

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



M. HOUHAMI MOUSSA
Docteur d'Etat en Biologie
Professeur d'Enseignement Supérieur

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

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

Thème

Etude de la qualité bactériologique et Physico-Chimique de l'eau du
Lac Tonga (Parc National D'El-Kala, Nord-Est Algérien)

Présentée par : BOUCHAIR Chafiaa

BENALIA Hadjer

Devant les jurys composés de :

Président : DJEKOUN Mouhamed

M.C.B

Université de Guelma

Examineur : AISSAOUI Ryadh

M.C.B

Université de Guelma

Encadreurs : HOUHAMI Moussa

Prof.

Université de Guelma

Razkallah Zahra

Doctorante

Université d'El-Tarf

Juin 2015

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous a aidé et nous a donné le courage pour mener à Terme ce modeste travail.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre reconnaissance envers Mr Houhamdi Moussa, Docteur d'état et Maître de conférences au département de Biologie à l'Université de Guelma, de nous avoir encadré et suivi notre travail de près avec sa rigueur scientifique, ses conseils ainsi que sa gentillesse qui nous ont permis de réaliser au mieux ce modeste travail.

Nous exprimons également nos remerciements

Aux membres de jury qui ont accepté de juger ce travail: Mr Aïssaoui Ryadh, Mr Djekoun Mouhamed.

Nous tenons aussi à remercier Melle Razkallah Zahra qui nous a tant aidé et suivi notre travail. qui s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire

Nos remerciements vont également aux personnels de la station de traitement des eaux de hammam Debagh : Salah, Mebarka, Radia, Chahra, Samira.

Monsieur Kebieche Hacene, Chef service de laboratoire de la Direction de la santé de la wilaya de Guelma ainsi que Mr Djeradi pour leur aide qu'ils nous ont apporté dans la réalisation de ce travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Melle Abbas Laïla ingénieur de laboratoire de recherche de biologie pour son aide.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à ma plus cher être au monde :

*Ma mère **Hassiba**, l'amour que tu me témoignes me procure une grande sécurité et je constate combien tu veux me protéger contre les embûches de la vie tout en espérant que je fasse les bons choix. Je lève mes mains vers le ciel et dire **YA KAYOUM** garde ma mère qui est tout pour moi*

*Je tiens à rendre un vibrant hommage à mon père **Ali**, mon unique frère **Hamza** et ma grande mère **Reguia**, ravis trop tôt à mon affection qui ont accompagné chaque instant de ma vie depuis ce funeste jour où un stupide accident a eu raison de leur volonté de vivre mon acharnement et mon obsession de réussite principalement scolaire, proviennent justement de leur amour et de leur absence qui culminera 17ans, et que Dieu le tout puissant vous accorde le paradis.*

*A mes chères et adorables sœurs : **Imane** et son époux **Mouhamed**, **Wissam** et son époux **Hamza** pour leurs soutiens.*

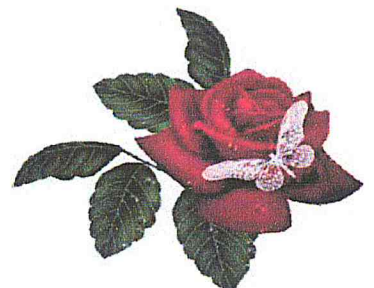
*Et sans oublier mes petits neveux **Aline** et **Marouene** que j'adore beaucoup et que dieu les garde.*

*Et à toute ma famille sans oublier la famille **Merahi** de Tizi Ouzou et surtout **Tamila***

*A mes chères amies **Zayneb** et **Hadjer** avec lesquelles j'ai partagé des moments de joie.*

*A **Zahra** qui m'a encadrée, conseillée et suivi mon travail avec patience je te remercie de tout mon cœur et je te souhaite une bonne continuité dans tes études.*

Chafiaa



Dédicac

Merci à Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire, de réfléchir, d'avoir la force d'en croire en lui et surtout d'avoir la patience de persévérer jusqu'à la réalisation de mon rêve et de mon bonheur, tout en levant, mes mains vers le ciel et dire :

"Ya Kayoum"

Je dédie humblement ce modeste travail :

A mon cher père Abd'El-Madjid

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma chère mère Dalila

Honorable, Aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours.

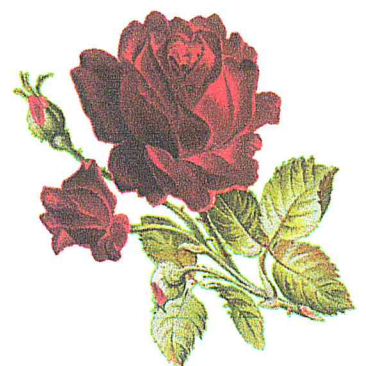
A mes chers frères Nasr eddin et Nadir

Pour leurs aides, leurs générosités, leurs gentillesse, et leurs soutiens.

A tous mes amis (es) avec lesquels (les) j'ai partagé des moments exceptionnels de joie et de bonheur.

Sans oublier d'adresser mes remerciements à toutes les personnes qui ont m'aidé de près ou de loin par le fruit de leurs connaissances, de leur savoir pendant toute la durée de mon parcours instructif.

Hadjer



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction **01**

Chapitre I : Généralités et description de la zone d'étude

I/Généralité.....	03
1. Définition d'une zone humide.....	04
2.1. Généralités sur la Numidie Algérienne.....	04
3. Présentation de la région d'étude.....	05
3.1. Situation géographique et administrative du P.N.E.K.....	05
II. Description du site d'étude (Lac Tonga)	06
1. Situation géographique.....	06
2. Situation administrative.....	07
3. Situation socio-économique.....	07
3.1. Population du bassin versant du Lac Tonga.....	07
4. Etude climatique.....	08
4.1. La Température.....	08
4.2. Les Précipitations.....	09
4.3. Le vent.....	09

4.4. Synthèse climatique.....	10
4.4.1. Climagramme d'Emberger.....	10
4.4.2. Diagramme pluvio-thermique de Bagnouls et Gausсен.....	11
5. Le cadre biotique.....	11
5.1. Caractéristiques écologiques.....	11
5.1.1. La flore remarquable.....	12
5.1.2. Faune remarquable.....	12
6. Exploitation du site.....	14
6.1. L'agriculture.....	14
6.2. Elevage et pastoralisme.....	15
6.3. Chasse et braconnage.....	16
6.4. Pêche.....	16
6.5. Tourisme.....	16
6.6. Industrie.....	16

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	17
1.1. Matériel de prélèvement.....	17
1.2. Mode de prélèvement.....	18
1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons.....	18
1.4. Transport et conservation des échantillons avant l'analyse.....	18

2. Choix des stations de prélèvement.....	19
3. Nature et période de prélèvement.....	20
4. Les analyses physico-chimiques.....	20
4.1. Les paramètres mesurés <i>in situ</i>	20
4.1.1. La température.....	20
4.1.2. Le pH.....	20
4.1.3. L'oxygène dissous.....	21
4.1.4. La conductivité électrique.....	21
4.2. Les paramètres mesurés dans laboratoire.....	21
5. Les analyses bactériologiques.....	22
5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux).....	22
5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination fécale.....	24
5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide (Méthode de NPP).....	24
5.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (<i>Enterococcus</i>).....	27
5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (<i>Clostridium</i>).....	29
5.3. Recherche des germes pathogènes.....	32
5.3.1. Recherche de <i>Shigella</i>	32
5.3.2. Recherche des staphylocoques.....	32
5.3.3. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33

5.3.4 Recherche de <i>Salmonella</i>	35
5.3.5. Recherche de Vibron cholérique.....	36
6. L'identification	38
6.1. Examen macroscopique des caractères culturaux.....	38
6.2. Examen microscopique.....	39
6.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques.....	40
6.3.1. Caractères enzymatiques.....	40
6.3.2. Caractères biochimiques.....	41

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Les analyses physico-chimiques.....	47
1.1. Les paramètres mesurés <i>in situ</i>	47
1.1.1. La température	47
1.1.2. Le pH	48
1.1.3. La conductivité électrique.....	48
1.1.4. L'oxygène dissous	49
1.2. Les paramètres mesurés dans laboratoire	50
1.2.1. Ion magnésium (Mg^{+2}).....	50
1.2.3. Ion calcium (Ca^{+2}).....	51
1.2.4. Le taux des sels dissous (TDS).....	52
1.2.5. La turbidité	52

1.2.6. Matières en suspension (MES)	53
1.2.7. La matière organique(MO)	54
1.2.8. Le Résidu sec (RS).....	55
2. Les analyses bactériologiques	55
2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux	56
2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	57
2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	58
2.4. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) :.....	59
2.5. Résultats des germes pathogènes	60
2.5.1. Caractère morphologique et coloration de Gram	60
2.5.2. Résultats de l'identification biochimique.....	62

Conclusion.

Références bibliographiques.

Résumé.

Abstract.

ملخص

Annexes

Liste des abréviations

DGF : Direction Générale du Foret.

SAU : Surface Agricole Utilisée.

OMS : Organisation Mondial de Santé.

PNEK : Parc National d'El-Kala.

UNESCO : Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture.

L'U.I.C.N : Union internationale pour la conservation de la nature.

Tab : tableau.

Fig : figure.

N : nord.

E : est.

ha : hectare.

m /sec : mètre par seconde.

cm : centimètre.

mm/an : millimètre par ans.

µm : Micromètre.

µl : micro litre.

µs/cm: micro simens par centimètre.

UFC/ML : unité formant colonie par millilitre.

CT : coliformes totaux.

CF/ml : coliforme fécaux par millilitre.

SF/ml : streptocoque fécaux par millilitre.

C° : Degré Celsius.

P : précipitation.

GNAB: gélose nutritive alcaline de billé.

TGEA : Tryptone – Glucose – Extrait de levure – Agar.

NPP : nombre plus probable.

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

S/C : simple concentration.

D/C : Double concentration.

SFB: Bouillon Sélénite Cystéine.

EPA : Eau Peptonée Alcaline.

TSI: Triple Sugar Iron.

RM: Rouge de Méthyle.

ONPG: Ortho-Nitrophénol-B-D-Galactosidase.

ADH: Arginine Di –Hydrolase.

LDC: Lysine Décarboxylase.

ODC: Ornithine Décarboxylase.

TDA: Tryptophane Décarboxylase.

IND : indole.

VP: Viande Foie.

Fe S : sulfate de fer.

Fe₂⁺ : Fer ferreux.

Na₂SO₃ : Sulfite de sodium.

NO₃⁻ : nitrate.

NO₂⁻ : nitrite.

Na cl : Chlorure de Sodium .

ASR: Anaérobies sulfite-réducteurs.

SS: *Salmonella-Shigella*.

BGN: Bacilles Gram négatifs.

CE: collaboration Européenne.

T : température.

CE : conductivité.

pH : potentiel Hydrogène.

TDS : Le taux des sels dissous (TDS).

MES : des matières en suspension.

MO : des matières oxydables.

RS : résidu sec.

Ca⁺² : calcium.

Mg⁺² : magnésium.

EDTA : éthylène diamine tétra acétique

Min: minimum.

Max: maximum.

Moy : moyenne.

H : Hammam.

S : Station

Listes des figures

Fig.01: Le complexe des zones humides de la Numidie orientale.....	05
Fig.02: Situation géographique et administrative du P.N.E.K.....	06
Fig.03: La Situation géographique du site d'étude (Lac Tonga).....	07
Fig.04: Graphe d'Emberger pour la région d'El-Kala.....	10
Fig.05: Diagramme pluvio-thermique de la région d'El-Kala.....	11
Fig.06: <i>Marsilea diffusa</i>	12
Fig.07: <i>Nymphaea alba</i>	12
Fig.08: <i>Lutra lutra</i>	13
Fig.09: <i>Elaphus barbarus</i>	13
Fig.10: <i>Ardea cinerea</i>	13
Fig.11: <i>Chlidonias hybridus</i>	13
Fig.12: Localisation des stations de prélèvement.....	19
Fig.13: Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C dans l'eau.....	24
Fig.14: Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et <i>E.coli</i>	27
Fig.15: Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	29
Fig.16: Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réducteurs dans l'eau.....	31
Fig.17: Protocole de recherche des <i>staphylococcus</i> , <i>Shigella</i> et <i>Pseudomonas</i> dans l'eau.....	34
Fig. 18: Protocole opératoire de la recherche de <i>Salmonella</i> dans l'eau.....	36

Fig.19: Protocole opératoire de recherche et identification des <i>Vibrien</i> dans l'eau.....	38
Fig.20: Procédure de la coloration de Gram.....	40
Fig. 21: Test catalase négatif à gauche et positif à droite.....	40
Fig.22: Test oxydase positif.....	41
Fig.23: Présentation de la galerie API 20 E.....	45
Fig.24: Présentation de la galerie API 20 NE.....	46
Fig.25: Variation de la température de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	47
Fig.26: Variation du pH de l'eau du Lac Tonga (Février– Mars – Avril 2015).....	48
Fig.27: Variation de la conductivité électrique de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	49
Fig.28: Variation de l'oxygène dissous de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	50
Fig.29: Variation d'ion magnésium (Mg^{+2}) de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	51
Fig.30: Variation d'ion calcium (Ca^{+2}) de l'eau du Lac Tonga du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	51
Fig.31: Variation du taux des sels dissous (TDS) de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	52
Fig. 32: Variation de la turbidité de l'eau du Lac Tonga du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	53
Fig.33: Variation des teneurs de MES de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	54

Fig.34: Variation des teneurs de la matière organique de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	54
Fig. 35: Variation de Résidus secs de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	55
Fig.36: Estimation des Germes totaux à 37°C UFC/ml dans l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015)	56
Fig.37: Estimation des coliformes totaux/100ml dans l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	57
Fig.38: Estimation des coliformes fécaux/100 ml de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	58
Fig.39: Estimation des Streptocoques fécaux/100 ml dans l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).....	59
Fig.40: Aspect des colonies sur gélose SS à gauche et GNAB à droite.....	61
Fig.41: Aspect des colonies sur gélose Mac Conkey à gauche et Hectoèn à droit.....	61
Fig.42: Aspect des colonies sur milieu Chapman.....	62
Fig. 43: Cocci à Gram positif en Diplocoque (objectif × 100).....	62
Fig. 44: Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.....	63
Fig. 45: Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter sakazakii</i>	63
Fig.46: Profil biochimique de la souche <i>Serratia odorifera</i>	64
Fig. 47: Profil biochimique de la souche <i>Vibrio vulnificus</i>	64
Fig .48: Profil biochimique de la souche <i>Aeromonas hydrophila</i>	64

Liste des tableaux

Tab.01: Températures moyennes mensuelles de la région d'El-Kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El-Kala).....	08
Tab.02: Valeurs météorologique de la région d'El-Kala (Station météorologique d'El-Kala) période (1997-2006).....	09
Tab.03: Pourcentages des terres cultivées par commune (Compagne 1993,94,1994-95 , et 1996- 97).....	14
Tab.04: Effectifs de bovins, ovins et caprins dans bassin versant du Lac Tonga.....	15
Tab.05: Présentation des stations et périodes de prélèvements.....	19
Tab.06 : Les différents paramètres Physico-chimiques mesurés dans laboratoire.....	21
Tab.07: Tableau de Mac GRADY.....	(Annexe 12)
Tab.08 : Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i>	(Annexe 08)
Tab.09: Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI.....	(Annexe 08)
Tab.10: Lecture d'API 20 E.....	(Annexe 09)
Tab.11: Lecture d'API 20 NE.....	(Annexe 10)
Tab.12: Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.	(Annexe 11)
Tab.13: La grille de la qualité des eaux de surface selon la conductivité électrique (Monod, 1989).....	(Annexe 11)
Tab.14: Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous.	(Annexe 11)
Tab.15: Dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR/20 ml).....	59

Tab.16: Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées durant notre étude.....	60
Tab.17: Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.....	62
Tab.18: Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE.....	63
Tab.19: Répartition des espèces bactériennes isolées pendant les deux prélèvements entre les stations.....	64



Introduction

Introduction

Les ressources en eau proviennent des eaux de surface et des eaux souterraines renouvelables et non renouvelables (Harrat et Achour, 2010), dont 97 % de l'eau de surface est salée ; les 3 % restant constituent les réserves d'eau douce de la planète. (Rejsek, 2002). Les zones humides une de ces milieux naturels ; où l'eau est le principal facteur contrôlant la vie animale et végétale associée (in Metallaoui, 2010).

L'Algérie abrite une gamme de zones humides très diversifiées, lacs, lagunes, marais, sebkha (Metallaoui et Houhamdi, 2008), qui font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle, elles jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs (in Metallaoui, 2010).

La pollution des eaux est une notion qui est en constante évolution. L'Algérie ; est l'un des pays qui souffre de cette pollution, et plus précisément les eaux de surface, ou les causes; sont généralement liées aux rejets industriels, l'emploi des pesticides et des engrais dans l'agriculture et surtout aux eaux usées d'origine urbaine. Ce qui présente un grand risque sur la santé publique ainsi que sur les différents écosystèmes aquatique en général et les zones humides en particulierité (Merzoug, 2009).

La Numidie, située dans le Nord-Est algérien, est réputée pour ses zones humides qui sont réparties en deux grands complexes séparés par l'Oued Seybouse: la Numidie orientale composée des complexes d'Annaba et d'El-Kala et la Numidie occidentale représentée par le complexe de Guerbes-Senhadja et le Lac Fetzara (Samraoui et De Belair , 1997).

La Numidie orientale délimitée dans sa partie occidentale par l'Oued Seybouse, cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels au Maghreb par leurs dimensions et notamment par leur diversité (profondeur, salinité) (Van dijk et Ledant , 1980). Cependant grâce à cette diversité des écosystèmes marins, lacustres et forestiers qui renferment une richesse animale et végétale élevée, une superficie de 76438 ha de cette région jouit d'une protection légale (décret N° 83458) et ce depuis le 23 juillet 1983 sous le nom de parc national d'El-Kala (PNEK).

Le Lac Tonga l'un des lacs du Parc National d'El-Kala, des zones humides d'importance internationale, Vu cette importance majeure de nombreuses études ont été effectuées sur la qualité des eaux de ce plan d'eau et ceci dans le but d'apprécier l'évolution de son impact sur l'environnement et sur la santé publique.

Dans ce cadre, Notre étude est réalisée pour atteindre les objectifs suivant :

- La détermination de la qualité bactériologique de l'eau de cet écosystème avec :
 - ❖ Dénombrement instantané des germes totaux dans l'eau ;
 - ❖ Estimation des effectifs témoins d'une contamination fécale ;
 - ❖ Recherche éventuelle des germes pathogènes dans ce plan d'eau.
- Détermination de la variation de quelques paramètres physico -chimiques de l'eau du Lac Tonga

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

- **Le premier chapitre**, une étude bibliographique purement théorique rassemble d'une part des généralités sur les zones humides; ainsi une description détaillée sur les plans d'eau ciblée par notre étude.
- **Le deuxième chapitre**, une étude expérimentale consacrée à la présentation du matériel et la méthodologie suivie pour la réalisation des analyses bactériologiques et physico-chimiques effectuées durant ce travail ;
- **Le troisième chapitre**, sous formes des tableaux et des graphes explique les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique, avec une discussion de ces résultats.

Ces trois chapitres sont suivis d'une conclusion qui clôture ce mémoire.



Chapitre 01
Généralités et description de la zone d'étude

I. Généralité

L'U.I.C.N (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) a proposé en 1969, la définition d'un parc National qui est la suivante : un parc national est un territoire relativement étendu :

a) Qui présente un ou plusieurs écosystèmes, généralement peu ou pas transformés par l'exploitation et l'occupation humaine, où les espèces végétales et animales, les sites géomorphologiques et les habitats offrent un intérêt spécial de point de vue scientifique, éducatif et récréatif dans lesquels existent des paysages naturels de grandes valeurs esthétiques.

b) Dans lequel le pouvoir central du pays a pris des mesures pour empêcher ou éliminer dès que possible sur toute sa surface, cette exploitation ou cette occupation, et pour y faire effectivement respecter les entités écologiques, géomorphologiques ou esthétiques ayant justifié sa création.

c) Dont la visite est autorisée sous certaines conditions à des fins récréatives, éducatives et culturelles (Brahmia, 2012).

Ces objectifs se résument toujours selon L'U.I.C.N (1969) dans:

a) La conservation de la faune, de la flore, du sol, du sous-sol, de l'atmosphère, des eaux, des gisements de minéraux et des fossiles, en général, tout milieu naturel présentant un intérêt particulier à préserver.

b) La préservation de ce milieu contre les interventions artificielles et les effets de dégradations naturelles, susceptibles d'altérer son aspect, sa composition et son évolution.

c) L'initiation et le développement avec les autorités et les organismes concernés de toutes activités de loisirs et sportives en rapport avec la nature.

d) L'implantation, en relation avec les autorités et les organismes concernés, d'une infrastructure touristique dans la zone périphérique.

e) l'observation et l'étude du développement de la nature et de l'équilibre écologique (Brahmia, 2012).

1. Définition d'une zone humide

Au sens de la convention de Ramsar : « Les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur ne dépasse pas les six mètres » (**Razkallah et al., 2013**).

Une autre notion a été ajoutée par (**Barnaud, 1991**). Il s'agit de la biodiversité : « Les zones humides se caractérisent par la présence, permanente ou temporaire, en surface ou à faible profondeur dans le sol, d'eau disponible douce, saumâtre ou salée. Souvent en position d'interface, de transition, entre milieu terrestre et milieu aquatique proprement dit, elles se distinguent par une faible profondeur d'eau, des sols hydromorphes ou non évolués, et/ou une végétation dominante composée de plantes hygrophiles au moins pendant une partie de l'année. Enfin, elles nourrissent et/ou abritent de façon continue ou momentanée des espèces animales inféodées à ces espaces. » (**Metallaoui, 2010**).

2.1. Généralités sur la Numidie Algérienne :

Les zones humides de la Numidie algérienne sont d'une grande valeur pour la biodiversité (**Samraoui et De Belair, 1998 ; Metallaoui et Houhamdi, 2008**). La Numidie, située dans le Nord-Est algérien, est réputée pour ses zones humides qui sont réparties en deux grands complexes séparés par l'Oued Seybouse: la Numidie orientale composée des complexes d'Annaba et d'El-Kala et la Numidie occidentale représentée par le complexe de Guerbes-Sanhadja et le Lac Fetzara (**Houhamdi, 1998**).

La Numidie orientale délimitée dans sa partie occidentale par l'Oued Seybouse a pour limite septentrionale la Méditerranée et pour limite méridionale les collines de l'Atlas tellien, tandis que les frontières algéro-tunisiennes la délimitent à l'Est (**Fig. 01**) (**Samraoui et De Belair, 1997**). Cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels possèdent une grande diversité des écosystèmes marins, lacustre et forestières qui renferment une richesse animale et végétale élevée. Ces zones humides s'étendent sur une superficie de 156 000 ha (**Houhamdi, 1998**).

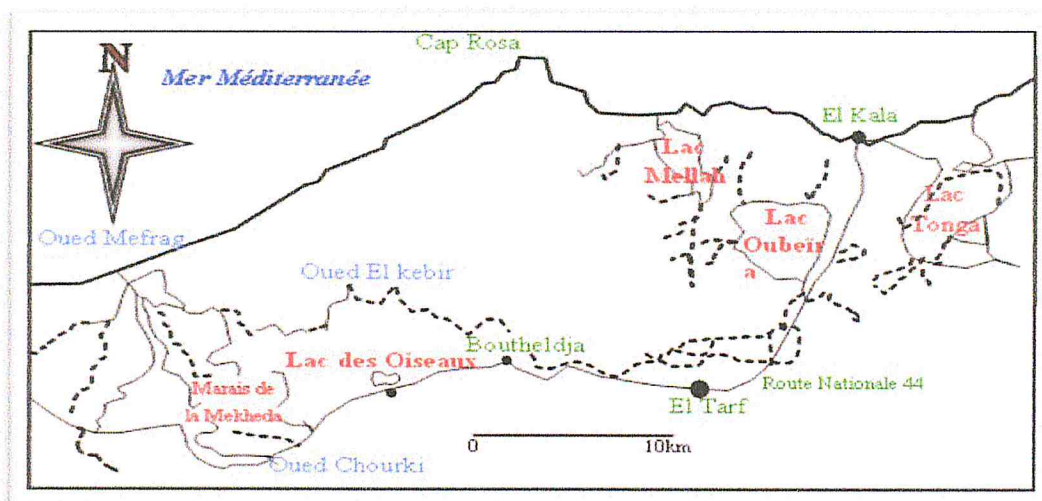


Figure 01 : Le complexe des zones humides de la Numidie orientale.

(Houhamdi, 2002)

3. Présentation de la région d'étude

La région d'El-Kala est considérée comme la région la plus humide d'Algérie. Ainsi, étant donné sa grande diversité et sa richesse biologique. Sa richesse tant floristique que faunistique a fait l'objet de plusieurs études depuis le début du siècle, c'est pour cette raison qu'elle a été déclarée le 23 juillet 1983 un parc national (Anonyme, 1996).

3.1. Situation géographique et administrative du P.N.E.K :

Le Parc National d'El-Kala est situé dans la wilaya d'El Tarf à l'Est Algérien et s'étend sur une superficie 80 000 ha. Créé en 1983 ; il constitue un laboratoire naturel pour de nombreux chercheurs. Sa richesse biologique et paysagère lui a valu d'être érigé en réserve de biosphère par l'UNESCO (Adjami, 2006).

Le Parc National d'El-Kala présente un ensemble lacustre unique en Algérie et en Afrique du Nord. Ces lacs sont représentés par : le Lac Tonga et Lac Oubeira (classés comme zones d'importance internationale (RAMSAR), le Lac El -Mellah, le Lac Bleu, le Lac Noir et le Marais de Bourdhim. Il est limité : Au Nord par la Méditerranée, Au Sud par les monts de la medjedra, à l'est par la frontière algéro-tunisienne, et à l'Ouest par les plaines d'Annaba. Administrativement, il est inclus dans la wilaya d'El-Tarf et comporte huit communes qui sont : El-Kala, Bouteldja, Berihane, El-Tarf, Bougous, Oum Theboul, Ain Assel et El-Aioun. (Fig. 02) (Kadid, 1989).

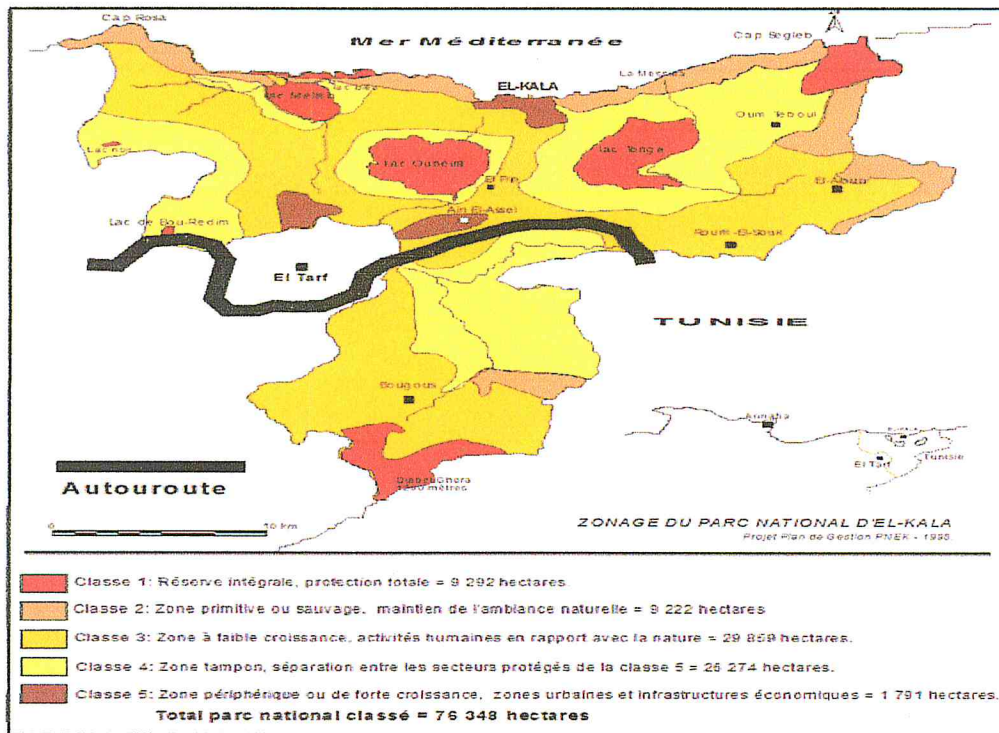


Figure 02 : Situation géographique et administrative du P.N.E.K (1)

II. Description du site d'étude (Lac Tonga)

1. Situation géographique

Le Lac Tonga est situé à 36°51' N, 08°30' E à l'extrême nord-est du parc national d'El Kala (wilaya El Tarf) et de l'Algérie, et couvre une superficie d'environ 2000ha. Il est situé à l'est de la ville d'El-Kala, à 5 Km du Lac Oubeira (Abbaci, 1999). A l'Est, au Sud et à l'Ouest, il est bordé par les derniers contreforts de la Kroumirie couverte de forêts plus ou moins dégradées de Chaîne liège *Quercus seber*. Du côté Nord, ce sont des dunes maritimes fixées pour l'essentiel par un maquis dense de Chaîne kermès *Quercus cocciferasui* les séparent de la Méditerranée (Fig. 03) (Kadid, 1989).

la commune de Ramel El Souk (Raachi, 2007), son bassin hydrographique est limité entre quatre communes (El-Kala, Oum Teboul, Ramel El Souk et El Aioun) (Raachi, 2007).

4. Etude climatique

Le climat est certainement un facteur du milieu très important. Il a une influence directe sur la faune et la flore. Un climat méditerranéen règne sur la région caractérisé par une pluviométrie abondante, la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été (Ozenda, 1982).

4.1. La Température :

La température de l'air est un paramètre très important lié directement au développement de la majorité des êtres vivants (El Blidi *et al.*, 2006) et qui influe sur leurs activités (Debieche, 2002) ayant une grande influence sur le climat et sur le bilan hydrique car il conditionne l'évaporation et l'évapotranspiration réelle. Elle est en fonction de l'altitude, de la distance de la mer, des saisons et de la topographie (Ozenda, 1982 ; Toubal, 1986).

Nous consignons dans le tableau 4 les températures moyennes mensuelles de la région d'El-kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El -Kala) (Ait Mouloud, 2011).

Tableau 01 : Températures moyennes mensuelles de la région d'El-Kala pour la période de 1996 à 2007 (station météorologique d'El-Kala).

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
TM	16.16	16.32	17.81	20.28	23.47	25.67	30.10	31.65	26.04	25.05	19.44	17.65
Tm	9.15	9.56	11.15	12.51	15.96	19.41	21.83	23.43	21.17	17.53	13.28	10.88
(TM+Tm)/2	12.65	12.94	14.48	16.39	19.71	22.54	25.96	27.54	23.60	21.29	16.36	14.26

TM : moyenne mensuelle des températures maximales.

Tm : moyenne mensuelle des températures minimales.

(TM+Tm) /2 : Température moyenne mensuelle.

L'analyse du tableau montre que les températures moyennes mensuelles atteignent un maximum au mois d'aout avec 27,54°C, puis diminuent progressivement pour arriver à un minimum de 12 ,65°C au mois de janvier.

Les températures moyennes maximales sont enregistrées en été (août = 31,65° C) et températures moyennes minimales en hiver (janvier = 9,15° C).

4.2. Les Précipitations:

Avec la température, les précipitations représentent les facteurs les plus importants du climat (Faurie *et al.*, 1983) qui sont régulées par autres facteurs : l'altitude, la longitude...etc. (Halassi, 2010). 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...etc. (Dajoz, 2000).

Selon (Seltzer, 1946), les pluies qui tombent en Algérie sont pour la plus part influencées par le relief, la tranche annuelle augmente dans une région donnée avec l'altitude.

La région de l'extrême Nord-est de l'Algérie compte parmi les plus abondamment arrosées 1300 mm/an (BNEF, 1979).

Une des caractéristiques de la pluviosité dans la région réside et sa grande variabilité annuelle, saisonnière et mensuelle, c'est une caractéristique du climat méditerranéen avec une concentration de la totalité des précipitations sur quelques mois de l'année, de novembre à avril au cours desquels, les précipitations gagnent sur l'évaporation. Une saison sèche de mai à octobre, où les précipitations sont déficitaires par rapport à l'évaporation et le minimum annuel s'observe toujours en juillet –août (Tab. 02) (Raachi, 2007).

Tableau 02 : Valeurs météorologique de la région d'El-Kala (Station météorologique d'El-Kala) période (1997-2006)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
P _{moy} mm	85.19	64.16	35.77	52.09	38.00	7.14	2.46	13.29	52.15	43.69	107.47	133.42
Humidité moy %	77.36	76.94	73.82	72.99	74.00	69.48	68.86	69.01	72.42	72.18	75.94	77.49
Vitesse de vents km/h	13.86	14.26	13.73	13.94	13.13	13.77	14.58	14.01	13.36	12.40	13.69	14.66

4.3. Le vent :

Les vents du Nord-ouest sont prédominants, surtout en hiver, et leur stabilité depuis le Quaternaire est attestée par l'orientation des dunes dans toute la Numidie (Samraoui et De Belaire, 1998). Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tab. 02).

4.4. Synthèse climatique :

4.4.1. Climagramme d'Emberger

En 1955, Emberger a classé les climats méditerranéens en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la température.

$$Q_2 = p1000 / [M+m] \frac{1}{2} [M-m]$$

Q_2 : quotient pluviométrique.

P : précipitations moyennes annuelles.

M : T° max du mois le plus chaud (K°).

m : température des minima du mois le plus froid (K°).

Le quotient pluviométrique de la région d'El-Kala $Q_2 = 103.71$.

La Numidie est localisée dans l'étage bioclimatique sub-humide à hiver chaud (Fig. 04).

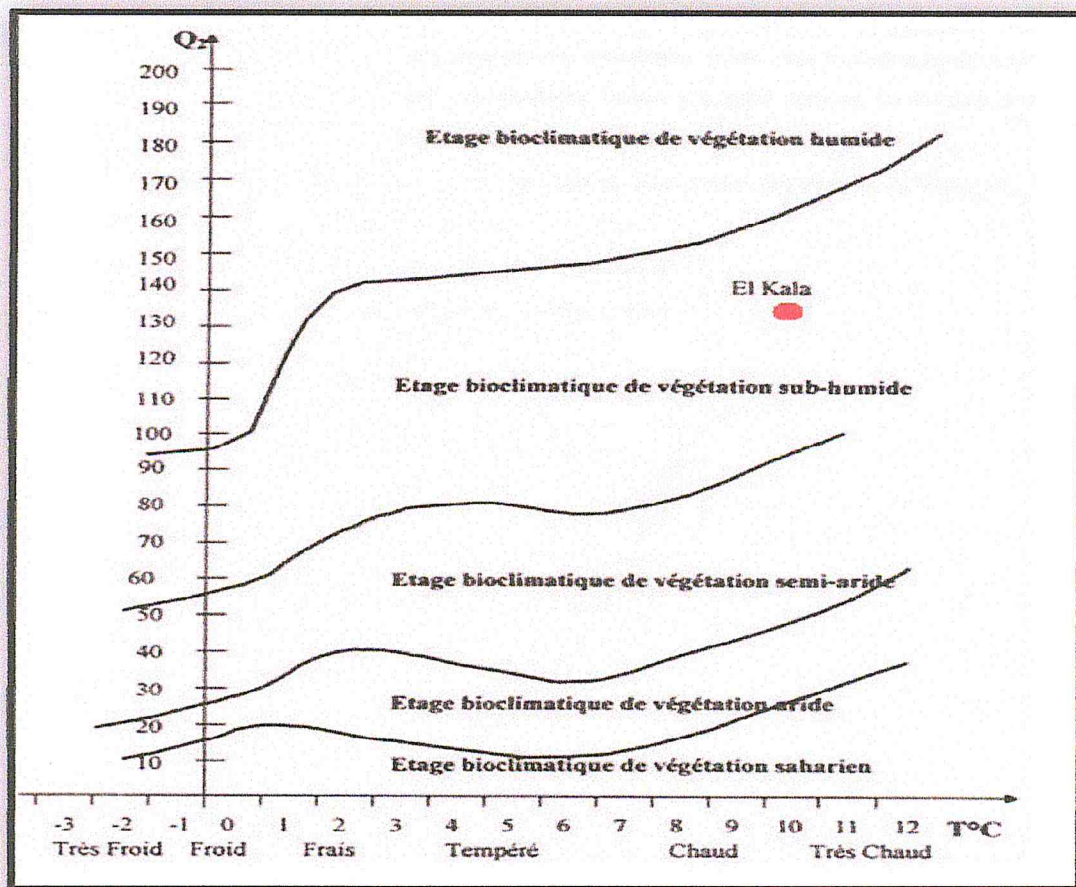


Figure 04: Graphe d'Emberger pour la région d'El-Kala (Touati, 2008).

4.4.2. Diagramme pluvio-thermique de Bagnouls et Gausсен :

Pour l'élaboration du diagramme pluvio-thermique de Bagous et Gausсен (1957) nous avons tenu comptes des donnés climatiques bien précis qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide (Fig. 05).

Les courbes pluvio-thermiques ainsi établies, nous ont permis de visualiser deux saisons distinctes : l'une sèche de Mai à Septembre et l'autre d'Octobre à Avril (Touati, 2008).

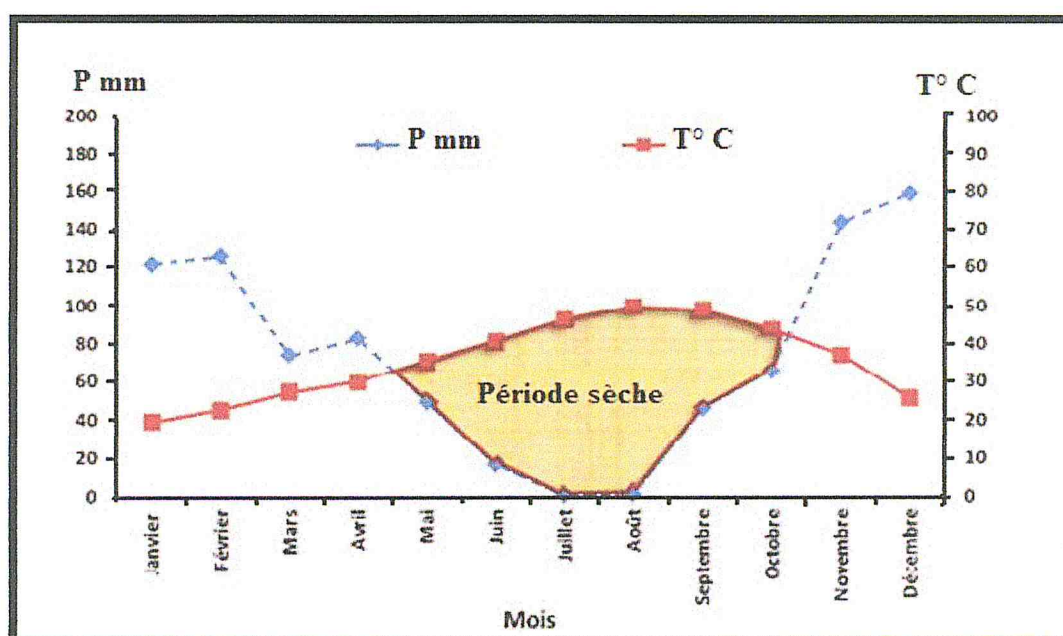


Figure 05: Diagramme pluvio-thermique de la région d'El-Kala. (Aib *et al.*, 2014)

5. Le cadre biotique

5.1. Caractéristiques écologiques:

C'est un site d'hivernage pour des dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autres), un site de nidification d'un nombre important d'espèces aviaires et une zone de mue et d'escale. Ces fonctions sont assurées par la grande diversité des milieux au sein même du lac et la présence de grandes surfaces d'eau libre, Le Lac Tonga est un site qui abrite une faune très importante (anguille, reptiles et amphibiens, insectes au moins pendant leurs stades larvaires) (Bouzaaroura *et al.*, 2011).

5.1.1. La flore remarquable :

Le plan d'eau du lac est occupé par une végétation aquatique riche et diversifiée, et qui très variable selon les saisons et la situation géographique. Dans la plupart des cas, ces types de végétation ne se rencontrent pas isolés mais forment des associations singulières. La surface est recouverte à 90 % par cette végétation aquatique subdivisée en 14 groupements dont dix associations, 82 espèces végétales recensées qui appartiennent à 31 familles botaniques, dont 32 espèces (39% de l'ensemble) sont classées d'assez rares à rarissimes telles que *Marsilea diffusa*, *Nymphaea alba*, *Utricularia exoleta* (Kadid, 1989).



Figure 06: *Marsilea diffusa* (2)

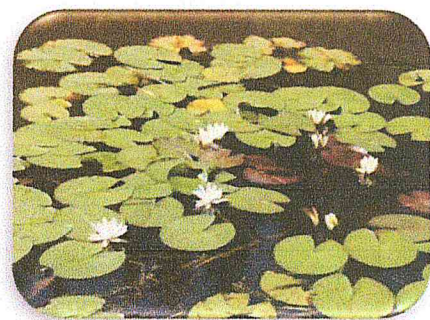


Figure 07: *Nymphaea alba* (3)

5.1.2. Faune remarquable :

➤ Les mammifères :

La faune mammalienne du bassin versant du Tonga, tous écosystèmes confondus sont représentés par 37 espèces. Certaines de ces espèces sont rares et localisées. La loutre *Lutra lutra* espèce rare et menacée d'extinction, confinée au lac Tonga reste tributaire de l'intégrité de son biotope (Ghalmi, 1997). Le cerf de barbarie *Cervus Elaphus barbarus*, seul grand mammifère du Maghreb tellien du Maroc à la Tunisie, en Algérie il est confiné au Nord de la région frontalière Algéro-tunisienne et occupe donc toute la subéraie, la pineraie et la cocciferaie de bassin versant du Tonga et sa présence à l'intérieur des frontières algériennes est fortement liée à la présence d'eau dans le bassin versant, et le lac Tonga en périodes de sécheresse est l'unique point d'eau des deux côtés de la frontière. Le caracal *Caracal caracal* est le plus grand félin d'Afrique du Nord. Grand prédateur, très rare, sa survie est conditionnée par la disponibilité de territoires forestiers de grande taille.



Figure 08: *Lutra lutra* (4)



Figure 09: *Elaphus barbarus* (5)

➤ Les oiseaux d'eau :

Quelques dizaines de milliers d'oiseaux d'eau (Canards, Oies, Rallidés, Ardéidés, Limicoles et autre), hivernent au Tonga, c'est aussi un site de nidification pour un nombre important d'espèces aviaires, parmi elles, nous avons une colonie d'Ardéidés représentée par des Hérons et des Aigrettes. Le Busard des roseaux *Circusae roginosus*, la poule d'eau *Gallinula chloropus*, le Râle d'eau *Rallus aquaticus*, l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, le Fuligule nyroca *Aythya nyroca*, la Talève sultane *Porphyrio porphyrio*, le Blongios nain *Ixobrychus minimus*, la Guifette moustac *Chlidonias hybridus*, l'Ibis falcinelle *Plegadis falcinellus*. On y rencontre également la Sarcelle marbrée *Marmaronetta angustirostris* et la sarcelle d'été *Anas querquedula*, le flamant rose, la spatule blanche et d'autres espèces (Boumezbeur, 1990 ; 1993, Belhadj *et al.*, 2007).



Figure 10: *Ardea cinerea* (6)



Figure 11: *Chlidonias hybridus* (7)

6. Exploitation du site

6.1. L'agriculture :

L'agriculture autour du lac est peu développée et caractérisée par des petites exploitations familiales tournées vers une agriculture traditionnelle sur des superficies petites avec un rendement souvent faible à moyen, ceci due au sol ingrat de nature sableuse. Même dans le passé, nous notons les habitants cultivant des pastèques et quelques arbres fruitiers (Néflier, Pommiers et Bananiers...) (Abbaci, 1999). La surface agricole utilisée (S.A.U.) représente 3 509 ha, c'est-à-dire 2,33% du bassin versant (Tab. 03)

Tableau 03 : Pourcentages des terres cultivées par commune (Compagne 1993, 94, 1994-95, et 1996-97) (Raachi, 2007)

Commune	Terre utilisée annuellement (ha)	Jachère (ha)	S.A.U. (ha)	% de terres utilisées (ha) (ha)
El-Kala	656	406	1062	61
Oum Teboul	412	524	936	44
El AïOUD	430	181	611	70
Ramel El Souk	837	63	900	93
Total (B.V)	2335	1174	3509	66

Les cultures sont dominées par le maraîchage (12,11 % de la S.A.U.), et l'arachide (14,8% de la S.A.U.) (OSA, El Tarf 1990), pratiquées aux abords des sources d'eau facilement accessibles comme les Oueds, le lac, «fonda», excavations qui mettent à nu la nappe phréatique proche de la surface.

Dans les zones montagneuses, la céréaliculture est pratiquée sur les piémonts où les programmes de développement suggèrent plutôt aux agriculteurs d'opter pour l'arboriculture qui pour l'instant se limite, à quelques parcelles (Raachi, 2007).

On note une grande pression démographique sur les parcelles agricoles dont il existe une population de 17460 habitants, et une S.A.U. de 3 509 ha c'est à dire la densité de la population selon la S.A.U est de 5 habitants / ha ou 1 habitant / 2 000 m² (Raachi, 2007).

6.2. Elevage et pastoralisme :

Les prairies et les forêts entourant le lac sont des zones de pâturage surtout pour les vaches qui sont rencontrées avec des nombres assez élevés. Cette activité est caractérisée par une pratique d'élevage traditionnelle incontrôlée.

Le troupeau existant sur le territoire du bassin versant du lac Tonga s'élève à 22 080 têtes (bovines, ovines et caprines), ce qui explique les effets négatifs sur les massifs forestiers et les zones humides, et distinctement les ripisylves et aulnaies où le potentiel fourrager offert est énorme (Tab. 04) (Raachi, 2007).

Tableau 04: Effectifs de bovins, ovins et caprins dans bassin versant du Lac Tonga (Raachi, 2007).

Elevage Commune	Bovins	Ovins	Caprins
El-Kala	2750	2080	400
Oum Teboul	2050	1300	1150
El AiOUD	1750	3400	2000
Ramel El Souk	2450	2300	450
Total (B.V)	9000	9080	4000

En été, avec l'assèchement d'une partie du lac, une grande surface de prairies et de roselier se libère surtout sur le côté de la rive orientale : mais cela ne suffit pas à nourrir la totalité des vaches qui tentent alors à entrer dans le lac à des profondeurs importantes, et comme un résultat à cet effet une biomasse importante de végétations aquatique est prélevée menaçant ainsi la destruction et même la disparition de la végétation (Abbaci, 1999).

Dans la partie des terres basses, les plaines et autour du lac, l'élevage est complémentaire aux cultures, le troupeau est généralement constitué d'une douzaine ou une vingtaine de bovins qu'accompagnent fréquemment un nombre équivalent d'ovins ou de caprins et qui ne sont pas systématiquement destinés à la vente (Raachi, 2007).

6.3. Chasse et braconnage :

Les oies et les canards sont les gibiers d'eau les plus recherchés par les chasseurs. La saison de la chasse n'est jamais respectée surtout sur le côté Ouest du lac (Oued El-Hout) où la chasse des canards est presque tout le long de l'année même en période de nidification. Les jévinules des canards qui volent avec efforts et à faibles hauteurs sont victimes des chasseurs. Les espèces les plus menacés sont l'Oie cendrée *Anser anser*, le Canard colvert *Anas platyrhynchos*, le Canard Chipeau *Anas strepera*, la Sarcelle d'hiver *Anas crecca*, le Filugule milouin *Aythyaferina*. Durant la période de nidification, certains riverains, surtout les enfants, s'adonnent au braconnage. La partie Sud-ouest (Fedj El-Alleg) et Sud-est (coté de Oued El-Hout) abrite un grand nombre d'oiseaux (Abbaci, 1999).

6.4. Pêche :

La seule activité de pêche pratiquée concerne surtout l'Anguille *Anguilla anguilla* l'espèce abondante au niveau du lac.

Autres espèces de poissons : *Gambuses*, *Carpes*... vivent également dans ces eaux riches en phytoplancton et zooplancton. Nous n'avons pas noté une pression de pêche importante dans ce lac (Abbaci, 1999).

6.5. Tourisme :

Surtout durant la période estivale, le tourisme balnéaire est pratiqué loin du site sur le littoral (plage Messida qui accueille chaque année un nombre croissant d'estivants). L'écotourisme y est pratiquement absent et peu de routiers, de passants, font une halte au niveau du site (Abbaci, 1999).

6.6. Industrie :

C'est une activité heureusement forte absente sur un rayon de 2 à 3Km du site, à l'exception d'une petite unité de fabrication de Siporex (brique silico-calcaire) à Oum Teboul, Partiellement à l'arrêt (Brahmia, 2012).



Chapitre 02
Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

Le prélèvement correspondant à la prise d'un certain volume représentatif du milieu, et l'échantillonnage qui consiste à soutirer des fractions du prélèvement sont des étapes importantes, (Chaouch, 2007; Rodier, 2009); car la qualité du rapport final rédigé par un laboratoire et l'interprétation sera influencée par la qualité de l'échantillon prélevé (Lightfoot, 2002).

En fonction de la nature des eaux analysées et celle des microorganismes recherchés, les normes fixent des conditions à respecter. L'objectif est d'obtenir un échantillon aussi représentatif que possible de l'eau à examiner, sans contaminer ni modifier l'échantillon. Des précautions doivent être prises (Rejsek, 2002).

1.1. Matériel de prélèvement :

Le prélèvement destiné à l'analyse microbiologique de l'eau doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse (Guiraud, 1998). Les échantillons sont prélevés à l'aide de flacons en verre pyrex munis d'un bouchon à vis métallique, d'une contenance de 250 ml, stériles pour faciliter les prélèvements et éviter tout type de contamination (Derwich *et al.*, 2008 ; Merzoug, 2009).

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

La verrerie lavée est ensuite stérilisée soit :

- A la chaleur sèche (four Pasteur) à une température comprise entre 170 et 175°C, pendant au moins 1h.
- A la chaleur humide (autoclave) en le maintenant à une température de 121°C, pendant au moins 20' (Merzoug, 2009).

Pour éviter les risques de contamination, les flacons d'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement. Une fois l'échantillon est prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse (Rejsek, 2002; Rodier, 2009).

1.2. Mode de prélèvement :

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, 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, 1996).

Le prélèvement de nos échantillons a été effectué manuellement au niveau de la colonne d'eaux de lac Tonga sur des points de prélèvement fixes en utilisant des flacons en verre stériles de 250 ml pour l'analyse bactériologique.

Rince au moment de l'emploi avec l'eau à examiner, les flacons sont ouverts sous l'eau, goulot dirigés 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, 1996).

Pour l'analyse physico-chimique, les échantillons ont été prélevés dans des bouteilles en polyéthylène de 1.5L, propres rincées plusieurs fois avec l'eau à analyser, puis fermées hermétiquement sans laisser des bulles d'air, ils ont été utilisés à environ 50 cm, en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier, 1984).

1.3. Enregistrement et étiquetage des échantillons :

Pour faciliter le travail et l'exploitation des résultats tout en évitant les erreurs, il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement avant les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles et non détachables. Dans ces derniers, on doit noter avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales (Rodier, 1996; Lightfoot, 2002).

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

Les échantillons soigneusement étiquetés sont placés dans une glacière à + 4°C et transportés ensuite au laboratoire. 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, 1996).

2. Choix des stations de prélèvement

Les sites où seront prélevés les échantillons pour refléter la qualité de l'eau de la région où on les a prélevés, d'où on doit éviter de prélever dans des zones proches du bord.

Dans ces zones on peut rencontrer des concentrations considérables de sable et de sédiments. Pour cette raison, les lieux de prélèvement d'échantillons sont généralement choisis aux endroits où la profondeur de l'eau se situe entre 1 et 1,5m (Light foot, 2002).

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau du Lac Tonga nous avons choisi deux points de prélèvement (Tab.05) (Fig. 12).

Tableau 05: Présentation des stations et périodes de prélèvements.

Points de prélèvement	Date de prélèvement	Heure de prélèvement
Station 1 (36°86'N 8°48'E)	28/02/2015	11 :30 h
	24/03/2015	12 :00 h
	19/04/2015	11 :45 h
Station 2 (36°87'N 8°53'E)	28/02/2015	12 :00 h
	24/03/2015	13 :15 h
	19/04/2015	12 :30 h



Figure12 : Localisation des stations de prélèvement (Google Map 2015).

3. Nature et période de prélèvement

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité bactériologique et physico-chimique du lac Tonga, nous avons effectué trois prélèvements pendant les trois mois Février, Mars et Avril 2015.

Nos analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie de l'université du 08 Mai 1945 Guelma.

Dont nos analyses chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma.

4. Les analyses physico-chimiques

4.1. Les paramètres mesurés *in situ* :

La température, le pH, la conductivité, et l'oxygène dissous doivent être mesurés *in situ* pendant chaque prélèvement. Ils permettent une première estimation de la qualité du plan d'eau.

En effet, ces paramètres sont très sensibles aux conditions du milieu et susceptible de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

Les mesures *in situ* sont des analyses réalisées sur place à l'aide d'un multi-paramètre de type WTW 1970 i.

4.1.1. La température :

Il est très important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle direct sur le comportement de différentes substances contenues dans l'eau; et elle a aussi une grande influence sur l'activité biologique (Roux, 1987 ; Rodier, 1996 ; Leclerc, 1996; De Villers *et al.*, 2005).

La mesure de la température est effectuée sur le terrain, on utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi-paramètre.

4.1.2. Le pH :

Le pH de l'eau est défini selon sa concentration en ions H⁺ contenus dans la solution. Il exprime l'alcalinité ou l'acidité du milieu; il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14, 7 étant le pH de neutralité (Castany et Margot, 1977). Pour la mesure du pH ; nous avons utilisé un multi-paramètre de terrain.

4.1.3. L'oxygène dissous :

L'oxygène dissous conditionne la vie des microorganismes aquatiques et généralement le fonctionnement de cet écosystème. Sa solubilité est en fonction de la température (Rodier, 1984). La mesure de l'oxygène dissous (mg/l ou en % saturation) est importante car elle permet de fournir des informations concernant la dégradation de substances organiques (réactions biochimiques), la provenance de l'eau, la mobilisation potentielle de certains métaux. (Thierrin *et al.*, 2001).

La détermination de l'oxygène dissous (O₂) a été réalisée sur terrain à l'aide d'un multi-paramètre.

4.1.4. La conductivité électrique :

Mesurer la conductivité électrique de l'eau, c'est à dire sa capacité à transporter et à favoriser le passage du courant électrique (Wilke et Boutiere, 1999 ; Rejsek, 2002) ; elle traduit la minéralisation totale de l'eau (Rodier, 1996).

La mesure a été réalisée à l'aide d'un multi-paramètre, Elle s'exprime en micro-siemens par centimètre (Rejsek, 2002).

4.2. Les paramètres mesurés dans laboratoire :

Les différents paramètres physico-chimiques analysés au niveau du laboratoire dont le dosage a été effectué selon la méthode colorimétrique, sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tab. 06).

Tableau 06 : Les différents paramètres Physico-chimiques mesurés dans laboratoire.

Paramètres	Lieu	protocoles
Le taux des sels dissous (TDS)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma. 	Voir Annexe 01
La turbidité	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma. 	Voir Annexe 02
Détermination des matières en suspension (MES)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux 	Voir Annexe 03

	H/Debagh Guelma.	
Détermination des matières oxydables en milieu acide (MO)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma.	Voir Annexe 04
Détermination du résidu sec (RS)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma.	Voir Annexe 05
Détermination du calcium (Ca ²⁺)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma.	Voir Annexe 06
Détermination du magnésium (mg ²⁺)	<ul style="list-style-type: none"> Laboratoire de station des traitements des eaux H/Debagh Guelma.	Voir Annexe 07

5. Les analyses bactériologiques

De nombreuses bactéries pathogènes peuvent se trouver dans l'eau par souillure de cette dernière, par des excréments d'animaux et humains ou par des eaux d'égouts (Rajonson *et al.*, 1992).

L'étude de la variation de la population bactérienne globale, le dénombrement et la recherche des bactéries d'origine fécale et la recherche des bactéries pathogènes sont les grandes lignes des analyses bactériologiques des eaux (Guiraud, 1998).

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

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

5.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C (germes totaux) :

Cette méthode consiste à la recherche et le dénombrement des microorganismes revivifiables dans les eaux. Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C) (Kéleké *et al.*, 2004).

❖ Mode opératoire :

A partir de l'eau analysée (Solution mère = 1) et des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , portées aseptiquement 1 ml dans trois boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma (Fig.13).

Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour Permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, Laisser les boîtes solidifiées sur la paille (Lebres, 2002 ; Bouchaala, 2010).

❖ Incubation :

Les boîtes seront incubées à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant $44 \pm 4^\circ\text{C}$ heures (Lebres, 2006).

❖ Lecture :

Examiner les boîtes aussitôt qu'elles sont retirées des étuves .Si cela n'est pas possible, les conserver à $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ et les examiner dans les 48 heures. Rejeter les boîtes présentant une croissance confluite (Rejsek, 2002) Les germes revivifiables se présentent sous forme des colonies lenticulaires poussant en masse, ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies (Lebres, 2002).

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 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 des microorganismes revivifiables dénombrés 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. Exprimer les résultats en UFC (Rodier *et al.*, 2009 ; Lebres *et al.*, 2008).

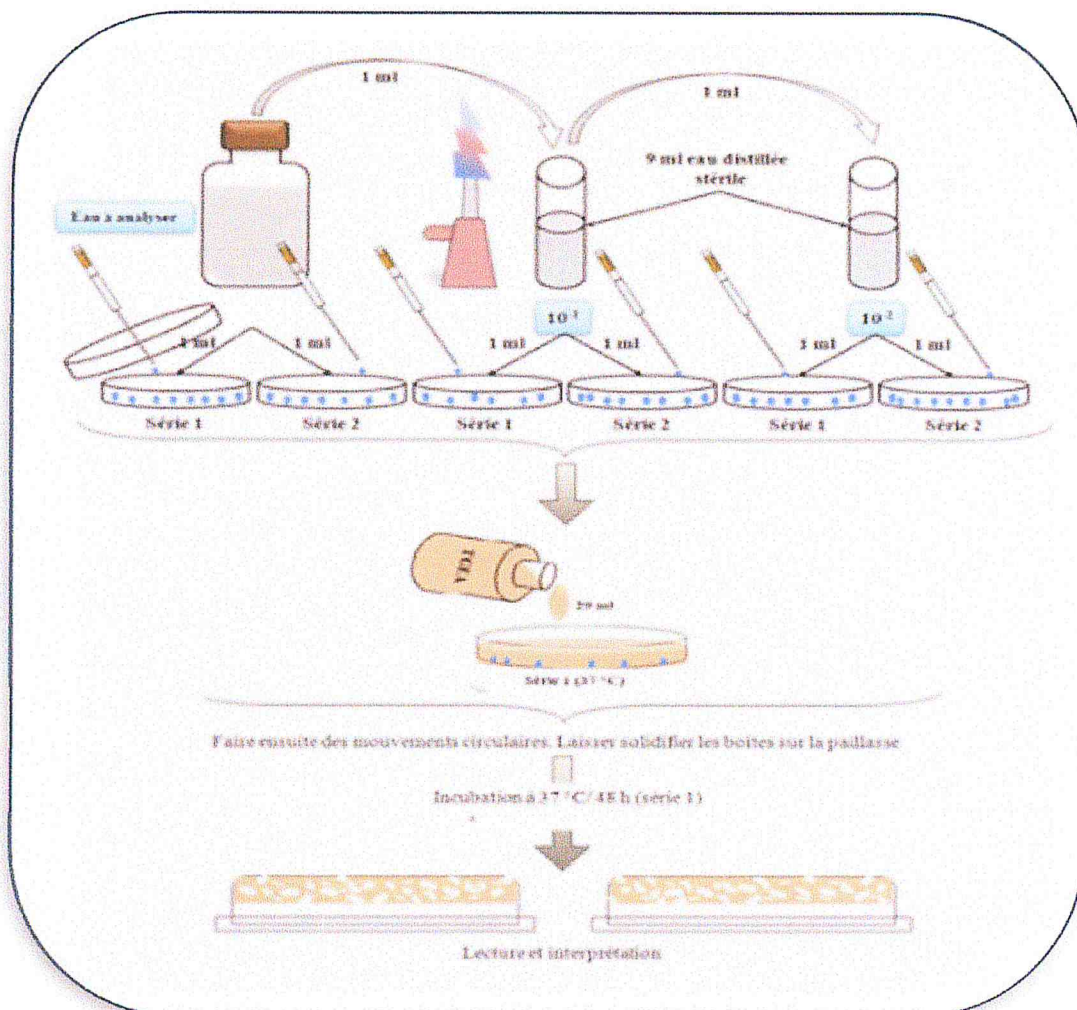


Figure 13 : Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C dans l'eau (Razkallah *et al.*, 2013).

5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination fécale :

5.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d'*Escherichia coli* en milieu liquide (Méthode de NPP):

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) (Abdellioui *et al.*, 2012).

Le terme de « Coliforme » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae* (Rodier, 2005), correspond à des organismes en bâtonnets (bacilles), non sporogones, Gram négatif, oxydase négative, aérobies ou anaérobies facultatifs, capable de croître en aérobiose à $37^{\circ}\text{C} \pm 1$, en milieu liquide bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) (Rejsek, 2002), et capable de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C (Rodier, 2005).

Le dénombrement de coliformes à 37°C est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ». Les coliformes totaux comprennent autres les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia* (Rodier, 2005).

Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants » correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44°C (Rodier, 2005). L'espèce la plus fréquemment associée à ces groupes bactériens est *Escherichia coli* et dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*, *Escherichia coli* font parties des coliformes thermo-tolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane et possèdent les caractères biochimiques spécifiques de cette espèce (Rejsek, 2002).

❖ Mode opératoire :

La recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo-tolérants et des *Escherichia coli* dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives (Fig. 14).

- Le test présomptif : réservé à la recherche des coliformes dans le milieu BCPL (Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol)
- Le test confirmatif : réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérants et d'*Escherichia coli* (Lebres, 2002).

❖ Test présomptif :

On travaille avec une série de 3 tubes :

- 3 tubes de BCPL D/C+ cloche de Durham,ensemencé avec 10 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham,ensemencé avec 1 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de BCPL S/C+ cloche de Durham,ensemencé avec 0.1 ml de l'échantillon.
- Les tubes inoculés sont homogénéisés par agitation douce pour ne pas faire pénétrer d'air dans la cloche.

-L'incubation se fait dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures (Lebres, 2002).

❖ **Lecture :**

Seront considérés positifs les tubes où il se produit simultanément à la fois :

- Un dégagement de gaz (supérieurs au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de la couleur de 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).

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (Tab.07) (Annexe12) (Lebres, 2002).

Pour avoir le nombre de coliformes totaux dans 100 ml d'échantillon d'eau.

❖ **Test confirmatif :**

Le test confirmatif est basé sur la recherche de coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Repique chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette pasteur stérile dans le (ou les) milieu(x) de confirmation (Rodier *et al.*, 2009).

Comme milieu de confirmation, on a utilisé: le milieu eau peptonée exempte d'indole. L'incubation fait cette fois à 44°C pendant 24 heures (Lebres, 2002).

❖ **Lecture :**

Dans les tubes montrant un trouble microbien ajouter quelques gouttes de réactif kovacs, une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneaux rouges 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(Tab.07) (Annexe 12) (Lebres, 2002).

Remarque : Etant donné que les Coliformes fécaux font partie des Coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux (Avril *et al.*, 1992).

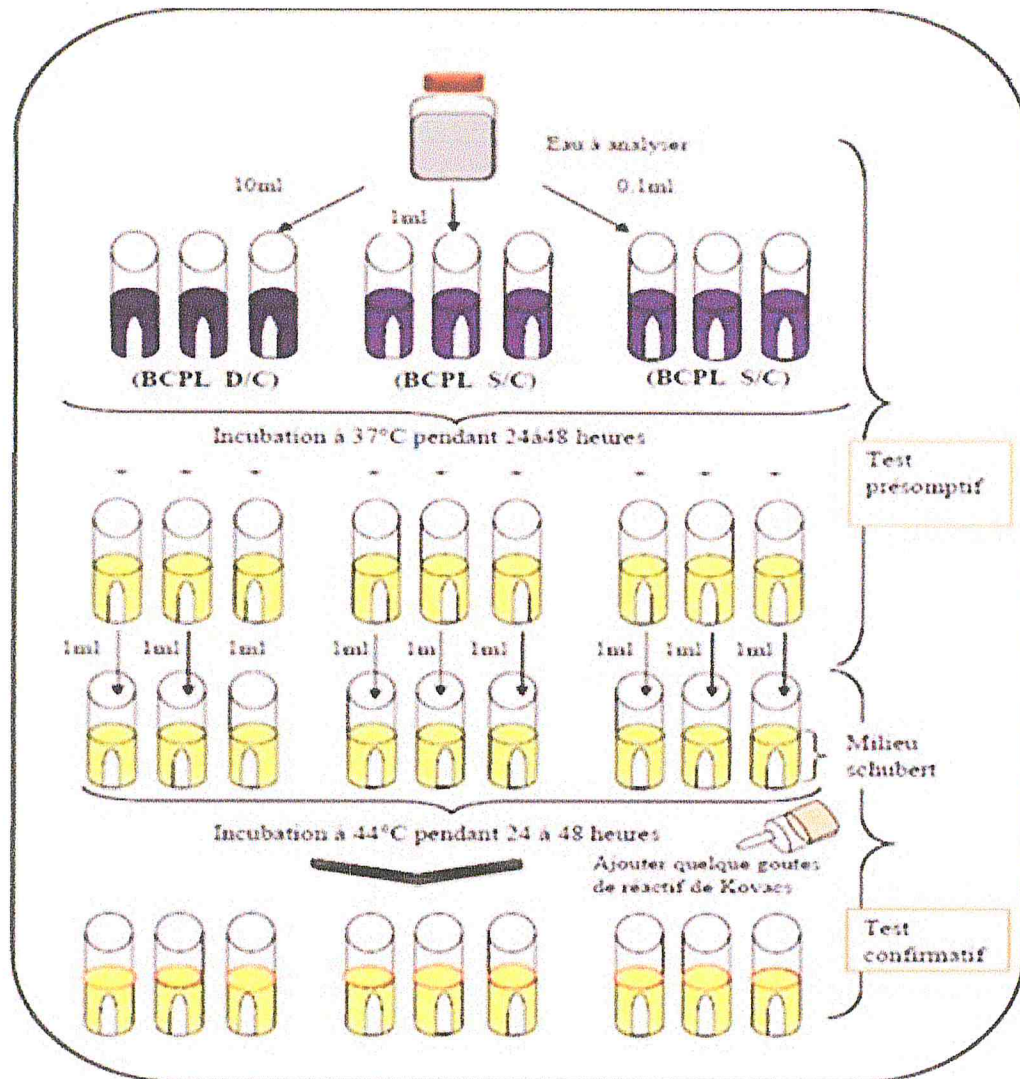


Figure 14: Protocole de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E.coli* (Aib et al., 2014).

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

Les Streptocoques, du groupe «D» sont des bactéries Gram positif, sphériques à ovoïdes, formant des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène de groupe «D». Cultivant en anaérobiose à 44°C, et à pH 9,6 et capable d'hydrolyse l'esculine en présence de 40 % de bile (Rejsek, 2002).

Ce sont des germes très ubiquitaire, certains groupe sont rencontrés dans le sol, dans l'air, dans l'eau et on distingue deux genres : *Streptococcus* et *Enterococcus*.

❖ Mode opératoire :

La recherche et le dénombrement des *streptocoques* du groupe «D» dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait aussi en deux étapes consécutives (Fig15).

- Le test de présomption : réserve à la recherche présomptive des streptocoques.
- Le test de confirmation: réserve à la confirmation réelle des streptocoques du groupe «D».

a- Test de présomption :

L'inoculation du milieu de culture s'effectue comme le cas précédent pour le milieu BCPL. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon glucosé à l'azoture (Roth).

On travaille avec une série de 3 tubes :

- 3 tubes de Roth D/C,ensemencé avec 10 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de Roth S/C,ensemencé avec 1 ml de l'échantillon.
- 3 tubes de Roth S/C,ensemencé avec 0.1 ml de l'échantillon.

L'incubation des tubes ensemencés s'effectue dans l'étuve à 37° C pendant 24 à 48 heures (Lebres, 2002).

❖ **Lecture :**

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

b -Test confirmation :

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques du groupe «D» éventuellement présents dans le test de présomption.

Après agitation les tubes de Roth trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans des tubes contenant le milieu Eva Litsky. Bien mélanger le milieu et l'inoculum (Lebres, 2002). L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.
- La lecture finale s'effectue également selon la prescription de la table du NPP (Tab.07) (Annexe 12) (Lebres, 2002).

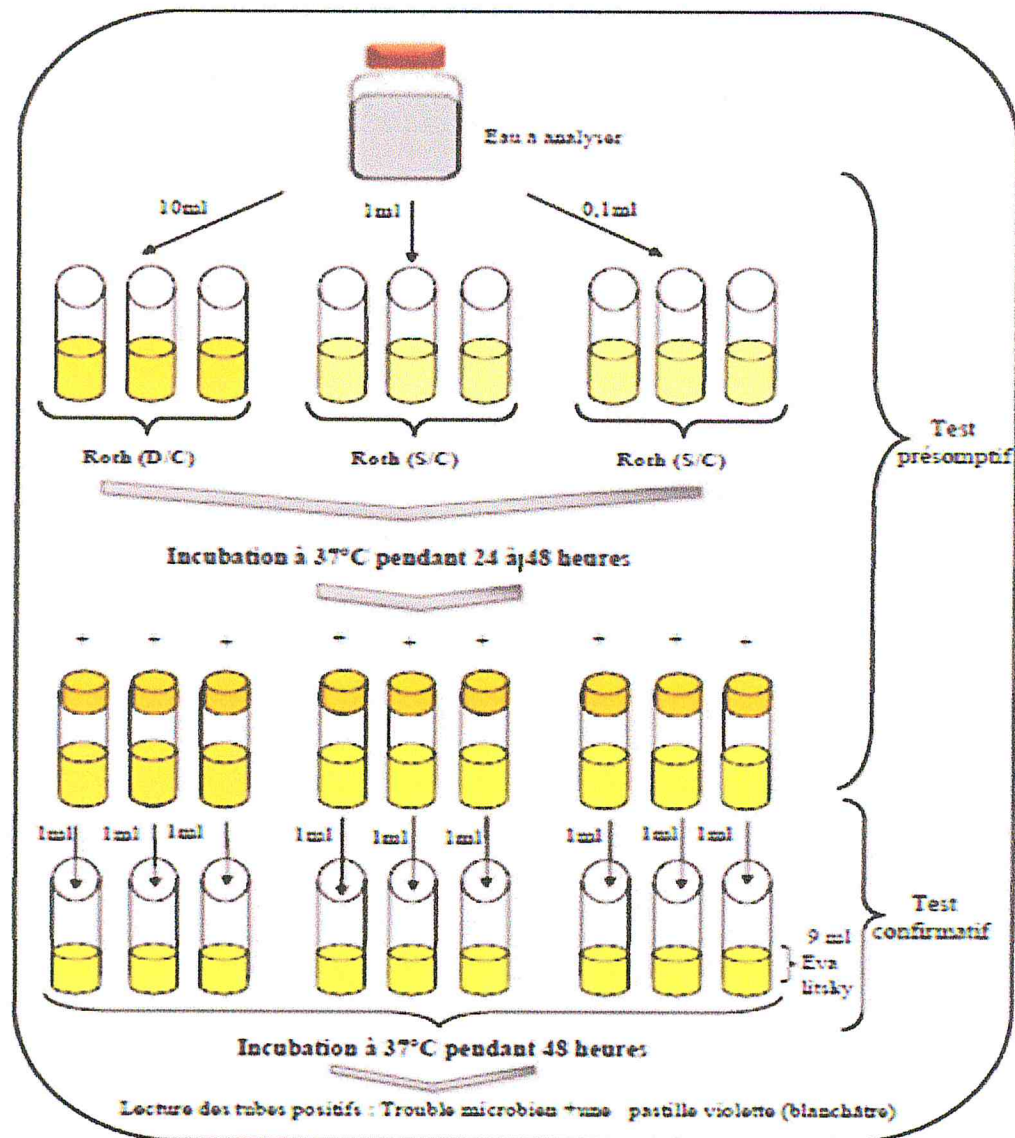


Figure 15: Protocole de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (Aib *et al.*, 2014).

5.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réductrices (*Clostridium*) :

Les bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bacilles Gram positif (Lebres, 2002), ils sont capables de sporuler et résistent longtemps dans l'environnement, 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* produisent des endospores ovales ou sphériques qui peuvent déformer la bactérie. Ce sont des bactéries anaérobies strictes, dont la tolérance vis-à-vis de l'oxygène varie selon les espèces, quelques espèces peuvent (sans sporuler) pousser en présence d'oxygène. Les *Clostridium* sont usuellement dépourvus de catalase. Ils produisent habituellement des acides organiques et des alcools à partir des hydrates de carbone et des peptones (Avril *et al.*, 1992).

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente (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 (Fig.16).

-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 environ 18 à 20 ml de gélose viande foie fondue puis refroidie à $47 \pm 1^\circ\text{C}$, (Lebres *et al.*, 2008) 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 incubé à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Lebres, 2002).

❖ Lecture :

La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voir impossible et l'analyse sera à refaire en utilisant des

dilutions décimales de 10^{-1} voir 10^{-2} , 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. Cette coloration est due à la germination des spores des bactéries dans le milieu de culture car elles se trouvent dans un milieu favorable à leur développement (Rejsek, 2002).

❖ **Interprétation des résultats :**

Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser (Lebres, 2002).

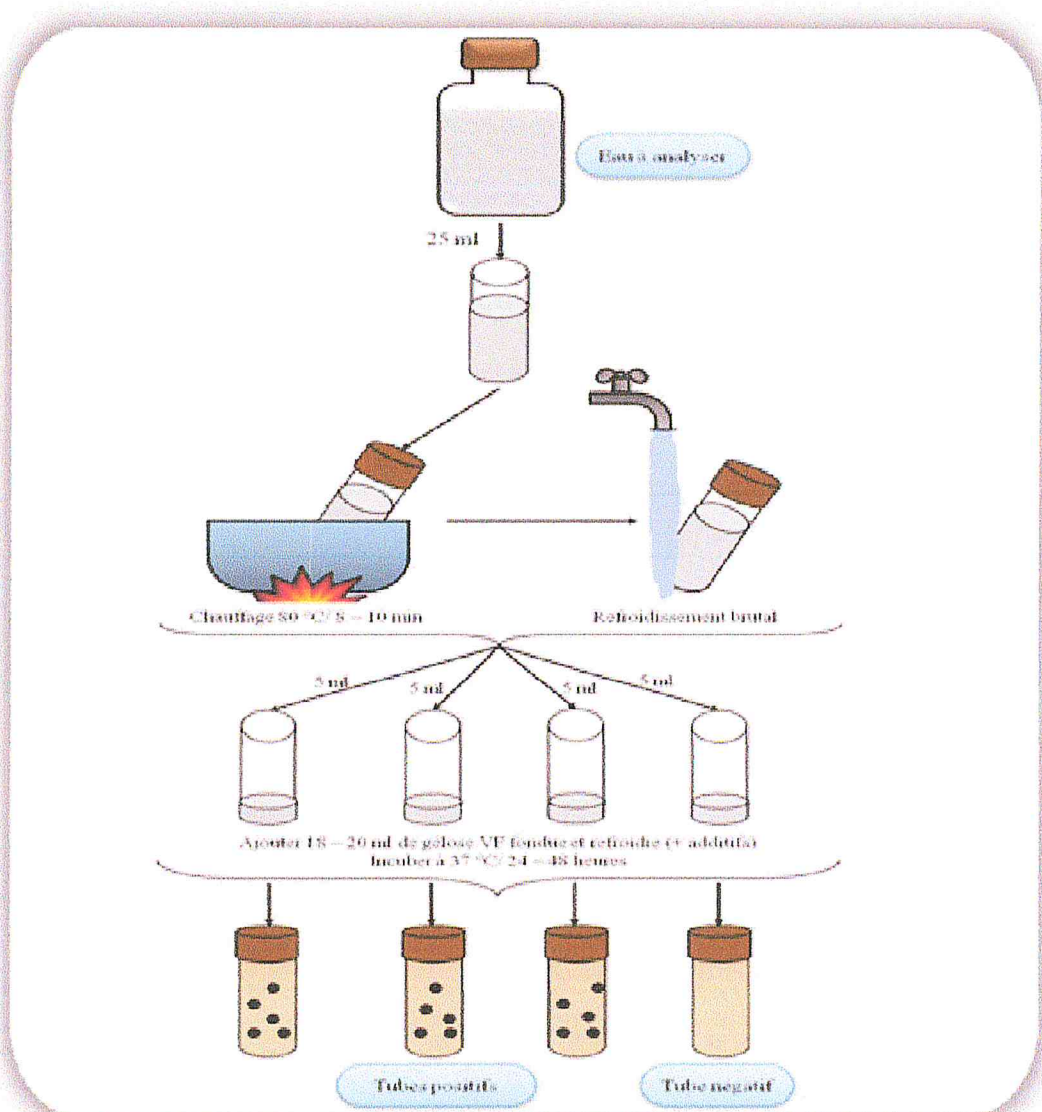


Figure 16: Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs dans l'eau (Razkallah *et al.*, 2013).

5.3. Recherche des germes pathogènes :

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme dans tous les types d'eaux. Celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme : *Campylobacter jejuni*, *Legionella pneumophila*, leptospires, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Shigella*, staphylocoques pathogènes, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica* (Rodier *et al.*, 2009).

5.3.1. Recherche de *Shigella* :

On entend par staphylocoques à coagulas positive, les bactéries qui se présentent sous forme de Cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, elles sont aérobies ou anaérobies facultatifs, possédant l'enzyme catalase et la coagulas. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 36 ± 2 °C sur un milieu sélectif Chapman au mannitol qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g/l) (Pechère *et al.*, 1982 ; Carbonnelle *et al.*, 1988 ; Lebres *et al.*, 2008).

❖ Culture :

A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 0.1 ml et l'on étale à la surface de Gélose Mac Conkey, Gélose *Salmonella Shigella* (Gélose SS), et Gélose Hectoën, par la méthode des quatre quadrants, puis les incubent à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h. (Fig. 17)

❖ Identification :

Après un examen macroscopique et microscopique des colonies suspectes ; ils se déterminent l'identification sur une galerie classique ou miniaturisée pour *Enterobacteriaceae* avec laquelle elles se différencient par un ensemble de caractères négatifs qui sont résumés dans le tableau 08 (Annexe 08) (Sayad, 2008).

5.3.2. Recherche des staphylocoques:

On entend par staphylocoques à coagulas positive, les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, elles sont aérobies ou anaérobies facultatifs, possédant l'enzyme catalase et la coagulas. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 36 ± 2 °C sur un milieu

sélectif Chapman au mannitol qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g.l) (Pechère *et al.*, 1982 ; Carbonnelle *et al.*, 1988 ; Lebres *et al.*, 2008).

❖ **Culture :**

On prépare les boîtes Pétri avec le milieu Chapman. (Rodier, 1996). A partir de la solution mère, on porte aseptiquement 0.1 ml (2 gouttes) dans les boîtes de Pétri qu'on étale à l'aide d'une anse de platine stérile. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures (Fig.17). (Ait Kaci *et al.*, 2008).

❖ **Identification :**

Après la période d'incubation spécifiée, les staphylocoques à coagulas positive ou plus particulièrement *Staphylococcus aureus*, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc (Ait Kaci *et al.*, 2008 ; Rodier, 2009).

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 coagulas libre.

5.3.3. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*:

On entend par *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie qui se présente sous forme de bacille à Gram négatif possédant l'enzyme oxydase ; et capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide et ne dégrade pas le lactose (Pechère *et al.*, 1982; Pilet *et al.*, 1987 ; Lebres *et al.*, 2008).

❖ **Mode opératoire :**

A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 0.1 ml et l'on étale à la surface de gélose Cétrimide, par la méthode des quatre quadrants, puis les incuber à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h (Fig.17).

❖ Identification :

Considérer comme colonie caractéristique toute colonie présentant une fluorescence. Du fait de la sélectivité du milieu Cétrimide, on peut suspecter les colonies présentes d'être *Pseudomonas*.

Dans tous les cas, il faudra réaliser une identification de l'espèce (Rejsek, 2002). Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle et la coloration de Gram, ainsi qu'un test oxydase.

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 verte fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B (Lebres *et al.*, 2008).

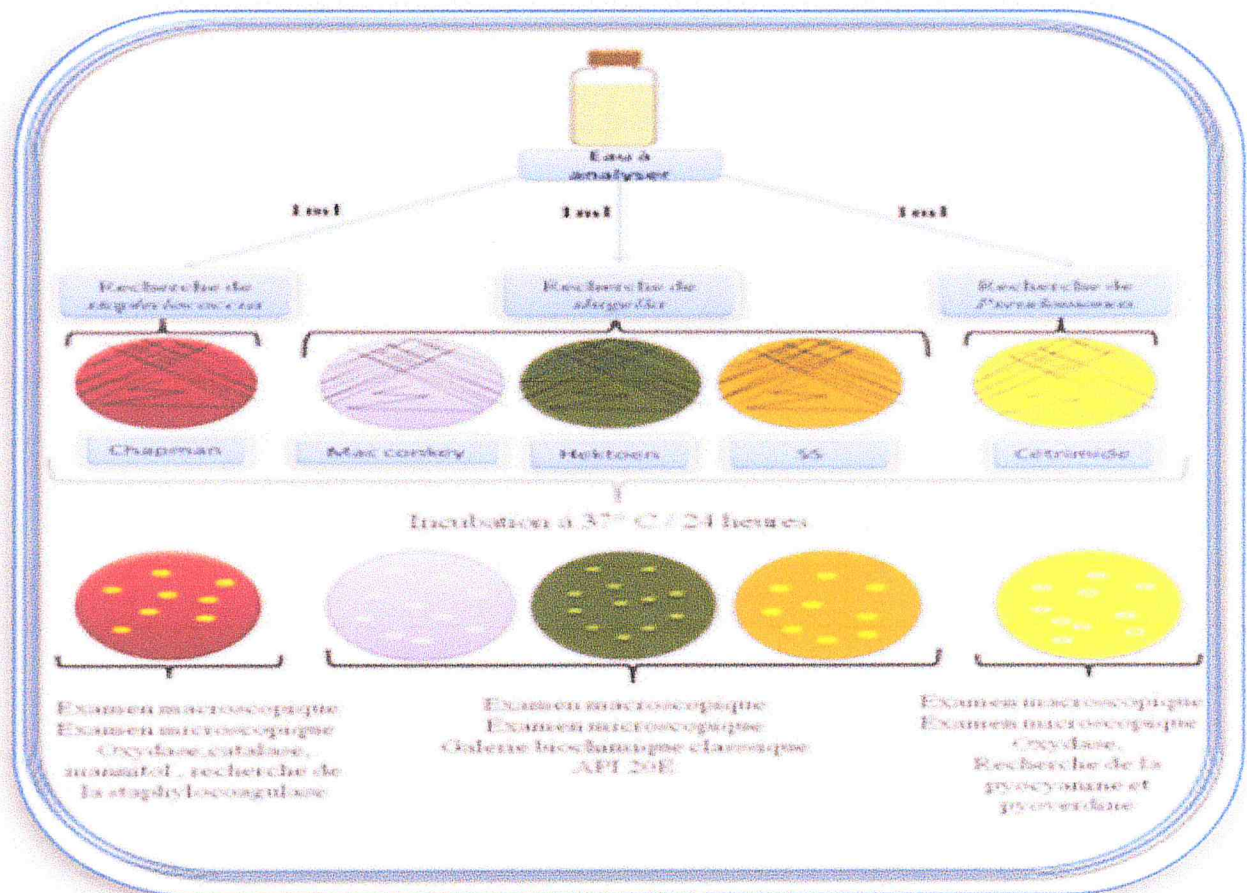


Figure17: Protocole de recherche des *staphylococcus*, *Shigella* et *Pseudomonas* dans l'eau (Razkallah *et al.*, 2013).

5.3.4 Recherche de *Salmonella* :

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatifs (BGN)), 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 (Pechère *et al.*, 1982; Carbonnelle *et al.*, 1988 ; Lebres, 2002 ; Lebres *et al.*, 2008).

❖ Mode opératoire :

Jour 1 : Premier enrichissement

Introduire 1 ml de l'échantillon d'eau dans 10 ml de Sélénite Cystéine (SFB) (Ait Hamlet, 1998), 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 Hektoën, 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 deuxième isolement ;
- D'autre part, les boîtes des géloses Hektoën SS et Mac Conkey subira une lecture (Lebres, 2002).

Identification morphologique et biochimique

- Etat frais et coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) ;
- Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h ;
- Ensemencement : * Soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Urée, TDA, VP, RM ...).
- * Ou d'une galerie biochimique API 20 E (Fig. 18).

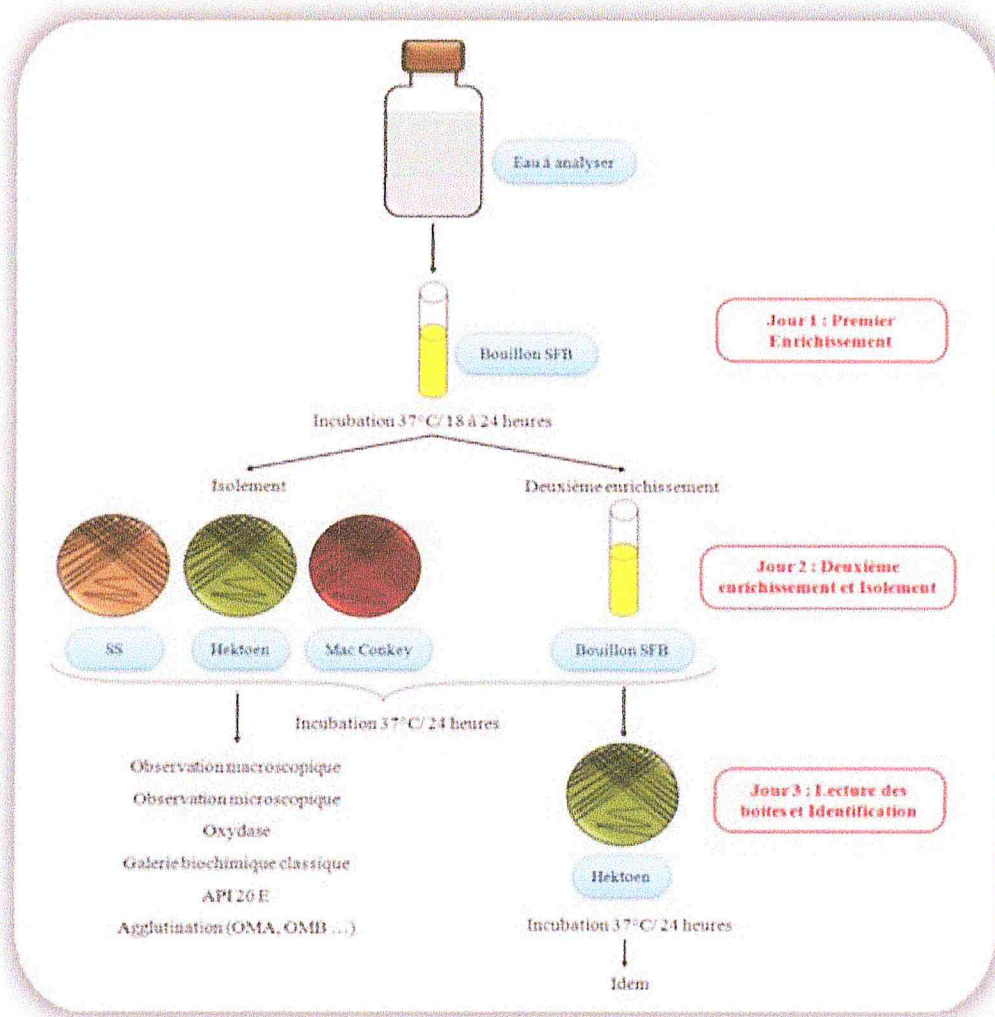


Figure18: Protocole opératoire de la recherche de *Salmonella* dans l'eau (Razkallah *et al.*, 2013).

5.3.5. Recherche de *Vibrien* cholérique :

Les *Vibrien* 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 (Cohen et Karib, 2007), très mobiles grâce à une ciliature polaire, le plus souvent mono-triche (Oliver et Japer, 1997; Nauciel et Vildé, 2005 ; Denis *et al.*, 2007 ; Harvey *et al.*, 2007). Ils sont aéro-anaérobies facultatifs (Le minor L et Veron M, 1989). et possédant une oxydase et fermentant le glucose sans production de gaz ni d' H_2S (Pechère *et al.*, 1982; Pilet *et al.*, 1987 ; Cohen et Karib, 2007 ; Lebres *et al.*, 2008).

❖ Mode opératoire :**Jour 1 : Premier enrichissement**

Le premier enrichissement s'effectue dans des tubes portés 10 ml de milieu eau peptonée alcaline (EPA), Ce dernier sera par la suite incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures, comme l'indique le schéma (Fig. 19) (Lebres, 2002).

Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

- 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 GNAB. Dans les deux cas l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (Lebres, 2008).

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2; qui sera incubé à son tour à $36 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 24 heures ;
- D'autre part, les boîtes de gélose GNAB 1 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, 2008).

Identification morphologique et biochimique

Sur GNAB, les colonies sont rondes, plates, bords réguliers, surface lisse brillante, 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 biochimique classique ou bien galerie API 20 NE.

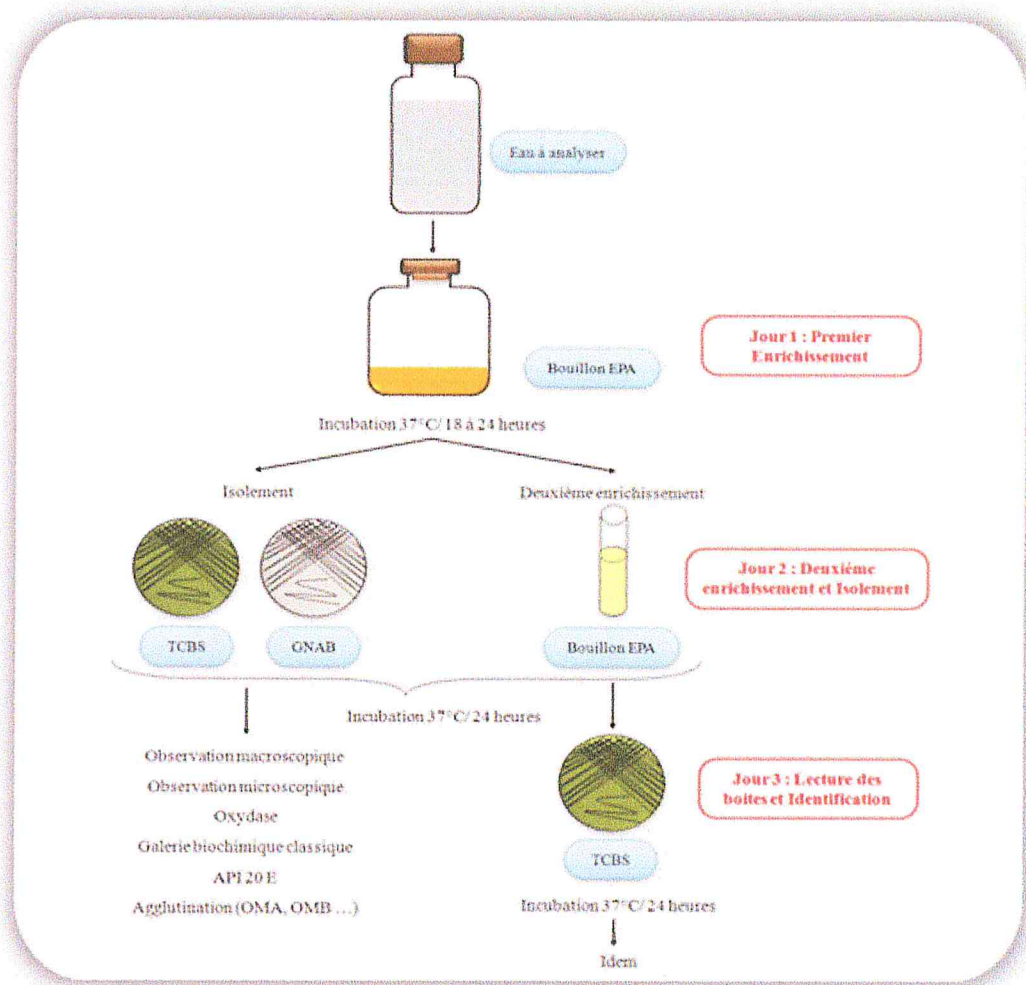


Figure 19: Protocole opératoire de recherche et identification des *Vibriion* dans l'eau (Razkallah *et al.*, 2013).

6. L'identification

6.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :

Pour l'examen macroscopique des bactéries, les souches doivent être cultivées sur un milieu gélosé sur des géloses solides en coulé dans des boîtes de Pétri (Dellarras, 2007).

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

- ❖ La taille : colonies petites (< 1 mm), moyennes (1,5 à 3 mm), grosses (> 3 mm) ;
- ❖ La forme : Bombée, plate, ombiliquée, surélevée ;

- ❖ Le contour : à bord circulaire, irrégulier et parfois envahissante, déchiqueté et parfois envahissant ;
- ❖ Elévation de la colonie : convexe, légèrement convexe, plate ;
- ❖ L'opacité : opaque, translucide, transparente ;
- ❖ Pigmentation (Dellarras, 2007).

6.2. Examen microscopique :

❖ Coloration de Gram

L'examen microscopique après une coloration de Gram nécessite au départ une préparation d'un frottis, une colonie bien isolée d'une culture en milieu solide sera prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile. L'observation se fait par l'objectif $\times 100$. Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères : Leurs formes (bacille, cocci,...etc.) et leurs affinités pour les colorants en Gram positif et Gram négatif (Fig.20) Elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à :

- 1- Fixer de frottis.
- 2- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet. Laisser agir 1 minute.
- 3- Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
- 4- Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1:30 minute.
- 5- Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
- 6- Décolorer à l'alcool 95° pendant 10 secondes.
- 7- Rincer à l'eau courante.
- 8- Recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute.
- 9- Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier-buvard très propres (Dégrément, 1998).

❖ Lecture :

Après ce traitement, les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (Carbounelle *et al.*, 1988 ; Prescott, 2003 ; Mamadou,2005 ; Boukrouma, 2008).

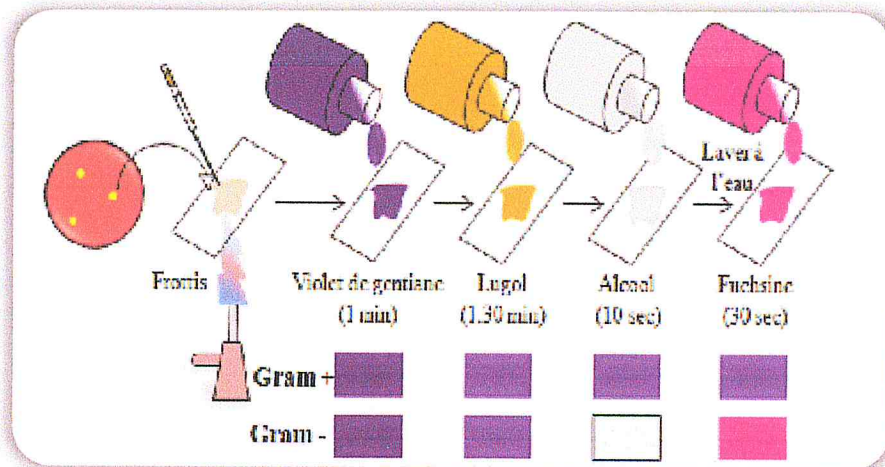


Figure 20 : Procédure de la coloration de Gram (Razkallah *et al.*, 2013).

6.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques :

6.3.1. Caractères enzymatiques :

❖ Test de catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la pluparts des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et en oxygène qui se dégage (Dellarras, 2007).

La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on introduit ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement des bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme catalase (Fig.21) (Carbannelle *et al.*, 1988).

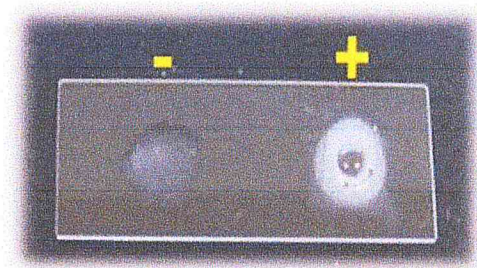


Figure 21 : Test catalase négatif à gauche et positif à droite.

❖ Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet (Fig. 22) (Carbonnelle *et al.*, 1988 ; Lebres, 2004).

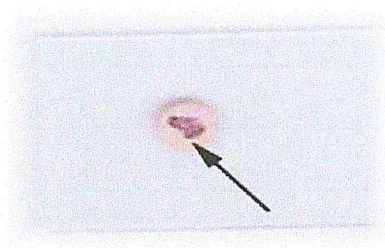


Figure 22: Test oxydase positif.

6.3.2. Caractères biochimiques :

❖ La galerie classique :

L'identification et la classification des espèces, sont basées essentiellement sur l'étude des caractères suivants : Recherche de l'ONPG, recherche de l'oxydase, milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar), milieu mannitol – mobilité, milieu au Citrate de Simmons, recherche des VP – RM, milieu urée-indole, quelques acides aminés et quelques sucres (Lebres, 2004).

• Test de Citrate de Simmons :

La pente du milieu estensemencée par strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C (Ragam, 2010).

Après 24 heures, s'il y a une culture avec une alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu), la bactérie est de Citrate positive. S'il ya pas de culture et la couleur du milieu inchangée, la bactérie est de Citrate négatif (Carbonnelle *et al.*, 1988).

• Le mannitol-mobilité

Ce milieu est utilisé pour rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. Nous ensemençons dans ce milieu solide par piqûre centrale à l'aide d'une pipette

Pasteur chargé par la culture à identifier. La culture est ainsi distribuée tout le long du trajet dans la gélose. Nous incubons pendant 24h à 37°C.

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

- Si le germe est très mobile, il se développe le long de la piqûre la masse microbienne envahit tout le tube;
- S'il est peu mobile, il se développe le long de la piqûre et se réduit à de petites ramifications;

Enfin, s'il est immobile, il se développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette (Carbannelle *et al.*, 1988 ; Sayad, 2008).

- **Utilisation de TSI (Triple Sugar Iron Agar)**

Le but de ce test est de mettre en évidence Cinq caractères :

- Fermentation du Glucose
- Fermentation du Lactose
- Fermentation du Saccharose
- Production de Gaz
- Production d'hydrogène sulfureux (H₂S) (Lebres, 2004).

Ce milieu est reparti en tubes à essai sous forme semi-inclinée avec un haut culot et une petite tranche. Il est ensemencé par piqûre profonde du culot au fil droit et par ensemencement en stries de la tranche.

Après une période de 24 h à 37 °C la lecture du milieu est réalisée selon le **tableau 09(Annexe 08)**.

- **Test de l'Urée-Indole :**

La recherche de l'urée ase consiste à constater l'alcalinisation d'un milieu contenant de l'urée d'où l'utilisation de milieu urée-indole (Merzoug, 2009).

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

L'urée, sous l'action d'une urée ase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium alcalin entraînant une coloration rouge violacée du milieu (Urée ase positive). Si le milieu persiste orange, cela indique un test négatif (Denis *et al.*, 2007).

- **Test de l'eau peptonée exempte d'indole :**

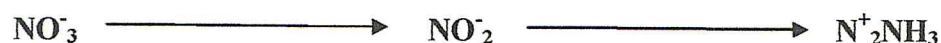
L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologues permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole.

Nous ensemençons un tube d'eau peptonée exempte d'indole. Après 24 h d'incubation à 37 °C, nous ajoutons quelques gouttes de réactif de Kovacs.

La lecture de l'indole est immédiate :

- Réaction indole positive : anneau rouge ou rose.
- Réaction indole négative : anneau brunâtre (Carbounelle *et al.*, 1988).
- **Test de réduction du nitrate :**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO₃⁻) en nitrite (NO₂⁻).



Nous avons ensemencé le bouillon nitrate et incubé à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase 1 et 2.

- Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.
- Si le milieu reste incolore, dans ce cas on a deux évènements :

-Les nitrates ont été d'abord réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie

-Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant la poudre de Zinc, et la couleur apparaîtra, la bactérie est dite nitrate réductase négative (Boukroune, 2008).

- **Recherche de l'acétone**

Le milieu Clark et Lubs permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. L'ensemencement se fait largement et l'incubation se fait à une température optimale pendant 24 heures.

- ***Test VP (Voges-Proskawer)**

- Ajouter 2 à 3 gouttes de VP1 et VP2,
- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation et attendre quelque minute à une heure. Le milieu devient rouge (VP+), ou bien devient jaune (VP-) (Lebres, 2004 ; Boukrouma, 2008).

- **La galerie API 20 E**

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

- ❖ **Principe :**

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Fig. 23).

- ❖ **Mode opératoire**

L'opération s'effectuée selon les étapes suivantes :

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

- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures. Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat.

➤ **Lecture**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive (Aouissi *et al.*, 2007 ; Merzoug, 2009 ; Rouaiguia, 2010).

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20 (Tableau 10) (Annexe09).



Figure 23: présentation de la galerie API 20 E

➤ **La galerie API 20 NE :**

❖ **Principe :**

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 micro-tubes 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 des 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 (Fig. 24).

❖ **Technique :**

- ✓ Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- ✓ Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile

- ✓ Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles.
- Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.
- 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.

❖ **Lecture :**

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 (**Tableau 11**) (**Annexe 10**).

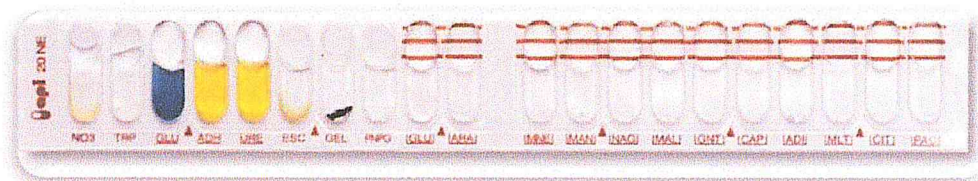


Figure 24 : Présentation de la galerie API 20 NE.



Chapitre 03
Résultats et discussion

1. Les analyses physico-chimiques

1.1. Les paramètres mesurés *in situ* :

1.1.1. La température :

La température est un facteur écologique très important qui a une grande influence sur les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques (Aberkane *et al* ; 2011).

La figure 25 représente la variation de la température de l'eau enregistrée dans nos différents sites.

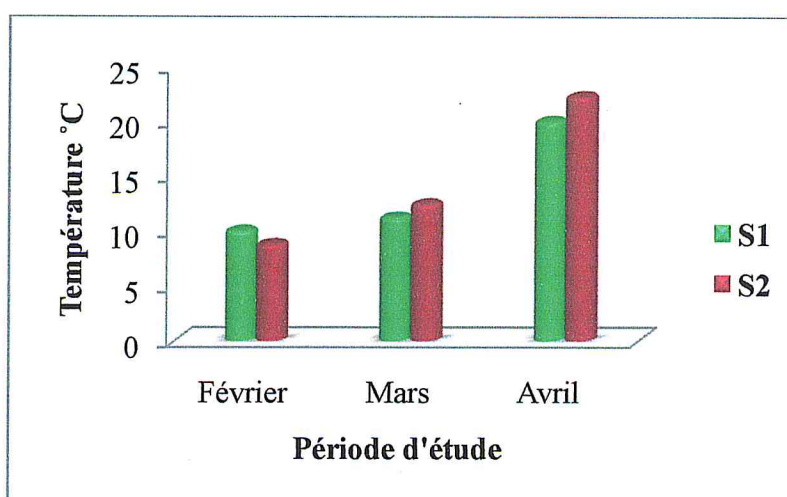


Figure 25 : Variation de la température de l'eau du Lac Tonga (Février – Mars – Avril 2015).

En examinant les résultats illustrés par la figure 25 nous observons que la valeur maximale 22.3°C a été enregistrée à la station 2 durant le mois d'Avril tandis que la valeur minimale 8.8 °C a été enregistrée à la station 2 durant le mois de Février.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température (Monod, 1989) ; notre eau est de qualité normale (< 20 °C) à bonne (20°C – 22 °C) (Tab. 12) (Annexe 11).

1.1.2. Le pH :

C'est l'un des paramètres parmi les plus importants pour la qualité de l'eau. Le pH des écosystèmes aquatiques est utilisé comme paramètre substitut pour représenter les relations complexes entre la chimie de l'eau et les effets biologiques (ADE Guelma, 2015).

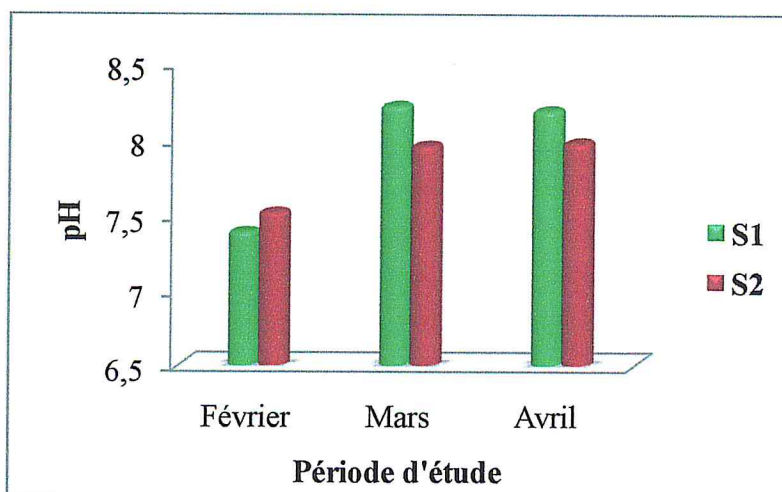


Figure 26: Variation du pH de l'eau du Lac Tonga (Février- Mars-Avril 2015).

Selon le graphe ci-dessus (**figure 26**) Toutes les stations ont des valeurs qui oscillent dans l'intervalle de neutraliser compris entre 7,39 à la station 1 durant le mois de Février et 8,22 à la station 1 durant le mois de Mars.

Ces valeurs présentent une neutralité approchée qui favorise le développement et la croissance des micro-organismes ; ce qui est le cas majoritaire des eaux de surface.

La grille d'appréciation de la qualité de l'eau (**Ministère algérien des ressources en eau, 2009**), nous a permis de déduire que la qualité de nos eaux est bonne (de 6.5 à 8.5).

1.1.3. La conductivité électrique :

La conductivité électrique permet d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une conductivité élevée révèle soit des pH anormaux, soit une salinité élevée (**Rodier, 2005**).

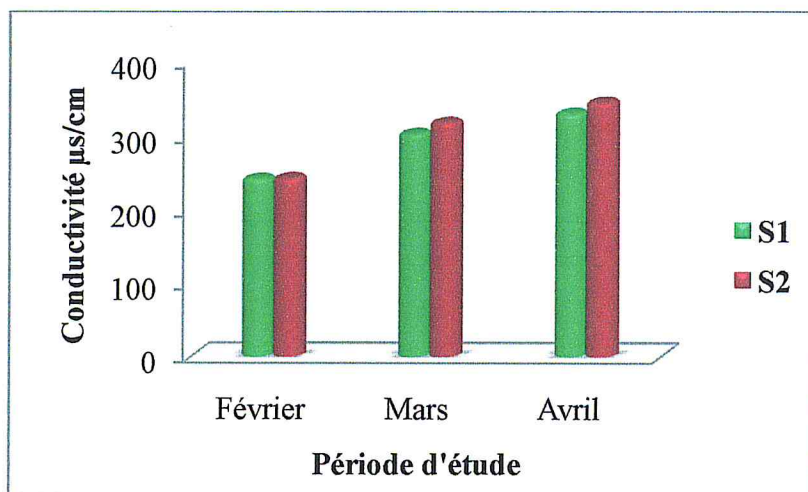


Figure 27 : Variation de la conductivité électrique de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

Selon l'histogramme ci-dessus (**figure 27**) on marque que les valeurs enregistrées durant toute la période d'étude sont très proche au niveau de toutes les stations dont la valeur maximale $345\mu\text{S}/\text{cm}$ a été enregistrée à la station 2 durant le mois d'Avril, et la valeur minimale $242\mu\text{S}/\text{cm}$ a été enregistrée à la station 1 durant le mois de Février.

Ceci est dû à l'augmentation de la température qui entraîne l'évaporation de l'eau qui favorise la concentration des sels dans l'eau.

Selon les résultats de ce paramètre et selon la grille d'appréciation en fonction de la conductivité (Monod, 1989) la qualité de notre eau est bonne (Tab. 13) (Annexe 11).

1.1.4. L'oxygène dissous :

L'oxygène constitue un excellent indicateur du fonctionnement du plan d'eau à différents titres : sur le plan physique comme indicateur de pollution ; et biologique comme vital aux organismes vivants (Sayad, 2008).

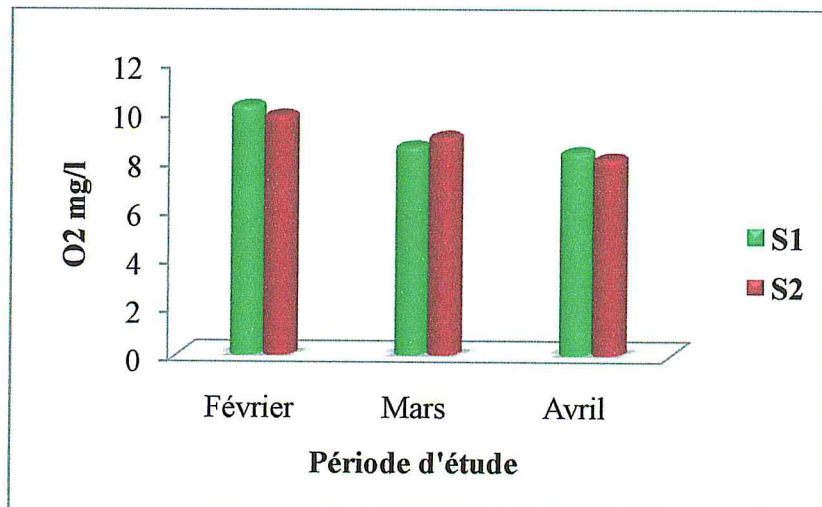


Figure 28: Variation de l'oxygène dissous de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

Selon les résultats illustrés dans l'histogramme ci-dessus (**Figure 28**) on marque qu'il n'y a pas une grande différence d'un mois à un autre. Dont la valeur minimale 8.1 mg/l (81%) a été enregistrée à la station 2 durant le mois d'Avril et de même la maximale 10.23 mg/l (102.3%) a été enregistrée à la station 1 durant le mois de Février. Ces teneurs n'expriment pas une forte pollution organique (quantités faibles de matières organiques) de plus le brassage des eaux entraînent une forte concentration de l'O₂ dissous.

Selon la grille d'appréciation de la qualité générale de l'eau (**Masson, 1988**), notre eau est de qualité bonne (**Tab.14**) (**Annexe 11**).

1.2. Les paramètres mesurés dans laboratoire :

1.2.1. Ion magnésium (Mg⁺²):

L'ion magnésium constitue un élément significatif de la dureté de l'eau, sa teneur dépend de la composition des roches sédimentaires rencontrées (calcaires dolomitiques, dolomies du jurassique ou du trias moyen) (**Rodier, 2005**).

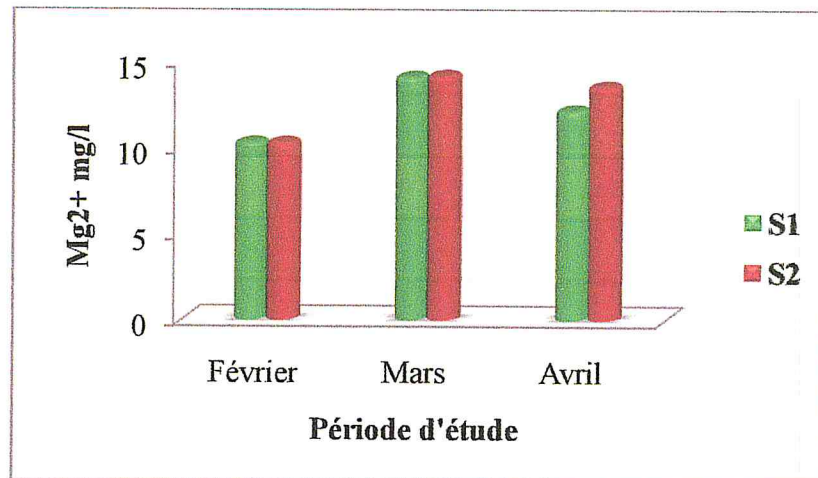


Figure 29 : Variation d'ion magnésium (Mg^{+2}) de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

Selon l'histogramme ci-dessus (figure 29) La teneur en magnésium est obtenue avec un maximum de 14.18 mg/l dans la station 2 pendant le mois Mars, alors que la valeur minimale est de 10.34 mg/l, enregistrée au niveau de station 2 pendant le mois de Février, cette dernière est due au précipitation. L'origine du magnésium dans l'eau est la roche mère ou circule cette eau.

1.2.3. Ion calcium (Ca^{+2}):

Le calcium est un autre élément qui constitue la dureté de l'eau et sa teneur varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés (Aouissi, 2010).

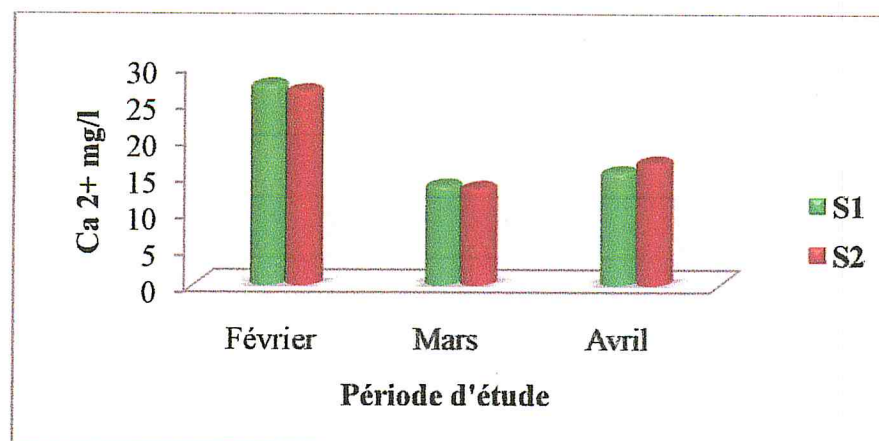


Figure 30 : Variation d'ion calcium (Ca^{+2}) de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

Le calcium est enregistré avec un maximum de 27.44 mg/l au niveau de station 1 pendant le mois de Février, alors que la valeur minimale de 13.6 mg/l est enregistrée au niveau de la station 2 durant le mois de Mars. Ceci est lié directement à la nature des terrains traversés (roches sédimentaires et cristallines).

1.2.4. Le taux des sels dissous (TDS) :

La quantité des sels minéraux dissous influence la conductivité, D'une façon générale, elle est plus élevée dans les eaux souterraines que dans les eaux superficielles (Aouissi, 2010).

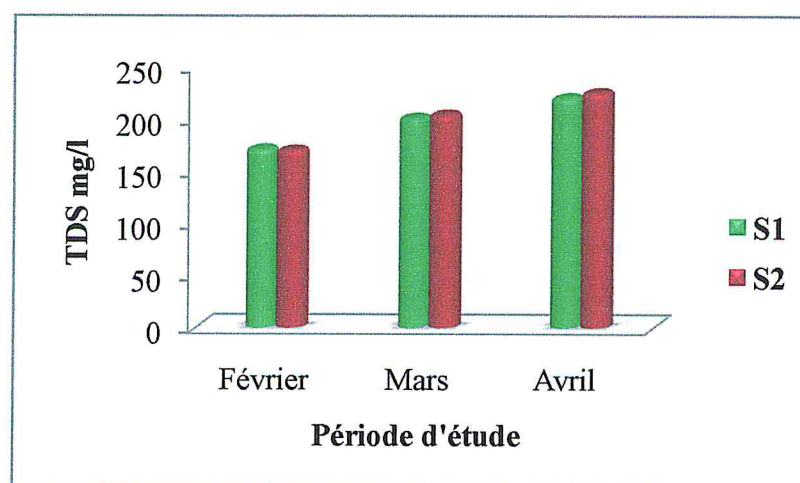


Figure 31: Variation du taux des sels dissous (TDS) de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015)

Nos résultats sont illustrés dans la **figure 31**, les valeurs enregistrées durant toute la période d'étude sont très proche au niveau de toutes les stations, ou la valeur maximale et de 225 mg/l dans la station 2 pendant le mois d'Avril, tandis que la valeur minimale 170 mg/l a été enregistrée dans la station 2 pendant le mois de Février. Celle-ci est due à l'augmentation de la température.

1.2.5. La turbidité :

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées tels les argiles, les limons, les grains de silice, les matières organiques. L'appréciation de l'abondance de ces particules mesure son degré de turbidité (Rodier, 2009).

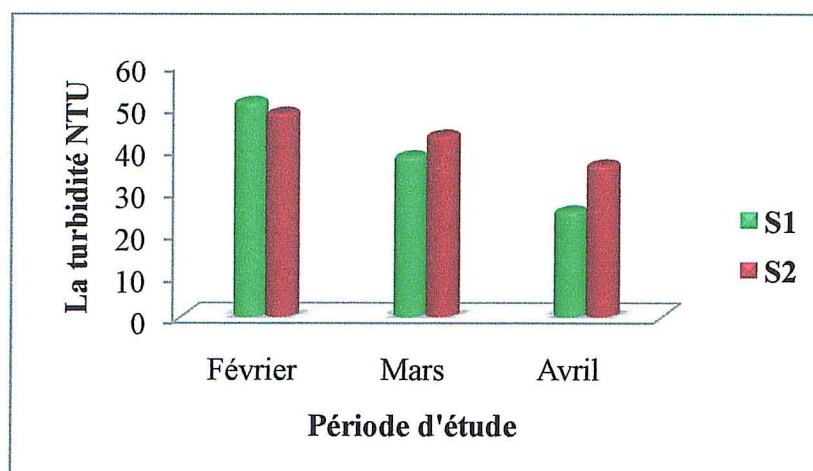


Figure 32: Variation de la turbidité de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

D'après l'histogramme (**figure 32**). On marque que durant le mois de Février, on a observé une valeur maximale de 51 NTU dans la station 1, tandis que la valeur minimale est de 25 NTU, a été enregistrée au niveau de la station 1 durant le mois d'Avril.

D'une manière générale les valeurs les plus élevées ont été observées pendant la période pluviale.

Donc, on peut conclure que la qualité de notre eau variée entre une eau légèrement trouble à trouble.

1.2.6. Matières en suspension (MES) :

Les matières en suspension comprennent toutes les matières minérales ou organiques représentées par les produits des décompositions des matières végétales ou animales. A ces composés s'ajoutent les microorganismes tels que les bactéries, les planctons, les algues et les virus. Ces substances sont responsables en particulier de la turbidité et de la couleur de l'eau (**Hamdi et al., 2012**).

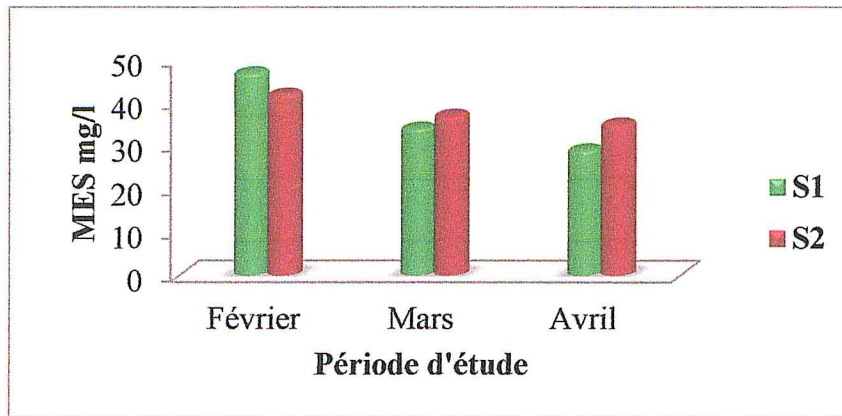


Figure 33: Variation des teneurs de MES de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

D'après le graphe ci-dessus (figure 33), Les valeurs enregistrées montrent des variations spatio-temporelles très importantes. Le maximum noté est de 47mg/l dans la station 1, pendant le mois de Février et le minimum de 29 mg/l dans la station 1 durant le mois d'Avril. Cela est dû à l'augmentation des sels et des particules en suspension dans cette eau.

1.2.7. La matière organique(MO) :

Les matières organiques, sont des matières oxydables qui nécessitent pour leurs décompositions une certaine quantité d'oxygène. Elles vont appauvrir le milieu naturel en oxygène, c'est pour quoi elles sont considérées comme des matières polluantes, elles sont une source nutritive essentielle pour la prolifération bactérienne, constituées d'un vaste ensemble de composés complexes et hétérogènes.

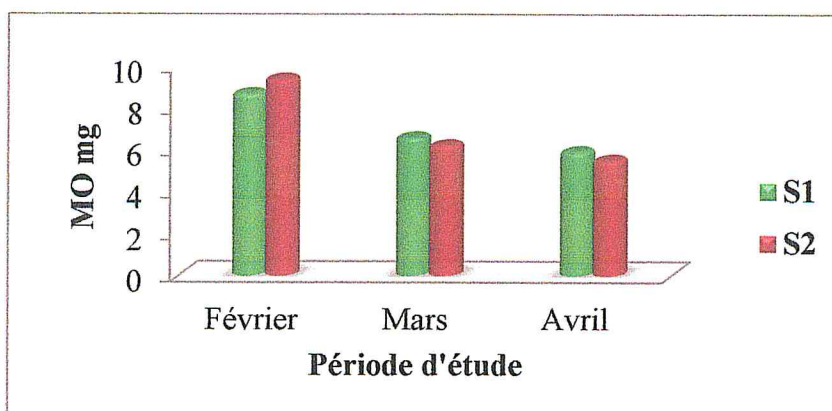


Figure 34: Variation des teneurs de la matière organique de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

On a enregistré une valeur maximale de 9.4 mg dans la station 2 pendant le mois de février, tandis que la valeur minimale est de 5.5 mg enregistrée au niveau de la même station pendant le mois d'Avril. Cela est dû au taux élevé de l'O₂ dissous enregistré durant le mois de février.

1.2.8. Le Résidu sec (RS) :

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

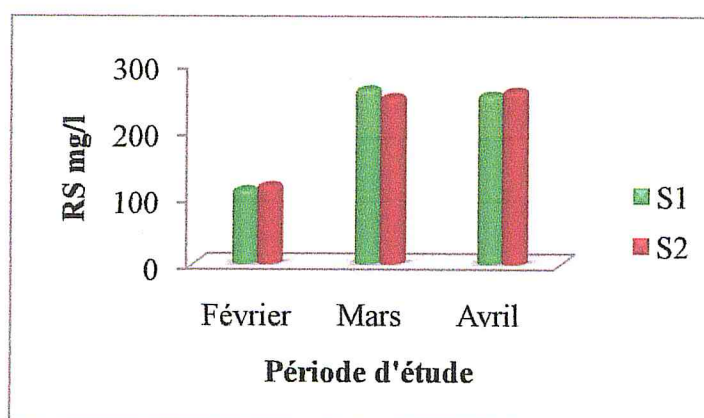


Figure 35: Variation de Résidu sec de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

Le graphe illustré par la **figure 35** montre que la valeur élevée 260.5 mg/l a été enregistrée au niveau de la station 1 pendant le mois de Mars, tandis que la valeur minimale 111.1 mg/l a été enregistrée au niveau de la station 1 pendant le mois de Février.

L'augmentation de résidu sec est due principalement à l'augmentation progressive de la température.

2. Les analyses bactériologiques

Les résultats des analyses bactériologiques effectuées, présentent une grande diversité bactérienne de point de vue quantitative et qualitative.

2.1. Recherche et dénombrement des germes totaux :

La recherche de la flore totale permet de dénombrer les microorganismes (bactéries, moisissures..) se développent dans des conditions habituelles de culture et représentent la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle.

Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique (Centre collaborant de l'OMS, 2007).

Au cours de notre travail, la recherche des germes totaux a été réalisée à une température de 37°C durant les trois mois d'étude (Figure 36).

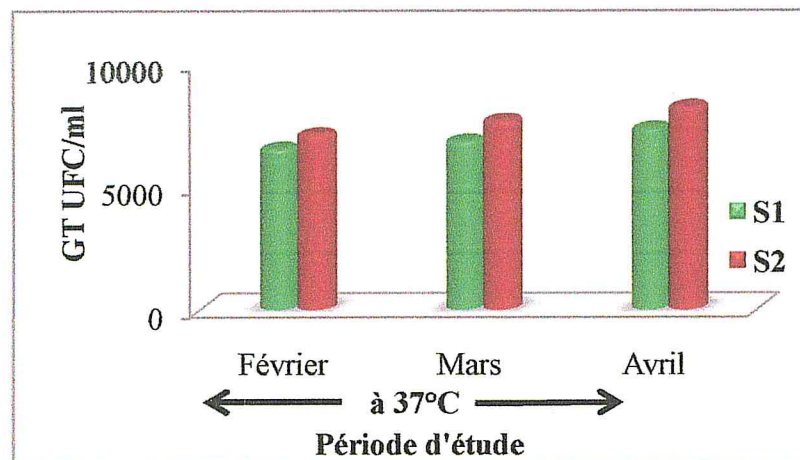


Figure 36 : Estimation des Germes totaux à 37°C UFC/ml dans l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

D'après l'histogramme ci-dessus nous démontrons la présence de la flore totale durant toute la période d'étude ainsi qu'au niveau des deux points, et avec des valeurs très proche, dont la valeur la plus élevée (8230 UFC/ml) a été enregistrée au niveau de la station 2 durant le mois d'Avril car la température de l'eau est dans ce cas favorable pour la croissance de ces microorganismes. et la valeur minimale (6540 UFC/ml) a été enregistrée au niveau de la station 1 durant le mois de Février. Cet abaissement pourrait être le résultat du phénomène de dilution survenu après une chute de pluie.

Selon ces résultats on peut dire que ces variations sont dues au fait que les sites sont exposés à diverses sources de contamination qui diffèrent d'un endroit à l'autre.

2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance (Duffour, 1977).

- Coliformes totaux :

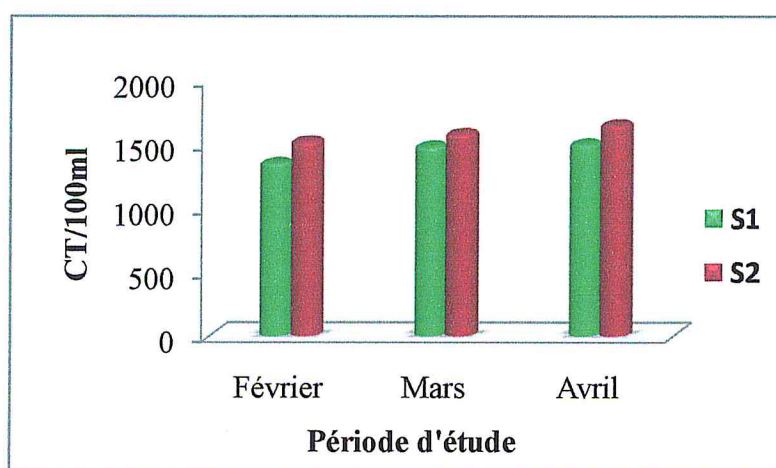


Figure 37: Estimation des coliformes totaux/100ml dans l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

D'après le graphique ci-dessus, on marque la présence des coliformes totaux aux niveaux de toutes les stations (S1, S2 et S3) ce qui indique la présence d'une contamination fécale. Cette dernière atteint sa valeur maximale (1650 CT/100 ml) au niveau de la station 2 pendant le mois d'Avril, dont la valeur minimale (1350 CT/100 ml) au niveau de la station 2 pendant le mois de Février. On peut traduire ce résultat par la présence de déjection animale (des oiseaux d'eau, et des animaux domestique... etc.).

Aussi par le taux de dilution durant le mois de Février qui était plus élevé par rapport au mois de Mars et Avril du fait des précipitations marquées au cours du mois de Février. Donc la présence d'une contamination fécale récente.

- **Coliformes fécaux :**

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux, dont La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (INSP DE Québec ,2003).

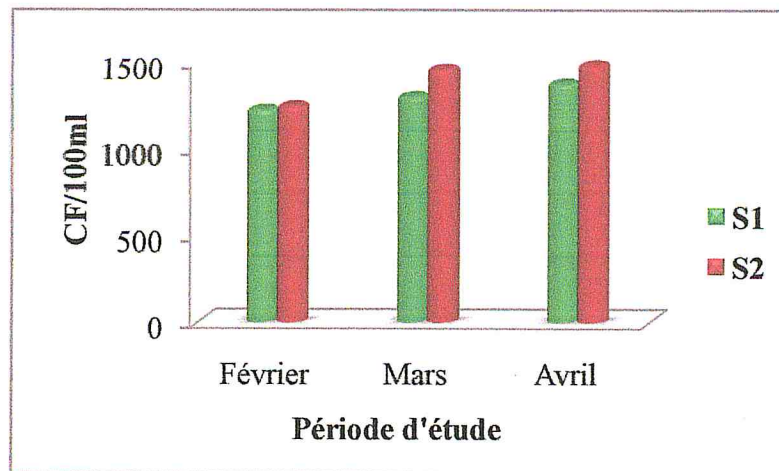


Figure 38: Estimation des coliformes fécaux/100 ml de l'eau du Lac Tonga (Février-Mars-Avril 2015).

L'histogramme ci-dessus nous montre un nombre élevé des coliformes fécaux pendant les mois de Mars et Avril au niveau des deux stations (S1 et S2), dont la valeur maximale (1485 CF/100ml) a été enregistrée au niveau de (S2).

Ces résultats sont expliqués par la présence d'une contamination provenant principalement des déchets fécaux ; plus probablement ; d'origine animale (les oiseaux d'eau), ainsi que les effluents d'élevage.

2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Le nombre de streptocoques fécaux est directement lié à la quantité de matière fécale animale se trouvant dans l'eau (Aouissi, 2010).

D'après les analyses effectuées, on a obtenu des résultats qui varient entre les deux stations ainsi que d'un mois à un autre.

graves telles que le botulisme et le tétanos ; c'est pour cette raison que la recherche de ces derniers est très essentielle dans le cadre de détermination qualitative d'eau (Rejsek, 2002).

2.5. Résultats des germes pathogènes :

Les germes d'origine fécale peuvent être recherchés pour confirmer le danger mis en évidence par leur présence, ainsi que d'autres germes d'origine non fécale dont leur risque ne peut être mise en évidence que par la recherche des germes pathogènes telles que : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*... etc.

Ces germes sont souvent présentés en faible concentration dans l'eau et peuvent se développer en culture ; l'identification des colonies isolées est basée essentiellement sur l'observation macroscopique et microscopique des colonies ; l'identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et d'autres tests. Les résultats sont résumés sous forme des tableaux et des figures ci-dessous :

2.5.1. Caractère morphologique et coloration de Gram :

Tableau 16: Aspects macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées durant notre étude.

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
SS	-Colonies petites, blanchâtres, plates, régulières, lisses. (Fig 40) -Colonies moyennes, marrons, bombées, rondes, irrégulières, lisses, opaques. (Fig 40)	-Bacilles, Gram négatifs, isolés. -Bacilles, Gram négatifs, regroupés en amas.
Mac conkey	-Colonies petites, blanchâtres, rondes, bombées, lisses, translucides. -Colonies moyennes, grisâtres, rondes, plates, réguliers, lisses, opaques. (Fig 41)	-Bacilles, Gram négatifs, isolées ou regroupées. -Bacilles, Gram négatifs, isolées ou regroupées.
Héktoen	-Colonies petites, marrons avec centre foncées irrégulières, plate, lisse, opaque. (Fig 41) -Colonies grandes, vertes foncées, circulaire, bombées, crémeuses,	-Coccobacilles, Gram négatif, isolés. -Bacilles, Gram négatif, isolés, ou regroupés.

	opaque. -Colonies petites, vertes avec centre noir, lisses, bombées, opaques.	
GNAB	-Colonies petites, incolores, bombées, lisses, translucides. -Colonies moyennes, blanchâtres, ronds, lisses, transparente.(Fig40)	- Bacilles droits, Gram négatif, isolés. -coccobacilles, Gram négatif, isolés.
Chapman	-Colonies petites, jaunes dorés, rondes, lisses à contours réguliers, opaques. -Colonies petites, blanches, ronde, bombées, réguliers, opaques. -Colonie petites, jaunes, rondes, bombées, lisses, translucide	-Cocci, Gram positif, regroupées en amas (une grappe de raisin). -Cocci, Gram positif, isolés ou regroupés en diplocoques, et en amas non réguliers.
Cétrimide	Résultats négatives	/

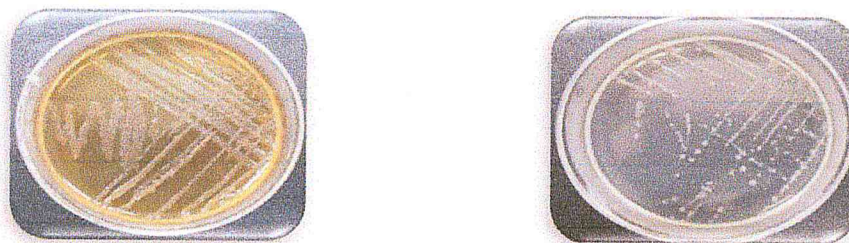


Figure 40: Aspect des colonies sur gélose SS à gauche et GNAB à droite (Photo prise par Benalia et Bouchair le 03/03/2015)



Figure 41: Aspect des colonies sur gélose Mac Conkey à gauche et Hectoèn à droite (Photo prise par Benalia et Bouchair le 26/3/2015)

2.5.2. Résultats de l'identification biochimique :

- **Profil biochimique des *Staphylococcus* :**

L'aspect macroscopique et microscopique (coloration de Gram) des colonies isolées sur milieu Chapman sont présentées dans les figures suivantes :

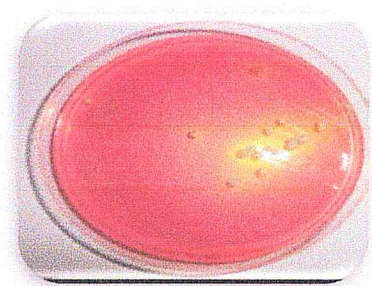


Figure 42 : Aspect des colonies sur milieu Chapman

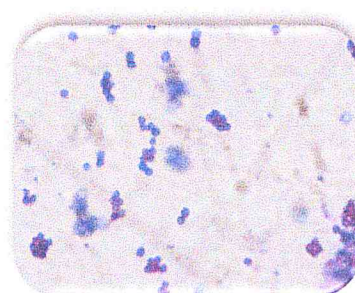


Figure 43: Cocci à Gram positif en Diplocoque (objectif x 100).

(Photo prise par Benalia et Bouchair le 26/03/2015)

- **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.

Tableau17: Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Milieus de culture	Espèce identifiées
SS	<i>Raouetella ornithinolytica</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Citrobacter Koseri</i>
Héktoèn	<i>Enterobacter amnigenus</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Aeromonas salmonicida</i>
	<i>E.coli</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>
Mac Conkey	<i>Pontoea ssp 2</i>
	<i>Citrobacter braakii</i>
	<i>Aeromonas hydrophila gr. 1</i>
GNAB	<i>Aeromonas hydrophila gp2</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Raouetella ornithinolytica</i>
Chapman	<i>Staphilococcus epidermidis</i>

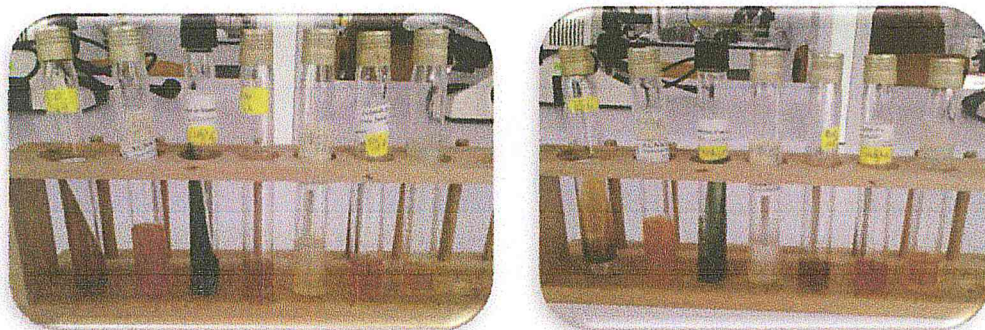


Figure 44: Résultats de quelques galeries biochimiques classiques (Photo prise par Benalia et Bouchair le 10/03/2015).

- Identification par les API systèmes :

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

Tableau 18: Les espèces identifiées par l'API 20 E et l'API 20 NE.

API Système	Milieux de culture	Espèce identifiées
API 20 E	Hektoèn	<i>Enterobacter sakazakii</i>
		<i>Shigella</i> spp
	Mac Conkey	<i>Chryseomonas luteola</i>
	Milieu SS	<i>Serratia odorifera</i>
API 20 NE	GNAB	<i>Vibrio vulnificus</i>
		<i>Aeromonas hydrophila</i>

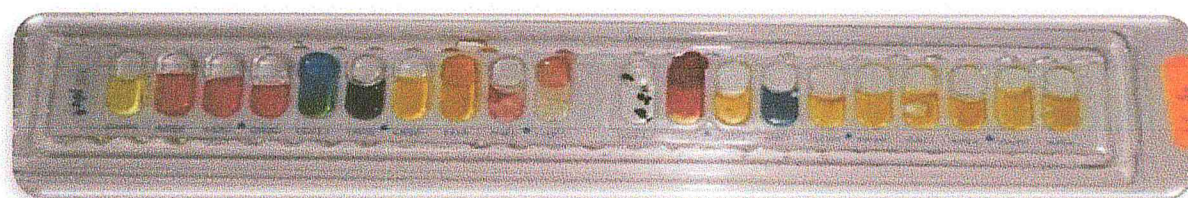


Figure 45 : Profil biochimique de la souche *Enterobacter sakazakii*.



Figure 46: Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera*.

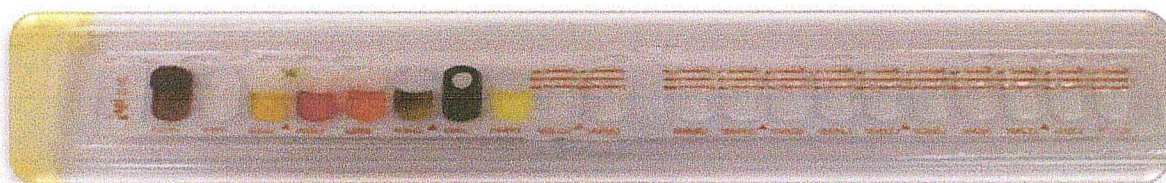


Figure 47: Profil biochimique de la souche *Vibrio vulnificus*

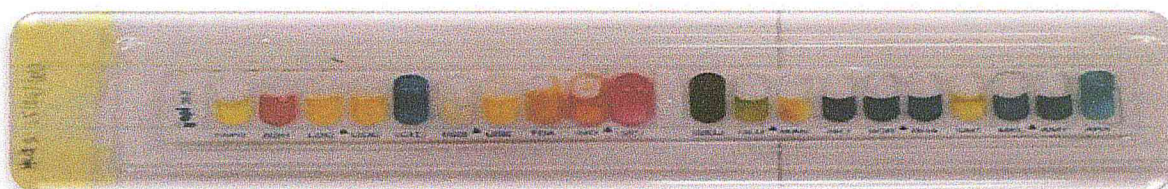


Figure 48 : Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila*.

Tableau 19: Répartition des espèces bactériennes isolées pendant les deux prélèvements entre les stations.

Especiesbacteriennes	S1	S2
<i>Enterobacter sakazakii</i>	×	
<i>Shigella spp</i>		×
<i>Aeromonas hydrophila</i> gr. 1	×	
<i>Proteus vulgaris</i>	×	×
<i>Pontoea ssp 2</i>	×	
<i>Citrobacter braakii</i>		×
<i>E.coli</i>	×	×
<i>Aeromonas hydrophila</i>	×	×
<i>Aeromonas salmonicida</i>		×
<i>Klebsiella oxytoca</i>	×	
<i>Enterobacter amnigenus</i>		×
<i>Citrobacter koseri</i>	×	×
<i>Chryseomonas luteola</i>	×	
<i>Serratia odorifera</i>	×	
<i>Vibrio vulnificus</i>		×
<i>Aeromonas hydrophila</i> gp2		×
<i>Raouetella ornithinolytica</i>	×	
<i>Proteus mirabilis</i>	×	×
<i>Staphilococcus epidermidis</i>		×



Conclusion

Conclusion

Les zones humides algériennes classées comme site « Ramsar » sont "vraisemblablement" nombreuses. Leurs fonctionnements et leurs hydrologies tributaires ont souvent des conditions climatiques qui puissent permettre, durant certaines périodes de l'année, à l'installation et à la prolifération des micro-organismes pathogènes. Le Lac Tonga situé dans le P.N.E.K Nord- Est de l'Algérie (la Numidie Orientale) se définit comme un lac d'eau douce permanent qui s'étale sur une superficie de 2000 ha. Il obéit à un climat méditerranéen, sub-humide caractérisé par deux saisons distinctes ; l'une sèche et chaude et l'autre pluvieuse et froide. Il présente l'un des hydro systèmes les plus diversifiés de notre pays. Il est classé parmi les zones humides d'une importance internationale et ce, pour son rôle primordial dans le maintien de l'avifaune aquatique durant l'hivernage de cette dernière.

Ce travail s'inscrit dans une problématique dimensionnelle générale visant la détermination de l'état de santé des eaux de ce lac et pour cela on a entamé l'étude de la qualité Physico - Chimique et Bactériologique durant trois mois successifs (Février, Mars, Avril 2015).

Nos résultats des analyses bactériologiques obtenus au cours de notre étude ont montré la présence d'une contamination fécale (coliformes et streptocoques fécaux) plus ou moins élevée qui provient principalement des rejets des oiseaux aquatiques occupants ce lac durant la période d'hivernage. Ainsi qu'une grande variété des germes pathogènes (*Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Aeromonas...* etc). au niveau des deux stations ciblées par notre étude.

D'après les paramètres physico-chimiques qu'on a pu mesurer au cours de notre étude et les résultats obtenus, on peut en conclure que notre eau est légèrement polluée.

En recommandation, pour maintenir l'équilibre de cet écosystème, il est amplement conseillé de ne plus utiliser ces eaux en irrigation et limiter l'utilisation intensive des engrais chimiques synthétiques dont l'organisation des campagnes de sensibilisation visant les riverains sur la protection de l'environnement. Ceci reste le meilleur moyen afin de conserver ces écosystèmes.



Bibliographie

.A.

Abbaci H., (1999). *Ecologie du Lac Tonga : Cartographie de la végétation, Palynothèque et Utilisation de l'espèce lacustre par l'avifaune.* Mémoire de Magister, Université d'Annaba. 102p.

Abdellioui S., Boukhdim A. et Hamzaoui H. (2012). *Qualité microbiologique d'un écosystème lotique Cas de l'Oued El Kebir Ouest (Skikda, Nord -Est Algérien).* Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

Aberkane M., Harkat R. et Mkhalf M. (2011). *Evaluation d la qualité physicochimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (Skikda).* Mémoire de Master. Université 08 Mai 1945 Guelma.

ADE Guelma., (2015). Laboratoire da la station de H/Debagh, Algérienne Des Eaux, Guelma 2015.

Adjami Y., (2006). Etude des facteurs de dépérissement dans la subraie d'el Kala (Nord_Est Algérien) cas de la suberaie d'El Mallah.

Aib A. et Yakhlef K. (2014). *Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et phytoplanktonique des eaux du Lac Tonga (Nord-est Algérien).*diplôme de Master. Univesité de Guelma.73 p.

Ait Hamlet S., (1998). *Contribution à l'étude de la qualité de huites Oueds de la wilaya d'El Tarf: aspects microbiologiques et écologiques.* Mémoire de Magister en microbiologie appliquée. Université d'Annaba. Algérie. 150 p.

Ait Kaci S. et Hamdi M.S. (2008). *Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued "Béni-Messous".DEUA en science de la mer. (I.N.S.M.A.L).*45p.

Ait mouloud S., (2011). *Biodiversité et distribution des collemboles dans l'écotone eau sol forestier dans la mare d'Aghrib et dans la tourbière d'El-Kala.* Thèse de magister, Université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 19 p.

Anonyme., (1996). La Wilaya d'El tarf vous invite à découvrir ses sites merveilleux. Direction de tourisme et de l'artisanat de la Wilaya d'el tarf.10p.

Aouissi A., Fouzari A. et Meziane N. (2007). *Qualité bactériologique de l'eau d'Oued Seybouse.* Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945 Guelma. 57p.

Aouissi A., (2010). *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. et Montiel H. (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} édition. Ellipses. Paris. 522p.

.B.

Barnaud G., (1991). Qu'est ce qu'une zones humide ? Compte rendu des avis d'experts

Belghyti D., (2008). Evaluation de la qualité des eaux de surface des oueds Fès et Sebou utilisées en agriculture maraichère au Maroc. *Larhyss Journal.* (7). 59-77p.

Belhadj G, B., Chalabi Y. Chabi Y. Kayser et M. Ghoutier-Clere. (2007). Le retour de l'ibis flacinnelle *Plegadis falcinellus* nicheur en Algérie.

Benlatreche M. C. et Benslimen S. (2002). *Evaluation du niveau de pollution organique et métallique (Zn, Cu et Ni) dans l'Oued Rhumel et son affluent Oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine).* Mémoire d'ingénieur. Université Mentouri de Constantine. 101p.

Beriche P., Gaillard J-L. et Simou et M. (1988). Bactériologie, les bactéries des infections humaines. Flammarion Médecine Sciences. France. 660 p.

BNEF ; bureau national d'études forestiers (1979).

Bouchaala L., (2010). *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued Zenati (Guelma).* Mémoire de Magister. Université de 08 Mai 1945 de Guelma. Algérie. 135 p.

Boukrouma 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 (W. d'Oum El-Bouaghi).* Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 64p.

Boukroune H., (2008). *Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-Kennar.* Mémoire due Magister. Université de Jijel. 119p.

Boumezbeur A., (1990). *Contribution à la connaissance des Anatidés nicheurs en Algérie (cas du Lac Tonga et du Lac Oiseaux).* Mémoire de D.E.A. USTL. Montpellier.

Boumezbeur A., (1993). *Ecologie et biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (Oxyralesucocephala) et du fuligule nyroca (Fuligulanyroca) sur le Lac Tonga et le Lac des Oiseaux) Est algérien.* Thèse doctorat USTL. Montpellier.250p.Apria, 331p

Bouzaaroura A., Hadri M. et Obeidi A. (2011). *Etude de la qualité bactériologique et physicochimique du Lac Tonga.* Diplôme du Master. Université de Guelma.73p.

Brahmia H., (2012). *Cartographie de la végétation du Lac Tonga et structure de la vie faune aquatique.* Diplôme du Magister. Université de 8 Mai 1945, Guelma.145p.

.C.

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

Castany et Margot., (1977). *Dictionnaire Français d'hydrogéologie.* Géologie Ministère.249p

Centre collaborant de l'OMS, (2007). *Contrôle et Suivit de la qualité des eaux usées protocole de détermination des paramètres physico-chimique et bactériologiques.*11p

Chaouch R., (2007). *Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba: aspect physicochimique et bactériologique des eaux.* Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 105 p.

Cohen N. et Karib H. (2007). *Vibrio spp. dans les produits de la pêche : Risques et prévention.* Les technologies de laboratoire. N° 3. 7

.D.

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

Debieche T.H., (2002). *Evolution de la qualité des eaux (salinité, azote, les métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle. Application à la basse plaine de la Seybouse Nord –Est algérienne.* Thèse de doctorat. Université de Constantine. 235p.

Définition scientifique et juridique. MNHN- ESMEN, France 10p.

Dégrément., (1998). Mémento technique de l'eau 8ème édition *Tec et Doc.* Paris 986p

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

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

Derwich E., Beziane Z. Benaabidate L. et Belghyti D. (2008). Evaluation de la qualité des eaux de surface des oueds Fès et Sebou utilisées en agriculture maraichère au Maroc. Larhyss Journal. (7). 59-77p.

De Villers J., Squilbin M. et Yourassowsky C. (2005). *Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface* : Cadre général. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement (IBGE). 16 p.

Duffour A-P., (1977). *E.coli* The Faecal Coliform. 4 8–58. In Hoadely A.W. and Coliformes fecaux.

.E.

El Blidi S., Fekhaoui M. Serghini A. et El Abidi A. (2006). Rizières de la plaine du Gharb (Maroc) : qualité des eaux superficielles et profondes. *Bulletin de l'Institut Scientifique.* (28). 55-60.

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.

.F.

Faurie C., Ce ferra. Déveaux J. et medort P. (1983). *Ecologie approche scientifique et pratique* ; 4^{ème} édition. 213p

.G.

Ghalmi R., (1997). *Étude préliminaire du régime alimentaire de la loutre (Lutra lutra) dans le nord-est algérien (Parc National d'El Kala)*. Mémoire D.E.S, Université de liège, 57 p

Guiraud J. P., (1998). *Microbiologie alimentaire*. Dunod. France. 652p.

.H.

Halassi I., (2010). *Degré de contamination du Lac des Oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau : Isolement et étude de Bdello vibrio bacterio vorus*. Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945 de Guelma. 148 p.

Hamdi W., Yousfi M. Touil Y. Bougrinat R. Ferhi N et Ouled El Hadi M D. (2012). Contribution à l'étude de quelques caractéristiques physico-chimiques et hygiénique des eaux usées issues de rejets de certaines localités de la cuvette d'Ouergla (Sahra septentrionale Est algérien) : impact sur le milieu récepteur. Algerian journal of aride environnement. Vol, 2 n°1juin 2012: 56-63.

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

Harvey R.A., Champe P.C. et Fisher B.D. (2007). *Microbiology*. 2nd edition. Lippincott Williams et Wilkins.432 p.

Houhamdi M., (1998). *Ecologie du Lac des Oiseaux, Cartographie, Palynothèque et utilisation de l'espace par l'avifaune aquatique*. Thèse de Magistère. 198p.

Houhamdi M., (2002). *Ecologie des peuplements aviens du lac des oiseaux : Numidie orientale*. Thèse de Doctorat d'état en Ecologie et environnement. Université de Badji Mokhtar, Annaba (Algérie), 146 p.

.I.

INSP DE Québec ,2003. Institut national de santé publique du Québec Fiche Coliformes fécaux Mai 2003 B.J.Dukta (eds).

.K.

Kadid Y., (1989). *Contribution à l'étude de la végétation aquatique du Lac Tonga. Parc National d'El-kala.* Thèse ingénieur agronome. INA. Alger 106p.

Kéléké S., Julien H. Audrey L. et Raber W. (2004). *Evaluation de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de Pointe Noire étude bactériologique et chimique.* Université Libre de Bruxelles.66p.

.L.

Landscap Amenagement., (1998). Plan directeur de gestion du Parc National d'El-Kala et du complexe des zones humides. Agence nationale pour la conservation de la nature Algérie. 234p

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.

Lebres E., (2004). Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algerie

Lebres E., (2006). Manuel des travaux pratique : analyse des eaux, *Institut Pasteur d'Algérie.*60p.

Lebres E. et Mouffok F. (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie.* 53p.

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

Le minor L. et Veron M. (1989). Bactériologie Médical. Flammarion Médecine science. 845p.

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

.M.

Mamadou L-N., (2005). *Impacts des eaux usées sur l'évolution chimique et microbiologique des sols : étude de cas à Pikine (Dakar-Sénégal)*. Diplôme d'étude supérieure en sciences naturel de l'environnement. Université de Badji Mokhtar, Annaba, 120p.

Masson J. P., (1988). Suivi de la qualité des eaux superficielles : l'expérience française. In : la qualita della acqua superficial., Criteria per una metodologia omogenea di valutazione, atti del convegno interazione. Palazzo deicongeressi. (28-29 Aprile), 99-110p

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. 3-13p.

Metallaoui S. et Houhamdi M . (2008). Données préliminaires sur l'avifaune aquatique de la Garaet Hadj Tahar (Skikda, Nord Est algérien). *Afri. Birdclub. Bull.* 15(1): 71-76.

Metallaoui S., (2010). *Ecologie de l'avifaune aquatique hivernante dans Garaet Hadj-Tahar (Numidie occidentale, Nord-Est de l'Algérie)*. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat. Université Badji Mokhtar d'Annaba.120p.

Ministère algérien des ressources en eau, (2009). Qualité des eaux superficielles dans le bassin hydrographique constantinois-Seybouse-Mallegue. *DHWCNE*.

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

.N.

Nauciel C. et Vildé J. L. (2005). Bactériologie médicale. Masson. 2^{ème} édition. 257 p

.O.

Oliver J. D. et Japer J. B. (1997). *Vibrio species. in sea food : Food microbiology – fundamentals and frontiers.* Washington. 264 p.

Ozenda P., (1982). *Les végétaux dans la biosphère.* Doin. Ed: Paris, 431p.

.P.

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

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

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

Prescott H., (2003). *Microbiologie.* De Book et Larciens. A. 842p.

.R.

Raachi (2007). *Etude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au Nord-Est Algérienne. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en géographie.* P14, 44,45. Université du Québec à Montréal.

Rajonson J., Rasolofonirina N. Ratoaveloson J. et Ravaonindriana N. (1992). *Qualité des eaux.* Emouard (4). 135-166p.

Razkallah Z., Abdi S. et Zerari A. (2013). *Etude de la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja(Wilaya de Skikda).* Diplôme de Master. Université de 8 Mai 1945, Guelma.65p.

Regam A., (2010). *Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologiques des Eaux Potables : Cas de la Station de Traitement de Hammam Debagh–Guelma ,* Mémoire de Master. Université de 08 Mai 1945 Guelma, 75p.

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

Rodier J., (1984).L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Edition Dunod Paris.

Rodier J., (1996).L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} édition. Dunod. Paris. 1383 p.

Rodier J., (2005). L'analyse de l'eau : eau naturelle ; eau résiduelle ; eau de mer ; 8^{ème}Edition. Dunod. 1383p.

Rodier J., (2009). L'analyse de l'eau, 9^{ème} Edition. Dunod, 1525p.

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

Rouaiguia M., (2010). *Qualité microbiologique de l'eau de OuedMessida.* Mémoire de master 2. Université 8 mai 1945 Guelma. 78p.

Roux M., (1987). Office international de l'eau. L'analyse biologique de l'eau. TEC et DOC.Paris.229p.

.S.

Samraoui B. et De Belair G. (1997). The Guerbes-Sanhadja wetlands: Part I. Overview. *Ecologie* 28: 233-250.

Samraoui B. et De Belair G. (1998). Les zones humides de la Numidie orientale: Bilan des connaissances et perspectives de gestion. Synthèse (Numéro spécial) N°4. 90p.

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.

Seltzer P., (1946). Le climat de l'Algérie. Imp. La Typo-Litho et J.C. in 4ème, Alger, 219p.

.T.

Thierrin J., Steffen P. Cornaz S. Vualaz F-D. Balderer W. Looser M. Zpbrit J. et Zumstein J. (2001). Guide pratique De l'échantillonnage Des Eaux Souterraines. Société Suisse D'hydrogéologie.57p.

Touati L., (2008). *Distribution spatio-temporelle des genres Daphnia et Simocephalus des mares temporaire de la Numidie.* Thèse de Magistère. Université de Guelma.70 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.

.V.

Van dijk G. et Ledant M. J. P. (1980). *Rapport d'observation sur les oiseaux dans la région d'Annaba.* Rap. dactyl. 8p.

.W.

Wilke M. et Boutiere H. (1999). Petit lexique des paramètres du suivi physicochimique dans l'eau. Parc naturel régional de la Narbonnaise en Méditerranée. 2 p.

Webographie :

- (1) https://www.google.fr/?gws_rd=ssl#q=la+situation+g%C3%A9ographique++du+ce+PNE+K(Consulté le 28/02/2015)
 - (2) http://fr.wikipedia.org/wiki/Marsilea#/media/File:Marsilea_Bild0717.jpg(Consulté le 02/03/2015)
 - (3) http://crdp.acbesancon.fr/flore/nympheaceae/especes/agrandissement/loupe_nymphaea_alba.htm (Consulté le 02/03/2015)
 - (4) <http://www.vitaminedz.com/photos/183/183205-abadla-bechar-barrage-de-djorf-ettorba-la-loutre-commune.jpg>(Consulté le 12 /03/2015)
 - (5) <http://jne-asso.org/blogjne/?tag=cervus-elaphus-barbarus> (Consulté le 12 /03/2015)
 - (6) <http://www.google.fr/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fimg0.etsystatic.com>(Consulté le 12 /03/2015)
 - (7) <https://www.google.com/search?q=Chlidoniashybridus&source>(Consulté le 16 /03/2015)
- www.googlemap.com (2015)



Résumé

Résumé

Le lac Tonga est situé à 36° 49' N-8° 32' E à l'extrême nord-Est du Parc National d'El Kala (wilaya d'El Tarf) Algérie. L'un des principaux réservoirs de biodiversité du bassin méditerranéen. Son fonctionnement et son hydrologie sont souvent tributaires des conditions climatiques permettant dans certaines périodes de l'année, à l'installation et la prolifération de micro – organismes pathogènes. Vue de la grande importance écologique de ce plan d'eau et dans ce contexte la présente étude a pour l'objectif d'évaluer le degré de pollution bactériologique et l'état physico-chimique des eaux de ce lac.

Au cours de notre travail et durant trois mois (Février, Mars et Avril 2015), le dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale a montré la présence d'une concentration plus ou moins moyenne en coliformes et en streptocoques fécaux surtout au niveau de la station deux (S2), ainsi que la présence de quelques germes pathogènes (*Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Aeromonas...* etc). au niveau des deux stations. Les résultats montrent que les eaux de ce lac sont de qualité moyenne. Dont les résultats des analyses physico-chimiques effectuées montrent que la qualité de notre eau est de bonne à passable.

Enfin, et selon les résultats obtenus au cours de cette étude on constate que cet écosystème est légèrement pollué, mais il serait recommandé de ne pas exploiter l'eau de cette zone humide afin de maintenir son équilibre, aussi d'éloigner les zones de pâturage à des endroits qui ne causent pas des dangers et des perturbations environnementales.

Mots Clés : Lac Tonga, zone humide, contamination fécale ; germes pathogènes, paramètres physico-chimiques ; écosystème aquatique.

Astract

Tonga Lake is located at 36 ° 49 'N 8 ° 32' E in the extreme North-East of El Kala's National Park (wilaya of El Tarf) Algeria. It's one of the main reservoirs of biodiversity in the Mediterranean pond. Its functioning and its hydrology are often dependent on climatic conditions that allows in certain periods of annual times, in the installation and proliferation of pathogen micro-organisms. View of the great ecological importance of this body of water and in this context, the present study has the goal to assess the level of bacteriological pollution and physico-chemical state of this lake's waters.

During our workand for three months (February, March and April 2015), the enumeration of microbes, indicators of faecal contamination has shown the presence of more or lessaverage concentration of coliforms and faecal streptococcie specially in the second station (S2), as well as the presence of some pathogens (*Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Aeromonas ... etc*) in the two stations. These results show that the waters of this lake have an average quality. The results of physico-chemical analyzes showed that the quality of our water is of good to passable.

Finally, and according to the results obtained in this study, we see the this ecosystem is slightly polluted, but it would be advisable not to use water from the wetland to maintainits balance, also to take a way grazing areas in places that do not cause dangers and environmental disturbances.

Key words: Tonga Lake, wetlands, fecal contamination, pathogens, physicochemical parameters, aquatic ecosystem.

تقع بحيرة طونقة ($36^{\circ} 49' N-8^{\circ} 32' E$) في أقصى الشمال الشرقي للجزائر بالحظيرة الوطنية للقالبة التابعة لولاية الطارف. وهي واحدة من الخزانات الرئيسية للتنوع الحيوي في البحر المتوسط. تعتمد وظائفها البيئية عموما والمائية خاصة على الظروف المناخية في أوقات معينة من السنة، والتي تسمح بظهور وتكاثر الكائنات الحية الدقيقة الممرضة. ونظرا للأهمية البيئية الكبيرة لهذا الوسط المائي أنجزت هذه الدراسة التي تهدف إلى تقييم درجة التلوث البكتيري والحالة الفيزيوكيميائية لمياه هذه البحيرة.

خلال عملنا هذا والذي دام ثلاثة أشهر (فيفري ومارس وافريل 2015)، أظهر تعداد الكائنات المؤشرة للتلوث البرازي، وجود تركيز متوسط للقولونيات البرازية والمكورات العقدية البرازية، خاصة على مستوى المحطة 2، بالإضافة إلى وجود بعض مسببات الأمراض (المكورات العنقودية. كلابسيلا وأيرومونات الخ) على مستوى المحطتين. وتظهر هذه النتائج أن مياه البحيرة من نوعية متوسطة، أما النتائج الفيزيوكيميائية فتبين أن نوعية المياه تتراوح بين الجيدة والمقبولة.

وأخيرا، ووفقا للنتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة فإن هذا النظام البيئي يعتبر قليل التلوث، ولكن ينصح بعدم استخدام مياهه، قبل أن يعيد توازنه، كما ينصح بإبعاد مناطق الرعي عن محيط البحيرة التي لا تشكل خطرا على البيئة.

كلمات البحث: بحيرة طونقة، الأراضي الرطبة، تلوث برازي، مسببات الأمراض، المعلمات الفيزيوكيميائية، النظام البيئي المائي.



Annese

Le taux des sels dissous (TDS) :

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

La mesure de la TDS se fait dans le laboratoire à l'aide d'un TDS mètre en mettant une quantité de l'eau a analysé dans une cuve stérile et la introduire dans cet appareil (**Rodier, 1996**) (**ADE Guelma, 2015**).

La turbidité :

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspensions finement divisées : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, algues, micro-organismes, etc. (Rodier, 2009).

C'est un paramètre important dans le contrôle de la qualité des eaux. Une turbidité forte peut permettre à des micro-organismes de se fixer sur des particules en suspensions.

L'appareillage utilisé est une cuve stérile et un turbidimètre appelé aussi néphélomètre.

❖ Mode opératoire

-Remplir la cuve stérile avec l'eau à analyser

-Appuyer sur le bouton mesure.

-Faire la lecture après la stabilisation de turbidimètre.

L'unité usuelle de la turbidité est la NTU.

-NTU<5.....Eau claire.

-5<NTU<30.....Eau légèrement trouble.

- NTU>50.....Eau trouble (ADE Guelma,2015).

Détermination des matières en suspension (MES) :**❖ Principe :**

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

❖ Matériels :

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

❖ Mode opératoire

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105°C pendant 20mn.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les peser soit P_1 : poids des membranes avant filtration.
- Placer les membranes dans la rampe à filtration et faire passer 200ml d'eau à analyser à travers.
- Rendre les membranes à l'étuve (105°C) afin de les sécher pendant 20 mn.
- Les laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une 2^{ème} fois soit P_2 : poids des membranes après filtration.

***Expression des résultats :**

$$\text{MES (Mg/L)} = (P_1 - P_2) \times 5 \times 1000$$

P_1 : poids des membranes avant filtration.

P_2 : poids des membranes après filtration (ADE Guelma, 2015).

Détermination des matières oxydables en milieu acide (MO) :**❖ Principe :**

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

❖ Réactif :

-Solution d'acide sulfurique **50%**

-Solution de permanganate de potassium **N/80**.

A préparer à partir d'une solution **N/10** récemment titre.

Vérifier le titre de cette Solution.

1ml de la solution **N/80** correspond à **0.1mg** d'oxygène.

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

❖ Mode opératoire :

Introduire dans un erlenmeyer de **500ml**, **100ml** d'eau à analyser et **10ml** d'acide sulfurique à **50%** ajouté **10ml** de solution de permanganate de potassium **N/80**. Porter l'échantillon à l'ébullition ménagée pendant **10 min** à partir du moment où les bulles en formation au fond du ballon viennent crever la surface du liquide. Ajouter ensuite **10ml** d'acide oxalique **N/80** pour décolorer. Revenir immédiatement à la teinte rose faible mais persistante à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium **N/80**.

Faire un essai à blanc en opérant dans les mêmes conditions (**ADE Guelma, 2015**).

***Expression des résultats :**

$$MO (O_2/l) = V_{ech} - V_{blan}$$

Détermination du résidu sec (RS) :**❖ Principe :**

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières par litre d'eau.

Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarie.

Le résidu dessèche est ensuite pesé.

❖ Matériel :

-Capsule en porcelaine.

-Balance analytique.

-Etuve réglable.

❖ Mode opératoire :

-Tarer une capsule préalablement laver, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.

-Prélever 200ml d'eau à analyser.

-Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.

-Laisser refroidir pendant ¼ heure aux dessiccateurs.

-Peser immédiatement et rapidement.

***Expression des résultats :**

$$RS(Mg/L) = (PP - PV) \times 5 \times 1000$$

PP : le poids plein de la capsule.

PV : le poids vide de la capsule (ADE Guelma,2015).

Détermination du calcium (Ca²⁺) :

❖ Principe

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

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

❖ Réactifs :

-Indicateur colore : Murexide.

-Solution d'EDTA (N/50) (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈·2H₂O) : (0.02N ou 0.01M).

-Solution d'hydroxyde de sodium à 2N.

❖ Mode opératoire :

-Introduire 50ml d'eau à analyser dans un erlenmyer au col large.

-Ajouter 2ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur colore.

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

***Expression des résultats** : La détermination du mg/l de calcium est donnée par la formule suivante :

$$\text{mg/l Ca}^{2+} = \frac{V_1 * C_{\text{EDTA}} * M_{\text{Ca}^{2+}}}{\text{P.E}} * 1000$$

D'où: **V1**: Volume d'EDTA nécessaire pour une concentration donnée.

C : Concentration molaire d'EDTA (0.01M/l).

M_{Ca²⁺}: Masse molaire du calcium en g.

P.E : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage).

F : Facteur (ADE Guelma, 2015).

Donc :

$$\text{mg/l Ca}^{2+} = \frac{V_1 * 0.01 * F * 40.08}{50} * 1000$$

$$(\text{Ca}^{2+})(\text{Mg/L}) = V_1 * F * 8$$

Détermination du magnésium (Mg²⁺) :**❖ Principe**

Titration molaire des ions calcium et magnésium avec une solution de sel disodique de l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à pH =10. Le noir érichrome T, qui donne une couleur rouge foncé ou violette en présence des ions calcium et magnésium, est utilisé comme indicateur.

❖ Réactif

-indicateur colore : noir eriochrome T.

-Solution d'EDTA (N/50) (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈2H₂O) : (0.02N ou 0.01M).

-Solution de NH₄OH.

❖ Mode opératoire :

-Indicateur 50ml d'eau à analyser dans un erlenmyer au col large.

-Ajouter 2ml de solution de NH₄OH.

-Une pincée de noir eriochrome T.

-Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage de couleur bleue V2.

***Expression des résultats :** La détermination du mg/l de magnésium est donnée par la formule suivante :

$$(\text{Mg}^{2+}) (\text{mg/ml}) = (V_2 - V_1) \times C_{\text{EDTA}} \times F \times M (\text{Mg}^{+2}) / \text{PE}$$

D'où: V₂: Volume titré de calcium et magnésium.

V₁: Volume titré de calcium.

C : Concentration molaire d'EDTA (0.01M/l).

M_{mg²⁺} : Masse molaire du magnésium en g.

P.E : Prise d'essai (volume de l'échantillon nécessaire pour ce dosage).

F : Facteur (ADE Guelma, 2015).

Donc : $(Mg^{+2}) (mg/l) = (V_2 - V_1) \times 0.01 \times F \times 24 \times 1000 / 50$

$$(Mg^{+2}) (mg/l) = (V_2 - V_1) \times F \times 4.8$$

Facteur

-50ml de solution mère de $CaCl_2$.

-02ml de $NaOH$ (02N).

-Une pincée de Murexide.

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

$$F = 12.5 / V(EDTA)$$

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	-

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

	La pente	Le culot
Lactose	Jaune : fermentation de lactose et/ou saccharose Rouge : pas de fermentation	-
Saccharose		
Glucose	-	Jaune : fermentation du glucose Rouge : pas de fermentation
H ₂ S	Apparition d'un noircissement entre le culot et la pente	
Gaz	-	Présence des bulles de gaz

Tableau 10 : Lecture d'API 20 E

Tests	Composants	QTE (mg/cu p.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β Dgalactopyrano side	0,223	β -galactosidase (Ortho NitroPhényl- β DGalactopyranosidas e)	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	OrnithineDéCarboxyla se	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 liseré
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 (VogesProskauer)	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 11 : Lecture d'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 mn	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates en azote	ZN / 5 mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5 mn	
			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 12 : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température (Monod, 1989).

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

Tableau 13 : La grille de la qualité des eaux des rivières selon la conductivité électrique (Monod, 1989).

Conductivité électrique CE20°C (µS/cm)	Qualité des eaux	Classe
CE20°C < 400	Bonne	1A
400 < CE20°C < 750	Bonne	1B
750 < CE20°C < 1500	Passable	2
1500 < CE20°C < 3000	Médiocre	3

Tableau 14 : Qualité des eaux en fonction du pourcentage de saturation en oxygène dissous (Masson, 1988).

% de saturation en oxygène	91à110	71à90	51à70	31à50	<30 >130
Qualité	Excellente	Bonne	Passable	Mauvaise	Très mauvaise

Tableau 07 : Tableau de Mac GRADY (Mouffok, 2001).

<i>3 tubes par dilution</i>					
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		

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	0.2g/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]- Bouillon nitrate : pH = 7.2

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

[M7]- 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

[M8]- Eau Peptonée Alcaline (EPA) : pH = 8.6

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

[M09]- Gélosetryptone- 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

[M10]- 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

[M11]- 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

[M12]- 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

[M13]- 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

[M14]- 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

[M15]- 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

[M16]-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

[M17]- 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

[M18]- 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

[M19]- 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

[M20]- 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

[M21]- Milieu mannitol-mobilité : pH = 7.4

Peptone trypsique 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

[M22]- Milieu SFB

Formule approximative par litre

Digestion pancréatique de caséine.....	5,0 g/l
Lactose.....	4,0 g/l
Sélénite de sodium.....	4,0 g/l
Phosphate de sodium.....	10,0 g/l

[M23]- Milieu Urée-Indole :pH final : 6.7 +/-0.2 à 25°C

En grammes par litre d'eau

L-Tryptophane	3,00g/l
Phosphate monopotassique	1,00g/l
Phosphate dipotassique	1,00g/l
Chlorure de sodium5,00g/l
Urée	20,00g/l
Rouge de Phénol à 1%	2,50 ml
Alcool à 95%	10,00 m

Réactifs utilisés

[R1]- Réactif de Vosges Proskauer (VP): Pour la recherche de l'acétoïne.

VP1:

Hydroxyde de potassium 40 g
Eau distillée 100 ml

VP2:

Alpha naphthol 6 g
Ethanol 100 ml

[R2]- Réactif de Kowacks : La mise en évidence de la production d'indole.

Paradiméthyl amino benzaldéhyde..... 5 g
Alcool amylique 75 ml
HCl pur 25 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