs de composés haloformés). Cette élimination devra alors être effectuée à l'usine de traitement avant l'entrée de l'eau dans le réseau [13].

## 2. Les paramètres physicochimiques

### 2.1. Le pH :

Le pH (potentiel hydrogène) mesure la concentration en ions  $H^+$  de l'eau. Il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité. Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau [15].

### 2.2. La turbidité :

La turbidité est une caractéristique qui exprime le degré de « trouble » d'un liquide. C'est l'inverse de transparence. Dans un lac la turbidité est causée par la présence de matière en suspension ou par des substances en solution. Ces matières peuvent être des substances minérales comme les sables, argiles ou limons, des matières organiques comme les organismes morts ou des végétaux en décomposition, du plancton suspendu entre deux eaux ou d'autres matières microscopiques qui forment obstacle au passage de la lumière dans l'eau. Cependant une turbidité élevée contribue à stimuler la prolifération des bactéries et des autres microorganismes dans l'eau [4].

### 2.3. La température :

La température de l'eau est un paramètre de confort pour les usagers. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment). De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et l'écoulement de l'eau [15].

La température de l'eau joue un rôle important par exemple en ce qui concerne la solubilité des sels et des gaz dont, entre autres, l'oxygène nécessaire à l'équilibre de la vie aquatique. Par ailleurs, la température accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques (exemple de réactions chimiques : la fermentation ou l'autoépuration des cours d'eau) d'un Facteur 2 à 3 pour une augmentation de température de 10 degrés Celsius ( $^{\circ}C$ ). L'activité métabolique des organismes aquatiques est donc également accélérée lorsque la température de l'eau s'accroît [16].

#### 2.4. La conductivité :

La conductivité est une mesure de la capacité de l'eau à conduire un courant électrique. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau donc elle fournit une indication précise sur sa concentration totale [17].

La conductivité est également fonction de la température de l'eau, elle est plus importante lorsque la température augmente [17].

La conductivité électrique standard s'exprime généralement en micro-Siemens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) à une température normalisée de  $25^\circ\text{C}$  mesuré [17].

#### 2.5. La dureté de l'eau TH :

La première définition de la dureté de l'eau était sa capacité de transformer le savon en un composé insoluble. Maintenant, On appelle dureté d'une eau la quantité d'ions calcium et magnésium (ions alcalinoterreux) qu'elle contient. En pratique une eau minérale contient non seulement des ions  $\text{Ca}^{+2}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ , mais aussi  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , voire  $\text{Fe}^{+2}$  [18].

Présents dans l'eau, les deux cations ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ) étant généralement les plus abondants. Comme le calcium est un des ions les plus abondants, il devient donc un bon indicateur de la dureté de l'eau. C'est pourquoi on exprime la dureté selon la quantité de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) présente dans une solution [19].

Les eaux sont qualifiées de « dures » si elles contiennent beaucoup de calcium et de magnésium, et de « douces » si elles en contiennent peu [20].

La dureté de l'eau est exprimée en mg/L ou en degré Français ( $^\circ\text{f}$ ) [21].

#### 2.6. TA et TAC :

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence d'espèce basique telle que les ions hydroxydes ( $\text{OH}^-$ ), de carbonates ( $\text{CO}_3^{--}$ ) et de bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ), et dans une moindre mesure aux ions phosphates ( $\text{PO}_3^{---}$ ) et silicates ( $\text{HSiO}_3^-$ ), ou encore aux espèces moléculaires des acides faibles. Le Titre Alcalimétrique (TA) et le Titre Alcalimétrique Complet (TAC)

traduisent l'alcalinité d'une eau. La connaissance de ces valeurs est essentielle pour l'étude de l'agressivité d'une eau [22].

\*Titre Alcalimétrique (TA) : détermine la teneur en hydroxydes (OH<sup>-</sup>) et la moitié de celle en carbonates.

\*Titre Alcalimétrique Complet (TAC) : détermine la teneur en carbonates, bicarbonates et hydroxydes.

L'ensemble de ces paramètres s'exprime en degré français (°F), en milliéquivalent par litre (meq/l) ou en mg CaCO<sub>3</sub>/l, avec les correspondances suivantes [23]:

$$1^{\circ}\text{F} = 10 \text{ mg CaCO}_3/\text{l} = 0,2 \text{ meq/l}$$

## 2.7. La salinité de l'eau :

Théoriquement, la salinité désigne la masse totale de substances solides dissoutes dans un kg d'eau de mer, pour simplifier elle détermine la teneur en sel contenue dans l'eau [24].

Ainsi selon *Sorensen* (1902), la salinité est définie comme la masse exprimée en grammes des composés solides contenus dans un kilogramme d'eau de mer, les ions bromure et iodures étant remplacés par leur équivalent de chlorure, les carbonates convertis en oxydes et toute la matière organique oxydée. La salinité était alors notée S et s'exprimait en g/kg ou en ‰ [24].

L'appareil utilisé pour la mesure est un salinomètre de précision de (0,003%) ou multi paramètres. Et les résultats sont exprimés en grammes de chlorure de sodium (NaCl) par litre d'eau (*Boukrouma, 2008*).

## 2.8. L'oxygène dissous :

Bien que toujours présent dans l'eau, l'oxygène n'en est pas pour autant un élément constitutif. Son origine est soit l'activité photosynthétique des végétaux aquatiques, soit la dissolution à partir de l'oxygène atmosphérique, sa teneur est fonction, en particulier, de la profondeur extrêmement faible dans les eaux profondes et parfois proche de la saturation dans les eaux superficielles [25].

L'oxygène est présent dans l'eau sous forme de molécules gazeuses, au sein de minuscules bulles d'air. Il se dissout dans cette eau par diffusion, jusqu'à un équilibre appelé "saturation". Cette saturation ou solubilité maximale de l'oxygène dans l'eau est, pour

l'essentiel, fonction de la température et de la salinité. Elle est supérieure dans les eaux douces et froides, par exemple: la solubilité de 9,1 milligrammes d'oxygène par litre d'eau dans une eau douce à 20°C ne sera que de 7,4 mg/l dans une eau de mer à même température, et sera de 11,3 mg/l dans une eau douce à 10°C [26].

Une eau très aérée est généralement sursaturée en O<sub>2</sub> (torrent), alors qu'une eau chargée en matières organiques dégradables par des micro-organismes « Sont » est sous-saturée. En effet, la forte présence de matière organique, dans un plan d'eau par exemple, permet aux micro-organismes de se développer tout en consommant de l'oxygène. L'oxygène dissous est donc un paramètre utile dans le diagnostic biologique du milieu eau [25].

### 2.9. TDS :

Le total des solides dissous (TDS) est un indicateur d'impureté. Il représente la concentration totale des substances dissoutes dans l'eau. En général, la concentration totale de solides dissous est la somme des cations (chargés positivement) et des anions (chargés négativement) dans l'eau. Le TDS est donc le total des ions mobiles chargés, y compris les minéraux, les sels ou des métaux dissous dans un volume donné de l'eau, bref tout ce qui n'est pas de l'eau H<sub>2</sub>O [27].

La méthode TDS intégrée dans le multi-paramètre offre un moyen facile et rapide de déterminer le TDS en ppm (parties par million) [28].

### 2.10. La matière en suspension :

Les matières en suspension comprennent toutes les matières minérales ou organiques qui ne se solubilisent pas dans l'eau. Elles déterminent donc la turbidité de l'eau. Elles incluent les argiles, les sables, les limons, les matières organiques et minérales de faible dimension, le plancton et autres micro-organismes de l'eau [13].

Ces matières affectent la transparence de l'eau et diminuent la pénétration de la lumière et, par suite, la photosynthèse. Favorisant ainsi la prolifération des algues et diminuent la teneur en oxygène dissous et nuisant à l'ensemble du biotope aquatique [29].

Par ailleurs, les matières en suspension peuvent constituer un véhicule pour les contaminants et les matières toxiques (métaux, pesticides...)

Les matières en suspensions sont mesurées par pesées et sont exprimées en mg/l [30].

### 2.11. Résidu sec :

Représente le taux des éléments minéraux recueillis après l'évaporation de 1 l d'eau ayant été soumis à une température de 180 °C. La minéralisation de l'eau se détermine en fonction du poids du résidu sec de l'eau [31].

En fonction du poids des résidus sec, on distingue :

- Les eaux faiblement minéralisées : Le résidu sec pèse moins de 500 mg/l.
- Les eaux moyennement minéralisées : Le résidu sec pèse entre 500 et 1500 mg/l.
- Les eaux fortement minéralisées : Le résidu sec pèse plus de 1500 mg/l [32].

### 2.12. Le fer :

Le fer est l'un des métaux les plus abondants de la croûte terrestre. On le retrouve dans les eaux douces naturelles à des concentrations allant de 0,5 à 50 mg/l. Les eaux souterraines anaérobies peuvent contenir du fer ferreux à des concentrations atteignant plusieurs milligrammes par litre. Cependant lorsqu'il est exposé à l'air, le fer ferreux s'oxyde en ferrique et l'eau prend une coloration brun rougeâtre déplaisante. Le fer est un élément nutritionnel essentiel pour l'homme. Les besoins quotidiens dépendent de l'âge, du sexe, de l'état physiologique et de la biodisponibilité du fer dans le composé considéré. Il varie de 10 à 50 mg/jour environ [33].

### 2.13. Ions majeurs :

La minéralisation de la plupart des eaux est dominée par des ions majeurs. Parmi lesquels on distingue les cations: Calcium, Magnésium ... et les anions: Chlorure, Sulfate, bicarbonate ... etc

#### 2.13.1. Calcium et magnésium :

Le calcium (Ca) et le magnésium (Mg) sont des macro-éléments très fréquents que l'on retrouve abondamment dans le sol, les roches cristallines et les roches sédimentaires ; Ils sont très solubles et sont donc largement représentés dans la plupart des eaux naturelles. Le calcium est le cinquième élément naturel le plus abondant, et le magnésium, le huitième [34].

En ce qui concerne l'eau souterraine, la source la plus fréquente de calcium et de magnésium est l'érosion des roches, l'altération des roches cristallines libère du calcium et du magnésium, mais en quantité moindre que certaines roches sédimentaires carbonatées, dont les principales sont la calcite ( $\text{CaCO}_3$ ), la dolomie ( $\text{CaMgCO}_3$ ), la magnésite ( $\text{MgCO}_3$ ), le gypse ( $\text{CaSO}_4$ ), l'apatite ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$ ) ou la fluorine ( $\text{CaF}_2$ ). Notons également les grès et roches détritiques au ciment carbonaté [34].

**Tableau.1. Les échelles de concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  généralement rencontrées [35]**

Contexte	$\text{Ca}^{2+}$ , en mg/l	$\text{Mg}^{2+}$ , en mg/l
terrains calcaires - eau de surfaces - eau souterraines	+/- 20 $70 < c < 120$	$3 < c < 25$
terrains cristallins (eau souterraines)	$2 < c < 10$	$2 < c < 6$
eau de mer	400	1200

Les valeurs de concentration, ainsi que les rapports Ca/Mg, sont suffisamment contrastées pour apporter des informations sur l'origine de l'eau.

### 2.13.2. Chlorures :

Le chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) est un ion négatif du chlore (Cl). Cet élément est très abondant dans la nature, généralement sous forme de sels de sodium NaCl et de potassium KCl ; ils représentent environ 0,05% de la lithosphère. Il est présent dans l'eau, le sol, les roches, ainsi que dans de nombreux aliments [36].

La présence des chlorures dans les sources d'eau potable peut être attribuée à la dissolution des dépôts de sel, aux effluents des usines de produits chimiques, à l'exploitation des puits de pétrole, aux eaux d'égouts, à l'écoulement des eaux d'irrigation, aux eaux de lixiviation des déchets, aux émanations volcaniques, aux embruns marins et à l'intrusion de l'eau de mer dans les zones côtières. Chacune de ces sources peut entraîner une contamination locale des eaux de surface et des eaux souterraines. L'ion chlorure est très mobile et finit par être transporté dans des bassins fermés ou vers les océans. Ce sont les océans qui contiennent de loin la plus grande quantité de chlorures dans l'environnement [36].

L'eau potable ainsi que les boissons à base d'eau contenant du chlorure peuvent avoir un goût salé à des concentrations aussi faibles que 100 mg/L, mais ils ne comportent généralement pas d'effets nocifs pour la santé [35].

### 2.13.3. Sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) :

Le soufre est un élément non métallique qui est largement utilisé dans l'industrie. Le soufre lorsqu'il est combiné avec de l'oxygène forme l'ion de sulfate,  $\text{SO}_4$  [37].

Le sulfate est présent à l'état naturel dans le sol et la roche et les origines des sulfates dans les eaux sont variées :

- Les origines naturelles sont l'eau de pluie (évaporation d'eau de mer:  $1 < c < 20$  mg/l), et la mise en solution de roches sédimentaires évaporitiques, notamment le gypse ( $\text{CaSO}_4$ ), mais également de la pyrite ( $\text{FeS}$ ) et plus rarement de roches magmatiques (galène, blende, pyrite).
- Les origines anthropiques sont la combustion de charbon et de pétrole qui entraîne une production importante de sulfures (qu'on retrouve dans les pluies), et l'utilisation d'engrais chimique et de lessive.

D'une façon générale, la présence de sulfate dans des eaux naturelles "non polluées" invoque la présence de gypse ou de pyrite [35]

### 2.13.4. Bicarbonates $\text{HCO}_3^-$

L'ion hydrogencarbonate  $\text{HCO}_3^-$ , l'une des espèces chimiques présentes dans les eaux naturelles, peut agir comme un donneur de proton :



Très peu d'ions  $\text{HCO}_3^-$  cèdent leur proton, si bien que l'ion hydrogencarbonate est un acide faible [38].

L'ion hydrogencarbonate  $\text{HCO}_3^-$  (que l'on nommait par le passé le  $\text{CO}_2$  semi-combiné), provient de la dissolution du gaz carbonique dans les sources naturelles ; donc il est la base conjuguée du dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$  dissous dans l'eau.

Il agit en facilitant la digestion chez l'homme et il est alcalinisant [35].

## 2.14. Paramètres indésirables :

### 2.14.1. La matière organique :

Les matières organiques naturelles sont principalement issues de la décomposition des végétaux, des animaux et des micro-organismes. Elles peuvent donc être très diverses relativement à leur composition pour établir une description précise de leur composition moyenne. Sa composition est structurée autour du carbone. On y trouve des sucres, des protéines, des acides organiques, des acides gras, des macromolécules (l'amidon, cellulose)...

Les matières organiques sont à l'origine de la dégradation de la qualité de l'eau, ainsi :

- Elles influencent les propriétés organoleptiques de l'eau (odeur et goût)

Elles influencent directement la stabilité biologique de l'eau [39].

### 2.14.2. Les nitrates :

Les nitrates sont, d'un point de vue chimique, des sels de l'acide nitrique. Ces sels sont caractérisés par la présence de l'ion nitrate  $\text{NO}_3^-$ , composé d'un atome d'azote et de trois atomes d'O. Sa présence dans l'eau est souvent considérée comme un indice de pollution [40].

Les nitrates sont naturellement présents dans la nature, à des concentrations de quelques milligrammes par litre d'eau car les nitrates sont des polluants très solubles. Cet élément peut avoir plusieurs origines : naturelles dans les sols et les eaux (transformation de la matière organique), industrielle, agricole (fertilisants et élevages), urbaines et même à partir des précipitations ou de formations géologiques renfermant des composés azotés solubles, mais principalement les engrais et autres produits chimiques utilisés pour l'agriculture sont à l'origine de la présence de forte dose de nitrates dans les eaux. Une fois dans les cours d'eau, les nitrates favorisent les proliférations d'algues ou « marées vertes » : c'est souvent le premier signe de pollution [41].

### 2.14.3. Les nitrites :

Les nitrites ( $\text{NO}_2$ ) sont un composé intermédiaire de l'azote entre l'ammoniac et les nitrates, résultent d'une oxydation bactérienne de l'ammoniaque ou de la réduction des nitrates. Les nitrites sont rarement d'origine naturelle. Un cours d'eau non pollué ne comporte normalement ni nitrites ni ammoniaque. Leur présence est signe d'une pollution d'origine bactériologique et organique. Les nitrites sont aussi les plus toxiques [42].

#### 2.14.4. L'ammonium

Ou azote ammoniacal, ou ( $\text{NH}_4^+$ ) provient de la dégradation des protéines animales (cycle de l'azote), la principale source d'ammoniaque est anthropique. Les effluents domestiques (urée) représentent la plus importante source de pollution. L'azote ammoniacal peut aussi provenir de ruissellements urbains, de l'agriculture (engrais) ou de l'industrie (pharmaceutique, alimentaire, pâte à papier, textile...).

Les sources naturelles de l'azote ammoniacal sont diverses :

- Echange gazeux avec l'atmosphère.
- Transformations chimiques et biochimiques des substances azotées organiques et inorganiques dans les sols et dans l'eau.
- Excrétion d'ammoniaque par le biote (déchet de végétaux de culture et d'animaux) [42].

L'ammonium est un indice d'une possible contamination microbiologique. Il peut aussi modifier le goût de l'eau ou provoquer la prolifération de bactéries nitrifiantes [43].

#### 2.14.5. Le phosphate

Les composés phosphorés sont des éléments nutritifs pour les végétaux et induisent donc une prolifération des algues dans les eaux de surface [44].

D'après G. BARRION, « le phosphore, sous forme de phosphate, est un aliment dont les excès entraînent des perturbations dans la vie d'un lac ». On parle d'eutrophisation des eaux stagnantes (étangs, lacs) qui reçoivent ces apports riches en phosphate ; il s'agit en fait de l'accélération d'un phénomène naturel-une fertilisation croissante de l'eau « qui nourrit bien » (ce que veut dire eutrophe) [45].

Les composés phosphatés présents dans les eaux de surface ont différentes origines :

- Les engrais contiennent généralement beaucoup de phosphore.
- Le lessivage des sols lors de fortes pluies.
- L'érosion des sols est même pire, puisque la terre des sols est alors déplacée vers les plans d'eau.
- Les sources domestiques (les eaux usées et les engrais).
- Les détergents et produits d'entretien [46].

### 3. Les paramètres biologiques :

#### 3.1. Les Entérobactéries :

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large).
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles.
- Poussant sur milieux de culture ordinaires.
- Aérobie - anaérobie facultatif.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisant les nitrates en nitrites.
- Oxydase négatif.

Les entérobactéries sont une famille qui comprend 130 espèces, très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*) [47].

Ce groupe de bactéries est rencontré dans la microbiologie alimentaire, industrielle et dans l'environnement. On distingue le groupe des pathogènes, le groupe des coliformes (germes contamination fécale) et le groupe hétérogène.

Nous n'allons nous intéresser qu'à certaines de ces bactéries qui sont présentées dans les sous-sections suivantes [48].

##### 3.1.1. Les coliformes

Les coliformes forment le groupe de bactéries le plus fréquemment utilisé comme indicateur de contamination bactérienne de l'eau pour déceler un éventuel risque pathogène que pour apprécier l'efficacité d'un traitement. Ainsi le terme coliforme correspond à des microorganismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration Gram-négative, oxydase négative, aérobie ou anaérobie facultatif et capable de fermenter le lactose en moins de 48 heures à 35°C [4].

Il s'agit d'un groupe disparate issu de plusieurs tribus qui comprend les genres *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. Sauf quelques biotypes d'*Escherichia Coli*, il s'agit d'espèces peu dangereuses sur le plan sanitaire et qui ne sont jamais entéro-pathogènes [48].

Il existe en effet une corrélation entre la présence de bactéries coliformes, témoins de la contamination fécale, et la présence de bactéries pathogènes. Les bactéries coliformes sont présentes dans l'intestin des animaux à sang chaud, mais elles sont aussi présentes dans les sols, sur les débris végétaux, etc. Dans les eaux brutes, le nombre de coliformes est un indicateur de probabilité de la présence de bactéries pathogènes. Dans les eaux traitées, la présence de ces coliformes est un indicateur d'inefficacité du mode de stérilisation de l'eau [49].

#### 3.1.1.1. Les coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermo-tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermo-tolérants détectés. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire [50].

#### 3.2. Les Streptocoques du groupe D :

Les entérocoques ont été individualisés des *Streptocoques* du groupe D en tant que genre distinct [51]. Ce sont des cocci à Gram positif en chainettes, catalase négative et possédant l'antigène du groupe D [52]. Les entérocoques sont des commensaux ordinaires du colon humain ou de l'animal. Ils se répandent dans la nature par les excréments. Leur présence dans l'eau est un indicateur de pollution fécale [53].

#### 3.3. Les *Clostridium*s sulfito-réducteurs

Les *Clostridium*s sulfito-réducteurs sont des bacilles Gram positif anaérobies stricts capables de sporuler, réduisant les sulfites en sulfure. Hôtes normaux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique. Dans les eaux, les formes sporulées, plus résistantes que les formes végétatives des coliformes fécaux et des *Streptocoques* du groupe D, permettent de déceler une contamination fécale ancienne [52].

### 3.4. Les bactéries revivifiables :

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.

La méthode de référence pour l'analyse consiste en un dénombrement du nombre de germes par ml d'eau selon :

- Germes totaux à 22°C = comptage des colonies obtenues après incubation à 22°C durant 72 heures.
- Germes totaux à 37°C = comptage des colonies obtenues après incubation à 37°C durant 48 heures [54].

### 3.5. Les Levures

Ce sont microorganismes eucaryotes unicellulaires microscopique plus grandes que des bactéries, elles appartiennent au règne des mycètes, leur taille varie considérablement, elles sont généralement sphériques ou de forme ovoïde. Elles n'ont pas de flagelle mais possèdent la plupart des organites des autres cellules eucaryotes. On connaît de nos jours plus de 400 espèces de levures. Elles ont besoin d'humidité, chaleur et nourriture pour se reproduire par bourgeonnement, mais il y a des exceptions : en effet, certaines espèces forment des mycéliums alors que d'autres présentent un type de division cellulaire par fission [55].

Les levures sont des microorganismes opportunistes qui ne deviennent pathogènes que lorsqu'il y a des conditions favorables au développement chez l'hôte [56].

Les levures sont très répandues dans la nature, dans des substrats tels que l'eau, les sédiments, les plantes, les animaux et autres matières organiques dans les milieux aquatiques, y compris les lacs et les étangs [57].

**Deuxième partie**  
**Etude expérimentale**

Produced with ScanTOPDF

# **Chapitre III**

## **Matériel et méthodes**

Produced with ScantOPDF

Ce travail est une étude de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau du lac. Elle est réalisée sur une période de trois mois avec un prélèvement par mois. Chaque prélèvement se fait à partir de deux sites ; le premier localisé dans l'obscurité et le deuxième dans la lumière en face de l'ouverture de la grotte.

### **1. L'échantillonnage :**

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté ; il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée (Rodier, 2009).

Des précautions élémentaires sont décrites afin de minimiser les risques associés à la contamination et de permettre le maintien de l'intégrité des échantillons, qui doit être homogène et considérée comme représentative, d'une masse d'eau en vue de l'examen de diverses caractéristiques définies [58].

Les échantillons d'eau destinés aux analyses physico-chimiques ont été prélevés dans des flacons en polyéthylène de 1000 ml.

Pour les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ont été prélevés par immersion à la main de flacons en verre de 250 ml [59].

les flacons sont plongés dans l'eau du lac fermés, puis ouverts à une profondeur de 25 cm et rincés 2 à 3 fois avec l'eau de lac avant de les remplir et fermer hermétiquement dans l'eau sans laisser de bulles d'air.

Les échantillons ont été transportés ensuite dans une glacière réfrigérée à 4°C pour réduire les fluctuations de densité bactérienne.

## 2. Analyses physicochimiques :

A l'exception de la température, le potentiel d'hydrogène, la conductivité électrique et l'oxygène dissous de l'eau, prise *in situ*, toutes les autres mesures physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de station de traitement des eaux potables de *Hamman Debagh*.

### 2.1. Mesures *in situ* :

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement les matériels dans l'eau. La température, le pH, la conductivité électrique, l'oxygène dissous et le TDS doivent être mesurés sur place (Tableau.2).

Ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et susceptibles de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur le site [60].

**Tableau.2. Paramètres physicochimiques mesurés *in situ***

Paramètres	Appareillages	Unités de mesure
La température	Un multi-paramètre (Figure.8)	Degré Celsius (C°)
Le potentiel d'hydrogène (pH)	Un pH mètre ou multi paramètre	
La conductivité électrique (CE)	Un multi-paramètre	Siemens par mètre (s/m)
L'oxygène dissous (O2)	Un oxymètre (Figure.9)	Milligramme par litre (mg/l)
Minéralisation globale d'une eau (T.D.S)	Un multi-paramètre	Milligramme par litre (mg/l)



**Figure.8. Multiparamètre :**  
**HANNA HI 9812-5**



**Figure.9. Oxymètre :**  
**HANNA HI 9146**

## 2.2. Mesures au laboratoire :

### 2.2.1. La turbidité :

La mesure est effectuée au laboratoire avec un turbidimètre appelé aussi néphélomètre. La mesure est obtenue directement en NTU (NFT90-033) (Aouissi A, 2010).

### 2.2.2. Dosage des paramètres par méthodes spectrométrique :

La spectrométrie d'absorption moléculaire (colorimétrie) est la première méthode qui a facilité l'analyse hydrologique (Rodier, 2009).

**Tableau.3. Paramètres dosés par méthodes spectrométrique (Rodier, 2009)**

Paramètres	Principe	Expression des résultats
<b>l'ammonium</b> [ISO 7150/1-1984]	dosage du composé bleu formé par réaction de $\text{NH}_4^+$ avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitrosopentacyanoferrate (III) de sodium	mg/l; à 655 nm
<b>Les nitrites</b> ( $\text{NO}_2^-$ ) :	Les ions nitrites réagissent en milieu acide (PH = 1.9) avec la sulfamide en formant sel de diazonium qui forme avec le N (1 naphyl) éthylènediamine-dihydrochlorhydrate un colorant azotique rouge, $\lambda_{\text{max}}$ = 543 nm	En mg/l à 543nm
<b>Les nitrates</b> ( $\text{NO}_3^-$ )	En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.	En mg/l à 415 nm
<b>Le fer [méthode à l'orthophénanthroline (ISO 6332)]</b>	Addition d'une solution de phénantroline 1.10 à une prise d'essai et mesurage photométrique du complexe rouge-orang. Le chlorure d'hydroxylamine est ajouté pour réduire le $\text{Fe}^{3+}$ en $\text{Fe}^{2+}$	En mg/l à 510nm
<b>sulfates (<math>\text{SO}_4^{2-}</math>)</b> [M.KERN]	Les ions sulfates sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum $\text{BaCl}_2 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{BaSO}_4 + 2 \text{Cl}$	Mg/l $\text{SO}_4^{2-} =$ La valeur lue sur le spectro- x la dilution

## 2.2.3. Analyses physico-chimiques par méthodes volumétriques :

Tableau.4. Paramètres mesurés par méthodes volumétriques (Rodier, 2009)

Paramètres	Principe	Expression des résultats
<b>Matières en suspension (MES)</b>	L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle	$MES (mg/l) = (P2-P1) \times 1/V \times 1000 = (P2-P1) \times 5 \times 1000$  P1 = masse du disque filtrant avant utilisation (mg). P2 = masse du disque filtrant après utilisation (mg). V = volume d'eau utilisé
<b>Résidu sec (RS) :</b>	Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarée. Le résidu desséché est ensuite pesé	$R/S (mg/l) = (Pp - Pv) \times 5 \times 1000$  Pp = poids plein de la capsule.  Pv = poids vide de la capsule
<b>Matières organiques (MO)</b>	L'opération consiste à mesurer, en milieu acide et en milieu alcalin, la quantité d'hydrogène utilisée pour la réduction du permanganate de potassium par les MO.	$M/O (O_2/l) = (V_{éch} - V_{blanc})$
<b>Titre hydrotimétrique par (EDTA) (TH)</b>	Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont amenés à former un complexe du type chélato par le sel disodique de l'acide éthylène-diamimétracétique à PH 10.  La disparition des dernières traces	$TH (°F) = V (ml) \times 10$

	d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique. En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du $Mg^{+2}$ , la méthode permet de doser la somme des $Ca^{+2}$ et $Mg^{+2}$	
<b>Dosage du calcium (<math>Ca^{2+}</math>) (le même principe décrit pour le TH)</b>	Le dosage se fait à un PH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas et l'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium	$[Ca^{2+}] \text{ mg/l} = V[EDTA] \times F \times 8$
<b>Dosage du magnésium (<math>Mg^{2+}</math>)</b>	Le principe est le même que pour la mesure de la dureté calcique	$[Mg^{2+}] \text{ mg/l} = (V2-V1) \times F \times 4.8$ V2 volume titré de $Ca^{+2}$ et $Mg^{+2}$ V1 volume titré de calcium $F = 12.5 / V(\text{EDTA})$
<b>Titre Alcalimétrique simple et complet (TA et TAC)</b>	Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré. <b><u>Détermination du TAC</u></b>	$TA^{\circ}F = V \text{ titré}$ $TAC^{\circ}F = V \text{ titré} - 0.5$
<b>Chlorures (Cl)</b>	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 caractéristique du chromate d'argent	Teneur = $V \text{ (ml)} \times 142$

### 3. L'analyse microbiologique :

#### 3.1. Dénombrement des micro-organismes dans l'eau :

##### 3.1.1. Le dénombrement des germes totaux :

- **Principe :**

Il s'agit d'une technique de numération de microorganisme après incorporation de volumes déterminés d'échantillon ou de ses dilutions dans un milieu gélosé (TGEA).

Le but de cette analyse est d'évaluer la charge microbienne de l'eau. Les boîtes sont incubées à 22°C et à 37°C (ISO 6222) (Figure. 10).

- **La série 1 :** à 22°C pour assurer le développement de tous les germes (bactéries, champignons, levures, moisissures).
- **La série 2 :** à 37°C pour assurer le développement des bactéries susceptible de provoquer des infections à l'être humain.

##### **Lecture et interprétation :**

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

Calculer ensuite la valeur du nombre N de micro-organismes revivifiables à 22 ±2°C à part et celle du nombre N de micro-organismes revivifiables à 37±2°C à part, entant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

Où :

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

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

Le résultat final de micro-organismes est noté par un nombre compris entre 1.0 et 9.9 multiplié par 10  $\square$  ou X est la puissance appropriée de 10.

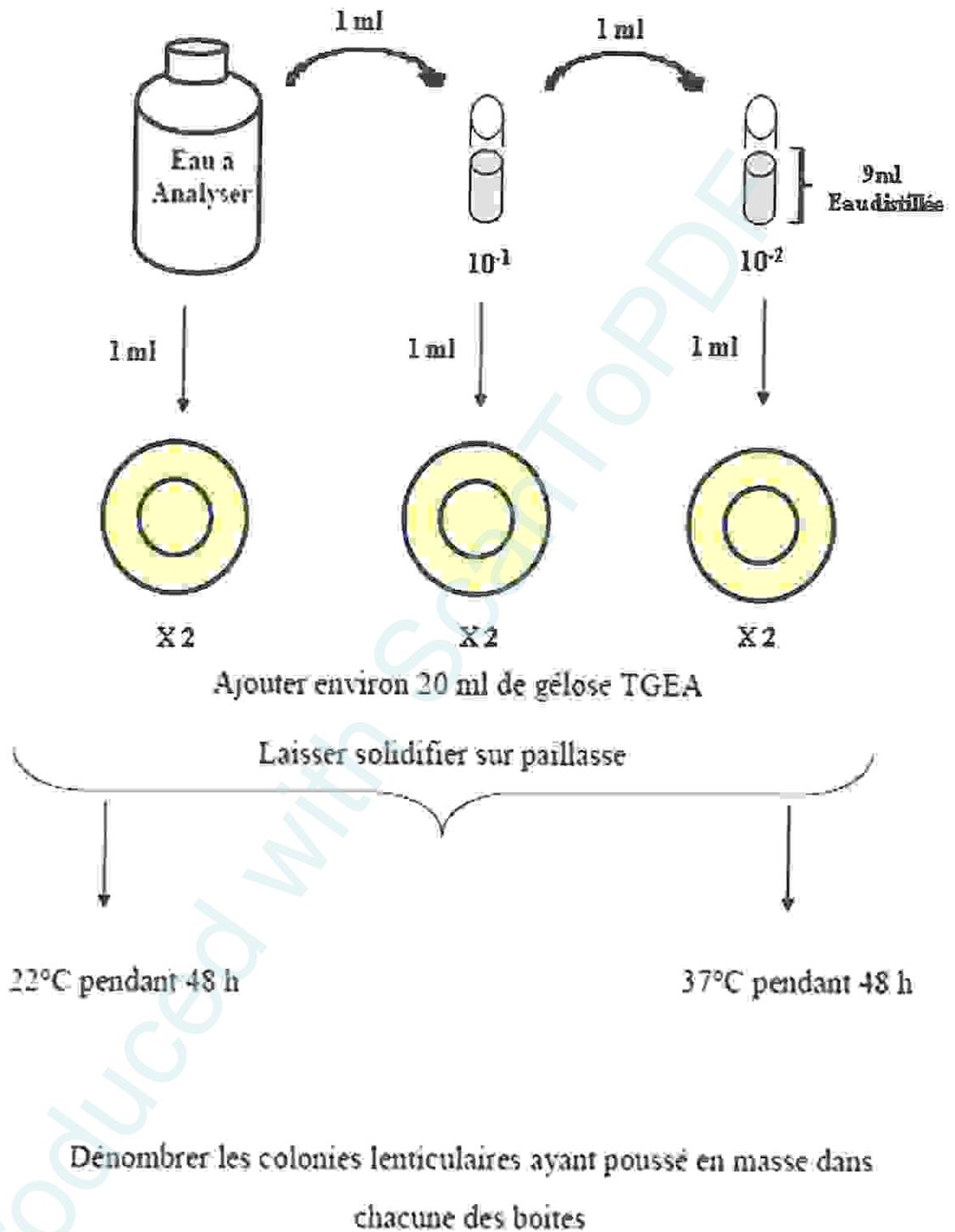


Figure.10. Recherche et dénombrement des germes revivifiables

### 3.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo-tolérants et identification d'*Escherichia coli* en milieu liquide :

Cette recherche et dénombrement en milieu liquide par la technique du NPP, se déroulent en deux étapes consécutives :

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

#### Mode opératoire :

- **Test présomptif :**

Après avoir agité rigoureusement l'échantillon d'eau à analyser afin d'obtenir une suspension homogène des bactéries (Delarras et al., 2008); nous avons réalisé des dilutions décimales successives ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) avec trois tubes par dilutions à partir de l'échantillon en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile selon la norme NFT 90-400, puis à partir de la suspension mère et de chacune de des dilutions, nous avons inoculé trois tubes de milieu de culture à raison d'un millilitre par tube (Halassi I, 2010)

L'ensemencement est effectué sur des tubes à 9 ml de bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) avec cloche de Durham, à simple concentration (Delarras et al., 2008).

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures dans l'étuve (Figure.11).

#### Lecture :

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

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche)
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînent le virage du bromocrésol pourpre au jaune) (Figure.11).
- Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et déterminer le nombre caractéristique avoir le tableau de Mac Crady pour déterminer le nombre de coliformes présent dans 100 ml d'échantillon (Delarras et al., 2008).

- **Test confirmatif :**

A partir de chaque tube de BCPL positif, confirmer en ensemençant des tubes de milieu confirmatif : l'eau peptonée exempte d'indole (Delarras *et al.*, 2008)

Bien mélanger le milieu et l'inoculum et incuber à 44°C pendant 24 heures (Figure.11):

**Lecture :**

Observer les tubes repiqués pour confirmation et réaliser le test indole à l'aide du réactif de Kovacs. La production d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge qui se rassemble à la surface du tube (Figure. 11):

**Tab.5. Lecture du test confirmatif des coliformes fécaux**

	Présence de gaz	Production d'indole
Coliformes thermo-tolérants	+	+/-
Escherichia coli présumés	+	+

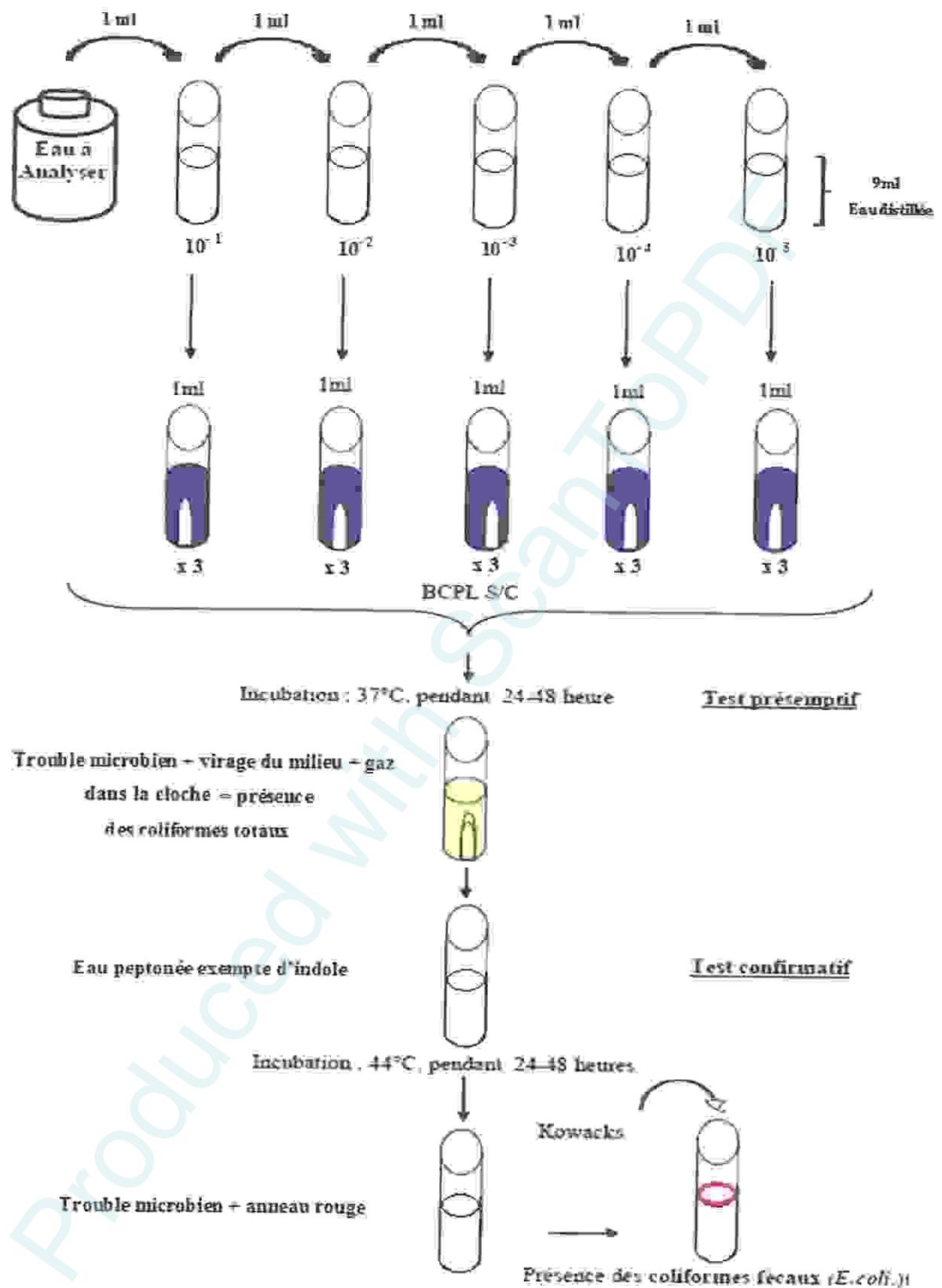


Figure.11. Recherche et dénombrement des coliformes

### 3.1.3. Recherche et dénombrement des *Streptocoques* (méthode en milieu liquide) :

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

#### Mode opératoire :

- **L'étape présomptive :**

Ce test est réservé à la recherche des streptocoques. Les dilutions et l'inoculation du milieu de culture s'effectuent comme le cas précédent pour le milieu BCPL. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon glucosé à l'azoture (Rothe) à simple concentration. L'incubation des tubesensemencés s'effectue dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures (Halassi I, 2010) (Figure.12).

#### Lecture :

Les tubes présentant un trouble bactérien due à une croissance bactérienne sont considérés comme positifs et pouvant contenir des streptocoques du groupe D (Delarras et al., 2008).

- **L'étape confirmative :**

Ce test est réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe (D).

- Agiter les tubes de Rothe présentant un trouble, présumés positifs
- Repiquer une anse du contenu de chacun de ces tubes dans un tube de milieu de Litsky.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures (Figure. 12).

#### Lecture :

Les tubes présentant un trouble homogène et/ou une pastille violette au fond contiennent au moins un streptocoque du groupe D (Figure.12).

#### Expression des résultats :

Considérer comme positifs les tubes pour lesquels on observe une réaction positive avec le milieu de Rothe après confirmation sur le milieu d'Eva Litsky. Exprimer ensuite le nombre de streptocoques fécaux pour 100 ml d'eau en utilisant la table NPP à 3 tubes par dilution (table NPP de la norme Afnor NF T 90-411) (Delarras et al., 2008).

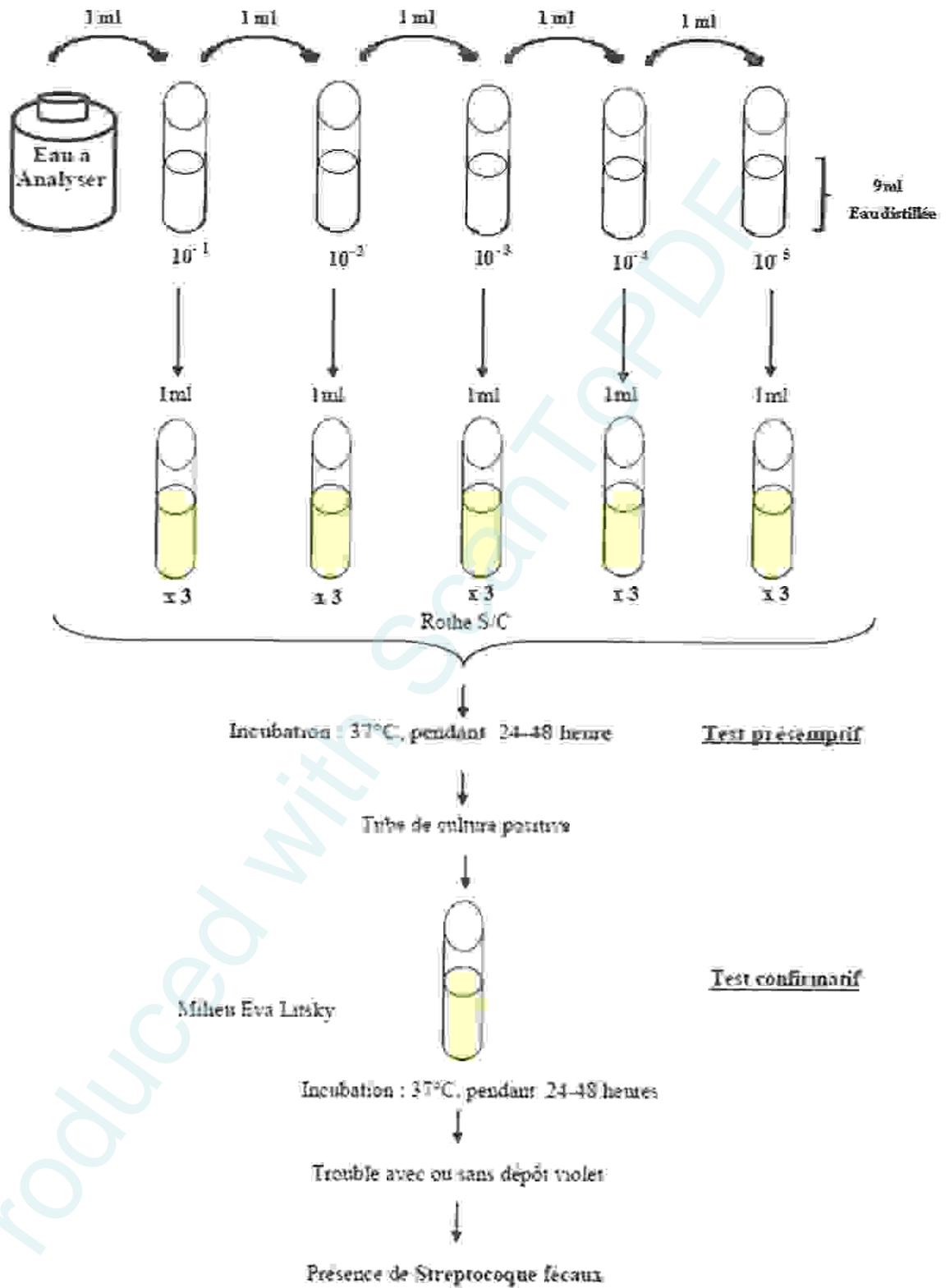


Figure.12. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

### 3.1.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de *Clostridium* sulfito-réducteurs :

- **Le principe d'incorporation en gélose en tubes profonds :**

En basant sur le fait que ce groupe de bactéries est caractérisé par la résistance de leur spores et par équipement enzymatique réduisant plus ou moins activement les sulfites en sulfures, la recherche de ces bactéries est réalisée après destruction des formes végétatives par chauffage à 80°C pendant 5 à 10 minutes. Ensuite l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu additionné de sulfite de sodium et d'alun de fer permettent la mise en évidence l'action sulfito-réductrices.

Le principal milieu utilisé à cette fin est la gélose viande-foie additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer (Halassi I, 2010).

- **Procédure:**

- Faire liquéfier par chauffage 5 tubes contenant 20 ml de gélose viande foie puis les mettre à 55°C environ pour les refroidir, et ajouter au contenu de chaque tube les solutions tièdes suivantes :

- 0,5 ml d'une solution aqueuse de sulfite de sodium pur cristallisé à 5% et stérilisée
- 4 gouttes d'alun de fer à 5% (Institut Pasteur, 1978).

- Mélanger soigneusement sans faire de bulles.

- Préparer 5 tubes stériles avec 5 ml de l'eau à analyser, les chauffer à 80°C pendant 10 min puis les refroidir à 55°C environ.

- Verser doucement 20 ml du milieu précité dans un tube d'eau préparé, sans agiter et sans introduire d'air pour une bonne anaérobiose ; faire solidifier rapidement la gélose.

- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Figure.13) (Delarras et al., 2008).

- **Lecture et dénombrement**

Observer les tubes une première fois après 24 heures et une seconde fois après 48 heures d'incubation. Des colonies entourées d'un halo noir proviennent de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices qui se sont développées. Compter le nombre de colonies typiques et l'exprimer par x ml d'eau en fonction du type d'eau analysée (Delarras et al., 2008).

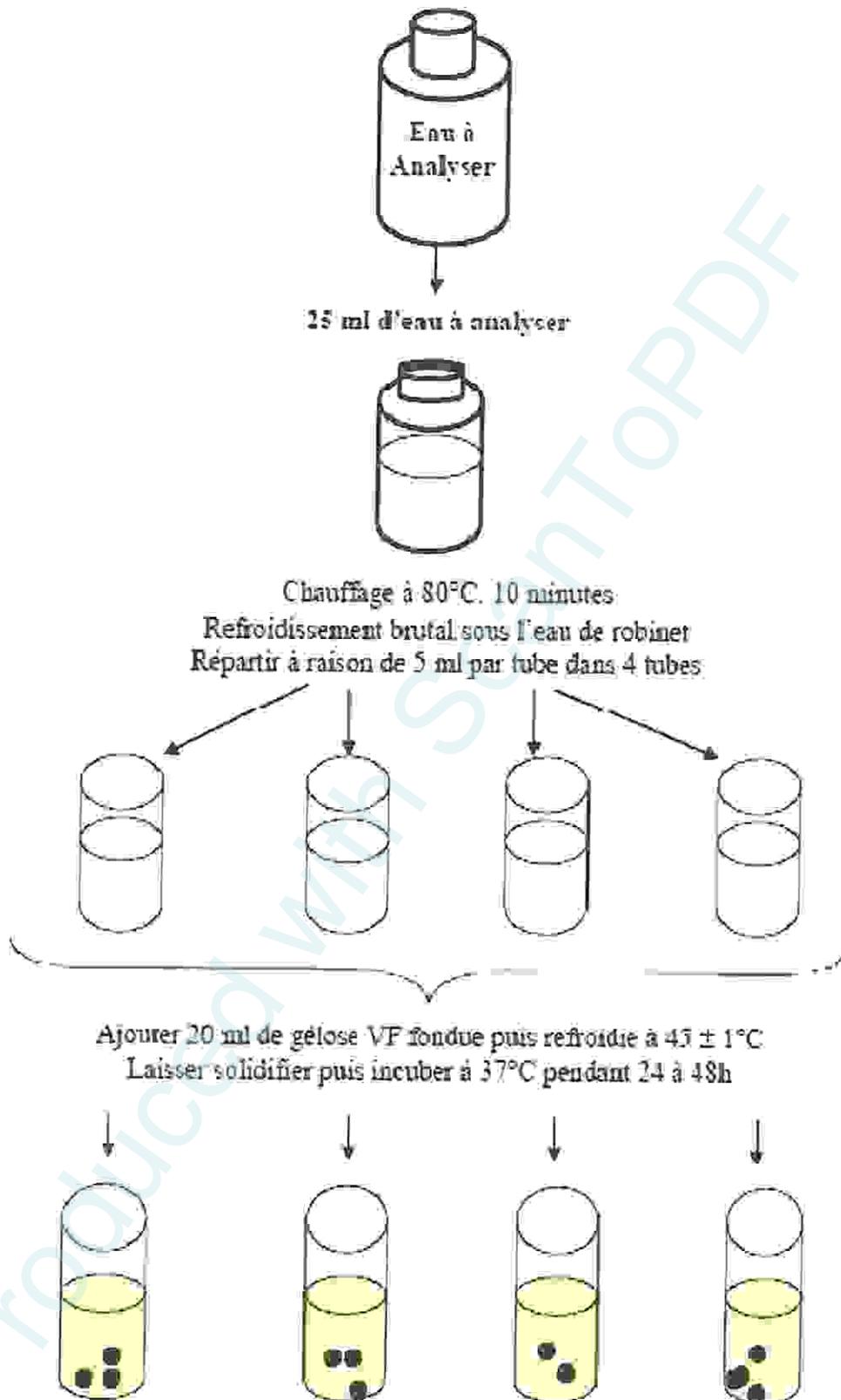


Figure. 13. Recherche et dénombrement des Spores d'ASR

### 3.1.5. Recherche et isolement des micro-organismes pathogènes :

Les milieux utilisés afin d'isoler les micro-organismes sont la gélose Mac Conkey, la gélose Hektoen, Chapman, SS et King A et B.

- **Procédure :**

Prélevé stérilement avec une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis ensemencé par la méthode des stries les géloses précédemment citées. Ces milieux gélosés sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

- **Isolement et purification :**

Sur les géloses mises en culture, nous avons choisi les colonies suspectes ou désirées et les repiqué dans de nouvelles boîtes gélosés afin de vérifier la pureté des souches.

#### 3.1.5.1. Recherche des *Pseudomonas aeruginosa* :

- **Isolement :**

L'isolement se fait directement sur milieu sélectif King A et King B qui seront coulés dans des boîtes des pétri stérilisés. On ensemence avec une anse de platine l'eau à analyser par stries à la surface de la gélose puis on incube à 37°C pendant 24 heures (Halassi I, 2010).

- **Confirmation :**

Deux examens microscopiques : Coloration de Gram et examen direct entre lamé et lamelle (état frais qui permet d'observer la mobilité des germes).

Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa*. Nous ensemençons à partir colonies développées l'eau peptonée, et on incube à 37°C jusqu'à apparition de couleur verdâtre, ajouter 2 ml de chloroforme. Après agitation, la pyocyanine communique au chloroforme une teinte bleue.

Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B (Halassi I, 2010).

### 3.1.5.2. Recherche de *Staphylococcus* :

L'isolement des *staphylococcus* se fait à l'aide du milieu Chapman, un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles. Ce milieu du fait de la haute concentration de chlorure de sodium (75 g.l) inhibe le développement des germes Gram négatif et certaines bactéries (Aouissi A, 2010).

- **Procédure :**

Après l'ensemencement, les boîtes de pétri son incubées à 37°C pendant 24h à 48h, et en cas de résultat négatif on laisse les boîtes 24h à la température du laboratoire. Les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune du à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve. Les autres espèces de *Staphylococcus* donnent des colonies généralement plus petites rosées et n'entraînent pas de virage du milieu (Delarras et al., 2008).

- **L'identification :**

Nous choisissons une colonie suspecte et nous effectuons les tests suivants (institut pasteur service des eaux).

- Coloration de Gram :**

Les *Staphylococcus* apparaissent à l'examen microscopique comme des cocci à Gram+, immobile.

- Recherche de catalase :**

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

$$2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$$

Toutes les espèces de *Staphylococcus* sont catalases positives.

Nous déposons sur une lame, une goutte d'eau oxygénée et nous y dissociions directement un peu de culture à étudier, prélevé sur milieu Chapman. Si la souche examinée possède une catalase, nous observons un dégagement immédiat de bulles gazeuses. (Institut pasteur service des eaux) (Halassi I, 2010).

### 3.1.5.3. Recherche et isolement des Salmonelles :

- **Principe :**

La gélose SS est un milieu modérément sélectif où l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires, de vert brillant et de citrate de sodium.

Les concentrations élevées en citrate et thiosulfate de sodium limitent le développement des coliformes et évitent l'envahissement du milieu par les *Proteus*.

La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de rouge neutre, par la formation de colonies rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

En présence de thiosulfate et de citrate ferrique, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent des colonies à centre noir.

Il est particulièrement recommandé de réaliser au préalable un enrichissement sur un bouillon au sélénite ou sur un bouillon au sélénite-cystine et d'ensemencer simultanément d'autres milieux moins sélectifs tels que : gélose de MacConkey, gélose Hektoen [61].

- **Mode d'emploi :**

- Ensemencer en stries l'inoculum sur milieu SS.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture :**

- Les *Salmonella* qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d'H<sub>2</sub>S).
- Les *Shigella* sont incolores.
- Les coliformes présentent des colonies rouges ou rosées.
- Les colonies suspectes seront repiquées sur gélose TSI (BK059) en vue de leur identification ultérieure [61].

### 3.1.6. Les levures et les champignons :

N'importe quel milieu de culture glucosé convient pour la numération des levures. Mais leur isolement est réalisé sur la gélose Sabouraud qui constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des Fungi (levures et moisissures) saprophytes ou pathogènes. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol.

- **Mode d'ensemencement :**

Transférer l'échantillon à analyses sur le milieu. On étale l'inoculum en surface à l'aide d'un râteau en verre stérile et enfin on incube à 20-25 °C de 3 à 5 jours.

- **La lecture :**

Se fait au bout de 48 heures et peut aller jusqu'à 7 jours.

**-Examen macroscopique :**

**Tableau.6. Caractéristiques des colonies de levure et champignon**

Les colonies de levure	Les colonies de champignon
Colonie pouvant apparaître en relief (3D)	Larges colonies
De couleur beige-rosé à bleu-vert	Couleur variable
Colonies de contour bien défini	Thalle aux contours diffus
Normalement sans centre de couleur intense	Thalle apparaissant plat (avec centre foncé)

**-Coloration simple :**

Elle est effectuée entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide ayant permis d'observer les caractéristiques culturales: la forme (sphérique, ovoïde, allongée) et la taille des cellules en milieu solide (Bouzaaroura A, Hadri M, Obeidi A, 2011).

### 3.2. Identification des bactéries à partir des milieux solides :

#### 3.2.1. Identification morphologique :

L'identification morphologique des bactéries se fait par des examens macroscopiques (diamètre des colonies, contour, élévation, couleur, surface) et des examens microscopiques (l'état frais et coloration de gram)

#### 3.2.2. Identification biochimique et métabolique :

Deux méthodes ont été utilisées pour l'identification biochimique des entérobactéries, la galerie classique et la galerie API.

L'emploi de ces deux méthodes ensemble est justifié par le nombre limité des caractères fournis par la galerie classique et qui ne permis pas l'identification précise des espèces chose qui est assuré par la galerie API la plus performante.

##### 3.2.2.2. Galeries classiques des *Enterobacteriaceae* :

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries. Grâce à ces tests, il est possible de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries isolées.

Les tests biochimiques permettent donc de vérifier si la bactérie a un métabolisme oxydatif ou fermentatif, s'il ya formation d'un acide à la suite de l'utilisation d'un hydrate de carbone (ex : glucose arabinose, sorbitol...), si un composé particulier est utilisé comme seule source de carbone ( ex : citrate, malonate...), si un acide aminé peut être transformé ( ex : arginine, lysine, tryptophane...), si une enzyme particulier est présent ( ex : oxydase, catalase, pectinase ... ) ou si des molécules complexes sont dégradées (ex : gélatine, amidon - ...) [62]

##### 3.2.2.3. Galerie moderne API 20 E :

Le Système d'Identification API 20 E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif qui poussent facilement. La galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux puis les boîtes sont incubées à 35-37°C pendant 18 à 24 heures .La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification [63]

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussions**

Produced with Scantopdf

## 1. Analyses physicochimiques :

### 1.1. La température :

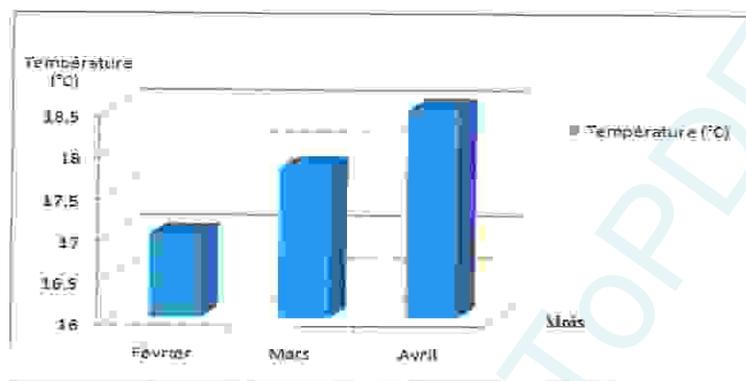


Figure. 14. Evolution de la température

D'après les résultats représentés dans la figure.14, les valeurs de la température obtenues semblent constantes durant toute la période d'étude avec une variation légère ( $\approx 1^\circ\text{C}$ ).

La température d'une eau douce est une mesure momentanée, qui dépend de l'heure et du lieu de prélèvement, de la nature géologique et de la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sol et elle devrait être inférieure en été et supérieure en hiver à la température de l'air [35]. La température supérieure à  $15^\circ\text{C}$  favorise le développement des micro-organismes ce qui intensifie les odeurs et les saveurs. Donc elle est aussi un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques de l'eau (Ramade, 1993).

### 1.2. L'oxygène dissous :

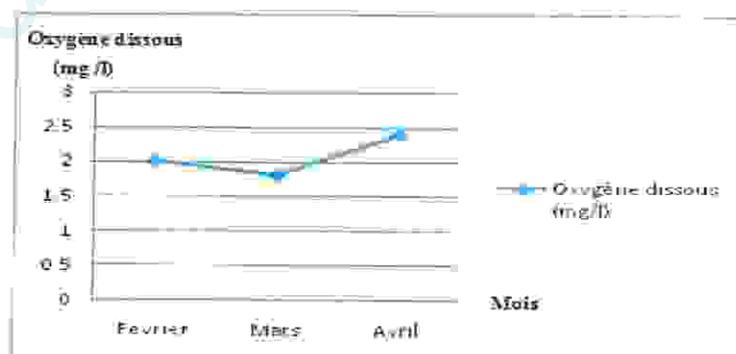


Figure.15. Evolution de l'oxygène dissous

D'une manière générale, les teneurs en oxygène dissous ( $O_2$ ) sont faibles et comprises entre 1,8 et 2,4 mg/l (Figure. 15).

La teneur en oxygène dissous de l'eau est déterminée en grande partie par l'équilibre qui s'établit entre l'apport d'oxygène et la consommation d'oxygène nécessaire à la métabolisation des matières oxydables reçues [64].

Les rejets d'effluents organiques (déchets industriels, y compris ceux du déboisement, déchets agricoles et déchets urbains) produits par l'activité humaine tendent à faire pencher la balance du côté de la consommation [64].

La localisation du lac dans une grotte la rend moins aérée, en plus les facteurs biologiques que constituent la respiration et l'oxydation sont généralement présents et entraînent une diminution de la concentration d'oxygène dans l'eau du lac proportionnelle à la profondeur.

### 1.3. Le PH, $HCO_3^-$ , TAC, $Ca^{+2}$ , $Mg^{+2}$ , TH :

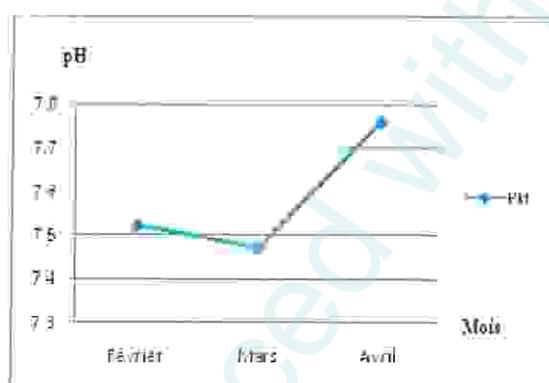


Figure.16. Evolution du PH

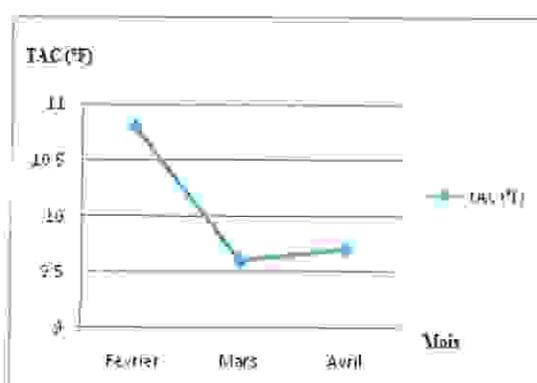


Figure.17. Evolution du TAC

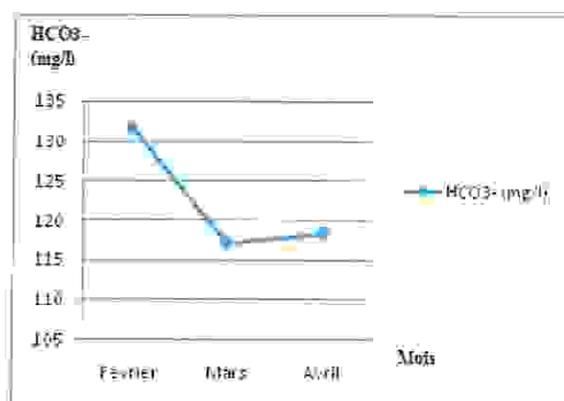
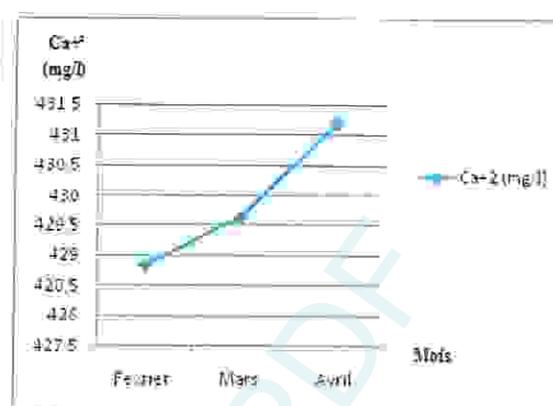
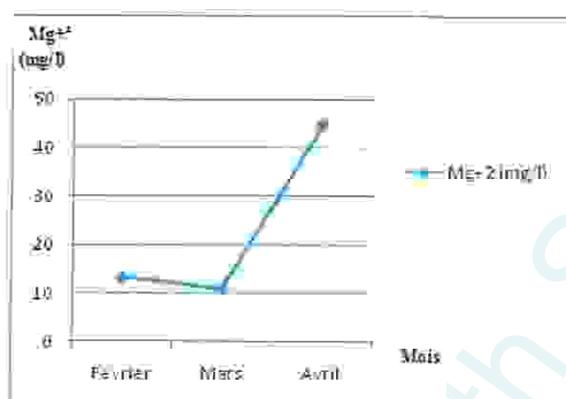
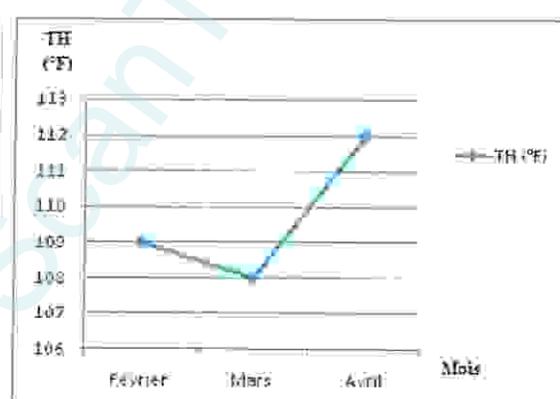
Figure.18. Evolution du HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>Figure.19. Evolution du Ca<sup>+2</sup>Figure.20. Evolution du Mg<sup>+2</sup>

Figure.21. Evolution du TH

Les Figures.16, 17, 18, 19, 20, 21, qui représentent les résultats des paramètres (PH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TAC, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, TH) de l'eau du lac, montrent que les valeurs maximales de ces paramètres sont observées généralement durant le mois de février et d'avril (la période pluvieuse), ces valeurs sont dues à l'érosion des roches sédimentaires carbonatées causée par des taux de précipitations élevés enregistrés durant la même période ce qui libère plus de (Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, et carbonates CO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Figure.22).

Tandis que les valeurs minimales de (PH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TAC, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, TH) sont observées durant le mois de mars. Cet abaissement est dû au changement de climat (hivers-printemps) et à la diminution du taux de précipitations (eau) qui entraîne une diminution d'érosion des roches sédimentaires carbonatées.

Les changements climatiques observés au cours de la période d'étude confirment ces résultats.

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. Il est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques [35].

Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques, et dépend de facteurs multiples, il est dominé par l'équilibre des carbonates, et on a en effet une interdépendance entre les réactions suivantes:

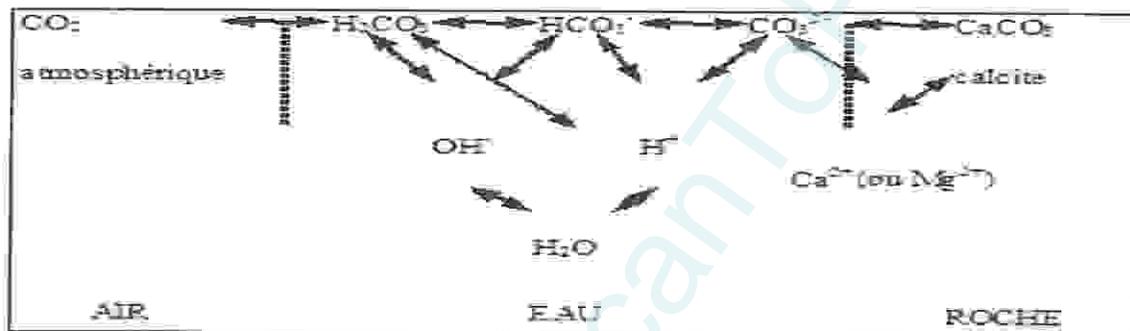


Figure.22. Relation entre PH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TAC, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, TH

Toutes ces réactions sont liées entre elles. Un ajout d'acide ou de base faibles dans une eau bicarbonatée déplace l'équilibre dans le sens opposé, et n'entraîne donc pas de grand changement de pH [35].

C'est ce qu'on appelle le pouvoir tampon de l'eau et qui explique que l'eau du lac a un pH compris entre 7 et 8 (neutralité approchée) [35].

#### 1.4. Turbidité, matière en suspension, matière organique :

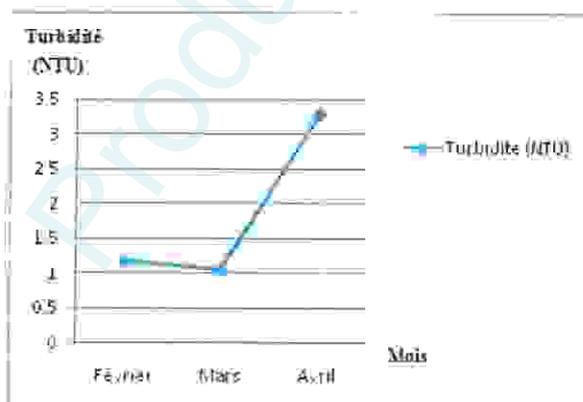


Figure.23. Evolution de la Turbidité

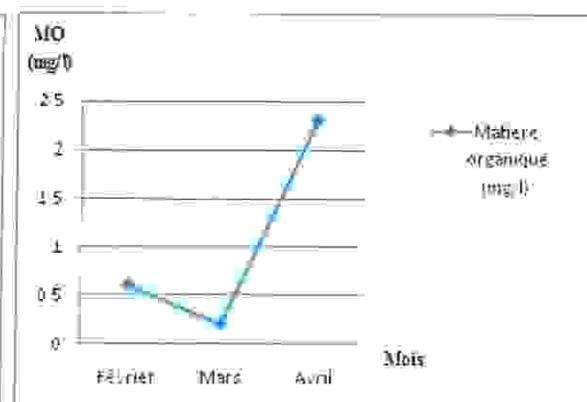


Figure.24. Evolution de la Matière organique

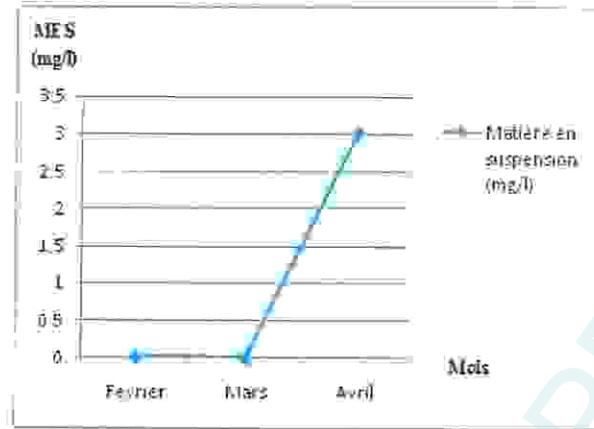


Figure.25. Evolution de la Matière en suspension

Selon les valeurs mentionnées dans les Figures.23, 24, 25 ; nous constatons que l'eau est turbide au mois d'avril et de février (3.27 NTU et 1.18 NTU) par rapport au mois de mars (1.05). Concernant la matière en suspension et la matière organique, les valeurs les plus élevées sont observées au niveau de l'échantillon prélevé en moi d'avril (MES=3) et (MO=2.3) par rapport aux deux autres prélèvements.

Cela est du au fait que l'eau de ce lac est exposée aux eaux de ruissellement. D'une manière générale les valeurs les plus élevées ont été observées pendant les périodes pluvieuses.

1.5. Cl<sup>-</sup>, Fe<sup>+2</sup>

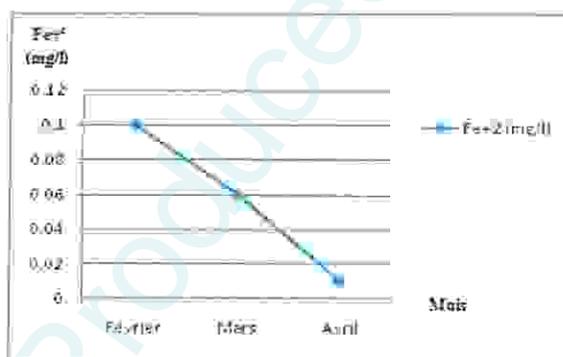


Figure.26. Evolution du Fe+2

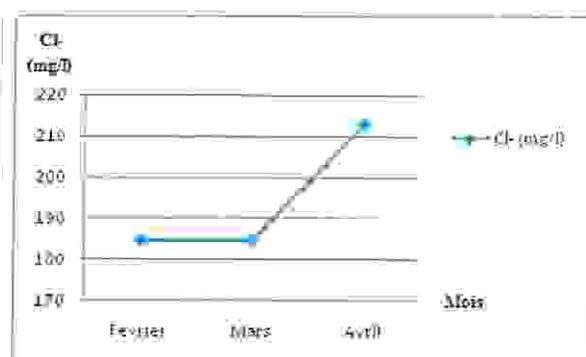


Figure.27. Evolution du Cl-

Les teneurs calculées des chlorures, d'après les Figures. 26 et 27, sont inférieures à la norme de potabilité (250 mg/l) dans tous les prélèvements avec un maximum de 213mg/l dans le mois d'avril

L'eau contient presque toujours des chlorures mais en proportions très variables. Leur teneur augmente généralement avec le degré de minéralisation de l'eau.

Pour le fer les teneurs enregistrées sont dans l'ensemble faible avec un maximum de 0,10 mg/l durant le mois de février.

La source principale de chlorure et de fer dans le lac est due au lessivage des roches de la région par les précipitations.

#### 1.6. Les sulfates :

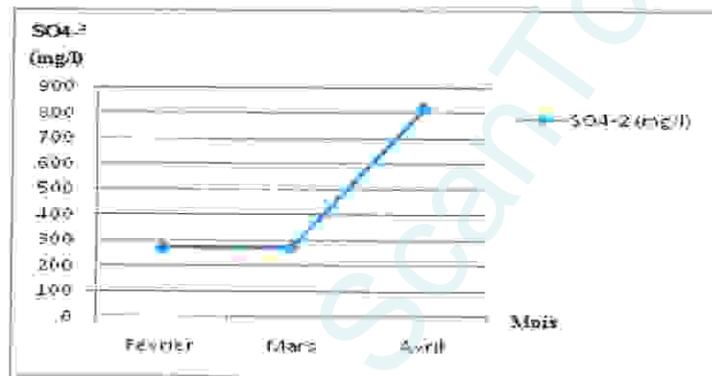


Figure.28. Evolution du SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>

Les concentrations moyennes des sulfates dans les trois prélèvements sont dans l'ensemble supérieur à la norme fixée par l'OMS (250 mg/l) et la valeur la plus élevée est observée durant le mois d'avril (819,35mg/l) (Figure.28).

La présence de cet élément dans l'eau est liée à l'utilisation d'engrais chimique. Les concentrations en sulfates sont plus élevées en période de pluies et ceci dans tous les prélèvements.

#### 1.7. Les nitrates :

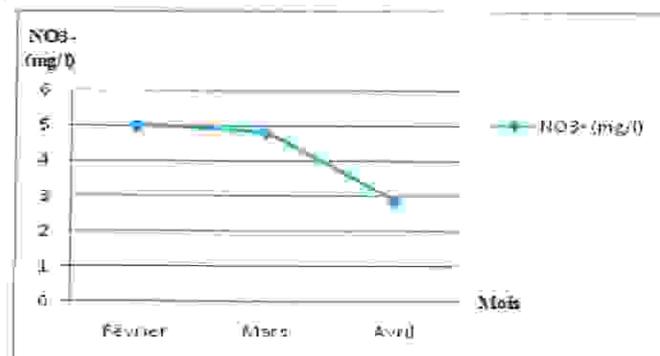


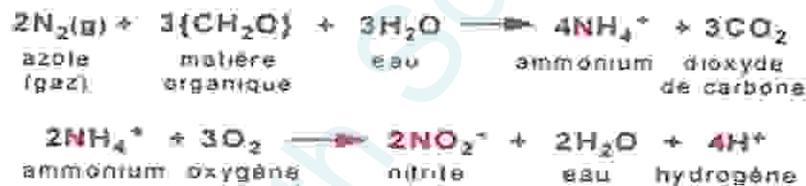
Figure.29. Evolution du NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

La figure.29, montre que les teneurs en nitrate sont faibles au cours des trois prélèvements réalisés sur l'eau du lac avec un maximum de 5,01 mg/l au mois de février, l'ensemble de ces valeurs est inférieur à la norme de 50mg/l décrite par l'OMS pour les eaux destinées la consommation humaines (OMS, 1994).

La présence des nitrates dans ce lac est liée à l'utilisation des engrais chimiques d'origine agricole dans la région, lessivés par la suite des précipitations.

### 1.8. Ammonium et nitrite :

Pour ces deux éléments aucune valeur n'est enregistrée durant les trois prélèvements Ceci est en relation avec les faibles teneurs en matière organique qui est à l'origine de la formation d'ions ammonium responsables de l'apparition des nitrites selon les réactions suivantes [65].



### 1.9. La salinité :

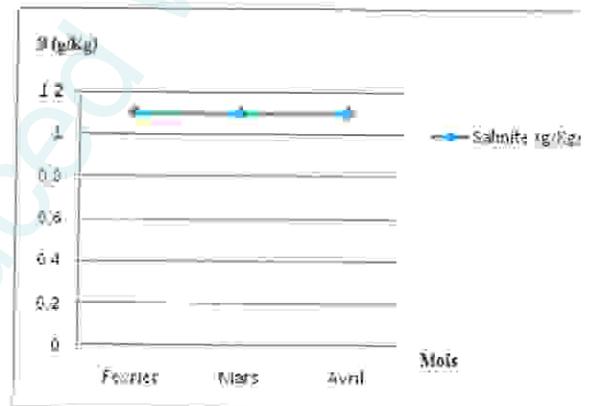


Figure.30. Evolution de la salinité

La salinité est proportionnelle à la conductivité. Ces valeurs restent stables (1,1 g/kg) durant les trois prélèvements (Figure.30).

### 1.10. Conductivité électrique :

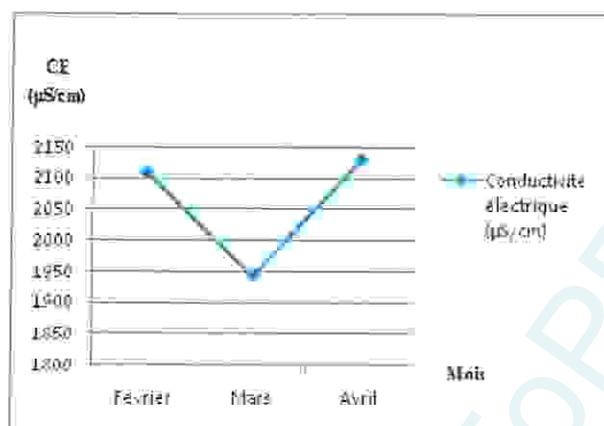


Figure.31. Evolution de la conductivité électrique

La Figure.31, nous expose que les valeurs de la conductivité dans tous les points d'eau dépassent la norme recommandée pour les eaux potables (400  $\mu\text{S/cm}$ ).

Les valeurs enregistrées durant les trois prélèvements sont très proches avec un maximum de 2130  $\mu\text{S/cm}$  au mois d'avril.

Ces fortes valeurs sont dues probablement à la dissolution des roches qui existent au niveau du lac.

La conductivité électrique permet d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une conductivité élevée traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée (Rodier, 2009).

### 1.11. TDS :

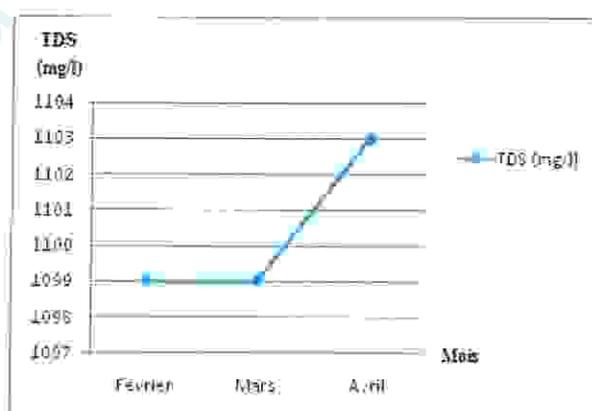


Figure.32. Evolution du TDS

La mesure de la conductivité permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau, ces derniers peuvent nous renseigner sur la potabilité de l'eau (Aouissi A, 2010).

Toutes les analyses présentent une minéralisation inférieure à 2000 mg/l (norme de l'OMS) avec un maximum de 1103 mg/l au mois d'avril (Figure.32).

Nous constatons aussi que la variation de la minéralisation globale est identique à celle de la conductivité.

### 1.12. Les résidus secs :

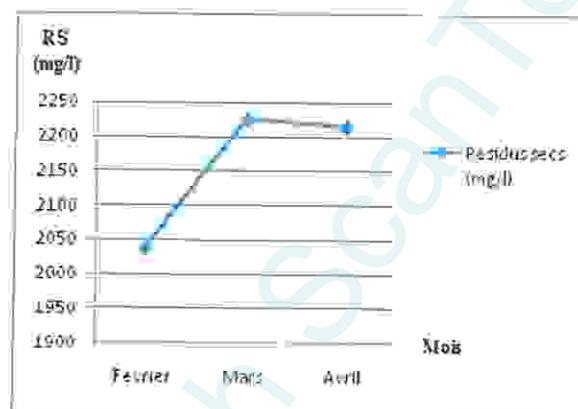


Figure.33. Evolution des résidus secs

D'après les valeurs obtenues au cours de nos études on constate que l'eau du lac est fortement minéralisée avec un maximum de 2225,5mg/l au mois de mars (Figure.33).

Les teneurs en résidu sec sont supérieures aux normes de potabilité décrites par l'OMS (1500 mg/l)

L'eau du lac présente des teneurs élevées en TH, Mg, CE, SO<sub>4</sub>-2 et RS, qui dépassent les normes de potabilités internationales, provoquant ainsi la forte minéralisation de l'eau du lac qui est due principalement à la dissolution des roches de la zone. Ces résultats montrent que cette eau est non recommandée pour la consommation humaine.

## 2. Analyses microbiologiques :

### 2.1. Les germes totaux :

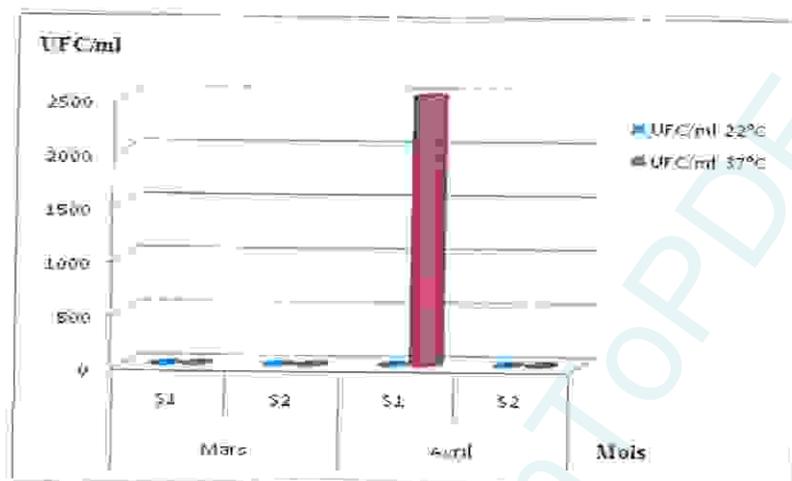


Figure.34. Evolution du nombre de germes totaux

Les résultats de dénombrement des germes totaux durant notre période d'étude, présenté par la Figure.34, nous montre un taux très faible de la flore totale isolée au mois d'avril dans le 1<sup>er</sup> site de prélèvement alors qu'une absence totale est enregistrée au mois de mars dans les 2 sites.

Ces observations pourrait être le résultat du phénomène de dilution survenu après les chutes de pluie et à une température de l'eau très basse.

### 2.2. Les coliformes totaux :

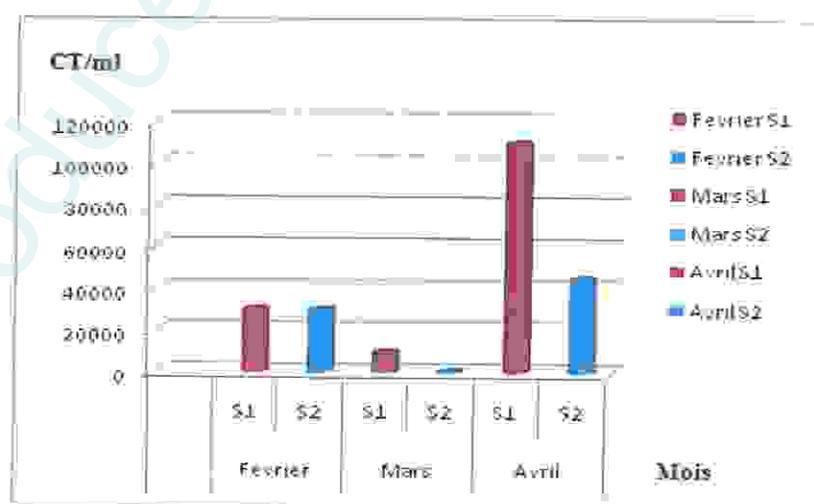


Figure.35. Evolution du nombre de coliformes totaux

Pour ce qui est coliformes, les dénombrements restent élevés durant toute la période de notre étude. L'examen du graphique illustré dans la Figure.35 montre que le nombre de coliformes totaux varie entre les trois prélèvements, avec des valeurs élevées enregistrées aux mois de février et avril et une valeur minimale au mois de mars.

Ceci est du principalement aux taux élevé de précipitation pendant les mois d'avril et de février et qui mis le lac en contact avec une masse importante de germes provenant des déjections animales et des germes d'origine terrestre ramenés de terrains agricoles avoisinants par les eaux de ruissellement ainsi des excréments des chauve souris héberge la grotte du lac.

### 2.3. Les coliformes fécaux

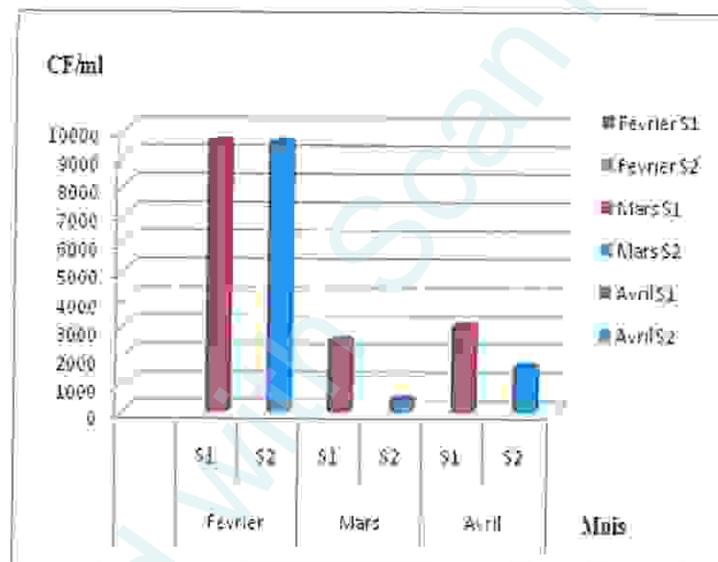


Figure.36. Evolution du nombre de coliformes fécaux

Les coliformes fécaux présentent des valeurs inférieures à celle des coliformes totaux, car les coliformes fécaux tolèrent des températures plus élevées.

Pour le dénombrement des coliformes fécaux, le taux le plus élevé est marqué au premier prélèvement au niveau du premier et deuxième site (9.5.10<sup>4</sup> CF/ml) et le taux le plus faible est marqué au deuxième prélèvement au niveau du deuxième site (Figure.36).

La localisation du lac dans une zone de pâturage l'expose à une contamination fécale par les excréments et les déchets des animaux.

#### 2.4. Streptocoques fécaux :

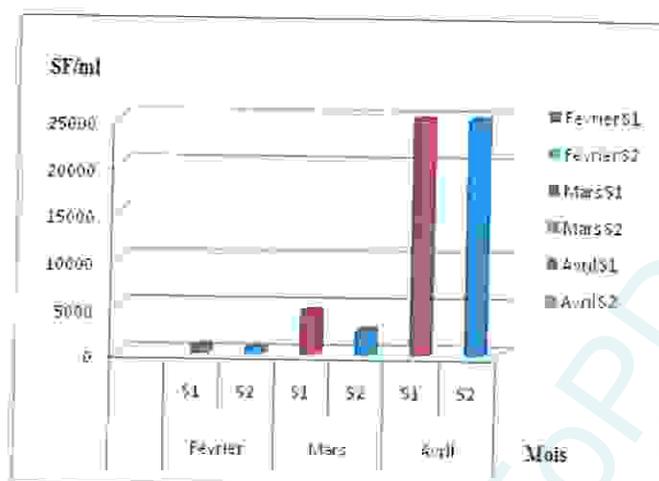


Figure.37. Evolution du nombre de streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont des germes très sensibles aux variations physico-chimique du milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils s'adaptent difficilement en dehors de leur milieu habituel qui est l'intestin). Leur présence est étroitement liée à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans l'eau (Halassi I, 2010).

Dans le lac son origine est toujours due à la déjection des animaux. Les sites 1 et 2 sont ceux qui contiennent les effectifs les plus élevés des streptocoques fécaux dont le maximum est dénombré durant le mois d'avril (Figure.37), ceci peut s'expliquer par le fait que le pâturage devient extensif durant cette période suite à la disponibilité des tapis herbacés, formé par les plantes de prairie qui constituent clairement l'élément visuel dominant de la pâture. Cet enrichissement est principalement du au lessivage des terres agricoles avoisinantes chargées d'énormes quantités de fumier, et à l'élevage d'ovin et bovin.

Les effets du rayonnement solaire sur les coliformes fécaux notamment *E. coli* ont fait l'objet de nombreuses études, MARTIN et al. (1985) ont montré l'importance du rayonnement solaire dans la disparition des coliformes dans l'eau de mer sous les effets non seulement des UV mais aussi des rayonnements en lumière visible [66].

Le mode d'action du rayonnement sur les bactéries a été abordé dans plusieurs travaux (TUVESON, 1983 ; SAMMARTANO et TUVESON, 1985). Ces radiations agissent sur la cellule en induisant des dommages par libération des ions peroxydes qui se forment par réduction du radical  $O_2^-$  suite à une réduction incomplète de  $O_2$  durant la respiration

bactérienne (GOERLICH, 1989). Ces peroxydes agissent sur la cellule bactérienne en la rendant perméable aux sels inorganiques changeant de ce fait sa pression osmotique [66].

D'après les résultats obtenus, le nombre des germes totaux, coliformes totaux, fécaux et streptocoques fécaux, est plus notable dans le site 1 (obscurité) par rapport au site 2 (rayon solaire) (Figures.34, 35, 36, 37). Cette diminution bactérienne observée dans le deuxième site peut être expliquée par le fait que les bactéries ayant subi les effets du rayonnement solaire.

## 2.5. Les staphylocoques :

Les résultats d'isolement et d'identification sont résumés dans le tableau suivant :

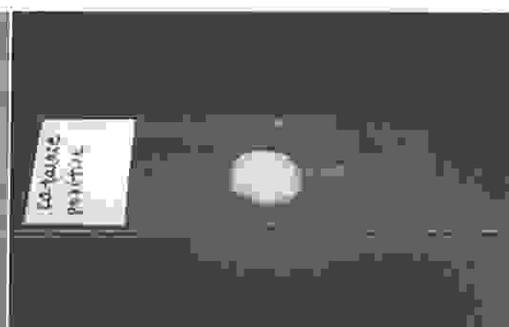
**Tableau.7. Caractères des colonies de Staphylocoques isolées**

Milieu de culture selectif	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies	Test catalase	Test coagulase	Mannitol en anaérobie
Chapman	-bombée de 1 à 2 mm, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les colonies au jaune brillant.	-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif	- positif	-positif	-positif

Les tests effectués sur les staphylocoques nous ont permis d'identifier des *Staphylococcus aureus*.



**Figure.38. Colonies de *Staphylococcus aureus***



**Figure.39. Test catalase positif**



**Figure.40. Test coagulase positif**

## 2.6. Les anaérobies Sulfito-réducteurs (ASR) :

Les résultats positifs illustrés dans la Figure.41, obtenus dans le troisième prélèvement au niveau des deux sites d'étude déduisent la présence de genres sulfito-réducteurs *Clostridium sp* responsables de botulisme et de tétanos. Les spores des ASR constituent des indices de contamination ancienne.

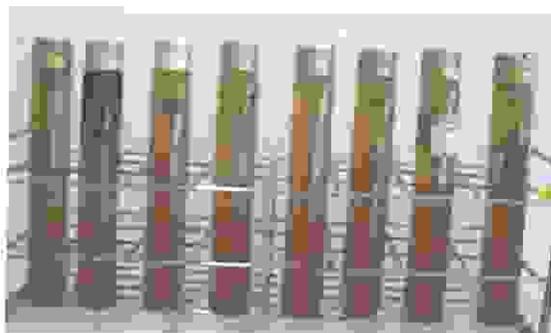


Figure.41. Colonies de bactéries ASR



Figure.42. Bacilles Gram positif

## 2.7. Identification des souches bactériennes isolées :

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

La purification des colonies par le repiquage successive des colonies nous a permis de distinguer les différents caractères de toutes les colonies sur les milieux d'isolement. Ces données sont résumées dans le Tableau 8, et les Figures.43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, exposent quelques caractéristiques de certaines colonies isolées de l'eau du lac.

Tableau.8. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées.

Milieu de culture sélectif	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Mac-Conkey	- rose élevée, lisse brillante, circulaire, 1mm à 2mm de diamètre. -rose clair, bombée, lisse, brillante, circulaire, 1mm de diamètre.	- diplobacilles, Gram négatif -Bacilles isolés, Gram négatif
Hektoen	- vertes, 2 à 2,5mm, convexe, bordure régulière, sphérique -jaune saumon, 2,5 mm (moyenne), Convexe peut avoir dépression centrale	-coccobacille, Gram négatif -bacilles, Gram négatif
Milieu SS	Résultats négatifs	
Milieu King A et B	Résultats négatifs	

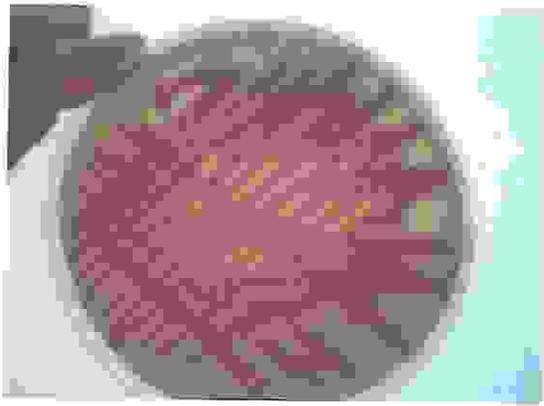


Figure.43. Colonies rose élevé sur Mac Conkey

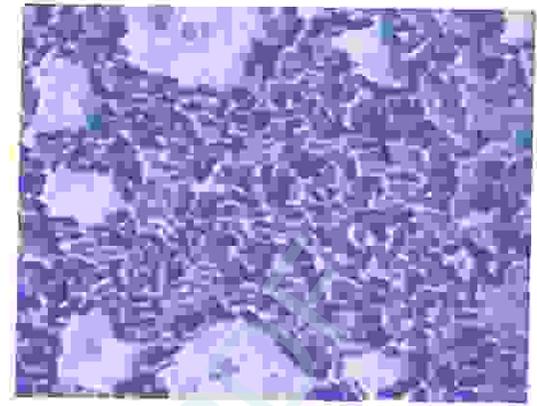


Figure.44. Diplobacilles, Gram négatif

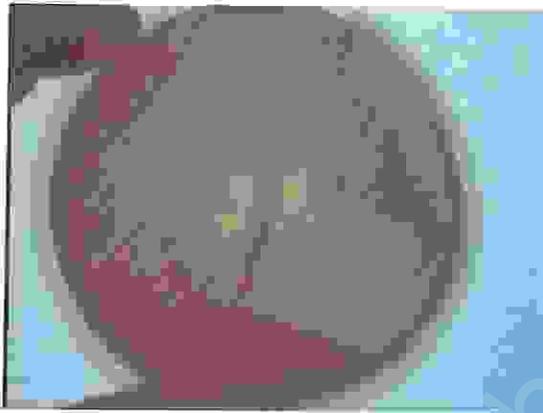


Figure.45. Colonies rose clair sur Mac Conkey

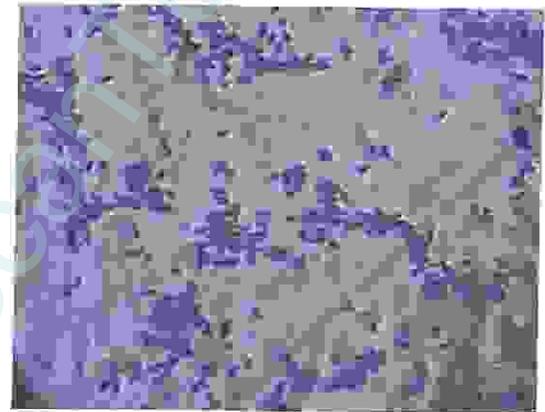


Figure.46. Bacilles isolés, Gram négatif

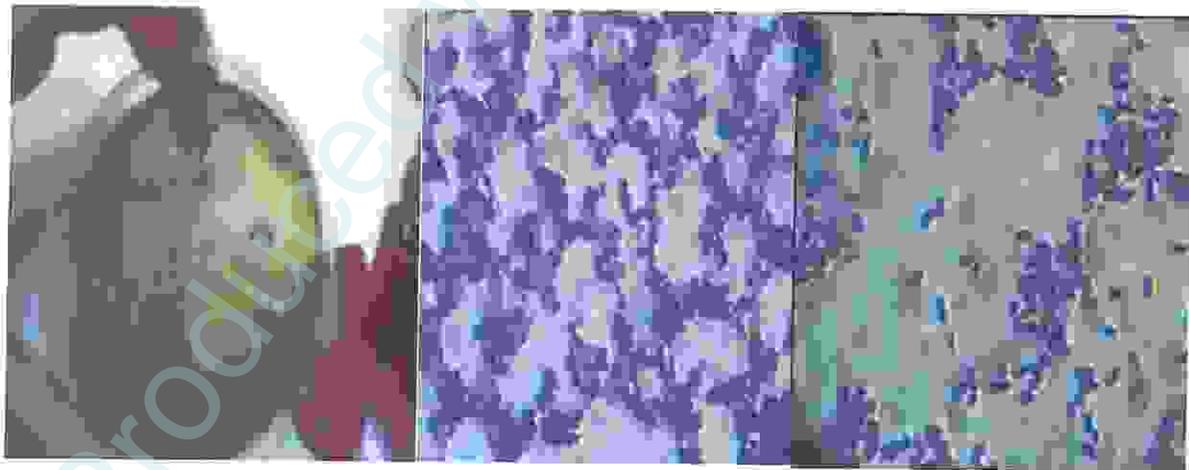


Figure.47. Colonies jaune saumon et colonies vertes sur Hektoen

Figure.48. Coccobacille Gram négatif

Figure.49. Bacilles Gram négatif

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

L'étude biochimique nous a permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae avec une présence majoritaire du genre *Enterobacter* et d'*Escherichia*. Cette identification a permis de détecter les espèces suivantes :

Tableau.9. Les espèces identifiées

	Api 20E		galerie classique	
	La colonie	Espèce identifiée	La colonie	Espèce identifiée
Hektoen	Verte	<i>Pasteurella caballi</i>	Jaune saumon, 2 mm	<i>E.coli</i>
	Jaune saumon, 2.5 à 3 mm	<i>Enterobacter cloacae</i>		
Mac Conkey	Rose élevé	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>	Rose clair	<i>Enterobacter</i>

Les figures suivantes représentent les résultats de l'identification biochimique de quelques souches bactériennes par l'api 20 E (Figures.50, 51, 52).



Figure.50. Profil biochimique de la souche *Enterobacter cloacae*



Figure.51. Profil biochimique de la souche *Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae*



Figure.52. Profil biochimique de la souche *Pasteurella caballi*

La présence de ces germes résulte de l'application des doses élevées en fumiers supérieures aux besoins des plantes, avant une pluie importante, sera transportée vers le lac en entraînant avec eux les microorganismes pathogènes.

Les déchets biodégradables venant principalement des êtres humains et d'animaux qui coulent dans le lac, fourniront de l'énergie (carbone organique) aux bactéries présentes, ces bactéries qui peuvent être pathogènes se développent et se multiplient rapidement en utilisant la matière organique et minérale et l'oxygène présent dans l'eau.

### 2.8. Les levures et les champignons

L'isolement de la microflore fongique de l'eau du lac sur un milieu de culture sélectif a montré une absence des levures, et trois aspects de colonies différentes des champignons appartenant tous au :

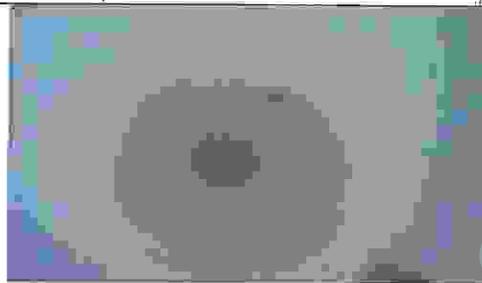
☐ Phylum = Deuteromycètes    ☐ Classe = Hyphomycètes    ☐ Ordre = Moniliales

Les résultats d'identification de ces trois espèces sont montrés dans le Tableau.10.

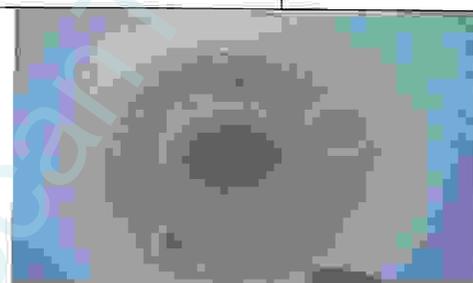
**Tableau.10. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies des champignons isolées**

Milieu de culture sélectif	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies	Espèces identifiées
Gélose Sabouraud chloramphénicol	-Colonies blanche à bleu vert  -Colonie de croissance rapide (colonie d'une taille très importante de 3 jours). Colonies foncée à noire de texture duveteuse à	-La présence des têtes aspergillaires uniseriées (phialide c'est-à-dire sans métules) en colonne compacte. L'évasement progressif du conidiophores à sommet.  - La présence des dictyospores avec des cloisons transversales, obliques ou longitudinales avec un bec plus au moins	-Famille : Moniliaceae ou Hyalohyphomycètes. L'espèce est : <i>Aspergillus fumigatus</i>  -Famille : Dematiaceae ou phaeohyphomycètes. L'espèce est : <i>Alternaria sp</i>

laineuse. - Une seule colonie qui présente une croissance lente est de couleur vert à noir très foncé et de texture veloutée.	marqué. -Les hyphes septés et pigmentés avec des blastospores avec des renforcements de coloration à leurs extrémités correspondant aux cicatrices de bourgeonnement ou de libération.	-Famille : Dematiaceae ou phaeohyphomycètes. L'espèce est : <i>Cladosporium sp</i>
--	---	---



Vue à partir du fond



Vue de face

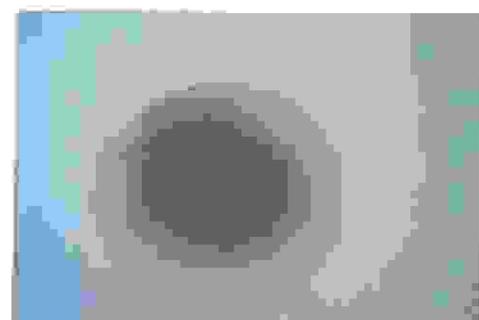
Figure.53.Colonie d'*Aspergillus fumigatus*



Figure.54. Têtes aspergillaires d'*Aspergillus fumigatus*

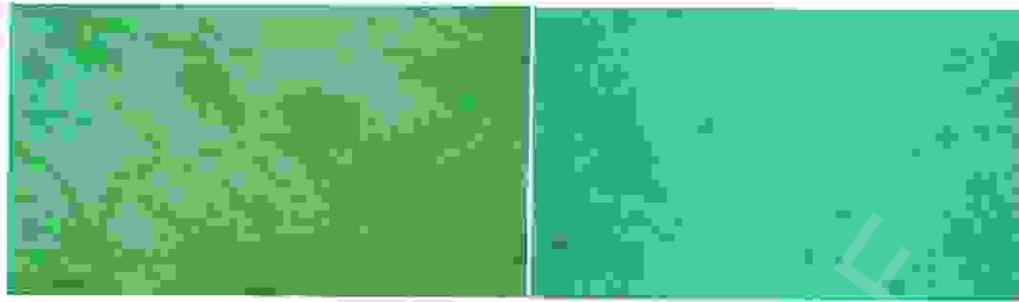
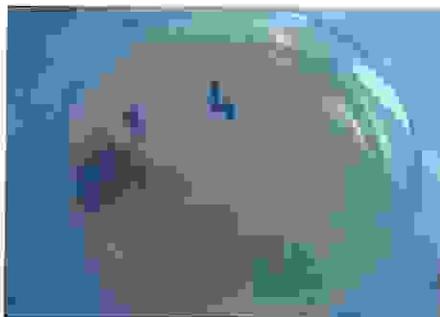


Vue à partir du fond

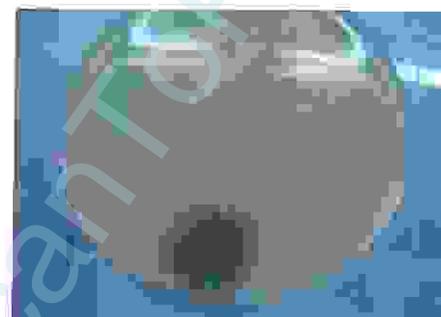


Vue de face

Figure.55. Colonie d'*Alternaria sp*

Figure.56. Diactinospores d'*Alternaria sp*

Vue à partir du fond



Vue de face

Figure.57. Colonie de *Cladosporium sp*Figure.58. Hyphes septés et blastospores de *Cladosporium sp*

L'eau de ce lac présente des conditions environnementales défavorables pour la survie des levures et des champignons, mais les résultats d'analyses ont montrés la présence de trois espèces de champignons dans l'eau, ceci est expliqué par la présence de spores produites par les champignons dans l'eau du lac. Ces spores jouent un rôle dans la dispersion des champignons dans l'eau et également dans la survie de l'organisme dans ces conditions environnementales défavorables donc les spores assurent aux champignons un grand potentiel de colonisation de l'eau du lac.

# Conclusion

Produced with ScantOPDF

Les zones humides occupent six pourcent de la surface terrestre et d'eau douce de la Terre. Elles sont présentes sur tous les continents. Ces écosystèmes hautement productifs fournissent de nombreux avantages écologiques et économiques [67].

Aux termes de notre travail, nous pouvons conclure que la contamination du lac est d'origines multiples. Cette pollution se manifeste par des teneurs dépassant largement les normes de l'OMS. En effet les analyses des propriétés physico-chimiques ont montré que l'eau de ce lac n'est pas recommandée pour la consommation humaine. Ceci est dû principalement à la localisation du lac dans une zone qui subit une forte minéralisation causée par les eaux de pluies qui entraînent la dissolution des roches de la grotte, le lessivage des terres agricoles et l'érosion des roches avoisinantes.

De plus la pollution bactérienne est très élevée et presque permanente dans les sites étudiés pendant toute la durée de notre travail. Les résultats obtenus révèlent la présence des germes indicateurs de contamination fécale, ainsi que la présence de certaines bactéries pathogènes dont les sources principales sont les déchets et les déjections d'origine animale ou anthropique entraînés par les eaux de pluies et le lessivage des sols.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons déduire que les eaux de pluie sont le facteur responsable de l'acheminement des différents polluants que se soit d'origine agricoles (application des engrais et fumiers), animales (les déjections), anthropique ou provenant de la dissolution des roches. Cette constatation est confirmée par les données climatologiques de pluviométrie enregistrées durant la période d'étude.

Cette étude nous a permis d'obtenir plus de connaissances sur ce site, mais les obstacles confrontés de manque d'information, du matériel et d'équipement spécialisés et la non disponibilité du temps laissent cette étude incomplète. De nombreuses questions restent en suspens et il serait utile et nécessaire de poursuivre cette étude. En effet, beaucoup de points d'interrogation se posent sur la source d'alimentation du lac, ses liens avec d'autres réseaux hydrologiques, la nature des roches formant la grotte, la faune qui héberge la grotte et l'origine d'éventuelle contamination de ce site.

# **Références bibliographiques**

Produced with Scantopdf

Références Bibliographiques

Thèses et Livres :

- **Aouissi A.** 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 en Hydro-écologie. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2010, 141p
- **Bouchelaghem I, Dardar F.** Evaluation de la qualité des eaux souterraines de la Grotte Osman Hammam Debagh – Guelma. Mémoire de Master en Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2010, 88p
- **Boukrouma N.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2008, 64p.
- **Bouzaaroura A, Hadri M, Obeidi A.** Étude de la qualité bactériologique et physicochimique du Lac Tonga. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2011, 74p.
- **Delarras C, et Trebaol B.** Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux: Réglementation - Prélèvements - Analyses. Paris : *TEC & DOCG*, 2008. 269p.
- **Halassi I.** Degré de contamination et contribution à l'étude du pouvoir autoépurateur qu l'eau de lac des oiseau «isolement du *Bdellovibrio bacteriovirus*». Mémoire de Magister en Hydro-écologie. Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2010, 150p
- **Institut Pasteur.** Milieux et Réactifs de Laboratoire Pasteur. 1<sup>ère</sup> édition. Paris : INSTITUT PASTEUR PRODUCTION, 1978. 573p.
- **Ramade F.** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Science internationale. Paris. 1993, 822p.
- **Rodier J, Legube B, Merlet N .et al.** L'analyse De L'eau. 9<sup>ème</sup> édition. Paris : *Dunod*, 2009. 1526p.

Sites web :

- [1] BOUMEZBEUR Ammar. ATLAS zones humides N°4[en ligne]. Disponible sur : <[http://www.dgf.gov.dz/zones\\_humides/ressources/atlas4.pdf](http://www.dgf.gov.dz/zones_humides/ressources/atlas4.pdf)> (Consulté le 02.05.2012)
- [2] Cf. Millenium Ecosystem Assessment. Les zones humides méditerranéennes[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.medwetlands-obs.org/fr/content/les-zones-humides-m%C3%A9diterran%C3%A9ennes>> (Consulté le 02.05.2012)
- [3] TROISIÈME ESO. IES LAS CANTERAS, GÉOGRAPHIE[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.ieslascanteras.org/FOTOSBARRA/File/BILINGUE/PRESENTACIONES/sujet1new2.doc>> (Consulté le 02.05.2012)
- [4] André Hade. Nos lacs : les connaître pour mieux les protéger. Nouv éd. Canada : Fides, 2007. 355p. Disponible sur : <<http://books.google.dz/books?id=NUdmyhm>> (Consulté le 24.03.2012)
- [5] GASMI M.-L. Office de Tourisme de *Guelma* et sa Région[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.guelma.org/francais/index.php>> (Consulté le 15.04.2012)
- [6] FOKMULAIK Comite d'état des sites archéologiques et des monuments historiques et lieux naturels pour la classification du lac souterrain
- [7] Bir Ben Osman : les mystères du lac souterrain[en ligne]. Disponible sur : <[http://chaouki-li-qacentina.blog4ever.com/blog/lire-article-271927-3362176bir\\_ben\\_osmaneguelma\\_les\\_mysteres\\_du\\_lac\\_sout.html](http://chaouki-li-qacentina.blog4ever.com/blog/lire-article-271927-3362176bir_ben_osmaneguelma_les_mysteres_du_lac_sout.html)> (Consulté le 15.04.2012)
- [8] Dadci K. Des plongeurs dans le lac souterrain de Bir Benosmane (Guelma)[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.info-speleo.com/2011/12/des-plongeurs-dans-le-lac-souterrain-de-bir-benosmane-guelma/>> (Consulté le 16.04.2012)
- [9] Spéléologie : Découverte d'une nouvelle galerie de 80 m au fond du lac souterrain de Bir Benosmane (Guelma)[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.algerie1.com/confidences/speleologie-decouverte-dune-nouvelle-galerie-de-80-m-au-fond-du-lac-souterrain-de-bir-benosmane-guelma/>> (Consulté le 16.04.2012)

- [10] Dadoi karim. *Djazairiess* : Une équipe de plongeurs visite le site[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.djazairiess.com/fr/elwatan/327678>> (Consulté le 17.04.2012)
- [11] Une nouvelle galerie au fond du lac souterrain de Bir Benosmane[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.aps.dz/Une-nouvelle-galerie-au-fond-du.html>> (Consulté le 17.04.2012)
- [12] Philippe Mérot. Qualité de l'eau en milieu rural: Savoirs et pratiques dans les bassins versants. France : Cemagref, Cirad, Ifremer, Inra. 2006. 352p. Disponible sur : <http://books.google.dz/books?id=3VBHxpw6BFcC> (Consulté le 31.03.2012)
- [13] Alpha Sidiki C. QUALITE ORGANOLEPTIQUE DE L'EAU DE CONSOMMATION PRODUITE DISTRIBUEE PAR L'EDM.SA DANS LA VILLE DE BAMAKO [en ligne]. Faculté de médecine de pharmacie. Mali : université de BAMAKO, 5 Mars 2005. p71 Disponible sur : < <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2005/pharma/pdf/05P43.pdf> >(Consulté le 31.03.2012 )
- [14] *Guide de conception des installations de production d'eau potable[en ligne]*. Disponible sur : <<http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/potable/guide/documents/volume2.pdf>> (Consulté le 30.03.2012)
- [15] L'équipe technique du RéFEA. ANALYSE PHYSICOCHIMIQUE[en ligne]. Disponiblesur : <[http://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Physico\\_chimie\\_PrecGen.pdf](http://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Physico_chimie_PrecGen.pdf) >(Consulté le 24.03.201)
- [16] DE VILLERS J, SQUILBIN M, YOURASSOWSKY C. Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface : cadre général[en ligne]. Disponible sur : <[http://www.ibgebim.be/uploadedFiles/Contenu\\_du\\_site/Centre\\_de\\_documentation/Fiche\\_Eau\\_02\\_FR.pdf?langtype=2060](http://www.ibgebim.be/uploadedFiles/Contenu_du_site/Centre_de_documentation/Fiche_Eau_02_FR.pdf?langtype=2060)>(Consulté le 25.03.2012)
- [17] *la qualite et les analyses de l'eau - Scribd*[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.scribd.com/doc/49768131/la-qualite-et-les-analyses-de-l-eau>>(Consulté le 24.03.2012)
- [18] Danielle Cachau-Herreillat. Des expériences de la famille acide-base: Comment réussir, exploiter. Premier édition. Belgique : De Boeck end Larcier s.a. 2005. 376p. Disponible sur : <[http://books.google.dz/books?id=dI\\_9mBWxvLIC](http://books.google.dz/books?id=dI_9mBWxvLIC) >(Consulté le 26.03.2012)

- [19] Louise G. Analyse de la *dureté* de l'eau[en ligne]. Disponible sur : <[http://classeur.pistes.org/.../buanderie\\_-\\_info\\_sci\\_la\\_durete\\_de\\_l\\_eau.pdf](http://classeur.pistes.org/.../buanderie_-_info_sci_la_durete_de_l_eau.pdf)>(Consulté le 26.03.2012)
  
- [20] Pierre Goudet et Alain Kowalski. Physique et Chimie. France : Edition educagri, 2011. 288p. Disponible sur : < <http://books.google.dz/books?id=Nx6gLF1BuiAC> >(Consulté le 26.03.2012)
  
- [21] La *dureté* de l'eau[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.eau-direct.fr/qualite/durete.html> > (Consulté le 27.03.2012)
  
- [22] Titre alcalimétrique et titre alcalimétrique complet[en ligne]. Disponible sur : <http://nicole.cortial.net/complements/chimie/alcalinite/tac-ta.pdf>(Consulté le 26.03.2012)
  
- [23] Les procédés d'adoucissement de l'eau - *Dynavive*[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.dynavive.eu/DocuPDF/ProcedesAdoucissement.pdf>>(Consulté le 26.03.2012)
  
- [24] Gérard Copin. *Contenu* en sels et Salinité[en ligne]. Disponible sur : < <http://www.obs-ivfr.fr/Enseignement/enseignants/copin/Contenu.pdf> > (Consulté le 26.03.2012).
  
- [25] Abdellatif HAKMI. Traitement des eaux « traitement de l'eau de source bousfer Oran. Sciences de la technologie Oran : université des sciences et de la technologie, 2006. Disponible sur : < [http://www.memoireonline.com/02/09/1994/m\\_traitement-des-eaux-quel-traitement-de-de-leau-de-source-bousfer-ORAN11.html](http://www.memoireonline.com/02/09/1994/m_traitement-des-eaux-quel-traitement-de-de-leau-de-source-bousfer-ORAN11.html) > (Consulté le 25.03.2012)
  
- [26] Loire Estuaire Cellule de Mesures et de Bilans. l'Oxygène de l'eau [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.loireestuaire.org/documents/pdf/CMB\\_206106\\_L2A1.pdf](http://www.loireestuaire.org/documents/pdf/CMB_206106_L2A1.pdf)>(Consulté le 25.03.2012)
  
- [27] Correction densité/salinité [en ligne]. Disponible sur : <<http://dtoumassat.free.fr/Maintenance/Salinite/Salinite.htm>> (Consulté le 27.03.2012)
  
- [28] Radiometer Analytical SAS .Conductivite theorie et pratique [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.igz.ch/f/puebersicht\\_f.asp?action=download&fileid=8574](http://www.igz.ch/f/puebersicht_f.asp?action=download&fileid=8574) > ( Consulté le 27.03.2012)

- [29] Ferdinand Bonn. Télédétection de l'environnement dans l'espace francophone. Première édition . Canada : Presses de l'université du Québec, 1994. 532p. Disponible sur : <<http://books.google.dz/books?id=f6cgpGtJJxAC>> ( Consulté le 27.03.2012).
- [30] CIRAD. LABORATOIRE D'ANALYSE[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.cirad.fr/ur/analyses/content/download/1164/7406/file/M%C3%A9thodes%20eaux%20et%20eaux%20us%C3%A9es%20.pdf>> (Consulté le 28.03.2012).
- [31] Santé pratique [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.santepubliquefrance.fr/Information\\_santé/Actualité/Dossiers](http://www.santepubliquefrance.fr/Information_santé/Actualité/Dossiers)> (consulté le 28.03.2012)
- [32] Source de Velleminfroy SARL. *Minéralisation de l'eau*— Eau minérale de Velleminfroy[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.eaumineralevelleminfroy.fr/accueil/./mineralisation-de-leau/>>( Consulté le 28.03.2012)
- [33] Organisation mondiale de la santé. Appui à la mise en place d'un Système de Surveillance et de Contrôle de qualité pour l'eau de boisson [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.who.int/hac/crises/tcd/chad\\_mission\\_report.pdf](http://www.who.int/hac/crises/tcd/chad_mission_report.pdf)> (Consulté le 31.03.2012)
- [34] Nouvelle-Ecosse. *Calcium et magnésium*[en ligne]. Disponible sur : <<http://www.gov.ns.ca/nse/water/docs/droponwaterFAQ-Calcium-Magnesium-Fr.pdf>>(Consulté le 31 03 2012)
- [35] Action contre la faim. LA QUALITE ET LES ANALYSES D'EAU [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.watersanitationhygiene.org/References/EH\\_KEY\\_REFERENCES/WATER/Water Quality/Water Quality General/Water Quality \(French ACF\).doc](http://www.watersanitationhygiene.org/References/EH_KEY_REFERENCES/WATER/Water Quality/Water Quality General/Water Quality (French ACF).doc)> (Consulté le 31.03.2012)
- [36] RFL et SAG / STO. – TEWK 6211 – 06 – 042. Le chlorure [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.bape.gouv.qc.ca/sections/mandats/r175-60\\_227/documents/DB24.pdf](http://www.bape.gouv.qc.ca/sections/mandats/r175-60_227/documents/DB24.pdf)> (Consulté le 31.03.2012)
- [37] FEPS la Fondation de l'Eau Potable Sûre. Analyse du Sulfate Élémentaire [en ligne]. Disponible sur :

- <<http://www.safewater.org/PDFS/owdfrenchelementary/AnalyseduSulphateElemwithpgnumbers.pdf>> (Consulté le 31.03.2012)
- [38] Peter William Atkins, Loretta Jones. Chimie : Molécules, matière, métamorphoses [en ligne]. Traduction de la 3<sup>ème</sup> édition américaine par André Pousse. Bruxelles : De Boeck Université, 1998, 1029p. Disponible sur : <<http://books.google.dz/books/about/Chimie.html?hl=fr&id=zsrPXGJFTE8C>> (Consulté le 16.03.2012)
- [39] Aqua Labo. Analyse physico-chimique et microbiologique [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.aquawatereau.com/analyses-d-eau-aqualabo/91-identification-dun-probleme-deau.html?start=11>> (Consulté le 27.03.2012)
- [40] AREHN Agence régionale de l'environnement de Haute-Normandie. Les nitrates [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.arehn.asso.fr/dossiers/nitrate/nitrates.html>> (Consulté le 28.03.2012)
- [41] Jean-Noël Salomon. Danger pollutions! [en ligne]. France : Presses Universitaires de Bordeaux, 1 janvier 2003, 176p. (collection « Scieteren »). Disponible sur : <[http://books.google.dz/books?id=npRJMRBpYZwC&hl=fr&source=gb\\_s\\_navlinks\\_s](http://books.google.dz/books?id=npRJMRBpYZwC&hl=fr&source=gb_s_navlinks_s)> (Consulté le 28.03.2012)
- [42] Marne Vive Syndicat mixte. Les paramètres de la rivière [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.marne-vive.com/missions-collectes-donnees-parametres-riviere>> (Consulté le 28.03.2012)
- [43] SENAT. Rapports des offices : liste chronologique [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.senat.fr/rapports/rapports-des-offices.html>> (Consulté le 28.03.2012)
- [44] Petra Pütz. RAPPORT D'APPLICATION ANALYSE DE LABORATOIRE & ANALYSE EN CONTINU ELEMENTS NUTRITIFS PHOSPHATES [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.hachlange.fr/shop/action\\_q/download%3Bdocument/DOK\\_ID/14786784/typ/pdf/1kz/FR/spkz/fr/TOKEN/vMXuRqN6JhQUISn2acvMEv6H2k/M/EMSxbg](http://www.hachlange.fr/shop/action_q/download%3Bdocument/DOK_ID/14786784/typ/pdf/1kz/FR/spkz/fr/TOKEN/vMXuRqN6JhQUISn2acvMEv6H2k/M/EMSxbg)> (Consulté le 28.03.2012)

- [45] Michel Lamy, L'eau de la nature et des hommes [en ligne]. France : Presses Universitaires de Bordeaux, 1 janvier 1995, 236p. (collection « Scieteren »). Disponible sur : <[http://books.google.dz/books?id=2QMVPHIUI1MC&dq=L%27eau+de+la+nature+et+des+hommes+Par+Michel+Lamy&hl=fr&source=gbs\\_navlinks\\_s](http://books.google.dz/books?id=2QMVPHIUI1MC&dq=L%27eau+de+la+nature+et+des+hommes+Par+Michel+Lamy&hl=fr&source=gbs_navlinks_s)> (Consulté le 31.03.2012)
- [46] Association des sports nautiques des lacs St-Joseph et Ste-Marie, St-Adolphe-d'Howard. Les phosphates [en ligne]. Disponible sur : < [http://www.ville.rouyn-noranda.qc.ca/quoideneuf/pdf/savon\\_phosphates.pdf](http://www.ville.rouyn-noranda.qc.ca/quoideneuf/pdf/savon_phosphates.pdf) > (Consulté le 31.03.2012)
- [47] FACULTE DE MEDECINE PIERRE ET MARIE CURIE. Bactériologie [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY/Chp.7.html>> (Consulté le 30.03.2012)
- [48] Mélanie César. Analyse bactériologique des aliments en milieu rural au Laos [en ligne]. Mémoire de licence en Sciences Biomédicales : faculté de Médecine de l'Université Nationale du Laos, 2006, 54p. Disponible sur : < [http://www.ccl-laos.org/IMG/pdf/Analyse\\_bacteriologique\\_des\\_aliments\\_en\\_milieu\\_rural\\_au\\_Laos.pdf](http://www.ccl-laos.org/IMG/pdf/Analyse_bacteriologique_des_aliments_en_milieu_rural_au_Laos.pdf)> (Consulté le 30.03.2012)
- [49] *aces*. L'eau dans l'Univers [en ligne]. Disponible sur : < <http://aces.ens-lyon.fr/aces/terro/eau>> (Consulté le 30.03.2012)
- [50] Pierre Chevalier et les membres du Groupe scientifique sur l'eau de l'Institut national de santé publique du Québec. COLIFORMES FÉCAUX [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/198-CartableEau/ColiformesFecaux.pdf>> (Consulté le 29.03.2012)
- [51] Ariel Cohen. Coeur et médecine interne, Volume 1 [en ligne]. Paris : ESTEM, 2002, 1402p. Disponible sur : < [http://books.google.dz/books?id=JYTV-p0TKVcC&dq=C%5%93ur+et+m%3%A9decine+interne,+Volume+1+Par+Ariel+Cohen&hl=fr&source=gbs\\_navlinks\\_s](http://books.google.dz/books?id=JYTV-p0TKVcC&dq=C%5%93ur+et+m%3%A9decine+interne,+Volume+1+Par+Ariel+Cohen&hl=fr&source=gbs_navlinks_s)> (Consulté le 30.03.2012)

- [52] Caroline Bonnefoy, Françoise Guillet, Guy Leyral, Evelyne Verne-Bourdais. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires [en ligne]. Doin, 2002, 245p. Disponible sur : [http://books.google.dz/books?id=Td\\_lde2hLX4C&dq=Microbiologie+et+qualit%C3%A9+dans+les+industries+agroalimentaires+Par+Caroline+Bonnefoy,+Fran%C3%A7oise+Guillet,+Guy+Leyral,+Evelyne+Verne-Bourdais&hl=fr&sa=X&ei=Lp61T93PEOen4gSQ7-HcCQ&ved=0CDUQ6AEwAA](http://books.google.dz/books?id=Td_lde2hLX4C&dq=Microbiologie+et+qualit%C3%A9+dans+les+industries+agroalimentaires+Par+Caroline+Bonnefoy,+Fran%C3%A7oise+Guillet,+Guy+Leyral,+Evelyne+Verne-Bourdais&hl=fr&sa=X&ei=Lp61T93PEOen4gSQ7-HcCQ&ved=0CDUQ6AEwAA) (Consulté le 30.03.2012)
- [53] P. Goubau & E. Pellegrims. Repères en microbiologie [en ligne]. 3<sup>ème</sup> édition. Belgique: Garant, 2000, 391p. Disponible sur : [http://www.google.dz/search?tbm=bks&hl=fr&q=\]+Rep%C3%A8res+en+microbiologie+Par+P.+Goubau+%26+E.+Pellegrims&btnG=>](http://www.google.dz/search?tbm=bks&hl=fr&q=]+Rep%C3%A8res+en+microbiologie+Par+P.+Goubau+%26+E.+Pellegrims&btnG=>) (Consulté le 30.03.2012)
- [54] LAEASE GROUPE TECHNOLOGIES DE SANTE. Infos Analyses : Bactéries revivifiables à 22°C et à 37°C [en ligne]. Disponible sur : <http://www.laease.com/eau-aerobies.html> (Consulté le 30.03.2012)
- [55] Gilles Bourbonnais. La fermentation [en ligne]. Disponible sur : [http://www.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/fya/laboratoires/lab\\_fermentation.pdf](http://www.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/fya/laboratoires/lab_fermentation.pdf) (Consulté le 30.03.2012)
- [56] John LEHMANN. LA LEVURE – LE LEVAIN-CHEF [en ligne]. Disponible sur : <http://www.lepain.ch/fribourg/images/90-esta/14-levure-levain.pdf> (Consulté le 30.03.2012)
- [57] TAKAHIKO NAGAHAMA. Yeast Biodiversity in Freshwater, Marine and Deep-Sea Environments [en ligne]. Disponible sur : <http://resources.metapress.com/pdf-preview.axd?code=pl04766434720x16&size=largest> (Consulté le 31.03.2012)
- [58] François Bigonnesse, M.Sc. TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS POUR L'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES ALIMENTS ET DE L'EAU [en ligne]. Disponible sur : <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Laboratoire/01-D-540B.pdf> (Consulté le 26.03.2012)

- [59] Nectaire Lié NYAMSI TCHATCHO. Effets des rejets d'une usine de traitement de la cellulose sur la qualité des eaux du Ntsomo: Etude hydrologique et biologique du cours d'eau [en ligne]. Mémoire de DEA en Hydrobiologie et Environnement : Université de Yaoundé I, 2004, 58p. Disponible sur : < [http://www.memoireonline.com/08/09/2458/m\\_Effets-des-rejets-dune-usine-de-traitement-de-la-cellulose-sur-la-qualite-des-eaux-du-Ntsomo-Etud7.html](http://www.memoireonline.com/08/09/2458/m_Effets-des-rejets-dune-usine-de-traitement-de-la-cellulose-sur-la-qualite-des-eaux-du-Ntsomo-Etud7.html) > (Consulté le 23.03.2012)
  
- [60] Waris. Kéwouyèmi CHOUTI. Evaluation de la qualité des eaux des puits couverts munis de pompe dans la commune de Porto-Novo [en ligne]. Mémoire de DESS en Décentralisation et Gestion des Eaux (DGE). Belgique : Université d'Abomey-Calavi, 2007, 72p. Disponible sur : <[http://www.memoireonline.com/10/10/3944/m\\_Evaluation-de-la-qualite-des-eaux-des-puits-couverts-munis-de-pompe-dans-la-commune-de-Porto-Novo19.html](http://www.memoireonline.com/10/10/3944/m_Evaluation-de-la-qualite-des-eaux-des-puits-couverts-munis-de-pompe-dans-la-commune-de-Porto-Novo19.html)> (Consulté le 23.03.2012)
  
- [61] Biokar Diagnostics. Gélose SS [en ligne]. Disponible sur : <<http://lycee-valin.fr/bgb/ftch/S4K.pdf>> (Consulté le 06.04.2012)
  
- [62] TESTS BIOCHIMIQUES CLASSIQUES[en ligne]. Disponible sur : <http://www.agrireseau.qc.ca/lab/Documents/Bact%C3%A9ries%20tout.pdf> (Consulté le 20.05.2012)
  
- [63] Arnaud Delahaye. API 20E [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf>> (Consulté le 08/04/2012)
  
- [64] Conseil canadien des ministres de l'environnement. 1999. Recommandations canadiennes pour la qualité des eaux : protection de la vie aquatique — oxygène dissous (eau douce), dans Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999, Winnipeg, le Conseil [en ligne]. Disponible sur : < <http://ceqg-rcqe.ccmec.ca/download/fr/89/>> (Consulté le 17.04.2012)
  
- [65] Monique POELAERT. Microbiologie : Préparation à l'accèsion au niveau 2+, Métier agronomie [en ligne]. Centre de recherche et d'éducation pour la conservation de la nature (Centre Marie-Victorin). Belgique, Avril 2008, 20p. Disponible sur : <[http://ftp://mrw.wallonie.be/sg/dfrh/dfc/Syllabus/Accession/NIV2+/Agronomie/Microbiologie/AGRONOMIE\\_2+\\_Microbiologie.pdf](http://ftp://mrw.wallonie.be/sg/dfrh/dfc/Syllabus/Accession/NIV2+/Agronomie/Microbiologie/AGRONOMIE_2+_Microbiologie.pdf)> (Consulté le 20.04.2012)

- [66] N. Mezrioui et B. Baleux. Effets de la température, du pH et du rayonnement solaire sur la survie de différentes bactéries d'intérêt sanitaire dans une eau usée épurée par lagunage. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science* [en ligne], vol. 5, n° 4, 1992, p. 573-591. Disponible sur : <<http://www.erudit.org/revue/rseau/1992/v5/n4/705148ar.pdf>> (Consulté le 16.05.2012)
- [67] Institut international du développement durable. Water Innovation Centre - Zones humides[en ligne]. Disponible sur : <[http://www.iisd.org/wic/research/wetlands/default\\_fr.asp](http://www.iisd.org/wic/research/wetlands/default_fr.asp)> (consulté le 15.05.2012)

Produced with ScanTOPDF

**Annexe I****Tab.1. Précipitations moyennes mensuelles (station Météorologique de Guelma 1994 - 2009)**

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juill	Aou	Sept	Oct	Nov	Déc
Moyennes (mm)	107,95	63,04	62,49	71,86	47,79	20,33	3,27	14,78	52,28	38,406	68,27	80,6

**Tab.2. Température moyenne mensuelle (Station Météorologique de Guelma de 1994 - 2009)**

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juill	Aou	Sept	Oct	Nov	Déc
Moyennes (°C)	9,78	10,14	12,43	14,78	19,67	24,24	27,20	27,51	23,49	19,35	14,28	10,99

**Tab.3. Les substances chimiques utilisées dans la région de Guelma (ITGC2006)**

Charges d'exploitation	nature	Quantité / ha
Engrais azotés	Urée 46%	2q
Engrais phosphate	TSP 48%	2q
Engrais potassique	Sulfate de potassium 50%	1q
Herbicide – anti dicotylédones 1	Tribénuron – méthyl	12.5 g
Herbicide – anti monocotylédones	Clodinafop - propargyl	0.75 l
	Ou 2 Tribénuron - dicamba	120 g
fongicide	Lambda - cyalothrine	0.50 l

**Annexe II****Tab.4. Résultats de l'analyse physicochimique**

Les paramètres physico-chimiques	1 <sup>er</sup> prélèvement	2 <sup>ème</sup> prélèvement	3 <sup>ème</sup> prélèvement
Température (°C)	17	17.8	18.5
Oxygène dissous (mg/l)	2	1.8	2.4
PH	7.52	7.47	7.76
Conductivité électrique (µS/cm)	2110	1943	2130
Turbidité (NTU)	1.18	1.05	3.27
Matière organique (mg/l)	0.6	0.2	2.3
Matière en suspension (mg/l)	00	00	03
TDS (mg/l)	1099	1099	1103
Salinité (g/Kg)	1.1	1.1	1.1
TA (°F)	00	00	00
TAC (°F)	10.8	9.6	9.7
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	131.76	117.12	118.34
TH (°F)	109	108	112
Ca <sup>+2</sup> (mg/l)	428.84	429.63	431.2
Mg <sup>+2</sup> (mg/l)	13.17	10.81	44.68
Cl <sup>-</sup> (mg/l)	184.6	184.6	213
Résidu sec (mg/l)	2037	2225.5	2214.5
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	00	00	00
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	00	00	00
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	5.01	4.81	2.88
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> (mg/l)	272.1	271.8	819.35
Fe <sup>+2</sup> (mg/l)	0.10	0.06	0.01

Tab.5. Résultats de dénombrement des germes totaux

		UFC/ml			
		22°C	37°C	22°C	37°C
Mars	S1	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0
Avril	S1	0	0	0	2,5 x 10 <sup>3</sup>
	S2	0	0	0	0

Tab.6. Résultats de dénombrement des coliformes totaux

Coliformes totaux/ml	Février	Mars	Avril
S1	30.10 <sup>□</sup>	9.5.10 <sup>□</sup>	110.10 <sup>□</sup>
S2	30.10 <sup>□</sup>	0.4.10 <sup>□</sup>	45.10 <sup>□</sup>

Tab.7. Résultats de dénombrement des coliformes fécaux

Coliformes fécaux /ml	Février	Mars	Avril
S1	9.5.10 <sup>□</sup>	2.5.10 <sup>□</sup>	3.10 <sup>□</sup>
S2	9.5.10 <sup>□</sup>	0.4.10 <sup>□</sup>	1.6.10 <sup>□</sup>

Tab.8. Résultats de dénombrement des Streptocoques fécaux

Streptocoques fécaux/ml	Février	Mars	Avril
S1	0.7.10 <sup>□</sup>	4.5.10 <sup>□</sup>	25.10 <sup>□</sup>
S2	0.7.10 <sup>□</sup>	2.5.10 <sup>□</sup>	25.10 <sup>□</sup>

Annexe III

Tab.9. Numération en milieu liquide : méthode de Mac GRADY (Table de Mac Grady)

3 tubes par dilution	
Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0
001	0.3
010	0.3
011	0.6
020	0.6
100	0.4
101	0.7
102	1.1
110	0.7
111	1.1
120	1.1
121	1.5
130	1.6
200	0.9
201	1.4
202	2.0
210	1.5
211	2.0
212	3.0
220	2.0
221	3.0
222	3.5
223	4.0
230	3.0
231	3.5
232	4.0
300	2.5
301	4.0

302	6.5
310	4.5
311	7.5
312	11.5
313	16.0
320	9.5
321	15.0
322	20.0
323	30.0
330	25.0
331	45.0
332	110.0
333	140.0

Tab.10. Caractère d'identification biochimique des *Entérobactéries*

	E. coli	Klebsiella	Enterobacter	Serratia	Proteus	Citrobacter
Mobilité	+/-	-	+	+	+	+
gaz	+	+	+	d	+(-)	+
Lactose	+/-x	+	+/-x	-/x	-	+/-x
ONPG	+	+	+	+	-	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	d	+
Uréase	-	(+)	-	-	+	-(+)
TDA	+	-	-	-	d	-
Indole	d	d	d	+	-	-
LDC	d	-	+	+	d	+
Cit de Sim	-	+	+	+	d	+
Mannitol	+	+	+	+	d	+
Saccharose	d	+	+	+	d	d
RM	+	-	-	-	+	+
VP	-	+	+	+	-(+)	-

LDC : lysine Décarboxylase

TDA : Tryptophane désaminase

RM : Rouge de méthyle

VP : Voges-Proskauer ;

d : différent x : tardivement et irrégulièrement

Tab 11 La lecture d'une galerie API 20 E (d'après la documentation bioMérieux)

Tests*	Réactions	Composants actifs	Ajout de réactifs	Résultats négatif	Résultats positif
ONPG	Bêta-galactosidase	2-nitrophényl-bêta-Dgalactopyranoside	Non	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	L-arginine	Non	Jaune	Orange ou rouge
LDC	Lysine décarboxylase	L-lysine	Non	Jaune	Orange ou rouge
ODC	Ornithine décarboxylase	L-ornithine	Non	Jaune	Orange ou rouge
CIT	Assimilation du citrate	Citrate trisodique	Non	Vert pâle ou jaune	Bleu-vert ou bleu
H2S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de sodium	Non	Incolore ou grisâtre	Dépôt noir / fin liseré
URE	Uréase	Urée	Non	Jaune	Orange ou rouge violacé
TDA	Tryptophane désaminase	L-tryptophane	TDA (immédiat)	Jaune	marron-rougeâtre
IND	Production d'indole	L-tryptophane	James (immédiat)	Incolore, vert pale ou jaune	Rose ou rouge
VP	Production d'acétolne	Pyruvate de sodium	VP1 VP2 (10 min)	Incolore ou rose pale	Rose ou rouge
GEL	Gélatinase	Gélatine de boeuf	Non	Non diffusion du charbon	Diffusion du charbon
GLU	Glucose	D-glucose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	D-mannitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	D-sorbitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	L-rhamnose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	D-saccharose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MEL	Mélibiose	D-mélibiose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Amygdaline	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	L-arabinose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune

Tab.12. Caractères biochimiques et métaboliques de la galerie classique

caractères biochimiques	milieu de culture et révélation	mode d'ensemencement	résultats
la présence d'une enzyme : le cytochrome oxydase, caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire.	le disque oxydase se constitue de l'oxalate de diméthyle puruphénylène diamine	une colonie de bactéries étalée à l'aide d'une anse de platine sur un disque oxydase imbibé d'eau distillée stérile	-positive = le disque se colore en violet (dans 10 à 30 sec). -négative = aucune couleur au bout de 30 sec.
la recherche d'enzyme bêta galactosidase permet de distinguer les bactéries potentiellement lactose positives des bactéries lactose négatives.	disque ONPG (= Orthonitrophényl - $\beta$ - galactopyranoside).	l'ajout d'un disque ONPG à une suspension dense d'une culture de la bactérie en étude. Incubation 24 h à 37°C.	-positif = la suspension se colore en jaune citron (libération d'orthonitrophénol). -négatif = aucune couleur.
La recherche de bactéries qui possèdent une uréase suffisamment active.	milieu tamponné «urée indole».	ensemencement de 2 ml du milieu par l'anse de platine stérile. Incubation 24 h à 37°C.	-positif : virage de l'indicateur au rouge violacé. -négatif : couleur jaune du milieu.
la recherche d'une enzyme tryptophanase, capable de scinder la molécule de tryptophane en donnant de l'indole.	milieu « eau peptonée » ou milieu « urée - indole » la présence d'indole révélé par réactif de Kovacs	ensemencement de 2 ml du milieu urée-indole ou eau peptonée par l'anse de platine stérile. Incubation 24 h à 37°C.	-positif : un anneau rouge en surface. -négatif : un anneau jaune ou marron.
La production d'H <sub>2</sub> S, la recherche de l'enzyme thiosulfate - réductase	le milieu de TSI. Ce milieu contient le S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> — qui peut être réduit en S— par l'enzyme thiosulfate - réductase. L'anion S peut être relevé grâce à la coloration noire de certains sulfures métalliques.	ensemencement du culot par piqûre et la surface inclinée par stries, serrées et parallèles. Incubation 24 h à 37°C.	-positif : noircissement plus ou moins prononcé de la pente et principalement du culot. -négatif : absence de noircissement.
l'utilisation du glucose, du saccharose, du lactose, et la production de	Le milieu TSI contient le rouge de méthyle comme	ensemencement du culot par piqûre et la surface inclinée	-glucose + : le culot se colore en jaune -saccharose et ou

gaz (CO <sub>2</sub> )	un indicateur de PH.	par stries, serrées et parallèles. Incubation 24 h à 37°C.	lactose + : la pente se colore en jauné -gaz + : la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose
Utilisation du citrate comme source de carbone et d'énergie, et la présence d'une citrate-perméase.	Le milieu au citrate de Simmons ; avec comme source d'azote un sel d'ammonium et comme source unique de carbone et d'énergie du citrate.	Ensemencement de la pente avec une anse par une strie centrale et longitudinale. Incubation 24 h à 37°C.	-positif : virage au bleu de l'indicateur -négatif : aucun virage, couleur verte du milieu
la recherche d'enzyme nitrate réductase capable de réduire le nitrate (NO <sub>3</sub> -) en nitrite (NO <sub>2</sub> -).	bouillon nitraté contient du nitrate (NO <sub>3</sub> -). la révélation par l'ajout du réactif nitrate réductase I et nitrate réductase II.	ensemencement de 2 ml du milieu par l'anse de platine stérile. Incubation à 37°C et lecture après 24h.	-positif : milieu devient rose ou rouge. -négatif : milieu reste incolore
La fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.	Le milieu mannitol-mobilité. contient le rouge de phénol un indicateur colore de pH.	Ensemencement par pique centrale à l'aide d'une anse de platine pointure. Incubation 24 h à 37°C.	-mannitol+ : couleur jaune du milieu. -mannitol- : couleur rose. -mobilité + : diffusion de bactéries autour de la pique centrale.
le métabolisme du pyruvate en éthanol et en mélange complexe d'acides, (fermentation acide mixte).	Culture sur milieu Clark et Lubs. Après l'incubation le test au rouge de méthyle permet de préciser l'évolution du pH en milieu d'incubation.	Ensemencement de 2ml Clark et Lubs Incubation 24 h à 37°C.	-positif : coloration rouge vif. négatif : coloration orange ou jaune.
Le métabolisme de pyruvate en acétoine (fermentation butanediolique).	Culture sur milieu Clark et Lubs. Après incubation le test de Voges-Proskauer détecte l'acétoine.	Ensemencement de 2ml Clark et Lubs. Incubation 24 h à 37°C. L'addition du réactif VPI et du VPII.	-positif : couleur rose ou rouge au bout de 30 min. -négatif : couleur jaune ou marron.

## Annexe IV

Tab.13. Qualité bactériologique de l'eau de boisson (Directive de l'OMS, 2002)

Paramètres	Valeurs guide OMS
Coliformes thermotolérants	0/100 ml
Streptocoques fécaux	pas de norme
Coliformes totaux	0/100 ml dans 95 % des échantillons d'eaux traitées

Tab.14. Qualité physico-chimique de l'eau de boisson (Directive de l'OMS, 2002)

Norme	Paramètres
25	Température
6,5 - 8,5	Potentiel d'hydrogène (PH)
-	Ca <sup>++</sup> (mg/l)
50	Mg <sup>++</sup> (mg/l)
< 30	TH (°F)
200	Cl <sup>-</sup> (mg/l)
250	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
-	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
30	TAC (mg/l)
50	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)
1000	Conductivité (µs/cm)
5 NTU	Turbidité
1500	Résidu Sec à 180°C (mg/l)
3 mg/l (valeur provisoire)	Nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )
0,3 mg/l	Fer (Fe)
-	Oxygène dissous (O <sub>2</sub> )