

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie et Ecologie

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

Thème : Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologique de l'eau de
Garaet Ank Djemel. (*Hauts Plateaux de l'est Algérien*).

Présenté par :

AG BISSAKETT Ibrahim

MAGAWATA A. Kader

TOURE Ibrahima Sory

Devant le jury composé de :

Président : M. GUETTAF

M.A.A

Université de Guelma

Examinatrice: Mme. OUCHTATI

M.A.A

Université de Guelma

Examinatrice: Mlle. BOUSSAADIA

M.A.A

Université de Guelma

Encadreur : M. Atoussi Sadek

M. A.A

Université de Guelma

Juin 2012

Produced with ScanTOPDF

REMERCIEMENTS

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

*Nos reconnaissances, nos vives gratitudees et nos sincères remerciements vont à Monsieur **GUETTAF**, maître assistant au département de Biologie, d'avoir bien accepté de présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier Mme **OUCHTATI**, Mlle **BOUSSAADIA** maîtres assistantes au département de biologie à l'Université de Guelma pour avoir exprimé leurs entières disponibilités à participer à ce jury et examiner ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont également à Monsieur **ATOUSI Sadek**, maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui nous a fait l'honneur de nous diriger et nous guider avec patience et gentillesse tout au long de la réalisation de ce travail. Ses encouragements, sa disponibilité constante et surtout ses conseils nous ont été d'une précieuse aide.*

Nos sincères remerciements vont à tous les enseignants du département de Biologie de l'Université de Guelma, et les responsables de laboratoire du département surtout Mme Houria et aussi à tous les personnels de la direction de l'ADE et de la station des traitements des eaux de Hammam Debagh (Guelma).

Enfin, nous souhaitons la chance et bonheur à tous nos collègues de la promotion sortante 2012 du Master Santé Eau et Environnement.

SOMMAIRE

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Description du site

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------|---|
| I. Généralité sur les zones humides des hauts plateaux de l'est Algérien..... | 1 |
| II. Les principaux sites humides des hautes plaines de l'Est algérien..... | 1 |
| 1. Garaet Tarf..... | 1 |
| 2. Garaet Guellif..... | 1 |
| 3. Garaet El-Marhsel..... | 1 |
| 4. Chott El-Maleh..... | 2 |
| 5. Sebkhet Djendli..... | 2 |
| 6. Ougla Touila..... | 2 |
| 7. Sebkhet Gémot..... | 3 |
| 8. Sebkhet Ezzemmoul..... | 3 |
| 9. Sebkhet Ouled Amara..... | 3 |
| 10. La plaine de Remila et la Garaet de Timerganine..... | 3 |
| III. Description de Garaet Annk Djamel (notre site d'étude)..... | 4 |
| 1. Coordonnées géographiques..... | 5 |
| 2. Caractéristiques physiques..... | 6 |
| 3. Etude climatique..... | 6 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1. Données météorologiques de la station d'Oum El-Bouaghi (1991-2010)..... | 7 |
| 3.2. Température..... | 7 |
| 3.3. La pluviométrie..... | 8 |
| 3.4. Synthèse climatique..... | 8 |
| 3.4.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen..... | 8 |
| 3.4.2. Quotient ombrothermique d'Embergèr..... | 9 |
| 4. Caractéristiques écologiques | 10 |
| 5. Cadre Faunistique et Floristique | 11 |
| 6. Valeurs sociales | 11 |
| 7. Occupation actuelle des sols | 11 |
| 8. Mesures de conservation proposées mais pas encore appliquées | 11 |

Chapitre II : Matériel et méthodes

| | |
|--------------------------------------------|----|
| 1. Choix des stations et Prélèvements..... | 13 |
| 1.1. Choix des stations..... | 13 |
| 1.2. Les prélèvements..... | 14 |
| 2. Echantillonnage..... | 14 |
| 3. Les Analyses physico-chimiques..... | 15 |
| 3.1. Paramètres physiques..... | 16 |
| 3.1.1. La température..... | 16 |
| 3.1.2. La conductivité..... | 16 |
| 3.1.3. La turbidité..... | 16 |
| 3.1.4. Les matières en suspensions..... | 16 |
| 3.2. Paramètres chimiques..... | 17 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1. Mesure de pH..... | 17 |
| 3.2.2. Le dosage de calcium..... | 17 |
| 3.2.3. Le chlorure Cl^{-2} | 17 |
| 3.2.4. Le nitrate..... | 17 |
| 3.2.5. Le nitrite..... | 18 |
| 3.2.6. L'ammonium..... | 18 |
| 3.2.7. Le magnésium..... | 18 |
| 3.2.8. Le sulfate..... | 18 |
| 3.3. Les autres paramètres..... | 19 |
| 3.3.1. Oxygène dissout..... | 19 |
| 3.3.2. Taux de sels dissouts (TDS)..... | 19 |
| 3.3.3. Le résidu sec (RS)..... | 19 |
| 3.3.4. La dureté total (TH)..... | 19 |
| 3.3.5. Alcalinité (TA, TAC)..... | 19 |
| 3.3.6. Les hydrogénocarbonates..... | 20 |
| 3.3.7. La matière organique (MO)..... | 20 |
| 4. Les analyses bactériologiques..... | 20 |
| 4.1. Technique utilisée..... | 21 |
| 4.2 : Détermination des germes totaux (GT)..... | 24 |
| 4.3. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale (coliformes totaux, thermotolérants et streptocoques fécaux) par la méthode de filtration sur membrane..... | 26 |
| 4.3.1. Coliformes totaux et thermotolérants..... | 26 |
| 4.3.2. Dénombrement des streptocoques fécaux..... | 29 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.4 : Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs et des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) | 31 |
| 4.5. Recherche des germes pathogènes | 33 |
| 5. coloration de Gram | 35 |
| 6. Tests d'identifications biochimiques | 35 |
| 7. Tests d'identifications complémentaires | 35 |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | |
|---------------------------------------------------------|----|
| I. Les analyses Physicochimiques | 36 |
| 1.1. Le pH | 36 |
| 1.2. La température | 36 |
| 1.3. La conductivité | 37 |
| 1.4. Taux de sels dissouts(TDS) | 38 |
| 1.5. La turbidité | 39 |
| 1.6. La dureté totale | 39 |
| 1.7. L'alcalinité (TA et TAC) | 40 |
| 1.8. Les hydrogénocarbonates (HCO_3^-) | 41 |
| 1.9. L'oxygène dissout | 42 |
| 1.10. Les ions calciums | 42 |
| 1.11. Les ions magnésiums | 43 |
| 1.12. Le chlore | 44 |
| 1.13. Les matières en suspensions (MES) | 44 |
| 1.14. Le résidu sec | 45 |
| 1.15. La matière organique (MO) | 46 |

| | |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 1.16. Les nitrates | 46 |
| 1.17. Les nitrites | 47 |
| 1.18. L'ammonium | 47 |
| 1.19. Le sulfate | 48 |
| 2. Qualité bactériologique de l'eau de Garaet Annk Djemel..... | 49 |
| 2.1. Germes totaux | 49 |
| 2.2. Coliformes totaux | 49 |
| 2.3. Coliformes thermotolérants..... | 50 |
| 2.4. Streptocoques fécaux | 50 |
| 2.5. Les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) | 50 |
| 2.6. Recherche des germes pathogènes..... | 51 |
| 2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram | 51 |
| 2.6.2. Profil biochimique de Staphylococcus | 52 |
| 2.7. Identification biochimique des entérobactéries..... | 52 |

Conclusion et Perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé (Arabe, Français, Anglais)

Liste des listes et abréviations

- : Caractère négatif
- % : Pour cent
- + : Caractère positif
- ± : Plus ou moins
- ° : Degré
- ADE** : Algérienne des eaux
- Afnor** : Norme française
- Ann** : Annexe
- ASR** : Anaérobies sulfitoréducteurs
- BEA** : Bile Agar Esculine
- °C : Degré Celsius
- Ca⁺ : Calcium
- CF** : Coliforme fécaux
- Cl⁻ : Chlorure
- cm** : Centimètre
- CSR** : Clostridium sulfito-réducteur
- CT** : Coliforme totaux
- d** : Variable
- E** : Est
- E. coli*** : *Escherichia coli*
- EDS** : Eau distillée stérile
- ENASEL** : Entreprise nationale des sels
- °F : Degré français
- Fig** : Figure.
- GT** : Germes totaux
- Gtte** : Goutte

h : Heure

H₂O : Eau

H₂S : Hydrogène sulfuré

H₂O₂ : Eau oxygéné

ha : Hectare

IPA : Institut Pasteur d'Algérie

ISO : Organisation internationale de standardisation

Km : Kilomètre

°K : Degré Calvin

m : Mètre

mg/l : Milligramme par litre

Mg⁺ : Magnésium

mm : Millimètre

mn : Minute

m/s : Mètre par seconde

µm : Micromètre

µs : Micro-Siemens

µs/cm : Micro-Siemens par centimètre

mg/l : Milligramme par litre

MES : Matière en suspension

N : Nord

Na cl : Chlorure de sodium

Na₂SO₃ : Sulfite de sodium

nm : Nanomètre

NH₃ : Ammoniac

NH₄⁺ : Ammonium

NO₂ : Dioxyde d'azote

NTU: Nephelometric turbidity unit

O₂ : Oxygène

OMS : Organisation mondiale de santé

ONPG: Ortho-Nitrophényl-β-D-Galactosidase

pH: Potentielle Hydrogène

RM : Rouge de méthyle

RN : Route Nationale

S : Station

SF : Streptocoque Fécaux

SONATRACH : Société Algérienne de pétrole

Sp : Espèce

T : Température

Tab : Tableau

TDA : Tryptophane décarboxylase

TDS : Taux des sels dissous

TH : Dureté totale

TGEA : Tryptone-Glucose-Extrait de levure-Agar

TSI : Triple Sagar Iron

UFC : Unité formant colonie

VF : Viande foie

VP : Voges Proskauer

Liste des figures

| N° de figures | Titre de la figure | N° de page |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1 | Situation géographique des zones humides des hautes plaines de l'Est algérien. | 4 |
| 2 | localisation générale du Garaet Annk Djemel | 5 |
| 3 | Diagramme ombrothermique de la région d'Oum El-Bouaghi | 8 |
| 4 | Situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climatogramme d'Emberger | 10 |
| 5 | Localisation des points de prélèvement | 13 |
| 6 | schéma d'une rampe de filtration. | 22 |
| 7 | les différentes étapes à suivre avant de commencer l'opération. | 23 |
| 8 | Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 et à 37°C dans les eaux. | 26 |
| 9 | Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs. | 29 |
| 10 | Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants | 31 |
| 11 | Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux | 33 |
| 12 | Recherche et identification des Staphylocoques pathogènes | 34 |
| 13 | Variation du pH de l'eau de Garaet Annk Djemel | 36 |
| 14 | Variation de la température pendant le mois de Mars et Avril | 37 |
| 15 | Variation de la conductivité de l'eau de Garaet Annk Djemel | 37 |
| 16 | Variations spatio-temporelles de la TDS de l'eau de l'eau de Garaet Annk Djemel | 38 |
| 17 | Variation de la turbidité de l'eau de Garaet Annk Djemel | 39 |
| 18 | Variation de la dureté de l'eau de Garaet Annk Djemel | 39 |
| 19 | Le titre alcalimétrique simple et complexe de l'eau de Garaet Annk Djemel | 40 |
| 20 | Variation des hydrogénocarbonates de Garaet Annk Djemel | 41 |
| 21 | Variation du taux d'oxygène dissout de l'eau de Garaet Annk Djemel | 41 |
| 22 | Variation de la teneur en calcium de l'eau de Garaet Annk Djemel | 42 |

| | | |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 23 | Variation de taux de magnésium de l'eau de Garaet Annk Djemel | 42 |
| 24 | Variation de la teneur en chlorure de l'eau de Garaet Annk Djemel | 43 |
| 25 | Variation de MES de l'eau de Garaet Annk Djemel | 44 |
| 26 | Variation de teneur en résidu sec (RS) de l'eau de Garaet Annk Djemel | 44 |
| 27 | Variation de la teneur en matière organique de l'eau de Garaet Annk Djemel | 45 |
| 28 | Variation de teneur en nitrate de l'eau de Garaet Annk Djemel | 46 |
| 29 | Variation de teneur en nitrite de l'eau de Garaet Annk Djemel | 46 |
| 30 | Variation de teneur en ammonium de l'eau de Garaet Annk Djemel | 47 |
| 31 | Variation de la teneur en sulfate de l'eau de Garaet Annk Djemel | 48 |
| 32 | Recherches et dénombrement micro-organismes revivifiables de l'eau de Garaet Annk Djemel | 49 |
| 33 | Evaluation de coliformes totaux de Garaet Annk Djemel | 50 |
| 34 | Evaluation de coliformes thermotolérants de l'eau de Garaet Annk Djemel | 50 |
| 35 | Evaluation du nombre des streptocoques fécaux | 51 |
| 36 | Aspect microscopique des bactéries | 53 |
| 37 | profil biochimique de <i>Mannheimia haemolytica</i> | 54 |
| 38 | Test de citrate | Annexe 4 |
| 39 | Etude de mobilité dans le milieu mannitol-mobilité | Annexe 4 |
| 40 | Ensemencement sur le milieu TSI | Annexe 4 |
| 41 | Réaction d'indole positive | Annexe 4 |
| 42 | Réaction d'indole négative | Annexe 4 |
| 43 | Recherche de nitrate-réductase | Annexe 4 |
| 44 | Recherche de type de fermentation | Annexe 4 |
| 45 | Galerie APi20E | Annexe 4 |
| 46 | Test de la β -galactosidase | Annexe 4 |
| 47 | Test oxydase | Annexe 4 |
| 48 | Test de la catalase | Annexe 4 |

| | | |
|----|-------------------------------|----------|
| 49 | lecture de la sphylocoagulase | Annexe 4 |
|----|-------------------------------|----------|

Produced with ScanTOPDF

Liste des tableaux

| N° de tableau | Titre du tableau | N° de page |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1 | Données météorologiques de la station d'Oum El Bouaghi | 7 |
| 2 | Caractéristiques des points de prélèvements | 15 |
| 3 | Avantages et inconvénients de la technique de filtration sur membrane et la méthode des tubes | 24 |
| 4 | Recherche des anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) | 51 |
| 5 | Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées dans l'eau du Garaet Ank Djemel | 52 |
| 6 | Identification de <i>Staphylococcus</i> | 53 |
| 7 | Résultats de la galerie biochimique classique | 53 |
| 8 | Résultats de la galerie biochimique classique et tests complémentaires | 54 |
| 9 | Résultats d'identification des germes par APi20E | 54 |
| 10 | Aspect des Entérobactéries courantes sur TSI | Annexe 3 |
| 11 | Tableau de lecture de l'APi20E | Annexe 3 |
| 12 | Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température | Annexe 3 |
| 13 | Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique | Annexe 3 |
| 14 | Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit) | Annexe 3 |
| 15 | Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium | Annexe 3 |
| 16 | Grille de qualité des eaux en nitrates | Annexe 3 |
| 17 | Grille de la qualité des eaux en nitrite | Annexe 3 |
| 18 | Qualité des eaux en fonction de la dureté | Annexe 3 |

Introduction

Produced with ScantOPDF

Entre la terre et son atmosphère, la quantité d'eau demeure inchangée pas une goutte en plus pas une goutte en moins. C'est l'histoire d'une identité circulaire, d'une planète qui se donne la vie. L'eau est très irrégulièrement répartie à la surface de la planète : 97 % du volume total s'accumule dans les océans, 2 % sur les continents, 0,6 % en phase solide dans les inlandsis polaires et les glaciers, enfin une part très modeste en phase gazeuse dans l'atmosphère. Elle est utilisée par l'homme depuis le début de leur existence pour différents usages et en ont ainsi modifié la qualité. Aujourd'hui la nature n'est plus en mesure de dépolluer les milieux naturels, les habitudes que nous avons prises de considérer les cours d'eau, les lacs, les rivières, les fleuves comme des décharges susceptibles d'accueillir l'ensemble de nos déchets ont engendré des pollutions irrémediables. Les déchets créés par l'homme sont trop nombreux et plus polluants qu'autrefois, particulièrement à cause de l'urbanisation et aux pratiques agricoles.

La Garaet Ank Djemel représente par sa superficie de 18140 ha le deuxième plan d'eau de la région. Classée site Ramsar depuis 2004, elle se trouve aux piedmonts de Djebel Ank Djemel faisant partie de la chaîne montagneuse d'Oum Kechrid qui entoure toute la partie septentrionale du plan d'eau. Au Sud, nous observons la chaîne des Djebels de Fedjoudj et de Sidi Khiair. A l'Est, cette Garaet avoisine Garaet Guellif et à l'Ouest, elle s'ouvre sur la plaine de Boulhilet. Cette Garaet et les plans d'eau avoisinants sont alimentés essentiellement par Oued Ghezal qui est un affluent d'Oued Boulhilet. Les sols entourant Garaet Ank Djemel sont cultivés chaque année par le blé dur *Triticum durum* et par l'orge *Hordeum vulgare* qui constituent la seule richesse paysanne des propriétaires des terres. Les sols limitrophes, non cultivés, sont dominés par *Salicornia*, *Atriplex* et *Salsola*.

L'objectif de notre travail est d'évaluer la qualité physico chimique et bactériologique de cette Garaet pendant les deux mois Mars et Avril.

Nous avons structuré ce travail en trois chapitres:

Le premier est réservé à la description des hauts plateaux de l'est Algérien et particulièrement sur la Garaet Ank Djemel (notre site d'étude).

Le second est consacré aux matériel et méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude (Méthodes d'analyses physicochimiques et bactériologiques).

Enfin, un dernier chapitre qui illustre les résultats obtenus de ces analyses avec leurs interprétations.

Chapitre I

Produced with ScantOPDF

I. Généralité sur les zones humides des hauts plateaux de l'Est Algérien :

L'éco-complexe de zones humides des hautes plaines de l'Est Algérien, par sa diversité de plans d'eau, couvre une superficie très importante, qui dépasse 160 000 ha en crue. Il s'étale de Sétif à Ain El-Beida sur à peu près 300 km. Il est composé d'une vingtaine de milieux humides plus ou moins grands et plus ou moins salés. La plupart de ces milieux s'assèchent en été et d'autres ne se remplissent d'eau que durant les années de grandes pluviosités. Les milieux humides les plus spacieux de ces hautes plaines se trouvent encerclés dans la région des Sebkhass enclavée entre les wilayas d'Oum El-Bouaghi, Khenchela et Batna. Ces hydrosystèmes sont dans leur majorité salés, difficilement accessibles et très peu de littérature scientifique les décrit. Cinq zones humides, soit Garaet Tarf, Garaet Guellif, Garaet Annk Djemel, Garaet El-Marhsel et Chott Tinsilt présentent un statut de sites Ramsar depuis le 02 février 2004 et deux autres « Garaet Ezzemmoul et le Lac de Timerganine » ne sont classés qu'en 2008. (SEDDIK S, 2011).

II. Les principaux sites humides des hautes plaines de l'Est Algérien :

1. Garaet Tarf (35° 42'N, 7° 08'E)

Garaet El-Tarf est la plus grande étendue d'eau de la région. Elle est classée site Ramsar depuis 2004. Elle s'étale sur une superficie totale de 25 500 ha et située aux piedmonts du Djebel El-Tarf (1180 m). Elle est alimentée principalement par Oued Boulefreiss, Oued Maarouf, Oued Remila et Oued Gueiss qui prennent naissance dans les Aurès. La Garaet est entourée de plusieurs petits chotts dont les plus importants sont le Chott El-Melah (875 ha), le Chott El-Oussera (135 ha), le Lac de Timerganine (570 ha) et Garaet Biar Es-Sebaa (200 ha). (SAHEB, 2003).

2. Garaet Guellif (35°45'34.75"N - 6°55'51.39"E) :

La Garaet Guellif (5525 ha) faisant partie de l'éco-complexe de zones humides des hautes plaines de l'Est Algérien est classée site Ramsar depuis 2004. Ce plan d'eau appartient administrativement à la wilaya d'Oum El-Bouaghi dont il est distant de 12 Km. Elle communique avec la Garaet Annk Djemel à l'Ouest. (DGF, 2004).

3. Garaet El-Marhsel (35° 48.528' N, 6° 44 437' E) :

Ce plan d'eau situé au Nord de la Garaet Annk Djemel, occupe une superficie de 125ha et classé site Ramsar avec Annk Djemel depuis 2004. Il est difficilement accessible et aucune

route n'y mène directement. Il se trouve entouré par une série de montagnes constituée principalement de Djebel El-Marhsel à l'Ouest, la chaîne montagneuse d'Oum Keclrid au Nord et du Djebel Annk Djemel à l'Est et au Sud-est et au Sud la Garaet s'ouvre sur la Garaet Annk Djemel. Le pourtour de la Garaet et les flancs des chaînes montagneuses renferment une végétation très diversifiée et peu connue. Elle est dominée par la famille des Crucifères. (SAHEB, 2003).

4. Chott El-Maleh :

Ce plan d'eau situé au Sud de Garaet Tarf occupe une superficie maximale de 85 ha. Il se trouve dans le Henchir de Goraï et d'après les rares habitants de ce douar, ce chott ne se remplit d'eau que très rarement. (SEDDIK S, 2011). Ce plan d'eau en réalité d'une superficie qui avoisine les 875 ha n'est autre en réalité qu'un plan d'eau satellite de Garaet Taref. Il est situé au Sud de cette dernière, sa mise à eau n'a lieu que durant les années pluvieuses. Ce Chott offre un lieu propice pour une large gamme d'oiseaux d'eau. (MAAZI M-C, 2009).

5. Sebket Djendli (35° 42.000'N, 6° 31.554'E) :

La Sebka de Djendli (3 700 ha) est enclavée entre trois chaînes montagneuses, Djebel Bou Arif au Sud, Djebel Toumbait et Djebel Taфраout au Nord et à l'Ouest. Par contre à l'Est, elle s'ouvre sur les plaines de Boulhilet et de Chemora. Ce plan d'eau est alimenté principalement par Oued Farerh qui prend naissance dans les chaînes montagneuses de Bou Arif. La flore entourant la zone humide est pauvre. Peu de franges de végétation composées principalement de Crucifères et de Chénopodiacées sont observés. Le plan d'eau est un refuge hivernal pour les Flamants roses (*Phoenicopterus roseus*), les Tadornes de Belon (*Tadorna tadorna*) et les Tadornes casarca (*Tadorna ferruginea*). (ADJAL et M, 2004).

6. Ougla Touila (35° 47.211' N, 7° 04.991' E) :

Cette étendue d'eau de petite superficie (170 ha) constitue la sebka la plus proche de la ville d'Oum El-Bouaghi. Elle se trouve dans la plaine de Medfoun, aux piedmonts de Kef Boucif (Djebel El-Tarf) qui la délimite dans sa partie méridionale. Du point de vue avien, ce site représente un lieu de fréquentation et d'hivernage propice pour de nombreuses espèces d'oiseaux d'eau de passage. (SAHEB, 2003).

7. Sebkheth Gémot (35° 38.708' N, 7° 00.825' E) :

Ce plan d'eau de 57 ha, constitue en réalité une sebkha satellite de Garaet Tarf. Il est actuellement coupé en deux par la route nationale 83 reliant la ville d'Oum El-Bouaghi à celle de Khenchela. Il est entouré dans sa partie septentrionale par des touffes de *Tamarix*. Son appellation est dérivée du mot géomètre, car au temps de la colonisation un géomètre français habitait ces lieux. (SAHEB, 2003).

8. Sebkheth Ezzemmoul (35°53.137'N, 6°30.200') et Chott Tinsilt (35°53.619'N, 6°30.00'E) :

Ces deux plans d'eau situés au piedmont de Kef Ennser sont séparés par la route nationale N°3 reliant la ville de Constantine à la ville de Batna, au point appelé les Lacs (village au nom des Lacs). Le premier plan d'eau d'une superficie de 6 000 ha est exploité industriellement pour son sel de table par la société algérienne *ENASEL*. Il ne se remplit d'eau que rarement. Le second s'étale sur 3 600 ha, renferme de l'eau en permanence et tout son secteur septentrional est dominé par une végétation très diversifiée (*Typha angustifolia*, *Phragmites australis*, *Scirpus lacustris*, *S. maritimus*...). Durant les années de grande pluviosité et suite à l'élévation du niveau d'eau de la Sebkheth Ezzemmoul (connue aussi sous le nom de Sebkheth Ouled Zouai), la majorité des oiseaux inféodés à l'eau quitte Chott Tinsilt pour venir s'y installer. (SAHEB, 2003).

9. Sebkheth Ouled Amara (35°21.04'N, 7°16.042'E) ET Sebkheth Ouled M'Barek (35°23.777' N, 7°19.920' E):

Ces deux petits plans d'eau (340 ha et 950 ha) sont situés au Nord de la route wilayale N°38 reliant la ville de Khenchela à la commune de Zoui, sont alimentés continuellement par Oued Ourhal et Oued Gueuntis qui se déversent dans Oued Meskiana via Oued El-Melah. Ils sont encerclés par Djebel Chettaïa à l'Ouest, Djebel Tafrennt au Nord, Djebel Tadelist et Djebel Tadinart au Sud, alors qu'à l'Est ils s'ouvrent sur la plaine de Dhalaa. (NEDJAH, 2005, BOUCHEKEUR, 2005).

10. La plaine de Remila et la Garaet de Timerganine :

Durant les périodes de grandes intempéries, se forme un grand nombre de mares temporaires de superficies plus ou moins importantes dans toute la plaine de Remila (Wilaya de Khenchela), habituellement utilisée pour une culture céréalière très importante. Cette

la région a été occupée durant les années 2002-2005 par la société algérienne *SONATRACH* pour une prospection de recherche de pétrole. (SAHEB, 2003). Le débordement de l'eau d'Oued Boulefraïss et son rassemblement dans une dépression naturelle crée une zone humide connue sous le nom de Garaet Timerganine qui occupe une superficie totale de 250ha. (MOUSSA H et al., 2008, 2009). Elle constitue le site humide le plus diversifié des hautes plaines de l'Est de l'Algérie. (MAAZI, M-C, 2009).

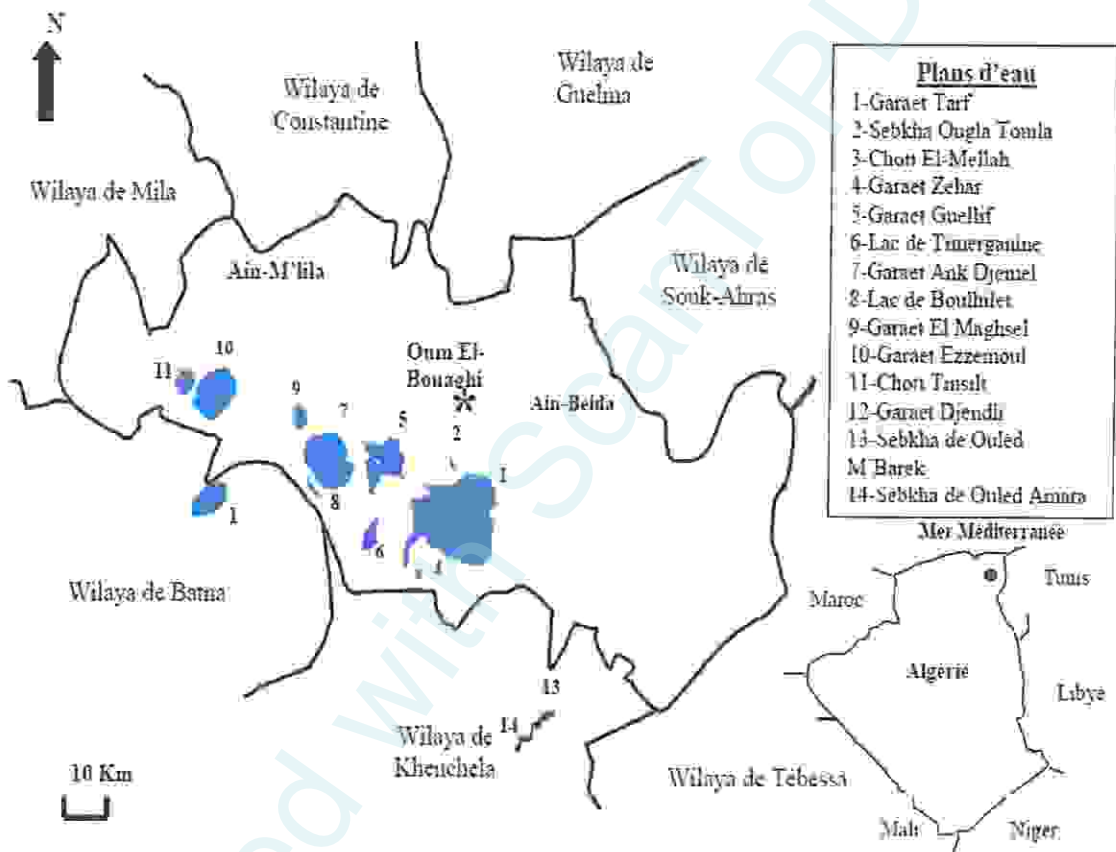


Fig.1 : Situation géographique des zones humides des hautes plaines de l'Est Algérien. (SEDDIK S, 2011)

III. Description de Garaet Annk Djamel (notre site d'étude) :

Administrativement, le site dépend de la wilaya d'Oum El Bouaghi, de la daïra d'Ain fakroune et de la commune de Boughrara Saoudi, il avoisine Garaet Gellif. Le site est situé à 5 kilomètres du village de Boughrara Saoudi se trouvant à l'aval de Djebel Fedjoudj, on y accède par la route menant d'Oum El Bouaghi à Khenchela et celle de Boughrara Saoudi. Ce plan d'eau représente le deuxième plan d'eau de la région du point de vue superficie, il est temporaire, caractérisé par une eau salée, sa mise à eau se fait en automne et en hiver hormis

ces deux saisons, le plan d'eau est généralement sec. (DGF, 2004). Cette zone humide est caractérisée par un réseau hydrographique très important dont ses principaux affluents sont Oued Tallizerdine et Oued berrou. L'avifaune aquatique qui fréquente le site est caractérisée par la présence du flamant rose (*Phoenicopterus roseus*), des grues cendrées (*Grus grus*) et quelques espèces de la famille des Anatidés. La Garaet Annk Djemel est classée en 2004 comme zone humide d'importance internationale du fait qu'elle renferme le 1 % de la population méditerranéenne de deux espèces en l'occurrence le flamant rose et le tadorne de belon. (MAAZI M-C. 2009).

S'étendant sur une superficie de 18 140 hectares, c'est un Chott comprenant en son milieu une sebkha représentée par un plan d'eau salé occupant 5 % de la superficie totale du site, le plan d'eau (sebkha) est cerné par un encroûtement de sel très important limité par une prairie (Chott) à base de salicornes, d'armoïse et d'Atriplex. (DGF, 2004).

1. Coordonnées géographiques :

La Garaet Annk Djemel est située au Nord-est Algérien, à une latitude : 35°47'00" Nord, une longitude : 06° 51'00" Est ; une altitude minimale de 830m et d'une altitude maximale 844m.



Fig.2 : localisation générale du Garaet Annk Djemel. (Google earth).

2. Caractéristiques physiques :

a. Géologie et Géomorphologie :

Le site est constitué essentiellement d'argiles et de conglomérats rouges avec à la base des calcaires lacustres et des marnes, avec la présence de croûtes calcaires massives et de terres arables, de limons anciens et d'un quaternaire indéterminé dont la présence est importante tout autour de la zone. (DGF, 2004).

b. Hydrologie :

Un chevelu hydrographique d'ordre très important, primaire d'un bassin versant de 15.200 ha, sans affluents, draine les eaux pluviales et de crues du nord-est de Djebel El Tarf l'Ouest de Sidi R'ghiss, Djebels Touzaline, Yeddou et Oum Kechrid. Deux oueds importants temporaires, Oued Berrou et Oued Tallizerdine, alimentent également le site lors de la saison pluvieuse. Saisonnier, sa mise en eau se fait au cours de l'automne et de l'hiver. Hormis les années exceptionnellement pluvieuses, le plan d'eau atteint rarement son plus haut niveau. Les entrées d'eaux dépendent des facteurs climatiques qui ont un impact direct sur les régimes des cours d'eaux qui alimentent le site. La mise à sec de la zone est due principalement au phénomène d'évaporation qui, dès le mois d'Avril, devient très important. Le site sert d'épandage des crues, et de lieu de récupération des sédiments. Le pâturage bovin et ovin est une activité à fort taux de rendement. Du point de vue qualité, les eaux salées sont issues des pluies et de sources salées qui tarissent en été. (DGF, 2004).

c. Types de sol:

Ces sont des sols de sebkhas entourés de sols salés anciens ainsi que de formations dunaires. (SEDDIK S, 2011).

d. Profondeur fluctuation et permanence des eaux :

Le site, peu profond, environ 1 mètre, s'assèche entièrement durant la saison estivale, l'arrivée d'eau diminue avec l'arrivée des grandes chaleurs et le niveau d'étiage est fréquemment atteint. (DGF, 2004).

3. Etude Climatique :

Parce qu'il change constamment et parce qu'il peut apporter embellie comme misère, le temps a toujours préoccupé l'homme. Sous la forme de pluie, de grêle ou de neige, l'eau

constitue un élément essentiel des phénomènes météorologiques. Bien sûr, le vent, les variations de température et de la pression de l'air agissant également sur les conditions atmosphériques. (MARK N, 2000). Le climat est un facteur important dans la vie et l'évolution d'un écosystème. En effet deux facteurs en l'occurrence la température et la pluviométrie sont prépondérants pour le développement de la végétation d'une part et les réserves hydriques du milieu d'une autre part d'où la nécessité de faire le point sur ces deux facteurs.

Le climat est sans doute le facteur du milieu le plus important qui influe d'une manière directe sur les populations animales. (THOMAS G, 1976).

3.1. Données météorologiques de la station d'Oum El-Bouaghi (1991-2010).

Tableau1 : Données météorologiques de la station d'Oum El-Bouaghi (1991-2010). (SADDIK S, 2011).

| Paramètres Mois | Température moyenne mensuelle (°C) | Precipitation moyenne mensuelle (mm) | Moyenne mensuelle des températures maximales (°C) | Moyenne mensuelle des températures minimales (°C) |
|------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Janvier | 4.32 | 23 | 6.28 | 2.86 |
| Fevrier | 3.35 | 42 | 6.66 | 2.93 |
| Mars | 9.20 | 51 | 14.23 | 5.35 |
| Avril | 12.41 | 47 | 19.87 | 10.33 |
| Mai | 16.88 | 31 | 24.24 | 13.81 |
| Juin | 21.76 | 19 | 25.15 | 18.52 |
| Juillet | 25.71 | 20 | 33.21 | 20.34 |
| Août | 25.29 | 10 | 38.27 | 22.66 |
| Septembre | 21.47 | 12 | 30.76 | 14.82 |
| Octobre | 16.66 | 36 | 24.55 | 9.65 |
| Novembre | 11.12 | 42 | 15.23 | 3.92 |
| Decembre | 6.91 | 59 | 6.37 | 2.07 |
| Precipitation annuelle en mm | | 392 | | |

3.2. Température :

La température moyenne annuelle est de 20.12°C, le mois le plus froid est le mois de

Décembre avec 2.07°C et le mois le plus chaud est représenté par le mois d'Août avec une température de l'ordre de 38.17°C .

3.3. La pluviométrie :

L'origine des pluies en Algérie est plutôt orographique. En effet la hauteur pluviométrique est donc déterminée par la direction des axes montagneux par rapport à la mer et aux vents humides. Les pluies ont tendance à diminuer vers le Sud au fur et à mesure que les vents humides s'épuisent. Cette dernière est typique au climat méditerranéen est présente un minimum en été et un maximum en hiver. Les précipitations annuelles avoisinent les $359,85\text{ mm}$. (MAAZI M-C, 2009).

3.4. Synthèse climatique :

3.4.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен :

En se basant sur les données météorologiques récoltées sur dix neuf années consécutives (1991-2010) de la station d'Oum El-Bouaghi (Tab.1), le tracé du graphique (le diagramme pluviothermique) selon la méthode de Bagnouls et Gausсен nous permet de calculer la durée de la saison sèche, en portant la pluviométrie moyenne annuelle et la température sur deux axes où le premier est pris à une échelle double du second. (Fig.3).

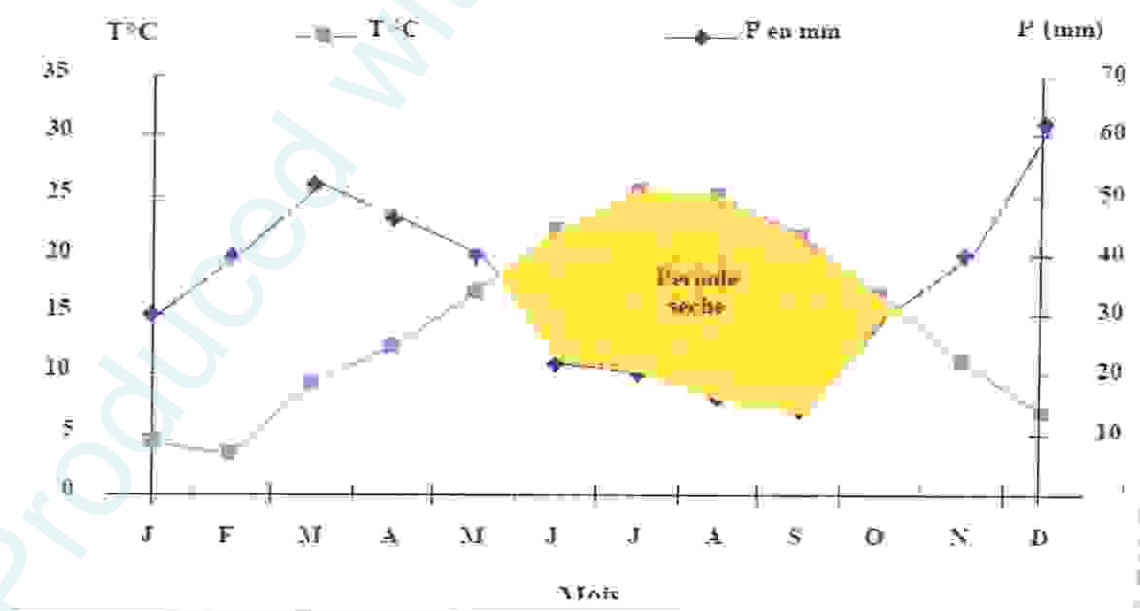


Fig.3 : Diagramme ombrothermique de la région d'Oum El-Bouaghi (1991-2010), (SEDDIK S, 2011).

La saison sèche apparaît lorsque la courbe des précipitations rencontre et passe sous celle des températures. (BAGNOULS et GAUSSEN, 1957, FUSTEC E et LEFEUVRE J.C, 2000). Ceci fait ressortir une période sèche qui s'étale sur six mois allant du mois de mai jusqu'au mois de Novembre.

3.4.2. Quotient ombrothermique d'Emberger :

Sous un autre angle, les mêmes données météorologiques donnent d'après la méthode d'Emberger (Emberger 1955), un quotient ombrothermique équivalent à 36.93 ($Q_2=36.93$). A la lumière de ces données, la région d'Oum El-Bouaghi prend une place dans le climatogramme d'Emberger dans l'étage bioclimatique à végétation semi-aride à aride à hiver froid. (SEDDIK S. 2011).

Littéralement le quotient ombrothermique s'écrit de la façon suivante :

$$Q_2 = \frac{1000 \cdot P}{\left[\frac{M + m}{2} \right] (M - m)}$$

P = Précipitation annuelle moyenne (mm) ;

M = Températures maximales du mois le plus chaud ($^{\circ}K$) ;

m = Températures minimales du mois le plus froid ($^{\circ}K$).

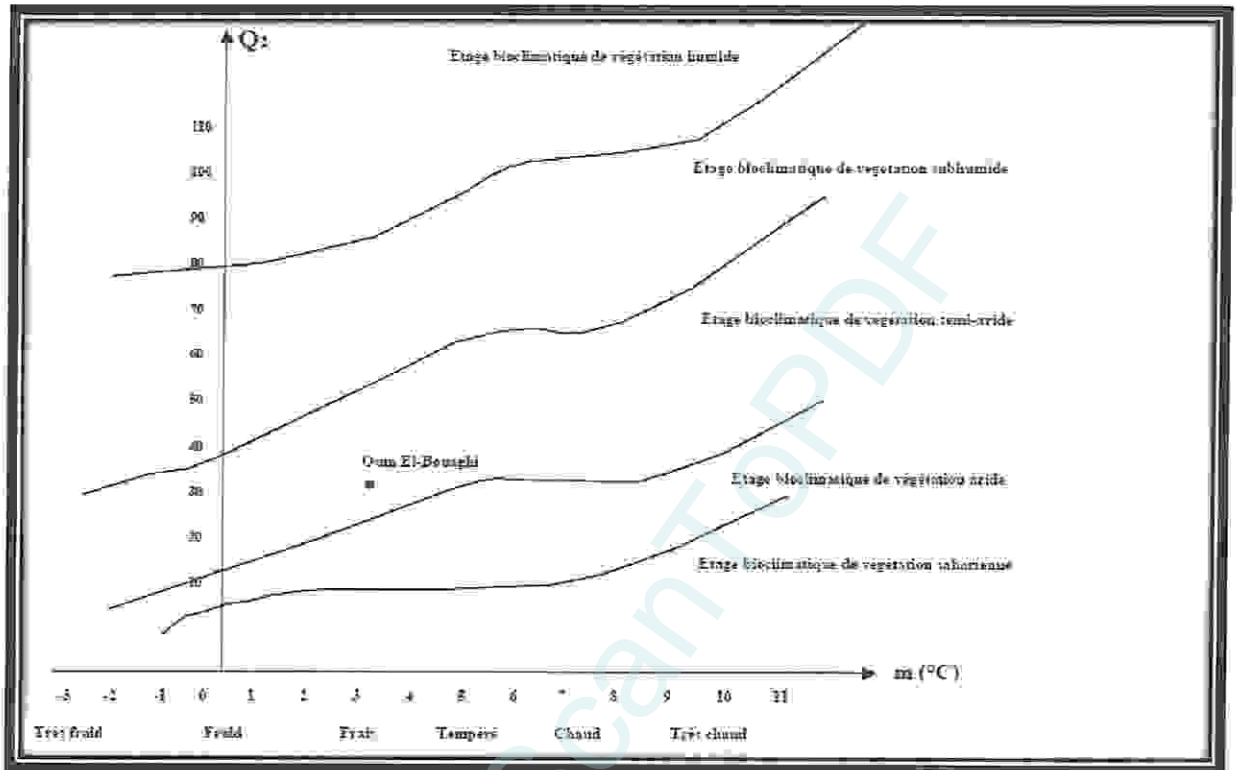


Fig.4 : Situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climatogramme d'Emberger. (SEDDIK S, 2011).

Donc si nous nous référons à ce climat d'Oum-El-Bouaghi nous pouvons dire que le climat de Garaet Annik Djemel est un climat continental faisant partie de l'étage bioclimatique semi-aride à hiver froid et à été chaud et sec, caractérisé par l'irrégularité des précipitations. Les vents dominants sont de Sud-ouest, Ouest et Nord-Ouest.

4. Caractéristiques écologiques :

C'est un habitat représenté par un encroûtement de sel occupant une superficie importante, situé au milieu de la garaet, le plan d'eau se rétrécit suite aux grandes chaleurs estivales. On trouve également une prairie (Chott) à armoises, salicornes et Atriplex et des herbacées appréciées par le bétail qui pâture ici à longueur d'année. (DGF, 2004).

5. Cadre Faunistique et Floristique :

❖ Flore remarquable :

L'environnement du site présente une végétation très pauvre, on ne rencontre que des espèces supportant un taux élevé du sel telles que les Atriplex et le Tamarix consommés par les bovins. (DGF, 2004).

❖ Faune remarquable :

En l'absence d'un inventaire exhaustif, les mammifères sont représentés par *Vulpes vulpes*, *Canis aureus*, *Lepus capensis* et *Rattus rattus*, les amphibiens par *Bufo Mauritanica* et *Bufo Viridis*, les reptiles par *Acanthodactylus*, *Emys Orbicularis* et les invertébrés par *Daphnia sp.*, *Artémia sp.*, et *Hélix Pyramidata*. En janvier 2003, durant les recensements hivernaux annuels, le site en raison d'inondations très importantes n'a pu faire l'objet d'observations suite aux difficultés d'accès relatives aux précipitations pluviales. Bien plus étudiée, l'avifaune est représentée en 2004 par des Flamants roses (*Phoenicopterus ruber roseus*) et Tadorne de belon (*Tadorna tadorna*). (DGF, 2004).

6. Valeurs sociales :

L'intérêt que semble avoir le site réside dans l'extraction du sel gemme par la population riveraine. Le braconnage est pratiqué en dépit de la fermeture officielle de la chasse depuis plus de 12 ans.

7. Occupation actuelle des sols :

La population qui habite un village appelé "village socialiste agricole", éparpillée sur l'ensemble du bassin versant, active dans l'agriculture et l'élevage.

• Facteurs défavorables affectant les caractéristiques écologiques du site :

L'érosion due à la lithologie de la zone, aux pluies torrentielles et à l'absence du couvert végétal est un danger potentiel qui se rajoute au surpâturage, où l'activité agropastorale est omniprésente. (DGF, 2004).

8. Mesures de conservation proposées mais pas encore appliquées :

C'est un site qui abrite souvent un nombre assez important de Tadorne de Belon (*Tadorna tadorna*) et de Flamant rose (*Phoenicopterus roseus*) qui ne le quittent généralement que

lorsqu'il atteint son niveau d'étiage. Il mériterait d'être classé en réserve naturelle ornithologique et bénéficier ainsi de fait d'un budget de l'Etat permettant sa gestion durable. Son classement sur la liste Ramsar permettra certainement d'y prévoir des mesures de conservation plus spécifiques. (DGF, 2004).

Produced with ScanTOPDF

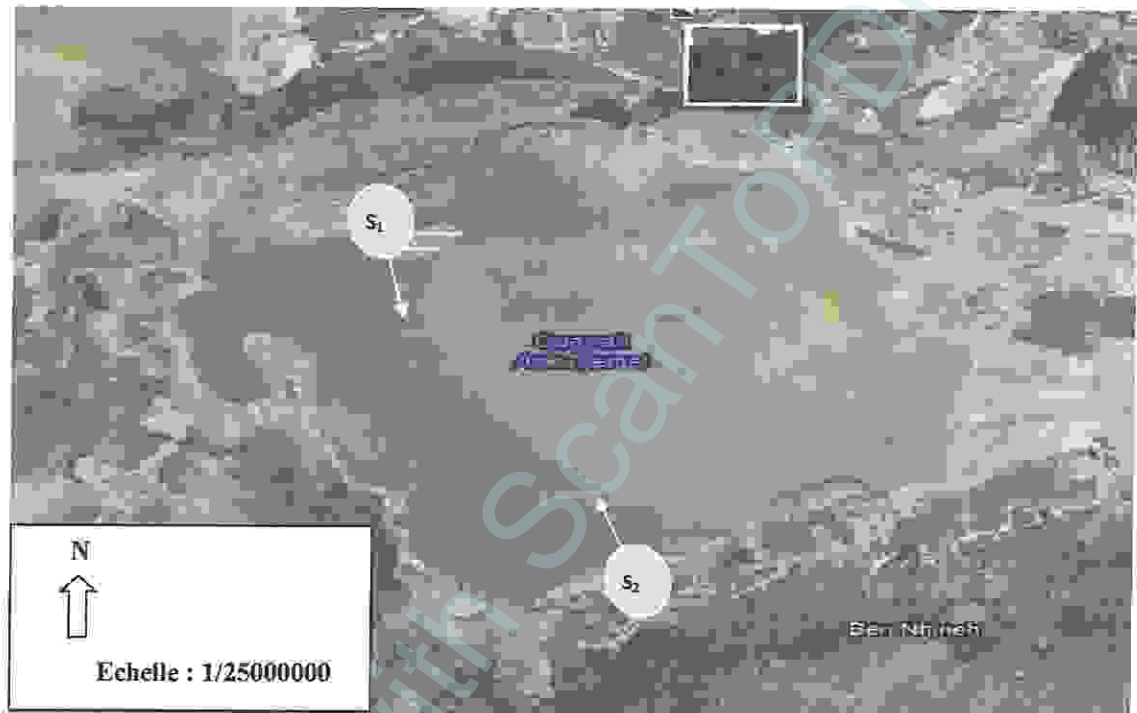
Chapitre II

Produced with ScantOPDF

1. Choix des stations et Prélèvements:

1.1. Choix des stations :

Le choix des stations de prélèvement était conditionné par leur proximité à la route (facilité d'accès).



A



B



C

Fig.5 : Localisation des points de prélèvement : A : (source, Google earth), B : station 1 ; C : station 2 (photos prises par nous-mêmes).

1.2. Les prélèvements :

Les prélèvements étaient réalisés sur une période de deux mois (mi mars, mi avril); le rythme d'échantillonnage était d'un prélèvement par mois.

Au niveau de chaque station un prélèvement d'eau a été effectué pour l'analyse bactériologique et physico-chimique. Les mesures de la température et du pH ont été faites sur le site et au laboratoire, puis nous les avons comparés. Les échantillons d'eaux doivent être prélevés dans des flacons en verres munis de bouchons à vis borosilicaté stérilisés à l'autoclave (20 minutes à 180°C) et dans des flacons en matière plastique à usage unique pour l'analyse physico-chimique. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (gaz dissous, matières en suspension, etc.).

L'échantillon destiné à l'analyse bactériologique doit être prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuse et doit être le plus représentatif possible du milieu d'où il provient. Le flacon débouché et immergé complètement à une profondeur de 30 cm en position oblique renversée en le tenant par le fond ; il est alors retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigée dans le sens contraire du courant. Après le prélèvement, les flacons doivent être soigneusement rebouchés.

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement après les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables.

Les échantillons sont transportés dans une caisse iso-thermique [glacière] (4-6 °C) jusqu'à leur arrivée au laboratoire. La teneur des échantillons en coliformes se modifie entre le moment du prélèvement et celui de l'examen. Il est important donc de procéder à l'analyse le plus rapidement possible, de préférence dans l'heure suivante et en aucun cas après 24 heures.

2. Echantillonnage :

☞ Caractéristique des points de prélèvement :

Pour mieux évaluer la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau de la garaet Annk Djemel, nous avons choisi deux points de prélèvements (stations) (S1 et S2) détaillés(es) dans le tableau 2. Ces deux points se trouvant dans deux parties différentes du lac. Donc notre choix est dans le but de déterminer l'influence de cette distance par une comparaison des résultats des analyses effectuées.

La totalité de nos analyses bactériologiques et physico-chimiques ont été réalisées au niveau des laboratoires de l'Algérienne des eaux (ADE).

Tableau 2 : Caractéristiques des points de prélèvements

| Stations | période | Date | Heure | Caractéristiques |
|----------------|---------|----------|---------|--------------------------------------|
| S ₁ | Mars | 17/03/12 | 12 : 03 | X : 3546023 ; Y : 652592 ; Z : 4.2 |
| | Avril | 21/04/12 | 13 : 00 | |
| S ₂ | Mars | 17/03/12 | 12 : 40 | X : 3546141 ; Y : 00652657 ; Z : 4.6 |
| | Avril | 21/04/12 | 12 : 26 | |

3. Les Analyses physico-chimiques

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

- ❖ Suivant leur nature chimique : organique ou minérale ;
- ❖ Suivant leur état physique : matières dissoutes, colloïdes ou en suspension.

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

De nombreuses réactions (chimiques, physiques ou biologiques) peuvent se produire au sein d'un échantillon destiné à l'analyse, modifiant sensiblement les concentrations de certains éléments. Pour cela, à chaque prélèvement d'échantillons, des mesures *in situ* sont effectuées afin de déterminer certaines caractéristiques de l'environnement des prélèvements comme la température, le pH, la conductivité, etc. Ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu, ils peuvent disparaître ou se modifier au cours du stockage et transport de l'échantillon au laboratoire.

3.1. Paramètres physiques :

3.1.1. La température :

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

Nous avons mesuré ce paramètre à l'aide du multiparamètre de marque « Eco scan con 5 ». L'unité est exprimée en °C.

3.1.2. La conductivité :

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

Nous avons mesuré ce paramètre à l'aide du multiparamètre de marque «Eco scan con 5 ». L'unité est exprimée en ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

3.1.3. La turbidité :

La turbidité mesure la quantité de matière en suspension à l'origine d'un trouble.

A l'aide d'un turbidimètre de marque « Hach 2100 N », nous avons effectué la mesure aussi rapidement que possible après prélèvement. L'unité est en NTU (nephelometric turbidity unit).

3.1.4. Les matières en suspension (MES) :

La matière en suspension représente l'un des paramètres globaux de pollution les plus facilement perceptible mais l'un des plus difficilement mesurables en continu. En fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètre supérieur à $100\mu\text{m}$) et les matières en suspension.

Nous avons utilisé la méthode volumétrique, et déterminé par pesée différentielle (voir annexe 2), et les résultats sont exprimés en mg/l.

3.2. Paramètres chimiques :

3.2.1. Mesure de pH :

La valeur du pH permet de déterminer l'acidité, la neutralité ou la basicité de l'eau, autrement dit la concentration en ions hydrogènes.

NB : Nous avons repris ces mesures au laboratoire avec un pH mètre «MP 220» pour s'en assurer des résultats afin d'éviter le risque d'erreur.

3.2.2. Le dosage de calcium :

Le calcium est un métal alcalino-terreux extrêmement répandu dans la nature. C'est le cation le plus commun trouvé dans les eaux de surfaces, il dépend principalement de la géologie du sol, en particulier lorsqu'il y a des dépôts de carbonates ou de gypse présents. (Voir l'annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg/l.

3.2.3. Le chlorure Cl^- :

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

Nous avons utilisé une méthode qui consiste à doser les chlorures 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. Les résultats sont exprimés en mg/l (Voir annexe 2).

3.2.4. Le nitrate :

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote et ils se trouvent naturellement dans les eaux de surfaces et aussi dans les eaux souterraines, leurs concentrations dans les eaux naturelles ne dépassent pas 10 mg/l pour une eau non polluée en nitrate (selon la norme OMS). Associés au phosphore les nitrates entraînent des effets néfastes sur l'écosystème en modifiant la physiologie de certaines espèces végétales.

Dans les eaux douces, ils participent aux phénomènes de prolifération d'algues microscopiques (eutrophisation). La méthode utilisée est spectrophotométrique (colorimétrique) à l'aide d'un spectrophotomètre « DR 2500 » à une longueur d'onde = 415 nm (Afnor, Nf on ISO 13395). Les résultats sont exprimés en mg/l. (Annexe 2).

3.2.5. Le nitrite :

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammonium et les nitrates, leur présence dans l'eau est souvent due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammonium, soit à la réduction des nitrates, ils ne présentent ainsi qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates, leur présence dans les eaux potables est faible (norme de l'OMS : $\text{NO}_2 < 0.1 \text{ mg/l}$).

Le nitrite est toxique à une quantité élevée dans l'eau. Il indique la présence possible d'autres polluants plus sérieux tels que les bactéries (*nitrobacter*) ou les pesticides.

La méthode d'analyse utilisée est par spectrophotomètre « DR 2500 » à une longueur d'onde de 543 nm (Afnor, NF en ISO 13395). Les résultats sont exprimés en mg/l. (Annexe 2).

3.2.6. L'ammonium :

L'azote ammoniacal ou (NH_4) provient de la dégradation des protéines animales (cycle d'azote), la principale source d'ammoniaque est anthropique. Les effluents domestiques (urée) représentent la plus importante source de pollution. L'azote peut aussi provenir de ruissellements urbains, de l'agriculture (engrais) ou de l'industrie (pharmaceutique, alimentaire, pâte à papier, textile ...).

La méthode d'analyse utilisée est par spectrophotomètre « DR 2500 » à une longueur d'onde de 655 nm (Afnor, NF en ISO 13395). Les résultats sont exprimés en mg/l. (Voir annexe 2).

3.2.7. Le magnésium :

Le magnésium constitue un élément majeur dans la dureté de l'eau, il est présent sous forme de carbonates ou de bicarbonates. Il se prête facilement aux techniques habituelles de l'analyse hydrologique. (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg/l.

3.2.8. Le sulfate :

Les ions sulfates sont ces ions qui donnent le goût amer à l'eau ; ils sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum.

La méthode d'analyse utilisée est par spectrophotomètre « DDR2500 » à la longueur d'onde de 420 nm (Afnor, NF en ISO 13395). Les résultats sont exprimés en mg/l.

3.3. Les autres paramètres :

3.3.1. Oxygène dissout :

La dissolution d'oxygène dépend de la pression atmosphérique et de la pression interstitielle de l'eau. Les eaux non saturées en oxygène font preuve d'une mauvaise odeur ; c'est le cas par exemple d'eau des égouts. Nous avons mesuré ce paramètre à l'aide de multiparamètre de marque «Hanna Hi 9812-5 ». L'unité est en pourcent (%) ou en milligramme par litre (mg/l).

3.3.2. Taux de sels dissouts(TDS) :

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

Les résultats sont exprimés en mg/l. (Voir annexe 2).

3.3.3. Le résidu sec :

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans un bécher taré de résidu desséché et ensuite pesé. La méthode est volumétrique ; les résultats sont exprimés en mg/l. (Voir annexe 2).

3.3.4. La dureté totale :

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont anionisés à former un complexe du type chélation par le sel di-sodique de l'acide éthylène-diaminctétracétique à pH 10, la disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage d'un indicateur spécifique. Elle est aussi appelée titre hydrométrique (TH).

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium. Les résultats sont exprimés en (°F). (Voir annexe 2).

3.3.5. Alcalinité (TA, TAC)

A l'inverse de l'acidité, l'alcalinité d'une eau correspond à la présence de bases et de sels d'acides faibles. Dans les eaux naturelles, l'alcalinité résulte le plus généralement à la présence d'hydrogénocarbonates, carbonates et hydroxydes. La silice ionique peut aussi

interférer notamment lorsque le pH est supérieur à 8,5. On distingue comme pour la mesure de l'acidité, deux titres qui sont le titre alcalimétrique ou titre alcalimétrique simple (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC). L'unité utilisée est le degré français ($1^{\circ}f = 10 \text{ mg}$).

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré. (Voir annexe 2).

3.3.6. Les hydrogénocarbonates :

Les carbonates totaux dissous dans les eaux sont liés par des équilibres acide-base à l'acide carbonique. Aux pH des eaux naturelles (entre 7 et 8) les carbonates sont sous formes HCO_3^- (ion bicarbonate ou hydrogénocarbonate) principalement avec des traces d'acide carbonique (ou de dioxyde carbone) et d'ion carbonate (notamment quand le pH est supérieur à 8,3 – 8,4). Le dosage des carbonates totaux peut être réalisé très simplement par la détermination de l'alcalinité et plus précisément des titres TA et TAC. (Voir annexe 2).

3.3.7. La matière organique :

La matière organique est une composante ubiquiste des milieux aquatiques naturels. Elle est constituée d'un vaste ensemble de composés complexes et hétérogènes. La méthode est volumétrique. Les résultats sont exprimés en mg/l. (Voir annexe 2).

4. Les Analyse bactériologiques :

Actuellement, le contrôle bactériologique de l'eau est basé sur la technique de filtration sur membrane. Le travail a été limité sur la recherche sélective de certaines bactéries au détriment d'autres selon la disponibilité de milieux de cultures et de réactifs.

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

- Les germes totaux (la flore totale) ;
- Les coliformes (totaux) ;
- Les coliformes thermotolérants (*E. coli*) ;
- Les streptocoques fécaux ;
- Les clostridium sulfite-réducteurs.

L'étude de la variation de la population bactérienne globale, la recherche des bactéries d'origine fécale et de bactéries pathogènes sont les trois grandes lignes des analyses bactériologiques des eaux.

Compte tenu des matériels disponibles à l'ADE, nous avons suivi les mêmes techniques qu'ils utilisent c'est-à-dire la méthode de filtration sur membrane (sauf pour les GT et les ASR) pour réaliser notre travail.

4.1. Technique utilisée :

▪ La filtration sur membrane :

a. Principe de la filtration sur membrane:

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

Après incubation, les colonies développées seront dénombrées et éventuellement prélevées pour être identifiées.

b. Volumes d'eau à filtrer :

L'exactitude et la facilité des dénombrements de colonies bactériennes sur les membranes après incubation sont étroitement liées à la quantité d'eau filtrée sur ces membranes. Nous avons filtré un volume de 50 ml de chaque échantillon d'eau.

NB: Avant de commencer nous avons dilué nos échantillons d'eau de ces deux différentes stations à cause de la turbidité de ces eaux (dilutions 1/10 et 1/100). Donc nous nous trouvons avec une solution mère et deux solutions filles pour chaque station.

c. Matériel de filtration :

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

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

d. Mode opératoire :

- **Filtration de l'eau et mise en culture :**

Avant chaque usage on doit flamber les supports pendant 3s (ce que nous avons fait) c'est-à-dire stérilisé les supports, les entonnoirs respectivement. (3min avant). (Fig.7).

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

- **Milieux que nous avons utilisés pour le dénombrement :**

La gélose TGEA, la gélose TTC tergitol, la gélose BEA, la gélose Slanetz et Bartley, le milieu Schubert indole avec cloche de Durham, la gélose nutritive et le milieu Chapman.

RAMPE DE FILTRATION

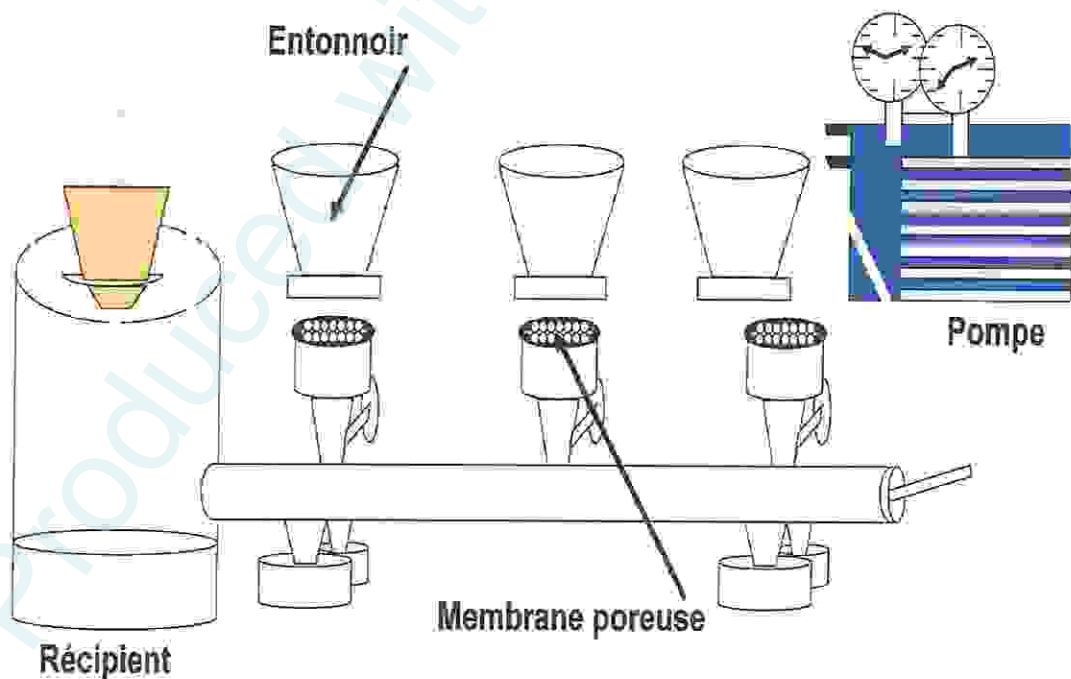
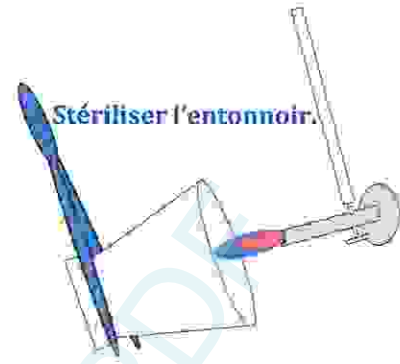


Fig.6. Schéma d'une rampe de filtration.

Stériliser la membrane poreuse.



Stériliser l'entonnoir.

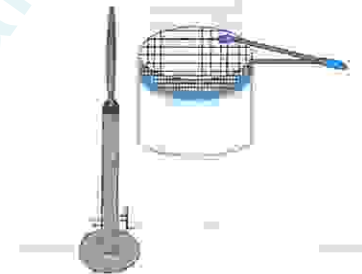


Sterilisation des supports et des entonnoirs.

Refroidir l'entonnoir.

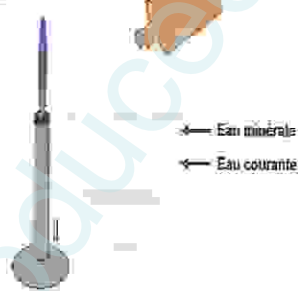


Déposer un filtre de 0,45 µm de diamètre sur la membrane poreuse.

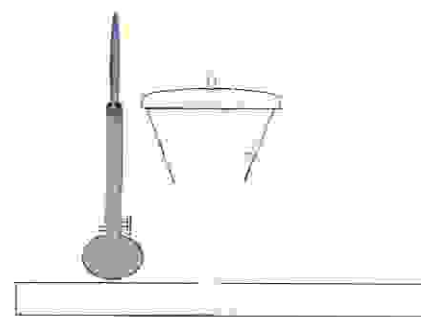


Refroidissement de l'entonnoir et dépôt de la membrane poreuse sur le support.

Remplir l'entonnoir.



Remettre le couvercle pour certains rampes.



Remplissage de l'entonnoir et la remise du couvercle.

Fig.7. Les différentes étapes à suivre avant de commencer l'opération.

Tableau.3. Avantages et inconvénients de la technique de filtration sur membrane et la méthode en tubes :

| | Méthode par filtration | Méthode en tubes |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Avantage | Facteur temps: Rapide Economique Espace Etuve Exactitude des résultats | Fiable Eau chargée Sensible |
| Inconvénients | Investissement de départ coûteux | Aléatoire |

4.2. Détermination des germes totaux (GT) :

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

Les germes totaux sont un ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance à 37°C et 22°C pendant 72h afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychotropes et ceux franchement mésophiles.

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

❖ Mode Opératoire:

A partir de l'eau à analyser (SM), porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma (Fig.8). Compléter ensuite (ensemencement par incorporation) avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $44 \pm 2^\circ\text{C}$. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale et les laisser se refroidir. Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

❖ Incubation :

☞ La première série sera incubée à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures,

☞ La seconde série sera incubée à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 72 heures.

❖ Lecture :

Les colonies de microorganismes revivifiables apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

❖ Interprétation :

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

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

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

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

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 22°C et à 37°C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10.

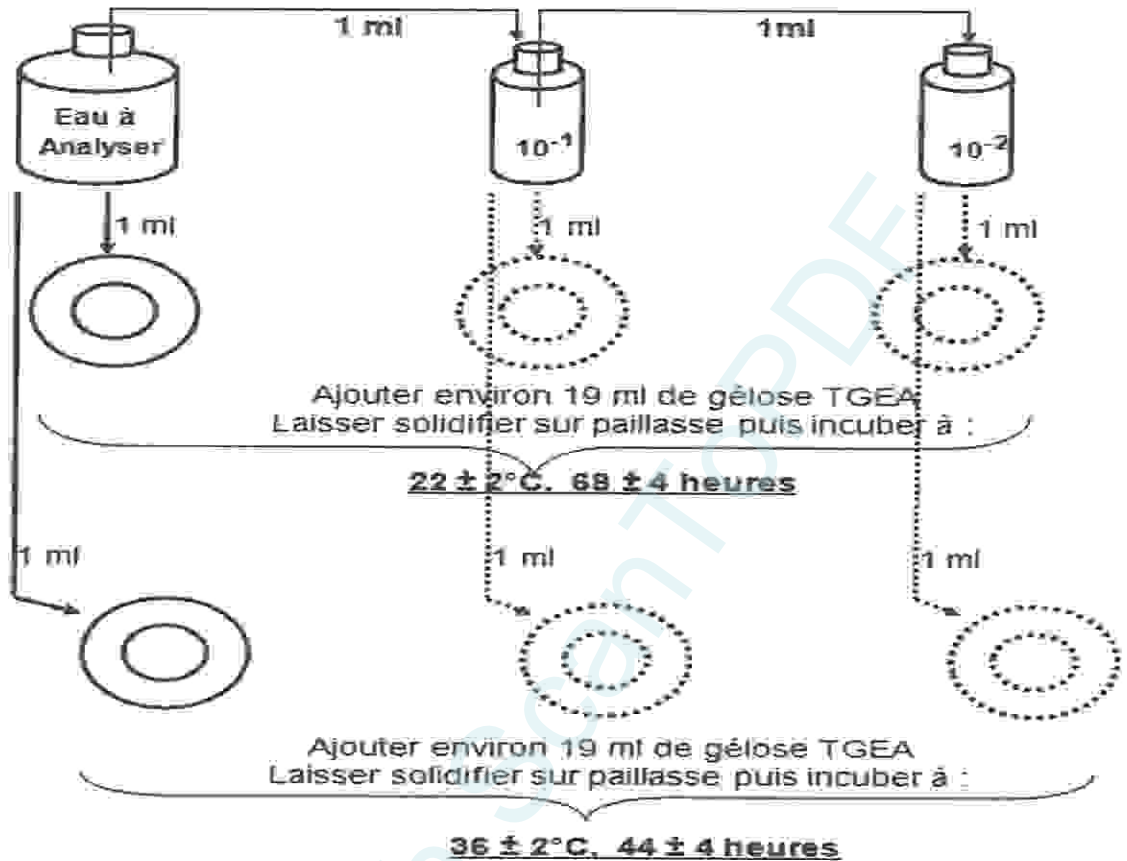


Fig.8 : Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 et à 37°C dans les eaux.

4.3. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale (coliformes totaux, thermotolérants et streptocoques fécaux) par la méthode de filtration sur membrane :

4.3.1. Coliformes totaux et thermotolérants :

▪ Définition :

Dans cette famille des entérobactéries, certains forment le groupe des coliformes, qui ont les propriétés suivantes :

- ✓ Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase «-», aérobies ou anaérobies facultatifs ;
- ✓ Ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents ;
- ✓ Ils fermentent le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35 à 37°C. ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$).

Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à incubation à 44°C.

Les *Escherichia Coli* sont des coliformes thermotolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à 42°C ±2.

▪ **Test présomptif sur gélose lactosée au TTC et au tergitol**

Pour ce dénombrement nous avons utilisé la méthode d'essai standard.

Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen. Les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec de l'eau distillée stérile. Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de 0,45 µ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile. Fixer ce dispositif avec la pince correspondante. Déposer ensuite aseptiquement 50ml d'eau à analyser, devant un bec bunsen. Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane. Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, sur la surface d'une plaque de gélose TTC préalablement préparée. Cette dernière sera incubée couvercle en bas à 36 ± 2°C pendant 21 ± 3 heures voir 44 ± 4 heures et servira à la recherche des bactéries coliformes, suivie de l'identification biochimique des *Escherichia coli*.

○ **Lecture :**

Après la période d'incubation spécifiée, dénombrer les colonies caractéristiques qui se présentent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentés en jaune orangé ou en jaune (lactose positives). Repiquer de façon aléatoire 5 à 10 colonies à des fins de confirmation basée sur le test à l'oxydase d'une part et la production d'indole d'autre part.

▪ **Tests confirmatif : Ensemencement du milieu « milieu de Schubert avec cloche de Durham » (recherche de coliformes thermotolérants (*E. coli*)) :**

La confirmation de la présence de coliformes est réalisée à partir des colonies jaunes ou orangées, sur un milieu plus spécifique: milieu de Schubert. L'incubation à 44°C pendant 24h.

- ✓ A partir des colonies (couleur jaunes ou oranges) nous prélevons à l'aide d'anse de platine stérile quelques colonies et nous les ensemençons à nouveau dans le milieu Schubert (en série de 4 tubes). Puis incubation à 44°C pendant 24 heures.
- ✓ Après incubation à 44°C pendant 24 heures, les tubes ayant apparû un anneau rouge après l'ajout de réactifs Kowacs, avec production de gaz, sont considérés positifs (indole positif):

Puis exprimer leur nombre par 100ml d'eau analysée selon l'équation mathématique suivante :

$$a = \frac{b}{A} \cdot C$$

Où :

b : nombre de colonies caractéristiques présumées dans la boîte.

A : nombre de colonies repiquées.

C : nombre total de colonies trouvées dans la boîte.

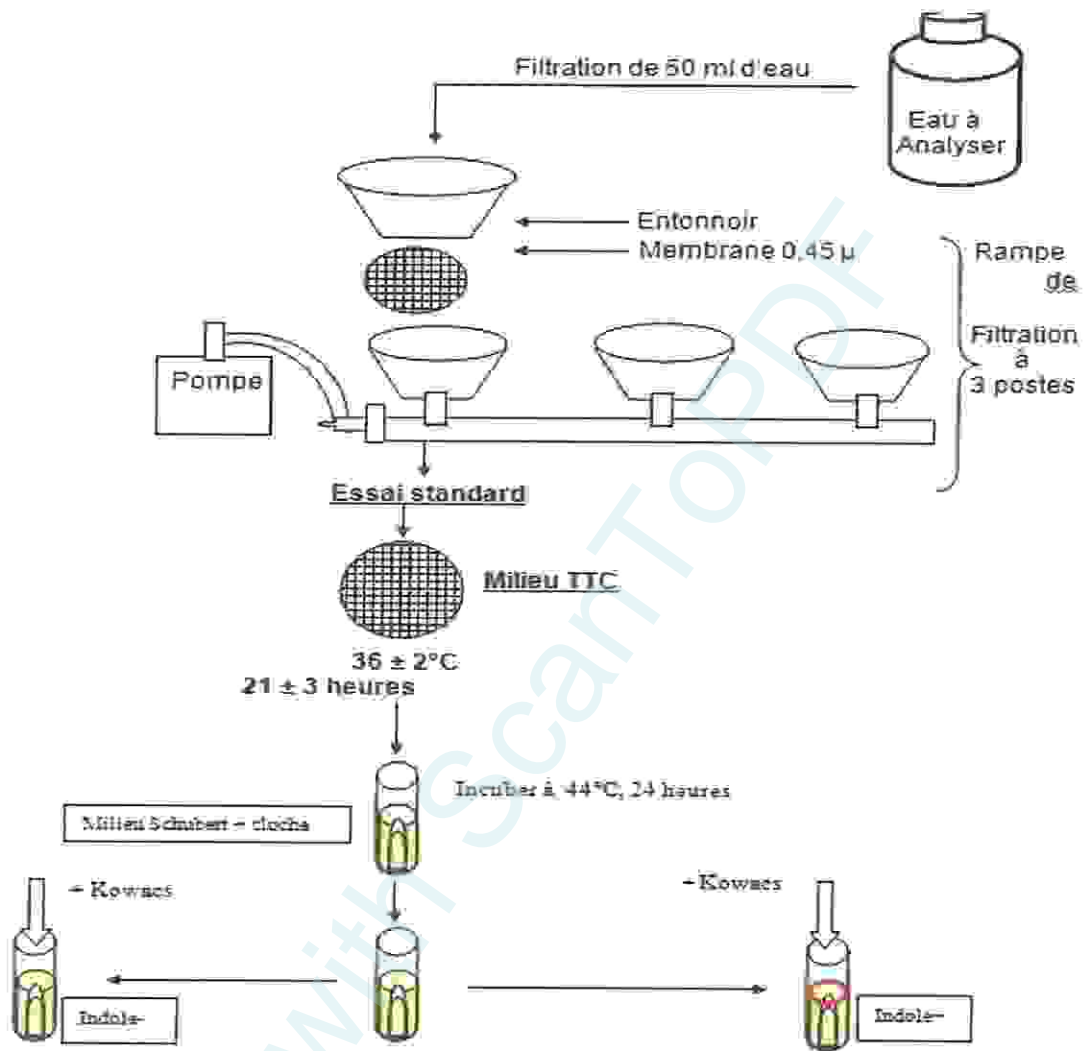


Fig.9 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants.

4.3.2. Dénombrement des streptocoques fécaux :

Les Streptocoques fécaux ou Streptocoques du groupe D ne possèdent pas de catalase mais possèdent l'antigène du groupe D. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine gélose (BEA).

• Mode opératoire :

La recherche des entérocoques intestinaux ou Streptocoques du groupe « D » par filtration sur membrane nécessite une préparation au préalable, qui se déroule comme suit (Fig.10) :

Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir gradué en acier inoxydable ainsi que la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen ; les refroidir tout de suite après, avec l'eau à analyser si on en dispose en quantité suffisante ou bien avec de l'eau distillée stérile.

Mettre en place de façon aseptique une membrane de porosité nominale de $0,45 \mu$ entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile. Fixer ce dispositif avec la pince correspondante.

Déposer ensuite aseptiquement 50 ml d'eau à analyser, (types d'eaux de lac), devant un bec bunsen.

Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane. Retirer l'entonnoir puis transférer immédiatement et aseptiquement la membrane à l'aide d'une pince à bouts arrondis stérile, à la surface d'une plaque de gélose SLANETZ et BARTLEY préalablement préparée. Cette dernière sera incubée couvercle en bas à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 44 ± 4 heures.

○ **Lecture :**

Après la période d'incubation spécifiée, les entérocoques intestinaux ou Streptocoques du groupe «D» apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en rouge, marron ou rose. Transférer aseptiquement la membrane du milieu de Slanetz et Bartley sur une plaque de gélose Bile esculine azoture (BEA) préchauffée préalablement à 44°C . Cette dernière sera incubée à son tour à $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 2 heures. Les colonies caractéristiques prennent alors une coloration noire traduisant ainsi l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu. Compter le nombre de colonies et le rapporter à 100ml d'eau à analyser.

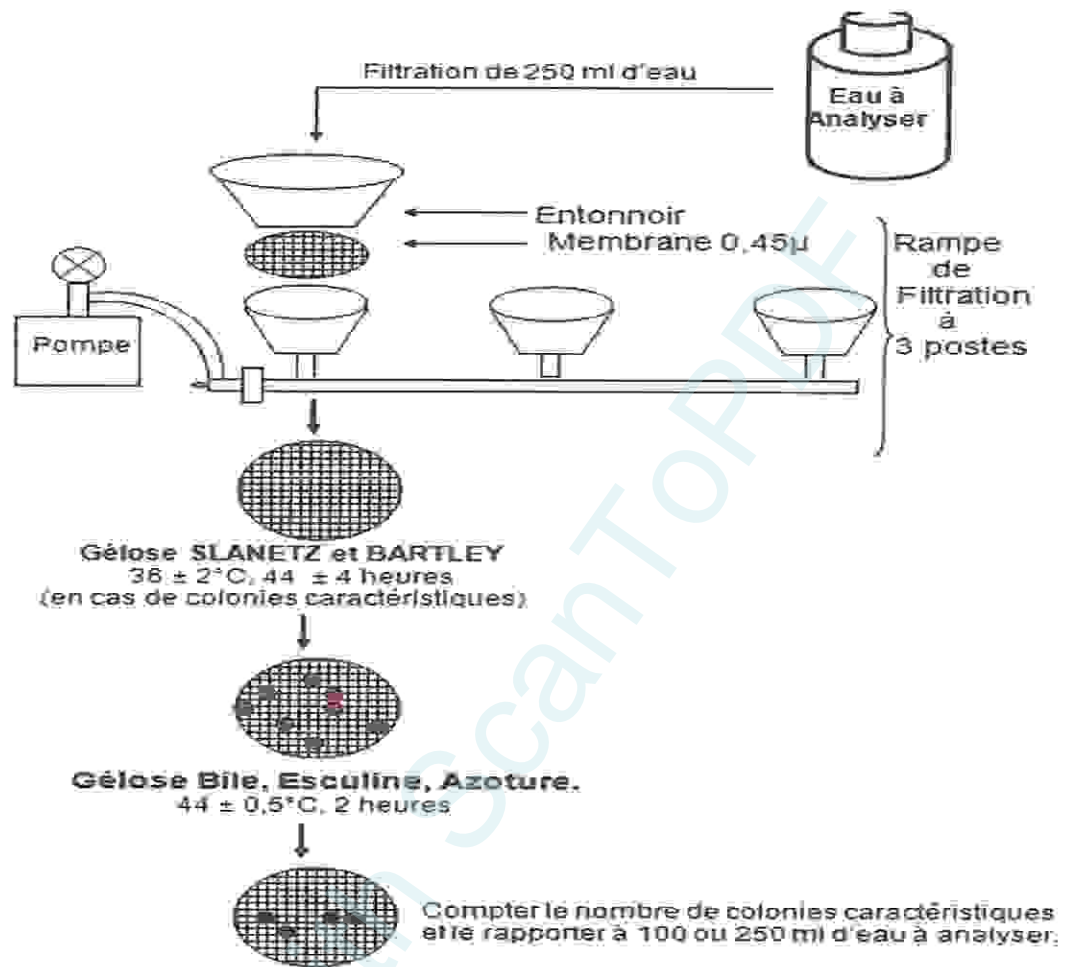


Fig.10 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.

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

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

➤ Définition :

On entend par les bactéries anaérobies sulfito-réductrices des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram positif et qui en se développant à température de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en 24 à 48 heures en gélose profonde de type gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine ou Tryptose Sulfite Néomycine ou encore gélose Viande-Foie, donnent des colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noir, cette dernière est le

témoin de la réduction du sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de Fer) de couleur noir.

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

➤ **Mode Opérateur :**

A partir de l'eau à analyser :

- Transférer environ 20 ou 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre à 75°C pendant 15 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives de bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes. Un autre flacon rempli d'une autre eau servira de témoin de température. (Fig.11).
- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande- Foie, fondus puis refroidie à $47 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée de leurs additifs spécifiques.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant $44 \pm 4\text{h}$. (Fig.11).

➤ **Lecture et interprétation :**

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont envahissantes auquel cas on se trouvera en face d'un tube complètement noir, la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 44 ± 4 heures. Dénombrer toute colonie noire de 0.5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml d'eau à analyser.

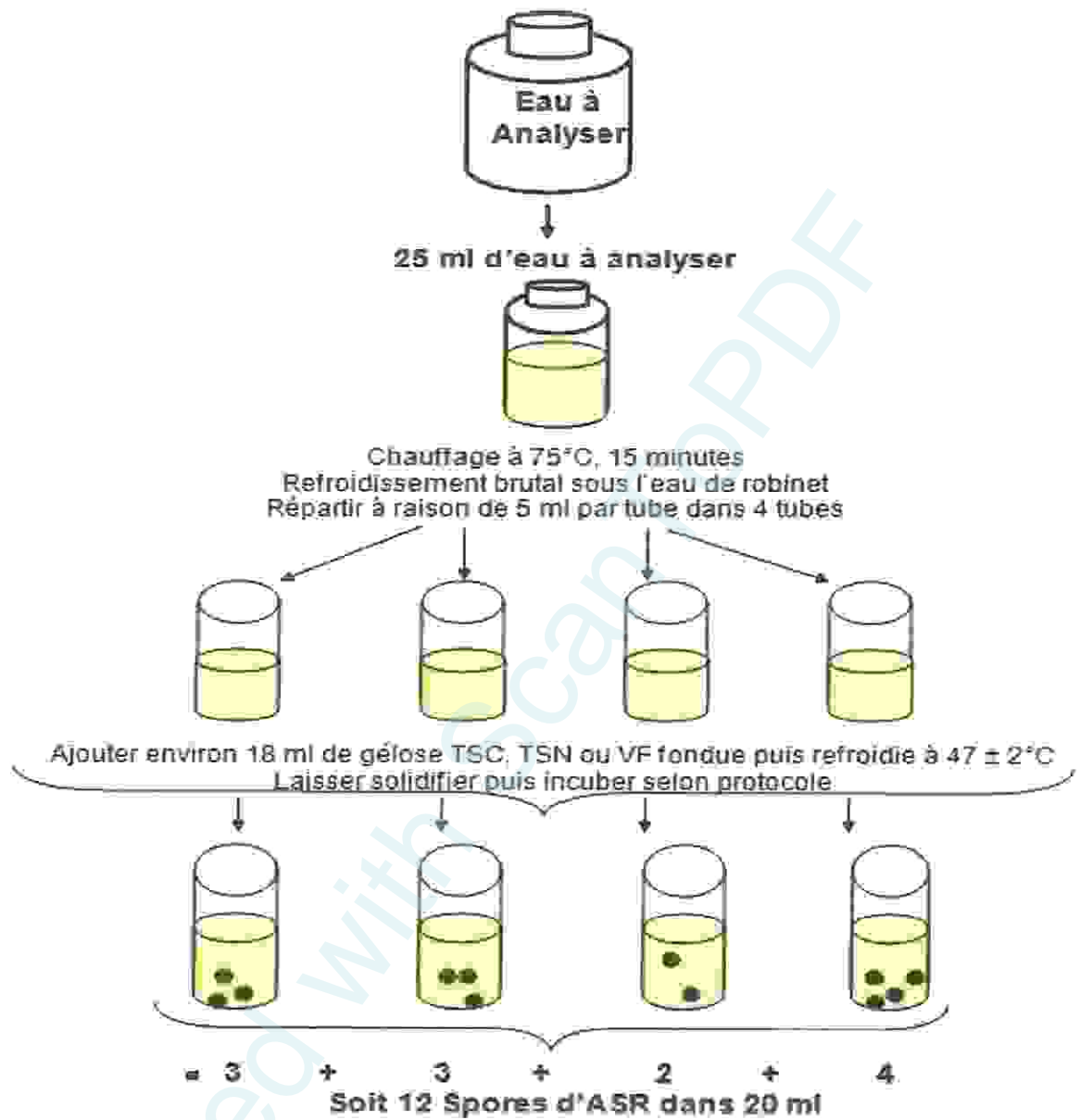


Fig.11 : Recherche et dénombrement des clostridium sulfite-réducteurs.

4.5. Recherche des germes pathogènes :

Pour chercher et identifier les bactéries de la solution mère (l'échantillon) nous avons utilisé la même technique (technique par filtration sur membrane). Nous avons uniquement cherché les staphylocoques sur milieu Chapman.

❖ Recherche des staphylocoques à coagulase positive dans les eaux :

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

○ Milieu Chapman (dégradation de mannitol) :

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

Contient du NaCl à 7.5 % qui est inhibiteur pour la plupart des micro-organismes et favorise la croissance des staphylocoques.

✓ Résultat :

Les colonies mannitol «+» sont entourées d'une auréole jaune. Le milieu Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus* mais des tests de confirmation sont obligatoires. (Voir tests complémentaires pour la catalase et la staphylocoagulase (Fig.46 ; 47, annexe 4)).

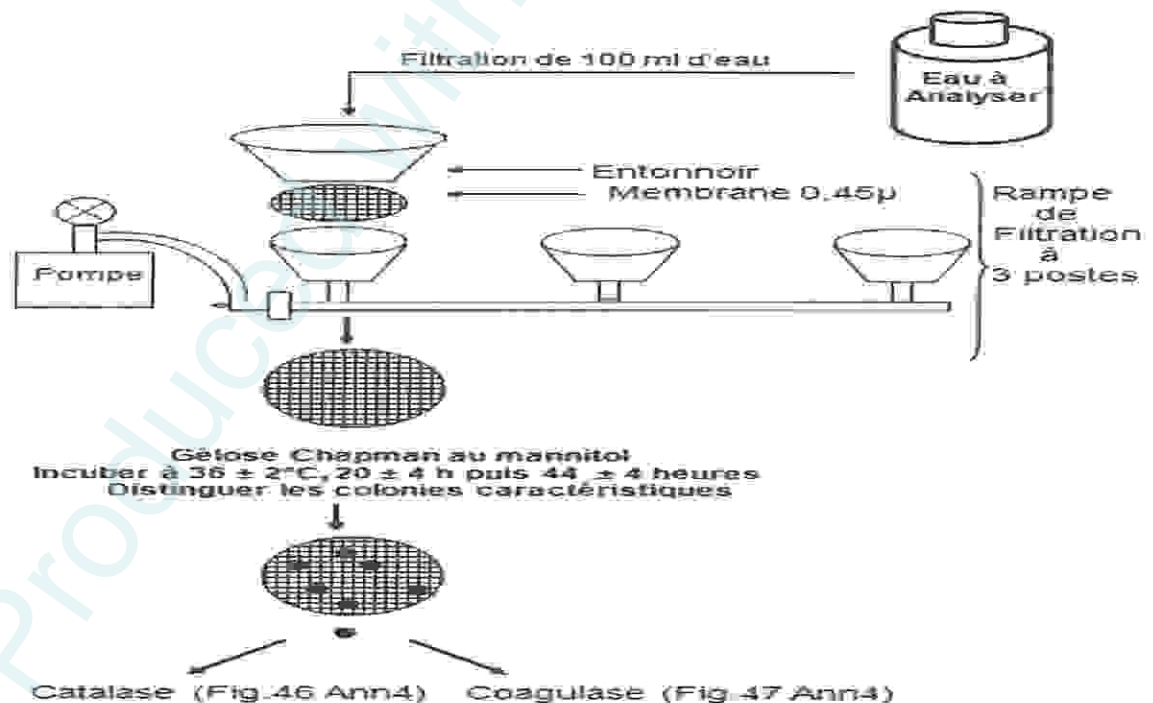


Fig.12 : Recherche et identification des Staphylocoques pathogènes.

5. Coloration de Gram :

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

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

- ✓ Verser sur le frottis fixé quelques gouttes de solution de violet de Gentiane.
- ✓ Laisser agir pendant 1 minute et laver avec de l'eau.
- ✓ Verser 1 à 2 gouttes de la solution de lugol. Laisser agir pendant 30 secondes.
- ✓ Laver avec de l'eau et sécher sur papier filtre.
- ✓ Verser l'alcool à 95% vol., laisser agir pendant 30 secondes. Rincer avec de l'eau et sécher sur papier filtre.
- ✓ Verser quelques gouttes de solution de fushine, laisser agir pendant 30 secondes.
- ✓ Laver avec de l'eau et sécher sur papier filtre.
- ✓ Déposer sur le frottis coloré une goutte d'huile d'immersion, observer au microscope avec l'objectif à immersion en champs clair.

6. Tests d'identifications biochimiques :

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

- Galerie classique avec un nombre limité de caractères ;
- Galeries API qui sont très performantes. (Voir annexe 4).

7. Tests d'identifications complémentaires : (Voir annexe 4).

Chapitre III

Produced with ScantOPDF

1. Les analyses Physico-chimiques

1.1. Le pH :

Pour ce paramètre, on n'a pas remarqué de grande variation entre les points de prélèvement; les valeurs enregistrées sont très proches pour les deux mois. La légère augmentation enregistrée pendant le mois d'Avril est due à l'augmentation du sel dans cette eau durant ce mois car il y a une évaporation importante sous l'effet de la chaleur et l'absence de pluies.

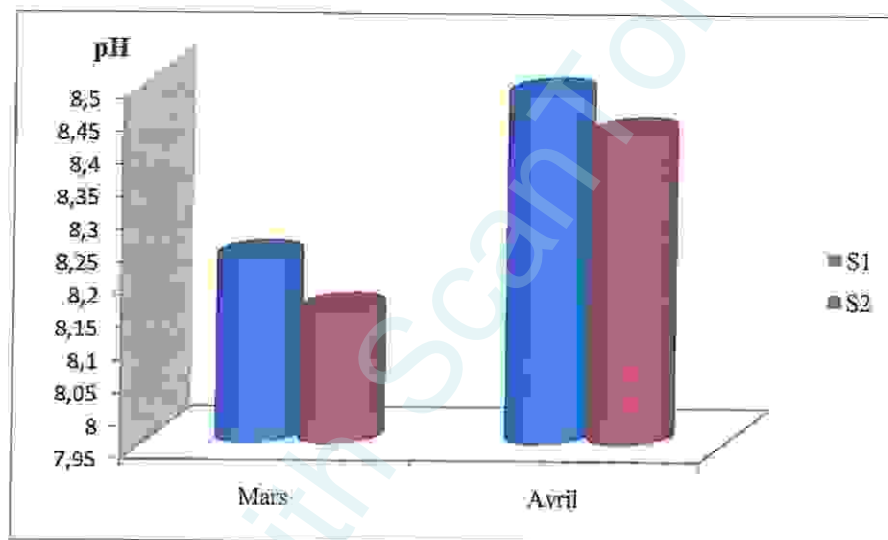


Fig.13. Variation du pH de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.2. La température :

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

Nous avons enregistré un minimum (16.6°C) au niveau de la station 2 et un maximum (17.6°C) au niveau de la station 1.

Ces valeurs se rapprochent de la température minimale de l'air ambiant elles sont considérées comme des températures normales pour la saison.

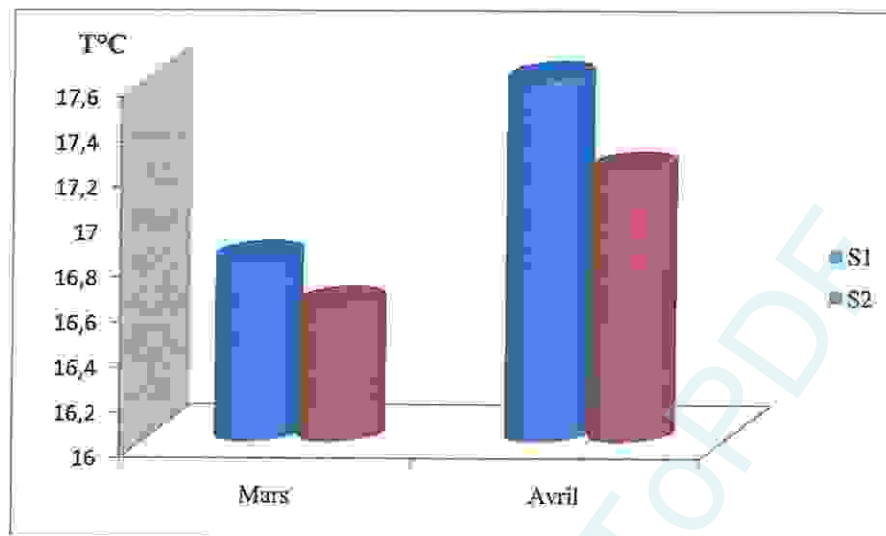


Fig.14 : Variation de la température pendant le mois de Mars et Avril.

1.3. La conductivité :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution.

La conductivité de l'eau de Garaet Annk Djemel durant le mois de Mars varie entre 6230 et 6290 $\mu\text{s}/\text{cm}$ respectivement dans les stations 2 et 1, alors qu'elle croit exponentiellement durant le mois d'Avril avec un maximum de 146500 $\mu\text{s}/\text{cm}$ dans la station 1, ce qui signifie que cette eau est fortement minéralisée. Cette augmentation est principalement due au dessèchement de la Garaet. Donc si nous nous référons au tableau des normes (norme ISO 13395) des critères basés sur la conductivité d'une bonne eau, nous dirons que cette eau est de mauvaise qualité.

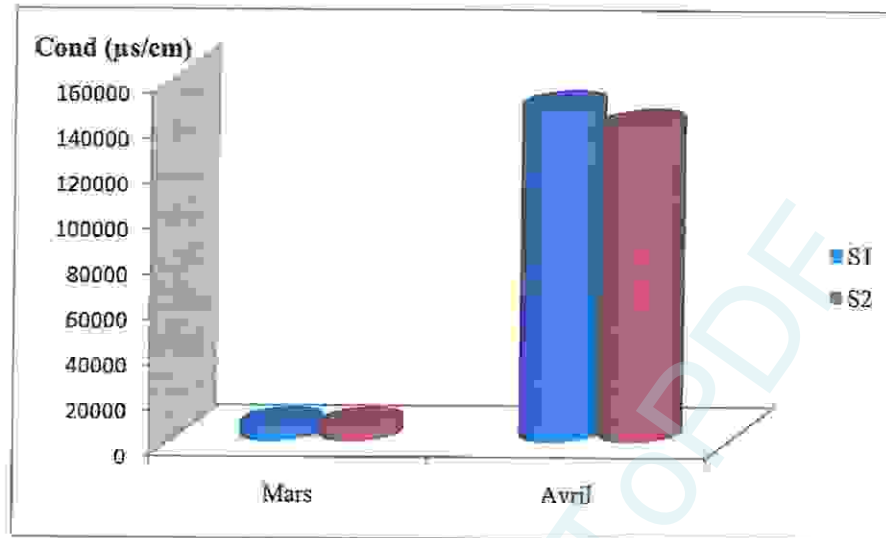


Fig.15.Variation de la conductivité de l'eau de Garaet Annk Djemel

1.4. Taux de sels dissouts(TDS) :

Les teneurs en sels dissous de l'eau peuvent être mesurées et exprimées de différentes manières selon la période de prélèvement.

Les résultats de la teneur en sels dissouts nous permettent de conclure que le taux des sels est beaucoup plus élevé au mois d'Avril avec un maximum de 73250mg/l dans la station 1 et un minimum de 2975mg/l dans la station 2 en mois de Mars. Cela est dû au fait qu'il n'y a pas assez de précipitations dans ce mois et aussi à cause de l'élévation de la température et l'augmentation de l'évaporation. La preuve est que la conductivité durant ce mois est plus élevée car il y'a une relation entre le taux de sels dissouts dans l'eau et la conductivité.

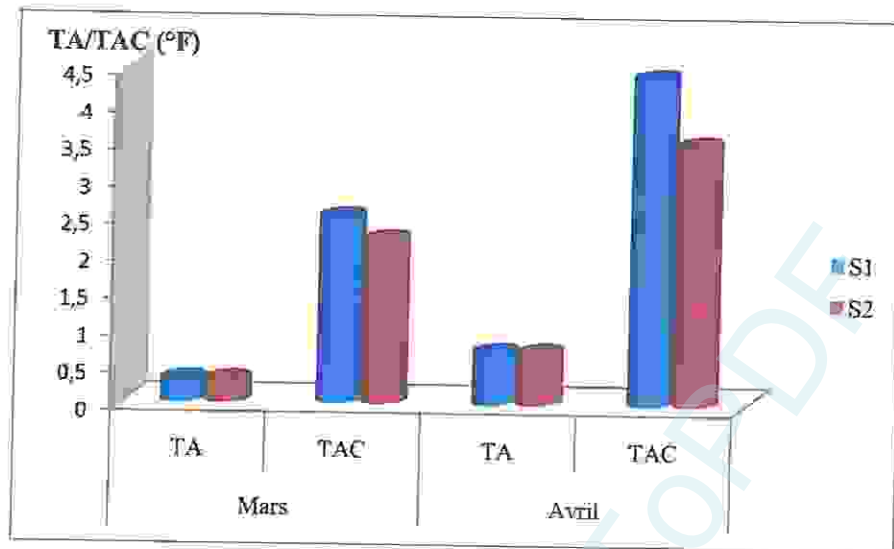


Fig.19. Le titre alcalimétrique simple et complexe de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.8. Les hydrogencarbonates (HCO_3^-) :

Les carbonates totaux dissous dans les eaux sont liés par des équilibres acide-base à l'acide carbonique.

Le graphique nous montre que la teneur en HCO_3^- a enregistré une augmentation, avec un minimum de 17.6 en Mars et un maximum de 53.68 mg/l en Avril.

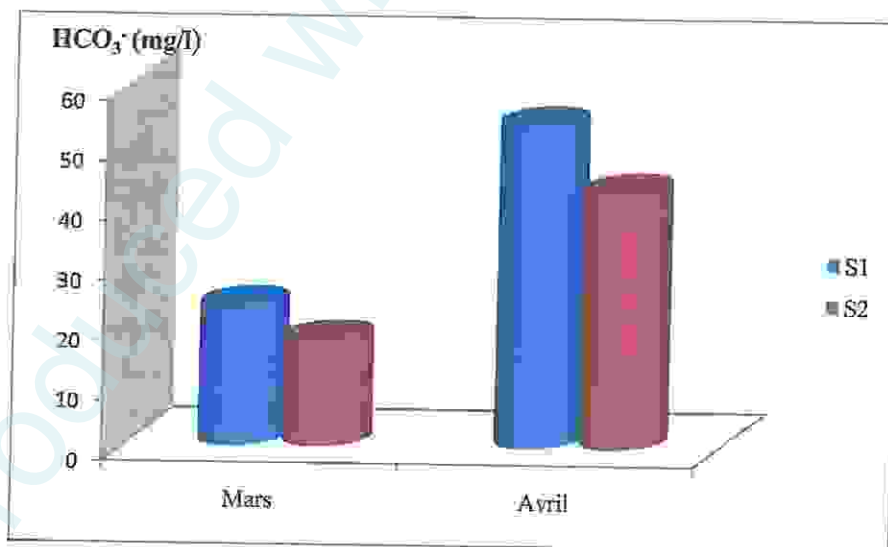


Fig.20. Variation des hydrogencarbonates de Garaet Annk Djemel.

1.9. L'oxygène dissout :

La solubilité de l'oxygène dans l'eau est en fonction de la température et de la minéralisation de l'eau: la saturation en O_2 diminue lorsque la température augmente. Et cela se traduit dans les résultats trouvés.

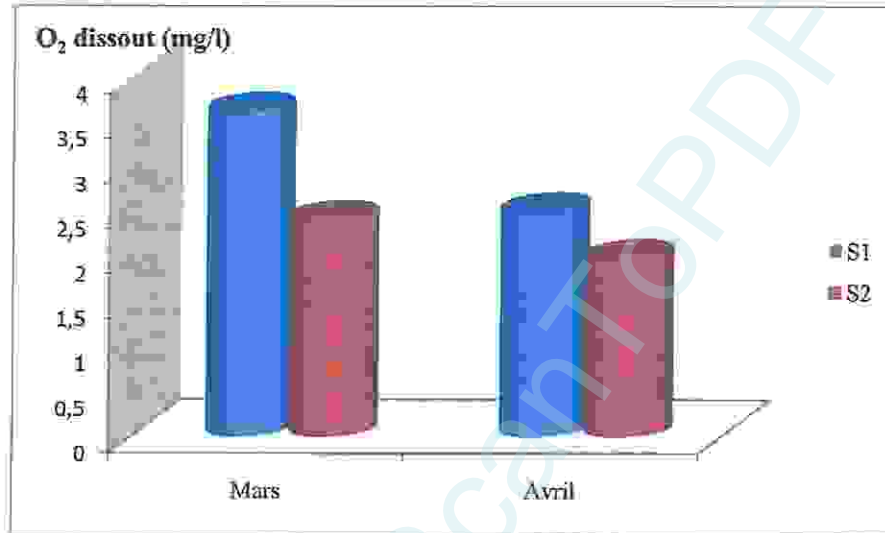


Fig.21. Variation du taux d'oxygène dissout de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.10. Les ions calciums :

L'eau de la Garaet Annk Djemel présente une valeur maximale de calcium égale à 1803.2 mg/l dans la station 2 en mois d'Avril et une valeur minimale égale à 1220 mg/l dans la station 1 durant le mois de Mars (Fig.22). Ceci peut être lié directement à la nature géologique des terrains traversés par l'eau.

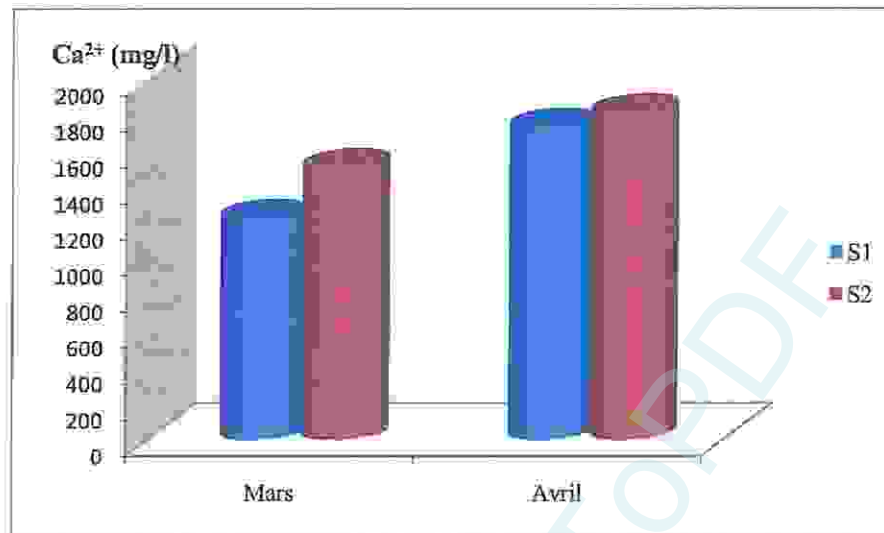


Fig.22. Variation de la teneur en calcium de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.11. Les ions magnésiums :

Les teneurs du magnésium (Fig.23) sont assez proches les unes des autres durant les deux mois. Les valeurs maximales enregistrées (3410,4 et 2798,88 mg/l) sont observées pendant le mois d'Avril.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau du Ministère des ressources en eau (voir l'annexe 3, Tab.15), cette eau est considérée comme excessivement polluée.

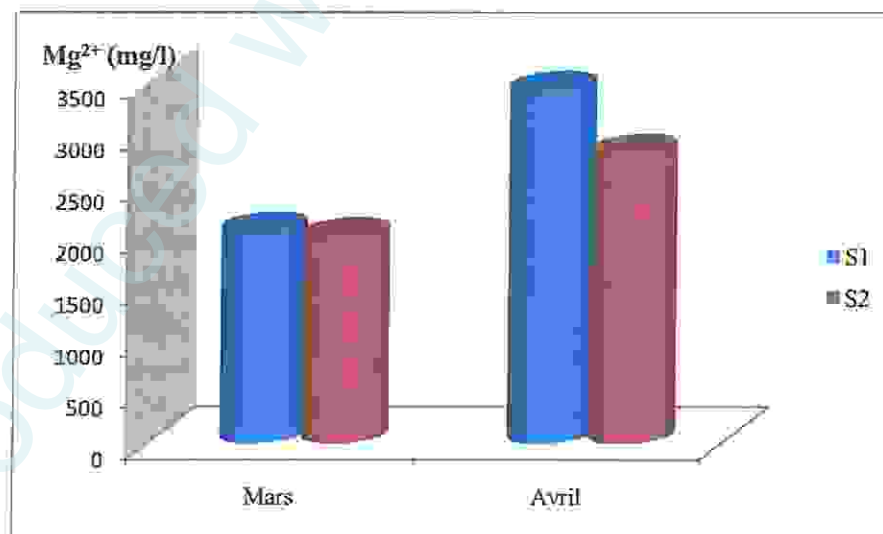


Fig.23. Variation de taux de magnésium de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.12. Le chlorure :

Les ions de chlorures proviennent des lentilles argileuses présentes dans les alluvions.

Les teneurs calculées dans les deux stations sont identiques respectivement durant les deux mois de 68840 jusqu'à 78384 mg/l, (Fig.24) : cette différence est due à l'augmentation minérale de cette eau durant le mois d'Avril. Selon la norme (ISO, 13395), ces valeurs excessives dépassent les normes de potabilité d'une eau « 250 mg/l ».

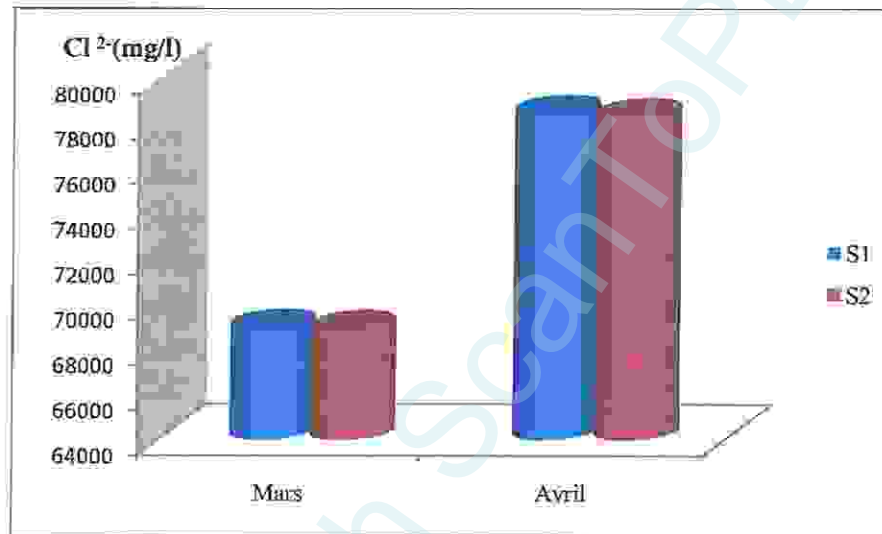


Fig.24. Variation de la teneur en chlorure de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.13. Les matières en suspensions (MES) :

Le taux de matières en suspensions enregistré est beaucoup plus élevé en mois d'Avril dans les deux stations avec un maximum de 11206 mg/l dans la station 1. Cela est dû à l'augmentation de sels dans cette eau.

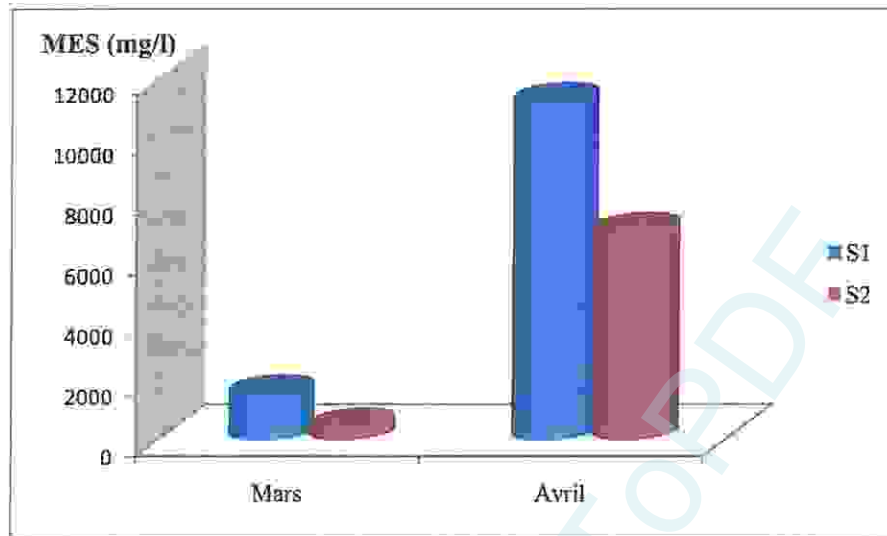


Fig.25. Variation de MES de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.14. Le résidu sec :

Les résultats obtenus montrent que les valeurs des résidus sec enregistrées dans la station 1 sont beaucoup plus élevées que celles obtenues dans la station 2 avec un maximum de 175451,5 mg/l (S1) et un minimum de 155340 mg/l (S2). Celles-ci s'expliquent par la présence d'une grande quantité de sels. La quantité de résidus secs dépasse la norme requise par l'OMS qui recommande une valeur limitée de moins 1000 mg/l.

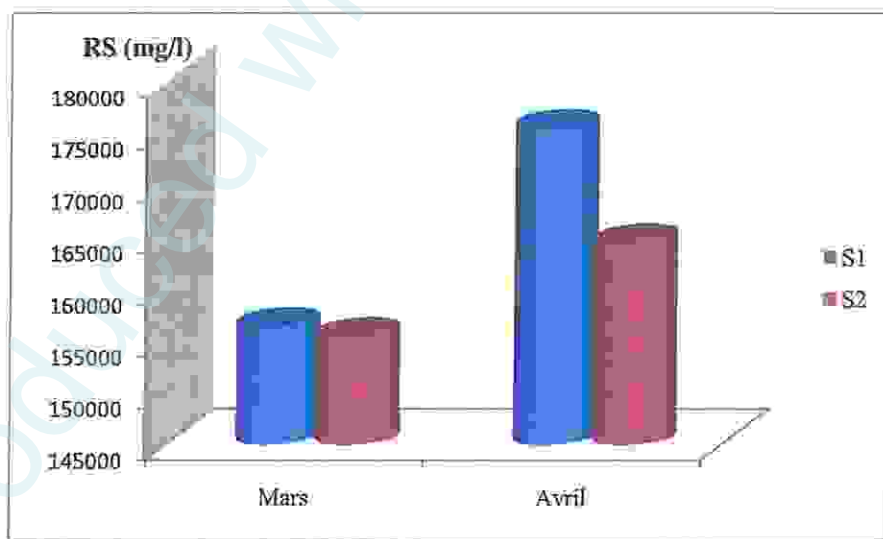


Fig.26. Variation de teneur en résidu sec (RS) de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.15. La matière organique (MO) :

La teneur en matière organique de cette eau est presque la même dans les deux stations. Cependant elle plus élevée pendant le mois d'Avril par le fait du dépôt de sédiment du à la rareté de pluies et de l'inhibition par le sel de certaines bactéries. Cette teneur en matière organique évoque une éventuelle pollution organique.

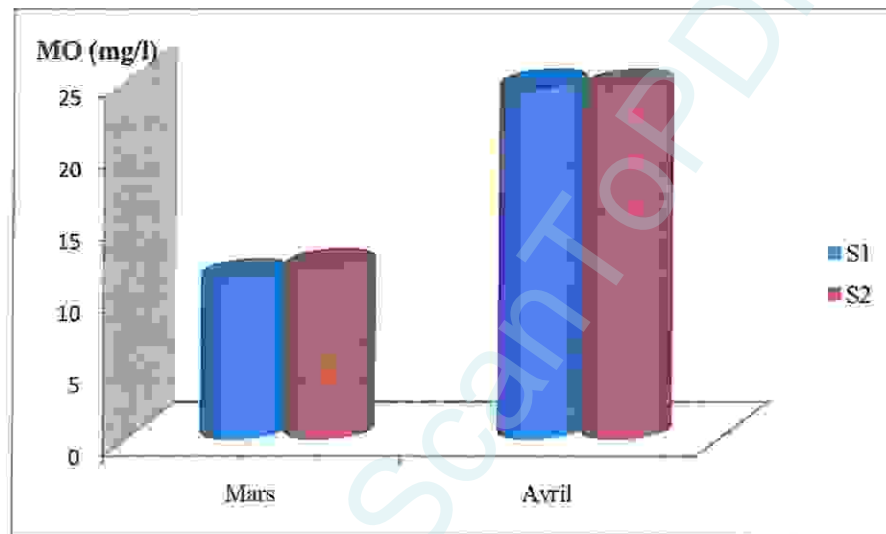


Fig.27. Variation de la teneur en matière organique de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.16. Les nitrate :

Les teneurs en nitrate dans la deuxième station sont légèrement élevées par rapport à la première (Fig.28). Selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux (voir l'annexe 3, Tab. 16.), les eaux de Garaet Annk Djemel sont de bonne qualité.

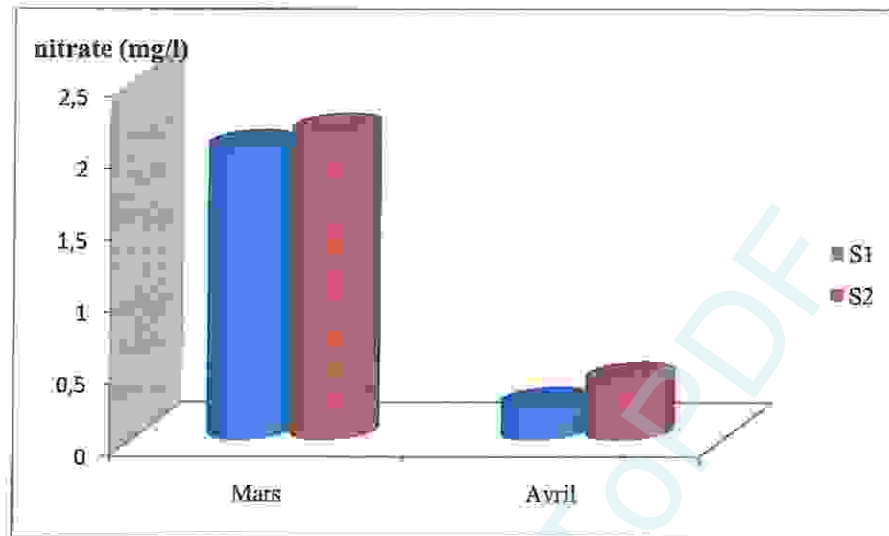


Fig.28. Variation de teneur en nitrate de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.17. Les nitrites :

L'histogramme ci-dessus nous montre que les teneurs en nitrites enregistrées dans les deux stations ne dépassent pas les normes requises par l'OMS (voir l'annexe 3, Tab.17.). Le maximum enregistré est de 0.12 mg/l au niveau de la station 2.

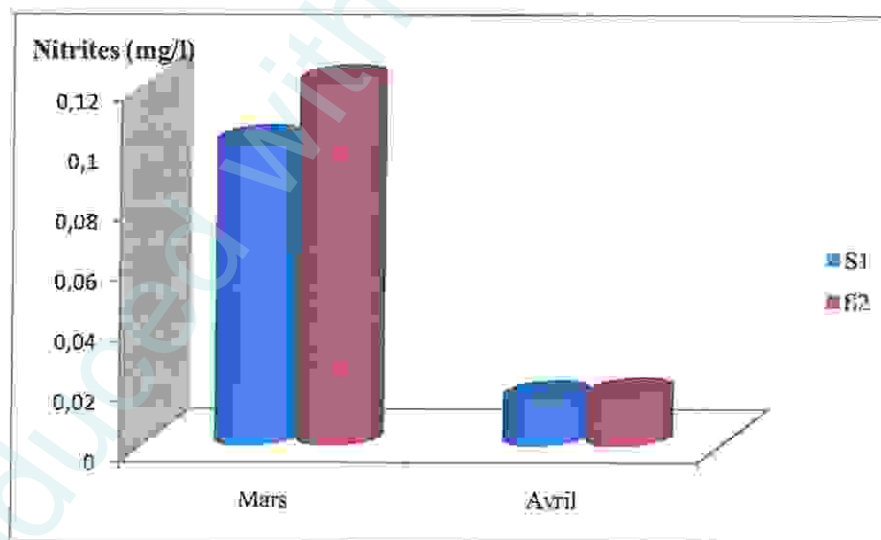


Fig.29. Variation de teneur en nitrite de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.18. L'ammonium :

La teneur en ammonium dans la deuxième station est élevée par rapport à la première (Fig.30), à cause de la teneur en nitrites et en nitrates, ces derniers sont utilisés et transformés

en ammoniums par les bactéries nitrifiantes (pollution bactériologique), donc nous supposons que l'ammonium est oxydé par ces derniers.

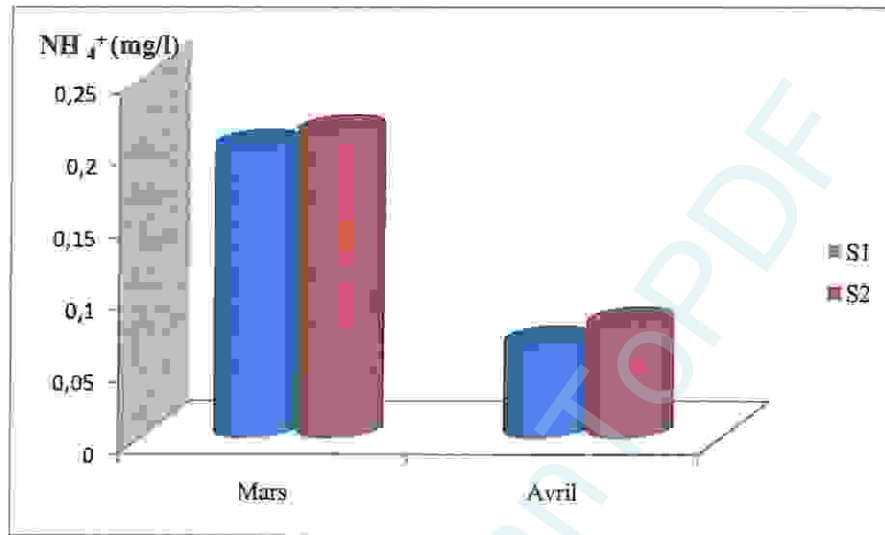


Fig.30. Variation de teneur en ammonium de l'eau de Garaet Annk Djemel.

1.19. Le sulfate :

La teneur de cette eau en sulfate est pratiquement élevée pendant le mois d'Avril avec un maximum de 2451,2 mg/l enregistré dans la deuxième station. Cela est dû à l'augmentation de la salinité de cette eau car nous n'avons pas pu mesurer sa salinité (salinité dépassant le calibrage de l'appareil utilisé).

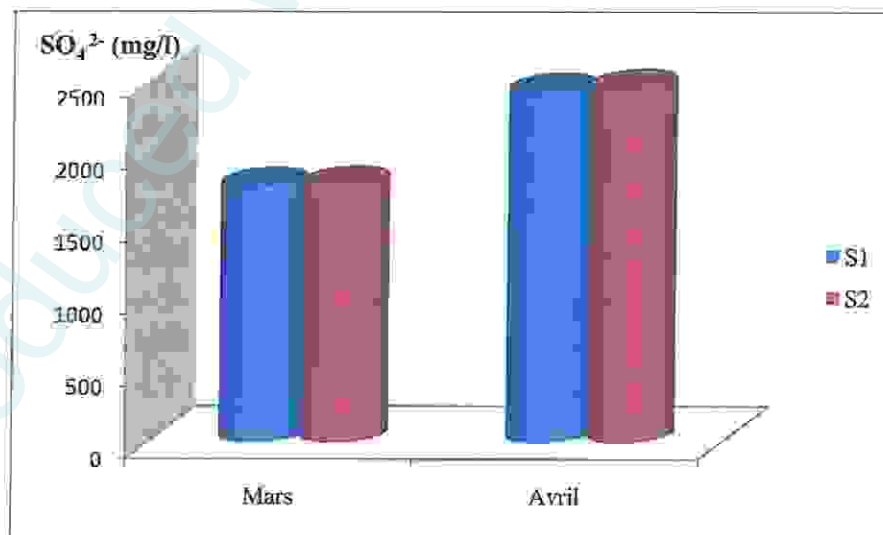


Fig.31. Variation de la teneur en sulfate de l'eau de Garaet Annk Djemel.

2. Qualité bactériologique de l'eau de Garaet Annk Djemel :

2.1. Germes totaux :

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.

Nos résultats montrent que le nombre des germes totaux incubés à 22°C durant les deux mois est plus élevé que ceux supportant une température de 37°C dans les deux parties de la Garaet, avec un taux maximum de 1000 germes totaux/ml enregistré durant le mois d'Avril. Ce ci s'explique par le fait ces sont beaucoup plus favorisés que les autres (37°C). Donc on peut dire qu'il ya moins de germes susceptible de contaminer l'être humain.

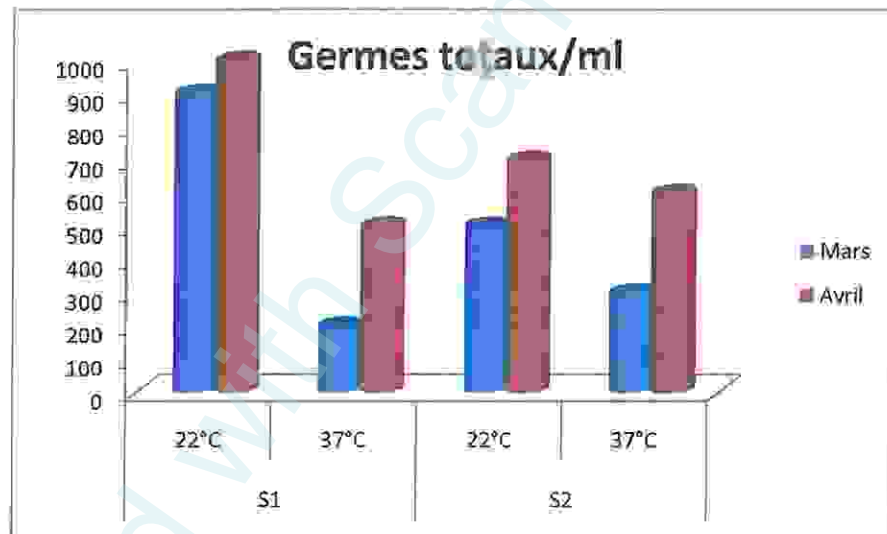


Fig.32. Recherches et dénombrement micro-organismes revivifiables de l'eau de Garaet Annk Djemel.

2.2. Coliformes totaux :

Le dénombrement des coliformes totaux, dans les deux stations, a montré une différence significative entre la station 1 et 2 par un maximum enregistré dans la station 2 avec 300 UFC/ 100 ml en mois de Mars et l'absence totale de ces coliformes dans la station 1. C'est la source de contamination fécale qui peut être récente et que la station 2 est très proche de la zone de pâturage, à cause de sa facilité d'accès et de sa flore importante par rapport à S1.

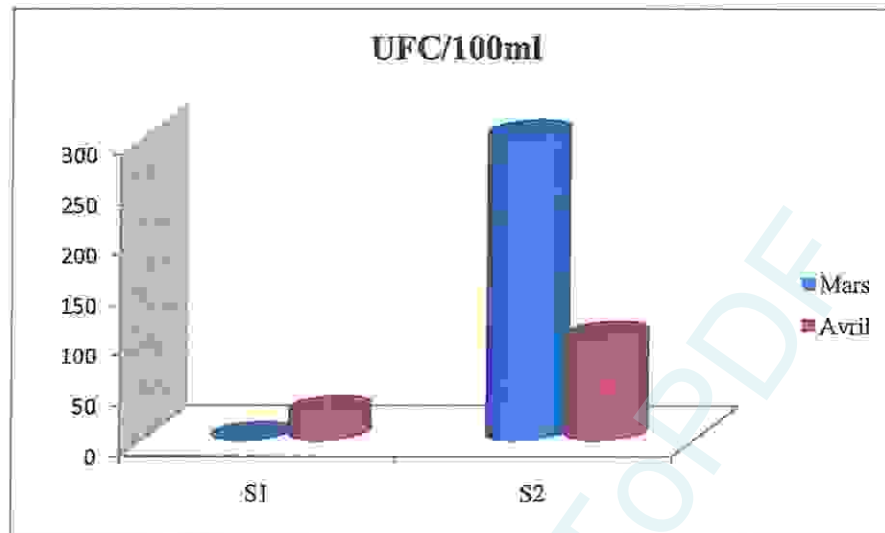


Fig.33. Evaluation de coliformes totaux de Garaet Annk Djemel.

2.3. Coliformes thermotolérants :

Il n'y a pas de coliformes thermotolérants dans l'eau de la Garaet Annk Djemel durant ces deux mois dans les deux stations (1 et 2) ; cela veut dire qu'il n'y a pas de contamination d'origine fécale cette eau.

2.4. Streptocoques fécaux :

Le nombre de streptocoques fécaux est directement lié à la quantité de matière fécale animale se trouvant dans l'eau.

Il n'y a pas non plus de streptocoques fécaux dans cette Garaet durant ces deux mois. Ce qui veut dire que cette eau n'a pas eu de contamination fécale récente

2.5. Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) :

Les spores des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) constituent généralement des indices de contamination ancienne.

D'après nos résultats cette Garaet ne contient pas des anaérobies sulfito-réducteurs, cela veut en réalité dire que l'eau de cette Garaet n'a pas connu une contamination ancienne.

Tableau.4. : recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

| Période | Station 1 | Station 2 |
|---------|-----------|-----------|
| Mars | Négatif | Négatif |
| Avril | Négatif | Négatif |

2.6. Recherche des germes pathogènes :

Les résultats des aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées et leur identification biochimique, sont résumés dans les tableaux et figures ci-dessous.

2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Tableau.5. Aspects macroscopiques et microscopiques des bactéries dans l'eau de Garaet Annk Djemel.



| Cultures | Observation macroscopique des colonies | Observation microscopiques |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <p>Gélose nutritive</p>  | <p>Circulaire, lisse, plate, transparente ou blanche</p> | <p>- Bacilles isolés, Gram négatif.</p> |
| <p>Milieu Chapman</p>  | <p>Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche ou jaune.</p> | <p>- Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p> |



Fig.34. Aspect microscopique des bactéries : A : cocci Gram positif ; B Bacilles Gram négatif.

2.6.2. Profil biochimique de Staphylococcus :

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

Tableau.6. Identification de Staphylococcus :

| type de recherche | Catalase | Mannitol | Coagulase |
|-------------------|----------|----------|-----------|
| Station 1 | Positive | Positif | Positive |
| Station 2 | Positive | Positif | Positive |

D'après les résultats, la coagulase est positive pour les deux échantillons cela se traduit par la présence de l'espèce *Staphylococcus aureus* dans cette Garaet.

2.6.3. Identification biochimique des entérobactéries :

Tableau. 7. Résultats de la galerie biochimique classique :

| Gélose | Espèces bactériennes isolées |
|------------------|-------------------------------|
| Gélose nutritive | <i>Mannheimia haemolytica</i> |

Tableau.8. Résultats de la galerie biochimique classique et tests complémentaires.

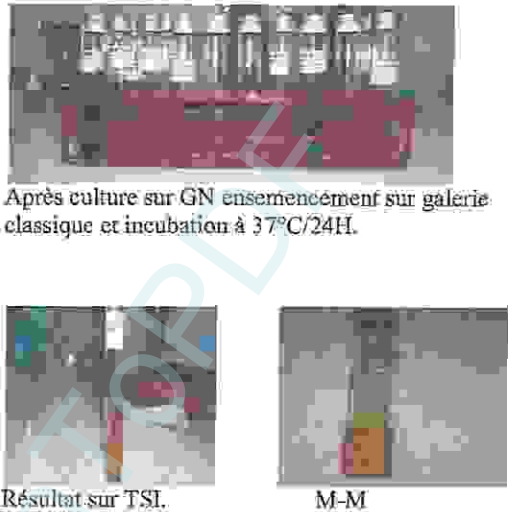
| | | |
|------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ONPG | Négatif |  <p>Après culture sur GN ensemencement sur galerie classique et incubation à 37°C/24H.</p> <p>Résultat sur TSI. M-M</p> |
| Oxydase | Négatif | |
| M-M | Positif | |
| citrate | Négatif | |
| Glucose | Positif | |
| saccharose | Négatif | |
| Gaz | Négatif | |
| H ₂ S | Négatif | |
| N-R | Positif | |
| VP | Positif | |
| Indole | Négatif | |
| Uréase | Négatif | |
| TDA | Négatif | |

Tableau.9. Résultats d'identification des germes par APiZOE :

| Stations | Milieu | Nom des bactéries |
|-----------|------------------|------------------------------|
| Station 1 | Gélose nutritive | <i>Mannheimia hemolytica</i> |
| Station 2 | Gélose nutritive | <i>Mannheimia hemolytica</i> |

Mannheimia hemolytica est une bactérie commensale de la cavité orale et du tube digestif des animaux. Généralement elle se trouve dans le milieu extérieur sauf lorsque cela est contaminé par un animal extérieur (les ruminants) car c'est une zone de pâturage.

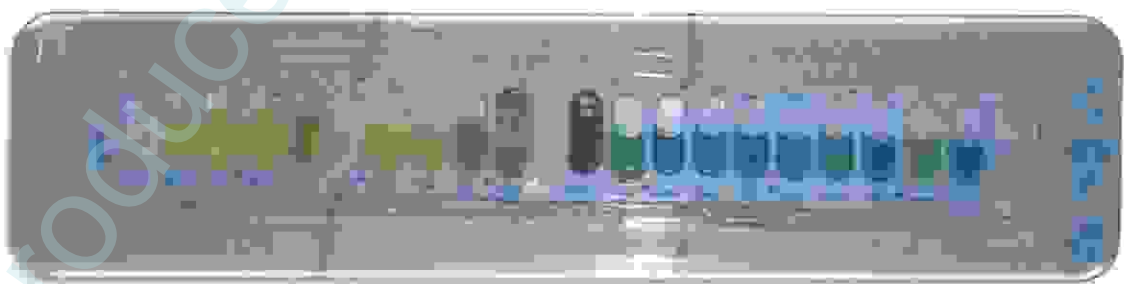


Fig.35. profil biochimique de *Mannheimia hemolytica*.

Conclusion

Produced with ScantOPDF

Les écosystèmes aquatiques Algérien ont un fonctionnement hydrologique tributaire des conditions climatiques permettant durant certaines périodes de l'année (périodes des hautes températures, principalement en été) l'installation et la prolifération de microorganismes pathogènes ou non pathogènes.

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

Les analyses physico-chimiques ont montré durant la période de notre étude, que l'eau de Garaet la Ank Djemel, dans les deux stations est fortement minéralisée du fait d'une part de la nature géologique du terrain et d'autre part du régime hydrographique, ou en effet les épisodes de la sécheresse enregistrés dans cette région augmentent les dépôts minéraux et ainsi les fortes valeurs enregistrées.

L'étude bactériologique réalisée (recherche de germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et les germes sulfito-réducteurs), nous a permis d'évaluer un degré de contamination moins élevé .

Aussi nous avons découvert la présence de certaines bactéries qui peuvent dans certaines conditions être pathogènes, telles que (*Staphylococcus aureus*, *Mannheimia heomolytica*), capables de causer des maladies graves.

- Ces écosystèmes très fragiles méritent plus d'attention et nous recommandons :
- Un suivi régulier de l'évolution des paramètres physico-chimique et bactériologique de ces sites, ce qui permettrait de mieux comprendre le fonctionnement de ces écosystèmes et aussi de prévenir toute forme de dégradation.

Références bibliographiques

Produced With ScantOPDF

BIBLIOGRAPHIE

Les livres :

DELLARRAS C avec la participation de **TREBAOL.**, (2003). *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation-Prélèvements-Analyses*. Tec et Doc.249p.

FUSTEC E et **LEFEUVRE J.C.**, (2000). *Fonction et valeur des zones humides*. Dunod Paris. 426p.

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

MARK Niemeyer et col., (2000). *L'eau source de vie*, édition : Gründ.191p.

PECHERE J-C et col., (1982). *Les infections*. Edisem inc. 497p.

PERRY J., STALEY J., STEPHEN L., (2004). *Microbiologie*. DUNOD.856p.

RODIER J et col., (2005). *L'analyse de l'eau*. 9^{ème} Entièrement mise à jour. Édition Dunod. 1579P.

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

Les mémoires :

ADJEL M. et **MOUICI S.**, (2004). *Cartographie de la végétation et éco éthologie de Tadorne de belon (Tadorna tadorna) dans la sebkha de Djendli*. Mémoire d'Ingénieur en Ecologie et Environnement, Université de Batna, 37p.

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

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

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

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

BENAZZOUZ M-T. (1986). *Recherche géomorphologique dans les hautes plaines de l'est Algérien la Sebkhia Tarf (Algérie).* Mémoire de doctorat 3ème cycle en géomorphologie. Université Paris I. la Sorbonne. 262p.

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

BOUCHEKER A., (2005). *Ecologie de la reproduction de l'avocette élégante *Recurvirostra avosita* dans les hautes plaines Constantinois.* Mémoire de magistère. Centre universitaire d'Oum et Bouaghi. 50p.

BOUKERTOUTA S., SELLAOUI C., TAHRAOUI C., (2009). *Contribution à l'étude des paramètres physicochimiques et l'identification fongiques à partir des eaux du lac Oubeira.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai 1945 Guelma. 36p.

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

MAAZI M-C. (2009). *Eco éthologie des anatidés hivernant dans la Garaet de Timergantine (Ain Zitoun-Oum el Bouaghi).* Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 159 p.

MERZOUG S., (2009). *Comportement diurne du Canard chipeau Anas strepera et de la Foulque macroule Fulica atra hivernant à Garaet Hadj Taher (wilaya de Skikda).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 85p.

NEDJAH R., (2005). *Ecologie de la reproduction de l'Echasse blanche Himantopus himantopus dans les hautes plaines Constantinois.* Mémoire de magistère. C.U. de Oum El Bouaghi. 50p.

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

SAHEB M. (2003). *Cartographie de la végétation des Sebkhass de Guellif (Oum el Bouaghi) et écologie de l'avifaune aquatique.* Mémoire de magistère. Centre Universitaire d'Oum el Bouaghi. 86p.

SALIHA et al., (2011). *Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de la tourbière du lac Noir (Nord-est algérien).* Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 63p.

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

SEDDIK Sihem (2011). *Inventaire et écologie des peuplements de Larv limicoles et d'Echassiers dans les zones humides des hautes plaines de l'Est algérien.* Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar d'Annaba. 73p.

Les articles :

BAGNOULS A. et GAUSSEN H. (1957). *Les climats biologiques et leurs classifications.* Ann. Géogr. Fr. 355: 193-220.

BOUMEZBEUR A et al., (2004). *Atlas des zones humides Algérienne d'importance internationale.* Direction générale des forêts. DGF, Editions IV. 40 p.

Institut Pasteur, (2006). *Identification biochimique des micro-organismes.* Institut Pasteur d'Algérie. 35p.

LEBRES, AZIZI D., BOUDJELLAB B., (2008). *Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux.* Institut Pasteur d'Algérie. 60p:

MOUSSA Houhamdi, et al., (2008). *Hivernage des Grues cendrées (Grus grus) dans le complexe de zones humides des hautes plaines de l'est de l'Algérie,* Aves 45/2 2008, 103p.

MOUSSA Houhamdi, MAAZI M-C., et al., (2009). *Statut et écologie de l'Erismarure à tête blanche (Oxyura leucocephala) dans les hautes plateaux de l'est de l'Algérie.* Aves 46-1:129- 148.

SEDDIK S., et al., (in press). *L'avifaune aquatique de la Garaet de Timerganine (Hauts Plateaux de l'est algérien).* Bulletin African Bird Club.

THOMAS G. (1976). *Habitat usage of wintering duckes at de Ouse Washes England.* Wildfowl 27: 148-152.

Webographie

1. **Asal,** (page consultée le 15 Mars 2012 à 12:43).Le cirque de Ain Ourka. [en ligne]. [http://www.asal.dz.org/files/atlas/Zones%20humides\].pdf](http://www.asal.dz.org/files/atlas/Zones%20humides].pdf).

Produced with ScanTopdf

Annexes

Produced with ScantOPDF

Les milieux de culture en boîtes que nous avons utilisés :

- Milieu de Chapman :

Le milieu de Chapman mannité est un milieu électif pour la culture des staphylocoques mais, exceptionnellement, d'autres germes peuvent y végéter ; la mise en évidence du staphylocoque devra toujours être confirmée par un examen microscopique.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

| | |
|--------------------------------|-------|
| Peptone bactériologique..... | 10 |
| Extrait de viande de bœuf..... | 1 |
| Chlorure de sodium..... | 75 |
| Mannitol..... | 10 |
| Gouge de phénol..... | 0,025 |
| Agar..... | 15 |
| pH : 7,5 (environ) | |

œ Préparation :

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

- Gélose nutritive :

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

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

| | |
|-------------------------|----|
| Peptone..... | 5 |
| Extrait de viande..... | 1 |
| Extrait de levure..... | 2 |
| Chlorure de sodium..... | 5 |
| Agar..... | 15 |
| pH : 7,4 (environ) | |

œ Préparation :

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

-Milieu de Slanetz et Bartley :

Ce milieu sélectif est utilisé depuis longtemps pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux (groupe D) dans les eaux par la technique de filtration sur membrane. Il est maintenant précisé qu'il convient pour la détection et le dénombrement des entérocoques dans l'eau.

œ Composition chimique :

La formule du milieu déshydraté complet en g/l d'eau distillée est :

| | |
|-----------------------------------------------------|-------|
| Tryptone..... | 20 |
| Extrait de levure..... | 5 |
| Glucose..... | 2 |
| Mono hydrophosphate de potassium(K_2HPO_4)..... | 4 |
| Azide de sodium..... | 0.4 |
| Agar..... | 10 |
| Chlorure de triphényltétrazolium(TTC)..... | 50 mL |

pH final : 7.2

- Gélose lactosée au TTC et au tergitol :

Ce milieu sélectif est utilisé comme test présomptif, pour la recherche et le dénombrement des coliformes et des coliformes thermo tolérants (*E. coli*) dans les eaux, à l'aide de la technique de filtration sur membrane.

œ Composition chimique :

La formule du milieu de base en g/l d'eau distillée est :

| | |
|--------------------------|-------|
| Peptone..... | 10 |
| Extrait de levure..... | 6 |
| Extrait de viande..... | 5 |
| Lactose..... | 20 |
| Bleu de bromothymol..... | 0.05 |
| Agar..... | 12.75 |

pH final: 7.2

Les milieux de culture solides et liquides en tubes :

- Milieu Clark et Lubs

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

- Réaction de rouge de méthyle (RM) ;
- Réaction de Voges-Proskauer (VP).

Elles sont utilisées en particulier dans la différenciation des *Entérobactériaceae* (test IMVIC : indole, RM, VP, citrate de Simmons).

œ **Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :**

Peptone5

Phosphate bipotassique5

Glucose5

pH : 7,5 (environ)

œ **Préparation :**

Dissoudre 15g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Eau peptonée exemple d'indole :

L'eau peptonée est un milieu liquide qui permet la croissance des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

œ **Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :**

Peptone exemple d'indole10

Chlorure de sodium 5

pH final= 7,2

œ **Préparation :**

Mettre 15g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 7,2. Répartir puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- Milieu mannitol - mobilité - nitrate:

Le milieu mannitol - mobilité – nitrate est utilisé pour la différenciation rapide des Entérobactéries. Il permet de rechercher simultanément la mobilité, l'utilisation du mannitol et la réduction des nitrates en nitrites.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

| | |
|----------------------------|-----|
| Peptone | 20g |
| Nitrate de potassium | 2 |
| Mannitol | 2 |
| Rouge de phénol à 1% | 4 |
| Agar | 4 |

pH final : 8,1- 8,2

œ Préparation :

Mettre 28g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 8,1- 8,2. Répartir en tubes de façon à obtenir un culot de 6 à 7cm. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

-Milieu de Schubert avec cloche de Durham :

Ce bouillon modifié par Fennel est confirmatif de la recherche et du dénombrement des coliformes thermotolérants et d'*E.coli* présumés dans les eaux.

œ Composition chimique :

La formule de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

| | |
|---------------------------|-----|
| Tryptophane..... | 0.2 |
| Acide glutamique..... | 0.2 |
| Sulfate de magnésium..... | 0.7 |
| Citrate de sodium..... | 0.4 |
| Chlorure de sodium..... | 0.5 |
| Peptone..... | 2 |
| Mannitol..... | 10 |
| Phosphate disodique..... | 7.5 |

Phosphate monopotassique.....4

pH final 7.2

- Milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons):

Le milieu au citrate de sodium (milieu de Simmons) est un milieu solide utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Il permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée):

| | |
|----------------------------------------|------|
| Sulfate de magnésium | 0,2 |
| Citrate de sodium | 2 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Phosphate d'ammonium | 0,2 |
| Phosphate d'ammonium monosodique | 0,8 |
| Bleu de bromothymol | 0,08 |
| Agar | 15 |

pH : 7,0 (environ)

- Gélose T.S.I (gélose glucose-lactose- saccharose- H₂S)

La gélose T.S.I est un milieu d'indentification rapide pour les Entérobactéries. Ce milieu permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré.

œ Formule (en gramme par litre d'eau distillée) :

| | |
|-----------------------------|-----|
| Peptone | 20 |
| Extrait de viande | 3 |
| Extrait de levure | 3 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Citrate de ferrique | 0,3 |
| Thiosulfate de sodium | 0,3 |
| Lactose | 10 |
| Saccharose | 10 |

| | |
|-----------------------|-----|
| Glucose | 1 |
| Rouge de phénol | q.c |
| Agar | 12 |

Les réactifs utilisés :

- Réactif rouge de méthyle (RM) :

| | |
|------------------------|-------|
| Rouge de méthyle | 0,5g |
| Alcool à 60° | 100ml |

- Réactif de Voges Proskauer (VP) :

Pour la recherche de l'acétoïne :

VP1 :

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

VP2 :

| | |
|---------------------|-------|
| Alpha naphтол | 6g |
| Ethanol | 100ml |

- Réactif de Kowacks:

La mise en évidence de la production d'indole :

| | |
|-------------------------------------|------|
| Paradiméthylaminobenzaldéhyde | 5g |
| Alcoolamylique | 75g |
| HCl pur | 25ml |

- Réactif de TDA :

Pour la recherche du tryptophane désaminase

| | |
|----------------------|---------------------------------|
| Peptone de fer | 3,4g |
| Eau distillée | 100ml (institut Pasteur, 1978). |

Dosage des ions nitrites par la méthode spectrophotométrique (Rodier) :**> Principe:**

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

✓ Réactifs :**o Solution de nettoyage :**

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

o Solution du réactif :

20g de Sulfamide, (C₆H₈N₂O₂S) à dissoudre dans un mélange de 50ml d'acide phosphorique (d=1, 71g/ml=85% de masse) et 250 ml d'eau distillée.

Dans cette solution dissoudre 1g de : N -(1-naphtyl)-éthylènediamine--dichlorohydraté (C₁₂ H₁₆CL₂N₂)

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

o Solution d'acide phosphorique :

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

o Solution standard de 100mg/l :

Dissoudre 0,4 926g ± 0,0002 de Nitrites de Sodium (NaNO₂), sécher pendant 2 heures à

105 °C dans 750 ml d'eau distillée compléter à 1L.1 ml=100gr = 0.1mg de NO₂-N. Cette solution est stable pendant 1 mois à l'obscurité et à 4°C.

Détermination des sulfates (SO₄²⁻) [méthode Allemande : M.KERN] :

➤ **Principe :** Les ions sulfates sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum.

✓ **Réactifs :**

○ **Solution -mère de sulfates à 1 g/l à partir de Na₂SO₄**

-Peser 1,47 g de Na₂SO₄ 1 000 ml d'eau distillée.

2.2 Solution- stabilisante :

| | | |
|---------------------------|---------|-----------------------|
| -Acide chlorhydrique..... | 60 ml | } +100 ml de glycérol |
| -Ethanol..... | 200 ml | |
| -Chlorure de sodium..... | 150 ml | |
| -Eau distillée..... | 1000 ml | |

○ **Solution de chlorure de baryum**

-Chlorure de baryum..... 150 g
 -Acide chlorhydrique..... 5 ml
 -Eau distillée..... 1000 ml

✓ **Gamme d'étalonnage :**

-Prendre 8 béchers de 250 ml.
 -Laver très bien avec du savon et une layette.
 -Rincer abondamment avec l'eau de robinet.
 -Rincer avec une solution d'acide chlorhydrique.
 -Rincer avec l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée.

Remarque :

-Les échantillons troubles ou colorés doivent passer par un filtre de 0.45 µm.

-Les échantillons qui contiennent plus de 70 mg/l de SO_4^{2-} doivent être dilués avant détermination.

Enregistrer la gamme dans le spectrophotomètre à la longueur d'onde égal 420 nm.

✓ **Mode Opératoire :**

Prendre 20 ml d'eau à analyser puis compléter à 100 ml d'eau distillée.

Ajouter 5 ml de la solution stabilisante.

Ajouter 2 ml de chlorure de baryum.

Agiter énergiquement pendant 1 mn Passer au spectrophotomètre à la longueur d'onde 420 nm.

✓ **Expression des résultats :**

SO_4^{2-} (mg/l) = La valeur lue sur le spectrophomètre x la dilution.

Dosage de nitrates NO_3^- [Méthode au salicylate de sodium] :

➤ **Principe :**

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

✓ **Réactifs :**

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

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

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

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

○ **H_2SO_4 concentré.**

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

Hydroxyde de sodium NaOH400g.

Tartrate de sodium et de potassium60g

Eau distilléeqsp 1000 ml

Laisser refroidir avant de compléter à 1000 ml.

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

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

Nitrate de potassium anhydre0,722 g

Eau distillée1000 ml

Chloroforme1 ml

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

✓ **Appareillage.**

Spectrophotomètre U.V visible.

✓ **Mode opératoire**

Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser.

Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30 %

Ajouter 1 ml de salicylate de sodium.

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

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

Reprendre le résidu avec 2 ml de H₂SO₄, laisser reposer 10 min.

Ajouter 15 ml d'eau distillée.

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

✓ **Expression des résultats :**

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

Légende :

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

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

➤ Principe :

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

✓ Réactifs :

- eau exempte d'ammonium.

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

Cette solution est stable pendant 2 semaines.

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

✓ Mode opératoire :

- prendre 40 ml d'eau à analyser
- ajouter 4 ml du réactif I
- Ajouter 4 ml du réactif II et ajuster à 50 ml avec le H_2O distillée et attendre 1h.30

L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de NH_4^+

Effectuer la lecture à 655 nm.

○ Expression des résultats :

Le résultat est donné directement en mg/l.

Légende :

S : solution

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

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

✓ Mode opératoire :

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

✓ Expression des résultats :

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

P_p : Poids plein de la capsule

P_v : Poids vide de la capsule

Titre Alcalimétrique simple et complet (TA et TAC) [Mode opératoire (volumétrie)] :**➤ Principe :**

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

✓ Réactifs :

- Acide chlorhydrique ou sulfurique N/50 :
- Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0,5 % ;
- Solution de méthylorange à 0,5 % ;
- Eau permutée exempte d'anhydride carbonique libre (par ébullition de 15 min).

❖ T.A :

➤ Mode opératoire :

- 100 ml d'eau à analyser ;
- 02 à 03 gouttes de Phénolphtaléine.

Si une coloration rose apparaît titrer avec l' H_2SO_4 (N /50 jusqu'à la disparition de couleur) ;

Si la valeur n'apparaît pas TA = 0 (PH < 8,3 et TA = 0).

✓ Expression des résultats :

$$\text{TA}^{\circ\text{F}} = V_{\text{titre}}$$

❖ T.A.C :

➤ Mode opératoire :

- 100 ml d'eau à analyser ;
- 02 à 03 gouttes de méthylorange à 0,5 % ;
- Titrer par l' H_2SO_4 (N/50) jusqu'au virage rouge orangé.

✓ Expressions des résultats :

$$\text{TAC}^{\circ\text{F}} = V_{\text{titre}} - 0,5$$

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

➤ **Principe :**

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

✓ **Mode opératoire :**

- Membranes de filtration ;
- Mettez les membranes filtrantes dans une étuve à 105 °c pendant 20 minutes ;
- Laisser refroidir dans le dessiccateur ;
- Ensuite les peser soit P₁ : poids des membranes avant filtration ;
- Placer les membranes dans les rampes à filtration et faire passer 200ml d'eau à analyser à travers ;
- Rendre les membranes à l'étuve (à 105°C) afin de les sécher pendant 20 min ;
- Laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une 2^{ème} fois soit P₂ = Poids des membranes après filtration.

✓ **Matériel spécial :**

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

✓ **Expression des résultats :**

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

Dosage du Calcium (Ca⁺²) [Mode opératoire (volumétrie)] :❖ **Méthode par complexométrie :**➤ **Principe :**

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

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

✓ **Mode opératoire :**

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

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

✓ **Réactifs :**

-Indicateur coloré : Mur acide ;

-Solution d'EDTA (N/50) ;

-Solution d'hydroxyde de sodium à 2N.

✓ **Expression de résultats :**

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

Matière organique [Mode opératoire (voltmétrie)] :➤ **Principe**

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

✓ **Réactifs :**

- Solution d'acide sulfurique 50% ;

- Solution de permanganate de potassium N/80,

A préparer à partir d'une solution N/10 récemment titrée. Vérifier le titre de cette solution.

1ml de la solution N/80 correspond à 0,1 mg d'oxygène :

- Solution d'acide oxalique N/80. A préparer à partir d'une solution N/10 récemment titrée.

✓ **Mode opératoire :**

Introduire dans un erlenmeyer de 500ml, 100ml d'eau à analyser et 10ml d'acide sulfurique à 50%, ajouter 10ml de solution de permanganate de potassium N/80. Porter l'échantillon à l'ébullition ménagée pendant 10 min à partir du moment où les bulles en formation au fond du ballon viennent crever la surface du liquide. Ajouter ensuite 10ml d'acide oxalique N/80 pour décolorer.

Revenir immédiatement à la teinte rose faible mais persistante à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium N/80.

Faire un essai à blanc en opérant dans les mêmes conditions.

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

➤ **Principe**

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

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

✓ **Mode opératoire**

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

Soit V le volume de solution d'EDTA versé.

✓ Réactifs :

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

✓ Expression des résultats :

$$TH (°F) = V_{(ml)} \times 10$$

Expression des résultats : M.O (O₂/l) = (V_{échantillon} - V_{O blanc}).

Chlorure (Cl⁻) [Mode opératoire (volumétrie)] :

➤ Principe :

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

✓ Mode opératoire :

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

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

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

✓ Réactifs :

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

✓ Expression des résultats :

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

Dosage du magnésium (Mg^{2+}) [Mode opératoire (volumétrie)] :

➤ Mode opératoire :

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

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

✓ Réactifs :

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

✓ Expression des résultats :

$$[Mg^{2+}] \text{ mg/l} = (V_2 - V_1) \times F \times 4,8$$

$$F = 12,5 / V(\text{E.D.T.A})$$

V_2 : volume titré de calcium et de magnésium

V_1 : volume de calcium

○ Facteur :

- 50ml de solution mère de $CaCl_2$;
- 02 ml de NaOH (2N) ;
- Une pincée de murexide ;
- Titrer par EDTA (N/50) jusqu'au virage de la couleur violette.

Tab.10. Aspect des Entérobactéries courantes sur TSI. (in Lebrès et col 2006).

| | E.coli | Shigella | Salmonella | | | Citro bacter | Klebsiella | Serratia | Proteus | Providencia |
|------------------|--------|----------|------------|-------------------|---------------------|-----------------|------------|----------|---------|-------------|
| | | | S. typhi | S. paratyphi A | Autres sérotypes | | | | | |
| Pente | jaune | rouge | rouge | rouge | rouge | rouge | jaune | jaune | rouge | rouge |
| H ₂ S | - | - | +/ | - | +++ | +++ | - | - | +++ | - |
| Gas | + | - | - | + | + | + | ++ | - | + | + |

Tab.11. Tableau de lecture de l'API20E. (www.Api.20Ebiomerieux.com).

| micro tube | SUBSTRAT | REACTIONS/ENZY ME | RESULTATS | |
|------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------|-----------|-----------------|
| | | | NEGATIVE | POSITIVE |
| ONPG | ortho-nitro-phenyl- B-D- galactopyranoside | beta-galactosidase | incoloré | jaune |
| ADH | arginine | arginine dés hydrolase | jaune | rouge / orange |
| LDC | lysine | lysine décarboxylase | jaune | orange |
| ODC | ornithine | ornithine décarboxylases | jaune | rouge / orange |
| [CIT] | sodium citrate | Utilisation de citrate | vert | bleu-vert/ bleu |
| H ₂ S | Thiosulfate de sodium | production d'H ₂ S | incoloré | noir |
| URE | urée | uréase | jaune | rouge / orange |
| TDA | tryptophane | tryptophane désaminase | jaune | noir |
| IND | tryptophane | production d'indole | incoloré | rose |

| [VP] | Pyruvate de sodium | Production d'acétoïne | VP 1 + VP 2 / 10 (5) | |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|
| | | | incoloré rose/rouge | |
| [GEL] | Gélatine emprisonnant des particules de charbon | gélatinase | Pas de diffusion de pigment noir | diffusion de pigment noir |
| GLU | glucose | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune/ vert jaune |
| MAN | mannitol | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| INO | inositol | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| SOR | sorbitol | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | Jaune |
| RHA | rhamnose | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | Jaune |
| SAC | sucrose | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| MEL | melibiose | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| AMY | amygdalin | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| ARA | arabinose | fermentation/oxydation | bleu / bleu-vert | jaune |
| NO ₃ -NO ₂ | GLU tube | production de NO ₂ reduction N ₂ gas | NIT 1 + NIT 2 2-3 min jaune rouge | |

Tab. 12. Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température. (in Merzoug, 2009).

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

| | | |
|-------|----------|---|
| >30°C | Mauvaise | 4 |
|-------|----------|---|

Tab. 13 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique. (in Merzoug, 2009).

| Conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$) | Qualité des eaux | Classe |
|-----------------------------------------------------|------------------|--------|
| CE<400 | Bonne | 1A |
| 400<CE<750 | Bonne | 1B |
| 750<CE<1500 | Passable | 2 |
| 1500<CE<3000 | Médiocre | 3 |

Tab.14. Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit). (in Merzoug, 2009).

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

Tab.15. Qualité des eaux en fonction de la quantité de Magnésium. (in Merzoug, 2009).

| Magnésium mg/l | Qualité |
|----------------|-----------------------|
| <30 | Bonne |
| 50 | Acceptable |
| 400 | Médiocre |
| >400 | Excessivement polluée |

Tab.16. Grille de qualité des eaux en nitrates. (in Merzoug, 2009).

| Teneurs en nitrate (NO_3^-) mg/l | Qualité des eaux |
|---------------------------------------------|----------------------------------|
| <10 | Bonne |
| $10 < \text{NO}_3^- < 20$ | Moyenne avec signe de pollution |
| $20 < \text{NO}_3^- < 40$ | Polluée avec une pollution nette |
| >40 | La pollution est importante |

Tab.17. Grille de la qualité des eaux en nitrite. (in Merzoug, 2009).

| Teneurs en nitrites NO_2^- mg/l | Qualité des eaux | Classe |
|---------------------------------------------|------------------|--------|
| <0.1 | Excellente | 1A |
| $0.1 < \text{NO}_2^- < 0.3$ | Bonne | 1B |
| $0.3 < \text{NO}_2^- < 1$ | Passable | 2 |
| $1 < \text{NO}_2^- < 2$ | Médiocre | 3 |
| > 2 | Excessive | 4 |

Tab.18. Qualité des eaux en fonction de la dureté. (in Saliba et al, 2010).

| | |
|-------------|----------------------|
| 0 à 7° | eau très douce |
| 7 à 14° | eau douce |
| 14 à 20° | eau moyennement dure |
| 20 à 30° | eau assez dure |
| 30 à 50° | eau dure |
| 50° et plus | eau très dure |

Galeries biochimiques classiques :

La galerie est composée des milieux solides et liquides.

❖ **Les milieux solides :**

☞ **Utilisation de citrate :**

Pour ce test, nous utilisons le milieu citrate de Simmons, celui-ci contient qu'une seule source de carbone: le citrate. Seules les bactéries possédant une perméase sont capables de se développer sur ce milieu. Il contient également du phosphore mono-ammoniac servant à la fois source d'azote et de phosphore.

➤ **Technique :**

- La pente du milieu estensemencée à partir d'une suspension bactérienne en eau distillée.
- Incuber à 37°C pendant 24h.
- ✓ Bactéries citrate positive : culture avec alcalisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu) ;
- ✓ Bactéries citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée) (Fig.38).
- Faire un repiquage des bactéries en milieu liquide ou solide. Recueillir les bactéries des cultures jeunes du dépôt (après centrifugation de la culture liquide) ou directement du milieu solide avec une auge ou un fil et mélanger dans une goutte d'eau stérilisée.
- Faire un frottis sur une lame en étalant une goutte de la suspension microbienne.
- Laisser sécher le frottis.
- Ensuite, faire la fixation en passant rapidement la lame 3 fois à l'intérieur de la flamme d'un bec Bunsen ou par une technique équivalente.
- Après refroidissement, faire la coloration.

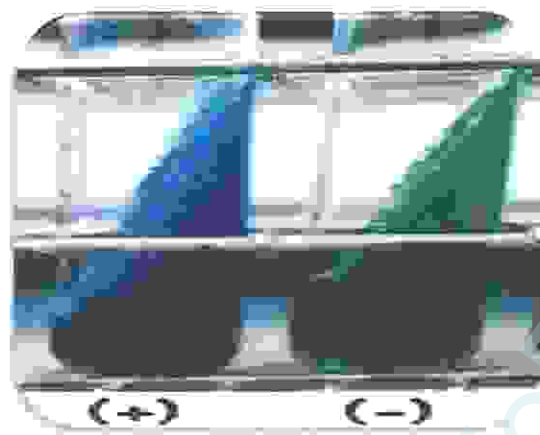


Fig.38 : Test de citrate.

Etude de la mobilité :

➤ Principe :

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

➤ Technique :

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

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

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

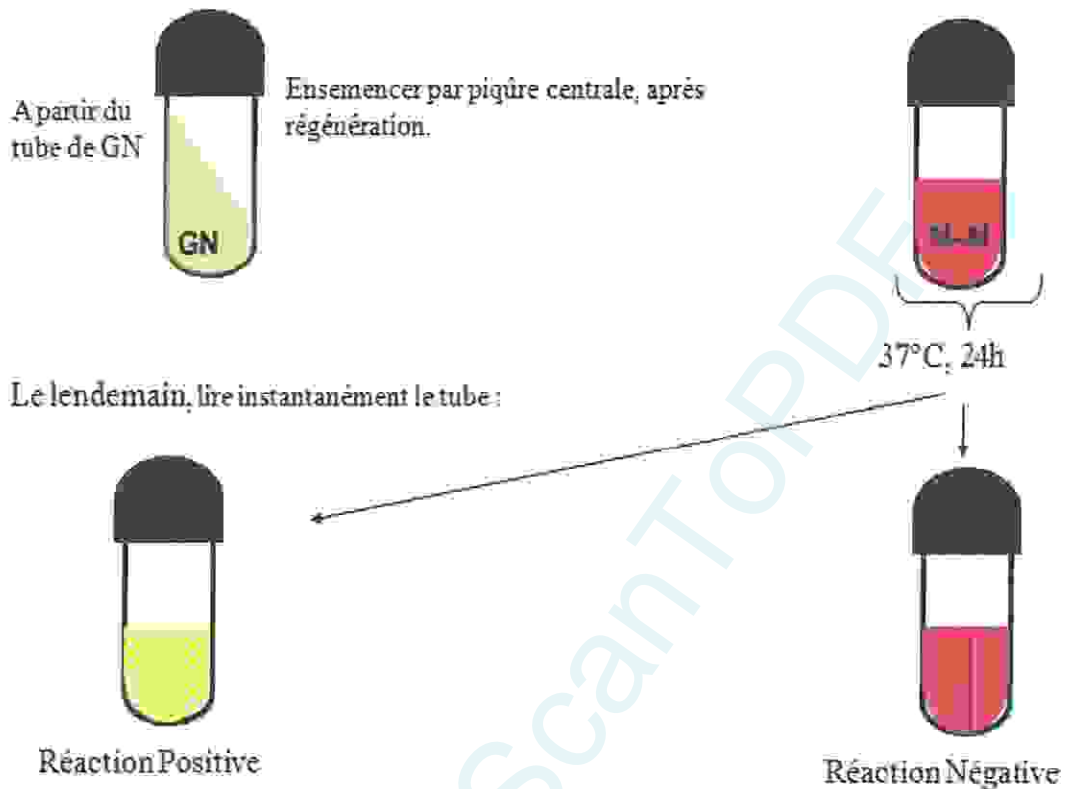


Fig.39. Etude de mobilité dans le milieu mannitol-mobilité.

Utilisation des hydrates de carbone :

> Principe :

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

> Technique :

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

La lecture est toujours effectuée entre 18 et 24h. Ce milieu fournit plusieurs indications :

- ✓ Changement de la couleur du milieu du rouge au jaune (la pente et le culot) donc fermentation du glucose, lactose et saccharose.
- ✓ Production de gaz : bulles dans la masse du milieu ou encore les parois ou poche gazeuse décollant le culot.

- ✓ Noircissement du milieu donc H₂S positif.

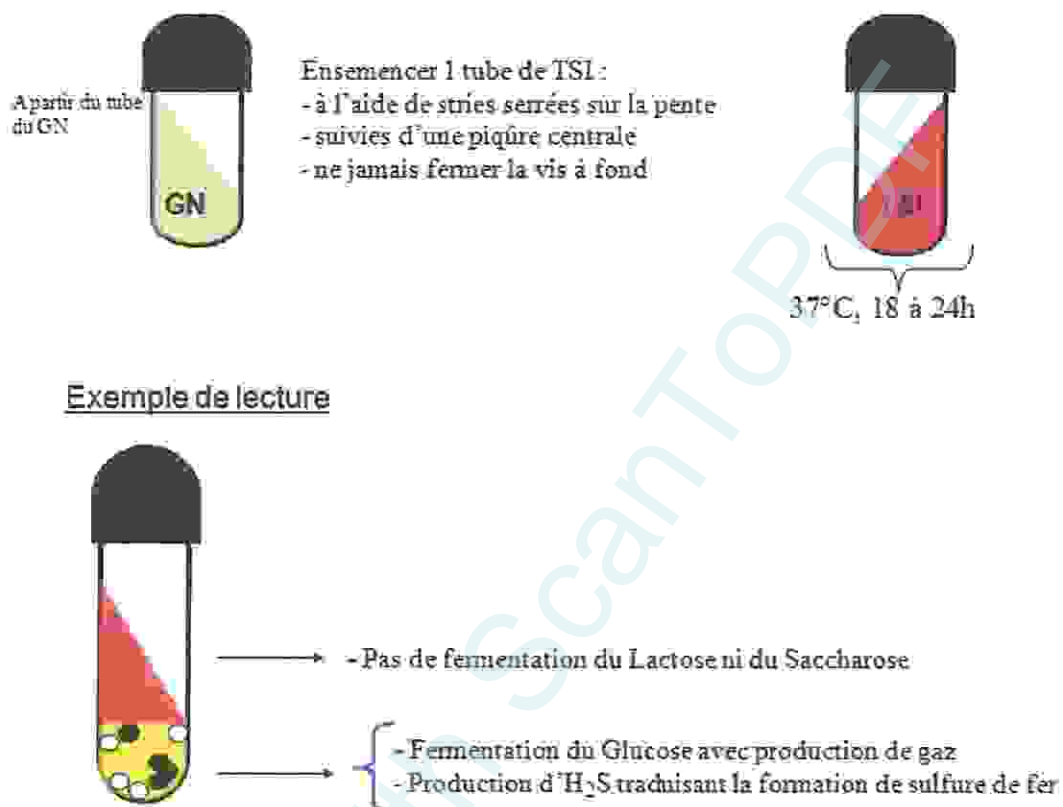


Fig.40. Ensemencement sur le milieu TSI.

❖ Les milieux liquides :

↳ Production d'indole :

Certaines bactéries transforment le tryptophane en indole.

➤ Principe:

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

➤ Technique :

Ensemencer un tube d'eau peptonée avec la bactérie à étudier. Après 24 heures de culture à 37°C. Ajouter quelques gouttes du réactif de kowacs ; l'apparition d'un anneau

rouge à la surface du milieu et le fait d'une réaction positif. Si l'anneau reste jaune-brun, la réaction est négative (Fig.41, 42).



Fig.41 : Réaction d'indole positive.



Fig.42 : Réaction d'indole négative.

☞ Test Urée :

➤ Principe :

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

➤ Technique :

Nous piquons une colonie isolée sur le milieu GN dans un tube Urée-indole.

Après incubation à 37°C pendant 24h, la réaction est positive s'il y a apparition de couleur rouge ou orangée.

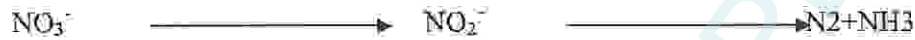
☞ Recherche de la nitrate-réductase :

Certaines bactéries peuvent utiliser les glucides en anaérobiose, en présence d'un accepteur d'hydrogène qui peut être l'ion NH_3^- . Elles possèdent alors l'enzyme NR. Les Nitrites sont alors mis en évidence par la réaction de diazotation de Griess Ilosway. D'autres bactéries réduisent les nitrites en hydroxylamine, ammoniac et azote qui se dégage. La mise en évidence des nitrates se fait alors en ajoutant un peu de poudre de zinc. En effet, en présence des nitrates, il y a réduction de ceux-ci en nitrites puis en azote, qui n'entraîne pas de changement de couleur du milieu, se traduisant par une réaction positive.

➤ Principe :

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

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



➤ Technique:

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

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

- Une coloration rose traduit la transformation des nitrates en nitrites ;
- Une absence de coloration transparente nous conduit à l'ajout de la poudre de zinc, dans ce cas :
 - Si le milieu reste tel quel, la réaction est positive ;
 - Si le milieu vire au rose, la réaction est négative.

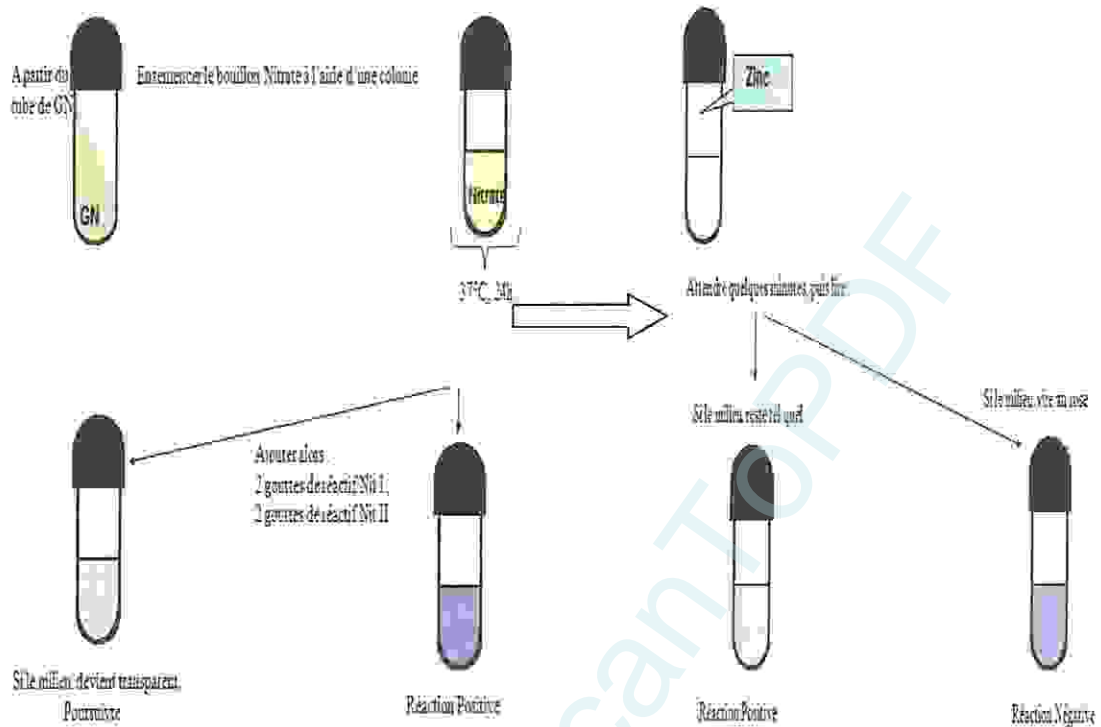


Fig.43. Recherche de nitrate-réductase.

⊗ Recherche des VP-RM :

➤ Principe :

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



➤ Technique :

Nous ensemençons un tube Clark et Lubs, puis nous ajoutons 2 gouttes du VPI et laissons 30 mn, puis nous ajoutons 2 gouttes du réactifs VP II.

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

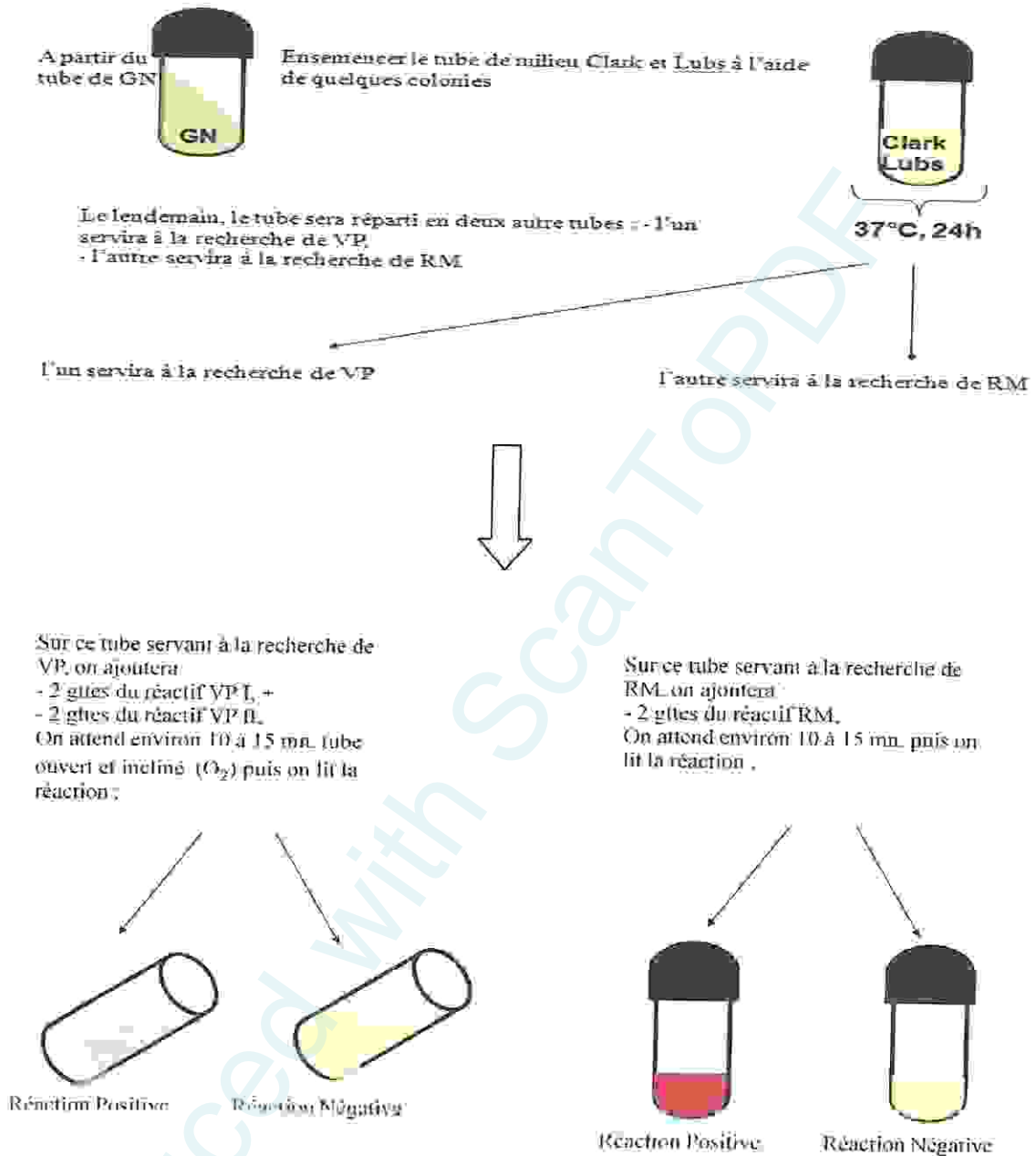


Fig.44. Recherche de type de fermentation.

API 20 E :

Destiné pour la famille des Enterobactériacées 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. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de

réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique API 20 E.

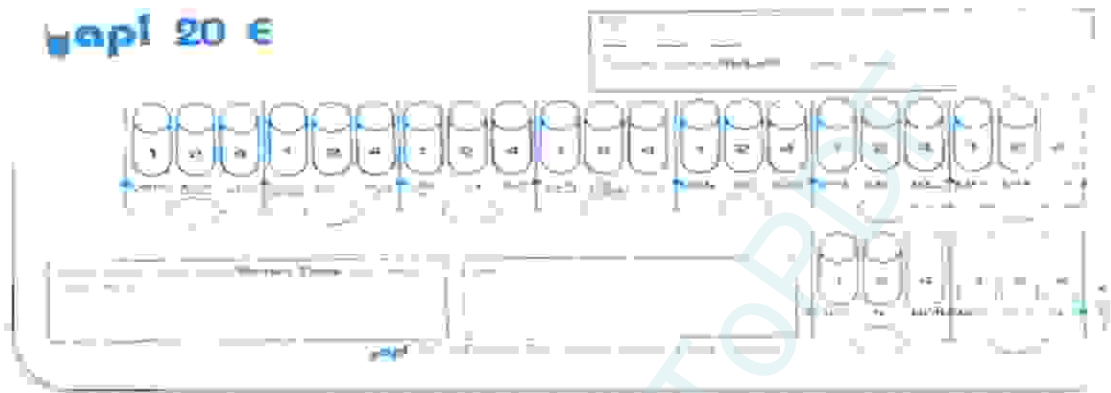


Fig.45 : Galerie API20E.

Tests complémentaires :

∞ Recherche de la β -galactosidase :

La recherche de la β -galactosidase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi (disque ONPG). Le principe est de faire une suspension bactérienne tout en prélevant quelques colonies bactériennes à l'aide d'une anse de platine stérile et la mettre dans 0,5ml d'eau distillée, puis mettre le disque ONPG et attendre une demi heure. Le test est positif s'il y a un changement de couleur (d'incolore au jaune).

La recherche de l'ONPG-hydrolase est une recherche complémentaire à l'étude de la dégradation du lactose. Pour que les bactéries hydrolysent le lactose, il faut qu'elles possèdent deux enzymes :

- une β -galactoside-perméase membranaire, permettant la pénétration du lactose dans la cellule ;
- une β -galactosidase catalysant l'hydrolyse proprement dite du lactose en galactose et glucose.

L'ONPG est un analogue structural du lactose (structure proche du lactose). Il s'hydrolyse en lactose et en orthonitrophénol (composé soluble jaune). Les enzymes catalysant cette réaction portent le nom d'ONPG-hydrolase.

Dans ces conditions les bactéries lactose⁺ possèdent la β -galactosidase et sont toujours ONPG⁻. Les bactéries lactose⁻ peuvent être :

- ONPG⁻ : elles ne possèdent pas d'ONPG-hydrolase ;
- ONPG⁺ : soit elles possèdent une β -galactosidase, mais pas de perméase, soit elles possèdent une ONPG-hydrolase autre qu'une β -galactosidase.

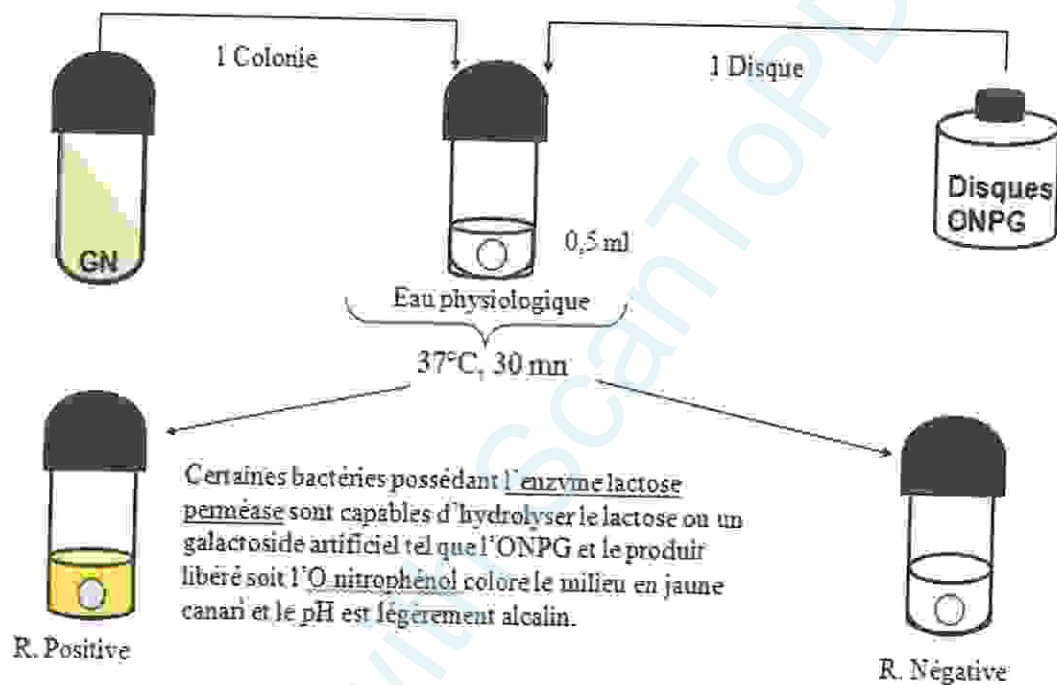


Fig.46. Test de la β -galactosidase.

œ Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec quelques gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette (Fig.47).

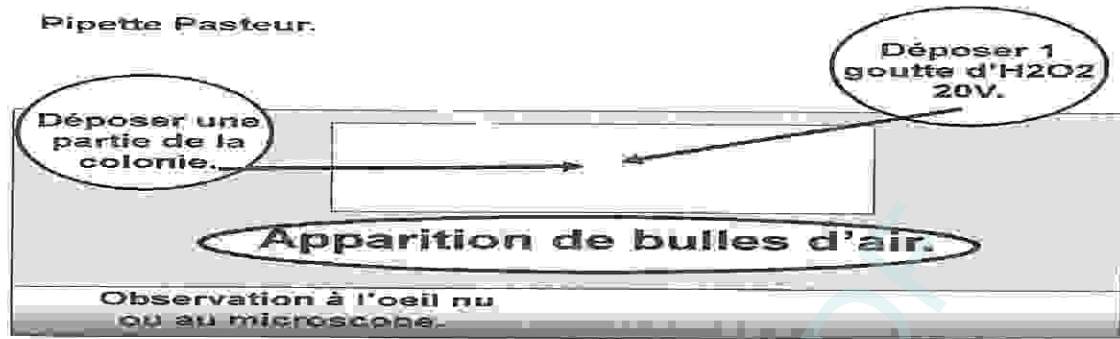


Fig.48. Test de la catalase.

œ Test de la Coagulase :

➤ Principe :

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

✓ Mode opératoire :

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

✓ Résultat :

Considérer que la réaction à la Coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide (Fig.49)



Fig.49. lecture de la sphylocoagulase.

خلاصة

تقع بحيرة قارايت جنبل بالمركب العالي للصينيات شرق الجزائر، تبعد حوالي 5 كلم من قرية بقراره سعودي، بلدية ادايرة عين فكرون بولاية ام البواقي، صنفت لبقعة رمسار عام 2004.

خلال شعري مارس وابريل قمنا بتحليلات فيزيوكيميائية وبكتيريولوجية لمياه هذه البحيرة بمقارنة محطتين اخترناهما:

الدراسة البكتيريولوجية أظهرت لنا عدم وجود تلوث قديم او جديد خلال هذه الفترة.

بالمقابل اكتشفنا وجود جرثومات ممرضة أمثال (الحنثودية)

أما التحليلات الفيزيوكيميائية اكتشفنا من خلالها بان مياه هذه البحيرة معدنية، وهي الطبيعة الجيولوجية لهذه الأرض. أما القوي المبيئة للتلوث هي من اصل مواد عضوية كالنترات والنترات والامونيوم وقد سجلوا بنسب ضعيفة.

كلمات سر

قارايت، تحليل بكتيريولوجي، فيزيوكيميائي، تلوث احترازي، بكتيريا ممرضة، صلابة، نظام بيئي مائي، مجموع من النباتات والحيوانات.

RESUME

La Garaet Annk Djemel est située dans le complexe de hauts plateaux de l'est Algérien. Il est à 5 km de village de Boughrara Saoudi ; une commune de la daïra d'Ain fakroune de la willaya d'Oum el Bouaghi. Elle est classée site de Ramsar en 2004. Notre travail consistait à faire une analyse physico-chimique et bactériologique de l'eau de la garaet Annk Djemel pendant les deux mois Mars et Avril en comparant deux stations que nous avons choisies. L'étude bactériologique a révélé l'absence de contamination récente ou ancienne de ce site durant ces périodes. La recherche des germes pathogènes indique par contre la présence de *Staphylococcus aureus*. Les analyses physico-chimiques indiquent que les eaux de cette Garaet sont fortement minéralisées et cela est dû principalement à la nature géologique du terrain. Les éléments indiquant une pollution d'origine anthropique comme le nitrate, nitrite ammonium sont enregistrés avec des faibles quantités.

Mots clés: Garaet, analyse bactériologique et physico-chimique, contamination fécale, bactéries pathogènes, dureté, écosystème aquatique, flore et la faune.

ABSTRACT

Garaet Annk Djemel is located in the complex of high plateaus of the Algerian east. It is about 5 km from the village of Boughrara Saoudi; a commune of daïra of Ain fakroune of the willaya of Oum el Bouaghi. It is classified site of Ramsar in 2004. Our work consisted in making a physicochemical and bacteriological analysis of the water of the garaet Annk Djemel during the two months Mars and April by comparing two stations which we chose. The bacteriological study revealed the absence of recent or old contamination of this site during these periods. The research of the pathogenic germs indicates on the other hand the presence of *Staphylococcus aureus*. The physicochemical analyses indicate that water of this Garaet is strongly mineral-bearing and that is due mainly to the geological nature of the ground. The elements indicating a pollution of anthropic origin like nitrate, ammonium nitrate are recorded with small quantities.

Key words: Garaet, analyzes bacteriological and physicochemical, fecal contamination, pathogenic bacteria, hardness, watery ecosystem, flora and fauna.