

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

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

Thème : Qualité microbiologique d'un écosystème lotique
Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord – Est Algérien)

Présentées par : Sana ABDELLIOUI

Amina BOUKHDIM

Hayat HAMZAOUI

Devant le jury composé de :

Président	: HAMDIKHEN Sabrina	M.A.A	Université de Guelma
Examineurs	: DJEKOUN Mohamed	M.C.B	Université de Guelma
	BOUSSADIA Meriem Imene	M.A.A	Université de Guelma
Encadreurs	: HOUHAMDI Moussa	Pr.	Université de Guelma
	MERZOUG Seyf Eddine	Attaché de recherche	CRBt Constantine

Juin 2012

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Écologie

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

Thème : Qualité microbiologique d'un écosystème lotique
Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord – Est Algérien)

Présentées par : Sana ABDELLIOUI

Amîna BOUKHDIM

Hayat HAMZAOUI

Devant le jury composé de :

Président	: HAMDIKHEN Sabrina	M.A.A	Université de Guelma
Examineurs	: DJEKOUN Mohamed	M.C.B	Université de Guelma
	BOUSSADIA Meriem Imene	M.A.A	Université de Guelma
Encadreurs	: HOUHAMDI Moussa	Pt.	Université de Guelma
	MERZOUG Seyf Eddine	Attaché de recherche	CRBt Constantine

Juin 2012

Remerciements

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier le bon dieu qui nous a donné le courage et la force pour mener à bien ce modeste travail.

Nous remercions les membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps à notre thèse :

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Melle HAMDIKHEN S., Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Qu'elle trouve ici le témoignage de nos très hautes considérations.

Nous tenons à remercier aussi Monsieur DJEKOUN M., Maître de conférences au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury.

Nous remercions également Melle BOUSSADIA M. J., Maître assistant au département de Biologie à l'Université de Guelma, pour son aide et d'avoir accepté de participer à ce jury.

Nos vifs remerciement vont à notre encadreur M. HOUHAMDJI Moussa, Professeur au département de Biologie à l'Université de Guelma 8 Mai 1945, qui a suivie de près et de loin le déroulement et les étapes de travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur M. MERZOUG Seyf Eddine, attaché de recherche au Centre National en Recherche en Biotechnologie à Constantine (CRBt), pour son encadrement durant ces mois de thèse. Merci pour ses conseils avisés et pour ses encouragements ainsi que pour son humeur.

Un grand merci à M. AGGOUNE Djamel, Vice Recteur responsable de la pédagogie, pour son accueil et son aide précieux.

Nous tenons à remercier aussi tout les doctorants et spécialement: GVEROVI Yacine, TOUATI Ahmed Samer, HADAD Soumia, ROUAIGUIA Meriem, BOUGUENOUN Imene, TABET Mouna pour leurs soutien tout au long de la réalisation de ce projet. Nous vous souhaitons à tous toute la réussite.

Nos remerciements vont également à toutes les ingénieurs de laboratoire pour leurs gentillesse et leurs patiences, citons en particulier: Mme Houria et Melle Houda.

Nous remercions surtout KOULAIBI Zineb, laborantine au laboratoire de microbiologie à l'hôpital d'El Hakim Saadane à Biskra, ainsi que DJABALLAH Asma laborantine au laboratoire de bactériologie de l'hôpital d'Oued Zenati, pour leurs soutiens, aides et amitié.

Nous tenons à remercier spécialement BENSOUILLAH Taqi Eddine qui nous a soutenu pas seulement au cours de ce projet mais également tout au long de notre parcours de Master et a été toujours présent à tout moment quand nous en avions besoin.

Nous tenons également à remercier tout les enseignants et les enseignantes de sciences de la nature et de la vie qui ont contribuent à notre formation durant les cinq années ; nous citons en particulier : M. HOUHAMDÏ M., Melle BOUSSAÏDIA M. I, Melle HAMDIKHËN S., M. KACHI S., M. DJEKOUN M., M. BOUCHLAGHEM H., M. LASSAAD G. Mme ALLIOUÏ N.

Nos remerciements vont également à :

M. KBEÛHE Hassen, chef service de laboratoire de la direction de santé de la wilaya de Guelma, pour son accueil et son aide. Et tous les travailleurs de la DDS en particulier M. Abd El Rahman, Leila, Radja, Meriem.

Le personnel de l'Observation National de l'Environnement et de Développement Durable de Skikda en particulier M. Sami, de la subdivision de l'hydraulique et des forêts à Ben Azzouz ainsi que toutes les directions qu'on a visité de la wilaya de Skikda, pour leurs humeurs et leurs accueils.

M. CHIAKHA Azziz chef service du laboratoire de microbiologie de l'hôpital d'Ibn Zohr pour son aide et sa disponibilité.

M. BELAHMADI Med Sedik Oussama, un attaché de recherche au Centre National en Recherche en Biotechnologie à Constantine (CRBt), pour son aide.

Nous tenons à remercier LAMEÛHE Oussama et DERNAOUI Amine, CHËRAÏTIA Slïmane et son fils Amar pour leurs aides, conseils et encouragements.

Nous remercions nos familles pour leur soutien, plus particulièrement la chère mère de Sana qui nous a trop aidé durant la réalisation de notre partie théorique.

Nous ne saurons finir sans remercier toute la promotion sortante (Microbiologie : santé, eau et environnement 2011/2012), et tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration directe et/ou indirecte de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie le fruit de mes 16 ans d'études aux plus précieux des trésors :

Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

A mes parents : ma tendre et mon adorable maman Nora et mon cher papa Rabeh.

Qui ont toujours été là pour moi ;
Qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance ;
Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort.

A mes chers frères : Sofiane et Karim pour leur soutien morale et leurs sacrifices le long de ma formation, que dieu les garde.

A ma grande mère Fatma.

A mes tantes et à mes oncles.

A chaque cousins et cousines.

A Oussama qui m'a toujours encouragé surtout pendant les moments difficiles. Je lui remercie de tout mon cœur.

A Hayat, ma chère amie et ma douce sœur, que dieu protège notre amitié.

A Taqi Eddine, qui a été un frère agréable surtout avec son humeur. Merci pour tous les bons moments.

A Seyf Eddine qui nous a encadrés et à lui revient ce modeste travail. Les mots ne suffisent pas pour te remercier.

A mes très chères amis : Sara, Malek, Nadia, Manel, Fatima, Ahlem, Zineb, Seyf, Taqi, Yacine et Mouna et à toute ma promotion, que dieu protège notre amitié.

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

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

Affectueusement Sana

Dédicace

Je dédie ce travail :

Au pur esprit de ma mère Rahouia et ma grande mère Fatma qui j'espère qu'elles soient au paradis.

A tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et d'affection.

A mon père Hassen et ma belle mère Malika.

A mes frères :

Kamel, Morad et Mouhamed ainsi que leurs épouses Mishia et Samira

A mes sœurs :

Amel, Salma, Khawla et ma belle soeurs Abla

A toute ma famille et surtout aux anges de ma maison :

Mes nièces Doha et Soundes et Selma.

A mon fiancé Hichem

A mes cousins et cousines :

Said, Khalil, Hassina, Warda et Saida

A mes chères amies :

Sarah, Ahlem, Khawla, Mouna, Sara et Hayet

A toute ma promotion surtout : Taqi Eddine

Amina

Dédicace

Louange à Allah qui nous a guidés. Nous n'aurions pas été guidés, si Allah ne nous avait pas guidés. Je le loue, le remercie, lui implore secours et lui demande pardon.

Je tiens à dédier ce modeste travail qui est le couronnement de toutes les années d'étude à ma famille et à tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné, encouragé et soutenu durant cette année.

Ma mère Samia et mon père Chérif sans lesquels je ne serais pas sur terre et qui ont attendu avec patience les fruits de leur bonne éducation. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A celui qui aurait été fier de moi : mon grand père Lakhidar et à celle qui m'a donnée beaucoup d'amour ma grande mère Hakima.

A ma tante Rachida et son époux Abdelhak pour leur affection, compréhension et patience envers moi ainsi que leurs enfants : Kamel, Mehdi et ma petite sœur Ines.

A ma chère sœur Hanene et son mari Abdelrazek,

A mon petit frère Youcef.

A Amine pour son soutien moral dans les moments difficiles.

A ma meilleure amie Sana qui est aussi une soeur pour moi. Rien ni personne ne cassera notre amitié inchaallah.

A Seyf Eddine qui nous a cadrés, conseillés et suivi notre travail. On te remercie de tout notre cœur.

A Taqi Eddine qui a été un frère pour moi. A mes amies : Manel, Fatima, Ahlem, Meriem et Mouna pour leur amitié.

Ma réussite ne dépend que du seigneur. C'est à lui que je m'en remet et c'est vers lui que je retourne.

Affectueusement Hayat

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Description du site et sources de pollution

1. Présentation de la wilaya de Skikda.....	3
2. Présentation de la commune de Ben Azzouz.....	4
3. Présentation du site d'étude « Oued El Kebir Ouest ».....	4
3.1. Coordonnées géographiques.....	5
3.2. Situation administrative.....	5
3.3. Hydrographie de la région d'étude.....	5
3.4. Pédologie.....	8
3.5. L'orographie.....	8
3.6. Etude climatique.....	8
3.7. Exploitation de site.....	12
4. La pollution des eaux superficielles.....	16
4.1. La pollution urbaine.....	16
4.2. La pollution industrielle.....	16
4.3. La pollution agricole.....	17
4.4. Impact de la pollution.....	17

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	19
1.1. Matériel d'échantillonnage.....	19
1.2. Méthode de prélèvement.....	19
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons.....	20
1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse.....	20
2. Choix des stations de prélèvement.....	21
3. Nature et période de prélèvement.....	24
4. Mesures <i>in situ</i>	24
4.1. La couleur apparente.....	25

4.2. La température	25
4.3. Le pH	26
4.4. La conductivité électrique.....	27
5. Les analyses microbiologiques.....	27
5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C et à 22 °C.....	28
5.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.....	29
5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	29
5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (<i>Enterococcus</i>).....	31
5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs.....	33
5.3. Recherche des germes pathogènes	34
5.3.1. Recherche de <i>Salmonella</i>	34
5.3.2. Recherche de <i>Shigella</i>	35
5.3.3. Recherche de <i>Vibrio cholérique</i>	36
5.3.4. Recherche des <i>Staphylococcus</i>	37
5.3.5. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	38
5.4. Recherche des levures et moisissures.....	39
6. L'identification microbienne.....	39
6.1. Examen macroscopique des caractères cultureux	39
6.2. Examen microscopique	40
6.3. Examens liés aux caractères biochimiques.....	41
6.3.1. Mise en évidence d'une catalase	41
6.3.2. Recherche des cytochromes oxydases	41
6.3.3. Recherche de coagulase	41
6.3.4. API 20 E	42
6.3.5. API 20 NE.....	43
6.3.6. API 20 C AUX	44
6.3.7. La galerie classique.....	45

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Les paramètres physicochimiques mesurés <i>in situ</i>	49
1.1. La couleur apparente	49
1.2. La température	49
1.3. Le pH	50
1.4. La conductivité électrique.....	51

2. Les analyses microbiologiques	53
2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux	53
2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale	54
2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux	54
2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	57
2.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR)	58
2.3. Identification des colonies bactériennes	59
2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	60
2.3.2. Résultats de l'identification biochimique	62
2.4. Isolement et identification des levures et moisissures	69
Conclusion	73

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

ملخص

Annexes

Produced with Scantopdf

Liste des abréviations

- : Caractère négatif
- % : Pourcent
- (-) : Majoritairement négatif
- (+) : Majoritairement positif
- + : Caractère positif
- ± : plus ou moins
- ° : Degré
- °C : Degré Celsius
- µm : Micromètre
- A.N.R.H** : l'Agence Nationale des Ressources Hydrauliques
- ABH - CSM** : Agence de Bassin Hydrographique - Constantinois Seybouse Mellègue
- ABH** : L'Agence de Bassin Hydrographique
- ADE** : Algérienne Des Eaux
- ADH** : Arginine DiHydrolase
- ASR** : Anaérobies sulfito-réducteurs
- BCPL** : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol
- BGN** : Bacilles Gram négatifs
- BNEF** : Bureau National d'Etudes Forestières
- CE** : Conductivité électrique
- CF** : Coliforme fécaux
- CIT** : Citrate
- Cl₂** : Chlore
- cm** : Centimètre
- CNERU** : Centre National d'Etudes et de Recherches appliquées en Urbanisme
- CO₂** : Dioxyde de carbone
- CRBt** : Centre National en Recherche en Biotechnologie
- CT** : Coliforme totaux
- DDS** : Direction De Santé
- DSA** : Direction des Services Agricole
- E. coli** : *Escherichia coli*
- EPA** : Eau Peptonée Alcaline
- Eva Litsky** : Bouillon à l'éthyle violet et azide de sodium
- Fe₂⁺** : Fer ferreux
- Fig** : Figure
- g** : Gramme
- g/l** : Gramme par litre
- GEL** : Gélatinase
- GLU** : Glucose
- h** : Heure
- H₂O₂** : Eau oxygénée
- H₂S** : Hydrogène sulfuré

ha: Hectare
Hm³: Hectomètre cube
IND: Indole
Kg: Kilogramme
Km: Kilomètre
Km²: Kilomètre carré
LDC: Lysine Décarboxylase
m: Mètre
m/s: Mètre par seconde
mg/l: Milligramme par litre
Mg⁺: Magnésium
ml: Millilitre
mm: Millimètre
mn: Minute
Na₂SO₃: Sulfite de sodium
NaCl: Chlorure de Sodium
NPP: Nombre le Plus Probable
ODC: Ornithine Décarboxylase
ONEDD: Observation National de l'Environnement et de Développement Durable
ONPG: Ortho-Nitrophénol-B-D-Galactosidase
P: Prélèvement
pH: potentiel Hydrogène
Q₂: Quotient pluviométrique d'Emberger
RM: Rouge de Méthyle
Rothe: Bouillon à l'azide de sodium
S: Station
S. aureus: *Staphylococcus aureus*
S.I.F.C.O: Société Industrielle de Fabrication de Carton Ondulé
S/C: Simple concentration
SFB: Bouillon Sélénite Cystéine
sp: Espèce
SS: *Salmonella-Shigella*
T: Température
Tab: Tableau
TCBS: milieu Thiosulfate – Citrate – Bile – Saccharose
TDA: Tryptophane Décarboxylase
TGEA: Tryptone – Glucose – Extrait de levure – Agar
TSI: Triple Sugar Iron
UFC: Unité Formant Colonie
URE: Urée
VF: Viande Foie
VP: Voges-Proskauer
µl: micro litre

Liste des figures

Fig. 1. Situation géographique de la wilaya de Skikda.....	3
Fig. 2. Vallée de l'Oued El Kebir Ouest.....	5
Fig. 3. Carte du réseau hydrographique de l'Oued El Kebir Ouest.....	7
Fig. 4. Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussens.....	11
Fig. 5. Situation de la wilaya de Skikda dans le climagramme d'Emberger.....	12
Fig. 6. L'utilisation des eaux de l'Oued El Kebir Ouest dans l'irrigation (Station 03).....	13
Fig. 7. Le pâturage dans les terres voisinant des eaux de l'Oued El Kebir Ouest.....	14
Fig. 8. Les pêcheurs au niveau de l'Oued El Kebir Ouest.....	15
Fig. 9. Un flacon d'échantillonnage munis des étiquettes.....	20
Fig. 10. La glacière transportant l'échantillon.....	21
Fig. 11. Localisation des points de prélèvements.....	21
Fig. 12. La station 01 (à gauche) et la station 02 (à droite) au mois de Mars.....	23
Fig. 13. La station 03 (à gauche) et la station 04 (à droite) au mois de Mars.....	23
Fig. 14. La station 05 au mois de Mars.....	23
Fig. 15. Multiparamètre de marque HANNA.....	37
Fig. 16. Variations de la température de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	50
Fig. 17. Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	51
Fig. 18. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	52
Fig. 19. Evaluation de la flore mésophile aérobie totale à 22 °C de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	53
Fig. 20. Evaluation de la flore mésophile aérobie totale à 37 °C de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	54
Fig. 21. Dénombrement des coliformes totaux dans la station 01 par la méthode de NPP (Avril 2012).....	55
Fig. 22. Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).....	55
Fig. 23. Test de Mac Kenzie positif (Le milieu Schubert à droite et le milieu eau peptonée exempte d'indole à gauche).....	57
Fig. 24. Estimation des coliformes fécaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).....	57

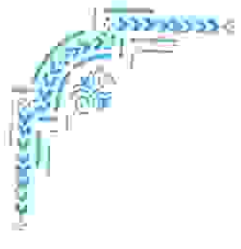
Fig. 25. Dénombrement des streptocoques fécaux dans la station 01 par la méthode de NPP (Avril 2012).....	58
Fig. 26. Estimations des streptocoques fécaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).	58
Fig. 27. Dénombrement des ASR dans la station 01.	59
Fig. 28. Dénombrement des ASR dans la station 02.	59
Fig. 29. Dénombrement des ASR dans la station 03.....	59
Fig. 30. Aspect des colonies sur gélose Hektoen, gélose SS et gélose Mac Conkey (respectivement de gauche à droite).....	61
Fig. 31. Aspect des colonies sur gélose TCBS, gélose GNAB et gélose cétrimide (respectivement de gauche à droite).....	62
Fig. 32. Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 01).	62
Fig. 33. Cocci à Gram positif en amas.....	62
Fig. 34. Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 02).	62
Fig. 35. Cocci à Gram positif en amas.	62
Fig. 36. Test de staphylocoagulase positif (à gauche) et négatif (à droite)	63
Fig. 37. Aspect des colonies sur gélose cétrimide (Station 02).	64
Fig. 38. Bacilles à Gram négatif.	64
Fig. 39. Résultat de la Recherche de la pyocyanine et de la pyoverdine dans les milieux King A et King B.....	64
Fig. 40. Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64
Fig. 41. Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.....	65
Fig. 42. Profil biochimique de la souche <i>Salmonella</i> spp.....	66
Fig. 43. Profil biochimique de la souche <i>Shigella</i> spp.....	66
Fig. 44. Profil biochimique de la souche <i>Raoultella ornithinolytica</i>	67
Fig. 45. Profil biochimique de la souche <i>Shewanella putrefaciens group</i>	67
Fig. 46. Profil biochimique de la souche <i>Citrobacter braakii</i>	67
Fig. 47. Profil biochimique de la souche <i>Citrobacter koseri</i>	67
Fig. 48. Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter sakazakii</i>	67
Fig. 49. Profil biochimique de la souche <i>Pantoea</i> spp 2	67
Fig. 50. Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 1.....	68
Fig. 51. Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 2.....	68
Fig. 52. Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas salmonicida</i>	68
Fig. 53. Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas luteola</i>	68

Fig. 54. Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	68
Fig. 55. Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i>	68
Fig. 56. Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure <i>Rhodotorula glutinis</i>	69
Fig. 57. Profil biochimique de la levure <i>Rhodotorula glutinis</i>	70
Fig. 58. Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure <i>Candida parapsilosis</i>	70
Fig. 59. Profil biochimique de la levure <i>Candida parapsilosis</i>	70
Fig. 60. Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1	70
Fig. 61. Profil biochimique de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1.....	70
Fig. 62. Recto - verso de la boîte de sabouraud et observation microscopique de <i>Penicillium</i> sp.....	71
Fig. 63. Recto - verso de la boîte de sabouraud et observation microscopique de <i>Aspergillus</i> sp	72
Fig. 64. Recto - verso de la boîte d'extrait de malt et observation microscopique de <i>Penicillium</i> sp.....	72
Fig. 65. Recto - verso de la boîte d'extrait de malt et observation microscopique de <i>Aspergillus</i> sp.....	72

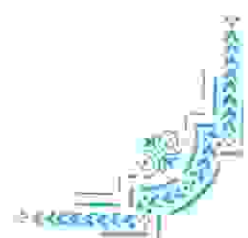
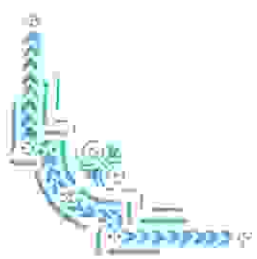
Produced with Scantopdf

Liste des tableaux

Tab. 1. Données climatiques de la station météorologique de Skikda	9
Tab. 2. Les industries polluantes de l'Oued El Kebir Ouest à la commune de Ben Azzouz....	15
Tab. 3. Présentation du point de prélèvement.....	22
Tab. 4. Nature et période du prélèvement.....	24
Tab. 5. Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.....	26
Tab. 6. Classifications des eaux d'après leur pH.....	26
Tab. 7. Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.	27
Tab. 8. Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i>	36
Tab. 9. Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI	47
Tab. 10. La couleur de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest dans les cinq stations	49
Tab. 11. La température de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest dans les cinq stations.....	49
Tab. 12. Le pH de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest dans les cinq stations.....	50
Tab. 13. La conductivité électrique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest dans les cinq stations.	51
Tab. 14. Dénombrement des germes revivifiables à 22 °C et à 37 °C	53
Tab. 15. Dénombrement des coliformes totaux (CT/ml).....	55
Tab. 16. Dénombrement des coliformes fécaux (CF/ml)	56
Tab. 17. Dénombrement des streptocoques fécaux (SF/ml).....	58
Tab. 18. Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs.....	59
Tab. 19. Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	60
Tab. 20. Résultats du profil biochimique des <i>Staphylococcus</i> isolés	63
Tab. 21. Résultats du profil biochimique des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés	63
Tab. 22. Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.....	65
Tab. 23. Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE.....	66
Tab. 24. Aspect macroscopique, microscopique et identification des levures isolées dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	69
Tab. 25. Aspect macroscopique, microscopique et identification des champignons isolés dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.....	71
Table de Mac Grady	Annexe 02
Lecture de l'API 20 E	Annexe 03
Lecture de l'API 20 NE	Annexe 04
Lecture de l'API 20 C AUX	Annexe 05



Introduction

The title "Introduction" is centered on the page in a blue, cursive font. It is framed by two large, symmetrical decorative flourishes above and below the text, each featuring intricate scrollwork and floral motifs in shades of blue and green.

Produced with
Scantopdf

Sur Terre, 97 % de l'eau de surface est salée ; les 3 % restant constituent les réserves d'eau douce de la planète. On a approximativement la répartition suivante : 2/3 d'eau douce enfermée dans les calottes polaires, les glaciers ou le roc profond et le reste sous forme d'eau douce accessible. [1]

Chaque année, l'agriculture consomme près de 70 % de l'eau douce accessible, l'industrie consomme un autre 20 % et le 10 % restant sert à l'utilisation locale ou municipale pour la consommation domestique et autres usages directs. Au cours du dernier siècle, l'utilisation annuelle d'eau douce a augmenté deux fois de plus que le rythme de la population. (Boyer, 2008)

Les ressources en eau proviennent des eaux de surface et des eaux souterraines renouvelables et non renouvelables (Harrat et Achour, 2010), dont leur sauvegarde est au premier rang de priorités. (Rejesk, 2002)

En Algérie, l'exploitation de ces ressources est très intense avec les besoins grandissants liés à l'essor démographique et le développement accéléré des activités économiques, notamment l'agriculture en irrigué et l'industrie. (Harrat et Achour, 2010)

Les Oueds d'Algérie sont devenus de véritables dépotoirs, en ce sens ils charrient toutes sortes de rejets liquides et solides. Ceci a eu pour incidence une dégradation de la qualité des eaux. (Guasmi et al., 2006)

Le développement socio-économique et l'urbanisation rapide ont eu un impact néfaste sur la qualité des ressources en eau (Harrat et Achour, 2010), donc la pollution des eaux de surface continue de poser un problème sérieux pour l'homme et son environnement. (René, 1968). Le contrôle et la surveillance de la qualité des eaux de surface et les eaux souterraines devraient susciter un intérêt particulier. (El Haiti, 1991). Ils doivent avoir comme objectifs majeurs la préservation de la santé de la population et le dépistage de tous les types de pollution pouvant nuire à la santé humaine. (El Ouali Lalami et al., 2011)

La présente étude, prend comme terrain le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest, l'un des sous bassins du Côtier Constantinois Centre, situé au Nord - Est Algérien. (Direction d'hydraulique de Skikda, 2012)

Par ailleurs, au cours de ces dernières années, du fait de l'explosion démographique et d'un développement économique généralisé, ce bassin a connu un processus rapide et global

de mobilisation de l'ensemble de ses ressources en eau. Dans le contexte de pénurie en eau caractérisant le bassin, l'agriculture, qui s'est construite au cours de cette période pour devenir essentiellement une agriculture irriguée, orientée vers le marché, dont l'objectif principal est la rentabilité économique et non plus l'alimentation des populations, consomme aujourd'hui une grande partie des ressources totales du bassin ce qui pose diverses questions quant à son évolution future. (Daifallah, 2008)

Vue cette importance majeure, nous avons essayé d'étudier et de déterminer la qualité microbiologique ainsi que quelques paramètres physicochimiques des eaux de ce bassin versant et ceci dans le but d'apprécier l'évolution de sa qualité et son impact sur l'environnement et sur la santé publique.

Les objectifs du travail sont les suivants :

- La détermination de la qualité microbiologique de l'eau de cet écosystème avec :
 - ❖ Dénombrement instantané des germes totaux dans l'eau ;
 - ❖ Estimation des effectifs témoins d'une contamination fécale ;
 - ❖ Recherche éventuel des germes pathogènes dans ce plan d'eau.
- Mettre en évidence la pollution fécale de l'eau et évaluer le risque microbiologique par la mise en évidence des germes tests d'origine fécale ;
- Détermination de la variation de quelques paramètres physicochimiques de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.

Afin de réaliser cette étude et atteindre nos objectifs, nous avons structuré notre démarche en trois chapitres interdépendants :

- Le premier chapitre, une étude bibliographique présente une description générale du site d'étude ainsi que les sources de pollution menaçant les eaux superficielles ;
- Le deuxième chapitre, une étude expérimentale consacrée aux présentations du matériel et la méthodologie suivie pour la réalisation des analyses microbiologiques et physicochimiques effectuées ;
- Le troisième chapitre, mentionne sous formes de tableaux et de graphes les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique, avec une discussion et une conclusion clôturant le mémoire.

2. Présentation de la commune de Ben Azzouz

La commune de Ben Azzouz chef lieu de daïra est située au Nord – Est de la wilaya de Skikda sur l'axe Skikda – Annaba. Elle est distante de 56 km de son chef lieu de la wilaya de Skikda et regroupe une population de 45 139 habitants en 2008 et s'étend sur une superficie de 50 419 km².

Elle est limitée au Nord par les eaux territoriales, et la commune de El Marsa ; au Sud par la commune de Bekkouche Lakhdar et la commune de Ain Kercha ; à l'Est par la commune El Marsa, la commune de Treat et la commune de Berrahal (wilaya de Annaba) et à l'Ouest par la commune de Djendel Saâdi Mohamed. (ONEDD de Skikda, 2012)

Le territoire entier de la commune est inclus dans le complexe des zones humides de la plaine de Guerbes Sanhadja ; par conséquent Ben Azzouz obéira à La loi n° 02 - 02 du 5 Février 2002 relative à la protection et à la valorisation du littoral, un instrument privilégié de mise en œuvre de la stratégie nationale de protection du littoral et de valorisation de ses ressources. (CNERU, 2010)

La zone côtière de la commune de Ben Azzouz s'étend sur un linéaire de 26.2 km elle est limitée à l'Est par l'Oued El Kebir Ouest et la plage Kef fatma. (CNERU, 2010)

La commune de Ben Azzouz est traversée par l'Oued El Kebir Ouest qui joue un rôle très important dans l'irrigation. (ONEDD de Skikda, 2012)

3. Présentation du site d'étude « Oued El Kebir Ouest »

La région d'étude se situe dans le Nord – Est de l'Algérie, entre le massif du Filfila au Nord, et les monts de Constantine au Sud. (Hannouche, 2010)

Les deux sous bassins de Oued Hammam et le Côtiers Magroun forment le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest.

L'origine de cet Oued se situe à l'aval de Bekkouche Lakhdar à la confluence de Oued Hammam et Oued Mechekel en passant par Boumaïza et Ben Azzouz pour rencontrer la mer Méditerranée à la Marsa après un parcours d'environ 100 km, son bassin versant est d'une superficie de 1130.2 km², potentialité d'eau de l'ordre est de 90 Hm³, son écoulement annuel moyen est de 300 m³, sa largeur varie entre 10 et 50 m et sa profondeur est de plus de 10 m,

l'affluent le plus important est Oued Fendek qui passe par Azzaba, Essebt et Djendel. (ADE de Skikda, 2012)

Le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest reçoit, pour une année pluviométrique moyenne, un apport d'eau naturelle qui dépasse les 717 Hm³, plus de deux tiers absorbées par l'évapotranspiration, et seulement 214.727 Hm³ retrouvée dans le bassin partagée entre ruissellement et infiltration. En hiver, des inondations et des débordements sont marquées surtout dans les zones proches de l'embouchure. (Fig. 02) (Daifallah, 2008)

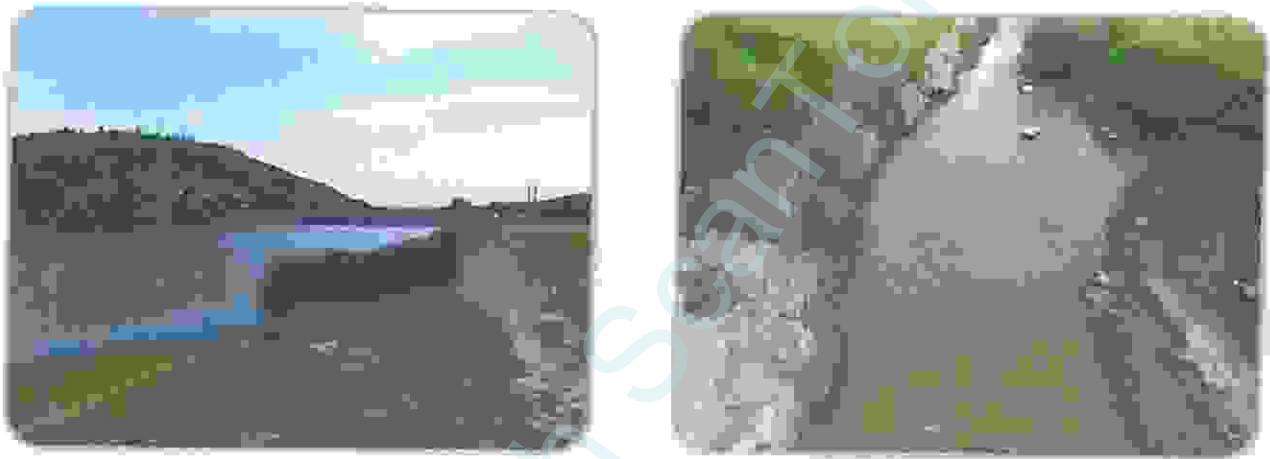


Figure 02 : Vallée de l'Oued El Kebir Ouest. (Photo prise par Abdellioui Sana)

3.1. Coordonnées géographiques :

Le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest est limité entre les latitudes 36° 30' et 37° 00 Nord et les longitudes 7° 01' et 7° 30' Est. (Daifallah, 2008)

3.2. Situation administrative :

Sur le plan administratif, le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest s'étend sur la wilaya de Skikda. Il regroupe la commune de Bekkouche Lakhdar, Boumaiza, Ben Azzouz, El Marsa et Ain Charchar. (ABH d'Ain Charchar, 2012)

3.3. Hydrographie de la région d'étude :

Les principaux Oueds de la wilaya de Skikda sont permanents et prennent leur source à quelques kilomètres de la mer. L'importante de la pluviométrie et le relief montagneux de la wilaya de Skikda sont autant d'apports à l'hydrologie. En effet, disposant de plusieurs bassins versants, le réseau hydrologique, assez dense, de la wilaya voit chaque année une quantité très

importante d'eau se perdre en mer faute de moyens de mobilisation. (Monographie de la Wilaya de Skikda, 2007)

La détermination de l'apport moyen annuel par bassin versant dans la wilaya de Skikda a permis d'estimer les écoulements superficiels à environ 1600 Hm³/An. (Monographie de la Wilaya de Skikda, 2007)

Les Oueds les plus importants sont :

- ❖ Oued El Kebir à l'Est ;
- ❖ Oued Saf-Saf au Centre ;
- ❖ Oued Guebli à l'Ouest ;
- ❖ Oued Z'hour à l'extrême Ouest. (ONEDD de Skikda, 2012)

La wilaya de Skikda se caractérise par 07 sous bassins versants hydrographiques :

- ❖ Côtiers Cape Bougaroune (nappe de Oued Z'hour) ;
- ❖ Oued Guebli (nappe du Guebli) ;
- ❖ Oued Bibi (nappe de Oued Bibi) ;
- ❖ Oued Saf-Saf (Oued Saf-Saf) ;
- ❖ Côtiers Filfila (nappe de Filfila) ;
- ❖ Oued Hammam et le Côtiers Magroun (nappe du El Kebir Ouest). (ADE de Skikda, 2012)

La nappe de l'Oued El Kebir Ouest se trouve au sein du bassin des Côtiers Constantinois Centre pour cela, nous avons jugé utile de procéder d'abord à l'étude hydrologique de ce bassin.

La wilaya de Skikda est la principale ville du bassin des Côtiers Constantinois Centre qui a une superficie de 5582 km². Sur ce bassin les précipitations moyennes sont de 650 mm. Pour l'ensemble du bassin, il existe 17 stations pluviométriques et 05 stations hydrométriques suivies par l'Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (A.N.R.H). Le bassin des Côtiers Constantinois Centre présente un chevelu hydrographique dense totalisant un réseau de plus de 4200 km. (ABH- CSM, 2005)

Le schéma général du système aquifère de la vallée de l'Oued El Kebir Ouest fait distinguer deux types de nappes:

- ❖ Une nappe phréatique ;
- ❖ Une nappe captive.

Ces nappes sont exploitées à divers usages, alimentation en eau potable, industrielle, irrigation et élevage. (Hannouche, 2010)

Il apparaît que l'essentiel des apports provient d'une part, de l'infiltration directe des pluies surtout dans les zones perméables de l'inféro-flux de l'Oued El Kebir Ouest, et d'autre part, des formations encaissantes (argiles, grès numidiens à l'Est, marno-calcaires et calcaires liasiques à l'Ouest). (Hannouche, 2010). L'Oued El Kebir Ouest et ses affluents, alimentent des réservoirs d'eaux naturelles ou artificielles. (Fig. 03) (ADE de Skikda, 2012)

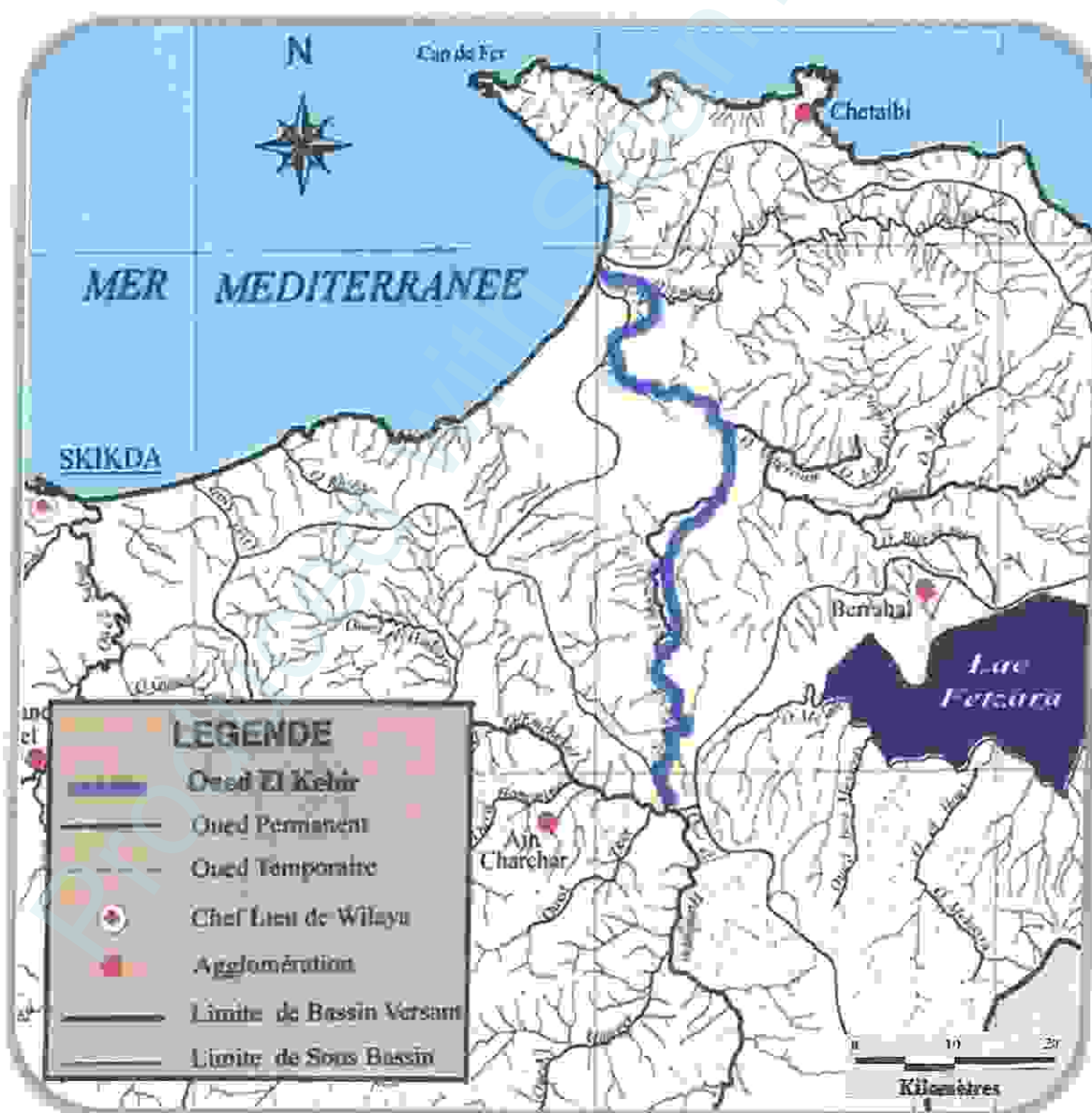


Figure 03 : Carte du réseau hydrographique de l'Oued El Kebir Ouest. (CNERU, 2010)

3.4. Pédologie :

Les alluvions de la plaine occupent une bonne partie de la vallée de l'Oued El Kebir Ouest. Il s'agit d'une série de terrasses essentiellement limoneuses et argileuses constitués de sables, de graviers, galets et de cailloux roulés. (Hanouche, 2010)

La nappe alluviale de l'Oued El Kebir Ouest est formée d'un mélange de sable, graviers et galets, se localise sous un toit imperméable à semi perméable, son épaisseur varie de 5 m au Nord et peut aller jusqu'à 20 m au Sud. (Daifallah, 2008)

La nappe phréatique possède un toit perméable formé d'argiles limoneuses dont l'épaisseur varie de 10 à 20 m légèrement incliné vers le Sud. (Daifallah, 2008)

3.5. L'orographie :

Les reliefs du bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest est très diversifié et englobe :

- **Les montagnes :** Elles représentent l'unité la moins fréquente. Les montagnes n'occupent que 10.17 km², soit 0.90 % de la superficie totale du bassin versant. Cette unité dépasse les 850 m d'altitude.
- **Les collines :** Ayant des altitudes comprises entre 450 et 850 m, les collines affichent 228.43 km², soit 20.21 % de la superficie totale du bassin versant.
- **Les versants :** Ils représentent les surfaces les plus étendues ayant des altitudes de 50 à 450 m, leur superficie est estimée à 532.13 km², soit 47.08 % de la superficie totale du bassin versant.
- **Les plaines :** Ayant des altitudes moins de 50 m, les plaines constituent presque 31.81 % de superficie totale du bassin versant, soit 359.53 km². (Daifallah, 2008)

3.6. Etude climatique :

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines. (Soltner, 1999)

Il n'existe pas une station météorologique au niveau de la commune de Ben Azzouz, d'où la nécessité de faire recours à la station la plus proche, celle de la commune de Skikda. Notre zone d'étude est caractérisée par un climat de type méditerranéen avec un hiver pluvieux et un été chaud et sec.

Les données météorologiques de 14 ans (1997 - 2011) récoltées de la station météorologique de la ville de Skikda sont résumées dans le tableau 01.

Tableau 01 : Données climatiques de la station météorologique de la wilaya de Skikda (1997 - 2011).

Mois	T° moyenne (C°)			Précipitation (mm)	Humidité relative (%)	Vent (m/sec)		Insolation (h/mois)	Evaporation (mm)
	Mini	Max	Moy			Vitesse moyenne minimale	Vitesse max		
Jan	7.37	19.10	13.22	124.82	73.83	3.53	19.42	140.83	53.1
Fév	7.39	19.71	13.28	101.08	70.16	3.45	18.58	161.17	129.92
Mar	8.52	22.71	15.58	68.18	69.59	3.36	19.86	206.58	133.47
Avr	11.35	25.05	17.83	50.58	85.83	3.15	19.31	220.27	142.48
Mai	14.82	27.7	20.64	48.92	71.32	2.78	15.69	270	68.1
Juin	17.67	31.11	25.30	14.58	68.4	2.74	15.15	294	101.52
Juil	20.57	32.83	26.13	14.25	70.55	2.83	14.36	351.85	91.2
Août	21.09	33.2	27.14	14.17	68.17	2.77	15.4	324.25	88.2
Sep	18.63	30.73	24.1	74.68	70.14	2.79	15.2	223.48	102.2
Oct	15.45	28.54	21.74	66.12	68.48	2.94	16.42	216.5	75.82
Nov	11.5	23.15	16.97	95.54	70.27	3.52	18.92	157.65	168.57
Déc	8.07	20.32	14.12	127.56	71.38	3.99	20.58	123.83	58.92

3.6.1. La température :

La température est un facteur climatique très important qui réagit directement, en interaction avec les autres facteurs météorologiques (précipitation, humidité, etc.), le développement de la végétation et le phénomène de l'évapotranspiration. (Belabed, 2010). L'évolution et le changement permanent de la température atmosphérique au cours des saisons de l'année agissent directement sur la température de l'eau superficielle et donc sur sa qualité et ses habitats. Le paramètre température est en fonction de l'altitude, de la distance de la mer, et de la position topographique. (Toubal Boumaza, 1986)

A partir des données présentées dans le tableau 01, nous constatons que les moyennes mensuelles les plus élevées sont observées essentiellement pendant la période estivale (Juin à Septembre) dont le mois le plus chaud est le mois d'Août avec une température maximale de 33.2 °C. Par contre, les températures les plus basses sont observées pendant la période d'hiver (Décembre à Mars) dont le mois de Janvier est le mois le plus froid avec une température minimale de 7.37 °C.

3.6.2. Les précipitations (Pluviométrie) :

Le terme de précipitation désigne tout type d'eau qui tombe du ciel, sous forme liquide ou solide. Cela inclut la pluie, la neige, la grêle. (Dajoz, 2000). Djebaili (1978) définit la pluviosité comme étant le facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat.

La région de l'extrême Nord - Est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées (1300 mm/an). (BNEF, 1985). La précipitation annuelle dans la région de Skikda équivaut à 780 mm/an. Ainsi le mois de Décembre est le mois le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 127.56 mm, et le mois d'Août est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 14.17 mm. (Tab. 02)

Les précipitations sont donc très importantes et la wilaya est la plus arrosée d'Algérie. Les précipitations sont marquées par leurs aspects torrentiel, leurs mauvaises répartition dans le temps et dans l'espace et ruissellent avec une capacité d'infiltration presque nulle. (ONEDD de Skikda, 2012)

3.6.7. Synthèse climatique :

- **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson :**

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson est une méthode graphique qui permet de définir les périodes sèche et humide de l'année, où sont portés en abscisses les mois, et en ordonnées les précipitations moyennes (P) exprimées en millimètres et les températures (T) en degrés Celsius, avec $P = 2T$. Une période peut être considérée sèche si $P < 2T$, c'est-à-dire si le total des précipitations est inférieur ou égal au double de la température moyenne. Quand la courbe ombrique (de ombros = pluie) passe sous la courbe thermique on est précisément dans cette situation où $P < 2T$. (Bagnouls et Gausson, 1957)

La figure 04 représente le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la région de Skikda établit à partir des données pluviométriques et thermiques moyennes mensuelles calculées sur une période de 14 ans (1997 – 2011).

L'analyse du diagramme (Fig. 04) montre que la période sèche est d'environ 05 mois. Elle s'étend du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, tandis que la période humide est d'environ 7 mois, s'étend du mois d'Octobre jusqu'au mois d'Avril.

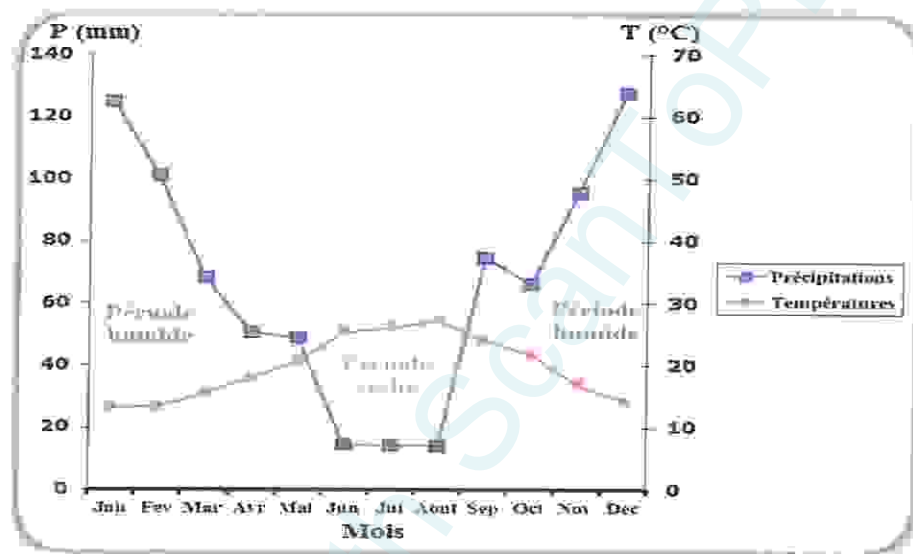


Figure 04 : Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la région de Skikda.

• L'indice pluviométrique d'Emberger :

L'indice pluviométrique d'Emberger nous aide à définir les cinq étages de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haut montage. (Emberger, 1955)

Son principe se base sur le régime des précipitations et des températures qui s'exprime selon la formule suivante:

$$Q_2 = \frac{1\ 000 \cdot P}{\left[\frac{M + m}{2} \right] (M - m)}$$

Q_2 = Quotient pluviométrique d'Emberger.

P = Précipitation annuelle moyenne (mm).

M = Température des maxima du mois le plus chaud (°K).

m = Température des minima du mois le plus froid ($^{\circ}\text{K}$).

Pour déterminer l'étage bioclimatique de la région d'étude, il faut procéder au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger (Q_2).

- $P = 800.48 \text{ mm}$: Précipitations annuelles en mm ;
- $M = 33.2 \text{ }^{\circ}\text{C} = 306.35 \text{ }^{\circ}\text{K}$: Moyenne des maxima du mois le plus chaud ;
- $m = 7.37 \text{ }^{\circ}\text{C} = 280.52 \text{ }^{\circ}\text{K}$: Moyenne des minima du mois le plus froid.

Pour la région de Skikda, le Q_2 calculé est de 105,61. En rapportant les valeurs de Q_2 et de m sur le climagramme d'Emberger, nous trouvons que notre région est sous l'influence d'un climat subhumide à hiver tempéré. (Fig. 05)

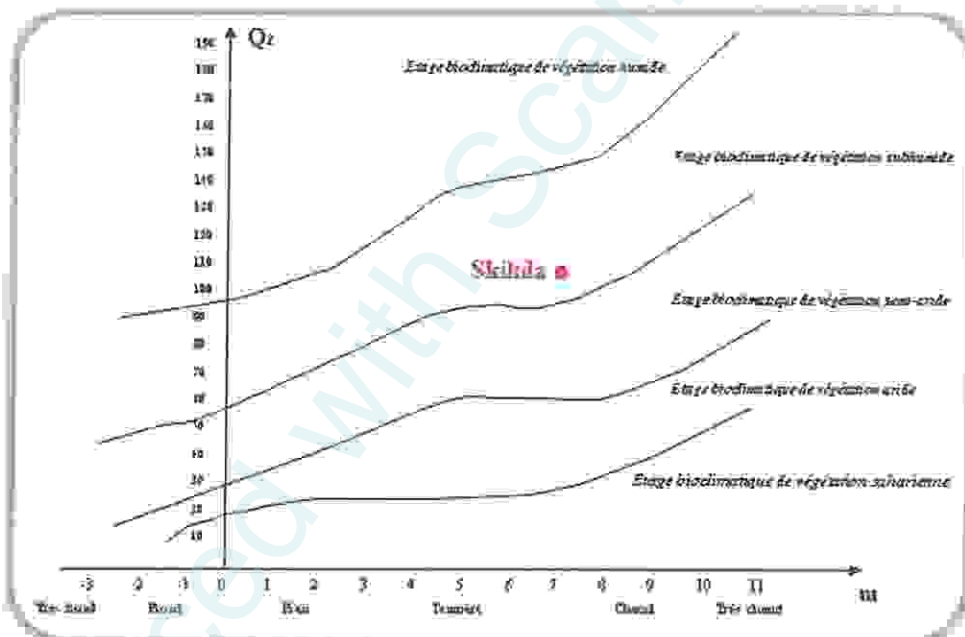


Figure 05 : Situation de la wilaya de Skikda dans le climagramme d'Emberger.

3.7. Exploitation de site :

3.7.1. L'agriculture et l'irrigation :

Le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest est un bassin à vocation agricole, à cause de la superficie importante des terres agricoles qui est de l'ordre de 51 516 ha.

Les terrains agricoles sont occupés par des cultures englobant la céréaliculture, la jachère, culture industrielle et maraîchère. Ils se concentrent au niveau des pentes faibles à moyennes et s'étendent sur 42,58 % de la superficie total du bassin.

Les terrains arboricoles s'étendent sur une superficie plus ou moins faibles qui est de 2.13 % du bassin versant. Le vignoble est cultivé sur une superficie de 10.59 km², soit 0.86 % de la superficie total du bassin. (Direction des forêts de Skikda, 2012)

L'irrigation est le premier consommateur d'eau dans le bassin versant, avec plus de 80 % des demandes, vu la grande superficie agricole et le type des cultures irriguées et le sol. (DSA de Skikda, 2012). Le potentiel en terres irriguées du bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest est estimé de 4421 ha selon les données de la DSA de Skikda. (Daifallah, 2008). Elle est moderne (par canaux d'aspersion) et traditionnelle (par séguia) selon le type de culture. (Fig. 06) (ABH- CSM, 2005)

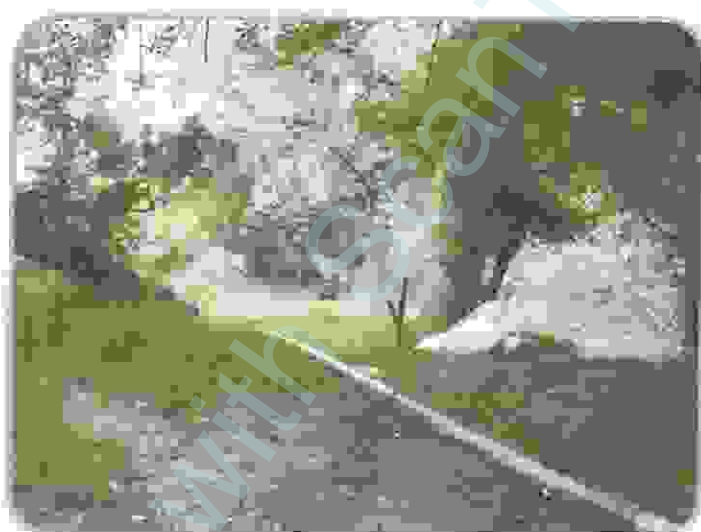


Figure 06 : L'utilisation des eaux de l'Oued El Kebir Ouest dans l'irrigation.
(Photo prise par Abdellioui Sana)

L'évolution des besoins en eau pour l'agriculture est liée directement à l'augmentation des terres agricoles irrigables. En projetant une augmentation de 1000 ha toute les cinq années à venir, alors, les besoins en eau augmentent jusqu'à 70.05 Hm³/an en 2030. (CNERU, 2010)

3.7.2. Le pâturage :

La commune de Ben Azzouz est bien connue par l'activité de pâturage. (Fig. 07). L'Oued El Kebir Ouest est utilisé massivement pour le pâturage notamment en période sèche lorsque les niveaux d'eau baissent et tous les points de site deviennent accessibles.



**Figure 07 : Le pâturage dans les terres voisinant des eaux de l'Oued El Kebir Ouest.
(Photo prise par Merzoug Seyf Eddine)**

3.7.3. L'aquaculture :

L'aquaculture qui devait ouvrir de larges perspectives pour l'accroissement des productions vu les différents plans d'eau (naturels et artificiels) et les cours d'eau à écoulement permanent recensés à travers le territoire de la wilaya, demeure peu ou pas connue alors qu'en termes de production, 2000 tonnes/an lui était assignée. Actuellement l'aquaculture se limite à l'ensemencement et à l'exploitation des barrages. La production de la pêche continentale a quant à elle, en 2006 concerné 300 Kg d'anguilles obtenus exclusivement au niveau de l'Oued El Kebir Ouest. (CNERU, 2010)

3.7.4. L'industrie :

L'industrie est jugée un utilisateur faible en matière d'eau, qui pompe des quantités d'eau négligeables (11,76 %) par rapport aux autres usagers. (Daifallah, 2008)

L'activité industrielle est à ne pas négliger. Plusieurs unités industrielles ont été implantées et qui déversent leurs rejets dans les eaux de l'Oued El Kebir Ouest. (Tab. 02)

Tableau 02: Les industries polluantes de l'Oued El Kebir Ouest à la commune de Ben Azzouz. (CNERU, 2010)

Dénomination du complexe	Localisation	Types de produits
Briqueterie de Ben Azzouz	Boumaiza (Ben Azzouz)	Briques
Conserverie EZDIHAR	Ain Nechma (Ben Azzouz)	Double concentré de tomate, Jus fruits, Harissa, Sauce tomate, Ketchup, Mayonnaise
Conserverie (CBA)	Boumaiza (Ben Azzouz)	Double concentré de tomate, Jus fruits, Harissa, Confitures
S.I.F.C.O.	Boumaiza (Ben Azzouz)	Carton ondulé
Société des abattoirs de l'Est	Ben Azzouz	Poulets et dindes abattus
61 Poulailleurs	Ben Azzouz, Bekkouche Lakhdar, la Marsa	Poulets et dindes

3.7.5. Loisirs et tourisme :

L'Oued El Kebir Ouest ne jouit pas un afflux touristique important. Seule la station balnéaire de la plage de la Marsa, située au bout de la plaine, jouit un fort afflux touristique durant la saison estivale. Cependant, l'Oued est fréquenté surtout par les pêcheurs. C'est un lieu de pêche important en raison de leur productivité élevée. (Fig. 08)



Figure 08 : Les pêcheurs au niveau de l'Oued El Kebir Ouest.

(Photo prise par Abdellioui Sana)

4. La pollution des eaux superficielles

La pollution ou la contamination de l'eau peut être définie comme une altération qui rend son utilisation dangereuse et entraîne une perturbation de l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles et/ou les eaux souterraines. (Rejsek, 2002)

La dégradation de l'eau est une modification de ses propriétés physiques, chimiques et biologiques ; par des déversements, rejets, dépôts directs ou indirects de corps étrangers ou de matières indésirables telles que les microorganismes, les produits toxiques, les déchets industriels. (Koller, 2004)

4.1. La pollution urbaine :

La pollution urbaine est représentée par toutes les eaux usées chargées de détergents, de graisses, de solvant, de débris organiques, de produits chimiques et de matières fécales ce qui ont un impact néfaste sur la qualité des eaux. (Rejsek, 2002). A ceux-ci s'ajoutent les eaux pluviales qui lessivent les toits et le bitume et sont chargées en produits minéraux et organiques.

4.2. La pollution industrielle :

Le domaine de l'industrie est lui aussi très nocif pour l'eau, par des eaux résiduaires industrielles, qui sont des eaux en principe rejetées par l'usine dans le milieu extérieur, et qui sont responsable de plusieurs types de pollution :

- **Pollution thermique :**

Les eaux rejetées par les usines utilisant un circuit de refroidissement de certaines installations (centrales thermiques, nucléaires, raffineries, aciéries..) ; ont une température de l'ordre de 70 °C à 80 °C. Elle diminue jusqu'à 40 °C à 45 °C lorsqu'elle contacte les eaux des milieux aquatiques entraînant un réchauffement de l'eau, qui influe sur la solubilité de l'oxygène. (Koller, 2004)

- **Pollution chimique :**

Elle résulte des rejets chimiques, essentiellement d'origine industrielle. La pollution chimique des eaux est regroupée dans deux catégories : organiques (hydrocarbures, pesticides, détergents, phénols...) et minérales (métaux lourds, azote, phosphore...). (Koller, 2004)

- **Pollution mécanique :**

Elle résulte des décharges de déchets et de particules solides apportés par les eaux résiduaires industrielles, ainsi que les eaux de ruissellement. Ces polluants sont soit les éléments grossiers soit du sable ou bien les matières en suspension. (Mekhalfa, 2009)

- **Pollution organique :**

C'est les effluents chargés de matières organiques fermentescibles (biodégradables), fournis par les industries alimentaires et agroalimentaires (laiteries, abattoirs, sucreries...). Ils provoquent une consommation d'oxygène dissous de ces eaux, entraînant la mort des poissons par asphyxie et le développement de fermentation anaérobie génératrices de nuisances olfactives. (Donnier, 2007)

4.3. La pollution agricole :

L'agriculture est le plus grand utilisateur d'eau et la principale source de pollution des terres et des eaux de surface par les nitrates, le phosphore et aussi l'activité qui pollue le plus par les apports en ammoniacale. (Koller, 2004)

L'agriculture utilise de plus en plus des engrais chimiques dont l'excès non absorbé par les plantes devient polluant.

Les causes des différentes formes de pollution agricole sont : les engrais, les produits phytosanitaires (herbicides et pesticides), les déjections animales qui accompagnent les élevages intensifs et les accumulations de métaux (Cu, Zn) provenant des compléments alimentaires des animaux d'élevage et des résidus d'antibiotiques utilisés contre les infections animales ou pour favoriser leur croissance. (Genin et al., 2003)

4.4. Impact de la pollution :

4.4.1. Sur le milieu naturel :

Les modifications de température et de pH, perturbent le développement normal de la faune et de la flore. Le rejet de matière organique entraîne une surconsommation d'oxygène par les microorganismes et en prive d'autant les poissons. Les matières en suspension conduisent aussi au colmatage des branchies des poissons, les rejets d'azote et de phosphore favorisent l'eutrophisation des lacs. Ceci conduit à la modification de l'équilibre des écosystèmes. (Moletta, 2002)

4.4.2. Sur l'économie :

Il faut se rendre compte que dépolluer reste encore actuellement une activité de riches. Personne ne peut nier la nécessité de prendre en compte notre environnement.

En certaines périodes de l'année, la prolifération d'algues qui viennent s'échouer et pourrir sur les côtes conduit à des nuisances qui perturbent fortement l'activité touristique de ces régions... Cette prolifération est attribuée aux rejets de polluants azotés et phosphorés locaux ou d'ailleurs. Le maintien de l'activité touristique implique l'élimination de ces nuisances. Ceci représente un coût et un manque à gagner important. (Moletta, 2002)

4.4.3. Sur la santé :

Les maladies liées à la présence d'éléments pathogènes ou de molécules toxiques sont très répandues :

- Paludisme (un million de décès par an, 100 à 150 millions de cas annuels dont 90 % en Afrique, et 300 millions de porteurs de parasites) ;
- Filaires (maladie due à un vers injecté par des moustiques sous les climats chauds et humides) ;
- Le choléra, dû aux vibrions cholériques présent dans les eaux souillées ;
- L'hépatite A (due à un virus présent aussi dans les eaux polluées) ;
- Et les autres comme les dysenteries d'origines parasitaires, bactériennes et virales aux conséquences qui peuvent être très grave chez le jeune enfant.

Les métaux lourds comme le mercure, le plomb, le cadmium, le cuivre ... présentent la particularité de se concentrer dans la chaîne biologique. Ils ne sont pas dégradables, leur présence est donc rémanente. Ils conduisent à des pathologies diverses en fonction de leurs natures, pathologies qui peuvent être très graves, voir mortelles. (Moletta, 2002)



Chapitre II : Matériel et méthodes



Produced with ScanTopDF

L'eau est un élément essentiel de la vie et intervient dans les différentes activités humaines. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Elle est aussi considérée comme un transporteur potentiel de nombreuses maladies appelées « Les maladies à transmission hydriques ».

1. Echantillonnage

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

1.1. Matériel d'échantillonnage :

La verrerie destinée aux prélèvements d'eau doit être munis d'un nettoyage avec un détergent puis rinçage avec l'eau propre (eau douce), puis un rinçage final avec l'eau distillée. (Lightfoot, 2002; Guiraud, 1998)

Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vis métallique (Rodier *et al.*, 1996) stérilisés soit à l'autoclave (120 °C) durant 15 minutes, soit au four Pasteur (170 °C) durant 1 heure. (Rodier *et al.*, 2009)

Le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination. (Rodier *et al.*, 1996)

Pour éviter les risques de contamination, les flacons choisis pour l'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'eau et une fois l'opération est effectuée, ils doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse.

1.2. Méthode de prélèvement :

Nos prélèvements ont été effectués au niveau des eaux de l'Oued El Kebir Ouest et des eaux usées de la commune de Ben Azzouz.

Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont

plongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels ou artificiels. (Rodier et al., 1996)

Le prélèvement de nos échantillons a été effectué manuellement sur des points de prélèvement fixes en utilisant des flacons stériles de 250 ml.

Rincés au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, les flacons sont ouverts sous l'eau, goulot dirigé à contre-courant, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. (Rodier et al., 1996)

Les récipients ne seront jamais remplis complètement. Toujours laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le bouchon, ce qui facilite l'homogénéisation et un mélange correct de l'échantillon au moment de son analyse en laboratoire.

1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. (Fig. 09). Dans ces derniers, on doit noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Lightfoot, 2002)



Figure 09 : Un flacon d'échantillonnage munis des étiquettes.

1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse :

Les échantillons soigneusement étiquetés sont placés dans une glacière contenant de la glace et transportés ensuite au laboratoire. (Fig. 10)

Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10 °C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être

comprise entre 4 à 6 °C. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon. (Rodier *et al.*, 2009).

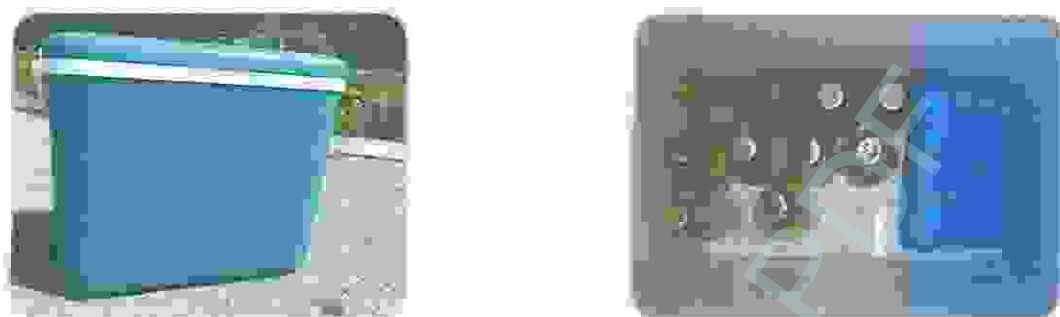


Figure 10 : La glacière transportant l'échantillon.

2. Choix des stations de prélèvement

Au niveau du bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest, les sorties sur terrain nous ont permis de caractériser des sites de prélèvements suivant la situation géographique de ces points d'eau, de l'habitat environnant, des sources de pollution et des objectifs pour lesquels le prélèvement est effectué.

Pour mieux évaluer la qualité microbiologique de l'eau d'Oued El Kebir Ouest, nous avons choisi cinq points de prélèvements tout au long du cours d'eau détaillés dans le tableau 03. Il s'agit des points situés en amont, au niveau et en aval des rejets des eaux usées de la commune de Ben Azzouz, un point très loin, et le dernier proche de l'embouchure. (Fig. 11)

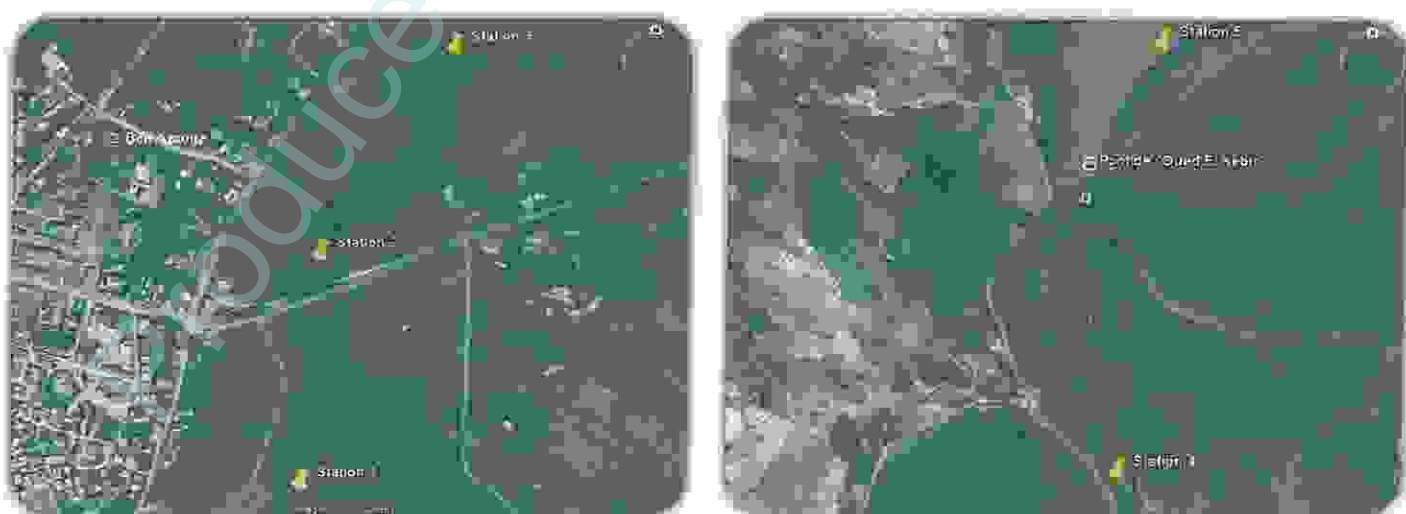
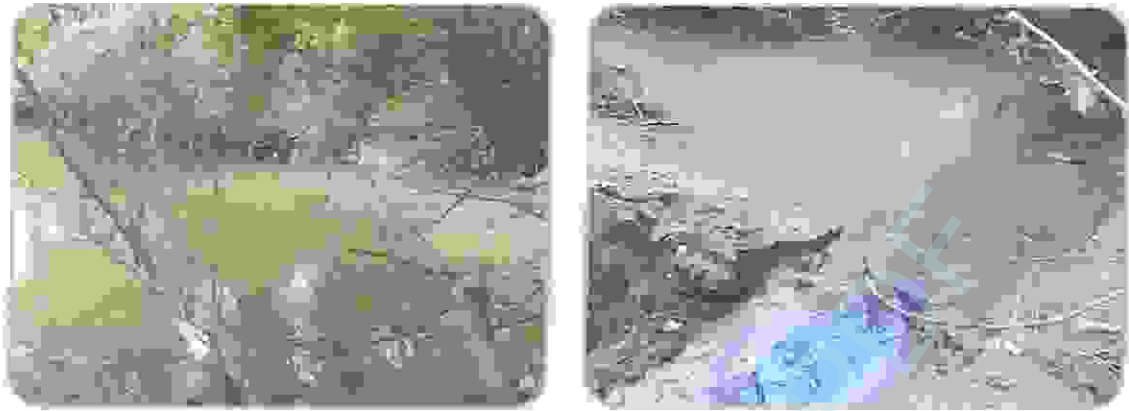


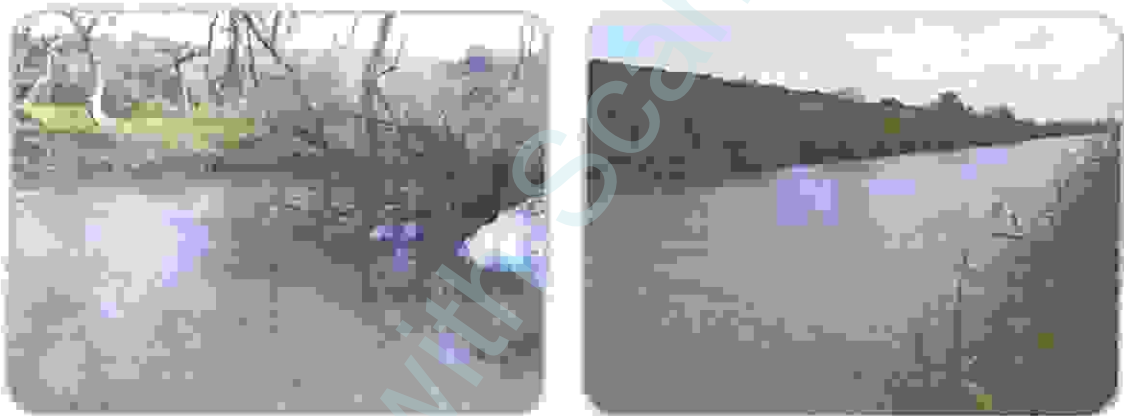
Figure 11 : Localisation des points de prélèvements (Source : Google Earth, 2012).

Tableau 03 : Présentation du point de prélèvement.

Stations	Coordonnées géographiques	Caractéristiques
01 (Fig. 12)	X = 36° 51' 37. 80" N	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation dans l'irrigation des champs agricoles. - Prélèvement témoin en amonts de la zone d'influence du rejet (200 m avant les rejets).
	Y = 7° 17' 53. 01" E	
	Z = 12 m	
02 (Fig. 12)	X = 36° 51' 40. 59" N	<ul style="list-style-type: none"> - Situé dans la zone urbaine. - L'existence des stations de pompage. - Rejet des eaux usées domestiques de la commune de Ben Azzouz.
	Y = 7° 17' 52. 61" E	
	Z = 11 m	
03 (Fig. 13)	X = 36° 51' 44. 25" N	<ul style="list-style-type: none"> - A distance de 30 m après les rejets domestiques. - Utilisation dans l'irrigation des champs agricoles.
	Y = 7° 17' 55. 08" E	
	Z = 10 m	
04 (Fig. 13)	X = 36° 56' 34. 99" N	<ul style="list-style-type: none"> - La présence des roseaux. - Il alimente Garaet Lemsoussa - Loin de la zone urbaine. - Utilisation dans l'irrigation des champs agricoles. - Lieu de pâturage. - Fréquenté par les pêcheurs - Ne reçoit aucun rejet urbain ou industriel.
	Y = 7° 15' 38. 20" E	
	Z = 2 m	
05 (Fig. 14)	X = 36° 57' 17. 39" N	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation dans l'irrigation des champs agricoles. - Lieu de pâturage. - Fréquenté par les pêcheurs (pêche pratiquée comme loisir et comme profession). - Près de la route. - Environ 8 km de l'embouchure à la plage El Marsa.
	Y = 7° 15' 42. 61" E	
	Z = 3 m	



**Figure 12 : La station 01 (à gauche) et la station 02 (à droite) au mois de Mars.
(Photo prise par Abdellioui Sana)**



**Figure 13 : La station 03 (à gauche) et la station 04 (à droite) au mois de Mars.
(Photo prise par Abdellioui Sana)**



Figure 14 : La station 05 au mois de Mars. (Photo prise par Abdellioui Sana)

3. Nature et période de prélèvement

Nous sommes intéressés à la détermination de la qualité microbiologique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest, pour cela on a effectué 01 prélèvement pendant chacun des deux mois de Mars et Avril 2012. (Tab. 04)

La totalité de nos analyses microbiologiques ont été réalisés au niveau du laboratoire de la direction de santé (DDS) de la wilaya de Guelma, et au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie de l'université du 08 Mai 1945 de Guelma.

Tableau 04 : Nature et période du prélèvement.

Stations	Conditions météorologiques	Nature du prélèvement	Périodes des prélèvements		Heures	Type des analyses effectuées
S 1	Au mois de Mars : Beau temps, ensoleillé. Au mois d'Avril : partiellement nuageux.	Eau	P 1	25/03/2012	09 : 14	Mesures <i>in situ</i> Analyses bactériologiques Analyses fongiques
S 2			P 2	22/04/2012	09 : 34	
			P 1	25/03/2012	08 : 53	
S 3			P 2	22/04/2012	09 : 19	
			P 1	25/03/2012	08 : 44	
S 4			P 2	22/04/2012	09 : 04	
			P 1	25/03/2012	08 : 08	
S 5			P 2	22/04/2012	08 : 22	
			P 1	25/03/2012	07 : 53	
					P 2	

4. Mesures *in situ*

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place en plongeant directement le matériel dans l'eau.

Ces paramètres sont très variables aux conditions du milieu et ils permettent une première estimation de la qualité générale de l'eau. En effet, ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et sont susceptibles de changer dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

La température, pH, conductivité électrique ont été mesurés à l'aide d'une sonde multiparamètres de marque HANNA (HI98 12-5 pH/°C/EC/Tbs METER). (Fig. 15). La couleur, a été estimée à l'œil nue.

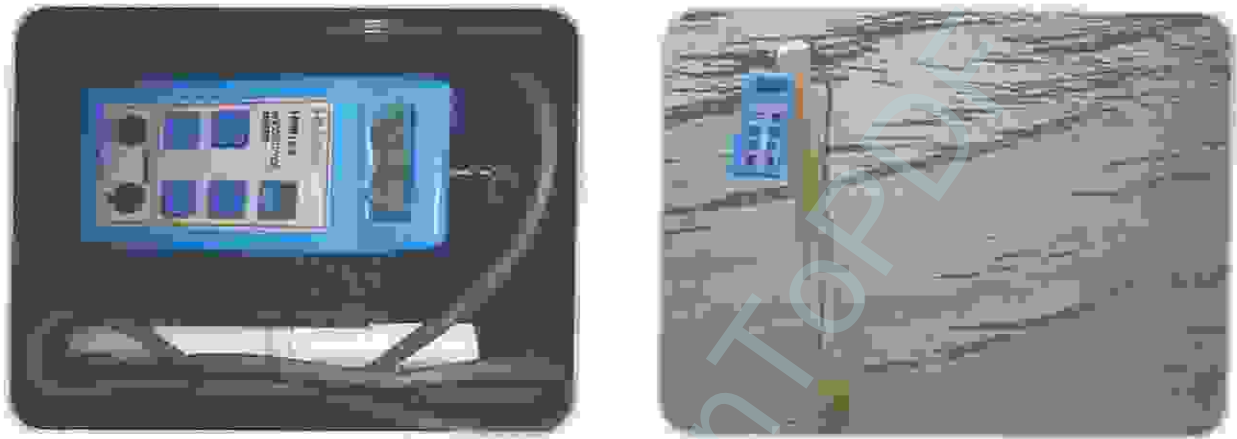


Figure 15 : Multiparamètre de marque HANNA.

4.1. La couleur apparente :

Le paramètre de la couleur apparente se fait par un examen visuel en observant la couleur de l'eau. C'est la seule qui puisse être utilisée sur le terrain de manière simple.

Une eau pure observée sous une lumière transmise sur une profondeur de plusieurs mètres émet une couleur bleu claire car les longueurs d'onde courtes sont peu absorbées alors que les grandes longueurs d'onde (rouges) sont absorbées très rapidement.

La couleur apparente d'une eau c'est la couleur due aux substances dissoutes et aux matières en suspension. (Rejsek, 2002 ; Rodier et al., 1996)

4.2. La température :

Il est très important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. (Tab. 05). En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique et dans la détermination de pH pour la connaissance de l'origine de l'eau. (Leclerc, 1996 ; Rodier et al., 1996)

La température de l'eau dépend d'une série de facteurs tels que : latitude, la saison, l'insolation, la profondeur, la couleur de l'eau, le volume de l'eau, l'origine des eaux, les rejets industriels, domestiques qui généralement élèvent la température de l'eau. [3]

La mesure de la température est effectuée sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multiparamètres. La lecture est faite après une immersion de 10 minutes. (Boukrouma, 2008 ; Rodier et al., 1996)

Tableau 05 : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température. (Monod, 1989)

Température	Qualité
< 20 °C	Normale
20 °C – 22 °C	Bonne
22 °C – 25 °C	Moyenne
25 °C – 30 °C	Médiocre
> 30 °C	Mauvaise

4.3. Le pH :

Le potentiel hydrogène, plus connu sous le nom de « pH » est la valeur qui détermine si une substance est acide, neutre ou de base, il est calculé à partir du nombre d'ions hydrogène présents. (Rodier et al., 1996)

L'échelle des pH s'étend en pratique de 0 (très acide) à 14 (très alcalin) ; la valeur médiane 7 correspond à une solution neutre à 25 °C. Un pH inférieur à 7 indique que la solution est acide, et un pH supérieur à 7 indique que la solution est basique. (Tab. 06). La mesure du pH doit se faire sur place. (Rodier et al., 1996)

Tableau 06 : Classifications des eaux d'après leur pH. (Hakmi, 2002 ; Agrigon, 2000)

pH	Nature de l'eau
pH < 5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
pH = 7	pH neutre
7 < pH < 8	Neutralité approchée: majorité des eaux de surface.
5.5 < pH < 8	Majorité des eaux souterraines
pH > 8	Alcalinité forte, évaporation intense

4.4. La conductivité électrique :

La conductivité traduit la minéralisation totale de l'eau. (Tab. 07) (Rejsek, 2002 ; Rodier *et al.*, 1996).

La conductivité est liée à la présence d'ions en solution, et dépend de leur nature et leurs concentrations. (Rejsek, 2002). Donc, Il existe une relation entre la teneur en sels dissous d'une eau et sa conductivité. (Rodier *et al.*, 1996)

Tableau 07 : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.
(Cité in Merzoug, 2009)

Conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Qualité des eaux
CE < 400	Bonne
400 < CE < 750	Bonne
750 < CE < 1500	Passable
1500 < CE < 3000	Médiocre

5. Les analyses microbiologiques

Le choix des méthodes d'examen microbiologique des eaux dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées. (Rodier *et al.*, 2009)

La population microbienne qui se trouve dans l'eau peut avoir plusieurs origines ; soit elle est purement aquatique, terrestre (vient du sol, des végétaux au voisinage du cours d'eau ...), ou bien d'origine humaine ou animale (contamination fécale).

- **Matériel de laboratoire :**

Au laboratoire, on a utilisé le matériel classique d'un laboratoire de microbiologie : appareil de stérilisation (four Pasteur, autoclave), des appareils d'incubation (des étuves à 37°C, à 22 °C et à 44 °C), réfrigérateur, bec Bunsen.

Les géloses employées sont : Mac Conkey, Chapman, Hektoen, *Salmonella-Shigella*, Thiosulfate – Citrate – Bile – Saccharose (TCBS), cétrimide, viande foie (VF), Tryptone – Glucose – Extrait de levure – Agar (TGEA), sabouraud Chloramphénicol, sabouraud, milieu à

l'extrait de malt. Les milieux d'enrichissement utilisés sont : Sélénite Cystéine (SFB), eau peptonée alcaline (EPA). Pour le dénombrement des germes de contamination fécale on a utilisé les milieux liquides de dénombrement (BCPL, Rothe) et les milieux liquides de confirmation (bouillon Litsky, bouillon Schubert et/ou eau peptonée exempte d'indole).

Pour l'observation microscopique on a utilisé : un microscope optique, violet de gentiane, fuschine, lugol, alcool, huile de cèdre, lames et lamelles, ruban adhésif.

L'identification a été basée sur la galerie biochimique classique ou les API systèmes BioMérieux. Ainsi, on a utilisé le matériel usuel de paillasse tel que les additifs, eau distillée, pipette Pasteur, anse de platine, boîtes de Pétrie, etc.

La composition des milieux et des réactifs utilisés dans notre travail est détaillée dans l'annexe 01.

5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C et à 22 °C :

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.

▪ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser, et des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage.

Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45\text{ °C} + 1\text{ °C}$. (Lebres, 2002). Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes. (Merzoug, 2009). Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose (Lebres, 2002). Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse. (Merzoug, 2009)

Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

- La première série sera incubée, couvercle en bas à $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 72 ± 3 heures.
- La seconde sera incubée couvercle en bas à $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ pendant 24 ± 1 heures.

Examiner les boîtes dès que possible après la période d'incubation. (Rodier et al., 1996). Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies. (Lebres, 2002)

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

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

Où :

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

d : est 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. (Labres et al., 2008). Exprimer les résultats en UFC. (Rodier et al., 2009)

5.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :

Les indicateurs de contamination fécale permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des microorganismes pathogènes. (Rodier et al., 2009)

5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatif, oxydase négatif, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 °C à 37 °C . Sous ce terme est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae* et qui partagent certaines caractéristiques biochimiques. (Rodier et al., 2009 ; Rejsek, 2002)

Le dénombrement des coliformes à 35 °C - 37 °C est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ». Les coliformes totaux comprennent entre autres les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*. (Rodier et al., 2009 ; Prescott et al., 2003 ; Rejsek, 2002).

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44 °C et de produire du gaz dans les 24 heures à 44,5 °C. (Prescott et al., 2003). L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. (Roux, 2003).

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 °C. (Labres et al., 2008 ; Denis et al., 2007).

- **Mode opératoire :**

La recherche et le dénombrement des coliformes et l'identification d'*E. coli* ont été effectuées par la méthode du nombre le plus probable (NPP) appelée aussi la colimétrie.

La recherche et le dénombrement des coliformes totaux, fécaux et des *Escherichia coli* dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- ⊗ Le test présomptif : Réservé à la recherche des coliformes ;
- ⊗ Le test confirmatif : Réservé à la recherche des coliformes fécaux et *E. coli*, (Labres et al., 2008 ; Lebres, 2002)

a- Test de présomption :

Il est effectué en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol simple concentration (BCPL S/C).

On prend 1 ml de l'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et on l'introduit au tube 10⁻¹ contenant 9 ml d'eau distillée stérile. Après avoir bien homogénéisé la dilution 10⁻¹ nous avons réalisé sept dilutions décimales successives (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques (Rejsek, 2002) :

- Prélever 1 ml de la dilution 10⁻¹ à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la première série contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10⁻².
- Nous prélevons 1 ml de la dilution 1/100 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10⁻³.

- Transférer 1 ml de la dilution 10^{-3} dans un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-4} .
- Refaire la technique pour les 4 tubes restants de BCPL afin d'obtenir 7 tubes de BCPL, et refaire la même opération pour les 2 autres séries. (Delarras, 2007)
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Lebres, 2002)

Seront considérés positifs les tubes où il se produit simultanément:

- Un dégagement de gaz (supérieur au $1/10^{\text{ème}}$ de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de la couleur du milieu vers le jaune ce qui indique une fermentation du lactose du milieu (La production d'acide suite à la fermentation du lactose ce qui entraîne le virage du bromocrésol pourpre au jaune). (Delarras, 2007)

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP qui figure en annexe 02 (Lebres, 2002) pour obtenir le nombre le plus probable de coliformes totaux présents dans 1 ml d'eau à analyser.

b- Test de confirmation :

Repiquer chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette Pasteur dans le (ou les) milieu(x) de confirmation. (Rodier et al., 2009). Comme milieu de confirmation, on a utilisé dans le premier prélèvement : le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham et pour le deuxième prélèvement : le milieu eau peptonée exempte d'indole. L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 heures. (Lebres, 2002)

Dans les tubes montrant un trouble microbien et un dégagement gazeux dans la cloche de Durham (Cas de milieu Schubert), ajouter quelques gouttes de réactif Kovacs. Une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneau rouge à la surface de tube autrement dit présence de coliformes fécaux « *E. coli* ».

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP. (Rodier et al., 1996)

5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (*Enterococcus*) :

Les streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe D de la classification de Lancefield, se présentent sous forme de cocci à Gram +, sphériques à ovoïdes formant des

chaînettes (Lebres, 2002), ne possédant pas de catalase, immobile, anaérobie facultative, non sporulant mais possédant l'antigène du groupe D. (Hidouci, 2009 ; Lebres, 2002).

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 réduisant le TTC et qui de plus hydrolysent l'esculine en 48 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine. (Hidouci, 2009 ; Lebres, 2002). Ces entérocoques intestinaux sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale (Mouffok, 2001), car tous ont un habitat fécal. (Rodier et al., 2009)

▪ Mode opératoire :

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- ∅ Le test présomptif : Réservé à la recherche présomptive des streptocoques.
- ∅ Le test confirmatif : Réservé à la confirmation réelle des streptocoques fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

a- Test de présomption :

La recherche se fait en bouillon Rothe S/C (Bouillon à l'azide de sodium simple concentration) :

- Après homogénéisation, On prend aseptiquement 1 ml de l'eau à analyser et on l'introduit au tube 10^{-1} contenant 9 ml d'eau distillée stérile.
- Homogénéiser et prélever 1 ml du tube 10^{-1} et l'introduire dans le premier tube de la première série contenant 9 ml du milieu Rothe S/C pour avoir la dilution 10^{-2} . (Rodier et al., 2009)
- Transférer 1 ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9 ml du milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- Refaire la technique avec les tubes de Rothe restant pour obtenir 7 tubes du milieu Rothe, et avec les séries 2 et 3.
- Incuber les tubes à 37 °C et les examiner après 24 et 48 heures. (Lebres, 2002)

Seront considérés positifs les tubes présentant un trouble microbien, seulement ces tubes doivent faire l'objet d'un repiquage sur milieu Eva Litsky.

b- Test de confirmation :

Après agitation des tubes positifs, prélever sur chacun d'eux successivement 3 oses bouclés (de 3 mm de diamètre) ou quelques gouttes de pipette Pasteur, et les reporter dans des tubes du milieu Eva Litsky à l'éthyl violet et azide de sodium. (Rodier et al., 2009) Bien mélanger le milieu et l'inoculum. Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures. (Lebres, 2002)

Seront considérés positifs les tubes présentant :

- Un trouble due au développement bactérien ;
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond du tube.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP qui figure en annexe 02. (Lebres, 2002)

5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridium*) :

Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bacilles Gram positif (Lebres, 2002), ils sont capables de sporuler et résistent longtemps dans l'environnement (Ferron, 1984) ; se développent à une température de 36 ± 2 °C en 24 à 48 heures sur une gélose viande foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe_2^+ donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. (Lebres, 2002 ; Pechère et al., 1982)

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale ancienne. (Rodier et al., 2009)

• Mode opératoire :

La recherche et le dénombrement des spores des ASR dans l'eau se fait par la méthode d'incorporation en gélose en tubes profonds :

- Après l'avoir homogénéiser soigneusement, prendre environ 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80 °C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.

- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube. (Lebres, 2002)
- Ajouter dans chacun d'eux environ 18 à 20 ml de gélose viande foie, fondue puis refroidie à 45 ± 1 °C, additionnée de 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer. (Rodier et al., 2009)
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures. (Lebres, 2002)
- La première lecture doit absolument être faite à 16 heures, la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.
- Dénombrer sur les 04 tubes de culture, la totalité des colonies noires de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse. (Rejsek, 2002)

5.3. Recherche des germes pathogènes :

Le travail d'ensemencement des microorganismes se pratique sur une paillasse conforme à la réglementation autour de la flamme d'un bec Bunsen. (Delarras, 2007). L'ensemencement par stries sur boîtes de Pétri est pratiqué le plus souvent dans un but d'isolement. L'inoculum est prélevé directement à partir de l'eau à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface (méthode des quadrants). (Aouissi, 2008).

5.3.1. Recherche de *Salmonella* :

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Hafnia* et phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia*. (Federighi, 2005). Les salmonelles sont des bacilles Gram négatifs (BGN) (Lebres, 2002), anaérobies facultatives, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches, ne fermentant pas le lactose, mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H₂S (Labres et al., 2008 ; Carbonnelle et al., 1988 ; Pechère et al., 1982).

- **Mode opératoire :**

Jour 1 : Premier enrichissement

Introduire 1 ml de l'échantillon d'eau dans 10 ml de Sélénite Cystéine (SFB), puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. (Lebres, 2002)

Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

Ce tube fera l'objet :

- D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 1 ml ;
- D'autre part, d'un isolement sur les géloses Hektoen, SS et Mac Conkey. (Lebres, 2002)

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement ;
- D'autre part, les boîtes des géloses Hektoen SS et Mac Conkey subira une lecture.

Identification morphologique et biochimique

- Etat frais et coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) ;
- Inoculation d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h ;
- Inoculation : * Soit d'une galerie biochimique classique,
* Ou d'une galerie biochimique API 20 E. (Lebres, 2002)

5.3.2. Recherche de *Shigella* :

Les Shigelles sont des *Enterobacteriaceae*, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif ; éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. (Carbannelle et al., 1988 ; Pechère et al., 1982)

Pour chercher du *Shigella*, à partir de l'échantillon mère on prélève 0,1 ml et on l'étale sur la surface des géloses Hektoen, SS et Mac Conkey par la méthode des quatre quadrants. L'incubation se fait à 35 - 37 °C pendant 18 - 24 heures.

Identification :

- Etat frais ;
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) ;
- Inoculation d'un tube de TSI qui sera incubé à 37 °C, 24 h. (Tab. 08)
- Inoculation : * Soit d'une galerie biochimique classique,
* Ou d'une galerie biochimique API 20 E.

Tableau 08 : Caractères d'identification biochimique de *Shigella*. (Sayad, 2008)

Milieu	Tests	<i>Shigella</i>
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	Saccharose	-
	H ₂ S	-
	Gaz	-
Mannitol – mobilité	Mobilité	-
Urée – indole	Uréase	-
	TDA	-
Citrate de Simmons	Citrate	-

5.3.3. Recherche de *Vibrio cholérique* :

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, assez court, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 µm et une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 µm, très mobiles grâce à une ciliature polaire, le plus souvent monotriche. (Denis et al., 2007). Ils sont aéro-anaérobies facultatifs (Le Minor et Veron, 1989) et possédant une oxydase et fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H₂S. (Labres et al., 2008).

- **Mode opératoire :**

Jour 1 : Premier enrichissement

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu eau peptonée alcaline (EPA) 10 fois concentré réparti à raison de 50 ml par flacon auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser au moment du prélèvement. Ce dernier sera par la suite incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures. (Lebres, 2002)

Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

Ce flacon fera l'objet :

- D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1 ml ;
- D'autre part, d'un isolement sur gélose TCBS et GNAB. L'incubation se fait donc à 37 °C pendant 24 heures. (Lebres, 2002)

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur TCBS ;
- D'autre part, les boîtes de gélose TCBS et GNAB subiront une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques. (Lebres, 2002)

Identification morphologique et biochimique

Sur gélose TCBS, après 24 h \pm 3 h d'incubation à 37 °C \pm 1 °C les colonies caractéristiques de *V. cholerae* sont jaunes (saccharose positif) pour la plupart, celles de *V. parahaemolyticus* sont vertes (saccharose négatif). (Carbonnelle et al., 1988).

Sur GNAB, les colonies sont rondes, plates, bord réguliers, surface lisse brillantes, translucides sous forme de goutte de rosée. (Patrick et al., 2009).

Une identification morphologique et biochimique basée essentiellement sur :

- Etat frais et coloration de Gram ;
- Oxydase (+) ;
- Ensemencement d'une galerie API 20 E.

5.3.4. Recherche des *Staphylococcus* :

Les *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positif de 0,5 à 2,5 μ m de diamètre, qui se divisent dans des plans différents et de ce fait, forment très souvent des amas cellulaires irréguliers ; ils sont immobiles, non sporulés (Federighi, 2005), et aérobies ou anaérobies facultatifs. (Labres et al., 2008 ; Carbonnelle et al., 1988 ; Pechère et al., 1982). Parmi les espèces retrouvées chez l'homme, trois occupent une place privilégiée : *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. (Avril et al., 1992)

Les espèces de genre *Staphylococcus* peuvent être classées en fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin. (Federighi, 2005)

Pour les produits polymicrobiens, on a recours à des milieux sélectifs tels que le milieu de Chapman qui est un milieu gélosé hypersalé (7,5 % de NaCl) et contient du mannitol. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures. (Fig. 35) (Denis et al., 2007)

Identification :

Les colonies sont alors entourées d'un halo jaune puisqu'elles fermentent le mannitol tout comme parfois *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* et *S. cohnii*. (Denis et al., 2007).

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont de taille importante et élaborent leurs propre pigment ; elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune par la suite de la fermentation du mannitol. (Rodier et al., 1996). L'identification des staphylocoques nécessite la mise en œuvre de réactions spéciales au genre :

- Etat frais et coloration de Gram ;
- Test à la catalase ;
- Oxydase ;
- Mannitol ;
- Recherche de la coagulase libre.

5.3.5. Recherche de *Pseudomonas* :

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles Gram négatif, droits et fins, aux extrémités arrondies, mobiles (à ciliature polaire), aérobies stricts, oxydase positive et se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. (Carbonnelle et al., 1988)

P. aeruginosa cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringia (fleur de la famille des *Philadelphacées* encore appelée « jasmin des poètes »). A partir de prélèvement polymicrobiens, il est nécessaire d'avoir recours à un milieu sélectif contenant du cétrimide. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures. (Denis et al., 2007)

Identification :

- Coloration de Gram.
- Examen directe entre lame et lamelle (état frais), il permet d'observer la mobilité des germes ; (Labres et al., 2008)
- Oxydase ; (Rejsek, 2002)
- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A ;

- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent (*P. fluorescence*) est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Pilet et al., 1987 ; Labres et al., 2008)

5.4. Recherche des levures et moisissures :

Les levures sont des champignons unicellulaires, leur reproduction est principalement asexuée et se reproduisent par scissiparité ou par bourgeonnement.

Les moisissures sont des organismes eucaryotes et la plupart sont pluricellulaires, qui se propagent par leurs spores. Ces éléments se développent en filaments appelés hyphes, lesquels, en s'agglomérant, forment le mycélium. (Raven et al., 2011)

Après incubation, on peut rencontrer deux aspects différents :

- Les levures présentent un aspect mucoïde (comparable aux bactéries). Elles sont identifiées par l'étude simultanée de leurs caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques et biochimiques par l'API 20 C AUX. (Bouchet et al., 1999)
- Alors que les moisissures présentent un aspect duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux ou granuleux souvent sec. Elles sont exclusivement identifiées par leurs caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques par le scotch test. (Chabasse et al., 2002)

6. L'identification

6.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques. (Singleton, 1999). L'aspect des colonies dépend du milieu et de l'incubation (Temps et température). Observer à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire les colonies développées sur les milieux gélosés et noter les caractéristiques suivantes :

- La taille : colonies petites (< 1 mm), moyennes (1,5 à 3 mm), grosses (> 3 mm) ;
- La forme : Bombée, plate, ombiliquée, surélevée ;
- Le contour : à bords circulaire, irrégulière et parfois envahissantes, déchiquetées et parfois envahissantes ;
- Elévation de la colonie : convexe, légèrement convexe, plate ;

- L'opacité : opaque, translucide, transparente ;
- Pigmentation. (Delarras, 2007)

6.2. Examen microscopique :

L'examen microscopique peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais) ou bien après coloration de l'échantillon ou encore après réaction d'immunofluorescence. (Denis et al., 2007)

- **L'examen direct (État frais) :**

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne sans fixation préalable par la chaleur ou l'alcool. (Denis et al., 2007). Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupements, leur abondance et leur mobilité. (Delarras et Trébaol, 2003)

L'examen direct proprement dit se réalise en déposant, sur la lame une goutte du liquide ou de la suspension microbienne à examiner. Cette goutte est recouverte d'une lamelle. Observer au microscope optique à l'objectif $\times 40$. (Carbonnelle et al., 1988)

- **Coloration de Gram :**

Les techniques les plus communément utilisées au laboratoire de bactériologie médicale font appel à des colorations. La préparation est fixée sur une lame puis colorée (bactéries tuées et colorées) (Denis et al., 2007).

- A l'aide d'une boucle d'inoculation (ou pipette Pasteur), on dépose une goutte d'eau sur une lame propre, puis on ajoute à cette eau une colonie ;
- On étale cette suspension sur une surface d'un ou deux centimètres carrés et on laisse sécher, ce qui donne un frottis. Le frottis est ensuite fixé par des passages rapides dans la flamme d'un bec Bunsen. (Singleton, 2005)

La coloration de Gram est considérée comme une référence en bactériologie, elle distingue les bactéries à Gram positifs et Gram négatifs. Elle est réalisée comme suit :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute ;
- Recouvrir de lugol : 1.30 minute ;
- La lame est tenue inclinée et décolorer à l'alcool pendant 10 secondes ;

- Recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute. Laver à l'eau ;
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur ;
- Recouvrir le frottis coloré par l'huile à l'immersion et observer au microscope optique à l'objectif $\times 100$. (Denis et al., 2007)

Les bactéries à Gram positifs doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatifs en rose.

6.3. Examens liés aux caractères biochimiques :

6.3.1. Mise en évidence d'une catalase :

La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'oxygène ou l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau et en oxygène gazeux. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée à 10 volumes. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme. (Carbannelle et al., 1988)

6.3.2. Recherche des cytochromes oxydases :

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase. (Denis et al., 2007). La recherche s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. On pose le disque sur une lame, on l'imbibe avec une goutte d'eau distillée et étaler une colonie sur le disque. La présence d'une oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violette. (Carbannelle et al., 1988)

6.3.3. Recherche de coagulase :

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénécité d'un staphylocoque. Elle se détecte (par le test en tube) par sa capacité à coaguler (c'est-à-dire former un caillot) du plasma contenant un anticoagulant comme le citrate, l'oxalate ou l'héparine. L'anticoagulant est nécessaire parce que, sans lui, le plasma coagulerait spontanément. (Singleton, 2005)

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

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. (Labres et al., 2008; Pechère et al., 1982)

6.3.4. L'API 20 E :

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. [4]

• Mode opératoire :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage et la placer dans la boîte d'incubation.
- Préparation de l'inoculum :
 - ❖ Utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile.
 - ❖ A l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18 – 24 heures).
 - ❖ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie :
 - ❖ Pour les tests [CIT], [VP] et [GEL], remplir tube et cupule,
 - ❖ Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
 - ❖ Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation. Incuber à 36 °C ± 2 °C pendant 18 – 24 heures.
- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
 - ❖ Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA.

- ❖ Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES.
- ❖ Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. (Annexe 03) [4]

- **Interprétation :**

L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

- Détermination du profil numérique : sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21^{ème} test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.
- Identification : elle est réalisée à partir de la base de données.
 - ❖ A l'aide du Catalogue Analytique.
 - ❖ A l'aide du logiciel d'identification apiwebTM. [4]

6.3.5. API 20 NE :

La galerie biochimique standardisée et miniaturisée API 20 NE pour l'identification de certains bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, oxydase positif. Elle se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. [4]

- **Mode opératoire :**

- La préparation de la galerie Api 20 NE se fait de la même façon que l'API 20 E.
- Préparation de l'inoculum : Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85 % Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.
- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente. Éviter la formation de bulles.

- Transférer 4 à 8 gouttes de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium.
- Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.

Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE.

- Incuber 24 heures à 30 °C. (Annexe 04) [4]

- **Lecture et interprétation :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de Lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs.

L'identification est réalisée avec le catalogue analytique ou à l'aide d'un logiciel d'identification. [4]

6.3.6. API 20 C AUX :

API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées.

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. [4]

- **Mode opératoire :**

- La préparation de la galerie API 20 C AUX se fait de la même façon que l'API 20 E.
- Préparation de l'inoculum :
 - ❖ Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml) ou une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml).
 - ❖ A l'aide d'une pipette, prélever une fraction de colonie par aspiration ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes.
 - ❖ Réaliser une suspension de levures de turbidité égale à 2 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
 - ❖ Ouvrir une ampoule d'API C Medium et y transférer environ 100 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir les cupules avec la suspension obtenue dans API C Medium. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.

– Refermer la boîte d'incubation et incuber 48 - 72 heures (± 6 heures) à $29\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Annexe 05) [4]

- **Lecture et interprétation :**

Après 48 heures d'incubation, ou 72 heures (si les tests, en particulier le glucose, ne sont pas très nets après 48 heures), observer la croissance des levures comparativement à la cupule 0, témoin négatif. Une cupule plus trouble que le témoin indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

En constituant un profil numérique, l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique, de l'automate ATBTM, du mini API, ou du logiciel d'identification apiwebTM. [4]

6.3.7. La galerie classique :

- **Le test à l'ONPG :**

Ce test est pratiqué pour toute bactérie lactose négatif en 24 h. Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée. Ajouter avec une pince flambée et refroidie un disque imprégné d'ONPG. Incuber à 37°C pendant un temps variant entre 15 à 30 minutes et jusqu'à 24 heures au maximum. Le virage de la couleur du milieu au jaune indique un test positif (ONPG +). Et si le milieu reste incolore le test est dit négatif (ONPG -). (Delarras, 2007)

- **Bouillon nitrate (Recherche d'un nitrate réductase) :**

Un bouillon nitraté estensemencé avec la bactérie à étudier et incubé 18 heures à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Après incubation, 3 gouttes d'une solution d'acide sulfanilique et 3 gouttes d'une solution de naphtylamine sont ajoutées au bouillon. Si une coloration rose fugace apparaît, les nitrates ont été réduits au stade nitrites. En l'absence de coloration, soit les nitrates ont été réduits au stade azote soit la bactérie ne possède pas de nitrate réductase. L'addition de poudre de Zinc (réactif de Zobel, qui va réduire les nitrates en nitrites) permet de trancher. S'il y a du nitrate (c'est-à-dire, s'il n'a pas été réduit par le germe testé), l'addition de Zinc fera apparaître une coloration rouge parce que le nitrite nouvellement formé se combinera avec les réactifs du

milieu (Singleton, 2005), si aucune modification de coloration n'est visible alors les nitrates avaient été réduits au stade azote par le germe testé. (Denis et al., 2007)

- **Le milieu urée – indole (improprement appelé milieu urée – tryptophane) :**

Ensemencer un milieu urée – indole avec une suspension bactérienne. Incuber 18 à 24 heures à 37 °C. (Euzéby, 2007)

Recherche de l'indole

Après incubation de milieu urée - indole ensemencé avec le germe à tester, ajouter 0,5 ml de réactif Kovacs. La réaction est positive lorsqu'une coloration rouge profond se développe dans la partie supérieure du liquide (anneau rouge en surface). (Rodier et al., 1996)

Recherche d'une uréase

Les uréases sont des enzymes qui hydrolysent l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac. (Singleton, 2005). L'urée, sous l'action d'une uréase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium alcalin entraînant une coloration rouge violacée du milieu (Uréase positive). Si le milieu persiste orange, cela indique un test négatif. (Denis et al., 2007)

Recherche de tryptophane désaminase

Ensemencer un milieu Urée - Tryptophane avec une suspension bactérienne et incuber 18 à 24 heures à 37 °C. (Euzéby, 2007). Ajouter une goutte d'une solution acide de perchlorure de fer (réactif TDA) : coloration immédiate du milieu en brun avec ou sans précipité : TDA positif, coloration jaune-orangé : TDA négatif. (Delarras, 2007)

- **Milieu Clark et Lubs :**

Ensemencer un tube du milieu Clark et Lubs avec la souche bactérienne à tester. Incuber à 37 °C pendant 24 heures. (Delarras, 2007)

La recherche de l'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer)

Transvaser dans un tube stérile 1 ml de la culture sur milieu Clark et Lubs. Ajouter 0.5 ml d'une solution d'alpha-naphtol et 0.5 ml d'une solution de potasse à 16%. Agiter et laisser le tube en position inclinée durant au moins 10 minutes. (Carbounelle al., 1988).

L'apparition d'une couleur rose à rouge signe la réaction positive. Si le milieu reste jaune, le test est négatif. (Delarras, 2007)

La fermentation acide mixte (réaction du rouge de méthyle)

Prélever 2 millilitres du milieu de Clark et Lubs ensemencé depuis au moins 24 heures. Déposer ce volume dans un tube stérile puis ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution de rouge de méthyle à 0.2 %. Une coloration rouge indique que la réaction de rouge de méthyle est positive, dans le cas contraire, le milieu reste jaune. (Carbonnelle et al., 1988)

- **Milieu mannitol – mobilité :**

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, du rouge de phénol comme indicateur de pH. Après le milieu est ensemencé par piqûre centrale. Lorsque l'indicateur coloré passe du rouge au jaune, ce qui correspond à l'acidification du milieu, le mannitol a été utilisé (fermentation du mannitol). (Denis et al., 2007). La mobilité se traduit par une diffusion des colonies bactériennes dans le milieu à partir de la ligne d'inoculation. (Rodier et al., 1996). Alors qu'une bactérie immobile ne se développe que le long de la piqûre centrale et le milieu reste clair en dehors de cette piqûre. (Denis et al., 2007)

- **Le milieu Citrate de Simmons :**

Ensemencer la pente de ce milieu gélosé en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée à la flamme à partir d'une colonie isolée prélevée sur un milieu gélosé. Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Le test citrate est dit positif lorsque la couleur du milieu vire au bleu. Les bactéries citrate négatif ne donnent ni culture ni bleuissement, même après 7 jours d'incubation. (Delarras, 2007)

- **Le milieu TSI ou Triple Sugar Iron :**

Ce milieu est ensemencé avec la souche à étudier en effectuant des stries à la surface de la pente de la gélose puis le culot est ensemencé par piqûre centrale (Denis et al., 2007) à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Incuber à 37°C pendant 24 heures. (Delarras, 2007)

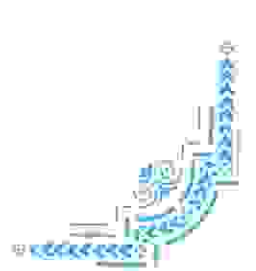
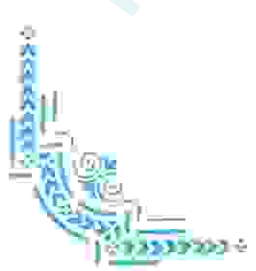
La lecture de ce milieu est résumée dans le tableau 09.

Tableau 09 : Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI.

	Glucose		Lactose et/ou du saccharose		Production de gaz	Formation d'H ₂ S
Le culot	Rouge	Glucose non fermenté			Apparition de gaz dans le culot	Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre
	Jaune	Glucose fermenté				
La pente inclinée			Rouge	Lactose et saccharose non fermentés		
			Jaune	Lactose et/ou saccharose fermenté(s)		



Chapitre III : Résultats et discussion



Produced with ScantOPDF

Les résultats des paramètres physicochimiques mesurés *in situ* et les paramètres microbiologiques sont résumés par des tableaux et des graphiques suivis d'une interprétation.

1. Les paramètres physicochimiques mesurés *in situ*

1.1. La couleur apparente :

La coloration de l'eau peut être causée par la présence de minéraux naturels (le fer et le manganèse), des algues, des protozoaires, des produits de la décomposition des végétaux ainsi que des composés organiques et inorganiques provenant d'effluents industriels et des eaux de ruissellement des terres agricoles peuvent aussi teinter l'eau. (Rejsek, 2002)

Durant notre période d'étude on a constaté que la couleur des eaux de l'Oued El Kebir Ouest se change d'une station à une autre et d'un mois à un autre. (Tab. 10)

Tableau 10 : La couleur de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.

Station Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	Marron foncée	Grise foncée	Marron foncée	Verte pâle	Bleu verté foncée
Avril	Marron claire	Grise foncée	Marron claire	Verte foncée	Bleu verté foncée

Pour l'Oued El Kebir Ouest on a constaté que la couleur de l'eau s'éclaircit de l'amont vers l'aval.

1.2. La température :

La température varie d'une station à une autre en fonction du climat et l'heure de prélèvement. (Tab. 11) (Fig. 16)

Tableau 11 : La température de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (°C).

Station Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	17	22	17.3	18	18
Avril	17	22.8	17.5	18.4	18.6

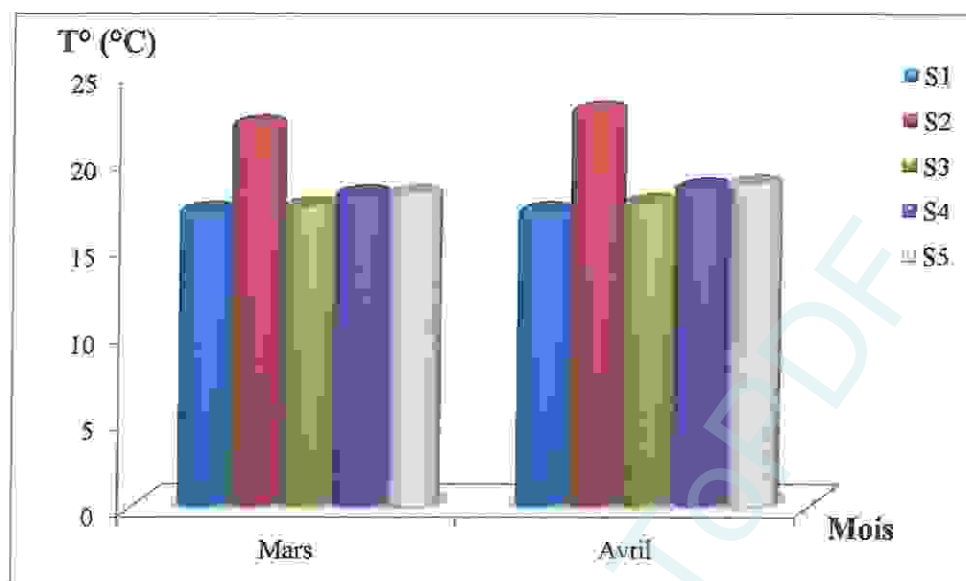


Figure 16 : Variations de la température de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

D'après les résultats, la température minimale obtenue est de 17 °C enregistrée dans la station 01 pendant le mois de Mars et Avril. La température maximale est de 22.8 °C notée dans la station 02 pendant le mois d'Avril.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température, notre eau est de qualité normale (< 20 °C) à moyenne (22 °C – 25 °C). (Monod, 1989)

1.3. Le pH :

Le pH est l'un des paramètres parmi les plus importants de la qualité de l'eau. (Tab. 12) (Fig. 17) (Rodier et al., 2009)

Tableau 12 : Le pH de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.

Station / Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	8.14	6.93	8.02	7.92	7.96
Avril	8.02	7.01	7.87	7.99	8.04

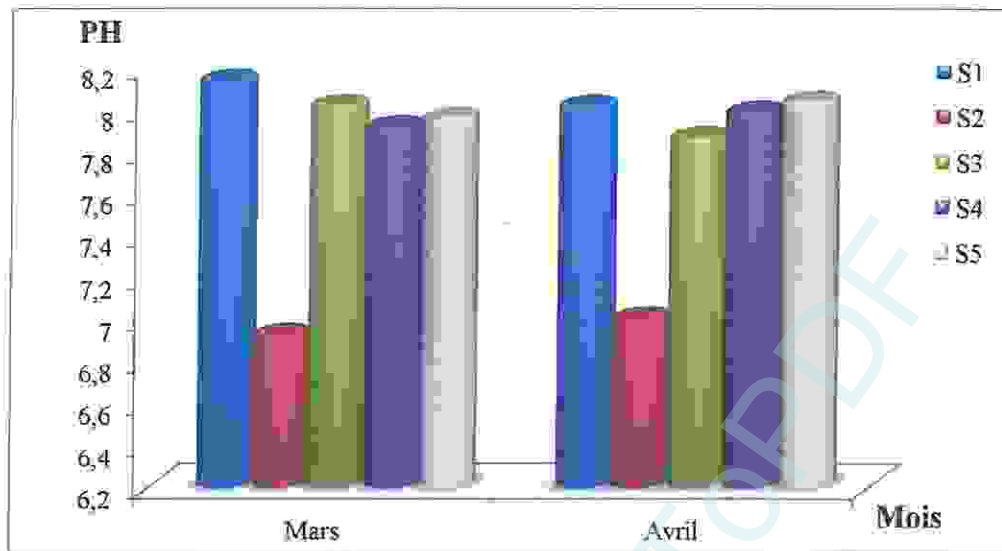


Figure 17 : Variations spatio-temporelles du pH de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

La valeur la plus faible est de 6.93 mesurée dans la station 02 et la plus élevée est de 8.14 obtenue dans la station 01 pendant le même mois (Mars). Le pH de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest est plus au moins neutre ce qui est le cas de la majorité des eaux de surface. Cette gamme de pH favorise la multiplication et la croissance des microorganismes.

1.4. La conductivité électrique :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution. (Tab. 13) (Fig. 18) (Rodier *et al.*, 2009)

Tableau 13 : La conductivité électrique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

Station \ Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	940	690	970	990	1000
Avril	963	714	1002	1060	1083

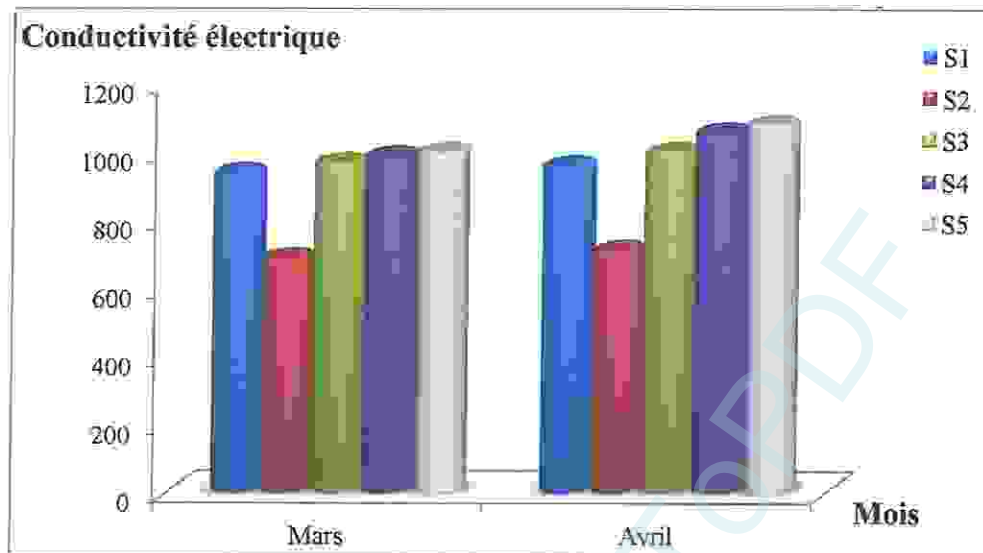


Figure 18 : Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

La conductivité de l'eau augmente progressivement de l'amont vers l'aval de l'Oued. La valeur la plus faible est de 690 $\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée dans la station 02 pendant le mois de Mars, et la plus élevée est de 1083 $\mu\text{s}/\text{cm}$ enregistrée dans la station 05 pendant le mois d'Avril.

D'après la grille de la qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique, la qualité des eaux de l'Oued El Kebir Ouest est de bonne à passable, d'un type très minéralisée voire saumâtre ou saline dans les points proches de l'embouchure.

2. Les analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques des eaux de l'Oued El Kebir Ouest ont montrées une grande variation des concentrations des microorganismes.

2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux :

Les analyses effectuées nous révèlent que le nombre des germes totaux est très élevé et variables d'un mois à un autre et même d'une station à une autre. (Tab. 14)

Tableau 14 : Dénombrement des germes revivifiables à 22 °C et à 37 °C (UFC/ml)

	T°	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	22 °C	5.3×10^4	5.4×10^5	3.8×10^4	5.1×10^4	5.1×10^4
	37 °C	3.3×10^4	5.0×10^4	3.4×10^4	4.6×10^4	3.5×10^4
Avril	22 °C	5.1×10^4	7.3×10^5	4.4×10^4	6.7×10^4	6.2×10^4
	37 °C	4.6×10^4	4.8×10^4	4.1×10^4	1.8×10^4	4.0×10^4

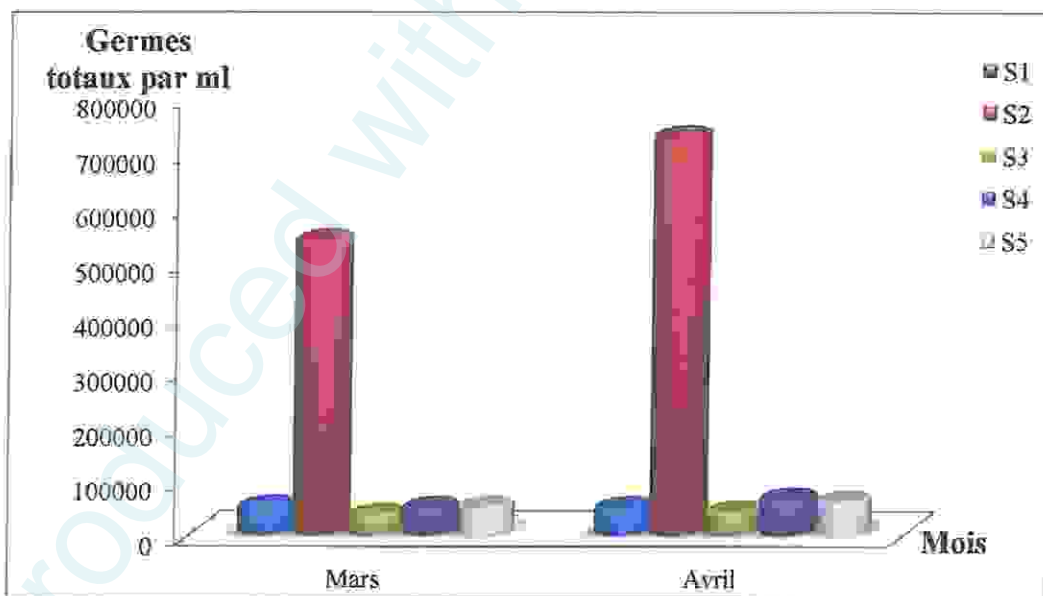


Figure 19 : Evaluation de la flore mésophile aérobie totale à 22 °C de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

Pour le dénombrement des germes totaux à 22 °C, les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans la station 02 et plus particulièrement pendant le mois d'Avril avec 7.3×10^5

UFC/ml. La valeur minimale est de 3.8×10^4 UFC/ml dénombrée dans la station 03 pendant le mois de Mars. (Fig. 19)

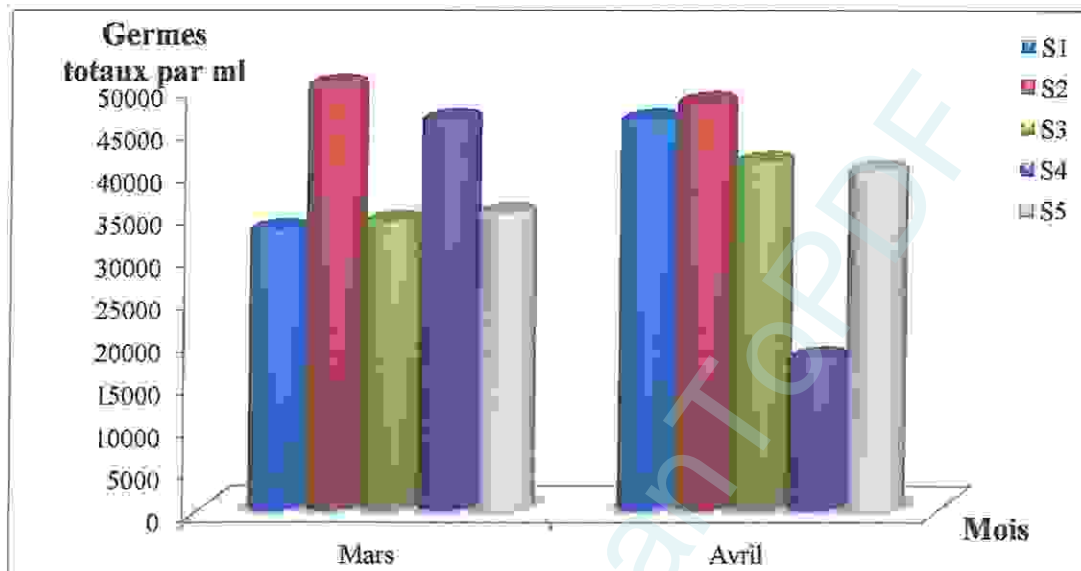


Figure 20 : Evaluation de la flore mésophile aérobie totale à 37 °C de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

Pour le dénombrement des germes totaux à 37 °C, les valeurs les plus élevées sont enregistrées toujours dans la station 02 et plus particulièrement pendant le mois de Mars avec 5.0×10^4 UFC/ml. La valeur minimale est de 1.8×10^4 UFC/ml dénombrée dans la station 04 pendant le mois d'Avril. (Fig. 20)

D'une manière générale, le dénombrement de la flore totale est plus élevé pendant le 2^{ème} prélèvement par rapport au 1^{er} et à la température de 22 °C en comparant à 37 °C. Cela se traduit par l'influence de la température sur la croissance de ces microorganismes.

2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :

Le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale reste la seule approche opérationnelle de contrôle de la qualité microbiologique des eaux.

2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux :

- Coliformes totaux :

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux sont résumés dans les figures et le tableau ci-dessous.



Figure 21 : Dénombrement des coliformes totaux dans la station 01 par la méthode de NPP (Avril 2012).

Tableau 15 : Dénombrement des coliformes totaux (CT/ml).

Station Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	2.0×10^6	1.1×10^6	7.5×10^5	1.1×10^6	9.0×10^4
Avril	1.1×10^9	7.5×10^7	2.5×10^6	1.1×10^6	9.0×10^4

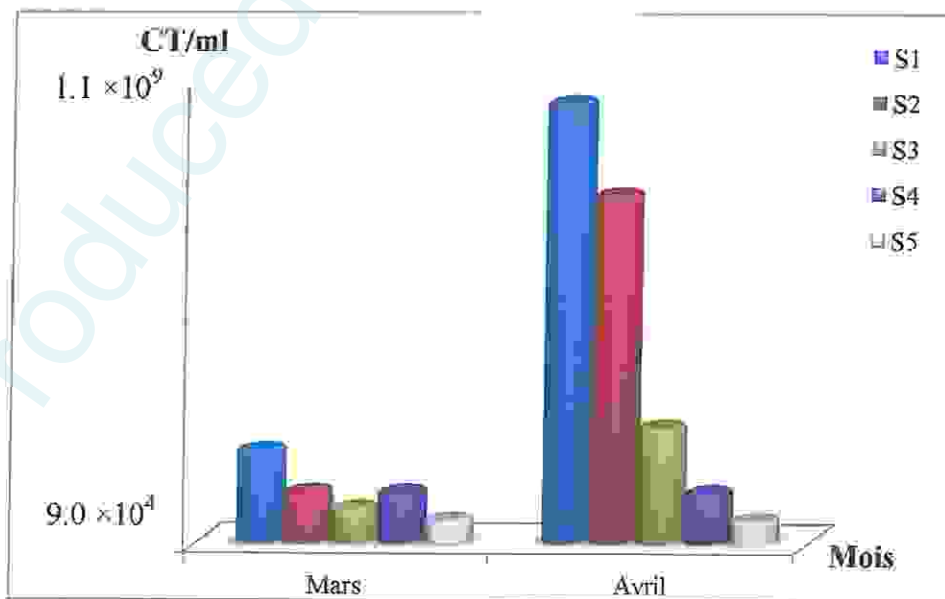


Figure 22 : Estimation des coliformes totaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

D'après le graphique ci-dessus, on observe que la valeur maximale est de 1.1×10^9 CT/ml dans la station 01 pendant le mois d'Avril, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 05 pendant les mois de Mars et Avril, elle est de 9.0×10^4 CT/ml.

Un grand nombre de coliformes totaux vivent en abondance sur les matières fécales des humains et des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance. Mais peuvent également se développer dans certains milieux naturels (sol, végétation).

- **Coliformes fécaux :**

Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux sont résumés dans les figures et le tableau ci-dessous.

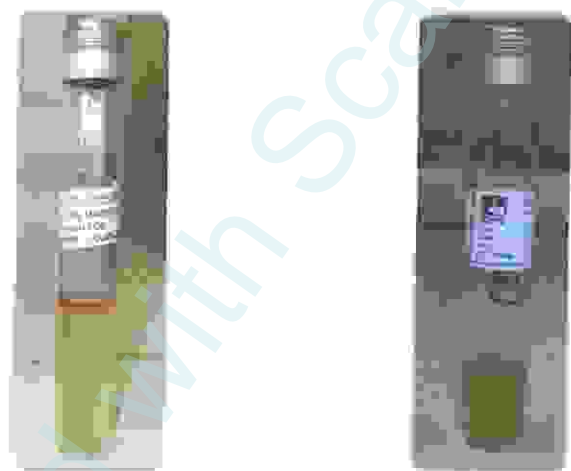


Figure 23 : Test de Mac Kenzie positif

(Le milieu Schubert à droite et le milieu eau peptonée exempte d'indole à gauche).

Tableau 16 : Dénombrement des coliformes fécaux (CF/ml).

Station \ Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	1.5×10^6	2.0×10^5	4.5×10^5	1.0×10^5	2.5×10^4
Avril	9.9×10^8	6.7×10^6	2.2×10^5	1.0×10^5	2.5×10^4

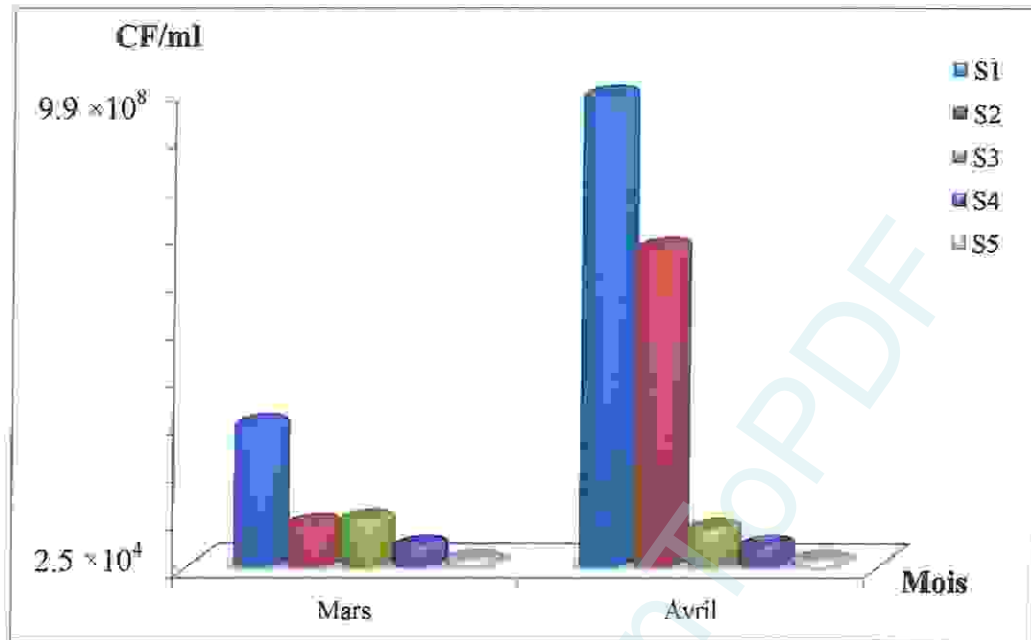


Figure 24 : Estimation des coliformes fécaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

D'après le graphique d'évaluation du nombre des coliformes totaux, on observe que la valeur maximale est de 9.9×10^8 CF/ml notée dans la station 01 pendant le mois d'Avril, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 05 pendant le mois de Mars et Avril et elle est de 2.5×10^4 CF/ml.

2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les analyses microbiologiques effectuées nous montrent que le nombre de streptocoques D est élevé durant toute la période d'étude. (Fig. 25) (Tab. 17)



Figure 25 : Dénombrement des streptocoques fécaux dans la station 01 par la méthode de NPP (Avril 2012).

Tableau 17 : Dénombrement des streptocoques fécaux (SF/ml).

Station Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	2.6×10^5	7.5×10^6	3.1×10^4	2.0×10^5	3.1×10^4
Avril	4.0×10^5	2.0×10^6	4.0×10^4	2.0×10^5	7.4×10^4

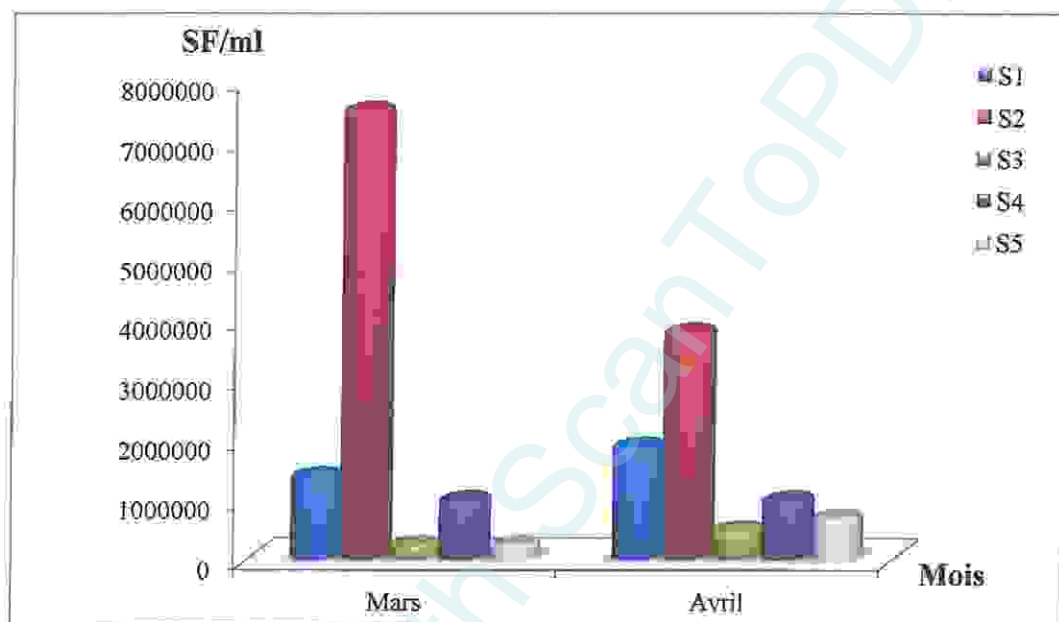


Figure 26 : Estimations des streptocoques fécaux/ml dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest (Mars – Avril 2012).

Le graphique des streptocoques D nous montre que la station 02 est cependant le point qui renferme le nombre le plus élevé et cela depuis le début de l'étude avec une valeur maximale de 7.5×10^6 SF/ml pendant le mois de Mars, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans la station 03 pendant le mois de Mars et elle est de 3.1×10^4 SF/ml. (Fig. 26)

D'après l'OMS, les streptocoques fécaux sont en grande partie d'origine humaine. Cependant, certaines bactéries de ce groupe proviennent également de fèces animales, ou se rencontrent même sur les végétaux.

2.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) :

Les résultats de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs sont résumés dans le tableau et les figures ci-dessous.

Tableau 18 : Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR/20 ml).

Station Période	S1	S2	S3	S4	S5
Mars	-	-	-	-	-
Avril	7	3	Indénombrable	-	-



Figure 27 : Dénombrement des ASR dans la station 01.



Figure 28 : Dénombrement des ASR dans la station 02.



Figure 29 : Dénombrement des ASR dans la station 03.

Une absence totale de ces bactéries a été marquée durant le 1^{er} prélèvement.

Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs sont d'origine fécale et indiquent une contamination ancienne.

2.3. Identification des colonies bactériennes :

Deux étapes primordiales ont été suivies durant la recherche des germes pathogènes : l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et autres tests. Les résultats sont résumés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Tableau 19 : Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, vertes, circulaires, bombées, lisses, opaques. - Colonies petites, bleu vertes à centre noir, circulaires à bords régulier, bombées, lisses, opaques. (Fig. 30) - Colonies grandes, jaunes saumon, irrégulières, plates, lisses, opaques. - Colonies moyennes, jaunes saumon, circulaires, bombées, lisses, opaques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Petits bacilles Gram négatif, isolés asporulés. - Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés, mobiles. - Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.
SS	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes. (Fig. 30) - Colonies moyennes, roses, circulaires, bombées, lisses, opaques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.
Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, incolores, légèrement blanchâtre, circulaires, bombées, lisses, transparentes. (Fig. 30) - Colonies grandes, roses, irrégulières, déchiquetées, bombées, lisses, opaques, muqueuses. 	<ul style="list-style-type: none"> - Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.
TCBS	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies très petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes. (Fig. 31) 	<ul style="list-style-type: none"> - Petits bacilles Gram négatif, isolés, asporulés.
GNAB	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes. (Fig. 31) 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles droits Gram négatif, isolés, mobiles, asporulés.

Chapman	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, jaunes dorée, circulaires, bombées, lisses, translucides. - Colonies petites, jaunes, circulaires, bombées, lisses, translucides. - Colonies jaunes, lisses, rondes, bombées, très petites (moins de 1 mm de diamètre), translucides. - Colonies grandes de 3 mm de diamètre, jaunes, muqueuses, bords irréguliers, opaques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cocci Gram positif groupés en amas sous forme de grappes de raisin, immobiles, asporulés. - Cocci Gram positif groupés en amas irrégulier, immobiles, asporulés. - Cocci Gram positif disposés en paires, en tétrades ou en amas irrégulier, asporulé. - Bacilles Gram positif, longs, à bouts arrondies, isolés ou groupés en chaîne présentant l'aspect en « canne de bambou », asporulés.
Cétrimide	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes. (Fig. 31) - Colonies très petites, bleu - vertes, rondes, convexes, lisses et translucides. 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles droits Gram négatif, isolés, mobiles, asporulés. - Bacilles Gram négatif, fins, droits, isolés ou groupés par diplobacilles ou en courtes chaînes, mobiles, asporulés.

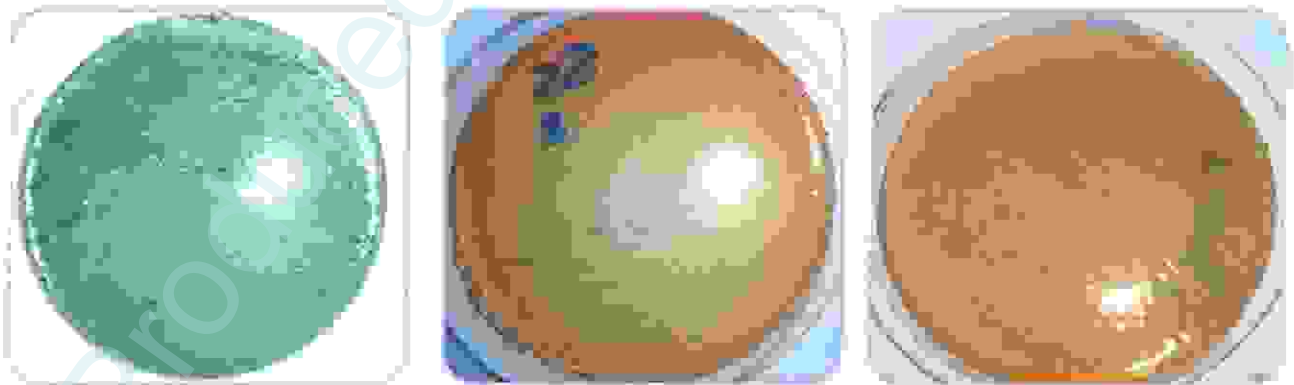


Figure 30 : Aspect des colonies sur gélose Hektoen, gélose SS et gélose Mac Conkey (respectivement de gauche à droite).

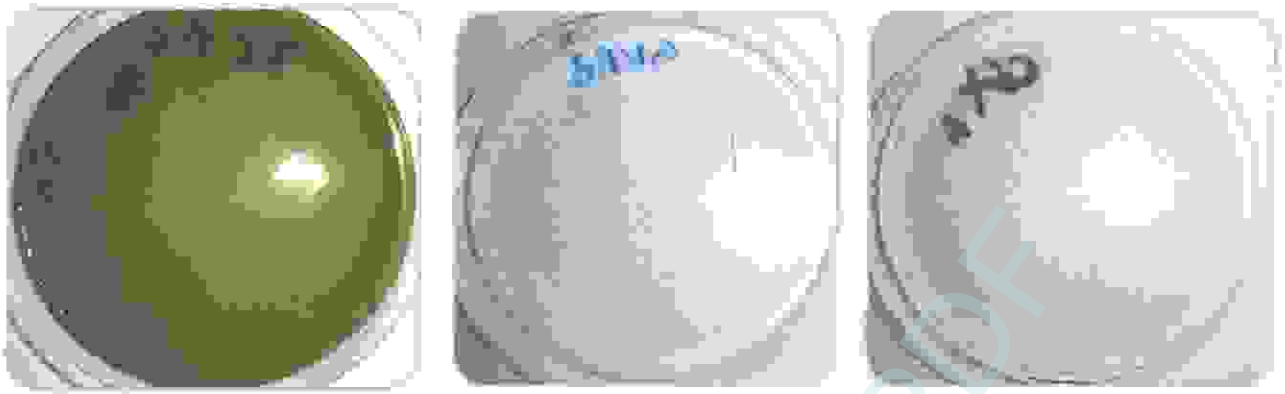


Figure 31 : Aspect des colonies sur gélose TCBS, gélose GNAB et gélose cétrimide (respectivement de gauche à droite).

2.3.2. Résultats de l'identification biochimique :

- Profil biochimique des *Staphylococcus* :

L'aspect macroscopique des colonies isolées sur gélose Chapman ainsi que la coloration de Gram sont présentés dans les figures suivantes.



Figure 32 : Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 01).

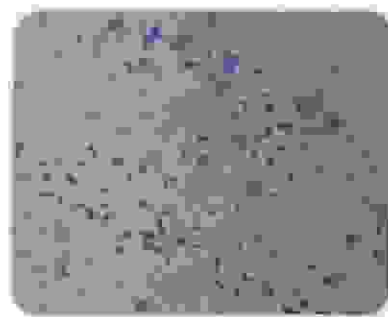


Figure 33 : Cocci à Gram positif en amas.



Figure 34 : Aspect des colonies sur gélose Chapman (Station 02).

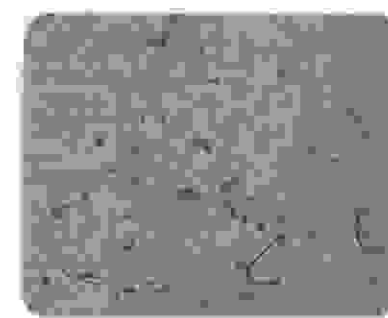


Figure 35 : Cocci à Gram positif en amas.

L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants : catalase, fermentation du mannitol et le staphylocoagulase. (Tab. 20)

Tableau 20 : Résultats du profil biochimique des *Staphylococcus* isolés.

	Oxydase	Catalase	Mannitol	Staphylocoagulase (Fig. 36)	Espèces isolées
Station 01	-	+	+	+	<i>S. aureus</i>
Station 02	-	+	+	-	<i>S. saprophyticus</i>

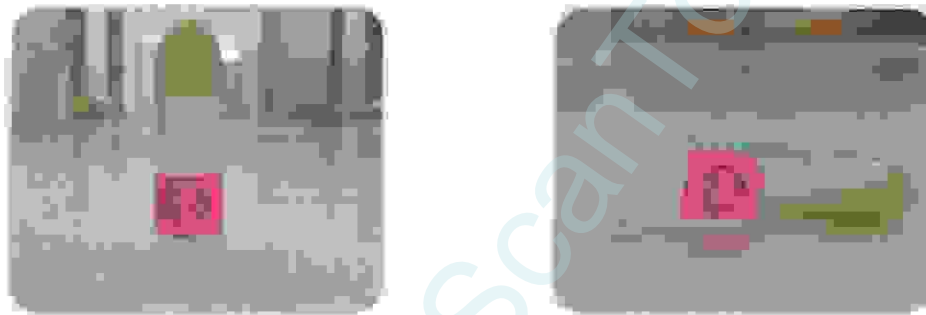


Figure 36 : Test de staphylocoagulase positif (à gauche) et négatif (à droite).

- Profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* :

Pseudomonas aeruginosa ou bacille pyocyannique vit à l'état saprophytique dans l'eau (eau douce ou eau de mer), le sol humide et sur les végétaux. (Fig. 37) (Tab. 21)

Tableau 21 : Résultats du profil biochimique des *Pseudomonas aeruginosa* isolés.

Coloration de Gram	Oxydase	Pyocyanine et Pyoverdine	Nitrate	Citrate de Simmons	Mannitol
Bacilles à Gram négatif aux extrémités arrondies (Fig. 38)	+	+ (Fig. 39)	+	+ (Fig. 40)	+ (Fig. 40)

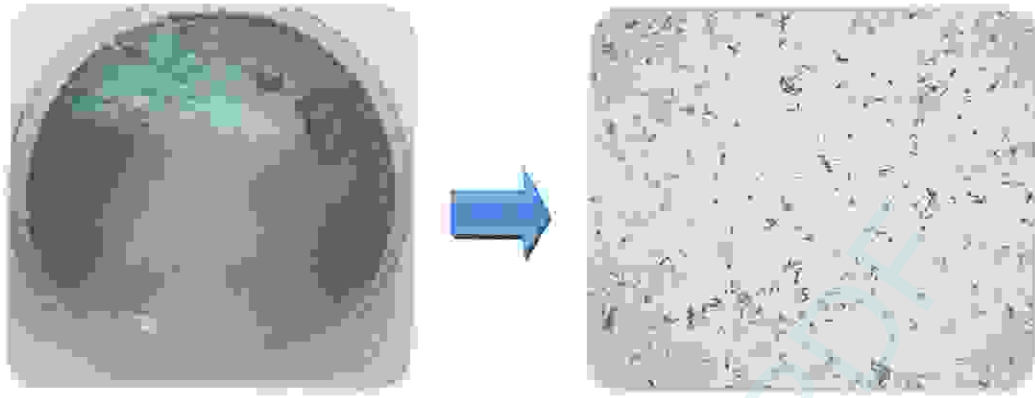


Figure 37 : Aspect des colonies sur gélose cétrimide (Station 02).

Figure 38 : Bacilles à Gram négatif.



Figure 39 : Résultat de la Recherche de la pyocyanine et de la pyoverdine dans les milieux King A et King B.

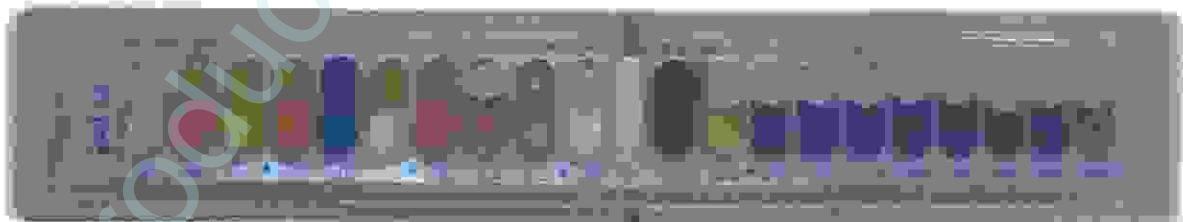


Figure 40 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

- Identification par la galerie biochimique classique :

Les espèces bactériennes identifiées par la galerie biochimique classique sont résumées dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 22 : Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Milieux de culture	Espèces bactériennes identifiée
Milieu SS	<i>Proteus mirabilis</i>
Hektoen	<i>Proteus vulgaris</i>
	<i>Citrobacter brakii</i>
	<i>E. coli</i>

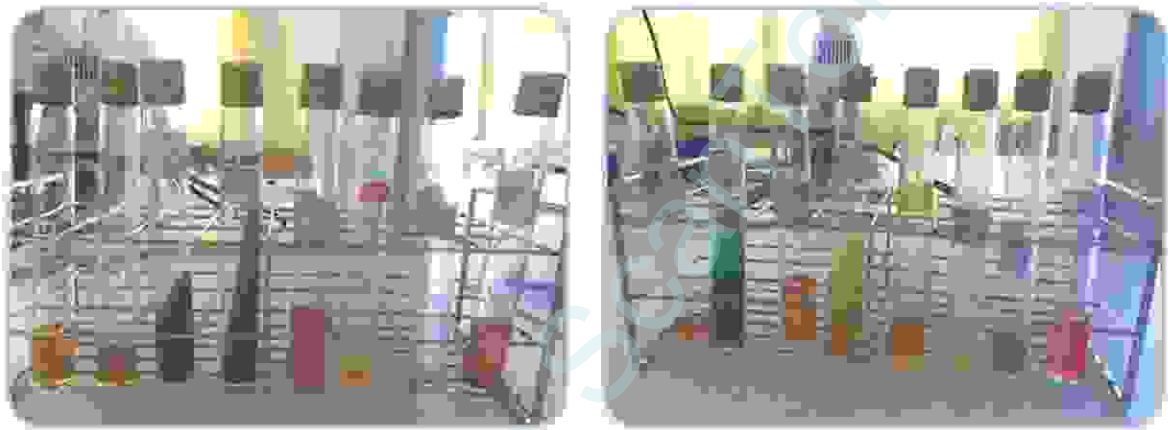


Figure 41 : Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.

- **Identification par les API systèmes :**

Les espèces bactériennes identifiées par les API systèmes sont résumées dans les tableaux et les figure ci-dessous.

Tableau 23 : Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE.

API système	Espèces bactériennes identifiées	Le code	Milieux de culture
API 20 E	<i>Salmonella</i> spp. (Fig. 42)	6704752	Hektoen
	<i>Shigella</i> spp. (Fig. 43)	0004022	Hektoen
	<i>Raoultella ornithinolytica</i> (Fig. 44)	7755773	Mac Conkey
	<i>Shewanella putrefaciens</i> group (Fig. 45)	0500002	Mac Conkey, SS
	<i>Citrobacter braakii</i> (Fig. 46)	3744573	Mac Conkey
	<i>Citrobacter koseri</i> (Fig. 47)	3344573	SS
	<i>Enterobacter sakazakii</i> (Fig. 48)	3345373	Mac Conkey
	<i>Pantoea</i> spp 2 (Fig. 49)	3274773	TCBS
	<i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 1 (Fig. 50)	3246166	Mac Conkey
	<i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 2 (Fig. 51)	7247121	Mac Conkey
	<i>Aeromonas salmonicida</i> (Fig. 52)	2004004	Hektoen
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2662004	Cétrimide
	<i>Pseudomonas luteola</i> (Fig. 53)	1004002	Hektoen
	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> (Fig. 54)	0200002	Hektoen
API 20 NE	<i>Aeromonas hydrophila</i> (Fig. 55)	7777745	Cétrimide, GNAB, TCBS

Figure 42 : Profil biochimique de la souche *Salmonella* spp.Figure 43: Profil biochimique de la souche *Shigella* spp.



Figure 44: Profil biochimique de la souche *Raoultella ornithinolytica*. (Espèce rare)



Figure 45: Profil biochimique de la souche *Shewanella putrefaciens* group.



Figure 46 : Profil biochimique de la souche *Citrobacter braakii*.



Figure 47 : Profil biochimique de la souche *Citrobacter koseri*.



Figure 48 : Profil biochimique de la souche *Enterobacter sakazakii*.

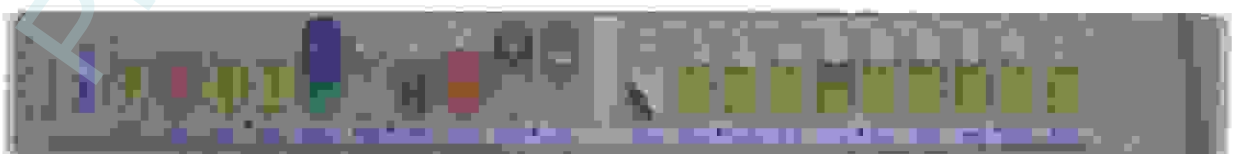


Figure 49 : Profil biochimique de la souche *Pantoea* spp 2



Figure 50 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila* gr. 1



Figure 51 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila* gr. 2



Figure 52 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas salmonicida*.



Figure 53 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas lateola*.



Figure 54 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas oryzae*.



Figure 55 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila*.

2.4. Isolement et identification des levures et moisissures :

Les résultats des analyses fongiques sont résumés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

Tableau 24 : Aspects macroscopiques, microscopiques et identification des levures.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Coloration au violet de gentiane	Identification
Sabouraud	<ul style="list-style-type: none"> - Levures de pousse rapide, de taille moyenne, circulaires, bombées, à surface lisse, colorées en rouge orangé. - Colonies de pousse rapide, blanches, de tailles variables, crémeuses, lisses. - Colonies de pousse très rapide, blanches, rondes, muqueuses, de tailles variables, envahissantes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Levures ovoïdes à allongées. (Fig. 56) - Levures de forme variable rondes à allongées. (Fig. 58) - Formes rondes ou ovales, bourgeonnantes. (Fig. 60) 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Rhodotorula glutinis</i> (Code : 2142031) (Fig. 57) - <i>Candida parapsilosis</i> (Code : 6752135) (Fig. 59) - <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1 (Code : 0040001) (Fig. 61)
Milieu à l'extrait de malt	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies de pousse rapide, blanches, de taille moyenne, lisses. 	<ul style="list-style-type: none"> - Levures de forme variable, rondes à allongées. 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Candida parapsilosis</i> (Code : 6752135)

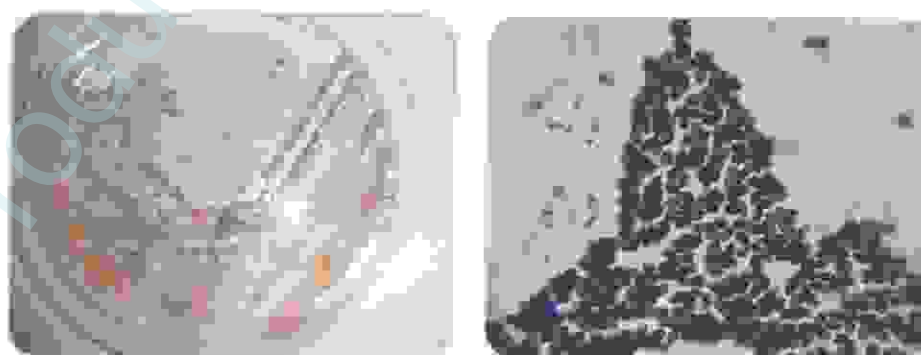


Figure 56 : Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure *Rhodotorula glutinis*.



Figure 57 : Profil biochimique de la levure *Rhodotorula glutinis*.

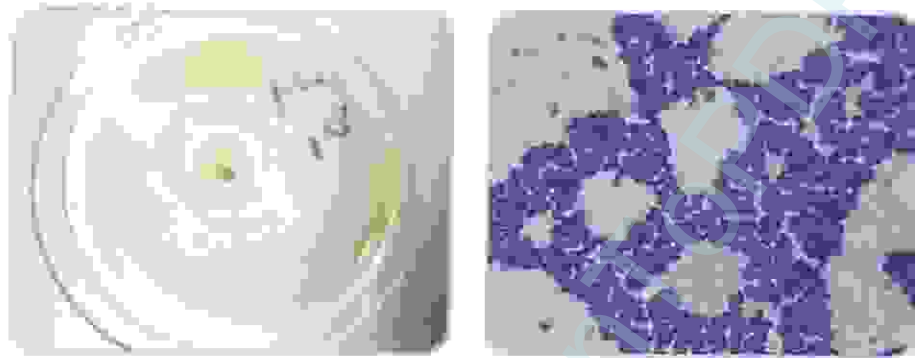


Figure 58 : Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure *Candida parapsilosis*.



Figure 59: Profil biochimique de la levure *Candida parapsilosis*.

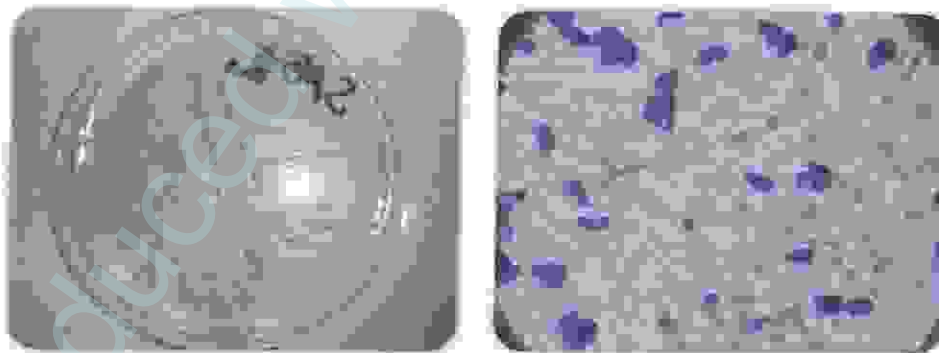


Figure 60 : Aspect macroscopique sur sabouraud et aspect microscopique de la levure *Saccharomyces cerevisiae I*



Figure 61 : Profil biochimique de la levure *Saccharomyces cerevisiae I*

Tableau 25 : Aspects macroscopiques, microscopiques et identification des champignons isolés dans l'eau de l'Oued El Kebir Ouest.

	Recto - verso de la boîte	Observation microscopique (Scotch test)	Identification
Sabouraud	<ul style="list-style-type: none"> - Croissance rapide, colonie duveteuse, de couleur blanche. Le revers est crème, ne présente pas une diffusion de pigment dans la gélose et le mycélium ne produit pas d'exsudat. - Croissance rapide, colonies poudreuses, plates, de couleur grise verdâtre. Le revers est marron. 	<ul style="list-style-type: none"> - Organisation en pinceau, hyphes septés, conidiophores hyalin, spores rondes disposées en chaînes. - Des têtes aspergillaires. 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Penicillium</i> sp. (Fig. 62) - <i>Aspergillus</i> sp. (Fig. 63)
Milieu d'extrait de malt	<ul style="list-style-type: none"> - Croissance rapide, colonies duveteuses, blanchâtres, grisâtres à la maturation. Le revers est plissé jaunâtre. - Croissance rapide, colonies poudreuses, de couleur verte avec un centre blanc. Le revers est vert jaunâtre. 	<ul style="list-style-type: none"> - Organisation en petits pinceaux. - Des têtes aspergillaires. 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Penicillium</i> sp. (Fig. 64) - <i>Aspergillus</i> sp. (Fig. 65)

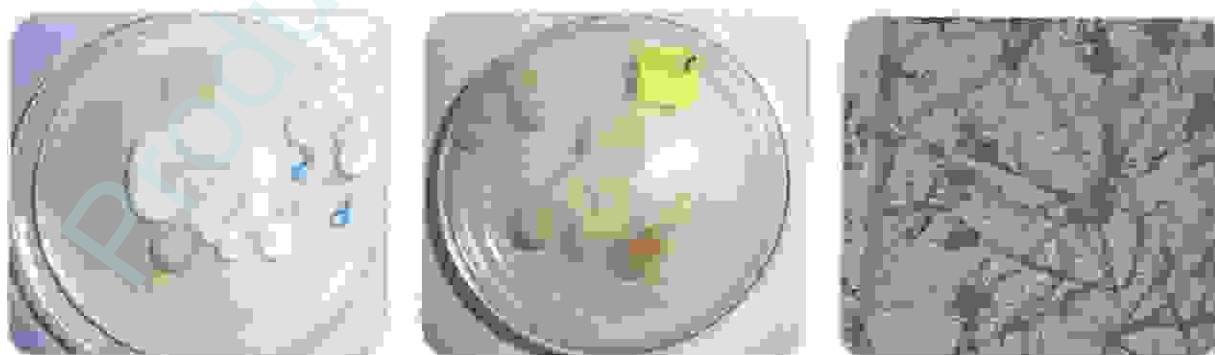


Figure 62 : Recto - verso de la boîte de sabouraud et observation microscopique de *Penicillium* sp.

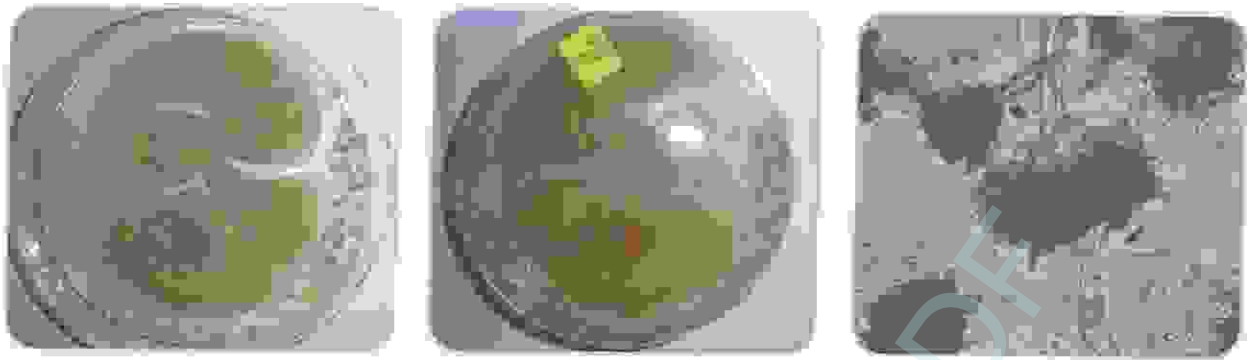


Figure 63 : Recto - verso de la boîte de sabouraud et observation microscopique de *Aspergillus* sp.



Figure 64 : Recto - verso de la boîte d'extrait de malt et observation microscopique de *Penicillium* sp.



Figure 65 : Recto - verso de la boîte d'extrait de malt et observation microscopique de *Aspergillus* sp.

L'étude de la qualité microbiologique des eaux de l'Oued El Kebir Ouest durant deux mois (Mars et Avril) a permis de constater que l'eau de cet écosystème nécessite un traitement complexe. Les eaux de l'Oued El Kebir Ouest ne répondent pas aux exigences bactériologiques des eaux destinées à des utilisations agricoles.



Conclusion

The word "Conclusion" is centered on the page in a blue, cursive script font. It is framed by two symmetrical, ornate flourishes above and below the text, each featuring intricate scrollwork and floral motifs in shades of blue and green.

Produced by Scantopdf

Le risque de contamination des eaux de surface par des microorganismes d'origine fécale existe depuis très longtemps, dès que l'eau a été utilisée comme vecteur d'élimination des déchets.

Avec le développement de l'urbanisation, les problèmes d'hygiène et de santé publique liés à la contamination bactérienne de l'eau sont devenus de plus en plus critiques et constitue un problème environnemental croissant.

En Algérie, la qualité des eaux est soumise à une forte pression exercée par l'accroissement de la population et par l'activité industrielle. Cette qualité est altérée notamment par l'utilisation des pesticides et des engrais dans l'agriculture, des rejets industriels, en particulier les eaux usées urbaines.

Dans ce contexte notre étude a été portée sur l'analyse microbiologique ainsi que quelques paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* des eaux de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord Est algérien) situé en constantinois centre, d'une superficie de 1130,2 km², et potentialité d'eau de l'ordre de 90 Hm³. Cette étude est basée sur le suivi de cinq stations, sur une période de deux mois (Mars et Avril).

Les analyses microbiologiques obtenues à travers les dénombrements réalisés ont permis de confirmer la contamination d'origine fécale de ces eaux par la présence d'un nombre élevé d'organismes indicateurs ainsi qu'une grande variété de germe pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*), des moisissures et des levures.

Cette forte contamination fécale est due aux effluents urbains des agglomérations de Ain Nemcha et de Ben Azzouz situées à proximité de l'Oued, le lessivage des terres agricoles ainsi que l'élevage intensif.

En ce qui concerne les mesures *in situ* on constate que la qualité d'eau de cet écosystème est moyenne à passable.

Malgré la forte charge des indicateurs de contamination fécale, certains germes pathogènes n'ont pas été détecté au niveau des eaux de l'Oued El Kebir tel que *Vibrio* cholérique, ceci ne permet pas d'exclure la possibilité que ces germes soient présent dans l'eau à analysée du fait que ces bactéries ne sont pas détectables par les techniques de culture classique.

Du point de vue nature de germes isolés et quantités de microorganismes, nous pouvons conclure que l'eau de cet écosystème est fortement polluée. Ce qui peut engendrer des nuisances importantes que se soit pour l'irrigation, les poissons pêchés, les pêcheurs, les baigneurs dans la plage d'El Marsa qui est très fréquentée.

Pour bien protéger la qualité des eaux de l'Oued El Kebir Ouest on propose de traiter les eaux usées déversées dans l'Oued afin de limiter la pollution par des petites stations d'épuration au niveau de chaque agglomération ou bien canaliser les eaux urbaines et industrielles pour les acheminées vers la station d'épuration de la wilaya de Skikda, également diminuer l'utilisation des polluants eutrophisants et utiliser rationnellement les engrais en agriculture, enfin planter des végétaux adaptés aux rives pour créer un véritable bouclier anti-polluant.

Produced with Scan PDF



Références bibliographiques

Bibliographie

Agence des Bassins Hydrographiques ; Constantinois, Seybouse, Mellègue (A.B.H - C.S.M), (2005). Qualité Des Eaux Souterraines Dans Le Bassin De La Seybouse, Rapport Interne. 46 p.

Agence du bassin hydraulique d'Ain Charchar (ABH), 2012.

Agrigon A., (2000). Annales de la qualité des eaux et des sédiments. Dunod. Paris. 206 p.

Algérienne des eaux de Skikda (ADE), (2012).

Aouissi A., (2008). Microbiologie et physicochimie 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 Guelma. 164 p.

✓ Avril J. L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} édition. Ellipses. Paris. 522 p.

✓ Bagnouls F. et Gaussen H., (1957). Les climats biologiques et leurs classifications. Annales de Géographie. France. Vol. 66. N° 355. pp 193-220.

Belabed B., (2010). La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba source de contamination des écosystèmes aquatiques. Mémoire de Doctorat en sciences de la mer. Université Badji Moukhtar Annaba. Algérie. 230 p.

Bouchet P. H., Guignard J., Villard J., (1999). Les champignons, Mycologie fondamentale et appliquée. Masson Paris France. 194 p.

✓ Boukroum N., (2008). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (Wilaya d'Oum El Bouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 Guelma. 64 p.

Boyer M., (2008). L'exportation d'eau douce pour le développement de l'or bleu québécois. L'institut économique de Montréal. Canada. 32 p.

Bureau national des études forestières (BNEF), (1985). Etude du parc national d'El Kala. Schéma directeur d'aménagement. Algérie. 86 p.

Carbannelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal. Inf. France. 251 p.

Centre National d'Etudes et de Recherche Appliquées en Urbanisme (CNERU), (2009). Cadastre littoral de la wilaya de Skikda. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. Algérie. 51 p.

Centre National d'Etudes et de Recherche Appliquées en Urbanisme (CNERU), (2010).

Bornage du domaine littoral de la wilaya de Skikda. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. Algérie. 67 p.

Chabasse D., Bouchara J. P., De Gentile L., Cimon B., Brun S., Penn P., (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de Formation en Biologie Médicale. N° 25, Egoprime. Paris, France. 189 p.

Conservation des forêts de la Wilaya de Skikda, (2012).

Daifallah T., (2008). Ressources en eau et gestion intégrée dans le bassin versant de l'Oued El Kebir Ouest (Nord – Est Algérien). Mémoire de Magister en Hydrogéologie. Université de Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 191 p.

Dajoz R. (2000). Précis d'écologie: Cours et exercices résolus. 7^{ième} édition. Dunod, Paris. 613p.

Dellarras C., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier : Tec & Doc. Paris. 463 p.

Dellarras C., Trébaol B., (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation, prélèvements, Analyses. Lavoisier : Tec & Doc. Paris: 249 p.

Denis F., Ploy M. C., Martin C., Bingen E., Quentin R., (2007). Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Elsevier Masson. 594 p.

Direction des Services Agricole de Skikda, (2012)

Direction d'hydraulique de Skikda, (2012)

Djebaili S., (1984). Steppe algérienne, phytosociologie et écologie. O.P.U. Alger. 171 p.

Donnier B., (2007). La pollution chimique en méditerranée. Laboratoire. C.E.R.B.O.M. Nice. 8 p.

El Haiti H., (1991). Eléments de réponse pour une meilleure maîtrise des pollutions et gestion des eaux usées à Fès. Thèse de Doctorat. Université Moulay Ismaïl, Meknes, Maroc. 132 p.

El Ouali Lalami A. Merzouki M., El Hillali O., Maniar S., Ibsouda Koraichi S. (2011). Pollution des eaux de surface de la ville de Fès au Maroc : typologie, origine et conséquences. Larhyss Journal. N° 09. pp 55 - 72.

Emberger L., (1955). Une classification biogéographique des climats. Rev. Trav. Bot. Géol. Zool. Fac. Sci. Montpellier. France. 343 p.

Euzéby J. P., (2007). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. France. 20 p.

Federighi M., (2005). Bactériologie alimentaire- Compendium d'hygiène des aliments. 2^{ème} édition : Economica. Paris. 292 p.

Ferron A., (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition,

éditions C. et R. 376 p

Genin B., Cauvin C., Menarod Educagris F., (2003). Cours d'eau et indice biologique. Pollution. Méthodes IBGN. 2^{ème} édition. Educagris. France. 221 p.

Guasmi I., Djabri L., Hani A., Lamouroux C., (2006). Pollution des eaux de l'Oued Medjerda par les nutriments. Larhyss Journal. N° 05. pp 113 - 119.

Guiraud J. P., (1998), Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. France. 651 p.

Hakmi A., (2002). Traitement des eaux " analyse de l'eau de source Bousfer Oran. Mémoire de Magister. Université des sciences et de la technologie Oran. Algérie. 71 p.

Hannouche M. D., (2010). Contexte Géologique et Hydrogéologique de la Vallée de L'Oued El Kebir Ouest, Nord - Est Algérien. Magister en Hydro-écologie. Journal International Network Environmental Management Conflicts. Santa Catarina. Vol. 1. N° 1. pp 106 - 112.

Harrat N., Achour S., (2010). Pollution physicochimique des eaux de barrage de la région d'El Tarf, impact sur la chloration. Larhyss Journal. N° 08. 54 p.

Hidouci S., (2009). Qualité bactériologique des eaux du golf d'Annaba. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 132 p.

Koller E., (2004). Traitement des pollutions industrielles: eau, air, déchets, sols, boues. Dunod. 3^{ème} édition. Paris. France. 424 p.

L'Agence de bassin hydrographique d'Ain Charchar, (2012).

Labres E., Mouffok F. (2008). Les cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratiques des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. Algérie. 53 p.

Le minor L., Veron M., (1989). Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences. 845 p.

Lebres E., (2002). Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ». Institut Pasteur d'Algérie. 34 p.

Leclerc, (1996). Microbiologie générale. Doin. France. 368 p.

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

Mekhalfa F., (2009). Réutilisation des eaux résiduaires industrielles épurées comme eau d'appoint dans un circuit de refroidissement. Mémoire de Magister. Université du 20 Août 1955 Skikda. 120 p.

Merzoug S., (2009). Etude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, Wilaya Skikda). Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 de Guelma. 79 p.

Moletta R., (2002). Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agroalimentaires. 1^{ère} édition. Lavoisier, Tec & Doc. Paris. 600 p

Monod T., (1989). Méthodes géographiques (N.A.N.I) normes Algérienne et normes international (2002). France loisir. 233 p.

Monographie de la Wilaya de Skikda, (2007). Observation National de l'Environnement et de Développement Durable de Skikda (ONEDD). Algérie .163 p.

Mouffok F., (2001). Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer. Institut Pasteur d'Alger.40 p.

Observation National de l'Environnement et de Développement Durable de Skikda (ONEDD), 2012

Patrick R., Murray K., Rosenthal S., Michael A. P., (2009). Medical Microbiology. 6th edition. Mosby Elsevier. Canada. 960 p.

Pechère J. C., Acar J., Grenier B. et Nihoul E., (1982). Reconnaître, comprendre et traiter les infections. 4^{ème} édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. Canada. 509 p.

Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., Person J. M., (1987). Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Doin. France. 371 p.

Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (2003). Microbiologie. 2^{ème} édition. De Boeck. Paris. 1163 p.

Raven P. H., Georges B., Kenneth A., Jonathan B., (2011). Biologie. Masson. Paris. 1406 p.

Rejsck E., (2002). Analyse des eaux Aspects réglementaires et techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine (CRDP). Bordeaux. 358 p.

René C. (1968). La pollution des eaux. 2^{ème} édition. Presses universitaires de France. 128 p.

Rodier J., Bazin C., Broutin J. P., Chambon P., Champsaur H., Rodi L., (1996). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition. Dunod. Paris. 1383 p.

Rodier J., Legube B., Merlet N., et coll., (2009). L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition. Dunod. Paris. 1579 p.

Roux, (2003). TP de microbiologie : Analyses de l'eau. IUP SIAL, Université Paris. 12 p.

Sayad L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p.

Singleton P., (1999). Bacteria in Biology. Biotechnology and Medicine. 4th edition. John Wiley and Sons. Chichester . Etat Unis. 233 p.

Singleton P., (2005). Bactériologie. Dunod. 6^{ème} édition. Paris. France .542 p.

Soltner D., (1999). Les Bases De La Production Végétale. Sciences & Techniques Agricoles, Tome 2. France. 396 p.

Toubal Boumaza O., (1986). Phytoécologie, biogéographie et dynamique des principaux groupements végétaux du massif de l'Edough (Algérie Nord - Orientale). Thèse de Doctorat. Université des sciences et technologie méditerranéenne de Grenoble. 110 p.

Webographie:

[1] www.lespagesmaghreb.com/maps (Consultée le 12/03/2012)

[2] http://www.ac-grenoble.fr/svt/log/1_es/eau/eseau_ch1.htm (Consultée le 20/04/2012)

[3] <http://users.swing.be/chapp/p-temp.htm> (Consultée le 10/04/2012)

[4] <http://www.arnobio2.com/> (Consultée le 09/04/2012)

Google earth, (2012). Europa Technologies. Tele Atlas.

www.googleearth.com

Produced with ScanTOPDF

L'Oued El Kebir Ouest se situe dans le Nord – Est Algérien à la wilaya de Skikda. Il joue un rôle important dans l'irrigation et alimente plusieurs lacs appartenant au complexe des zones humides de la plaine de Guerbes Sanhadja.

Cependant, l'extension anarchique de l'agriculture et l'utilisation excessive de produits phytosanitaires, ajoutés aux rejets des eaux usées non traitées de la commune de Ben Azzouz et des villages situés en amont sont des menaces connues à l'heure actuelle que ce soit pour le site lui-même ou à sa proximité.

Ainsi, afin de déterminer la qualité microbiologique de l'eau de l'Oued El Kebir Ouest, deux prélèvements ont été effectués pendant les mois de Mars et Avril et qui sont basés principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale et la recherche des pathogènes.

Les résultats des analyses microbiologiques réalisées ont montré des concentrations très élevées en coliformes et streptocoques fécaux qui dépassent largement les directives de l'OMS concernant les eaux destinées à une irrigation non restrictive, ainsi que la présence de germes pathogènes susceptibles de causer des maladies graves (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.).

L'Oued El Kebir Ouest est fortement pollué et de mauvaise qualité microbiologique, l'exploitation de ces eaux pourrait constituer un risque sanitaire important pour les différents utilisateurs.

Mots clés : L'Oued El Kebir Ouest, Skikda, qualité microbiologique, pollution de l'eau, analyses microbiologiques, contamination fécale.

Oued El Kebir West is located in the North - East of Algeria in the wilaya of Skikda. It plays an important role in irrigation and feeds several lakes belonging to the complex areas of the floodplains Guerbes Sanhadja.

However, the sprawl of agriculture and the excessive use of pesticides, added to the discharge of untreated sewage from the town of Ben Azzouz and villages are located upstream are known threats at present whether for the site itself or near.

To determine the microbiological quality of water of Oued El Kebir West, two samples were conducted during the months of March and April and are based mainly on the quantification of faecal indicator bacteria and pathogens research.

The results of microbiological analysis performed showed very high concentration of coliforms and fecal streptococci and exceed extensively the WHO guidelines for water intended for unrestricted irrigation, and the presence of pathogens that can cause serious diseases (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.).

Oued El Kebir West is heavily polluted and present a poor microbiological quality, the exploitation of their waters could be an important sanitary risk for different users.

Keywords : Oued El Kebir West, Skikda, microbiological quality, water pollution, microbiological analysis, faecal contamination.

يلعب وادي الكبير (ولاية سكيكدة) دورا هاما في ري المحاصيل وتغذية عدة بحيرات لمركب المناطق الرطبة قرباز صنهاجة.

إن تطور الزراعة مع الاستخدام المفرط للأسمدة والمبيدات الحشرية، إضافة إلى مياه الصرف الغير معالجة لبلدية بن عزوز، يعد تهديدا في الوقت الحالي للوادي و المناطق المجاورة له.

لتحديد نوعية مياه الوادي أجريت عينتين خلال شهر مارس و افريل إستنتت أساسا على القياس الكمي لبكتيريا البراز والبحث عن البكتيريا المسببة للأمراض.

كشفت نتائج التحليل عن تراكيز مرتفعة للقولونيات والعقديات البرازية تفوق بكثير تعليمات منظمة الصحة العالمية في ما يخص مياه الري بالإضافة للعديد من البكتيريا الممرضة (السالمونيلا، الشيغلاء بسودوموناس، ستافيلوكوكيس، الخ)

على ضوء ما سبق تعتبر مياه وادي الكبير شديدة التلوث، و إستخدامها بشكل خطر صحي كبير.

الكلمات المفتاحية : وادي الكبير، سكيكدة، النوعية الميكروبيولوجية، تلوث المياه، تحاليل ميكروبيولوجية، تلوث برازي.

Produced with Scantopdf

Milieux utilisés

[M1]- Eau peptonée exempte d'indole : pH = 7.2

Peptone exempte d'indole aquatique.....	10 g/l
Chlorure de sodium aquatique.....	5 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M2]- Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol S/C (BCPL) : pH = 6.9

Peptone	5 g/l
Extrait de viande	5 g/l
Lactose	5 g/l
Pourpre de bromocrésol	0.025 g/l
Eau distillée	1000 ml

[M3]- Milieu de Rothe S/C : pH = 6.8

Tryptone	20 g/l
Glucose	5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Phosphate bi potassique	2.7 g/l
Phosphate mono potassique	2.7 g/l
Acide de sodium	0.2 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M4]- Milieu Schubert : pH = 7.4

Tryptophane	0.4 g/l
Acide glutamique	0.4 g/l
Sulfate de magnésium	1.4 g/l
Sulfate d'ammonium	0.4 g/l
Citrate de sodium.....	0.5 g/l
Chlorure de sodium	4.0 g/l
Peptone	20.0 g/l
Mannitol	1.5 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M5]- Milieu de litsky : pH = 6.8

Peptone.....	20 g/l
Glucose	5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Phosphate bi potassique	2.7 g/l
Azothvate de sodium	0.3 g/l
Ethyle- vliote	5 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M6]- Sélénite (bouillon) : pH = 7

Peptone de caséine et de viande	5 g/l
Lactose.....	4 g/l
Sélénite de sodium.....	4 g/l
Phosphate disodique	10 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M7]- Bouillon nitrate : pH = 7.2

Infusion cœur-cervelle.....	25.0 g/l
Nitrate de sodium.....	10.0 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M8]- Clark et Lubs (Bouillon) : pH = 7.5

Peptone.....	5.0 g/l
Glucose.....	5.0 g/l
Hydrogénophosphate de potassium.....	5.0 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M9]- Eau Peptonée Alcaline (EPA) : pH = 8.6

Peptone.....	20 g/l
Sodium chlorure.....	30 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M10]- Gélose tryptone- glucose- extract agar (TGEA): pH = 7

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

[M11]- Chapman: pH = 7.5

Peptone bactériologique.....	10 g/l
Extrait de viande de bœuf.....	1 g/l
Chlorure de sodium.....	75 g/l
Mannitol.....	10 g/l
Rouge de phénol.....	0.025 g/l
Agar.....	15 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M12]- Mac conkey: pH = 7.1

Peptone bactériologique.....	20 g/l
Sels biliaires.....	1.5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Lactose.....	10 g/l
Rouge neutre.....	0.03 g/l
Cristal violet.....	0.001 g/l
Agar.....	15 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M13]- Gélose viande foie (VF) : pH = 7.1

Peptone pepsique de viande et de foie.....	30 g/l
Glucose.....	2 g/l
Peptone de gélatine.....	16.0 g/l
Peptone de caséine.....	10.0 g/l
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0.2 g/l
Acide nalidixique.....	15.0 mg/l

Sulfate de potassium.....	10,0 g/l
Chlorure de magnésium.....	1,4 g/l
Agar	10 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M14]- Gélose nutritives (GN) : pH = 7,6 à 7,8

Eau distillée + extrait de viande	1000 ml
Peptone trypsine.....	15 g/l
NaCl ou KCl.....	5 g/l
Agar	15 à 20 g/l

[M15]- Extrait de malt : pH = 5,5

Extrait de malt	300 g/l
Agar	12 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M16]- Milieu Hektoen : pH = 7,5

Peptone pepsique de viande	12 g/l
Extrait de levure	3 g/l
Sels biliaires	9 g/l
Lactose.....	12 g/l
Saccharose.....	12 g/l
Salicine.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Hyposulfite de sodium	5 g/l
Citrate de fer ammoniacal	1,5 g/l
Bleu de bromothymol.....	0,0064 g/l
Fushine acide.....	0,04 g/l
Gélose	14 g/l
Eau distillée	1000 ml

[M17]- Gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : pH = 7

Extrait de viande de bœuf	5 g/l
Bio-polytone.....	5 g/l
Sels biliaires	8,5 g/l
Lactose	10 g/l
Citrate de sodium	8,5 g/l
Thiosulfate de sodium	8,5 g/l
Citrate ferrique	1 g/l
Vert brillant	0,330 mg/l
Rouge neutre.....	0,025 g/l
Agar	13,5 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M18]- Gélose TCBS (Thiosulfate, Citrate, Bile, Saccharose): pH = 8,6

Peptone	10 g/l
Extrait de levure.....	5 g/l
Saccharose.....	20 g/l
Citrate de sodium	10 g/l
Citrate de fer III.....	1 g/l
Bile de bœuf.....	8 g/l

Bleu de bromothymol.....	40 mg
Bleu de thymol.....	40 mg
Thiosulfate de sodium.....	10 g/l
Chlorure de sodium.....	10 g/l
Agar.....	14 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M19]- Gélose Cétrimide : pH = 7,1

Peptone de gélatine.....	16 g/l
Peptone de caséine.....	10 g/l
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0.2 g/l
Acide nalidixique.....	15 mg/l
Sulfate de potassium.....	10 g/l
Chlorure de magnésium.....	1.4 g/l
Agar.....	10 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M20]- Gélose GNAB : pH = 8.6

Peptone.....	10 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Bile de bœuf.....	2 g/l
Agar.....	8.6 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M21]- Gélose Sabouraud : pH = 6

Peptone.....	10 g/l
Glucose massé.....	20 g/l
Agar.....	15 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M22]- Sabouraud au Chloramphénicol : pH = 6

Peptone.....	10 g/l
Glucose massé.....	20 g/l
Chloramphénicol.....	0.5 g/l
Agar.....	15 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M23]- King A: pH = 7.2

Peptone dite "A".....	200 g/l
Glycérol.....	10 g/l
Sulfate de potassium.....	10 g/l
Chlorure de magnésium.....	1.4 g/l
Agar.....	12 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M24]- King B: pH = 7. 2

Peptone dite "B".....	20 g/l
Glycérol.....	10 g/l
Hydrogénophosphate de potassium.....	1.5 g/l

Sulfate de magnésium heptahydraté	1.5 g/l
Agar	12 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M25]- Citrate de Simmons : pH = 7.1

Citrate de sodium	1 g/l
Bleu de bromothymol	0.08 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Sulfate de magnésium	0.2 g/l
Hydrogénophosphate de potassium	1 g/l
Dihydrogénophosphate d'ammonium	1 g/l
Agar	15 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M26]- TSI (gélose glucose – lactose – saccharose - H₂S); pH = 7

Peptone	15 g/l
Extrait de viande	3 g/l
Extrait de levure	3 g/l
Peptone pepsique de viande	5 g/l
Glucose	1 g/l
Lactose	10 g/l
Saccharose	10 g/l
Rouge de phénol	0,024 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Sulfate de fer II (Pasteur)	0.2 g/l
Thiosulfate de sodium	0.3 g/l
Agar	11 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[M27]- Milieu mannitol-mobilité : pH = 7.4

Peptone typique de viande	20 g/l
Mannitol	2 g/l
KNO ₃	1 g/l
Rouge de phénol 1%	4 ml
Agar	4 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

Réactifs utilisés

[R1]- Réactif rouge de méthyle (RM) : Pour mettre en évidence la fermentation acide mixte par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.

Rouge de méthyle	0.5 g
Alcool à 60°	100 ml

[R2]- Réactif de Vosges Proskauer (VP) : Pour la recherche de l'acétone.

VP1:

Hydroxyde de potassium	40 g
Eau distillée	100 ml

VP2:

Alpha naphтол	6 g
Ethanol	100 ml

[R3]- Réactif de Kowacks : La mise en évidence de la production d'indoïe.

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5 g
Alcoolamylique	75 ml
HCl pur	25 ml

[R4]- Réactif de TDA : Pour la recherche du tryptophane désaminase.

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

Les colorants utilisés

[C1]- Violet de gentiane

Violet de gentiane	1 g/l
Ethanol à 90%.....	10 ml/l
Phénol	2 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[C2]- Lugol

Iode	1 g/l
Iodure de potassium	2 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

[C3]- Fushine

Fushine basique.....	1 g/l
Alcool éthylique.....	100 ml/l
Phénol	5 g/l
Eau distillée.....	1000 ml

Tableau 43 : Table de Mac Grady

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

Tableau 44 : Lecture de l'API 20 E

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β Dgalactopyranoside	0,223	β -galactosidase (Ortho NitroPhényl- β DGalactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
CIT	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liséré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA / immédiat	
				jaune	marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	rose
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore / rose pâle	rose / rouge
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(GLUCose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOSitol)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAMnose)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARABinose)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

Tableau 45 : Lecture de l'API 20 NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO ₃	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 mm	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates en azote	ZN / 5 mm	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5 mm	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl-βDgalactopyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	Malate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-pphenylène diamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tableau 46 : Lecture pour l'API 20 CAUX

Tests	Substrats	QTE (mg/cup.)
0	Aucun	-
GLU	D-GLUcose	1,2
GLY	GLYcérol	1,2
2 KG	Calcium 2-céto-Gluconate	1,2
ARA	L-ARAbinose	1,2
XYL	D-XYLose	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLiToI	1,2
GAL	D-GALactose	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Méthyl- α D-Glucopyranoside	1,2
NAG	N-Acétyl-Glucosamine	1,2
CEL	D-CELlobiose	1,2
LAC	D-LACtose (origine bovine)	1,2
MAL	D-MALtose	1,2
SAC	D-SACcharose	1,2
TRE	D-TREhalose	1,2
MLZ	D-MéLéZitose	1,2
RAF	D-RAFfinose	1,9