

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 DE GUELMA
FACULTE DES SCIENCES ET DES SCIENCES DE L'INGENIERIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



M/570.05A

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du
DIPLOME DE MAGISTER EN BIOLOGIE - ECOLOGIE

Option : Ecologie et Génie de L'Environnement :
Evaluation et suivi des marqueurs biologiques des zones humides

THÈME

**Contribution à l'étude de la qualité
microbiologique de l'eau d'un écosystème
aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire
de Ain Fakroune (W.d'Oum El-Bouaghi)**

Présentée par

Nadhra BOUKROUMA

Devant le jury composé de :

M. Tahar NOUAR	M.C	Université 8 mai 1945 de Guelma	Président
M. Slimane KACHI	M.C.	Université 8 mai 1945 de Guelma	Examinateur
Mme. Messaouda KHELLAF	C.C.	Université 8 mai 1945 de Guelma	Invité
M. Moussa HOUHAMDI	M.C.	Université 8 mai 1945 de Guelma	Directeur de mémoire

Année universitaire : 2007/2008



Remerciements

Tout d'abord , j' adresse tous mes remerciements aux personnes qui m'ont apporté leur aide et ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Tout d'abord Mon Encadreur, Monsieur Houhamdi Moussa, (Maître de conférence à l'université de Guelma) , pour l'aide et le temps qu'il m'a consacré.

Mes remerciements vont également aux Membres du Jury : NOUAR Tahar Maître de conférence à l'université de Guelma, KACHI Slimane qui est aussi Maître de conférence à l'université de Guelma et KHELLAF Messaouda chargé de cours à l'université de Guelma.

Je remercie mes parents qui m'ont toujours soutenus et encouragés.

Je tiens à remercier particulièrement Madame Radhia et Monsieur Aberrezak du laboratoire ADE d'Oum-el-Bouaghi pour m'avoir permis d'effectuer les différentes analyses .

Je remercie également Monsieur Saheb tahar (chargé de cours au Centre universitaire d'Oum- El -Bouaghi pour son soutien moral.

Listes des abréviations

°C : degré Celsius.

g : gramme.

μS : micro siemens.

Fig. : figure.

g/l : gramme par litre.

cm³ : centimètre cube.

e : litre.

ml : millilitre.

ha : hectare.

T : température.

Hm : hectomètre.

Km² : kilomètre carré.

m/s : mètre par seconde.

S/C : simple concentration.

h : heure.

m : milles équivalent.

CT : coliformes totaux.

SF : Streptocoques fécaux.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Description du site

I- La retenue collinaire de Ourkis.....	2
I-1-Situation géographique.....	2
I-2-Caractéristiques hydrologiques.....	2
I-3-Caractéristiques géologiques et géotechniques.....	2
I-4-Caractéristiques hydrotechniques.....	5
I-4-1-Digue	5
I-4-2-Digue de col.....	5
I-4-3-Prise d'eau et vidange de fond.....	5
I-4-4-Evacuation de Crues.....	5
I-5- Cadre biotique.....	6
I-5-1-La faune.....	6
I-5-2-la flore.....	6
I-6-Etude climatique.....	6
I-6-1-Les températures.....	6
I-6-2-Les précipitations.....	7
I-6-3-L'humidité.....	7
I-6-4-Les vents.....	7
I-7-Synthèse climatique.....	9

Chapitre II Matériel et Méthodes

II-1-Origine de prélèvement.....	11
II-2-Mode de prélèvement.....	11
II-3-Dénombrement des bactéries.....	11
II-3-1-La colimétrie (NPP).....	11
II-3-2-Recherche d'E.coli.....	12
II-4- Recherche des bactéries.....	12
II-4-1-L'isolement.....	12
II-4-2- Matériel et méthodes.....	12
II-4-3-Etude des caractères cultureux.....	13
II-4-4-Etude macroscopique.....	13
II-4-5-Etudes microscopiques.....	13
II-4-5-1-examen à l'état frais.....	13
II-4-5-2-examen après coloration.....	13
II-5- Etude des caractères biochimiques	15
II-5-1-Realisation d'une galerie biochimique classique.....	15
II-5-1-1-Recherche de la nitrate-réductase.....	15
II-5-1-2-Recherche de l'acétone	16
II-5-1-3-Recherche de l'Idole.....	17
II-5-3-2-Identification des Candida pathogènes.....	23
II-6-Détermination de la qualité physico-chimiques de l'eau.....	24

II-6-1-La température (T °C).....	24
II-6-2-Le pH	24
II-6-3-La conductivité électrique (CE).....	24
II-6-4-La salinité.....	25
II-6-5-L'oxygène dissous.....	25
II-6-6-EH.....	26
II-6-7-Les chlorures (Cl ⁻).....	26
II-6-8-Les nitrates (NO ₃).....	27
II-6-9-Les ortho phosphates (PO ₄ ⁻).....	28
II-6-10-Les nitrites.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1- Les relevés climatiques de la période d'étude	30
III-2- Analyses bactériologiques.....	32
III-2-1-Les germes totaux.....	32
III-2-1-1-Les coliformes	32
III-2-1-2- Streptocoques fécaux	33
III-2-2- Recherche des bactéries	34
III-3-Analyses physico-chimiques.....	35
III-3-1-La température	35
III-3-2-Le potentiel d'hydrogène (PH)	35
III-3-3-La conductivité électrique (CE), la salinité et le TDS.....	37
III-3-4-L'oxygène dissous.....	39
III-3-5-EH (le pouvoir oxydo-réduction)	39
III-3-6-Les chlorures (Cl ⁻).....	39
III-3-7-Les Nitrates (NO ₃)	39
III-3-8 -Les nitrites.....	42
III-3-9 - L'Ortho phosphate (PO ₄ ⁻).....	42
III-4- Analyse statistique multi variée.....	44
Conclusion.....	46
Resumé.....	47
Abstract.....	48
الملخص.....	49
Annexe.....	50

Liste de tableaux

Tableau	Titre	page
Tableau1	Liste des espèces bactériennes isolés de la retenue collinaire	34
Tableau2	Donnés climatiques de la région d'Oum El-Bouaghi (1974-2004)	52
Tableau3	Quelques indications sur la relation existant entre la minéralisation et la conductivité. (Rodier,1996)	53
Tableau4	Calcul de la minéralisation à partir de la conductivité	53
Tableau5	Interprétation des résultats	54
Tableau6	Table NPP	61
Tableau7	TABLE DE MAC-GRADY	62
Tableau 8	caractères biochimiques des Entérobactéries	64

Fig 24	Variations des nitrates de l'eau de la retenue collinaire	41
Fig25	Variations de l'oxygène dissous dans la retenue collinaire	41
Fig26	variations des ortho phosphates dans la retenue collinaire	43
Fig27	Teneurs en nitrite dans la retenue collinaire de Ourkis	43
Fig28	Plan factoriel 1x2 de l'AFC (analyse factorielle des correspondances) 47 relevésx11 paramètres. Axes d'inertie : 0.86, 0.05, 0.04&0.02.	45
Fig29	Profil type de la digue Source Direction de l'Hydraulique de la wilaya d'Oum El Bouaghi.2006	50
Fig30	Courbe de débit de l'ouvrage de prise et de vidange de fond selon les différentes ouvertures de	51

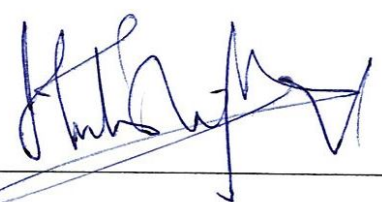


Fig17	Variations des températures de l'eau de la retenue collinaire	36
Fig18	Variations de PH de l'eau de la retenue collinaire	36
Fig19	Variations de la conductivité de l'eau de la retenue collinaire	37
Fig20	Variations de TDS de l'eau de la retenue collinaire	38
Fig21	Variations de la salinite de l'eau de la retenue collinaire	38
Fig22	Taux de EH de l'eau de la retenue collinaire	40
Fig23	Variations des chlorures de l'eau de la retenue collinaire	40

Fig8	Test d'indole	17
Fig9	Galerie Api 20E	20
Fig10	Aspect du test du catalase positif	21
Fig11	Test de la Galactosidase	21
Fig12	Test d'Oxydase	22
Fig13	Méthode d'identification du candida pathogène	23
Fig14	variations mensuelles des précipitations durant la période d'étude	31
Fig15	variations mensuelles des températures durant la période d'étude	31
Fig16	Evaluation des nombres de coliformes totaux	33

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Fig1	Carte de la situation géographique de la retenue collinaire de Ourkis (Oum El Bouaghi)	3
Fig2	Photo de la retenue collinaire de Ourkis	4
Fig3	Photo de la retenue collinaire de Ourkis	4
Fig4	Donnés climatiques de la région d'Oum El-Bouaghi (1974-2004)	8
Fig5	Diagramme ombrothermique de la région d'Ourkis (1974-2004)	10
Fig6	la situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climagramme d'Emberger (Long 1974 in De Betair, 1990).	10
Fig7	Test du rouge de méthyle et Voges proskawer	16

Introduction

Introduction

L'eau n'est pas seulement un élément essentiel à la vie mais aussi une force puissante par elle-même, aussi son importance dans l'économie humaine ne cesse de croître et l'approvisionnement en eau douce devient de plus en plus difficile, tout en raison du développement et de l'effort accéléré des techniques industrielles modernes que de l'accroissement de la population de son niveau de vie.

En même temps les causes de pollution se sont étendues et sont devenues plus nocives, plus variées et plus insidieuses.

Ces milieux n'ont cessé d'être dégradés sous l'effet des fortes expositions des activités humaines le long du bassin versant ; en effet, de part leur proximité des activités anthropiques et urbaines, ces milieux sensibles sont sujets à différentes sources de pollution : le rejet des eaux usées brutes en est des principales et l'intensification des activités agricoles en bordure et la diversité de ces sources de pollution, leur variations spatio-temporelle ainsi que la particularité des conditions climatiques constitue une véritable menace de la structure hydrologique de la région des hauts plateaux de l'est Algérien.

En milieu semi-aride, l'étude de ces écosystèmes est souvent difficile en raison du manque d'informations suffisantes et la grande variabilité des situations. Cette variabilité est causée par le jeu complexe de paramètres géographiques, climatiques, hydrologiques, géochimiques et autres.

Nous nous proposons d'étudier les variations spatio-temporelles des teneurs de certains éléments chimiques aussi bien nutritifs que toxiques présents dans les eaux de surface de l'un des écosystèmes aquatiques artificiels (la retenue collinaire de Ain Fakroun-Wilaya d'Oum- El-Bouaghi) ainsi que leur impact sur l'environnement et sur la microflore aquatique. Notre mémoire est structuré en trois Chapitres interdépendants.

Le chapitre I : une synthèse bibliographique des données biotiques et abiotiques de l'écosystème aquatique artificiel (Retenue de Ain Fakroune).

Le chapitre II : Décrit les techniques et la méthodologie suivie pour la stérilisation de la qualité physico-chimiques et microbiologique de l'eau de cette retenue.

Le chapitre III : prie sous forme de graphes et d'histogrammes expose les différents résultats obtenus au cours de l'année de l'étude. Il est suivi d'une conclusion relatant la qualité de cette eau.

Chapitre I

Chapitre 1 : Description du site

I- La retenue collinaire de Ourkis :

L'étude du projet de la retenue collinaire sur l'Oued Ourkis (Fig 1.1), située dans la wilaya d'Oum El- Bouaghi a été effectuée par le bureau d'études **Hydro Projets Est**, en 1998.

L'ouvrage a été construit par l'entreprise NAFT Construction à duré du 14 mars 2002 au 09 mars 2004.

I-1-Situation géographique :

La retenue collinaire de Ourkis (35°94N, 06°25°E) occupe une superficie totale de 55 hectares. Elle est alimentée principalement par Oued Ourkis et elle est destinée à irriguer les terres agricoles en aval. La retenue située juste après la commune de Touzline est facilement à partir de la R.N 48 qui relues Oum El-Bouaghi et Constantine.

I-2-Caractéristiques hydrologiques :

-Surface du bassin versant.....	11,85Km ²
-Crue centennale.....	55cm ³ /s
-Apport annuel moyen.....	0,68Hm ³ /an
-Capacité de la retenue.....	0,179Hm ³

I-3-Caractéristiques géologiques et géotechniques :

Le projet d'exécution a été élaboré à partir de l'étude de faisabilité géologique et géotechnique. Le site et la cuvette sont géologiquement favorables, ils sont composés de imperméables. Au niveau de la cuvette, existent des matériaux d'emprunt argileux convenables pour la projection d'une digue en terre homogène. Les matériaux d'enrochement ; les filtres et les drames sont exploités à partir de la carrière de Ain Zitoune, située à 60 Km du site. Les essais de laboratoire ont permis d'interpréter les caractéristiques physiques des sols alluvionnaires dans la base de la digue et des essais physico mécaniques sur des sols argileux dans la base de la digue et dans la zone d'emprunt, à l'état naturel et à l'état compacte (D.H.W.O.E.B,2006).

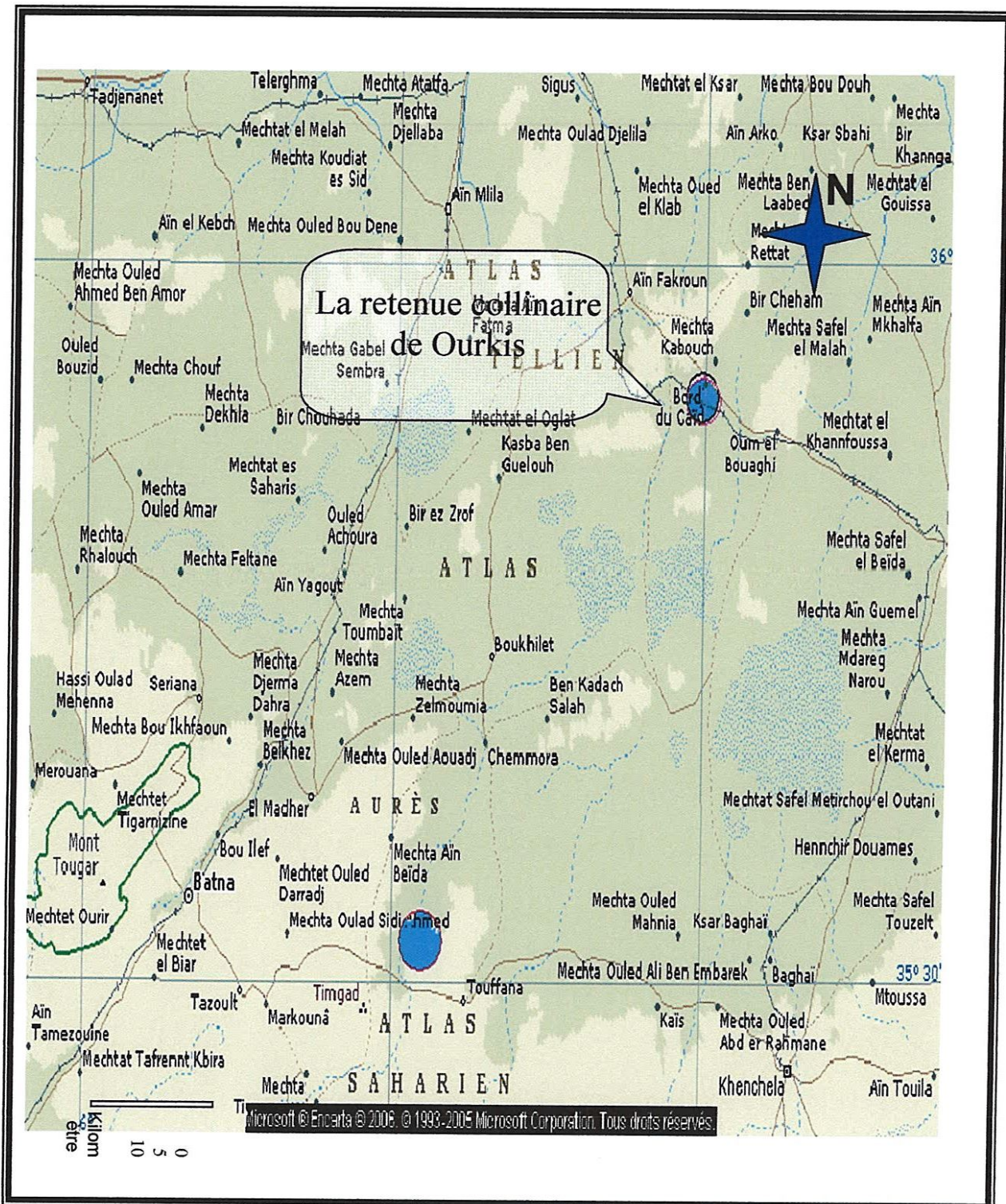


Fig.1. Carte de la situation géographique de la retenue collinaire de Ourkis (Oum El Bouaghi)

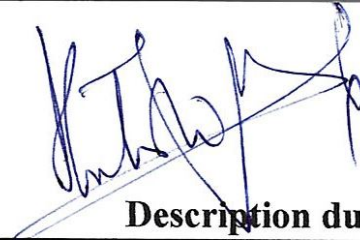


Fig.2. Photo de la retenue collinaire de Ourkis



Fig. 3. photo de la retenue collinaire de Ourkis

I-4-Caractéristiques hydrotechniques :**I-4-1-Digue :**

Dans le projet, le choix a été arrêté sur une digue homogène, les principaux paramètres de la digue sont :

Hauteur.....	11,40m
Longueur en crête.....	291, m
Côte de la crête.....	999,40m (NGA)
Côte des plus hautes eaux.....	998,10m (NGA)
Côte normale de la retenue.....	997, m(NGA)
Talus amont.....	1/3
Talus aval.....	1/2,5
Volume du remblai.....	80000m ³

I-4-2-Digue de col :

Côte de la crête	1009.00m(NGA)
Pente des talus.....	1/1.5

I-4-3-Prise d'eau et vidange de fond :

Les conduites sont en acier enrobées de béton armé de 80 m de longueur. L'évacuation s'effectue par des vannes de vidange rapide dans l'Oued..

L'ouvrage est composé par :

Un Canal d'amenée

Une conduite

Une chambre de vannes

Un bassin de dissipation

Une canal de sortie

I-4-4-Evacuation de Crues :

Elle est de type « frontal » et située sur la rive gauche avec un déversoir de type trapézoïdal. La largeur du seuil est égale a 8 m avec une charge de 1.36 m et un débit maximal de 24,2 m³/s. L'ouvrage est composé de :

Une Canal d'amenée convergent et pente inverse.

Un Déversoir.

Un Pied prismatique du déversoir.

Une Transition.

Un Coursier.

Un Bassin de dissipation avec trajectoire.

Une Canal de sortie.

I-5- Cadre biotique :**I-5-1-La faune :**

Les populations avienne ont été estimée à une vingtaine d'espèces d'oiseaux d'eau dont les principaux sont : le Canard souchet (*Anas clypeata*), le Canard siffleur (*Anas penelope*), le Canard Colvert (*Anas platyrhynchos*), le Fuligule Miloin (*Aythya ferina*), le Fuligule Morillon (*Aythya fuligula*), la Foulque Macroule (*Fulica atra*), le Héron Cendré (*Ardea cinerea*), le Grèbe Castagneux (*Podiceps ruficollis*). Le plan d'eau est aussi fréquenté par de nombreux Amphibiens et reptiles (lézard, couleuvres d'eau).Cependant dans le site la direction des forets de la Wilaya d'MOum El-Bouaghi a introduit en 2004 pour un but de commercialisation la coupe chinoise (C.F.W.O.E.B.2006).

I-5-2-la flore :

La retenue collinaire de Ourkis est entourée par une végétation représentée essentiellement par des crucifères, des composées, des liliacées..ect.

I-6-Etude climatique :

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, notamment les précipitations qui constituent le facteur essentiel intervenant par leurs répartitions mensuelles et journalières.

Ces différents aspects des précipitations plus ou moins modifiés par l'effet combiné des autres paramètres physiques (altitude et exposition), et climatique (température et évapotranspiration), permettent d'expliquer quantitativement les variations des composantes du régime hydrologique de la région d'étude (Solter,1999).Les données météorologiques fournies par la station d'Oum El Bouaghi 1995-2005.

I-6-1-Les températures :

La température est l'un des facteurs les plus importants de l'étude du climat.

Elle agit sur les répartitions d'eau qui s'opèrent par le phénomène de l'évapotranspiration.

Elle dépend de l'obscurité, de l'altitude, de l'exposition, de la présence d'une grande masse d'eau (l'influence des mers et des lacs sur la régulation des températures), du sol, des formations végétales en place (Faurie et al,1983).

L'étude des températures moyennes mensuelles et annuelles est primordiale, car c'est elle qui nous permet d'évaluer le déficit d'écoulement des bassins versant (Emsalem,1986 , Viers, 1986). Celles qui caractérisant les régions d'étude sont représentées dans la figure4.

L'étude des températures moyennes mensuelles et annuelles est primordiale, car c'est elle qui nous permet d'évaluer le déficit d'écoulement des bassins versants (Emsalem,1986 , Viers, 1968).Celles qui caractérisent les régions d'études représentent dans la figure4.

I-6-2-Les précipitations :

Avec la température, les précipitations représentent les facteurs les plus importants du climat. La quantité d'eau dont dispose la végétation dépend des pluies , de la neige , de la grêle, de la rosée, de la gelée blanche , des brouillards et des brumes, mais aussi de l'évaporation et de la porosité du sol (Faurie et *al.*1983).

Ces divers types de précipitations sont le plus souvent mesurés par le pluviomètre usuel. Elles représentent l'épaisseur de la couche d'eau qui resterait sur une surface horizontal s'il n y avait ni écoulement, ni évaporation (Dajoz,1985) (fig4).

I-6-3-L'humidité :

C'est la quantité de vapeur d'eau contenue dans 1m^3 d'air, exprimée en gramme (g), ou bien la tension de la vapeur d'eau contenue dans l'air exprimée en mm de mercure (mmhg) (Emsalem,1986).

Elle dépend de plusieurs facteurs , de la quantité d'eau tombée, du nombre de jours de pluie, de la forme de ces précipitations (orage, ou pluie tine), de la température, des vents et de la morphologie de la station considérée (Dajoz,1985 ;Bagnouls et Gaussen,1953).L'humidité relative en % est indiquée sur la figure4.

I-6-4-Les vents :

La direction du vent est indiquée par la girouette tandis que la vitesse est mesurée grâce à un anémomètre (Faurie et *al.*1985).

Les vents les plus dominants sont de direction Sud-Ouest et Ouest avec une vitesse variant entre 3,9 et 4,9 m/s. Cependant, peut ont certaines journées, nous pouvons enregistrer des vents qui peuvent atteindre des vitesses de 24 à 50 m/s avec une fréquence de 3 à 7 jours/mois.

Le vent du sud est (sirocco) sont secs et chauds, le maximum de sa fréquence est atteinte , généralement entre, les mois de juin et juillet (de 3 à 5 jours/mois). En revanche les vents ouest soufflent surtout en hiver apportant des pluies à la région.(fig4).

Les données climatiques récoltes sur une période de trente zones, nous font ressortir les caractéristiques suivantes :

* La température maximal du mois le plus chaud est enregistrée pendant le mois de juillet (soit 34.7°C).

* La température minimale du mois le plus froid est enregistrée pendant le mois de janvier et février est 1.4°C.

* Les précipitations annuelles enregistrés équivaux à 415.2 mm.

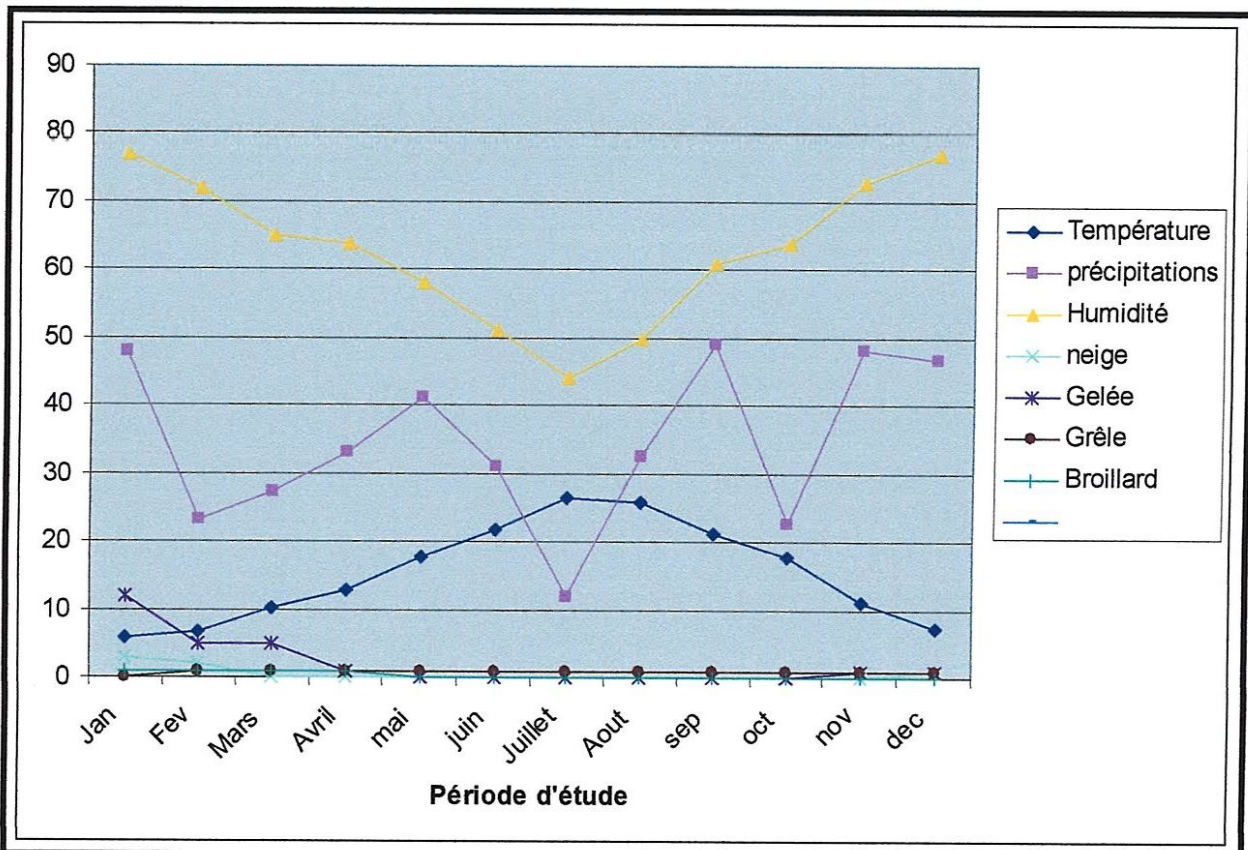


Fig.4 . Donnés climatiques de la région d'Oum El-Bouaghi (1974-2004)

I-7-Synthèse climatique :

Selon **Emberger** (1963), la région méditerranéenne est subdivisée en cinq étages bioclimatiques. Pour déterminer l'étage de la zone d'étude, nous avons procédé au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger (Q_2) sur une même période allant de 1974 à 2004 d'après la formule suivante

$$Q_2 = \frac{1000.p}{\frac{(M+m)(M-m)}{2}}$$

D'où :

M : moyenne du maxima du mois le plus chaud ($M=34.7=305.9K$)

m : moyenne du minimum du mois le plus froid ($m=1.4c^{\circ}=273.8K$).

P : précipitations moyennes annuelles.

D'où : Q_2 de la station d'étude est égale à =31.05.

Cette valeur rapportée sur le climagramme d'Emberger permet de classer la région d'Oum El Bouaghi dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais (Fig 5)

L'expression graphique du diagramme de Bagnouls et Gausson (1953) sert à mettre en évidence une éventuelle période de sécheresse. Elle fait intervenir deux facteurs : la températures et les précipitations.

La Figure A3 permet de mettre en évidence une période sèche qui s'étale entre les mois de juin et d'octobre (Angot, 1981 , Emberger, 1971).

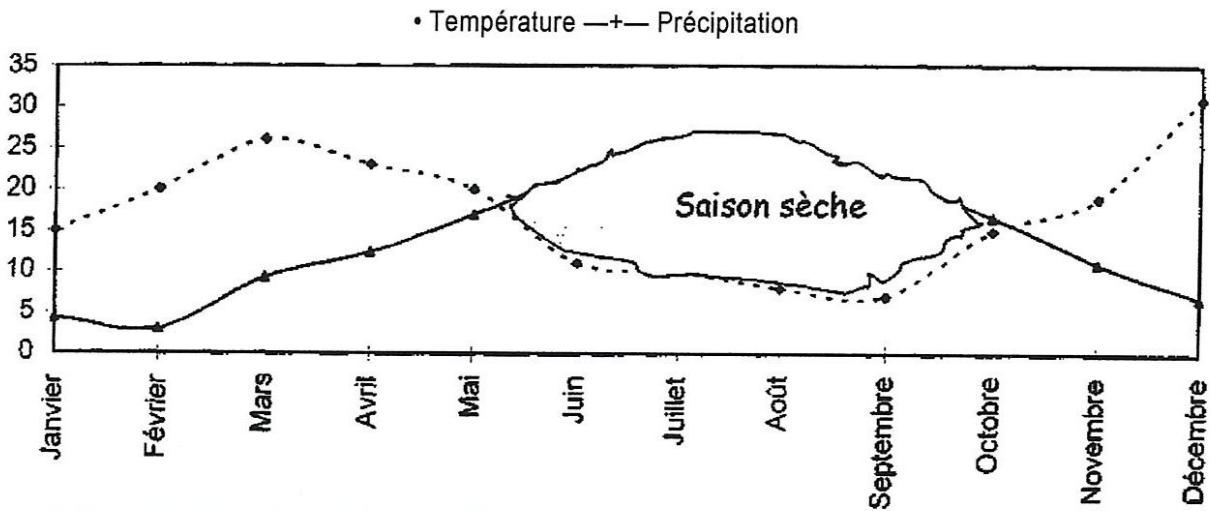


Fig .5. Diagramme ombro-thermique de la région d'Ourkhis (1974-2004)

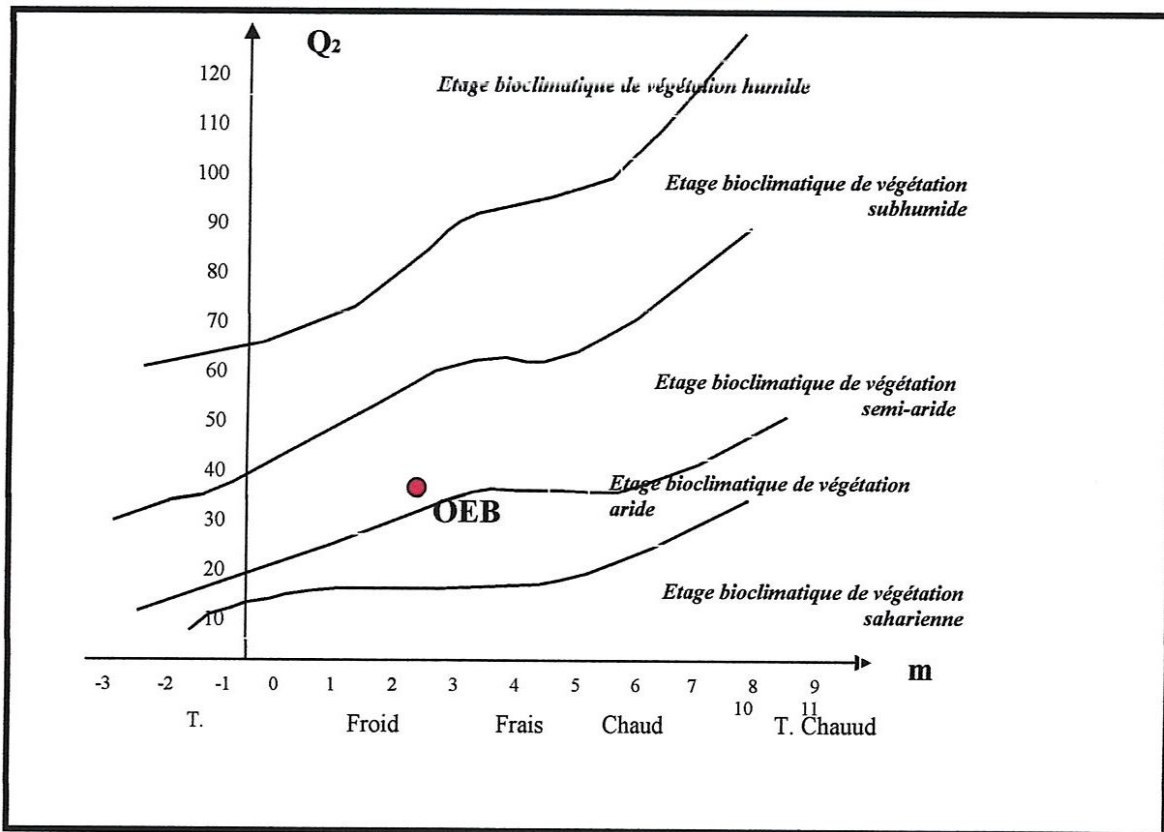


Fig .6 . la situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climagramme d'Emberger (Long 1974 in De Belair, 1990).

Chapitre 2

Chapitre II : Matériel et Méthodes**II-1-Origine de prélèvement :**

L'examen bactériologique commence au prélèvement, une mauvaise réalisation de ce dernier peut conduire à des résultats sans valeur ou interprétables.

En effet, l'eau est toujours, ou presque, un matériel multi microbien , et la stérilité d'un tel prélèvement est illusoire et inutile. Par contre, elles peuvent contenir, tout comme d'autres produits pathologiques, des germes redoutables (Salmonella, bacilles dysentériques, vibron cholérique) dont il faut savoir se protéger.(Rodier,1996)

II-2-Mode de prélèvement :

L'eau est prélevée dans des flacons en verre stérile à 30 cm de profondeur.

II-3-Dénombrement des bactéries :

Plusieurs méthodes de dénombrement sont connues :

II-3-1-La colimétrie (NPP) :***Principe :**

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organisme supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (loi de poisson). Les bactéries se multiplient librement dans l'ensemble du milieu inoculé vire à la « positivité » (indiqué par le virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de la prise d'essai.

La précision s'accroît avec le nombre de repli cants par dilution si bien que les microplaques de 12x8 puits sont très bien adaptées à la méthode. Celles –ci permet, en fonction du nombre de tubes ou puits « positifs » dans chaque série, d'indiquer la valeur statistique la plus probable : « nombre le plus probable » (Rodier,1996). (Rodier,1996)

***Méthodologie :**

En pratique, on ensemence des dilutions successives de l'eau à analyser dans le milieu BCPL $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$ à raison de 3 5 tubes de milieu de culture liquide par dilution (jusqu'à 96 puits en cas de manipulation en microplaque). On notera le nombre de tubes inoculés présentant une culture visible indiquant la présence d'au moins un micro-organisme. Il s'agit d'une méthode à réponse quantique et non de type énumératif (comptage de colonies). Il doit être tenu compte que si l'absence de culture correspond à l'absence de micro-organismes, plus d'un micro organismes peut être responsable d'une culture positive. (Rodier,1996)

***Interprétation des résultats :**

L'interprétation des résultats est basée sur des données statistiques. Des tables élaborées par Mac Grady donnent pour chaque nombre caractéristique le nombre de cellules le plus probable (NPP) dans 1 ml du tube ayant servi à ensemencer le tube de culture correspondant au premier chiffre du nombre caractéristique. La concentration de départ est calculée en tenant compte des dilutions effectuées (Rodier, 1996).

II-3-2-Recherche d'E.coli :

Prendre 2 à 3 gouttes du milieu BCPL positif et les inoculer dans des tubes Shubert avec cloche de Durham. Le milieu est enrichi en mannitol qui représente la seule source de carbone et d'énergie.

-Incuber à 44°C pendant 24 à 48 h.

-Après incubation, ajouter 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. Une réaction positive se traduit par la formation d'un anneau rouge en surface (Rodier, 1996).

II-4- Recherche des bactéries :**II-4-1-L'isolement :*****Définition :**

Ensemencement effectué dans un but de séparation, de façon à obtenir à partir des bactéries présentes des colonies nettement distinctes.

On isole une bactérie pour l'obtenir en culture pure.

II-4-2- Matériel et méthodes :***Préparation de la boîte de pétri**

-Fondre les milieux de cultures solides, XLD, ENDO, BGA et MAC-CONKEY au bain-marie bouillant (100°C). verser stérilement une quantité suffisante dans chaque boîte de pétri.

-Après solidification complète retourner les boîtes afin d'éviter la formation de gouttelettes d'eau.

*** Ensemencement :**

A l'aide d'une anse de platine, préalablement flambée et refroidir, on prélève une quantité de selles, qu'on dépose à la surface du milieu, puis on réalise un ensemencement par la méthode des stries. Les boîtes de pétris sont mises à l'incubation durant 24 heures à 37°C.

II-4-3-Etude des caractères culturaux :

L'isolement d'une espèce bactérienne appartenant à la famille des Entérobactériaceae et aux bacilles Gram-négatifs apparentés doit tenir compte de la diversité des germes et de la complexité de leurs caractères biochimiques, d'où l'intérêt d'une orientation possible dès la primo culture.

En conséquence, il existe un très grand nombre de milieux d'isolement pour Entérobactéries, dont le choix est motivé par la nature ou l'origine du produit à étudier et l'identité des bactéries recherchées ; d'où l'utilisation des milieux sélectifs pour Entérobactéries et coliformes (XLD, ENDO, BGA et Mac-Conkey).

II-4-4-Etude macroscopique :

Noter soigneusement les caractères macroscopiques des colonies après culture aspect, texture, couleur, l'odeur...

II-4-5-Etudes microscopiques :

L'examen microscopique apparaît la première étape de l'étude d'une bactérie.

III-4-5-1-examen à l'état frais :

L'examen à l'état frais permet l'observation des bactéries vivantes en l'absence de toute fixation ou coloration.

- La morphologie des bactéries.
- leur mode de regroupement.
- Et surtout leur mobilité.

***Technique :**

- Prélever à l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie ; une goutte de la culture bactérienne qu'on dépose au milieu d'une lame propre.
- recouvrir avec une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.

II-4-5-2-examen après coloration :

L'examen après coloration est indispensable à l'étude précise de la morphologie, voire de la structure des bactéries.

Par ailleurs, les préparations colorées peuvent se conserver longtemps et ce sont les seuls à donner des résultats valables en microscopie optique.

***Préparation des frottis :**

Les frottis destinés à la coloration doivent être étalés en couches minces et régulières, séchés et le plus souvent fixés.

***Coloration simple au bleu de méthylène :**

-réactif : Bleu de méthylène.

-Technique :

- Recouvrir le frottis sèche et fixé avec le Bleu de méthylène.
- laisser agir de 1 à 3 minutes selon la force de la solution colorante.
- laver puis sécher délicatement avec un papier filtre fin.
- Examiner à l'immersion (x 100).

***Coloration de Gram :**

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classifier. Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

Réalisation de la coloration :

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :

- Coloration par le Violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
- Mordançage au Lugol :étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; rincer à l'eau déminéralisé. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.
- Décoloration (rapide) à l'alcool + (acétone): verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée;
- Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.

Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000). (site1)

II-5- Etude des caractères biochimiques :**II-5-1-Realisation d'une galerie biochimique classique :**

Elle est composée de six milieux, trois milieux solides et trois autres liquides.

***Les milieux liquides :**

L'ensemencement s'effectue de la façon suivante :

-prélever une colonie sur milieu gélosé à l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie.

-Inoculer dans le bouillon, et incubé à 37 °C pendant 24 heures.

II-5-1-1-Recherche de la nitrate-réductase :

La réduction des nitrates se cherche habituellement par la mise en évidence des nitrites dans une culture de bouillon nitraté.

Si la réaction est négative ; deux éventualités :

1- les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites, mais la réduction s'est poursuivie jusqu'au stade ammoniacal et azote gazeux.

2-les nitrates n'ont pas réduits, et se trouvent encore dans le bouillon. Dans ce cas ; si on réduit chimiquement par la poudre de zinc les nitrates en nitrite, la réaction colorée apparaîtra.

Technique :

- A 1 ml d'une culture de 24 heures en bouillon nitraté, ajoutée une goutte des réactifs de Griess.

-Mélanger.

1-si le milieu devient rose rouge (présence de nitrites) la culture est nitrate réductase positif.

2- si le milieu reste incolore (absence de nitrites) ; ajouter une pincée de zinc, mélanger puis laisser reposer en observant l'apparition éventuelle de la coloration.

*si une teinte rouge apparaît, les nitrates n'ont pas été complètement réduits au stade nitrite ; la réduction des nitrates en azote gazeux. Les bactéries sont nitrate réductases positives.

II-5-1-2-Recherche de l'acétone :

La réaction décrite par Voges et Proskauer (1898)-réaction dite de VP- ; permet de déceler dans les cultures microbiennes la présence d'acetyl-carbinol (AMC), encore appelée acétoïne, métabolite intermédiaire d'une fermentation particulière dite fermentation butylène-glycoliques qui prédomine chez certaines bactéries.

L'AMC est un dérivé non réversible du pyruvate, c'est un acetone-alcool en C4 qui provient des pyruvates après passage de l'acetoctate.

La culture se fait dans le milieu Clarck et Lubs, incubé après inoculation pendant 24 heures à 37 °C. l'acétoïne est mise en évidence par addition de VPI et VP II, la réaction positive se manifeste par l'apparition d'une couleur rouge.

***Test au rouge de Methyl (RM) :**

Clark et Lubs ont utilisé (1915) le RM comme indicateur de PH (rouge au dessus de PH 4.2 et jaune au dessus de PH 6.3) dans un milieu de culture glucosé pour différencier parmi les Enterobactéries, les forts producteurs d'acide (RM^+) des faibles producteurs (RM^-).

Ce test, qui complète le précédent, permet de distinguer les Entérobactéries à fermentation butanediolique (RM^-) de celles qui ont simplement une fermentation acide mixte (RM^+).



Aspect du test négatif

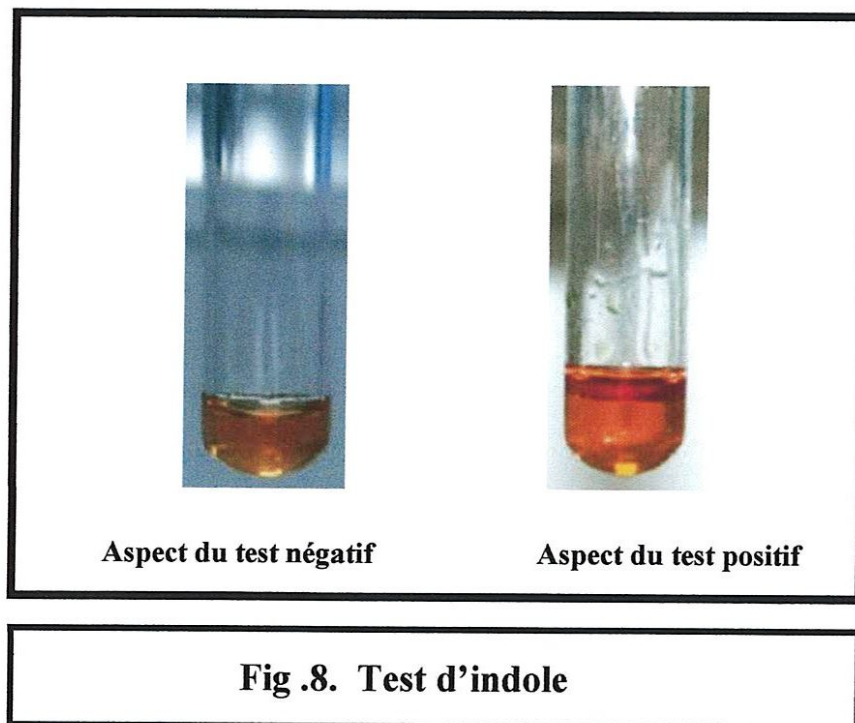
Aspect du test positif

Aspect du test positif

Fig .7. Test du rouge de methyl et Voges proskauer

II-5-1-3-Recherche de l'Idole :

On recherche la production indole par les bactéries dans des cultures de 24 heures en eau peptonée. Son apparition se traduit par une coloration rouge (anneau rouge à la surface) en présence du réactif d'Ehrlich Kovacs. L'indole provient de la dégradation du tryptophane sous l'action de la tryptophanase.



*** Les milieux solides :**

a) Utilisation du Citrate :

les milieux au Citrate servent au diagnostic de nombreuses bactéries. Le catabolisme des citrates nécessite l'action d'enzymes du cycle de krebs : aconitase, isocitrico, deshydrogenase... ect....

Il faut aussi que la bactérie possède une citrate perméase permettant le franchissement par les citrates de la membrane bactérienne.

Le principe de l'épreuve est de placer le germe en milieu pauvre comportant une seule source d'énergie ; « le citrate de sodium ».

Seuls les germes équipés pour réaliser le cycle de krebs peuvent assurer leur multiplication.

Pour l'ensemencement, opérer de la façon suivante :

- A l'aide d' un fil de platine : préalablement flambé et refroidi, on effleure la culture présente sur le milieu solide où la bactérie a été isolée (gélose nutritive), on ensemence en ligne centrale sur le milieu de Simmons qu'on incube à 37 °C pendant 24 heures.

Lorsque le test est positif il y a alcalisation, le milieu devient bleu.

b) Estimation de la mobilité :

Ensemencer le milieu mannitol-mobilité par piqûre centrale.

Ce milieu permet d'apprécier à la fois la mobilité d'une bactérie et la fermentation du mannitol.

On incube à 37 °C pendant 24 heures.

C) Utilisation des hydrates de carbone :

Le milieu triple sugar iron (TSI) est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries, il permet de mettre en évidence :

-la fermentation du saccharose, du glucose (avec ou sans production de gaz) et plus précisément du lactose..

-la production d'hydrogène sulfureux (H₂S) à partir de la cystéine : acide aminé soufré.

-L'ensemencement du milieu s'effectue par stries tout le long de la pente, puis par piqûre centrale au niveau du culot.

-l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

B) Test de Mackenzie :

Une ose bouclée du contenu du tube gazogène (milieu de Schubert) est inoculée dans un tube de bouillon lactosé au bromocrésol pourpre muni d'une cloche, ainsi qu'un tube d'eau peptonée. Ces tubes sont placés aussi dans un bain-marie à la température de 44 °C.

Après 48 heures on note l'existence ou l'absence de gaz dans le premier tube, puis on recherche l'indole dans le second.

C) Identification biochimique par l'emploi du système API 20^E :

L'API 20^E est un système micro tests prêts à l'emploi, qui permet la réalisation de 23 tests biochimiques en partant d'une seule colonie prélevée sur une boîte de pétri. (Lebres, 2002)

*** Principe :**

La galerie API 20E comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés ; la suspension bactérienne répartie dans les tubes dissout les substrats. Les métabolites produits sont mis en évidence par des réactions colorées, ou par addition de réactifs après 24 heures d'incubation à 37 °C.

1) Matériels et méthodes :**a) Matériel et méthodes :**

- souches d'E.coli.
 - Galerie API 20^E.
- b) Mode opératoire :

***préparation de l'inoculum :**

Réaliser une suspension bactérienne, en prélevant à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie (sur gélose nutritive) et la déposer dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau distillée stérile sans additif.

***préparation de la galerie :**

- Préparer une boîte d'incubation (fond et couvercle)
- répartir environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles du fond de la galerie, dans le but de créer une atmosphère humide.

***Inoculation de la galerie :**

- Remplir tubes et cupules avec la suspension bactérienne, des tests : CIT, VP, GEL
- Remplir uniquement les tubes pour les autres tests.
- Remplir les cupules avec l'huile de paraffine pour les tests ; ADH, LDC, URE, H₂S afin de créer une anaérobiose.
- Refermer la boîte d'incubation et placer à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture :

Après incubation, noter toutes les réactions spontanées. (tableau 5)

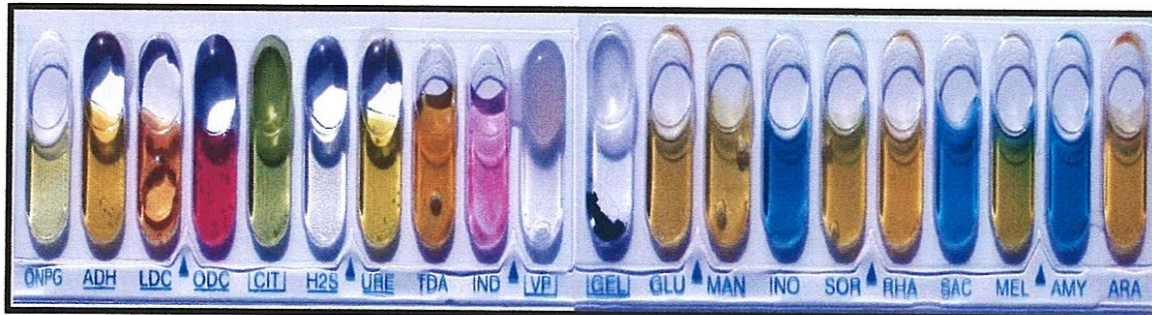


Fig. 9. Galerie Api 20E

D) recherche des caractères biochimiques complémentaires :

***Recherche de la catalase :**

***principe :**

La réduction chimique des coenzymes flaviniques et FAD et FMN produit du perhydrool ou eau oxygénée ; celui-ci est décomposé par l'intermédiaire d'une catalase, car toxique pour la cellule à cause de l'oxydation des groupements SH libres des enzymes.

***Technique :**

Sur une lame propre, on réalise une suspension dense à partir d'une culture sur pente gélosée, et on rajoute 2 à 3 gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes. La présence du catalase se traduit par l'émission plus ou moins importante de gaz (oxygène).

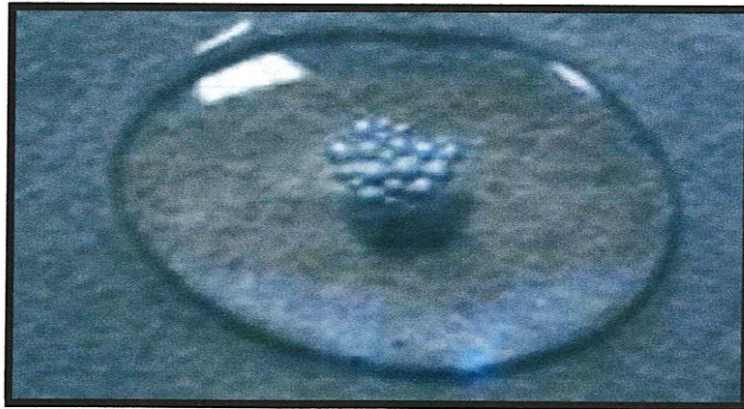


Fig .10.Aspect du test du catalase positif

***recherche de la B-galactosidase :**

-Principe :

La bactérie est cultivée pendant 24 heures sur un milieu lactosé à 1 (milieu de Kligler). On prépare une suspension bactérienne épaisse dans 0.5 ml d'eau distillée contenue dans un tube à hemolyse. La paroi bactérienne est rendue perméable par adjonction d'une goutte de toluène. Puis on rajoute au contenu du tube un disque ONPG (orthonitro-phenyl *B*-D- galacto-pyranoside). En présence de B-galactosidase, l'ONPG est hydrolysé en orthonitrophenol de couleur jaune et en galactose.

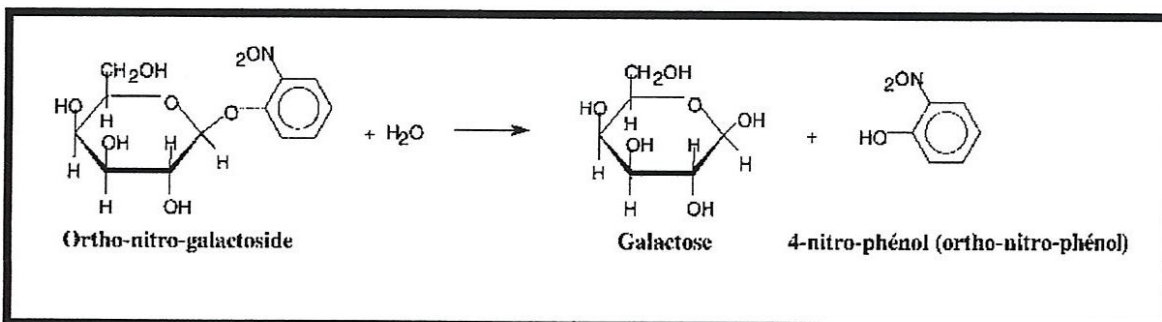


Fig.11. Test de la B-galactosidase

La coloration apparaît généralement après 15 à 30 minutes à 37 °C. les tubes présentant une réaction négative seront observés à nouveau au bout de deux heures, trois heures et 24 heures d'incubation.

*** Recherche de l'oxydase :**

-Principe :

On entend le plus souvent sous le terme imprécis « d'oxydase », enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction la recherche de la phénylène-diamine-oxydase qui agissent sur un substrat incolore entraîne la formation d'une semi-quinone rouge. Cette dernière, très instable s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre.

Technique :

Déposer sur une lame propre un disque d'oxydase ; qu'on imbibe avec une goutte d'eau distillée stérile.

Prélever une colonie d'E.coli à l'aide d'une pipette Pasteur scellée, l'étaler sur le disque.

Dans le cas des bactéries oxydase-positives ; une coloration violet foncée apparaît immédiatement puis s'intensifie vers le noir.

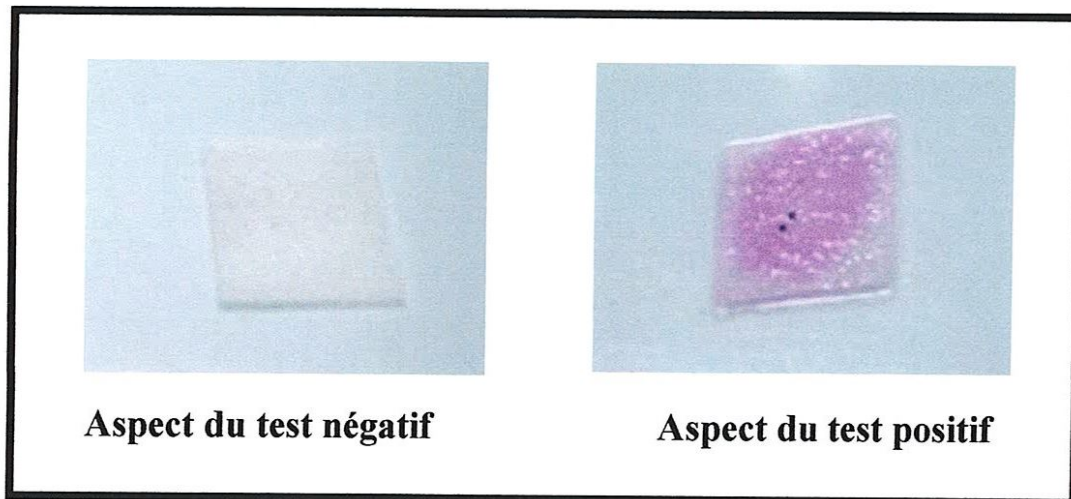


Fig. 12. Test d'Oxydase

II-5-3-2-Identification des Candida pathogènes :

Les Candidoses sont des mycoses cosmopolites dues à des levures du genre *Candida* une seule est pathogène pour l'homme *Candida albicans*. Ces levures sont par ailleurs très répandues dans la nature et sont par ailleurs des saprophytes banals de la peau et des muqueuses chez l'homme. Elles font partie des champignons opportunistes qui deviendront pathogènes lors de modifications de terrain.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'identification du *Candida albicans* :

-Ensemencer à l'aide d'une anse de platine une goutte d'eau sur ½ Sabouraud et incuber à 37 °C pendant 24 heures.

-Après culture, réaliser un frottis et observer la forme des cellules.

Pour identifier *C. albicans* réaliser un test de filamentation qui consiste à mettre dans un tube contenant 0.5 ml de plasma, une colonie isolée du ½ Sabouraud

-Après 1 heure d'incubation à 37 °C à l'aide d'une pipette pasteur une goutte et observer au microscope, progressivement x40 ou x60.

Le test est considéré positif autrement dit ; identification de *C. albicans* si les cellules forment des bourgeons. (Buttiaux R.1996)

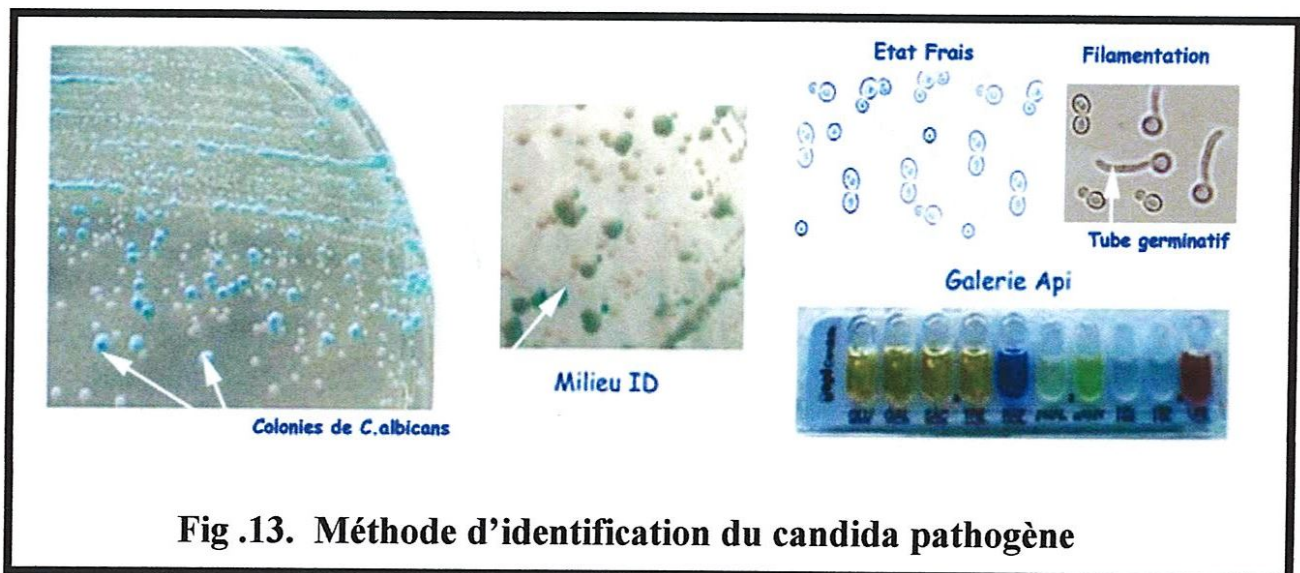


Fig .13. Méthode d'identification du candida pathogène

II-6- Détermination de la qualité physico-chimiques de l'eau :

II-6-1-La température (T °C) :

Il est très important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels, ect. En outre, cette mesure est très utile pour les études limnologiques et du point de vue industriel pour les calculs d'échanges thermiques. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profonde.(Leuclerc.1996).

La mesure de la température est utile pour les études limnologiques et du point de vue industriel pour les calculs d'échanges thermiques. D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profond.

La mesure de la température est effectuée sur terrain, il y a lieu de déterminer la température de l'air au même endroit et au même moment (Sadani,2005).

Cette dernière mesure doit s'accompagner des précautions habituelles en évitant le rayonnement direct du soleil et l'influence de la chaleur dégagée par l'opérateur. On utilise souvent dans ce but un thermomètre ou un multi paramètres. La lecture est faite après une immersion de 10 minutes. La moyenne de deux lectures donne la température de l'eau au moment de l'observation (Rodier,1996).

II-6-2-Le pH :

Le 2^{ème} paramètre important dans la qualité de l'eau est le pH, il nous indique la concentration en ions H_3O^+ dans l'eau, il conditionne l'agressivité, l'entartrage de l'eau également sa saveur (Staudard,1996).

En dit qu'une eau est neutre si le pH est égal à 7, une eau acide si le pH est inférieure à 7, est une eau basique si le pH est supérieure à 7.

Le pH est généralement mesuré par le pH mètre solitaire ou par un appareil multi paramètre.(Rodier,1994).

II-6-3-La conductivité électrique (CE) :

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm^2 de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm. Elle est l'inverse de la résistivité électrique.

La conductivité électrique d'une eau est généralement mesurée par un appareil multi paramètre et elle s'exprime en micro Siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$). (Rodier, 1996).

$$1 \text{ S /m} = 10^4 \mu\text{S/m.}$$

On peut définir les qualités de l'eau en fonction de la conductivité de la manière suivante :

- Conductivité de 50 à 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$Qualité excellente
- Conductivité de 400 à 750 $\mu\text{S}/\text{cm}$Bonne qualité

- Conductivité de 750 à 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$Qualité médiocre mais eau utilisable.
- Conductivité > de 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$Minéralisation excessive.

II-6-4-La salinité :

L'appareil utilisé pour la mesure est un salinomètre de précision de (0.003%) ou multi paramètres. Et les résultats sont exprimés en grammes de chlorure de sodium (Na Cl) par litre d'eau.

II-6-5-L'oxygène dissous :

L'oxygène, toujours présent dans l'eau, n'en est pas un élément constitutif. Sa solubilité est en fonction de la température ,e la pression partielle dans l'atmosphère et de la salinité. L'oxygène dissous conserve ses propriétés oxydantes, soit par des phénomènes électrochimiques, d'où son importance dans les phénomènes de corrosion. La teneur de l'oxygène dans l'eau dépasse rarement 10 mg/l.

Elle est fonction de l'origine de l'eau : les eaux superficielles peuvent en contenir des quantités relativement importantes proches de la saturation ; par contre les eaux profondes n'en contiennent le plus souvent que quelques milligrammes par litre. l'oxygène dissous d'une eau mesurée généralement par un appareil multi paramètre. (Rodier, 1994).

II-6-6-EH :

Le EH est le cologarithme de la pression d'équilibre d'hydrogène dans le milieu, caractérise l'aptitude de ce milieu à être réduit ou oxydé par un autre milieu ou un produit déterminé.

Ce potentiel n'est pas connu d'une façon absolue mais seulement par rapport à une électrode choisie arbitrairement, l'électrode à hydrogène. Pratiquement, le pouvoir réducteur d'une eau sera d'autant plus grand que EH du milieu étudié sera plus faible et inversement. Si le EH est compris entre 0 et 27, le milieu est considéré comme réducteur redox ne correspond pas à une égalité des concentrations en forme de 27,3-27,2 ou 20,5 ; la notion de neutralité redox est donc assez mal définie. En réalité, le pouvoir oxydant et le pouvoir réducteur sont des pouvoirs relatifs. Dans les stations d'épuration, le EH peut aider à contrôler les arrivées intempestives d'agents de réduction et d'oxydation susceptibles de perturber le traitement des eaux usées.

II-6-7-Les chlorures (CL) :

Parmi les méthodes préconisées, l'argentimétrie est utilisée pour les eaux relativement claires contenant de 0.15 à 10 mg/l de chlore dans l'aliquote.

La potentiométrie convient aux eaux colorées ou troubles pour lesquelles les virages colorimétriques peuvent être utilisés sans prétraitement en présence d'ions ferrique à condition que la teneur soit inférieure à la concentration en chlorures. Il en est de même pour les ions chrome, phosphate ferreux et les autres métaux lourds.

Dans notre travail on a utilisé la méthode de Mohr .

- **Méthode de Mohr :**
- **Principe :**

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

- **Réactifs :**

- solution de chromate de potassium à 10%.
- solution de nitrate d'argent 0.1N.

- **Mode opératoire :**

Introduire 40 ml d'eau à analyser , préalablement filtré, dans une fiole conique de 250 ml . Ajouter 3 à 4 de solution de chromate de potassium , ajouter 10 ml d'eau distillé .

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

- **Expression des résultats :**

Pour une prise d'essai de 50 ml :

$$\text{la teneur en chlorures g/l} = \frac{V \times 1000 \times M_{\text{Cl}^-} \times N_{\text{AgNO}_3}}{50(\text{prise d'essai})} \times D$$

V : le volume titré.

D : dilution

M_{Cl^-} : 35.5g/L

N_{AgNO_3} : 0.1-

II-6-8-Les nitrates (NO₃) :

Toutes les formes d'azote (azote organique, nitrites, etc.) sont susceptible d'être à l'origine des nitrates par un processus d'oxydation biologique ; les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniac soit d'une réduction des nitrates.

Dans les eaux naturelles non polluées, le taux de nitrates est très variable suivant la saison et l'origine des eaux, il peut varier de 1 à 15 mg/l et une concentration de 2 à 3 mg /l peut être considérée comme normale.(Rodier et al.1986).

La détermination des nitrates se fait à l'aide de spectrophotomètre ou d'un appareil récent qui est le photomètre (Staudard,1996).

- **Principe :**

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

- **Réactif :**

-solution de salicylate de sodium à 0.5 % à renouveler toutes les 24 heures.

II-6-9-Les ortho phosphates (PO_4^-) :

Le phosphore peut exister dans les eaux en solution ou en suspension, à l'état minéral ou organique. Les composés phosphorés qui, sans hydrolyse ou minéralisation, répondent au test spectrophotométrique sont considérés comme étant des orthophosphates. L'hydrolyse en milieu acide fait apparaître le phosphore hydrolysable et la minéralisation, le phosphore organique. Chaque fraction (phosphore en solution ou en suspension) peut être séparée analytiquement en orthophosphates, phosphore hydrolysable et phosphore organique. suivant les cas, la teneur en phosphates peut être exprimé en mg/l de PO_4 .

Sa présence dans l'eau n'a pas de conséquences sanitaires, en revanche elle favorise la croissance des algues dès que l'eau est exposée à la lumière : phénomène de l'eutrophisation. Les organismes tels les cyanobactéries se développent de façon très rapide, participant à l'eutrophisation et provoquant parfois un phénomène appelé « bloom algal ou fleur d'eau » extrêmement néfaste à l'équilibre du milieu.

La concentration maximal admissible en phosphore dans les eaux destinées à la consommation humaine est fixée à 5 mg/l.

- ✓ Erosion des sols agricoles enrichis en phosphore (P sous forme particulaire).
- ✓ Rejets d'assainissement, d'usines, de piscicultures (P dissous ou phosphate) (OMS,2000).

II-6-10-Les nitrites :

Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, la nitrification n'étant pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante. Une eau qui renferme des nitrites est à considérer comme suspecte car lui est souvent associée une détérioration de la qualité microbiologique.

Cependant, pour l'interprétation définitive des résultats, il sera nécessaire de tenir compte des teneurs en nitrates, en azote ammoniacal, en matières organiques et de l'examen bactériologique.

Pour les eaux destinée à la consommation humaine, l'OMS recommande une valeur guide provisoire de 3 mg/l (NO_2^-) et précise qu'il doit être tenu compte aussi de la concentration en nitrates de telle façon que la somme des rapports des concentrations (en nitrate et nitrites) par rapport à leurs valeurs guides respectives doit être inférieure à 1.

Dosage des nitrites :

Mettez dans chaque fiole 40 ml de l'échantillon puis ajouté 1 ml de réactif de diazotation on complète le volume jusqu'à 50 ml avec l'eau distillé après 2 minutes si en remarque une apparition de la couleur rose, alors en constatent que cette eau contient du nitrite , ensuite en fait la lecture au spectrophotométrie.

Chapitre 3

Chapitre III : Résultats et discussion**III-1- Les relevés climatiques de la période d'étude :**

Le graphique de l'évolution des précipitations mensuelles nous expose des variations de série (Fig14). Les précipitations les plus élevés ont été enregistrée durant le mois de janvier avec 47 mm et les plus basses ont été observé pendant le mois de juillet (12mm).

Du point des températures, le graphe 15 nous expose une évolution crue sienne en cloche, débutant avec la valeur la plus basse ($T=06^{\circ}\text{C}$) puis augmente progressivement pour attendre un maximum pendant la période , soit 26°C pendant le mois de juillet puis rechute continuellement pendant le mois de Décembre à 8°C .

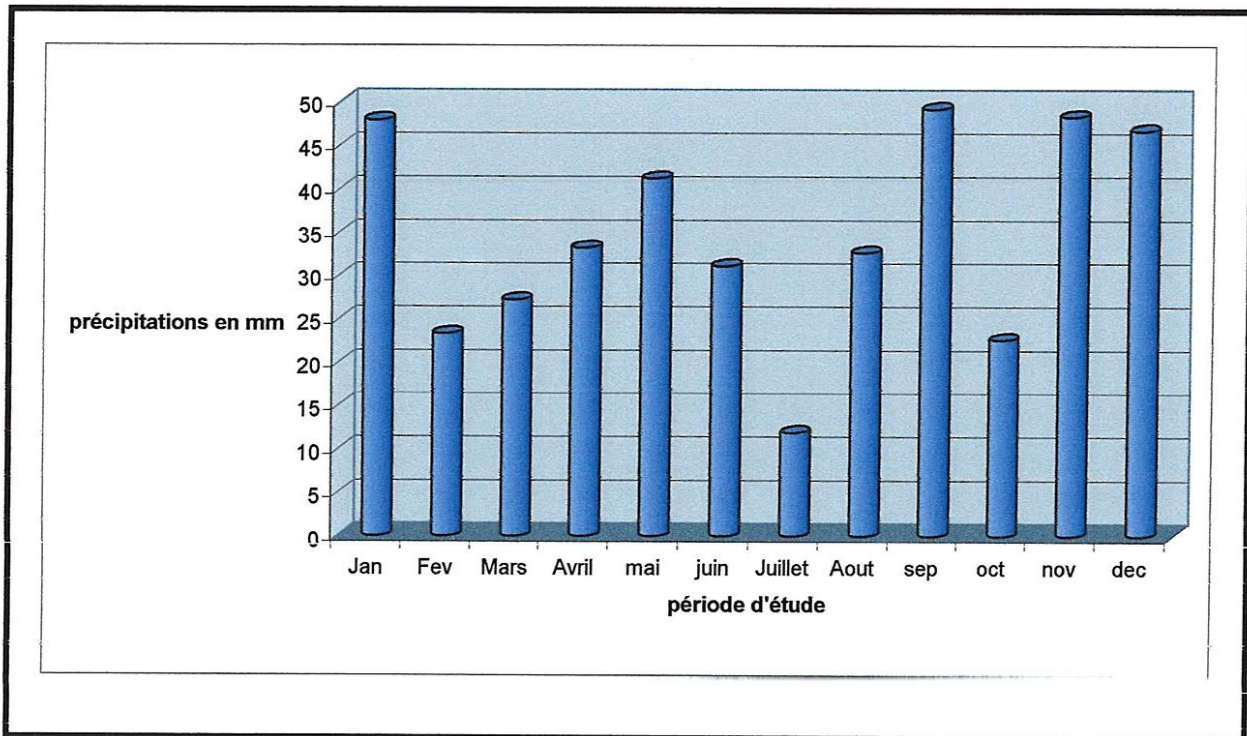


Fig. 14. Variations mensuelles des précipitations durant la période d'étude

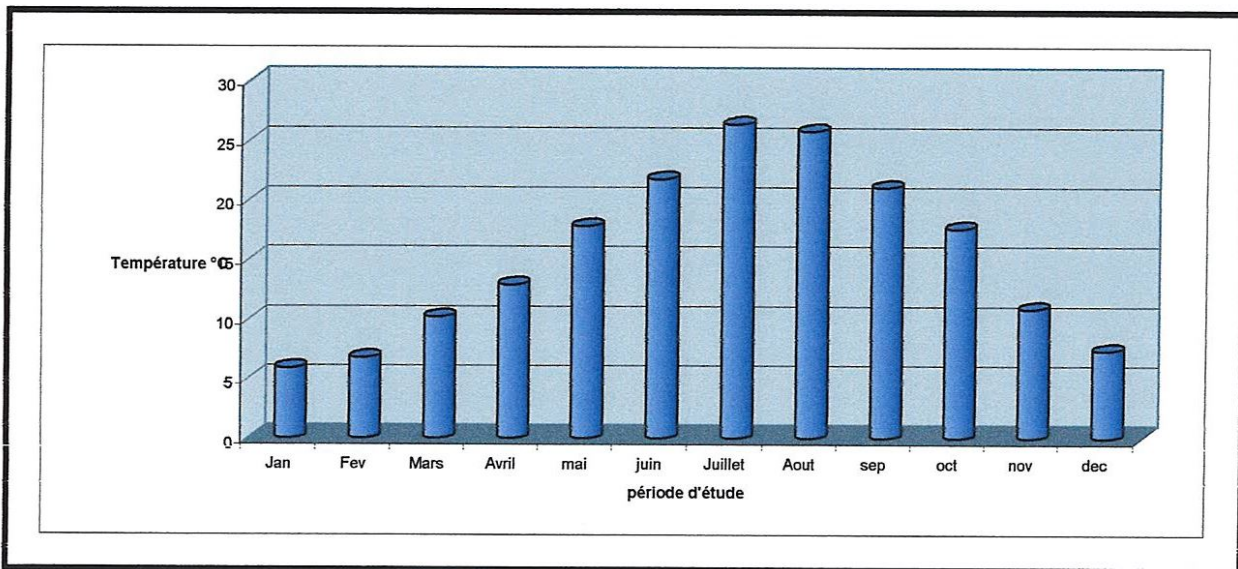


Fig. 15. Variations mensuelles des températures durant la période d'étude

III-2-Analyses bactériologiques :

Dans les milieux aquatiques, les micro-organismes tel que les bactéries, les moisissures, jouent un rôle important dans l'évolution de la qualité des eaux. En dehors de toute agression, leur nombre est naturellement faible, mais peut être modifié par plusieurs facteurs tels que la température, l'enrichissement du milieu en substances nutritives. (Sasson,1970).

Les analyses bactériologiques de l'eau de surface ont montré une grande variation des concentrations des bactéries. Ces dernières dépassent les normes internationales des eaux potables admissibles pour l'OMS mais inférieures aux normes des eaux destinées à l'irrigation, ainsi afin de comprendre ces variations nous avons suivi l'évolution des germes fécaux dans le site.

Six recherches bactériologiques dont deux dénombrements ont été effectués

III-2-1-Les germes totaux :

Dans notre étude, les dénombrements microbiens ont donné des nappes confluentes dans toutes les boîtes de Pétris et ceci pour tous les prélèvements. Ceci se traduit par la présence d'un effectif très élevé de germes banales et saprophytes qui vivent actuellement dans l'eau de l'écosystème étudié.

III-2-1-1-Les coliformes :

La présence de bactéries coliformes dans un milieu signifie forcément sa fréquentation nocturne par des animaux. Ces germes indiquent une contamination fécale (Leminar et Veron 1984, Ferron 1984) Fourgeois et al.1985). Dans notre étude, l'eau de la retenue s'est montrée pauvre en ces microorganismes. D'une manière générale, les valeurs obtenues varient entre 500 et 1000 bactéries/ml. Norme admissible pour l'irrigation (Mimouni 2006). Il est important de signaler que durant les mois de juillet et d'août 2007, suite à la chute de pluies fréquentes pendant cette période dans les milieux semi-arides, le ruissellement des terres semi agricoles enrichit l'eau de la retenue en éléments minéraux et organiques, à la survie des bactéries aquatiques. Leurs nombres ont augmenté considérablement et ont atteint des maximums de 3800 bactéries/ml. Il en est de même pour les mois de février et avril 2008.

III-2-1-2- Streptocoques fécaux :

Le nombre de Streptocoques D ou Streptocoques fécaux dans l'eau est étroitement liée à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans l'eau (Cuiraud al), (Sushery 1984). Ces bactéries très sensibles aux variations physico-chimiques du milieu (Lenard et al 1989) et à la présence de grandes concentrations des sels (NaCl, et MgCl₂) dans le milieu (Senz 1969, Simmons et Meurier 1970) n'ont pas été trouvés et isolés durant toute notre étude. Il semble que la nature saline de notre substrat pédologique a été la cause majeure pour enregistré leur prolifération et leur multiplication.

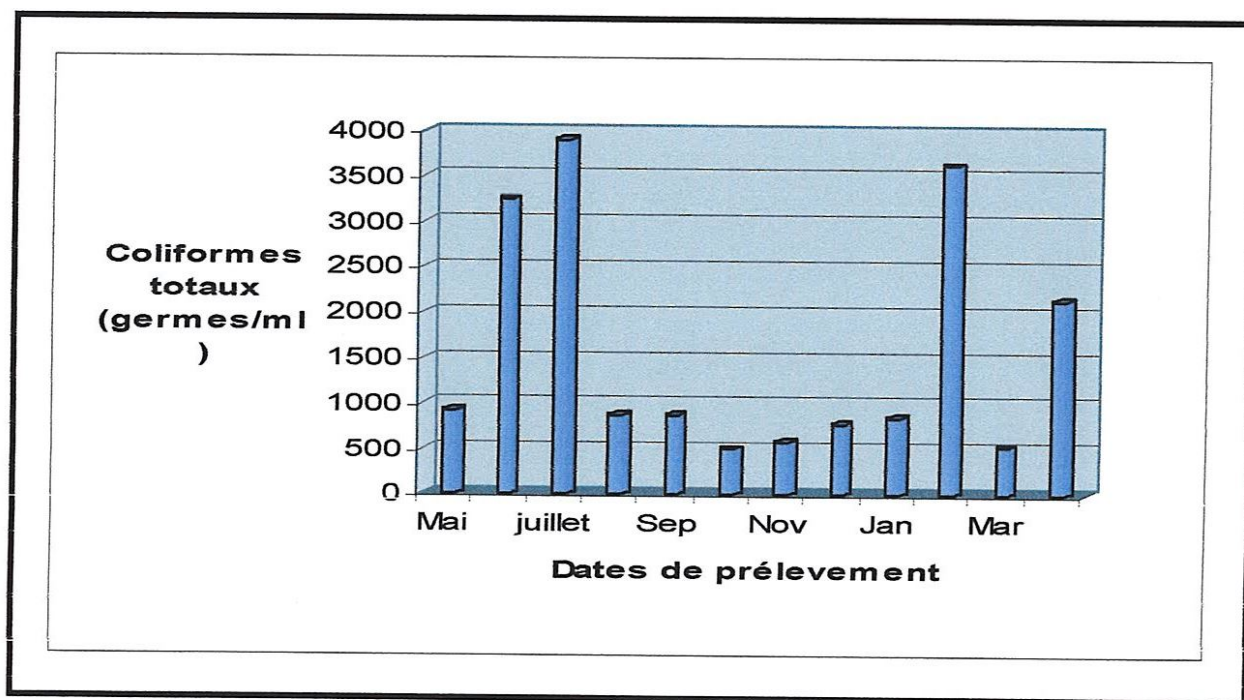


Fig.16. Evaluation des nombres de coliformes totaux

III-2-2- Recherche des bactéries :

La recherche bactériologique de germes pathogènes tel les bactéries anaérobies, les bactéries sulfatoréducteurs, les Selmonelle, les Shigelles et les Vibriion cholériques s’ont montré négative. Ceci est due principalement à la nature saline des substances pédologiques.

Ces bactéries sont extrêmement pathogènes et peuvent causer de nombreuses maladies qui peuvent se transmettre par l’eau et que nous qualifion de MTH : maladie à transmission hydrique.

Tableau1 : Liste des espèces bactériennes isolés de la retenue collinaire :

Mai	Juin	juillet	Aout	Sep	O ct	No v	De c	Ja n	Fe v	Mars	Avril
Ech1 : Citrob acter Ech2 : E.coli Ech3 : Serrati a Ech4: E.coli	Ech1:E. Coli Ech2:E.c oli Ech3:E.c oli Ech4:E.c oli	Ech1:E. coli Ech2:E. coli Ech3:E. coli Ech4:E. coli	Ech1:citrob acter Ech2:absce nce Ech3:absce nce Ech4:absce nce	Presen ce d E.coli	-	-	-	-	-	-	Ech1 :Citro bacter Ech2 :E.col i Ech3 :E.col i Ech4:E.coli

III-3-Analyses physico-chimiques :

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de la retenue collinaire effectuée durant toute la période d'étude, nous ont montrés des taux et des valeurs très variables dans le temps. Certains sont cependant largement supérieurs aux normes admissibles pour l'agriculture et pour la consommation humaine.

III-3-1-La température :

La température de l'eau est liée à la température ambiante (Rodier,1996) celle-ci est largement élevée pendant la période d'étude avec un maximum enregistré pendant le mois d'Août ($T^{\circ}=29^{\circ}\text{C}$). ces valeurs chute des le mois de Septembre pour se réduire à 4°C noté pendant le mois de Février puis augmente légèrement ce facteur influence directement la vie et la croissance des bactéries et des autres microorganismes dans l'eau (Berche et al.1989,Larpen et Larpen.1970 et Larpen.1985)

La majorité des espèces microbiennes sont cependant micropyles et préfèrent des températures allant de 10 à 45°C (Gontcharoff1971, pévot 1977, Faurie et al.2003)

sur le développement des microorganismes, particulièrement les bactéries, et du point de vue physico-chimique, elles sont influençait directement par l'évapotranspiration, ce qui favorise la minéralisation et l'augmentation des concentrations des éléments dans l'eau. (S.M.O.E.B, 2006). (Fig18).

III-3-2-Le potentiel d'hydrogène (PH) :

Le PH est aussi un facteur important qui influence directement sur la prolifération des microorganismes dans l'eau. (Bejob et al.1981).Ces dernères vivent normalement à PH voisins de la neutralité (Simmons et Meunier.1970, Leclerc et al.1983)L'eau de la retenue collinaire de Ain Fakroune a présentée pendant toute la durée de l'étude des valeurs de PH proches de 7 ; excepté pendant la période des chaleurs, ou ce PH atteint des valeurs dépassant le seuil de 8 (Fig 18) et pendant le mois de Janvier ou le PH mesuré diminue légèrement 5,9.

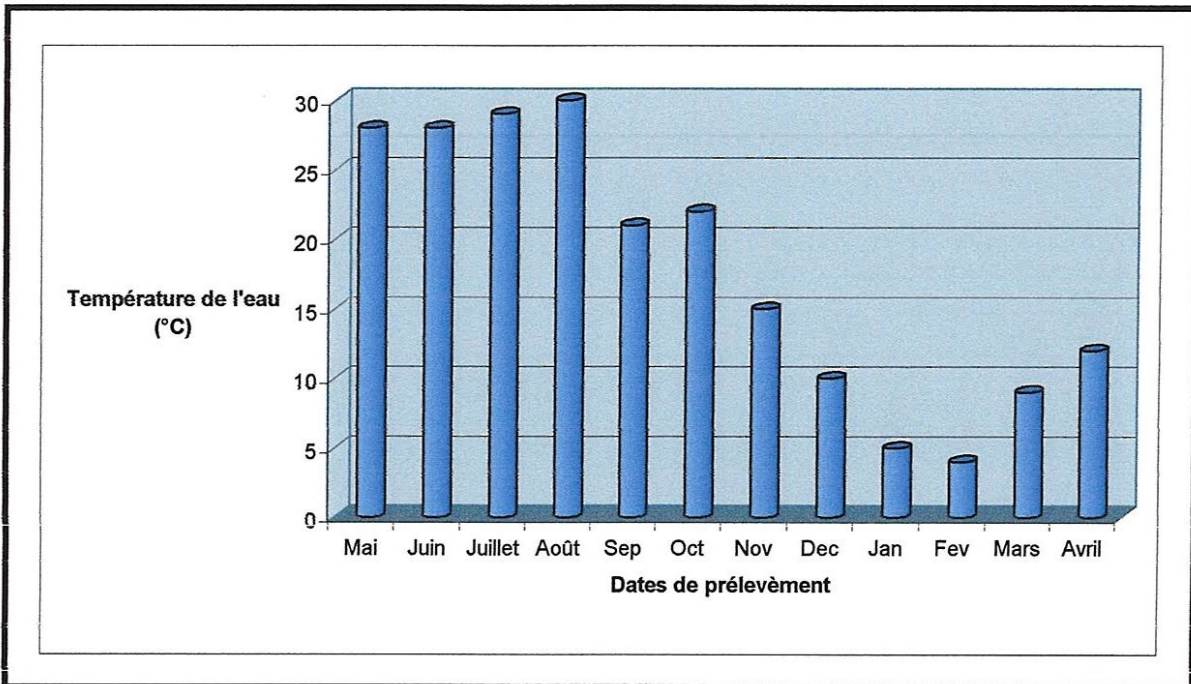


Fig. 17. Variations des températures de l'eau de la retenue collinaire

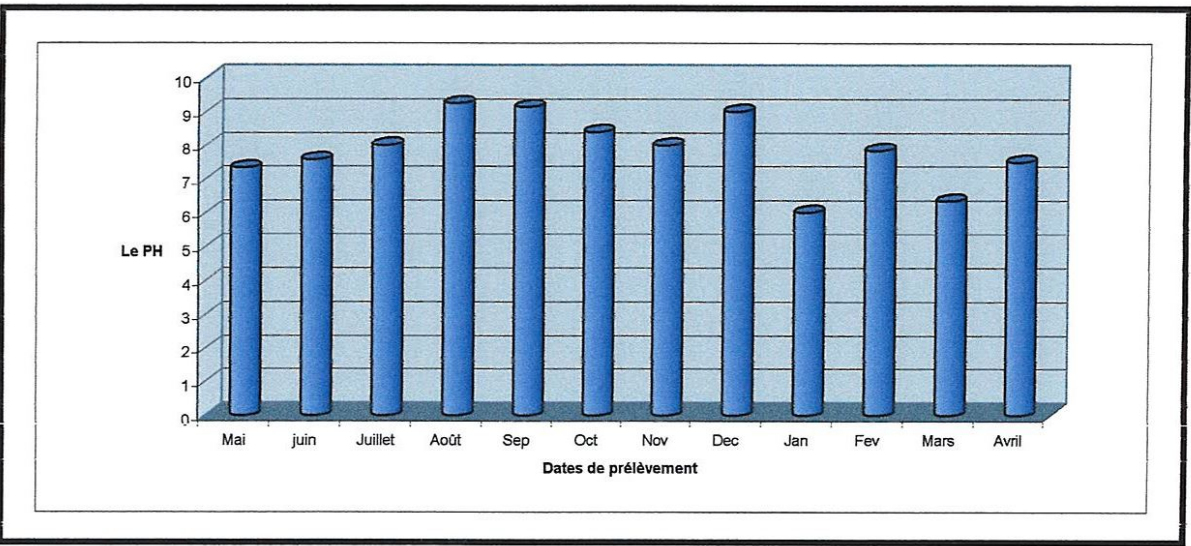


Fig.18. Variations de PH de l'eau de la retenue collinaire

III-3-3-La conductivité électrique (CE), la salinité et le TDS :

Ces valeurs vérifiant une minéralisation élevée dont l'origine principale sont les rejets des eaux usées des villages accroissance la retenue. Le des terres agricoles est aussi d'une grande importance (Debeiche 2002).

Les graphiques de ces trois paramètres exposent des allures plus ou moins similaires dont les valeurs les plus élevés sont enregistrés durant la période estivale. (Fig 19.20.21). les valeurs minimales sont cependant notés pendant les mois de Janvier, Février, et Mars.

D'une manière générale l'eau de cette retenue peut être classé comme eau à excessivement minéralisée (Rodier 1996)

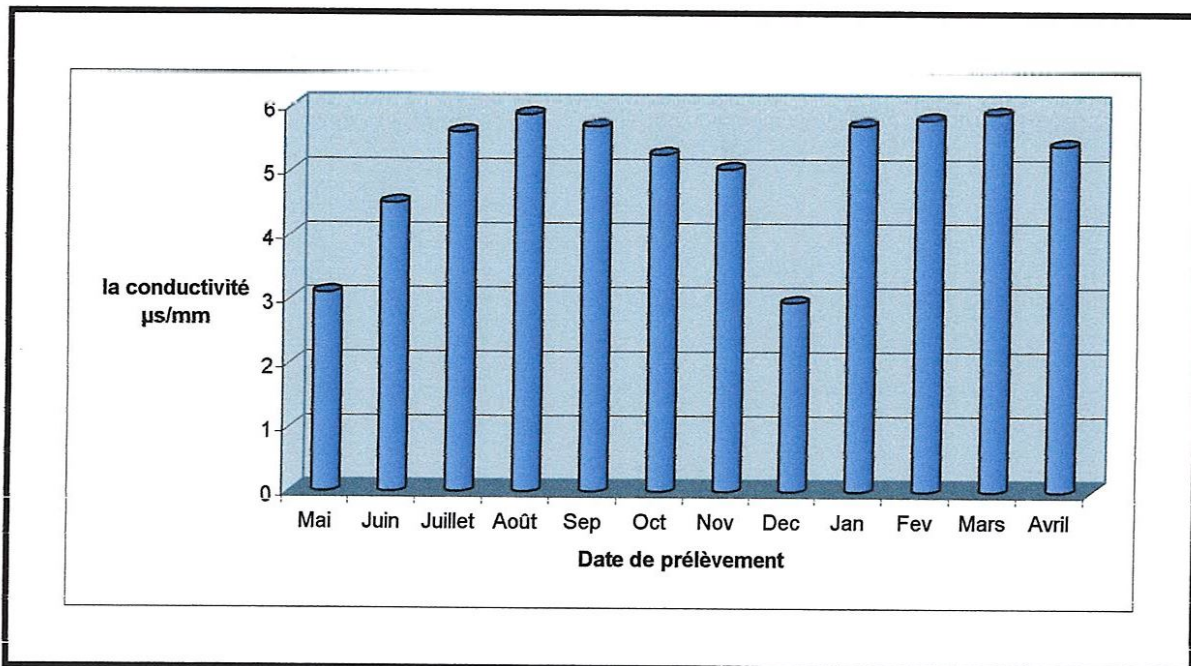


Fig. 19. Variations de la conductivité de l'eau de la retenue collinaire

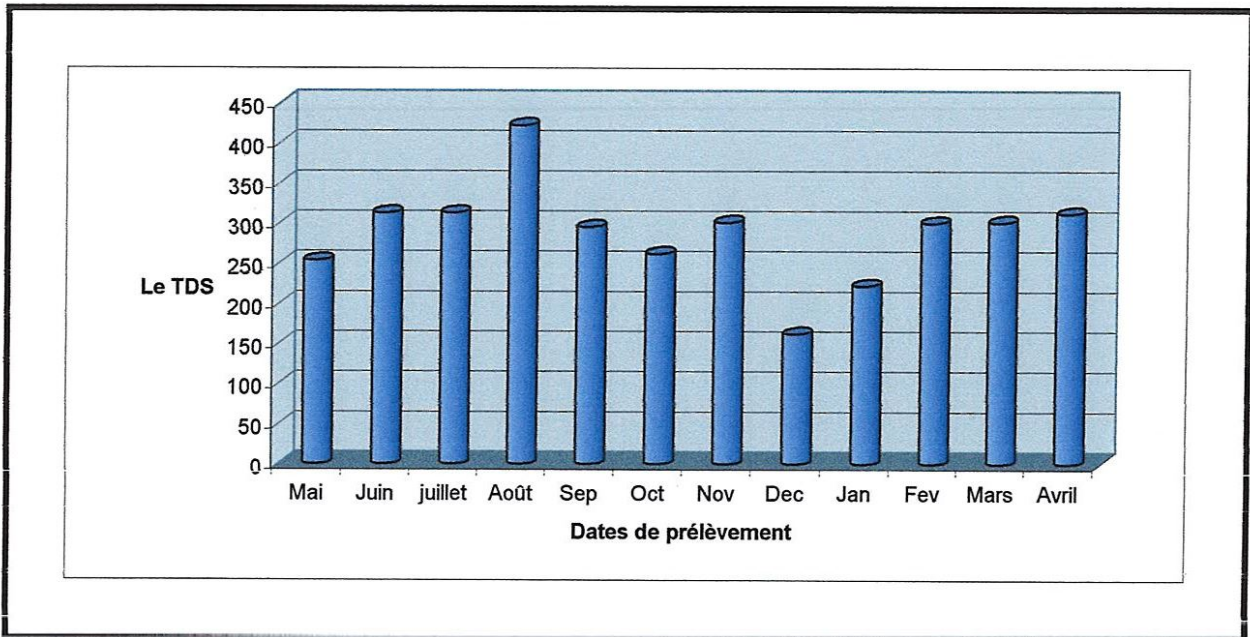


Fig. 20. Variations de TDS de l'eau de la retenue collinaire

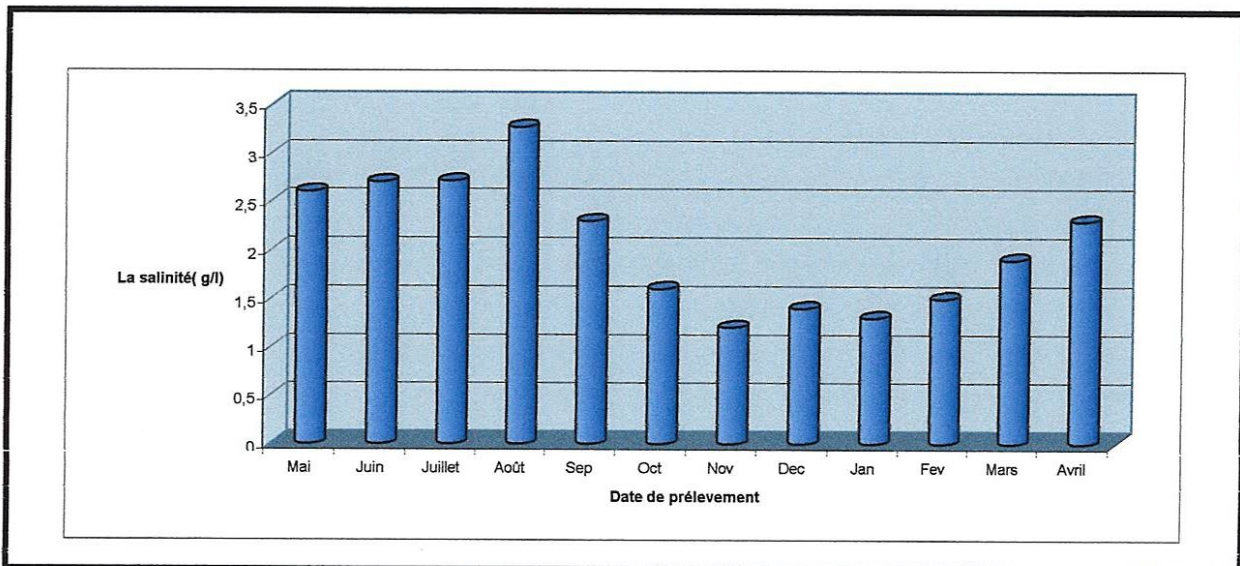


Fig. 21. Variations de la salinité de l'eau de la retenue collinaire

III-3-4-L'oxygène dissous :

En examinant le graphe illustré par la figure 25, nous observons que, il n'y a pas des variations spatiales significative dans le site avec un maximum de 13.8mg/l au mois d'Août et un minimum de 11.8mg/l au mois de mars, l'augmentation de l'oxygène dissous dépend de l'augmentation de la température pendant toute la période d'étude, ce dernier permet l'accroissement de phénomène de photosynthèse (Bontoux, 1994).

Toutefois, une valeur de l'oxygène dissous nettement inférieur à la concentration de saturation que l'on se trouve en présence d'une eau de qualité médiocre.

III-3-5-EH (le pouvoir oxydo-réduction) :

En examinant le graphe illustré par la figure 22, nous observons que les valeurs de EH sont très varier, et d'après la classification de (Rodier J.1996), selon l'EH mesure généralement, on peut considérer l'eau du site durant la période d'essai comme un milieu oxydant.

D'après les résultats obtenus dans la bibliographie de (Bontoux,1994), qui montre la relation qui existe entre la concentration d'oxygène dissout et le EH, cela prouve les variations des valeurs de EH en fonction des concentrations d'oxygène dissous, ce dernier accentuer l'oxydation donc l'augmentation de pouvoir oxydoréduction de l'eau.

III-3-6-Les chlorures (CL⁻) :

Le taux des chlores dans l'eau de la retenue collinaire a augmenté considérablement des la première sortie jusqu'à la fin de notre étude (Fig23).

En effet, les premiers taux de 200 mg/l enregistrés durant la sortie du mois de Mai 2007 ont doublés de valeurs en Août, Septembre et Octobre et quadruplés durant le mois de Décembre de la même année exhibent un plateau pendant les cinq mois à venir. Les valeurs mesurées sont dans leur ensembles largement supérieur aux normes décrites par l'organisation mondiale de la santé pour l'eau destiné à la consommation humaine (OMS.1994).

III-3-7-Les Nitrates (NO₃) :

Les nitrates sont en effet l'élément chimique majeur qui conditionne la vie des micro organismes dans un écosystème aquatique (Faurie et al.2003). les bactéries ont toujours besoin d'une source azotée pour synthétiser et structurer leurs protéines. (Leclerc et al.1983). les taux de cet élément minéral dans l'eau de la retenue d'Ourkis varie entre 5 et 25 mg/l durant la saison estivale avec un maximum enregistré pendant le mois d'Août (Fig24). Cependant nous observons des valeurs nulles pendant tous le reste de l'étude. Il est n'est moins important de signaler par la dynamique de cet élément dans le sol dépend de sa concentration dans les champs cultivés. La fertilisation du degré de pluviosité et de la période pluvieuse.

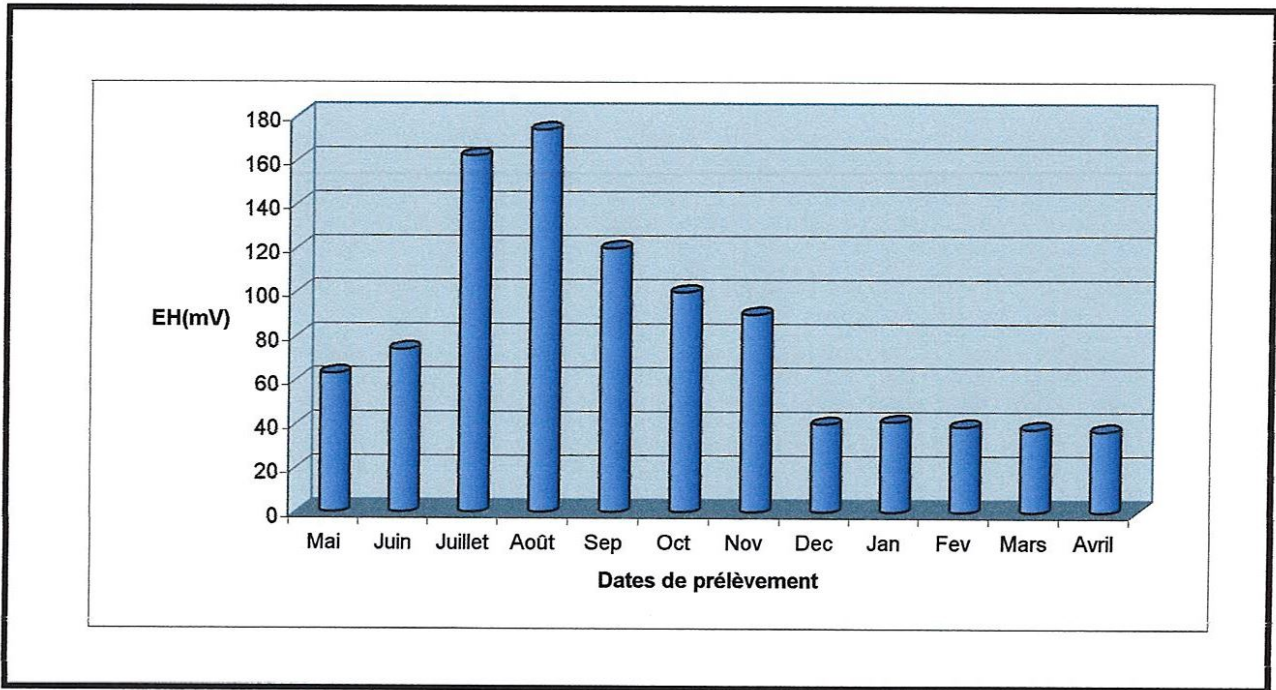


Fig .22. Taux de EH de l'eau de la retenue collinaire

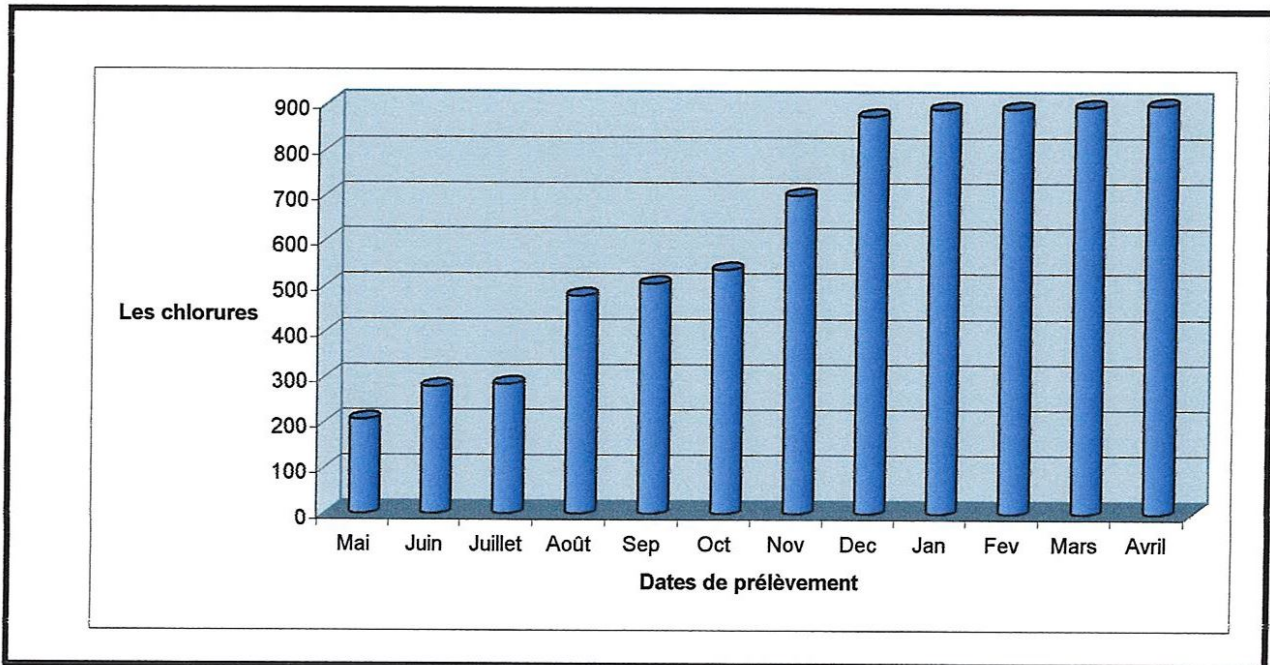


Fig .23 . Variations des chlorures de l'eau de la retenue collinaire

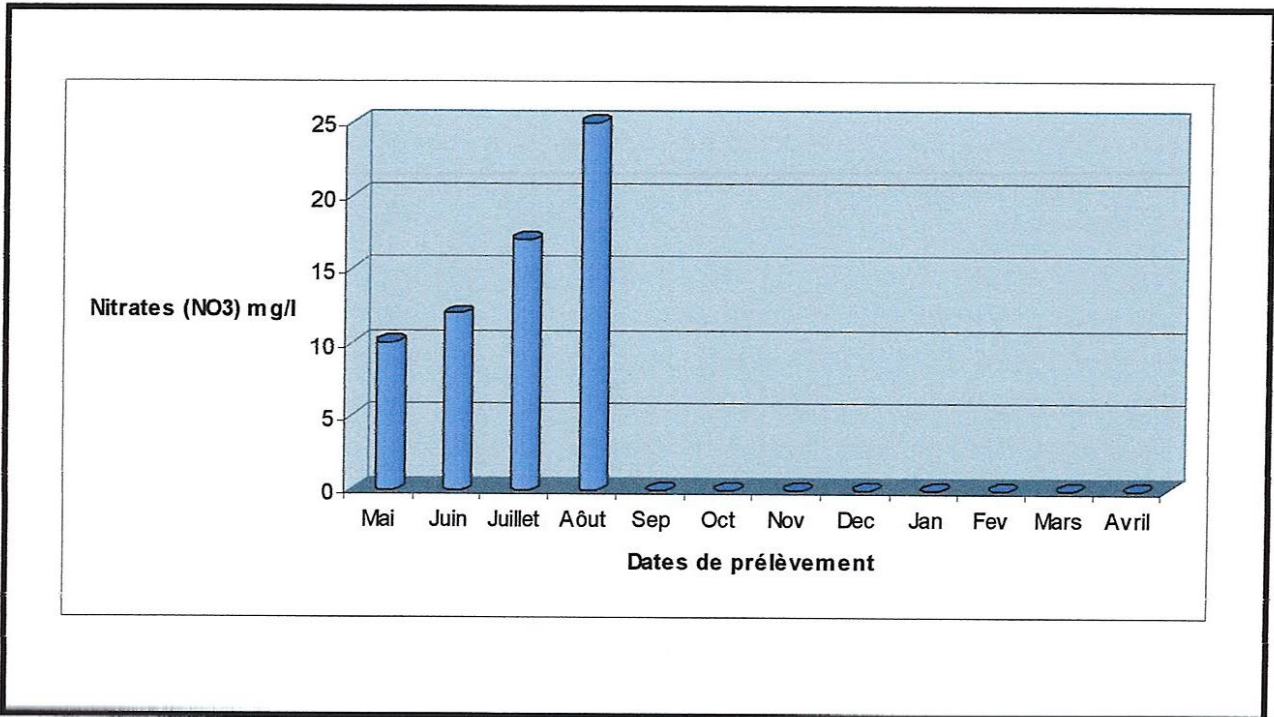


Fig .24. Variations des nitrates de l'eau de la retenue collinaire

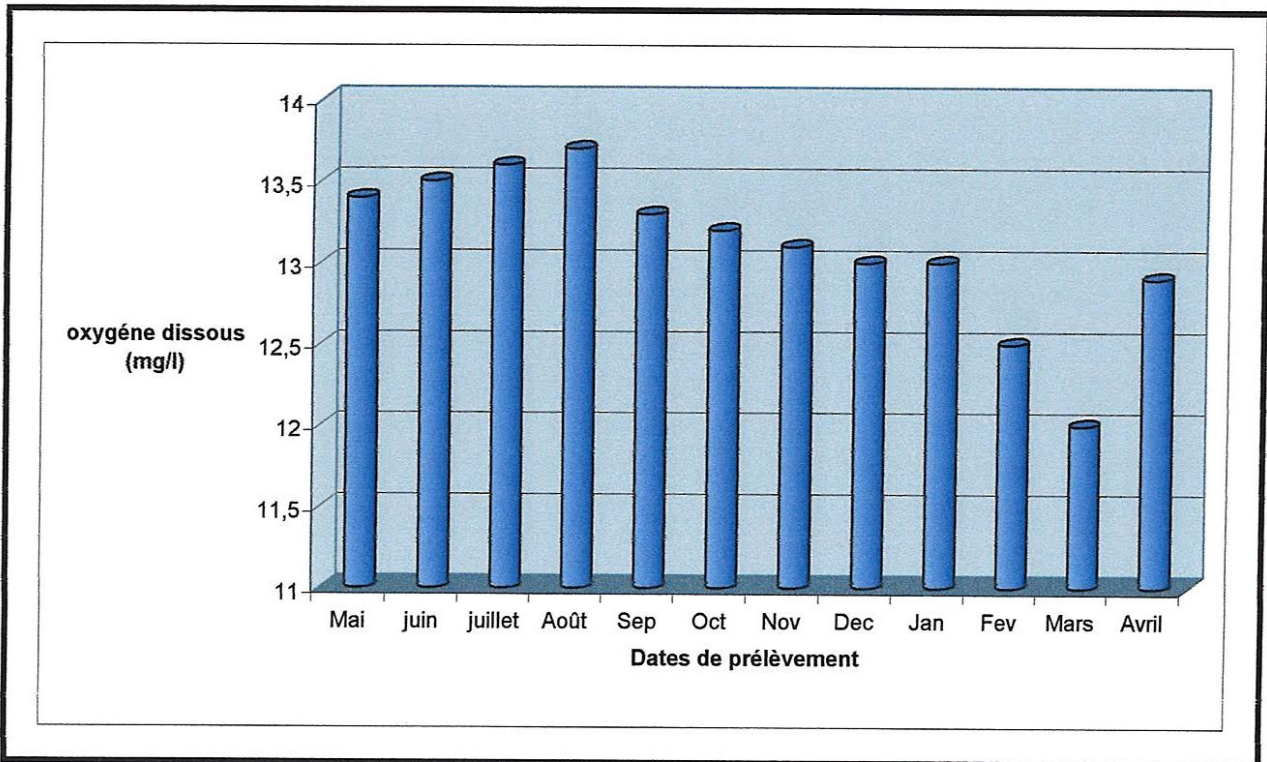


Fig.25.Variations de l'oxygène dissous dans la retenue collinaire

III-3-8 : Les nitrites :

Le graphique des nitrites montre similaire que celle des nitrates (Fig27). Il est divisé en deux période, une première estivale où les taux de cet élément sont élevés varient entre 0.01 et 0.04 mg/l, avec un maximum enregistré durant le mois d'Août. Une seconde hivernale, exhibant des taux nuls. En effet la dégradation des nitrates aboutit à la formation des nitrites qui sont des molécules instables dans l'eau du fait qu'ils sont facilement assimilables par les micro -organismes aquatiques (Faurie et al.2003).

III-3-9 : L'Ortho phosphate (PO_4^-) :

Cet élément entre dans la synthèse de l'énergie des cellules microbiennes (Senez.1969) présente un graphique exhibant des taux élevés pendant les 3 mois de l'étude avec un maximum de 13 mg/l. Au delà du mois d'Août et jusqu'à la fin de l'étude un plateau plus au moins stable rodant aux alentours de 10mg/l (Fig26).

Cependant, les normes décrites par l'OMS pour une destinée à la consommation humaine ne doivent pas excéder les 05 mg/l.(OMS.1994). Généralement de telles élévations des taux des Ortho phosphates dans un hydro systeme est liée aux rejets des eaux usées.

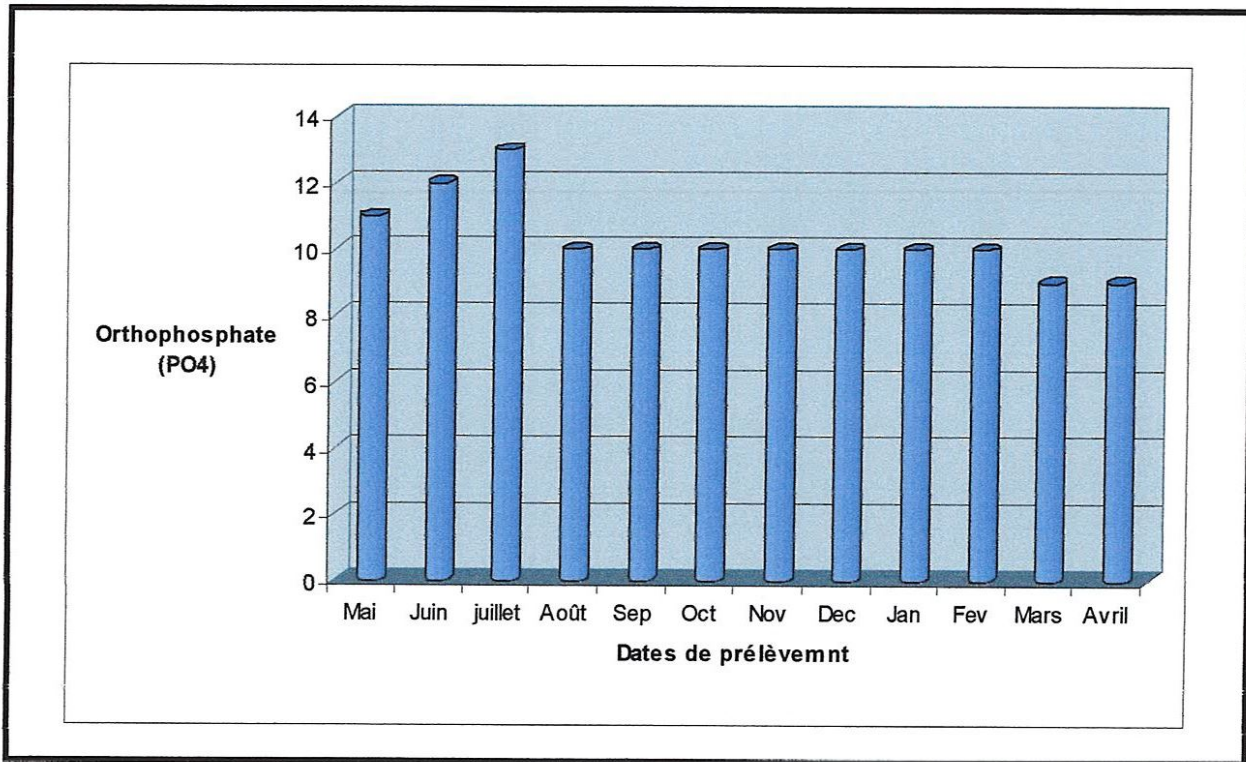


Fig.26. variations des ortho phosphates dans la retenue collinaire

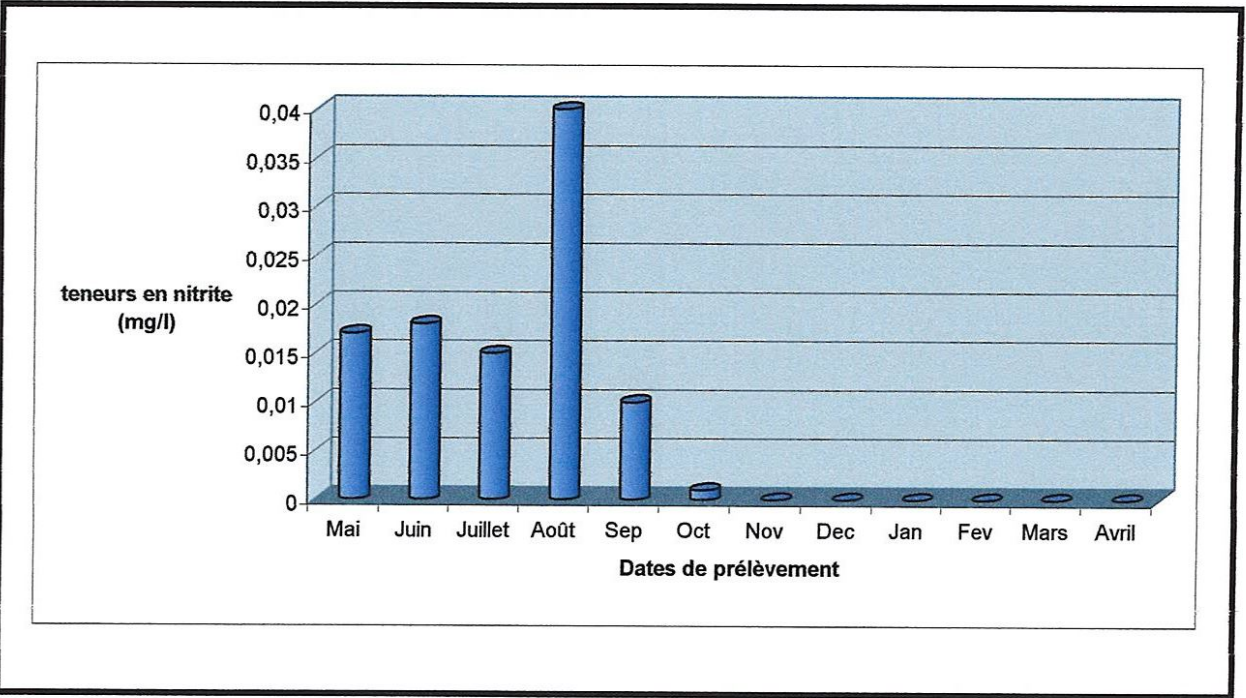


Fig.27. Teneurs en nitrite dans la retenue collinaire de Ourkis

III-4-Analyse statistique multi variée :

L'analyse statistique multi variée réalisée par le logiciel ADE-4 (Chessel et Doledéc 1994) par le biais de l'AFC (Analyse Factorielle des Correspondances) dans son plan factorielle 1x2 qui détiennent respectivement 86% et 05% de l'information nous expose un chimisme structuré dans le temps (Fig.28). En effet, quatre groupements sont distingués:

- Durant les mois de décembre, janvier, février, mars et avril, soit pendant la période hivernale, l'eau de la retenue est caractérisée par des teneurs d'oxygène dissous, TDS, conductivité et salinité assez faibles. Les pH sont cependant stables.
- Les mois de mai et de juin sont caractérisés par l'observation des teneurs les plus élevées des taux de phosphates avec de légères élévations des températures de l'eau qui influencent sur les degrés de salinités.
- Pendant les mois de juillet et d'août nous enregistrons les valeurs les plus élevées des teneurs en nitrites et nitrates et des LH.
- Enfin, durant les trois mois qui suivent, soit septembre, octobre et novembre nous assistons à un réajustement et à un rétablissement des teneurs des trois derniers éléments et l'eau retrouve ces taux normaux.
- Il nant moins important de signaler que la quatrième semaine du mois d'août est caractérisée par l'enregistrement des taux les plus élevés des chlorures. et le troisième prélèvement du mois de juin par les taux de phosphates.

Sous un autre angle, nous pouvons aussi observer que l'axe abscisses sépare d'un côté les taux des éléments chimiques polluants (nitrates, nitrites et EH) et d'un autre côté les autres facteurs physico-chimiques (oxygène dissous, pH, salinité, conductivité et TDS). C'est dans le premier côté que nous dénombrons les valeurs les plus élevées de microorganismes aquatiques. Ces derniers pour vivre exigent des températures optimales (35-40)C), une source carbonée et une source d'azote facilement assimilables tel les nitrites et les nitrates très abondants pendant cette période estivale.

Handwritten signature

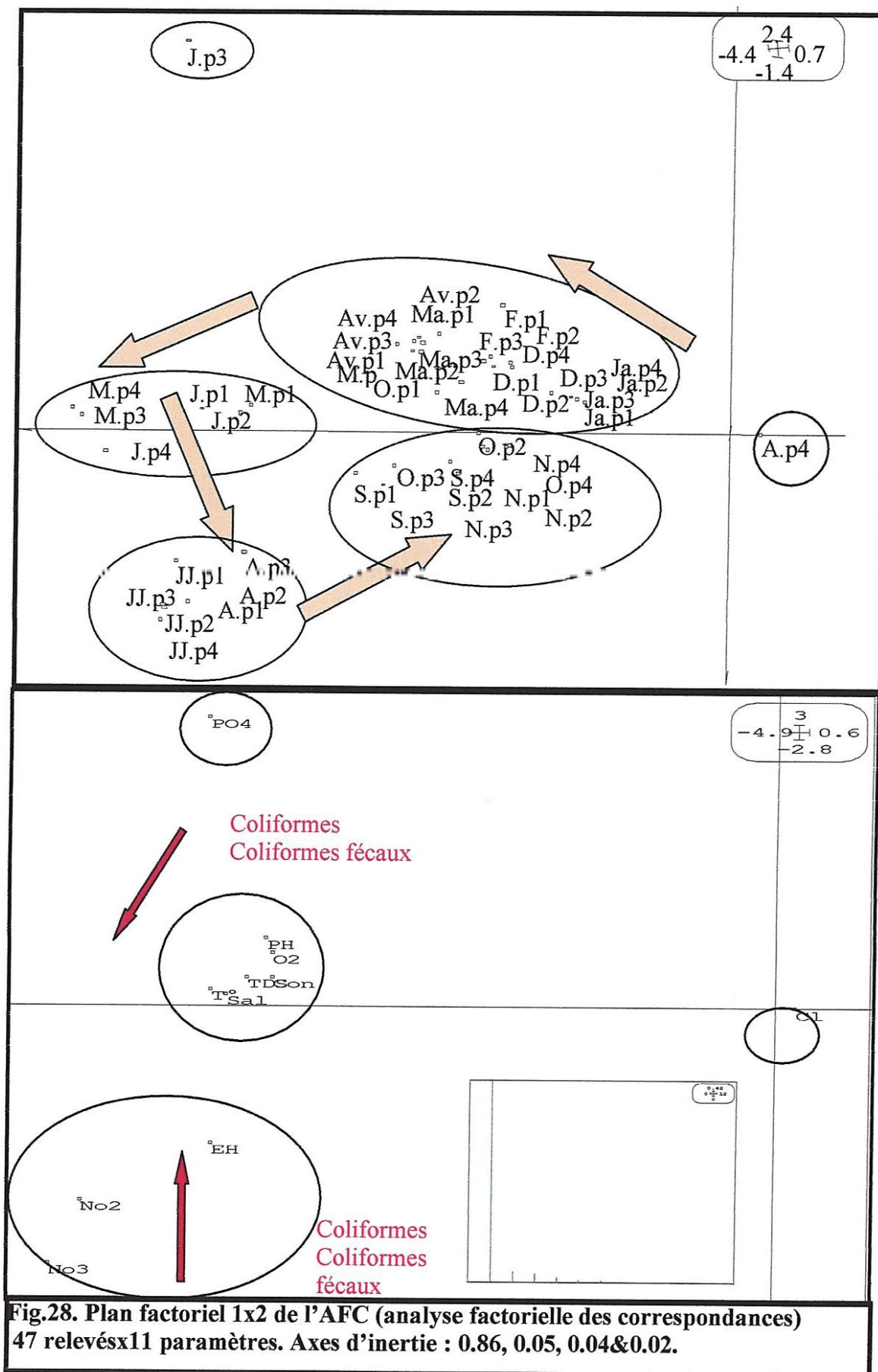


Fig.28. Plan factoriel 1x2 de l'AFC (analyse factorielle des correspondances) 47 relevésx11 paramètres. Axes d'inertie : 0.86, 0.05, 0.04&0.02.

Conclusion

Conclusion

L'ensemble de cette étude, nous a permis de déterminer les principales caractéristiques climatologiques, hydro chimiques et bactériologiques de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel situé dans un climat semi-aride, caractérisé par un hiver pluvieux et un été avec des perturbations partielles. Ce qui engendre l'effet de la dissolution et la dilution pendant les périodes pluvieuses et par l'effet de l'évaporation pendant les périodes sèches.

L'absence de toute surveillance, des principaux affluents du déversement direct des rejets urbains dans les oueds affluents et l'utilisation des engrais en agriculture les longs du bassin versant rendent ces eaux très vulnérables en pollution.

Notre analyse nous a permis de montrer que l'eau de la retenue est soumise à plusieurs effets de pollutions :

*pollution naturelle par l'effet de la salinité et la forte concentration des chlorures qui est due principalement à la dissolution des formations évaporatoires ; pour la conductivité les valeurs commencent à devenir anormales lors qu'elles dépassent 500 $\mu\text{s}/\text{cm}$.

*pollution agricole marqué par la forte concentration en nitrates en périodes estivales enfin

*pollution domestique par la présence de PO_4 et l'augmentation anormale des valeurs de conductivité.

Sur le plan bactériologique, les résultats que nous avons pu avoir dans le site à travers les dénombrements réalisés le long de nos campagnes de prélèvements, nous ont permis d'estimer le degré de contamination bactérienne, nous avons marqué la présence des germes responsable de contamination fécale, (*E.coli*, *Citrobacter*) tous au long de la période d'étude.

Donc, en se basant sur les normes de la grille de classification internationales de l'eau nous pouvons nettement placer les eaux du site dans la classe des eaux à qualité bactériologique « Mauvaise non potable ».

A la lumière de ces résultats, les activités humaines et les conditions hydrologiques climatiques qui sévissent dans le bassin versant d'Ourkis, ont eu des conséquences négatives sur la qualité physico-chimiques et bactériologique résultante de cette principales affluentes donc sur l'environnement et la santé public.

Resumé

Les hautes plaines de l'Est algérien, situées dans les étages bioclimatiques à végétation semi-aride (100 à 400 mm/année de précipitation), recèlent une grande diversité d'hydro-systèmes : plans d'eaux naturels tels que : Sebkhia, Lacs, et artificiels tels que : barrages, retenues moins ou plus salées. Ils appartiennent à un régime hydrographique endoréique et en tant que ressources naturelles ils présentent des intérêts scientifiques, économiques et esthétiques. Ils sont sujets à une anthropisation accrue et doivent être étudiés plus précisément surtout après l'intervention de l'homme qui entraîne des changements dans les conditions biologiques.

L'objectif de notre travail est la contribution à l'étude du comportement des écosystèmes aquatiques en milieu semi-aride : cas de la retenue collinaire de Ourkis (Wilaya d'Oum El Bouaghi) vis-à-vis des différentes sources de pollutions et des variations climatiques saisonnières, ces recherches menées durant la période de Mai 2007 à Avril 2008.

L'approche adoptée est le suivi temporel de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau du site, ces paramètres jouent un rôle prépondérant dans la typologie des hydro-systèmes artificiels de la région de Hautes plaines de l'Est Algérien.

La structure temporelle liée en évidence par une analyse factorielle AFC fait ressortir l'influence primordiale des variations saisonnières, l'aspect Morpho-dynamique et des régimes hydrologiques de la nature des terrains traversés et des différentes activités anthropiques ; notamment le rejet des eaux usées et l'agriculture du bassin versant du site d'étude.

Nos résultats ont été comparés aux normes fixées par l'OMS.

Notre étude a permis de déceler la concentration microbienne des germes à contamination fécale et l'absence des germes pathogènes.

Abstract

The Hauts plateaux, Northeast Algeria, located in the semi-arid to arid vegetation bioclimatic stages (100 to 400 mm/year of precipitation). Cover up a great diversity of hydrosystems, natural water levels such as; Sebkhah, Lake... ect, and artificial such as; stopping, retained less or more salted, belong to endoreic hydrographical mode, these natural resources are of scientific, economic and aesthetic interests, but are prone to an increased entropisation which must be studied more precisely especially after the intervention of the man, who involved changes under the original biological conditions.

The objective of our work is the contribution to the study of the behaviour of watery ecosystems of the semi-arid medium: case of the Ourkiss (Wilaya d'Oum El Bouaghi) collinear reserve with respect to the various sources of pollution and the climatic seasonal variations workers.

Our research undertaken during the period of May 2007 until April 2008, the adopted approach is followed temporal of the quality physico-chemical ones and bacteriological of water of this site, these parameters play a dominating part in the typology of the hydrosystems artificial of area of the Hauts plateaux.

The temporal structure highlighted by a factorial analysis multi vary (AFC) emphasized the dominant influence of the variations seasonal variations, the morph dynamic aspect, with the hydrological modes, nature of grounds crossed and the different entropic activities particularly the rejection from waste water agriculture to the long one of area catchment of the site of study of share and in comparison with the standards set by WHO, which can return the potability of water.

Our study bacteriological quality of water it possible to detect the microbial concentration pupils of the fecal germs has contamination and the absence of the pathogenic germs.

الملخص:

تقع الهضاب العليا للشرق الجزائري في المناطق شبه جافة, الغطاء النباتي (100 إلى 400 مم سنويا من الأمطار), حيث تتوفر بها العديد من الأشكال المائية: المياه الطبيعية مثل: السبخة, وبحيرات اصطناعية مثل السدود. ويجب دراستها بشكل أكثر دقة وخصوصا بعد تدخل من البشر الذي يسبب تغيرات في الظروف البيولوجية. الهدف من عملنا هو المساهمة في دراسة سلوك الأنظمة البيئية في المناطق شبه جافة: و كمثل على ذلك الحاجز المائي اوركيس لولاية أم البواقي تجاه مختلف مصادر التلوث والتغيرات المناخية الموسمية في هذه البحوث التي أجريت خلال الفترة الممتدة من ماي 2007 إلى أفريل 2008.

هذا النهج هو متابعة التغيرات الفيزيائية و الكيميائية و البكتيولوجية لماء الحاجز المائي, و هذا من أجل تصنيف ماء الحاجز حسب معايير OMS. وأبرز تحليل النتائج ب AFC أهمية قصوى من تأثير التقلبات الموسمية, والمظاهر الديناميكية والطبيعة الهيدرولوجية لطبيعة الأرض وعبرت مختلف الانشطة البشرية, بما فيها تصريف مياه المجاري والصرف الزراعي على مساحة كبيرة من موقع الدراسة عن ذلك.

كما قورنت النتائج التي توصلنا إليها بالقياس بمعايير OMS. وقد أكدت هذه الدراسة تلوث ماء الحاجز ببكتيريا البراز وعدم وجود البكتيريا المسببة للأمراض.

Références Bibliographiques

Bibliographie

- 1-Angot A.(1881) : Etude sur le climat de l'Algérie (température, pression barométrique et pluie). *Ed. Ann. Bur. Centr. Météorol. France*, , 1 :B7-B36.
- 2-Alalli A.(2004) : *Contribution à la cartographie de la qualité physico-chimique et biologique des zones humides de la Numidie* mémoire de Magister. Unia d'Annaba p.76..
- 3-Babnoul F.&Gaussen H.(1957) :Saison sèche et indice xérothermique. *Ann. Geogr. Fr* ;p355 :193-220.
- 4-Bagnoul F.&Gaussen H.(1953) : les climats biologiques et leur classification. *Ann .Geogr ,Nat Toulouse*,88 :193-239
- 5-Bechim Met Bacha B(2005) : *Approche bioécologique des zones humides et des oiseaux d'eau de la région Sud Constantinoise* Mémoire d'Ingénieur (Université de Batna).
- 6-Bontoux Jean.(1994) :Introduction a l'étude des eaux douces (Eaux naturelles, Eaux usées, Eau de boisson) *Cebedoc* 80p.
- 7-C.F.W.O.E.B(2006) :Conservation des forêts de la wilaya d'Oum El Bouagui).
- 8-Dajoz R.(1985) : *Précis d'écologie*. 5 e Ed. BORDE, Paris, p112-132.
- 9-D.H.W.O.E.B(2006) : direction de l'hydrologie de la wilaya d'Oum El Bouaghi. p83.
- 10-Emberger L.(1971) :*Contribution complémentaires au sujet des recherches bioclimatiques, phytogéographie et écologiques*. In :<Travaux de botanique et d'écologie>. Ed. *Masson & CIE*, Paris, VI.1 ;520p.
- 11-Emsalem R.(1989) :*Climatologie générale*. ED. I.P.E.N.A.G, Algérie ; Tome 1, 198p ; Tome2 ; p224.
- 12-Faurie C & al (1999) : *Ecologie approche scientifique et pratique*. 4 e Ed. *TEC & DOC*, Paris. p259-318.
- 12-Buttiaux R. ;BEERENS H. et TACQUET A.(1969). *Manuel de technique bactériologiques* Editions médicales Flammarion .Médecine sciences.213p.
- 13-AFNOR (1996). *Recueil de normes 319 02 22 : Analyse microbiologique, tome 1 (Méthodes horizontales)*.
- 14-Larpent J.R et Larpent M (1985) : *Manuel pratique de Microbiologie : Hermann collection* 230 p.
- 15- Larpent J.R et Larpent M.(1970) *Microbiologie pratique. Hermann collection* :240p

- 16- **BEJET J.R ,WEICH J.et PERROT M.(1989):** L'homme et l'agression Microbienne .
Etude vivante .190p .
- 17- **Berche P , Gaillard J.L et Simonet M. (1988):** Bactérorologie :les bactéries des
infections humaines . *Flammarion Médecine Sciences*. 660 p .
- 18- **Simmon P et Meunier R.(1970)** .Microbiologie industrielle et Génie Biochimique
Masson et Cie 567 p.
- 19-**Prevot A-R. (1977)** Bactériologie : Notions élémentaires . *PUF*. 218 P .
- 20- **Gost charoff N .(1971)** Cle d'identification des bactéries hétérotrophes .*Dunod* p97.
- 21- **Faurie C.,Ferra C. , Medor P ,DevauxJ.et HemptinneJ.L (2003).**
Ecologie : Approche scientifique et pratique *TEC et DOC* .407 P
- 22- **Leclerc H. , IZARD D ,Husson M.O, Ouattre P . ET Jakubczak E. (1983).**
Microbiologie Générale .*Doin*. 368 p.
- 23-**Debieche, T.H.(2002)** :Evolution de la qualité des eaux (salinité Azote et minéraux
lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle. Mémoire de Magister
université d'Annaba p253.
- 24-**Guiraud J.P.(2002).**Microbiologie alimentaire.*Durod*.638p.

Annexes

ANNEXE I

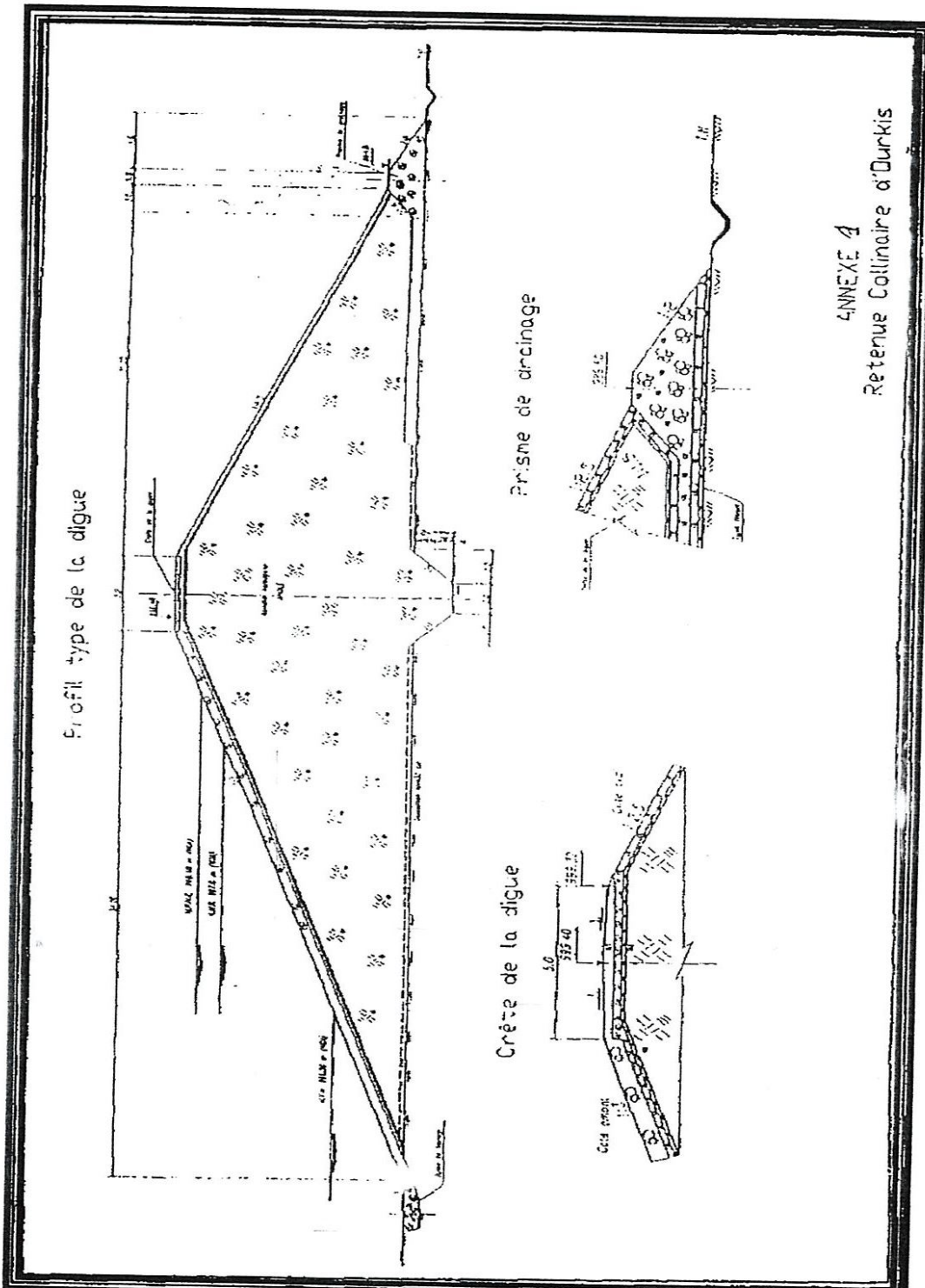


Fig.29. : Profil type de la digue Source Direction de l'Hydraulique de la wilaya d'Oum El Bouaghi.2006

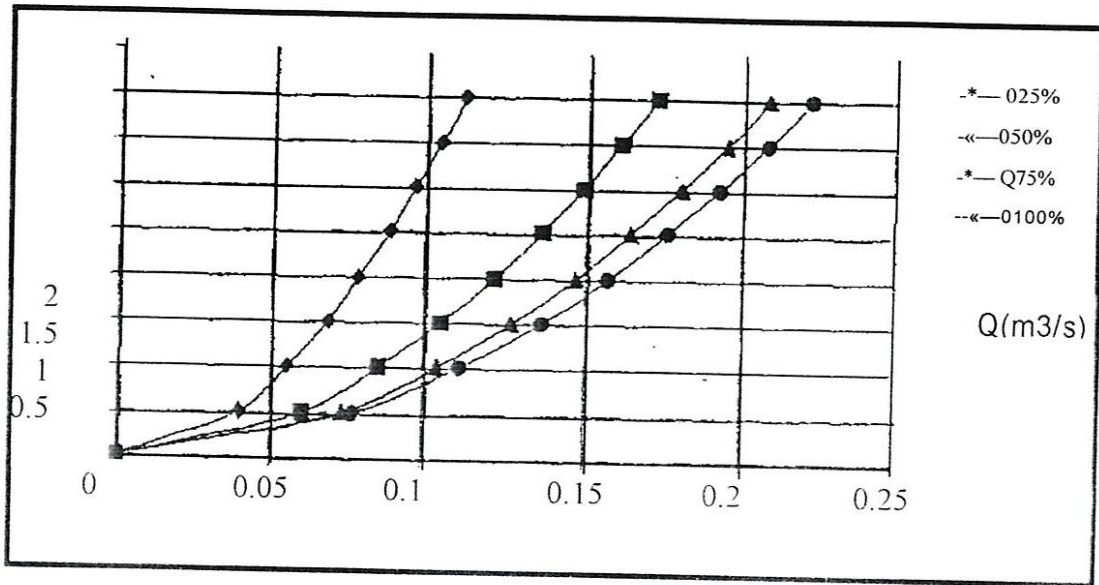


Fig.30.: Courbe de débit de l'ouvrage de prise et de vidange de fond selon les différentes ouvertures de vannes

Annexes

Etude climatique :

Les températures :

Tableau.2 :Donnés climatiques de la région d'Oum El-Bouaghi (1974-2004)

Mois	Jan	Fev	Mars	Avr il	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Dec
Tmin. c°	1.4	1.4	4.1	6.5	11	15.4	18	18.3	14.7	10.9	5.7	2.7
Tmax.c°	11.3	12.9	16.6	19.5	25.5	30.8	34.7	33.8	28	23.7	16.3	10.8
Tmoy .c°	5.9	6.8	10.2	12.9	17.8	21.8	26.4	25.8	21.1	17.6	10.9	7.4
Précipitations	47.9	23.3	27.2	33.2	41.2	31.1	11.9	32.6	49.2	22.6	48.3	46.7
Humidité relative	77	72	65	64	58	51	44	50	61	64	73	77
Noige	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gelée	12	5	5	1	0	0	0	0	0	1	2	8
Grêle	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Brouillard	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1

Annexes

Tableau3 : Quelques indications sur la relation existant entre la minéralisation et la conductivité. (Rodier,1996)

Conductivité < 100 µs/cm : minéralisation très faible ;
100 µs/cm < conductivité < 200 µs/cm : minéralisation très faible ;
200 µs/cm < conductivité < 333 µs/cm : minéralisation moyenne ;
333 µs/cm < conductivité < 666 µs/cm : minéralisation moyenne accentuée ;
666 µs/cm < conductivité < 1000 µs/cm : minéralisation importante ;
Conductivité > 1000 µs/cm : Minéralisation élevée.

Tableau 4 : Calcul de la minéralisation à partir de la conductivité :

Conductivité (µs/cm)	Minéralisation (mg/l)
Conductivité inférieure à 50 µs/cm	1.365079 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.
Conductivité compris entre 50 et 160 µs/cm	0.947658 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.
Conductivité compris entre 166 et 333 µs/cm	0.769574 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.
Conductivité compris entre 333 et 833 µs/cm	0.715920 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.
Conductivité entre 833 et 1000 µs/cm	0.758544 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.
Conductivité supérieur à 10000 µs/cm	0.850432 x conductivité (*) (µs/cm) à 20 C°.

(*) x 1.116 pour 25 C° (Rodier,1996).

Des relations permettent de calculer approximativement la minéralisation à partir de la conductivité on peut : TDS (mg/l) = 0.58 x conductivité (µs/cm).

Annexes

Tableau 5 : Interprétation des résultats :

Test	substrats	Reactions/Enzymes	Mecanisme des reactions	Resultats negatif	positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl	<i>B</i> -galactosidase	L'ONPG incolore est hydrolysé libérant l'orthonitrophenyl de couleur jaune.	incolore	jaune
ADH	LYSINE	ARGININE dihydrolase	La dégradation de l'arginine donne des dérivés aminés ou de NH entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou rouge.	jaune	Rouge ou orange
LDC	LYSINE	Lysine decarboxylase	La dégradation de la lysine donne de la cadaverine entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou rouge de l'indicateur de PH.	jaune	orange
ODC	ORNITHINE	ORNITHINE Decarboxylase	La transformation de l'ornithine donne de la putrescine qui est une amine basique entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage à l'orange ou au rouge de l'indicateur de PH.	jaune	Rouge ou orange
CIT	CITRATE DE SODIUM	CITRATE de Simmons	L'utilisation du citrate comme seule source de carbone entraîne une alcalinisation du milieu de culture, soit un virage au bleu-vert de l'indicateur de PH bleu de bromothymole	Vert pâle/jaune	Bleu vert/vert

			préférentiellement dans la zone aérobie.		
H ₂ S	H ₂ S	Formation de H ₂ S	La réduction des composés soufrés du milieu entraîne la formation de H ₂ S qui donne un précipité noir ou présence de sel fer.	Incolore grisâtre	Dépôt noir
UREE	UREE	UREASE	Liberation de l'urée donne de NH ₃ entraînant une alcalinisation du milieu qui se traduit par le virage au rouge de l'indicateur PH(rouge de phénol).	jaune	Rouge/orange
TDA	TRYPTOPHANE	Tryptophane desaminase	La désamination oxydative du tryptophane (mis en jeu le même enzyme que pour phénylalanine : APP produit l'acide indol pyruvique qui donne une coloration rouge avec le chlorure ferrique (TDA).	TDA immédiat jaune	Maron foncé
IND	INDOLE	tryptophanase	Sous l'action d'une tryptophanase est transformé en indole qui donne une coloration violette avec le réactif de Kovacs (IND)	Ind/ 2 mn max jaune	Anneau rouge
VP	PYRUVATE	Acétylméthyl carbinol	La production de l'acétoïne à partir de l'acide pyruvique est mise en évidence en milieu alcalin (réactif VP1). en présence (VP2). l'acétoïne donne dans ces conditions une coloration rose à rouge.	Vp1+vp2/10 mn incolore	Rose/rouge
GEL	GELATINE DE KOHN	gelatinase	L'utilisation du citrate comme seule source de carbone	Non diffusion	Diffusion du pigment noir

			entraîne une alcalinisation du milieu de culture, soit un virage au bleu vert de l'indicateur de PH bleu de bromothymole préférentiellement dans la zone aérobie		
GLU MA N IND SOR RHA SAC MEL AM Y ARA	GLUCOSE MANITOL INOSITOL SORBITOL RHAMNOSE SACCHAROSE MELIOTOSE AMYGDALINE ARABINOSE	Fer/oxy	L'utilisation de ces glucides entraîne une modification du milieu qui se traduit par le virage au jaune de l'indicateur de PH (bleu de bromothymol)	Bleu/ bleu vert	jaune
OX	TUBE H ₂ S OU ONPG	Cytochrome oxydase	La cytochrome oxydase entraîne la formation d'un complexe violet avec la tétraméthylparaphénylène diamine (réactif OX) dans le tube ONPG ou H ₂ S	Ox/ 5-10mn incolore	Anneau violet

ANNEXE 2
Milieux de cultures

1) BCPL (bouillon lactose au pourpre de Bromocrésol)

1-1-Double concentration :

-Extrait de viande de bœuf.....	6g
-peptone.....	10g
-lactose.....	10g
-pourpre de Bromocrésol.....	0.06g
-eau distillé.....	1000ml
-pH = 6/autoclave = 20 mm à 120 C°.	

1-2-Simple concentration :

-Extrait de viande de bœuf.....	3g
-peptone.....	5g
-lactose.....	5g
-pourpre de bromocrésol.....	0.03g
-eau distillé.....	1000ml

2) ROTHE (bouillon glucose l'acide de sodium)

2-1-Double concentration

-Tryptone.....	40g
-glucose.....	10g
-chlorure de sodium.....	10g
-phosphate bi potassique.....	5.4g
-phosphate mono potassique.....	5.4g
-acide de sodium.....	0.4g
-eau distillée.....	1000ml
-pH= 6.8/autoclave=15 mn à 120°C.	

4) Shubert (milieu indole mannitol)

-Tryptone.....	0.2g
-acide glutamique.....	0.2g
-Sulfate de magnésium.....	0.7g
-Sulfate d'ammonium.....	0.4g
-Citrate de sodium.....	2g
-Tryptone oxid.....	10g
-mannitol.....	7.5g
-eau distillé.....	500ml

Annexes

-tamp phosphate.....500ml

-pH=7.6/autoclave=10mn 115°C

5) EVA-LITSKY

-peptone.....20g/l
-glucose.....5g/l
-chlorure de sodium.....5g/l
Phosphate bi potassique.....2.7g/l
-phosphate mono potassique.....2.7g/l
-azothydivate de sodium.....0.3g/l
-éthyl- violet.....5g/l
-ph=7

6) VF (Viande de foie)

Préparé en deux étapes sont :

*milieu de base :

-base de viande foie.....30g
-glucose.....2g
-amidon.....2g
-agar.....1g
-eau distillée.....1000ml

* au moment de l'emploi:

-ajouter à 20 ml de milieu de base fonder
-0.5 ml d'une solution de sulfate de sodium à 5%
-4 gouttes d'alun de fer commoniacol.

7) Mac conkey (gélose)

-peptone trypsine de gélatine.....17g
-peptone de viande et de caseine.....3g
-lactose.....10g
-sels biliaires.....5g
-rouge neutre.....4 mg
-gélose.....13g
pH=7.4 autoclave 15 minutes à 120°C.

Annexes

8) Gélose TSI

-*composition en grammes par litres d'eau :

-Extrait de levure.....	3.0g/l
-saccharose.....	12.0g/l
-lactose.....	12.0g/l
-salicine.....	2.0g/l
-chlorure de sodium.....	5.0g/l
-lactose.....	10g/l
-saccharose.....	10g/l
-glucose.....	1g/l
-citrate ferrique.....	3g/l
-trio sulfate de sodium.....	3g/l
-rouge de phénol.....	0.025g/l
-gélose.....	12g

9) Citrate de simmons

-Sulfate de monoammoniaque.....	1g
-phosphate diapotassique.....	1g
-Citrate de sodium.....	2g
-chlorure de sodium.....	5g
-bleu de bromothymol.....	0.001g
-gélose.....	12g

-p H=6.8 repartir (6-8 ml) en tubes à essais Autoclave 20 minutes à 120°C.

10) SS (Gélose

-peptone.....	10g
-Extrait de viande.....	5g
-lactose.....	10g
-sels biliaires.....	6g
-citrate de sodium.....	8.5g
-vert brillant.....	0.33g
-citrate de fer ammonical.....	1g
-Thiosulfate de sodium.....	8.5g
-rouge neutre.....	25mg
-gélose.....	13g

Annexes

11) Gélose Mannitol –Mobilité :

-peptone.....	20g
-nitrate de potassium.....	1g
-Mannitol.....	2g
-rouge de phénol.....	40mg
-Gélose.....	4g

pH=8.1 Autoclave 15 minutes.

ANNEXE3

Tableau6 : Table de NPP

Falcon 1x50ml	Tube D/C 5x10ml	Tube S/C 5x1 ml	Nombre caractéristiqu e	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0.5	4
0	0	2	2	<0.5	6
0	1	0	1	<0.5	4
0	1	1	2	<0.5	6
0	1	2	3	<0.5	8
0	2	0	2	<0.5	6
0	2	1	3	<0.5	8
0	2	2	4	<0.5	11
0	3	0	3	<0.5	8
0	3	1	5	<0.5	13
0	4	0	5	<0.5	13
1	0	1	1	<0.5	4
1	0	2	3	<0.5	8
1	0	3	4	<0.5	11
1	0	0	6	<0.5	15
1	0	1	3	<0.5	8
1	1	2	5	<0.5	13
1	1	3	7	1	17
1	1	0	9	2	21
1	1	1	5	<0.5	13
1	1	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	2	0	8	2	19
1	2	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	3	0	13	4	31
1	3	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	4	0	24	8	75
1	4	1	35	12	100
1	4	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		

ANNEXE 4

Tableau7 :TABLE DE MAC-GRADY

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

Annexes

ANNEXE 5 (Mouffouk, 2001)

Conclusion	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Strep.fécaux	Clsr (ASR)
Eau de bonne qualité bactériologique -potable-	-	-	-	-
Eau de mauvaise qualité bactériologique -Non potable-	+	+	+	-
Eau de mauvaise qualité bactériologique -Non potable-	+	+	-	-
Eau de mauvaise qualité bactériologique -Non potable-	+	-	+	-
Eau de qualité bactériologique .suspecte -Non potable-	+	-	+	-
Eau de qualité suspecte -Non potable-	-	-	+	+
Eau de qualité bactériologique .suspecte -Non potable-	-	-	-	+
Contamination ancienne. Eau à trait consom.déconseillée	-	-	-	+
Contamination récente. Eau à trait consom.déconseillé	-	-	+	-
Contamination récente. Eau à trait consom.déconseillé	+	-	-	-

ANNEXE 6

Tableau 8 : les caractères biochimiques des Entérobactéries

	Salmonella	Citrobacter	Shigella	Klebsiella	Enterobacter	Serratia	Proteus	Yersinia
Mobilité	+	+	-	-	+	+	+	D
Gaz en glucose	+	+	-	+	+	D	D	-
Galactose	-	+/-	-	+	+/-	+/-	-	-
ONPG	-	+	D	+	+	+	-	(+)
H ₂ S	+	+	-	-	-	-	-	-
Urease	-	(+)	-	(+)	-	-	-	+
pH.Alcaline et TDA	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	D	-	-	-	+	-
LDC	+	-	-	D	D	+	-	-
ODC	D	-	D	-	+	+	-	D
Citrate	+	+	-	+	+	+	+	+/-
Gélatine	-	+	-	-	D	+	-	-
Culture en GN	-	+/-	-	+	+	+	+	-
Mannitol	-		D	+	+	+	D	+
Mobilité	+	+	+	+	+	-	+	+
Saccharose	-	D	-	+	+	+	D	D
VP	-	-	-	+/-	+	+	-	D

- ❖ DTA/Tryptophane désaminase
- ❖ D/Différent biotypes
- ❖ RM/rouge de méthyle
- ❖ VP/vvoges-proskauer
- ❖ (+)tardivement et irrégulièrement
- ❖ LDC/Lysine décarboxylase