

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: Microbiologie Appliquée

Département: Écologie et Génie de l'environnement

**Thème : Étude de l'impact de la station d'épuration sur la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'Oued Seybouse (Guelma).**

Présenté par :

- Benabassa Marwa
- Merzoug Khawla

Devant le jury composé de :

Présidente:	Mme. Boussaâdia M.I.	(M.C.B)	Université de Guelma
Examineur :	Mr. Aissaoui R.	(M.C.B)	Université de Guelma
Encadreur :	Mr. Houhamdi M.	(Pr.)	Université de Guelma

Juin 2018

## **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tous puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*En second lieu, Nos tenons à remercier notre encadreur **Mr. Houhamdi Moussa**, professeur à l'Université de Guelma pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle a témoigné pour nous permettre de mener à bien ce travail*

*Nos vifs remerciements à l'ensemble des membres du jury :*

***Mme. Boussaâdia Meriem Imene** qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire*

***Mr. Aissaoui Ryadh** pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger.*

*Nous tenons à exprimer mon profond remerciement à tout le personnel de la station d'épuration des eaux usées et de l'office national d'assainissement de Guelma qui m'ont apportés une aide efficace et précieuse dans l'élaboration de ce travail*

*Nous tenons aussi à remercier le personnel du laboratoire de la microbiologie de l'université de Guelma et particulièrement Mme Houriya, Melle Houda et Mme Asma pour leurs aides*

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

*A titre plus personnel, nous remercions chaleureusement **Mr Merzoug Mouhamed**, **Mr Merzoug Seyf Eddine** et **Mme Abdi Soumia**, sans lesquelles ce travail n'aurait pu voir le jour.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A La mémoire de mon grand père*

*A Ma très chère mère qui m'a toujours apporté son amour et son affection*

*A Mon cher père, qui m'a toujours encouragé et soutenu tout au long de mes études*

*A Mes chères sœurs Mounira, Amina et Samar*

*A Mes chers frères Khaled et Zaki*

*A mes nièces Aridj, Djana et Djoud*

*A mon neveu Zakaria*

*A tous mes amies et particulièrement Loubna, Chahra, Khawla, Heyem, Adila, Meryouma,*

*Djamila, Marwa, Sarra, Ghania et Meryem.*

*A toute la promotion de la microbiologie Appliquée 2018*

*Dédicaces de Marwa*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

*A mon père, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.*

*Et bien sur à ma chère sœur Wissal.*

*Mes cousins, mes cousines et toute ma grande famille pour leurs encouragements.*

*A ma binôme Marwa*

*Mes amies et tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.*

*A toute la promotion de la microbiologie Appliquée 2018*

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

*Dédicaces de Khawla*

# Sommaire

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

## **Chapitre 01 : Généralités sur la STEP de Guelma**

1. Description de site.....	3
2. Objectifs .....	5
3. Etapes d'épuration.....	5
3.1. Prétraitement.....	5
3.2. Traitement primaire (décantation primaire).....	7
3.3. Traitement secondaire.....	8
3.4. Traitement tertiaire (chloration).....	10
4. Point de rejet.....	11
5. Normes des rejets Algériennes.....	11

## **Chapitre 02 : Description de la zone d'étude (Oued Seybouse)**

1. Situation géographique.....	12
1.1. Le Bassin de Bouhamdane.....	13
1.2. Le Bassin de Guelma .....	13
1.3. Le Bassin du Mellah .....	14
1.4. Le Bassin de la basse Seybouse .....	14
2. Etude climatique.....	15
2.1. Les précipitations .....	15
2.2. La température .....	16
2.3. L'humidité .....	16
2.4. Le vent .....	17

3.	Réseau hydrographique .....	18
4.	Aperçu socio-économique.....	19
4.1.	L'agriculture .....	19
4.2.	L'industrie.....	19
4.3.	Population .....	20
5.	Pédologie de la Seybouse.....	20
6.	Cadre biotique de la Seybouse .....	21
6.1.	La faune .....	21
6.2.	La flore.....	21
7.	Dangers menaçant le cours de la Seybouse.....	22

### **Chapitre 03 : Matériel et méthodes**

1.	Choix du site de prélèvement .....	23
2.	Prélèvement.....	24
2.1.	Matériel de prélèvement .....	24
2.2.	Méthode de prélèvement.....	25
3.	Transport et conservation au laboratoire :.....	25
4.	Analyses effectuées .....	26
4.1.	Les analyses physico-chimiques .....	26
4.1.1.	Température.....	26
4.1.2.	Conductivité .....	27
4.1.3.	pH.....	27
4.1.4.	Oxygène dissous .....	28
4.1.5.	Demande chimique en oxygène (DCO) .....	28
4.1.6.	Demande biochimique en oxygène (DBO <sub>5</sub> ) .....	29
4.1.7.	Les Orthophosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ).....	30
4.1.8.	Ammonium (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ).....	31
4.1.9.	Matières en suspension (MES).....	32

4.2.	Analyse bactériologique .....	33
4.2.1.	Dénombrement des germes totaux à 22°C et à 37°C .....	33
4.2.2.	Dénombrement des germes test de contamination fécale.....	35
4.2.3.	Recherche des germes pathogènes .....	44
5.	Identification des germes .....	52
5.1.	Examen macroscopique .....	52
5.2.	Examen microscopique.....	53
5.3.	Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques .....	55
5.3.1.	Caractères enzymatiques .....	55
5.3.2.	Caractères biochimiques.....	57

#### Chapitre 04 : Résultats et discussion

1.	Les résultats des analyses physico-chimiques.....	62
1.1.	La température :.....	62
1.2.	Le pH .....	63
1.3.	La conductivité .....	64
1.4.	L'oxygène dissous .....	65
1.5.	La DBO <sub>5</sub> .....	66
1.6.	La DCO.....	67
1.7.	L'Ammonium .....	68
1.8.	Les Orthophosphates.....	69
1.9.	Les MES .....	70
2.	Les résultats des analyses bactériologiques .....	71
2.1.	Le dénombrement des germes totaux (GT) .....	71
2.2.	Le dénombrement des germes test de contamination fécale.....	72
2.2.1.	Le dénombrement des coliformes totaux.....	72
2.2.2.	Le dénombrement des coliformes Fécaux .....	74
2.2.3.	Le dénombrement des streptocoques fécaux .....	75

2.2.4. Le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs .....	76
2.3. Recherche des germes pathogènes.....	77
2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram de différents germes isolés .....	78
2.3.2. Résultats de l'identification biochimique .....	84
Conclusion.....	94

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

ملخص



## Liste des figures

Figure 1 : Configuration de la STEP de Guelma .....	4
Figure 2 : Bassin-versant de la Seybouse (Algérie) .....	12
Figure 3 : Précipitation moyenne mensuelle en (mm) durant la période (2013-2017) .....	15
Figure 4 : Température mensuelle en (°C) durant la période (2013-2017) .....	16
Figure 5 : Variation mensuelle de l'humidité relative durant la période (2013-2017) .....	17
Figure 6 : Variation mensuelle de vent durant la période (2013-2017) .....	17
Figure 7 : Carte de réseau hydrographique.....	18
Figure 9 : Protocole de recherche et de dénombrement des germes totaux à 37 °C et 22 °C dans les eaux.....	35
Figure 10 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux en milieu liquide.....	39
Figure 11 : Recherche et dénombrement des streptocoques Fécaux en milieu liquide.....	41
Figure 12: Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaéobies sulfito-réducteurs dans les eaux.....	43
Figure 13: Protocole de recherche de <i>Staphylococcus</i> dans les eaux .....	45
Figure 14: Protocole opératoire de la recherche des salmonelles dans les eaux .....	47
Figure 15 : Protocole opératoire de recherche et identification des vibrio dans les eaux. ..	49
Figure 16 : Procédure de la coloration de Gram.....	54
Figure 17 : Réaction de catalase positive .....	55
Figure 18 : A droite : réaction d'oxydase positive (+) .....	56
Figure 19: Variation de la température de l'eau de nos sites d'étude.....	62
Figure 20 : Variation de pH pendant la période d'étude (mars et avril). .....	63
Figure 21 : Variation de la conductivité électrique de l'eau .....	64
Figure 22 : Variation de l'oxygène dissous de l'eau. ....	65
Figure 23 : Variation de la DBO <sub>5</sub> dans l'eau de nos sites d'étude .....	66
Figure 24 : Variation de la DCO dans l'eau.....	67
Figure 25 : Variation de la concentration de l'ammonium dans l'eau.....	68
Figure 26 : Variation de la concentration des orthophosphates dans l'eau.....	69
Figure 27 : Variation de la concentration des MES dans l'eau.....	70
Figure 28 : Estimation des germes totaux à 22°C et 37 °C dans l'eau de nos sites d'étude (mars 2018).....	71

Figure 29 : Dénombrement des coliformes totaux dans les deux sites par la méthode de NPP (avril 2018).....	72
Figure 30 : Estimation des coliformes totaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars-avril 2018) .....	73
Figure 31 : Estimation des coliformes fécaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars -avril 2018) .....	74
Figure 32 : Dénombrement des streptocoques fécaux dans les deux sites par la méthode de NPP (Avril 2018) .....	75
Figure 33 : Estimation des streptocoques Fécaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars-avril). .....	75
Figure 34 : Cocci à Gram positif en courtes chainettes .....	76
Figure 35 : Observation microscopique des ASR .....	77
Figure 36: Cocci à Gram positif (Grossissement x100) .....	84
Figure 37: Aspect des colonies sur milieu Chapman (Site 1).....	84
Figure 38: Photo d'observation du test de coagulase libre (Coagulase négatif) .....	85
Figure 39: Aspect des colonies sur gélose cétrimide.....	86
Figure 40: Des Bacilles Gram négatifs (Grossissement x100).....	86
Figure 41 : Résultat de la recherche de la pyocyanine et de la pyoverdine dans les milieux King A et King B.....	87
Figure 42: Résultats de quelques galeries biochimiques classiques.....	88
Figure 43: Profil biochimique de la souche <i>Pasteurella multocida</i> .....	90
Figure 44: Profil biochimique de la souche <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	90
Figure 45: Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	90
Figure 46: Profil biochimique de la souche <i>Providencia rettgeri</i> .....	90
Figure 47: Profil biochimique de la souche <i>Serratia odorifera 1</i> .....	91
Figure 48: Profil biochimique de la souche <i>Pasteurella pneumotropica</i> .....	91
Figure 49: Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella ornithinolytica</i> .....	91
Figure 50: Profil biochimique de la souche <i>E. coli</i> .....	91

## Liste des photos

Photo 1 : Le dégrillage .	6
Photo 2 : Dessablage et déshuillage .	7
Photo 3 : Bassin de décantation primaire	7
Photo 4 : Bassin d'aération biologique	9
Photo 5 : Bassin de décantation secondaire	10
Photo 6 : Bassin de chloration	10
Photo 7 : Le Point de rejet	11
Photo 8 : Sites de prélèvement.	24

## Liste des tableaux :

Tableau 1 : Les Stations de relevage	3
Tableau 2 : Charges hydrauliques de la STEP de Guelma	4
Tableau 3 : Normes des rejets Algériennes	11
Tableau 4 : Répartition des sous-bassins de la Seybouse	14
Tableau 5: Les principaux sources de pollution pour la Seybouse	22
Tableau 6 : Périodes et sites de prélèvement	23
Tableau 7 : Caractéristiques des sites de prélèvement.	24
Tableau 8 : Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température	28
Tableau 9 : L'échelle de la DBO <sub>5</sub>	30
Tableau 10 : les milieux et les réactifs utilisés pour le dénombrement des germes test de contamination fécale.	36
Tableau 11 : Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI	58
Tableau 12 : Relation existant entre la minéralisation et la conductivité	64
Tableau 13: Classes des eaux en fonction de l'oxygène (mg/l)	65
Tableau 14: Evaluation du nombre des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR/ml)	76
Tableau 15: Aspect macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées à partir de nos prélèvements	78
Tableau 16: Résultats du profil biochimique des <i>Staphylococcus</i> isolés.	85
Tableau 17: Résultats du profil biochimique des <i>Pseudomonas</i> isolés.	86
Tableau 18: Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.	87

Tableau 19 : Résultats de l'identification par les API systèmes ..	89
Tableau 20: Répartition des espèces bactériennes isolées entre les sites. ....	92
Tableau 21 : La table de Mac Grady .....	Annexe 1
Tableau 22 : Lecture de l'API 20E .....	Annexe 2
Tableau 23 : Lecture de l'API NE.....	Annexe 3
Tableau 24 : Grille de classification des eaux d'Oued. ....	Annexe 4

## Liste des abréviations

$\mu\text{S/cm}$ : micro Siemens par centimètre.

AEP : Alimentation en Eau Potable.

API : Analytical Profile Index.

ASR: Anaérobies Sulfito-Réducteurs.

BCPL : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

CE : Conductivité Electrique.

CF/ml : Coliforme Fécaux par millilitre.

CT/ml : Coliformes totaux par millilitre.

DBO : Demande Biochimique en Oxygène.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

DN : Diamètre Nominal.

*E. coli* : *Escherichia coli*.

ENA : Entreprise Nationale Algérienne.

EPA : Eau Peptonée Alcaline.

GNAB: Gélose Nutritive Alcaline de Billé.

HMT: Hauteur manométrique totale.

ISO: International Organization for Standardization.

GT/ml : Germes Totaux par millilitre.

MES: Matières En Suspension.

NE : Non Entérobactéries.

NPP : Nombre plus probable.

NR : Nitrate réductase.

ONA : L'Office National de l'Assainissement.

RM : Rouge de méthyle.

SR : Station de relevage.

STEP : Station d'épuration des eaux usées.

SFB: Bouillon Sélénite Cystéine.

SF/ml : Streptocoque fécaux par millilitre.

SS: *Salmonella-Shigella*.

TDA: Tryptophane Décarboxylase.

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

TSI: Triple Sugar Iron.

UFC : Unité formant colonie.

VF: Viande Foie.

VP : Voges Proskauer

# *Introduction*

L'eau est un élément constitutif fondamental de la vie, elle est en amont de toute activité économique (Boulahbel *et al.*, 2017) et elle peut être aussi source de maladies du fait de sa pollution (Lagnika *et al.*, 2014).

La pollution est causée par les rejets des eaux usées non épurées domestiques et agricoles, ainsi que les eaux de ruissellement. Ces rejets modifient et parfois détruisent la nature des eaux réceptrices, ce qui engendre le déséquilibre de l'écosystème, menant à des résultats catastrophiques sur l'environnement qui peuvent être irréversibles (in Hafsi, 2017).

Les eaux de surface constituent la source la plus menacée par les activités humaines. Elles sont les plus exposées à des pollutions, car ces eaux servent de dépotoirs des déchets divers et sont des collecteurs des eaux usées provenant des agglomérations (Adjagodo *et al.*, 2017).

Pour cette raison, tous les pays ont déployé des efforts pour résoudre cette problématique. La plupart de ces pays ont installé des stations de traitement des eaux usées (Raweh *et al.*, 2011).

La finalité principale de la collecte et de l'épuration des eaux résiduaires urbaines d'une agglomération est d'assurer la protection de l'hygiène publique en rejetant les eaux épurées dans un milieu récepteur dans les conditions permettant le maintien ou l'amélioration de la qualité de ce milieu, respectant l'équilibre biologique qui lui est nécessaire, en prévenant ou en réduisant par ailleurs d'éventuels effets dommageables sur l'environnement et la santé (Battaglia *et al.*, 2003).

La station d'épuration de la ville de Guelma est entrée en service en 2008. Elle avait pour objectif l'épuration de 43 388 m<sup>3</sup>/j des eaux usées. Après traitement, l'eau épurée par la station est rejeté au niveau de l'Oued Seybouse.

Pour connaître l'impact des rejets de la station d'épuration de la ville de Guelma sur la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse cette étude a été menée.

Le document ici présenté est structuré en quatre chapitres :

- Les deux premiers présentent la synthèse bibliographique. Le premier décrit les caractéristiques et le procédé de traitement de la station d'épuration des eaux usées (STEP) de la ville de Guelma, alors que le deuxième présente une description générale du site d'étude (Oued Seybouse) ;
- le troisième est une étude expérimentale consacrée à la présentation du matériel et la méthodologie suivie pour la réalisation des analyses bactériologiques et physico-chimiques effectuées durant tous ce travail ;
- le quatrième illustre l'ensemble des résultats obtenus au cours de notre étude. Il est suivi d'une discussion générale.

Une conclusion clôture ce mémoire.



# *Revue bibliographique*

*Chapitre 1 : Généralités sur la  
STEP de Guelma*

## 1. Description de site

La station d'épuration des eaux usées est située sur la route nationale n° 21 reliant Guelma à Annaba, à proximité du pont Guelma- Héliopolis, et s'étend une superficie de 7,8 hectare.

Le choix du terrain de la station d'épuration de la ville de Guelma ne favorise pas l'écoulement gravitaire, ce qui a engendré la réalisation de deux stations de relevages SR 01 et SR 02 refoulant les eaux usées vers la STEP au moyen de deux conduites (DN 700, DN 500 respectivement) (ONA, 2011).

Tableau 1 : Les Stations de relevage (ONA, 2011).

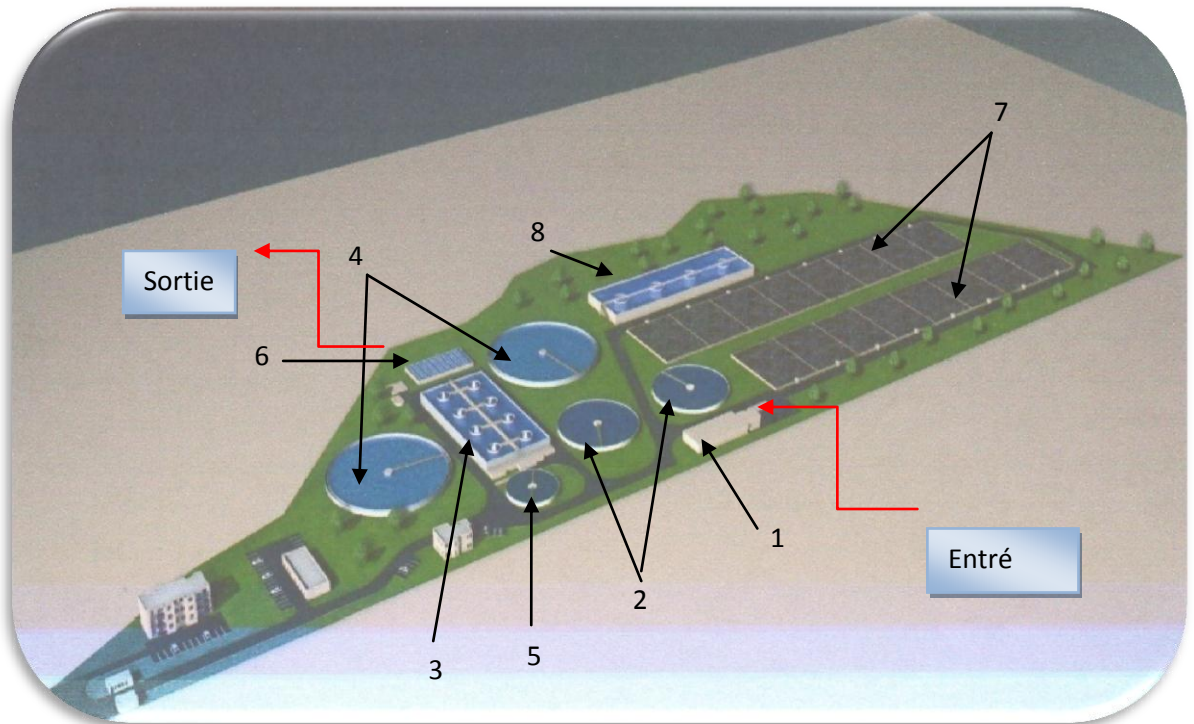
	<b>Station de relevage n°01 (SR1)</b>	<b>Station de relevage n°02 (SR2)</b>
Lieu d'implantation	Oued Maiz, à proximité de RN n°20 (cité frères Rahabi)	Oued Skhoun, au niveau de la ferme pilote (Houati)
Superficie (m <sup>2</sup> )	4000	5000
Débit (m <sup>3</sup> /h)	2100	1125
HMT (m)	56	25
Nombre de pompe	05 dont 01 secours	04 dont 01 secours
Canalisation de refoulement	DN 700	DN 500
Bassin d'accumulation (m)	30 X 12 X3	30 X 12 X3

➤ **Caractéristiques**

- Date de mise en service : 19/02/2008
- Procédé traitement eaux et boues : boue activée à moyenne charge
- Taux de raccordement : 98%
- Capacité (équivalent/habitat) : 32000 éq/ha

Tableau 2 : Charges hydrauliques de la STEP de Guelma (ONA, 2011).

Volume journalier temps sec (m <sup>3</sup> /j)	Volume journalier temps pluie (m <sup>3</sup> /j)	Débit de pointe temps sec (m <sup>3</sup> /h)	Débit de pointe temps pluie (m <sup>3</sup> /h)
32000	43388	2091	4182



[1 : Prétraitement, 2 : Décanteur primaire, 3 : Bassin d'oxygénation, 4 : Clarificateur, 5 : Épaisseur, 6 : Bassin de désinfection, 7 : Lit de séchage, 8 : Boue secondaire]

Figure 1 : Configuration de la STEP de Guelma (ONA, 2011).

## 2. Objectifs

- Diminuer suffisamment la quantité des substances polluantes contenues dans les eaux usées pour que l'eau finalement rejetée dans le milieu naturel ne le dégrade pas. Le nettoyage des eaux usées obéit à une logique de préservation des ressources en eaux et de protection de l'environnement ;
- Amélioration de la qualité des eaux d'irrigation du périmètre Guelma-Boucheouf ;
- Protection de la nappe alluviale de Guelma contre la pollution ;
- Gain d'un débit permettant l'irrigation de 1700 ha (ONA, 2011).

## 3. Etapes d'épuration

L'épuration consiste à extraire des eaux usées ou des eaux unitaires toutes ou une partie des polluants qu'elles contiennent dans un but de protection de la santé publique et de l'environnement.

La station d'épuration des eaux usées ou STEP est constituée par l'ensemble des installations et dispositifs permettant d'atteindre cet objectif. Les procédés mis en œuvre sont généralement classés en quatre catégories : prétraitement, traitement primaire, traitement secondaire et traitement tertiaire (Ellis *et al.*, 2004).

### 3.1. Prétraitement

Le prétraitement ne concerne que les effluents hétérogènes comprenant des composés solides (particules solides, colloïdales ou dispersées) ou des liquides non miscibles (Badot et Crini, 2007). Il permet de protéger les ouvrages, d'en réduire la taille et de faciliter le transfert d'oxygène au sein de la boue biologique (Cardot *et al.*, 2001).

Le prétraitement se situe en tête de station d'épuration et consiste en :

- **Dégrillage**

C'est un système de filtrage permettant de récupérer grâce à une grille par laquelle passent les eaux usées, les solides les plus gros contenus dans ces derniers (Gabert, 2018). Il assure ainsi la protection des équipements mécaniques et réduit les risques de bouchages des conduites (Bertrand *et al.*, 2011).

L'installation de dégrillage se compose d'un canal, de la grille, du dégrilleur et d'une benne pour les déchets (Koller, 2009).



Photo 01 : Le dégrillage (photo prise par Merzoug Khawla).

- **Dessablage**

Les dessableurs sont des procédés mécaniques et hydrauliques qui éliminent également les parties denses de l'effluent (Badot et Crini, 2007). Il a pour but d'extraire des eaux les graviers, sables et particules minérales plus ou moins fines, de façon à éviter les dépôts dans les canaux et les conduites, à protéger les pompes et autres appareils contre l'abrasion et à éviter de surcharger les stades de traitement suivant.

Le domaine usuel du dessablage porte sur les particules de granulométrie supérieure à 200  $\mu\text{m}$  ; une granulométrie inférieure sera du ressort de la décantation.

L'extraction du sable est réalisée automatiquement par raclage (par pont racleur) vers une fosse de collecte d'extrémité, suivi d'une reprise par pompage (Koller, 2009).

- **Déshuilage et dégraissage**

Les eaux résiduaires contenant des graisses et des huiles peuvent, par formation de films en couches superficielles, empêcher l'accès de l'air dans les cours d'eau et occasionnent le cas échéant, des effets d'intoxication sur les microorganismes et sur les poissons.

Le déshuilage correspond à une opération de séparation liquide-liquide, le dégraissage correspond à une opération de séparation solide-liquide (Koller, 2009).

Les méthodes de déshuilage, généralement combinées avec le dessablage (Badot et Crini, 2007).



Photo 02 : Dessablage et Déshuilage (photo prise par Benabassa Marwa).

### 3.2. Traitement primaire (décantation primaire)

La décantation est le premier type de traitement primaire possible (Cardot *et al.*, 2001). C'est une opération unitaire, parmi les techniques de séparation liquide-solide, basée sur le phénomène de sédimentation qui consiste à séparer d'un liquide les particules en suspension en utilisant la force gravitaire (Koller, 2009). Elle consiste à faire passer l'eau dans de grands bassins à une vitesse suffisamment lente pour que les matières en suspension contenues dans l'eau tombent au fond ou montent sur surface suivant leur densité (Béthemont et Créatin, 1979).



Photo 03 : Bassin de décantation primaire (photo prise par Merzoug Khawla).

### 3.3. Traitement secondaire

Les traitements secondaires comportent des traitements biologiques et une étape de décantation (Bertrand *et al.*, 2011).

- **Traitement biologique**

Les techniques d'épuration biologique reposent sur les conditions qui permettent aux flores microbiennes de se développer, pour assurer la dégradation des matières organiques polluants.

L'épuration biologique s'applique aux composés oxydables qui, en solution ou en suspension, constituent souvent la fraction majeure de la pollution des eaux. Les matières oxydables biodégradables sont celles qui peuvent être éliminées par des microorganismes à qui elles servent de nourriture. Elles sont transformés finalement en constituant cellulaires et en déchets gazeux, dissous ou solides (Koller, 2009).

Le type de traitement biologique utilisé par la station d'épuration de Guelma est celui des boues activées. Ce procédé a été développé par Arden et Lockett en 1914 au Royaume-Uni (in Plagellat, 2004).

L'épuration biologique des eaux résiduaires par le procédé des boues activées repose sur l'activité d'une culture bactérienne aérobie, maintenue en suspension dans un ouvrage spécifique alimenté par l'effluent à traiter est appelé bassin d'aération. Cette culture bactérienne se développe à partir des matières organiques biodégradables apportées par les eaux usées (Canler *et al.*, 2011).

Le bassin d'aération biologique est le cœur de la station d'épuration, puisque la culture microbienne aérobie en suspension dégrade la charge polluante des eaux usées en présence de dioxygène dissous (Bertrand *et al.*, 2011).





Photo 04 : Bassin d'aération biologique (photo prise par Benabassa Marwa).

Les procédés biologiques présentent également des limites :

- Les coûts (investissement et fonctionnement) peuvent être élevés (dimensionnement des installations et des aménagements, nécessité d'oxygéner les cultures et de maintenir des conditions optimales) ;
- Le polluant à éliminer doit être biodégradable ;
- Les durées de traitement sont relativement longues (le temps de séjours de l'effluent à épurer dans le bassin d'aération varie selon la nature et la concentration des polluants) ;
- La méthode aboutit à la formation de quantités importants des boues biologiques (biomasse) qu'il faut traiter (Badot et Crini, 2007).

- **Décantation secondaire**

Le bassin d'aération peut être précédé d'un décanteur secondaire (ou clarificateur) qui a la double fonction de clarifier l'eau en traitement et de concentrer les boues activées pour en permettre le recyclage continu en amont de bassin d'aération (Berné et Cordonnier, 1991).



Photo 05 : Bassin de décantation secondaire (photo prise par Merzoug Khawla).

### 3.4. Traitement tertiaire (chloration)

Le traitement tertiaire désigne un traitement complémentaire permettant d'obtenir une qualité d'effluent traité supérieure à celle obtenue par les procédés biologiques classiques (Koller, 2009).

La méthode la plus ancienne de désinfection est l'utilisation du chlore. Le chlore est injecté directement dans les eaux usées. Il peut être utilisé sous forme de chlore gazeux, hypochlorite de sodium et bioxyde de chlore. Cet oxydant très puissant permet l'élimination de la plupart des microorganismes pathogènes même à faible dose (Bourbon *et al.*, 2015).

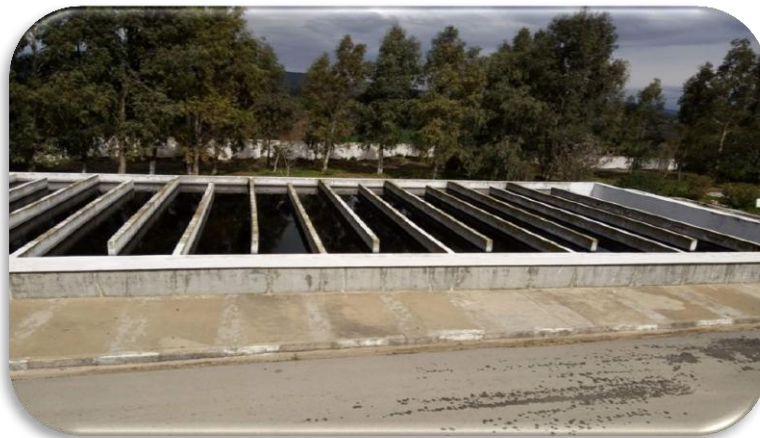


Photo 06 : Bassin de chloration (photo prise par Merzoug Khawla).

#### 4. Point de rejet

En sortie de station d'épuration, l'effluent traité est dirigé, via une conduite de rejet vers l'Oued Seybouse.



Photo 07 : Le point de rejet (photo prise par Benabassa Marwa).

#### 5. Normes des rejets Algériennes

Les normes Algériennes concernant les valeurs limites maximales des rejets d'effluents dans un milieu récepteur sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Normes des rejets Algériennes (STEP, 2012).

Paramètre	Concentration maximale à ne pas dépasser (mg/l)
DBO <sub>5</sub>	≤ 40
DCO	≤ 120
MES	≤ 40
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	≤ 5
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	≤ 2
NO <sub>2</sub>	≤ 2

*Chapitre 02 : Description de la  
zone d'étude (Oued Seybouse)*

## 1. Situation géographique

L'Oued Seybouse draine l'un des principaux bassins versants de l'Algérie. Ce bassin situé au Nord-Est de l'Algérie couvre une superficie totale d'environ 6471km<sup>2</sup>. C'est le bassin le plus vaste, après celui de la Medjerda, de la partie orientale de l'Afrique du Nord et il est subdivisé en six sous-bassins principaux (Figure 2). L'Oued Seybouse prend naissance de la commune de Medjez Amar, wilaya de Guelma (36°26.587''N, 007°18.740''E) à l'ouest de la ville de Guelma et coule sur 134.74 km avant de se déverser dans la mer Méditerranée, près de la commune de Sidi Salem, wilaya d'Annaba (36°51.689''N, 007°46.066''E). Il traverse trois wilayas (Guelma, El-Tarf et Annaba) et reçoit en continue les rejets et les eaux usées des communes et de agglomérations du bassin versant et qui sont au nombre de 68 communes, soit 1.300.000 habitants (Reggam *et al.*, 2015).

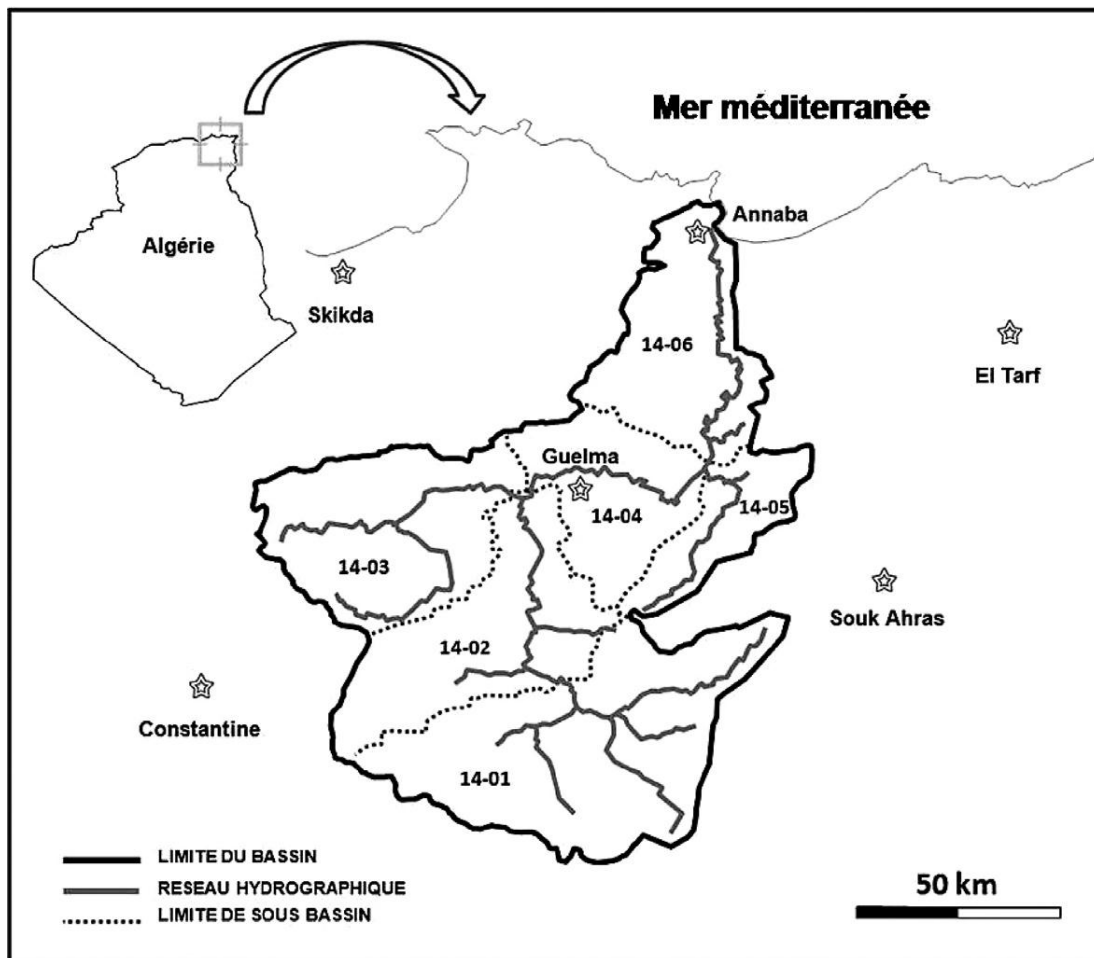


Figure 2 : Bassin-versant de la Seybouse (Algérie) (Khelifa *et al.*, 2011).

Il est généralement divisé en 6 sous-bassins. Nous pouvons distinguer les sous bassins suivants :

### **1.1. Le Bassin de Bouhamdane**

Il est traversé par Oued Bouhamdane dont le largueur est estimé à 37.49 km, qui est alimenté par plusieurs affluents dont les principaux sont :

- Oued Zenati 52.40 km,
- Oued Dardar 10.53 km,
- Oued Sabath 10.86 km,
- Oued El Aria 10.79 km (in Satha Yalles 2008).

La composition des couches lithologiques dominantes du secteur d'Oued Zenati est dominée par des grés, d'argiles et de marnes ne permettant pas d'infiltration d'une grande quantité d'eau. Du côté d'Oued Sabath, il est composé des Marno-calcaires (in Zebsa, 2016).

### **1.2. Le Bassin de Guelma**

Partant de Medjaz Amar, la Seybouse grandisse et ceci par l'union du Bouhamdane et du Cherf débouche dans le Bassin de Guelma. Plusieurs cours d'eau viennent y affluer :

- Oued Boumia 12.70 km,
- Oued Bou Sorra 16.32 km,
- Oued El Maiz 10.16 km,
- Oued Helia 18.41 km,
- Oued Bou Djedra 10.07 km.

La constitution lithologique de la région de Guelma est globalement composée de terrains sédimentaires ; entre Medjaz Amar et Bentabouche une apparition des Marno-calcaires. Ces derniers sont fissurés ce qui permet la constitution de ressources aquifères importantes c'est le cas de celle qui se trouve à l'Ouest de Bouhachana (source de Oued Hlia) qui donne un débit de 60 L/s (in Zebsa, 2016).

### 1.3. Le Bassin du Mellah

Son cours est principalement formé par la réunion de l'Oued Sfa, Oued Cheham et Oued Ranem. Ce dernier porte le nom de Oued R'biba, Sekaka avant de recevoir les eaux de l'Oued Rhirane formé à son tour par la réunion Oued Hammam et Oued R'biba.

Au Nord–Est, les Oueds Bou Redine et Maaza forment Oued El Mellah en aval. Oued Ghanem (considéré comme le principal affluent de Mellah) se salit en traversant les terrains gypseux de la région d'Oued Cheham qui est peu perméable en saison sèche. Alors que les alluvions des terrasses de Bouchegouf semblent plus argileuse que celles de Guelma et son moyennement perméable (in Zebza, 2016).

### 1.4. Le Bassin de la basse Seybouse

La Seybouse acquit un chemin entre Bouchegouf et Dréan, de direction Sud-Nord est la dernière étape à franchir avant d'arriver à la mer. A ce niveau, la Seybouse est alimentée de l'Ouest par les Oueds suivants :

- Oued Ressoul 17.56 km.
- Oued Dardara 25 .56 km.
- Oued Frarah 12.76 km.
- Oued Boudjemaa 17.71 km (in Zebza, 2016).

Tableau 4 : Répartition des sous-bassins de la Seybouse (in Mahdjoub, 2017).

Sous-bassin (code)	Superficie (km <sup>2</sup> )	Nom
14,01	1739	Oued Cherf amont
14,02	1193	Oued Cherf aval
14,03	1108	Oued Bouhamdane
14,04	817	Oued Seybouse (moyenne Seybouse)
14,05	552	Oued Mellah
14,06	1066	Oued Seybouse (Seybouse Maritime)
Total	6475	

## 2. Etude climatique

Le climat est un facteur abiotique important dans l'étude de la typologie et le fonctionnement d'un milieu naturel. Il nous permet de déterminer les composants et les caractéristiques de ce dernier. L'étude des données climatologiques est une opération indispensable dans toute étude hydrogéologique, car elle facilite la compréhension des mécanismes d'alimentation et de circulation des eaux naturelles (in Sayad, 2015).

### 2.1. Les précipitations

Constituant un facteur essentiel qui caractérise le climat d'une région, les précipitations jouent un rôle prépondérant dans le comportement hydraulique des cours d'eau et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines.

La zone d'étude fait partie des régions les plus tempérées et les plus arrosées de l'Algérie, elle est soumise à un climat méditerranéen caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec, dont le régime dépend principalement de la précipitation et de la température (Figure 3) (in Sayad, 2015).

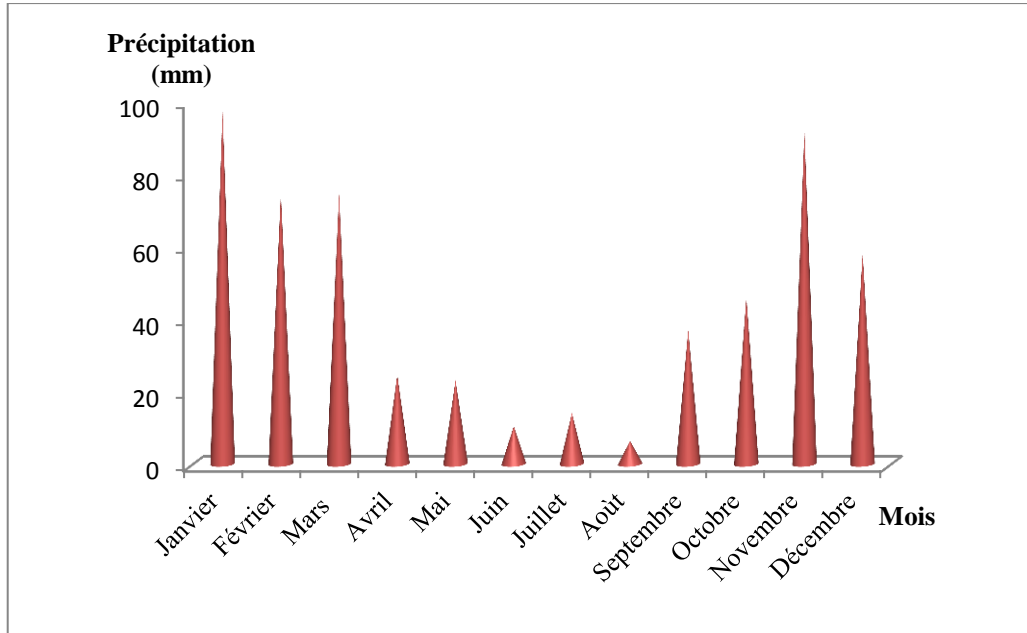


Figure 3 : Précipitation moyenne mensuelle en (mm) durant la période (2013-2017)  
(Station de météo, 2018)



## 2.2. La température

La température est le deuxième facteur important dans l'étude climatique car agisse directement sur le phénomène d'évapotranspiration et donc le déficit d'écoulement annuel et saisonnier.

Les moyennes mensuelles les plus élevées sont observées pendant la période d'été entre juin et octobre. Par contre les températures les plus basses sont observées pendant la période hivernale entre décembre et mars (Figure 4). Le suivi de l'évolution de la température nous donne une courbe en cloche ou les maximums sont observés en été et les minimums en hiver (in Mahdjoub, 2017).

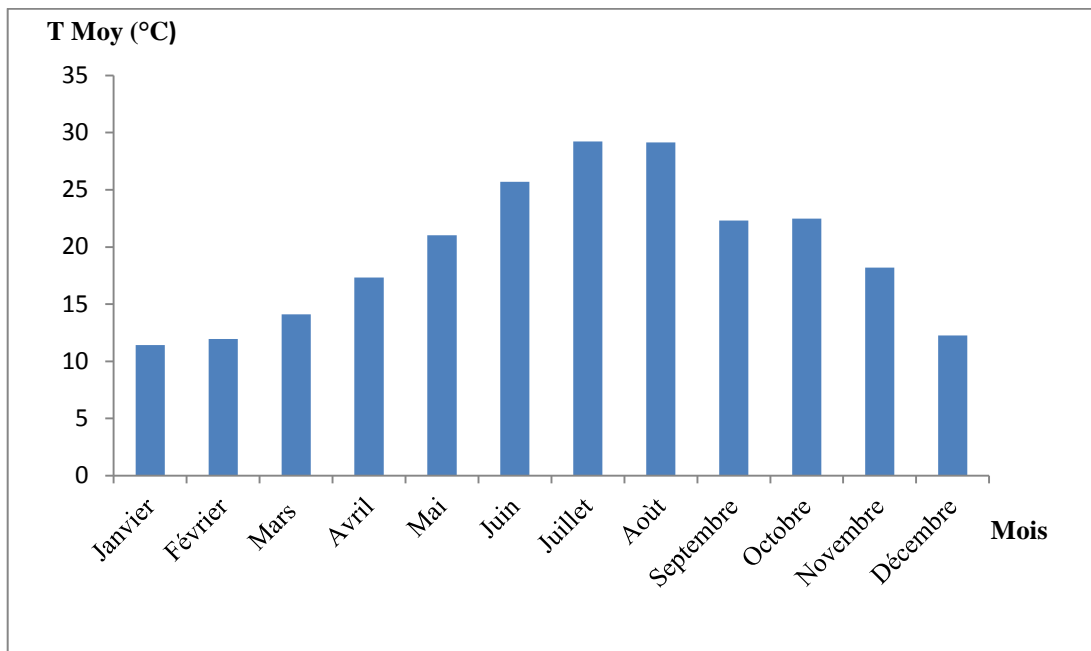


Figure 4 :Température mensuelle en (°C) durant la période (2013-2017) (Station de météo, 2018)

## 2.3. L'humidité

L'humidité de l'air est son contenu en vapeur d'eau. Elle s'exprime par l'humidité relative, qui est la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère exprimé en pourcentage par rapport à l'humidité saturante (100%) pour la température considérée (Brun et Mary, 2003).

Les moyennes mensuelles de l'humidité relative varient de 76.54 % en hiver (au mois de janvier) à 56,12 % en été (au mois de juillet) (Figure 5).

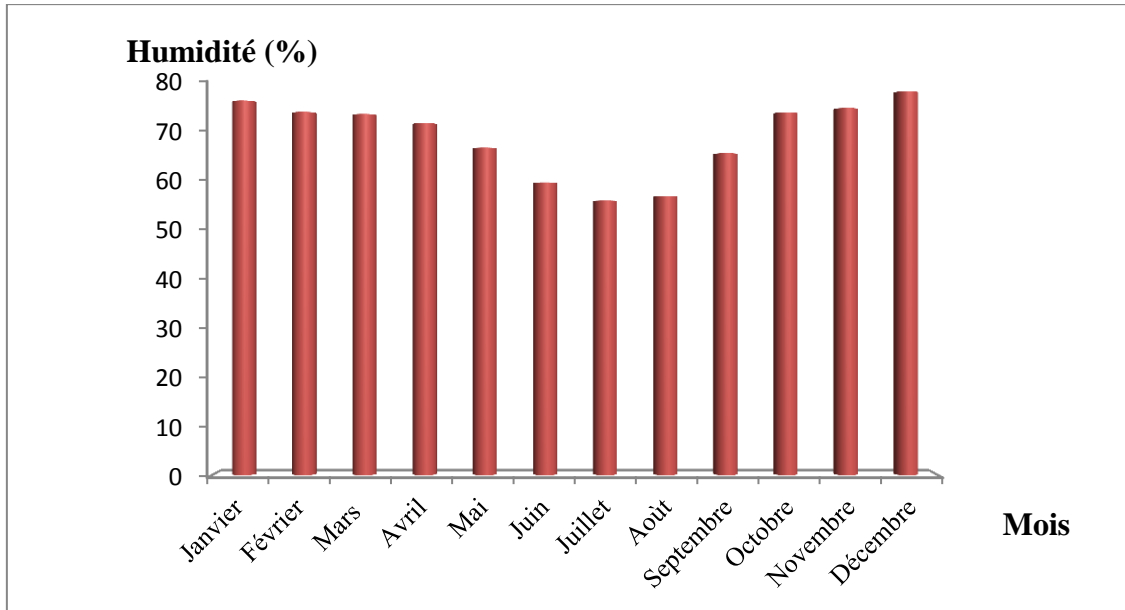


Figure 5 : Variation mensuelle de l'humidité relative durant la période (2013-2017) (Station de météo, 2018).

#### 2.4. Le vent

Les vents ont un effet important sur les phénomènes d'évaporation de précipitation et à un degré moindre sur les températures (in Attoui, 2014). La région d'étude est prédominée par des vents avec vitesse moyenne de l'ordre de 1,7 m/s (Figure 6).

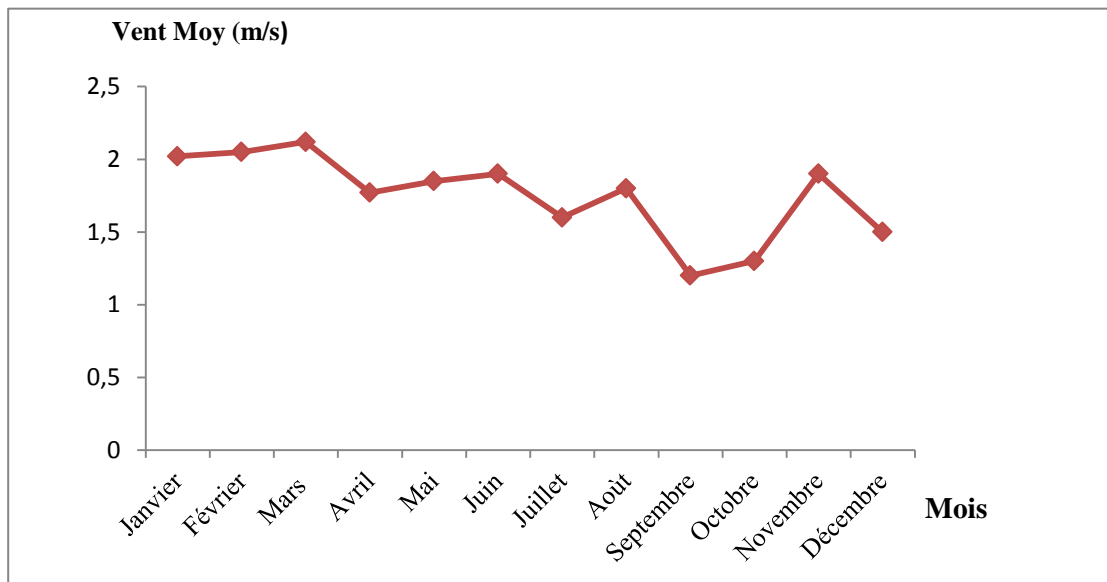


Figure 6 : Variation mensuelle de vent durant la période (2013-2017) (Station de météo, 2018)

### 3. Réseau hydrographique

Le réseau hydrographique est l'ensemble des cours d'eau et les affluents permanents ou temporaires, par lesquelles s'écoulent toutes les eaux de ruissellement et convergent vers un seul point de vidange du bassin versant (in Reggam, 2015).

La zone d'étude est caractérisée par un réseau hydrographique (Figure 7) constitué par un oued principal : la Seybouse qui parcourt la plaine. Ces affluents sont : Oued Maiz, Oued Zimba, Oued Skhoune, Oued Bou Sorra, Oued Fragha, Oued Djefeli, Oued Meboudja...etc (in Bechiri, 2011).

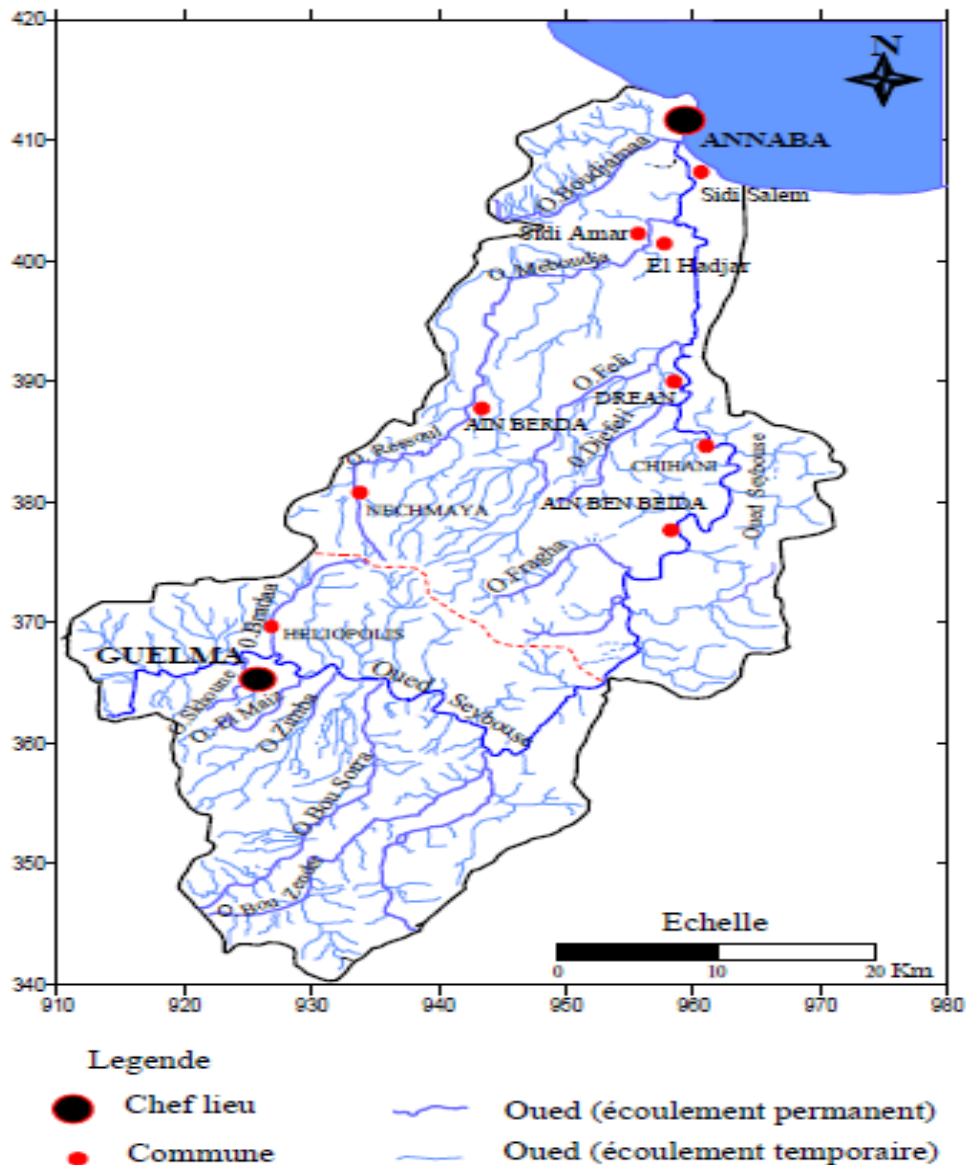


Figure 7 : Carte de réseau hydrographique (in Bechiri, 2011).

## 4. Aperçu socio-économique

La région d'étude est une région à vocation agricole et industrielle (in Khadri, 2009).

### 4.1. L'agriculture

La région de Guelma est une région à vocation agricole principalement malgré l'installation de nombreuses petites industries agroalimentaires sur les deux rives de la Seybouse. L'agriculture est observée sur l'ensemble de la plaine de Guelma avec une très grande variété de culture : céréales, maraichères, arboriculture et d'élevage de volailles et bétails (in Bouchelaghem, 2017).

Dans le cadre d'un processus de développement du pays, le bassin de la Seybouse fait l'objet depuis le début des années 1980, d'aménagements hydrauliques et hydro- agricoles, destinés à régulariser les eaux d'écoulement superficiel, l'irrigation des cultures et l'alimentation en eau des localités limitrophes :

- Le barrage de Hammam Debagh sur l'Oued Bouhamdane d'une capacité utile de 180 hm<sup>3</sup>, destiné au périmètre irrigué de Guelma - Bouchegouf (12900 ha) et à l'A.E.P de Guelma.
- Le barrage de Foum El Khanga sur l'Oued Cherf amont, d'une capacité de 157 hm<sup>3</sup> est destiné à l'irrigation. Deux autres barrages, destinés à l'irrigation ( Koudiat Harricha dans le Cherf aval et Koudiat Mahcha dans la Basse Seybouse), sont programmés pour les années à venir (in Bouchelaghem, 2017).

### 4.2. L'industrie

Il y a lieu à noter également, que pendant les dernières années, de nombreux créneaux d'investissement ont été développés à savoir :

- L'extraction et la transformation des minéraux non ferreux, gisements de Kaolin, de marbres, d'agrégats et d'argiles.
- Les constructions mécaniques et mécano-soudées.
- L'agro-industrie.
- L'industrie de la sous-traitance

Alors que le tissu industriel existant s'active autour de :

- Une unité de céramique.
- Une unité cycle et motocycle.
- L'ENA sucre- société publique privatisée récemment et attribuée à un groupe Italien.
- Une carrières de marbre de MAHOUNA dont l'exploitation devrait être intensifiée par l'augmentation du nombre de concessions minières et du nombre d'unités artisanales de transformation du marbre (Découpes à façon, bimbeloterie, carreaux de marbre reconstitué) des ressources sylvestres dont l'exploitation doivent être rationalisée.
- Les activités de transformation du bois qui doivent être développées.(in Guettaf, 2015).

#### **4.3. Population**

Un million trois cent mille (1.300.000) habitats, répartis en soixante-huit (68) communes, et sept (07) wilaya, trente trois (33) communes sont entièrement incluses dans la bassin et trente-cinq (35) partiellement (in Reggam, 2015).

### **5. Pédologie de la Seybouse**

La Seybouse est constituée par des formations sablo-argileuses de 2 à 20 m d'épaisseur avec une perméabilité de l'ordre de  $10^{-6}$  à  $5 \cdot 10^{-5}$  m/s, et une résistivité de l'ordre  $2,3 \cdot 10^{-3}$  à  $4,2 \cdot 10^{-3}$  m/s, par contre au lit de l'Oued, les formations sont constituées par des matériaux alluvionnaires, des limons et des cailloux (in Charchar, 2009). Le débit de l'Oued Seybouse varie entre 0 et  $100 \text{ m}^3/\text{s}$ , mais pendant les périodes de fortes averses il peut atteindre des valeurs de l'ordre de  $630 \text{ m}^3/\text{s}$  (Bougherira et Aoun-Sebaiti, 2012).

## 6. Cadre biotique de la Seybouse

### 6.1. La faune

Le lit de l'Oued Seybouse est largement fréquenté par une faune très diversifiée, les plus importants sont : le sanglier, l'herisson, le renard... et une avifaune aquatiques représenté par la cigogne, l'héron garde – bœufs, l'héron cendré, la poule d'eau. Nous pouvant aussi observer des ovins, des bovins, des caprins dont les riverains les ramenant sur les berges, tout au long de l'Oued (in Charchar, 2009).

### 6.2. La flore

De points de vue floristiques, le couvert végétal a une influence directe sur l'écoulement fluvial ainsi que les facteurs orographiques et climatiques. La résistance à l'écoulement est d'autant plus grande que le couvert végétal est plus dense (in Reggam, 2015).

La flore de la région peut être regroupée en deux communautés, une qui regroupe les plantes hydrophytes telle que le *Thpha angustifolia*, *Nasturtium officinale*, *Alisma plantago - aquatica michaletti*, *Apium nodiflorum*, *Phragmites australis subsp michaletti*, et la deuxième qui regroupe une flore dite sauvage loin des bords d'eau qui regroupe *Calendula arvensis*, *Centaurea napifolia*, *Galactites tomentosa*, *Taraxacum officinale*, *Brassica napus*, *Diplotaxis erucoides* et beaucoup d'autres espèces (in Zebsa 2016).

## 7. Dangers menaçant le cours de la Seybouse

Le bassin de la Seybouse est confronté à la pollution urbaine, industrielle, et agricole. Cette pollution émane des différentes villes, usines et zones agricoles situées sur ses 2 rives (Tableau 5).

Dans le bassin de la Seybouse, la pollution a atteint un degré élevé. 4,5 millions de m<sup>3</sup> sont rejetés annuellement dans les oueds, sur lesquels 3 millions de m<sup>3</sup> sont des huiles usagées (Bougherira et Aoun-Sebaiti, 2012) provenant des unités industrielles, potentiellement polluées (voir la couleur et l'odeur) qu'il n'est pas besoin de procéder à des analyses scientifiques pour le prouver (in Elafri, 2009).

Tableau 5: Les principales sources de pollution pour la Seybouse (in Charchar, 2009).

Les agglomérations	Les industries dans le bassin	Les périmètres d'irrigation	Les industries particulièrement polluantes
Annaba : 280.000 hab Guelma : 140.000 hab Sidi Amar : 50.000hab El Bouni : 40.000 hab	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 86 unités industrielles importantes</li> <li>- 8 seulement ont leur propre station d'épuration</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Guelma Bouchegouf (12900ha).</li> <li>- Bounamoussa (4500ha).</li> </ul>	<p><b>Levureries Bouchegouf</b> : rejets d'eau noire</p> <p><b>Carrelage à Guelma</b> : rejets d'eau minéralisée</p> <p><b>Sucreries</b> : eaux riches en matières organiques en suspension.</p>

## *Chapitre 03 : Matériel et méthodes*



L'étude expérimentale consiste à effectuer des analyses physico-chimiques et bactériologiques de l'eau de l'Oued Seybouse qui traverse la ville de Guelma. Les analyses bactériologiques ont été réalisées au sein du laboratoire de la microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers De l'université 8 Mai 1945 Guelma. L'étude de qualité de l'eau comporte trois étapes :

- Prélèvement ;
- Analyse ;
- Interprétation.

### 1. Choix du site de prélèvement

Pour mieux évaluer l'impact de la STEP de Guelma sur la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau de l'Oued Seybouse, nous avons choisi deux points de prélèvements tout au long du cours d'eau détaillés dans les tableaux. Il s'agit des points situés avant, et après le rejet de STEP.

Les prélèvements ont été effectués pendant les mois de mars et d'avril 2018.

Tableau 6 : Périodes et sites de prélèvement

Sites de prélèvement (S)	Nombre de prélèvement (P)	Date de prélèvement	Heure de prélèvement	Type d'analyses effectuées
S1	P 1	04-03-2018	11 :30	Physico-chimique bactériologique
	P 2	23-04-2018	9 :43	
S2	P 1	04-03-2018	10 :27	
	P 2	23-04-2018	10 :41	

Tableau 7 : Caractéristiques des sites de prélèvement.

Sites de prélèvement	X	Y	Elévation (m)	Caractéristiques
S1	36°29.091	007° 26.324	182.7	Avant la station d'épuration
S2	36°28.910	007°26.654	192	Après la station d'épuration



Photo 08 : Sites de prélèvement à gauche : S1  
à droite : S2 (photo prise par Benabassa Marwa).

## 2. Prélèvement

### 2.1. Matériel de prélèvement

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est l'opération qui consiste à prendre un certain volume représentatif du milieu à étudier (Aminot et Kérouel, 2004). Il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée (Rodier, 1984).

L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physicochimiques de l'eau (gaz dissous, matière en suspension, etc.) (in Reggam, 2015).

Pour les analyses microbiologiques, le récipient utilisé doit assurer, une fois bouché, une protection totale contre toute contamination. On peut utiliser des flacons en verre de

250, 500 ou 1000 ml, de préférence borosilicatés, Avant l'usage, ces flacons doivent être soigneusement lavés, puis rincés car ils ne doivent rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. les flacons sont enveloppés de papier filtre et stérilisés soit à l'autoclave (120C°) durant 15 minute, ou au four Pasteur (170C°) durant 1 heure (Rodier, 2016).

Il est recommandé d'opposer une étiquette permettant d'inscrire ultérieurement l'identification du prélèvement (Rodier *et al.*, 2009) : le nom du site, la date, l'heure et l'ordre de prélèvement , pour éviter toute confusion (in Benyahia et Stiti, 2017).

Pour l'analyse bactériologique, le flacon ne sera jamais complètement rempli afin de permettre l'homogénéisation de l'ensemble au moment de la mise en culture (Delarras et Trébaol, 2003).

## **2.2. Méthode de prélèvement**

Le mode de prélèvement varie suivant l'origine de l'eau. Dans le cas d'une rivière, d'une nappe ouverte (bassin), d'un réservoir, la bouteille est plongée à une certaine distance du fond (30 cm) et de la surface, assez loin de rive ou des bords ainsi que pour des obstacles naturels ou artificiels, en dehors des zones mortes ou des remous, et en évitant la remise en suspension des dépôts.

Durant les prélèvements, les flacons sont rincés trois fois avec de l'eau à analyser puis remplis jusqu'au bord. Le bouchon est placé de telle manière à ce qu'il n'y ait aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. Les prélèvements s'effectuent dans les meilleures conditions de stérilisation (in Reggam, 2015).

## **3. Transport et conservation au laboratoire :**

La teneur initiale en germes des eaux risque de subir des modifications dans le flacon, après un prélèvement. Pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10 °C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon (Rodier *et al.*, 2009).

## 4. Analyses effectuées

### 4.1. Les analyses physico-chimiques

La pollution résulte de l'introduction dans un milieu de substances conduisant à son altération. Elle se traduit généralement par des modifications des caractéristiques physico-chimiques du milieu récepteur (in Achiche et Larbi, 2010).

Les propriétés physico-chimiques de l'eau lui confèrent une certaine qualité la rendant apte à assurer :

- Un milieu d'accueil pour les biocénoses animales et végétales.
- Un usage humain (eau potable, irrigation abreuvement)..

Certains paramètres physico-chimiques (pH, température, oxygène dissous et conductivité) ont été mesurés directement sur le terrain. Afin d'éviter une modification significative due aux échanges éventuelles que pourraient avoir les échantillons avec l'extérieur (activités des micro-organismes, les réactions d'oxydoréductions) (N'guessan *et al.*, 2017; Arouya, 2011). Les mesures sont effectuées, soit directement dans la colonne d'eau avec des sondes multiparamétriques, soit sur des échantillons prélevés en surface par remplissage manuel de flacons (Richard *et al.*, 1997).

#### 4.1.1. Température

La température est un facteur écologique important du milieu. Elle permet l'étude et la surveillance de la qualité de l'eau (in Achiche et Larbi, 2010). Son élévation s'accompagne d'une diminution de la densité, d'une réduction de la viscosité, d'une augmentation de la tension de vapeur saturante à la surface et d'une diminution de la solubilité des gaz (in Reggam, 2015).

Elle agit aussi sur les réactions chimiques et biochimiques, le développement et la croissance des organismes vivant dans l'eau et particulièrement les microorganismes (Makhoukh *et al.*, 2011).

Elle varie en fonction de la température extérieure (l'air), des saisons et la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sol (in Debieche, 2002).

La température influe également sur certains paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* (notamment pH, conductivité, etc.) (Bernhard *et al.*, 2009).

#### 4.1.2. Conductivité

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques (Arouya, 2011; Rodier *et al.*, 2009).

La mesure de la conductivité permet d'apprécier la quantité de sels dissous (degré de minéralisation) dans l'eau. Elle est également en fonction de la température de l'eau : elle est plus importante lorsque la température augmente (in Elafri, 2009).

la conductivité électrique d'une eau s'exprime généralement en micro Simens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (Rodier, 1984).

#### 4.1.3. pH

Le pH est un paramètre qui permet de mesurer l'acidité ou l'alcalinité d'une eau (in Achiche et Larbi, 2010).

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Habituellement il varie entre 7,2 et 7,6. Cependant, dans certains cas, il peut varier de 4 à 10 en fonction de la nature acide ou basique des terrains traversés. Des pH faibles augmentent le risque de présence de métaux sous une forme ionique plus toxique (in Reggam, 2015).

Les organismes sont très sensibles aux variations du pH, et un développement correct de la faune et de la flore aquatique n'est possible que si sa valeur est comprise entre 6 et 9.

L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les métaux dont il peut diminuer ou augmenter la disponibilité et donc la toxicité (in Achiche et Larbi, 2010).

#### 4.1.4. Oxygène dissous

La présence de l'oxygène dans les eaux est le résultat des échanges entre l'atmosphère et la surface de l'eau ainsi que de l'activité photosynthétique du phytoplancton (in Reggam, 2015). Il est l'un des paramètres particulièrement utile pour l'eau et constitue un excellent indicateur de sa qualité. C'est un des paramètres les plus sensibles à la pollution. Sa valeur nous renseigne sur le degré de pollution et par conséquent sur le degré de l'auto-épuration d'un cours d'eau (Makhoukh *et al.*, 2011).

La teneur de l'eau en oxygène varie selon plusieurs facteurs :

- L'origine de l'eau (eau superficielle riche ou presque saturée et l'eau profonde contenant quelque mg/l).
- La température, la pression atmosphérique et la salinité.
- La présence au niveau des eaux superficielles, des végétaux, des microorganismes, des algues et des phytoplanctons (in Charchar, 2009).

Tableau 8 : Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température (De Villers *et al.*, 2005).

Température (C°)	Solubilité (mg O <sub>2</sub> /l)
0	14.16
5	12.37
10	10.92
15	9.76
20	8.84
25	8.11

Les autres paramètres (DCO, DBO<sub>5</sub>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, MES) sont réalisés au niveau de laboratoire de la station d'épuration des eaux usées de la ville Guelma.

#### 4.1.5. Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène est la quantité de dioxygène consommée par les matières oxydables dans des conditions réactionnelles spécifiques, est l'un des paramètres utilisés pour quantifier la pollution organique d'une eau. L'unité de la DCO est le milligramme d'O<sub>2</sub>/l équivalente à la quantité de dichromate de potassium consommée par les matières dissoutes et en suspension d'un échantillon d'eau (Cardot et Gilles, 2013).

La DCO peut être réalisée plus rapidement que la DBO (oxydation « forcée ») et donne une image de la matière organique présente, même quand le développement de micro-organismes est impossible (présence d'un toxique par exemple) (in Elafri, 2009).

➤ **Principe**

Les matières oxydables présentes dans l'eau sont oxydées par le dichromate de potassium en milieu acide sulfurique à chaud en présence de catalyseur (Tortora *et al.*, 2012).

➤ **Mode opératoire**

Les opérateurs doivent être informés des risques inhérents à la manipulation de solutions concentrées d'acide sulfurique et de réactifs oxydants à la température élevée (ébullition du mélange). Toutes les précautions nécessaires doivent en conséquence être prises (Rodier *et al.*, 2009).

La méthode appliquée consiste à introduire 2 ml d'échantillon dans un milieu acide contenant le réactif approprié (solution commerciale composée de  $\text{HgSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ). L'ensemble est chauffé dans un four à DCO à  $150^\circ\text{C}$  pendant deux heures, après refroidissement la lecture se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 448 \text{ nm}$  (in Bedouh, 2014).

#### **4.1.6. Demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ )**

La  $\text{DBO}_5$  ou Demande biochimique en Oxygène sur 5 jours, représente la quantité d'oxygène nécessaire aux micro-organismes pour oxyder (dégrader) l'ensemble de la matière organique d'un échantillon d'eau maintenu à  $20^\circ\text{C}$ , à l'obscurité, pendant 5 jours (in Attoui, 2014). Ce paramètre constitue un bon indicateur de la teneur en matière organique biodégradable d'une eau naturelle polluée ou d'une eau résiduaire (in Hadeif et Hasni, 2017).

➤ **Principe**

La méthode de mesure classique de la  $\text{DBO}_5$  est réalisée par dilution et ensemencement. Le teneur en oxygène de l'eau est déterminé immédiatement après le prélèvement, puis à nouveau après un temps d'incubation de 5 jours à  $20^\circ\text{C}$ . La différence entre les deux mesures correspond à la consommation d'oxygène (Rodier *et al.*, 2009).

➤ **Mode opératoire**

- Remplir un flacon d'incubation avec l'échantillon ;
- Déterminer la concentration en oxygène dissous ( $C_0$ ) en mg/l ;
- Mettre à incuber à 20°C à l'obscurité pendant 5 jours ;
- Déterminer après incubation de 5 jours la concentration en oxygène dissous ( $C_5$ ) en mg/l (Rodier *et al.*, 2009).

➤ **Expression des résultats**

La  $DBO_5$  exprimée en mg d'oxygène par litre correspond à :

$$DBO_5 = C_0 - C_5$$

5 = nombre de jours d'incubation (5)

$C_0$  = concentration en oxygène dissous dans l'échantillon au temps 0

$C_n$  = concentration en oxygène dissous dans l'échantillon après incubation (Rodier *et al.*, 2009).

Tableau 9 : L'échelle de la  $DBO_5$  (in Elafri, 2009).

Situation	$DBO_5$ (mg/l d'O <sub>2</sub> )
Eau naturelle pure et vive	$DBO_5 < 1$
Rivière légèrement polluée	$1 < DBO_5 < 3$
Rejet station d'épuration efficace	$20 < DBO_5 < 40$
Egout	$100 < DBO_5 < 400$

**4.1.7. Les Orthophosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)**

Le phosphore peut être présent dans l'eau sous la forme ionisée (orthophosphates) ou plus ou moins polymérisé (polyphosphates minéraux et/ou organiques). Il n'est pas directement toxique pour les poissons et le milieu aquatique, mais il est généralement responsable de l'accélération des phénomènes d'eutrophisation (STEP, 2012).



➤ **Principe**

En milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les orthophosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrophotométrique. Certaines formes organiques pouvant être hydrolysées au cours de l'établissement de la coloration et donner des orthophosphates, le développement de la coloration est accélérée par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double d'antimoine et de potassium (Arouya, 2011; Rodier, 1984).

➤ **Mode opératoire**

La méthode consiste à introduire 0.5 ml d'échantillon dans un milieu contenant le réactif approprié (tube commercialisée de la marque Hach). La lecture se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 880$  nm.

**4.1.8. Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )**

Dans l'eau, l'azote se trouve sous deux formes : L'ammoniac ( $\text{NH}_3^+$ ) et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). La présence de l'ammonium dans les eaux résulte le plus souvent de la décomposition de matière organique. Il est utilisé comme indicateur de pollution et il est souvent responsable de la mauvaise classe de l'eau d'une rivière (in Reggam, 2015).

➤ **Principe**

En milieu alcalin et en présence de nitroprussiate qui agit comme un catalyseur, les ions ammonium traités par une solution de chlore et de phénol donnent du bleu d'indoophénol susceptible d'un dosage colorimétrique (Rodier, 1984).

➤ **Mode opératoire**

La méthode consiste à introduire 0.5 ml d'échantillon dans un milieu contenant le réactif approprié (tube commercialisée de la marque Hach). La lecture se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 694$  nm.

#### 4.1.9. Matières en suspension (MES)

Ce sont des particules solides très fines et généralement visibles à l'œil nu, ces particules peuvent être d'origine minérale (argile, limons, sables,...) ou organique (produits de la décomposition des matières végétales ou animales) (in Charchar, 2009). Cependant des teneurs élevées en MES peuvent affecter les propriétés habituel d'une eau :

- Changement de coloration et augmentation de la turbidité ;
- Empêcher la pénétration de la lumière, (diminution de la transparence de l'eau) ;
- Elévation de la température (les MES absorbent l'énergie solaire) ;
- Diminuer l'oxygène dissous et limiter alors le développement de la vie aquatique et créer des déséquilibres entre diverses espèces ;
- Elle peut être responsable de l'asphyxie des poissons par colmatage des branchies (in Elafri, 2009).

##### ➤ Principe

La détermination des MES dans l'eau s'effectue par filtration, l'eau est filtrée sur un filtre de porosité 0,45µm et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle (Rodier *et al.*, 2009; Arouya 2011).

##### ➤ Mode opératoire

- Sécher la membrane de filtration dans une étuve à 105 °C et peser après le passage au dessiccateur ;
- Mettre la membrane sur la rampe à filtration sous vide et ajouter 200 ml d'eau à analyser ;
- Après la filtration, sécher la membrane à 105 C° pendant 20 minutes, laisser refroidir au dessiccateur puis peser une deuxième fois (in Reggam, 2015).

##### ➤ Expression des résultats

La teneur de l'eau en matières en suspension (mg/l) est donnée par l'expression :

$$\text{MES} = [(P_2 - P_1) / V] 1000$$

Ou :

- P<sub>1</sub> : poids du filtre avant filtration (en mg)
- P<sub>2</sub> : poids du filtre après filtration et séchage à 105 °C pendant une heure (en mg)
- V : volume d'eau filtré en ml (Rodier *et al.*, 2009).

## 4.2. Analyse bactériologique

Les analyses bactériologiques concernent souvent, non pas des micro-organismes pathogènes, mais des germes jouant un rôle d'indicateurs sans que leur présence constitue nécessairement un risque en soi pour la santé publique. Sont ainsi distingués deux types principaux d'indicateurs. Les indicateurs de contamination fécale permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des micro-organismes pathogènes. Les indicateurs d'efficacité de traitement permettent d'évaluer la qualité d'un traitement de désinfection de l'eau vis-à-vis de micro-organismes pathogènes dont la présence peut être redoutée dans l'eau brute utilisée (Rodier, 2016).

### 4.2.1. Dénombrement des germes totaux à 22°C et à 37°C

Cet examen vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de microorganismes, en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles de culture (Rodier *et al.*, 2009).

#### ➤ Principe

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu strictement défini et non sélectif. La lecture est faite après 48 heures d'incubation à 37 °C ou après 72 heures d'incubation à 22 °C (Rodier *et al.*, 2009).

#### ➤ Mode opératoire

- A partir de l'eau à analyser (Solution mère = 1) et des dilutions décimales  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ , porter aseptiquement 1 ml dans trois boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage ;
- Ajouter 15 ml de TGEA (Gélose glucosée tryptonée à l'extrait de levure) fondu et refroidi à environ 40°C ( in Zouag et Belhadj, 2017) ;
- Agiter doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire des bulles et sans mouiller les bords de la boîte. Le milieu doit être coulé 10 minutes au plus tard après répartition de l'eau à analyser (Rodier *et al.*, 2009) ;
- Retourner les boîtes et incuber, une à 37 °C pendant 24 h à 48 h, l'autre à 22 °C pendant 72 h. à l'obscurité (Figure 9) (in Hadeef et Hasni, 2017).

➤ **lecture**

Après la période d'incubation spécifiée, nous procédons, à l'aide du compteur, à la numération des colonies pour chaque boîte. Une première lecture se fera à 24 h, une seconde à 48h et une dernière à 72 h (les colonies se présentent sous forme lenticulaire en masse) (in Terbeche, 2006).

➤ **Expression des résultats et Interprétation**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte deux remarques suivantes :

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Le résultat sera exprimé par millilitre d'eau à analyser à 22° et à 37°C (Labres, 2002)

Le nombre d'UFC (Unités Formant Colonies), correspondant au nombre (N) des microorganismes dénombrés par ml à 37 °C et à 22 °C, est donné par :

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

Où :

N : Nombre d'UFC par ml de produit initial.

$\sum c$  : Somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution (Djenidi, 2016).

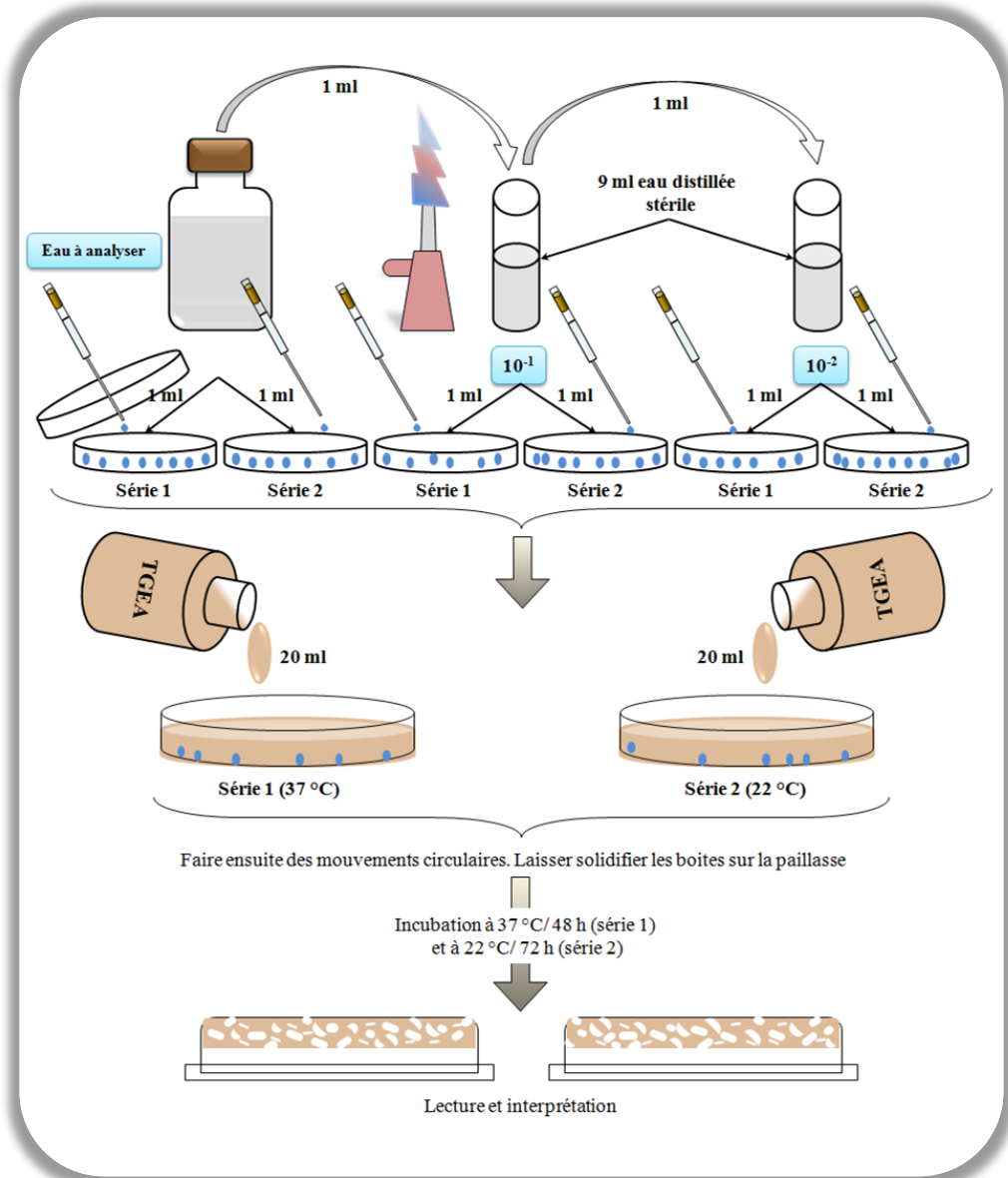


Figure 8 : Protocole de recherche et de dénombrement des germes totaux à 37 °C et 22 °C dans les eaux (in Abdellioui *et al.*, 2012).

#### 4.2.2. Dénombrement des germes test de contamination fécale

Parmi les germes décrits dans les fèces humaines et animales, 3 groupes bactériens ont été rapidement sélectionnés comme indicateurs de contamination fécale en raison de leur omniprésence dans la microflore intestinale et de leur facilité de dénombrement :

- les coliformes;
- les streptocoques fécaux;
- les Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR) (in Pourcher, 1991).

Tableau 10 : les milieux et les réactifs utilisés pour le dénombrement des germes test de contamination fécale.

<b>Recherche et dénombrement</b>	<b>Milieu</b>
Coliforme totaux et fécaux	BCPL S/C, Shubert (ou bien l'eau peptoné exempté d'indol), Kovac
Streptocoques fécaux	Rothe S/C, milieu Eva Litsky
Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	Milieu viande foie, sulfite de sodium, alun de fer

#### **4.2.2.1. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

Le terme coliformes a été proposé par Breed et Norton en 1937 pour désigner les bactéries fermentant le lactose, recherchées comme indicateurs de pollution fécale (Pourcher, 1991). La définition de ce groupe de germes selon les normes ISO (International Organization for Standardization) comprend des bactéries Gram négatives, non sporulées, oxydases négatives, anaérobies ou aérobies facultatives, capables de se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayant les mêmes propriétés, capables de fermenter le lactose avec production de gaz et d'acide en 48 heures à une température de 35-37 °C).

Le terme de coliformes fécaux ou de coliformes thermo-tolérantes correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44 °C (Rodier, 2016).

##### **➤ Mode opératoire**

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

Cette technique se fait en deux étapes consécutives :

- Le test présomptif : Réservé à la recherche des coliformes ;
- Le test confirmatif : Réservé à la recherche des coliformes fécaux et *E. coli* (in Merzoug, 2015).

- **Test de présomption**

Il est effectué en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol simple concentration (BCPL S/C). Tous les tubes sont munis d'une cloche de Durham pour déceler le dégagement éventuel du gaz dans le milieu.

- Prélever 1 ml de la solution mère à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la première série contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-1}$  ;
- Nous prélevons 1 ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$  ;
- Transférer 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution  $10^{-3}$  ;
- Refaire la technique pour les 3 tubes restants de BCPL afin d'obtenir 6 tubes de BCPL, et refaire la même opération pour 2 autres séries (in Abdellioui *et al.*, 2012).

Après inoculation, agiter pour homogénéiser sans faire pénétrer d'air dans la cloche de Durham, et placer les tubes dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures, procéder à une première lecture après cette incubation (Rodier *et al.*, 2009).

Considérer comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) ;
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue un témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu) (Bouhaous et Bengharez 2012).

- **Test de confirmation**

- Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.
- Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

- L'incubation se fait cette fois à 44 °C pendant 24 heures.

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien accompagné d'un dégagement gazeux,
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes de réactifs de Kovacs (Bouhaous et Bengharez 2012).

➤ **Expression des résultats**

Exprimer le nombre de coliformes totaux et de coliformes thermotolérants par ml d'eau à l'aide de la table NPP (Annexe 1) (Delarras et Trébaol, 2003). Etant donné que les coliformes fécaux font partie des coliformes totaux, il est impossible de trouver plus de coliformes fécaux que de coliformes totaux (in Merzoug, 2015).



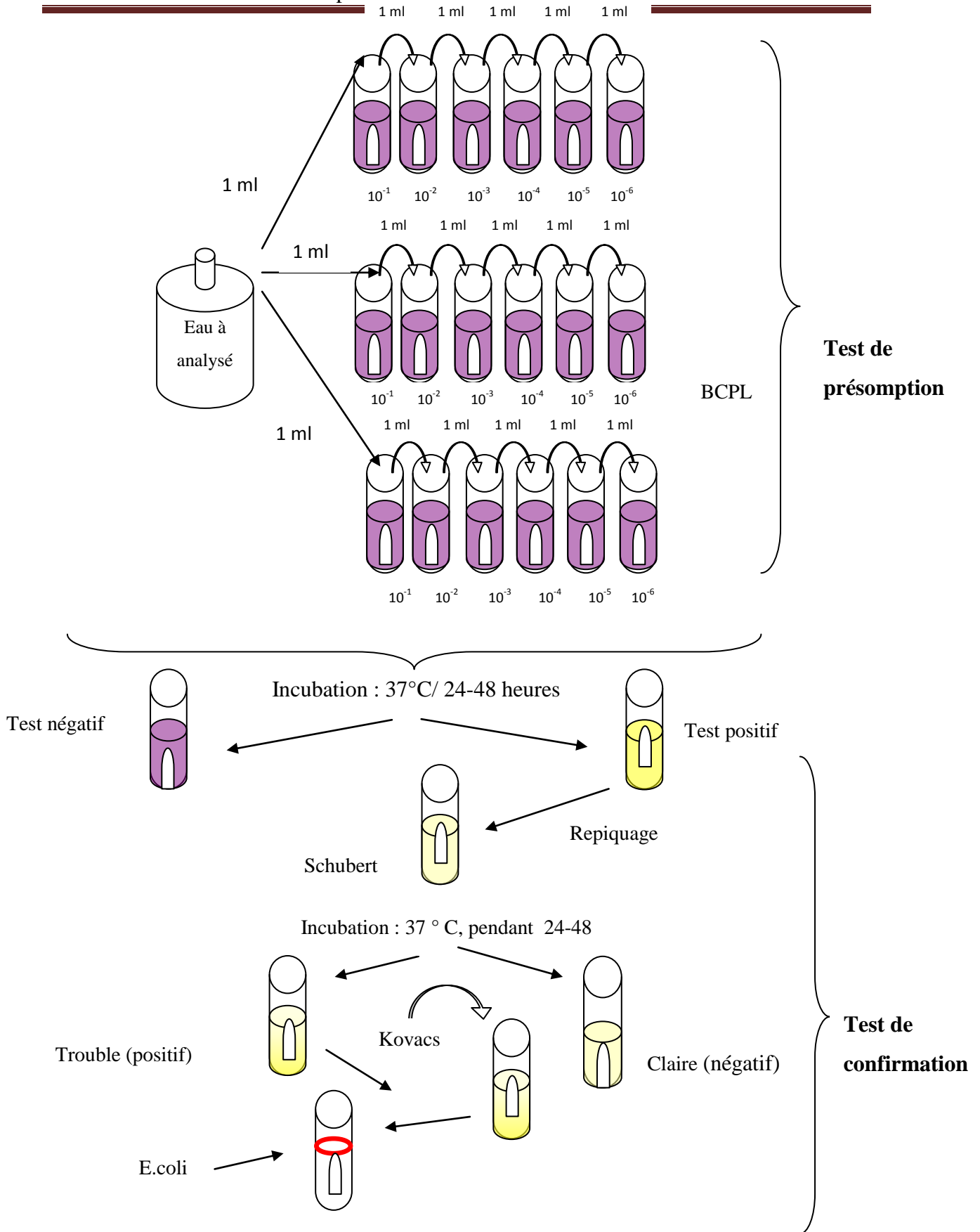


Figure 9 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux en milieu liquide

#### 4.2.2.2. Dénombrement des streptocoques fécaux

Plus précisément, il s'agit de streptocoques et entérocoques fécaux du groupe D (Delarras, 2000). Ils sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal (Rodier *et al.*, 2009).

##### ➤ Mode opératoire

Les streptocoques fécaux sont dénombrés sur le milieu Rothe (l'agent sélectif est l'azide de sodium) après incubation 48 heures à 37 °C, ce test est suivi d'un test confirmatif sur le milieu Eva Litsky (Tir *et al.*, 2017).

##### ▪ Test de présomption

- Après homogénéisation, nous prenons aseptiquement 1 ml de l'échantillon et on l'introduit dans le premier tube de la première série contenant 9 ml du milieu Rothe S/C pour avoir la dilution  $10^{-1}$ . Homogénéiser soigneusement, par agitation, le contenu des tubes ;
- Transférer 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube contenant 9 ml du milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$  ;
- Refaire la technique avec les tubes de Rothe restant pour obtenir 6 tubes du milieu Rothe, et avec les séries 2 et 3 (in Abdi *et al.*, 2013) ;
- Incuber les tubes à 37 °C et les examiner après 24 et 48 heures. Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif (Rodier *et al.*, 2009).

##### ▪ Test de confirmation

- Agiter les tubes de Rothe présentant un trouble ;
- Repiquer une anse du contenu de chacun de ces tubes dans un tube de milieu d'Eva Litsky (Delarras et Trébaol, 2003) ;
- L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence d'un streptocoque fécal. Parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle de trouble (Figure 11) (Rodier *et al.*, 2009).

La lecture finale s'effectue selon les prescriptions de la table de Mac Grady (Annexe 1) (Fouad *et al.*, 2013).



#### 4.2.2.3. Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

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 et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente (Rodier *et al.*, 2009).

##### ➤ Principe

Après destruction des formes végétatives par chauffage à 80 °C, l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer. L'incorporation se fait dans un tube et non dans une boîte afin de limiter la surface de contact entre le milieu et l'air. Après solidification et incubation, la présence de germes sulfito-réducteurs se traduit par halo noir autour des colonies (Rodier *et al.*, 2009).

##### ➤ Mode opératoire

- Chauffer 25 ml de l'échantillon à 80 °C pendant 5 à 10 minutes afin de détruire la forme végétative et préserver la forme sporulée ;
- refroidir rapidement sous l'eau de robinet ;
- répartir le contenu dans quatre tubes stériles à raison de 5 ml par tube, ajouter 20ml de gélose viande foie (VF) additionnée d'une ampoule de sulfite de sodium et d'une ampoule d'alun de fer ;
- mélanger soigneusement sans faire des bulles en évitant l'introduction d'air ;
- laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C pendant 24-48 heures (Figure 12) (Bengherbia *et al.*, 2014).

##### ➤ Lecture et expression des résultats

Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir. Exprimer le résultat en nombre de spores par 100ml.

Il est indispensable de procéder à une lecture dès les 24 heures : en présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible aux 48 heures. Par contre, s'il ya une faible quantité de colonies à la première lecture, et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes (Rodier, 2016).

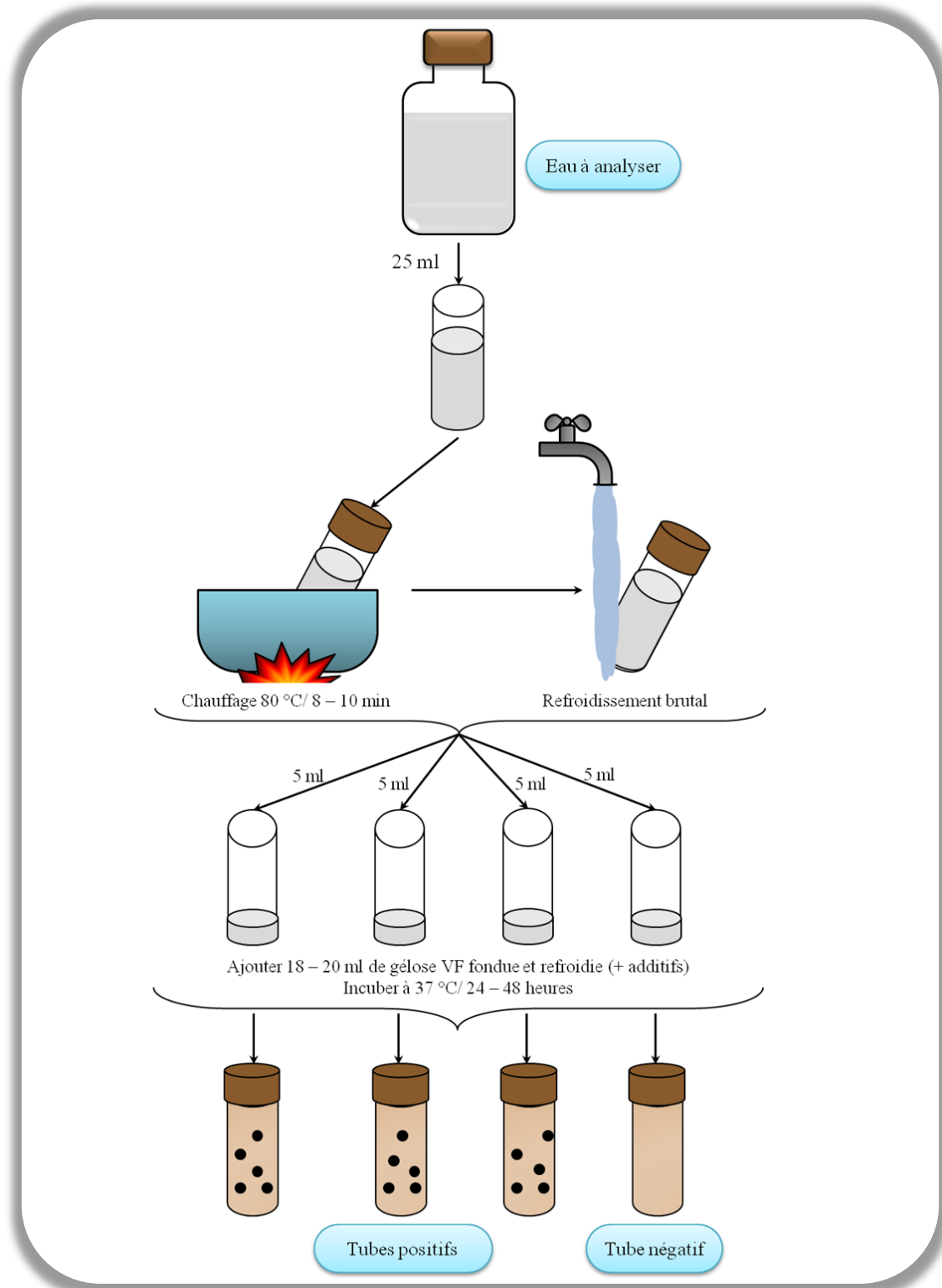


Figure 11: Protocole de recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs dans les eaux (in Abdellioui *et al.*, 2012).

### 4.2.3. Recherche des germes pathogènes

Les agents biologiques pathogènes sont les micro-organismes, y compris les microorganismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains, qui sont susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication (Delarras, 2007).

#### 4.2.3.1. Recherche des staphylocoques

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, non mobiles, asporulés et habituellement non capsulés. La plupart des espèces sont aéro-anaérobies facultatives et à catalase positive (Freney *et al.*, 2000).

##### ➤ Mode opératoire

On prépare les boîtes Pétri avec le milieu Chapman. A partir de la solution mère, on porte aseptiquement 0.1 ml (2 gouttes) dans les boîtes de Pétri que nous étalons à l'aide d'une anse de platine stérile (in Abdi *et al.*, 2013). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (Figure 13) (Fagrouch *et al.*, 2010).

##### ➤ Lecture et interprétation

Les bactéries mannitol positive apparaissent entourées d'un halo jaune et les Staphylocoques pathogène possèdent très souvent ce caractère. Les bactéries mannitol négative sont incolores (Rejsek, 2002).

Dans tous les cas, observer les colonies présomptives des staphylocoques recherchés et procéder à leur identification biochimique (Delarras, 2014).

##### ➤ Identification :

Les principaux caractères pour l'identification de *Staphylococcus* :

- La coloration de Gram ;
- Le test catalase ;
- Le test oxydase ;
- la coagulase ;
- le test mannitol (Freney *et al.*, 2000).

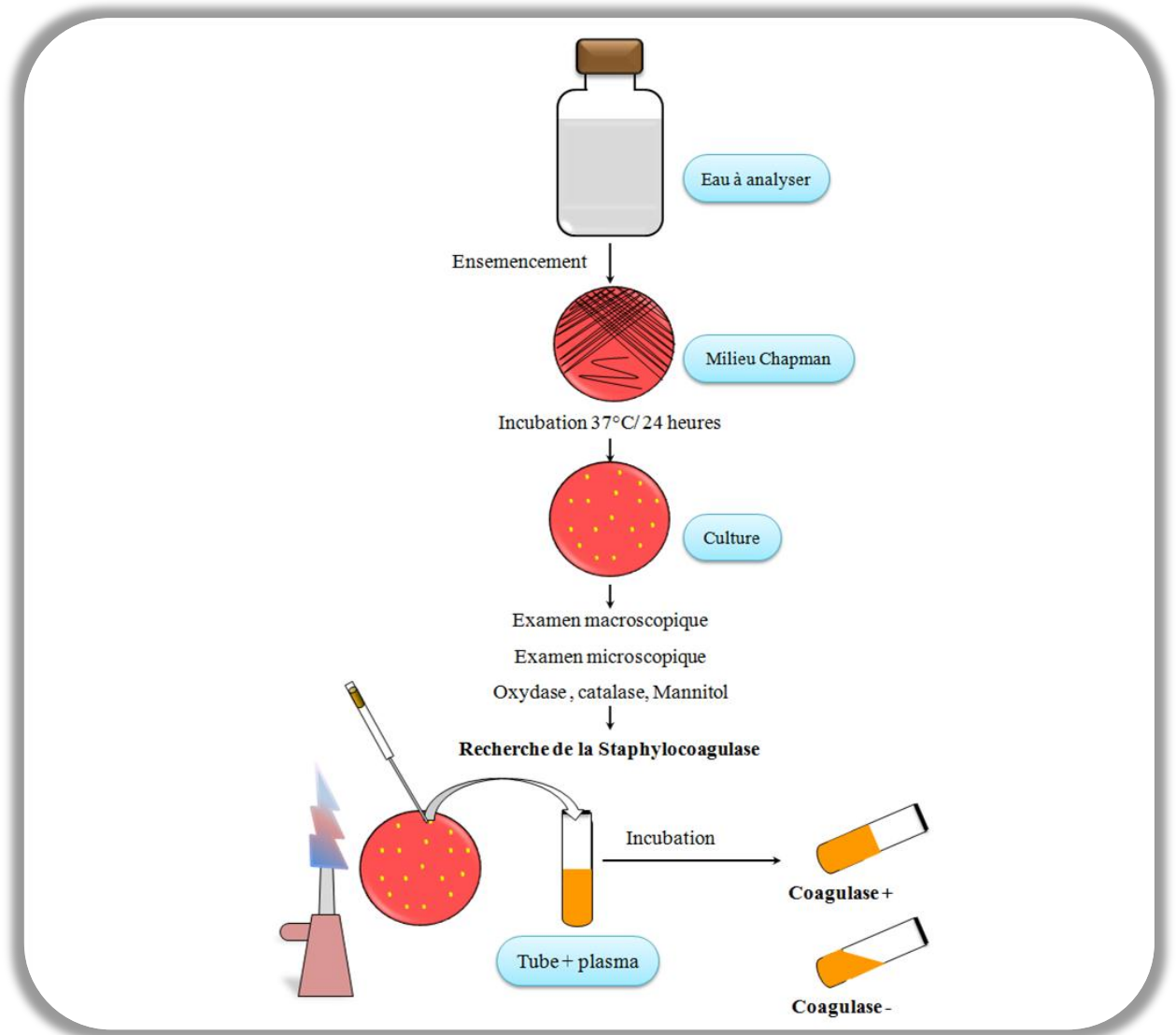


Figure 12: Protocole de recherche de *Staphylococcus* dans les eaux  
(in Abdellioui *et al.*, 2012)

#### 4.2.3.2. Recherche des Salmonelles

Les Salmonelles possèdent les caractères des entérobactéries : bacilles droits à Gram négatif, souvent mobile et alors à ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultative (Freney *et al.*, 2000).

##### ➤ Mode opératoire :

###### ▪ Jour 1 : Premier enrichissement

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

###### ▪ Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement

Ce flacon fera l'objet :

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

###### ▪ Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement ;
- D'autre part, les boîtes des géloses Hektoen SS et Mac Conkey subira une lecture (in Abdellioui *et al.*, 2012).

##### ➤ Lecture et interprétation

Sur la gélose Hektoen, les présumées colonies de salmonelles ont présenté une coloration bleue ou verte à centre noir tandis que sur la gélose SS et Mac Conkey, les colonies sont incolores transparentes et incolores à centre noir (Hounsounou *et al.*, 2018).

##### ➤ Identification

A partir des colonies suspectes, réaliser l'identification biochimique après avoir vérifié le caractère oxydase négative et la coloration de Gram (bacilles Gram négatif) :

- Par une galerie classique ;
- Ou par une galerie miniaturisée (Figure 14) (Rejsek, 2002).



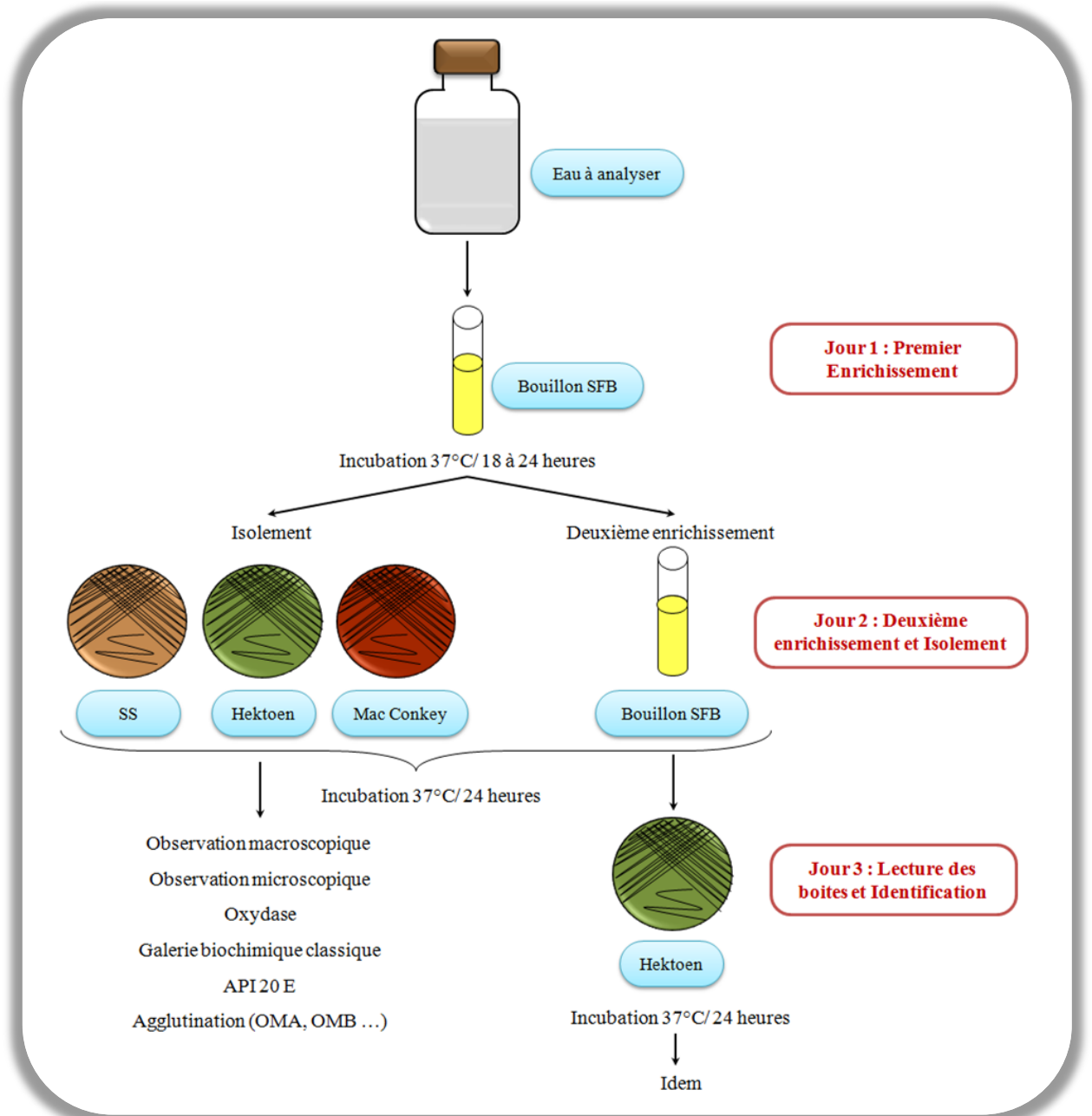


Figure 13: Protocole opératoire de la recherche des salmonelles dans les eaux (in Abdellioui *et al.*, 2012).

#### 4.2.3.3. Recherche des *Vibrio*

Ce sont des bâtonnets incurvés en virgule ou droits, mobiles et aérophiles, Gram négatif et oxydase positif. Ils sont plus ou moins basophiles (pH 8,5 à 9), halophiles ou halotolérantes suivant les espèces (Delarras et Trébaol, 2003).

La recherche des vibrions cholériques se fait sur milieu eau peptonée alcalin (EPA) et le repiquage sur milieu GNAB (gélose nutritive alcaline biliée) (Bengherbia *et al.*, 2014)

##### ➤ Mode opératoire

##### *Jour 1 : première 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.

##### *Jour 2 : Deuxième enrichissement et isolement*

- A partir du premier enrichissement (EPA1) on effectue un premier isolement sur gélose GNAB 1.
- Nous réalisons un deuxième enrichissement en portant 1 ml de flacon d'enrichissement sur eau peptone (EPA2). On incube pendant 24h à 37°C.

##### *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  $36 \pm 2$  °C pendant 24 heures ;
- D'autre part, les boîtes de gélose GNAB 1 subiront une lecture (Figure 15) (in Zouag et Belhadj, 2017).

##### ➤ Identification morphologique et biochimique :

Sur GNAB, les colonies de vibron cholérique sont rondes, de taille moyenne, environ 2 mm de diamètre après 18 heures de culture, translucides, à bord régulier.

À partir des colonies suspectes sur GNAB Effectuer :

- un état frais ;
- une coloration de Gram ;
- une réaction d'oxydase (Quilici, 2011).

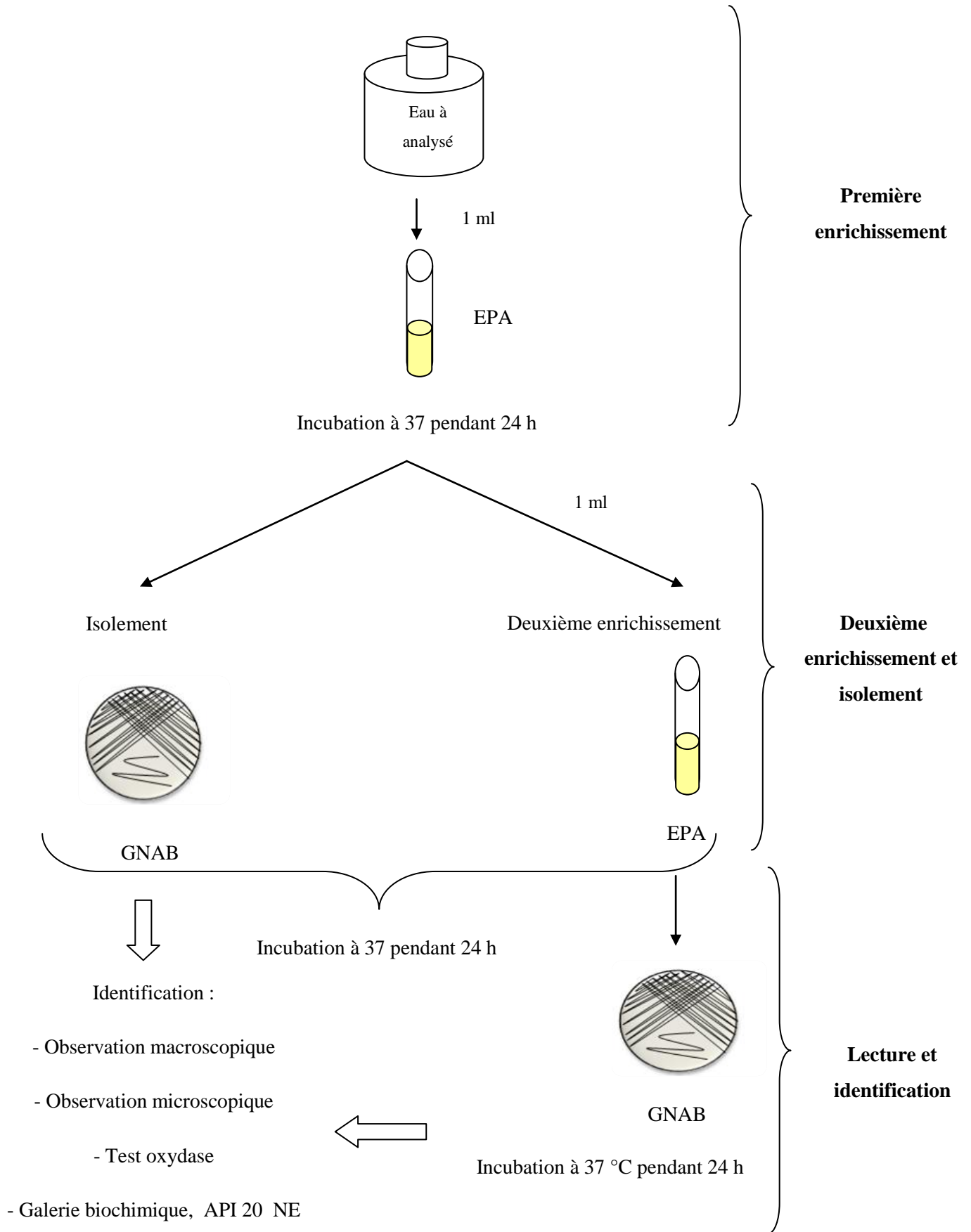


Figure 14 : Protocole opératoire de recherche et identification des vibrio dans les eaux.

#### 4.2.3.4. Recherche des Shigelles

Les Shigelles sont des bacilles Gram (-), toujours immobiles (Flandrois 1997) ne fermentent pas généralement le lactose (Rampal, 2000).

Ce sont des bactéries strictement humaine et pathogènes strictes du tube digestif, responsables de Shigellose ou de dysenterie bacillaire (Bianchi *et al.*, 2013).

##### ➤ Mode opératoire

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 Hectoen, par la méthode des quatre quadrants, puis les incubent à  $36 \pm 2$  °C pendant 18 à 24 h (in Abdi *et al.*, 2013).

##### ➤ Identification

L'identification biochimique complète doit être réalisée à l'aide d'une galerie classique en tubes ou d'un microgalerie de type API 20E (Freney *et al.*, 2000).

#### 4.2.3.5. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est un bacille Gram négatif, aérobic strict, mobile, oxydase positif. C'est la seule espèce de *Pseudomonas* produisant deux pigments, la pyocyanine et la pyoverdine, qui peuvent être mis en évidence sur les milieux de King A et de King B (Delarras et Trébao, 2003).

##### ➤ 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 incubent à  $36 \pm 2$  °C pendant 18 à 24 h.

##### ➤ Lecture et interprétation

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).

➤ **Identification**

Il est possible de procéder aux recherches suivantes :

- Un examen microscopique après coloration de Gram, il permet de s'assurer que les colonies ne contiennent que des bacilles à Gram négatif, non sporulés ;
- Un examen direct entre lame et lamelle. Il permet de constater la mobilité des germes de type polaire ;
- Une recherche de la pyocyanine et la pyoverdine, deux pigments caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa.*, mis en évidence à partir des colonies développées, en ensemencant sur les milieux King A et King B.
- Une recherche du nitrate réductase sur bouillon (Rodier *et al.*, 2009).

## 5. Identification des germes

### 5.1. Examen macroscopique

C'est l'étude de l'aspect des colonies. Cette étude nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies.

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008). L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation (Joffin et Leyral, 2009).

Ces principaux caractères sont :

- **Taille :** c'est la mesure du diamètre des colonies à l'aide d'une règle graduée. On peut distinguer : colonies punctiformes, petites colonies (< 1mm), colonies moyennes (1,5 à 3 mm) et grosses colonies (> 3mm).
- **Forme de colonie :** à bords circulaires, irrégulières et parfois envahissantes.  
**Élévation de la colonie :** colonie convexe, colonie légèrement convexe et colonie plate.
- **Transparence :** Colonies transparentes (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre), colonies translucides (laissent passer la lumière mais en ne voit pas les formes au travers, comme le verre dépoli) et Colonies opaques (ne laissant pas passer la lumière) (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008).
- **Surface :** Colonies lisses, Colonies rugueuses et Colonies muqueuses (Delarras, 2007).
- **Consistance :** on distingue les colonies grasses, crémeuses, sèches ou muqueuses.
- **Odeur :** présence ou absence (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008).
- **Pigmentation :** Le caractère pigmenté spontané d'une colonie bactérienne doit être distingué du halo coloré périphérique signant le virage d'un indicateur de fermentation sucrée ou la mise en évidence visuelle recherchée d'un quelconque métabolite (Freney *et al.*, 2000).

## 5.2. Examen microscopique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais), ou bien après la coloration de l'échantillon (Denis *et al.*, 2011).

### ○ Examen à l'état frais

#### ✓ Intérêt

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, de leur mobilité éventuelle et de leur quantité approximative de bactéries (Delarras, 2014).

#### ✓ Technique

Prendre une lame propre

- Dans le cas d'une culture en milieu liquide (bouillon), déposer sur la lame une goutte de cette culture, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou un inoculum avec une anse de platine ;
- Dans le cas d'une culture sur milieu solide (géosé) en tube ou sur boîte de Petri, déposer tout d'abord sur la lame une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien ;
- Recouvrir d'une lamelle ;

Observer au microscope optique à l'objectif x40.

**Remarque :** il faut régler convenablement la lumière et ne pas prolonger le temps d'observation au-delà de 3 minutes, sinon la préparation se dessèche (Delarras, 2014).

### ○ Examen après coloration de Gram

La coloration de Gram a été mise au point en 1884 par le bactériologiste Hans Christian Gram. Elle est l'une des méthodes de coloration les plus utiles (Tortora *et al.*, 2012).

✓ **Intérêt**

La morphologie de la bactérie et la structure générale de sa paroi s'apprécient simultanément grâce à l'observation macroscopique après coloration de Gram. Cela permet de classer les bactéries en deux grands groupes : bactéries à Gram positif ou à Gram négatif simultanément, il est possible d'observer la morphologie des bactéries (bacilles, coques, spires...), ainsi que le mode de groupement des cellules bactériennes (Fauchère, 1997).

✓ **Technique**

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure ;
- La lame est recouverte d'un premier colorant, le violet de Gentiane pendant environ minute, laver à l'eau distillée (ou de robinet)
- Verser du Lugol (celui-ci va renforcer le violet de Gentiane) et le laisser agir pendant 1.30 minute, rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes (selon les auteurs), rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec la fuchsine pendant 10 à 30 secondes, rincer à l'eau distillée ;
- La lame est récupérée, rincer et séchée puis observée au microscope optique généralement l'objectif x100, avec l'huile à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries «Gram positif» apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries «Gram négatif» sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2007; Guezlane-Tebibel *et al.*, 2008; Joffin et Leyral, 2009).

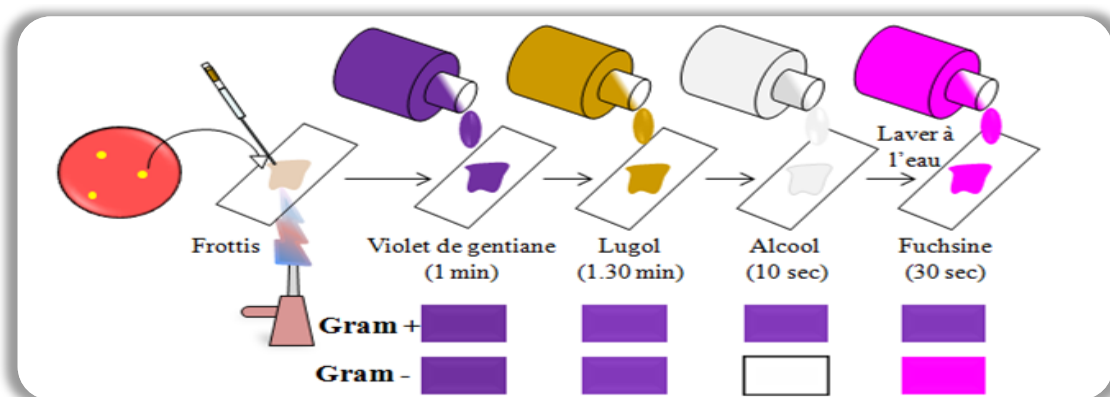


Figure 15 : Procédure de la coloration de Gram (in Abdi *et al.*, 2013).



### 5.3. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques

#### 5.3.1. Caractères enzymatiques

##### ✓ Recherche de catalase

Certaines réactions métaboliques aboutissent, dans les conditions de l'aérobiose, à la production de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Le peroxyde doit être éliminé car il s'agit d'un poison cellulaire (Joffin et Leyral, 2009).

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène (Delarras, 2014).

##### - Technique

Prendre une lame porte objet propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.

##### - Résultat

Le dégagement des bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase+ (Delarras, 2014).



Figure 16 : Réaction de catalase positive (Denis *et al.*, 2007)

✓ **Recherche de l'oxydase**

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes (Delarras, 2014).

- **Technique :**

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque «OX» et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

- **Résultat**

Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase + (Delarras, 2014).



Figure 17 : A droite : réaction d'oxydase positive (+)  
à gauche : réaction négative (-) (Denis *et al.*, 2007).

### 5.3.2. Caractères biochimiques

#### ▪ Galerie biochimique classique

Les milieux d'identification sont des milieux de culture liquides et/ou solides qui permettent de réaliser des tests biochimiques se rapportant au métabolisme respiratoire, glucidique, protéique et lipidique des bactéries. Convenablement choisis et associés, ces milieux de culture en tubes classiques et leurs tests biochimiques forment une galerie biochimique d'identification spécifique d'un groupe de bactérie (Delarras, 2007).

#### ✓ Recherche de coagulase libre

La coagulase est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte. La thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. C'est la base du test de la coagulase en tube.

La recherche de la staphylocoagulase est le test essentiel qui permet de distinguer les souches potentiellement pathogènes, car la staphylocoagulase joue un rôle central dans le pouvoir pathogène des staphylocoques.

Le test de détection consiste à incuber, pendant 4 h puis 24 h, à 37 °C, un mélange de 0.5ml de plasma de lapin et de 0.5 ml de la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant délicatement le tube à 90° (Yves et Michel, 2009).

#### ✓ Recherche de nitrate réductase

Les bactéries, lorsqu'elles possèdent une nitrate réductase, sont capables de transformer les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) et éventuellement en azote ( $\text{N}_2$ ).

Un bouillon nitraté est ensemencé avec la bactérie à étudier et incubé 18 heures à 37 °C. Après incubation, 3 gouttes de réactif nitrate réductase 1 (NR1) et 3 gouttes de NR2 sont ajoutées au bouillon, si une coloration rose apparaît, les nitrates ont été réduits au stade nitrite. En absence de coloration, soit les nitrates ont été réduits au stade azote, soit la bactérie ne possède pas de nitrate réductase. L'addition de poudre de zinc (réactif de Zobel, qui va réduire les nitrates en nitrites) permet de trancher. Si une coloration rose apparaît, alors la bactérie ne possède pas de nitrate réductase. Si aucune modification de coloration n'est visible après ajout de Zinc, alors les nitrates avaient été réduits au stade azote (Denis *et al.*, 2007).

✓ **Utilisation de TSI ou Triple Sugar Iron Agar**

Ce milieu de culture est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries et des Salmonelles. Il permet de mettre en évidence en 24 heures l'attaque du glucose, du lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré et de gaz (Delarras, 2007).

A partir de cultures pures, ensemercer la pente de milieu par des stries et le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette Pasteur ou d'une anse pointue préalablement stérilisée à la flamme incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures (Delarras, 2007; Joffin et Leyral, 2009).

Tableau 11 : Lecture et interprétation des tests biochimiques du milieu TSI  
(in Abdi *et al.* ,2013).

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

✓ **Le mannitol-mobilité**

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, et du rouge de phénol comme indicateur de pH (Denis *et al.*, 2011). Ce milieu est utilisé lors de l'identification des entérobactéries dont les coliformes. Il permet de rechercher simultanément la mobilité et l'utilisation de mannitol par ces germes (Delarras, 2007).

Ensemencer la souche à étudier en piqûre centrale jusqu'au fond du tube au moyen d'un fil de platine droit ou d'une pipette boutonnée (Freney *et al.*, 2000).

Ce milieu de culture fournit en 24 heures les résultats de deux tests :

- La fermentation de mannitol : lorsque l'indicateur coloré passe du rouge au jaune, ce qui correspond à l'acidification de milieu, le mannitol a été utilisé (Denis *et al.*, 2007).
- La mobilité : les bactéries mobiles diffusent dans la totalité du milieu à partir de la ligne d'ensemencement. Les bactéries immobiles se développent uniquement le long de la piqûre centrale (Freney *et al.*, 2000).

✓ **Milieu Clark et Lubs**

Le milieu RM-VP (bouillon pour épreuve au rouge de méthyle et test de Voges-Proskauer) est un milieu connu sous son appellation d'origine, milieu de Clark et Lubs. Il permet de différencier les fermentations acides mixtes et la fermentation butanediolique chez les entérobactéries (Delarras, 2007).

Ensemencer la souche étudiée dans un tube de Clark et Lubs, incubé à 37 °C pendant 24 heures.

➤ **Réaction méthyle au rouge de méthyle (test RM) : fermentation acides mixtes**

La fermentation du glucose par certaines entérobactéries produit de l'acide pyruvique (pyruvate), puis des acides (acides lactique, succinique, acétique et formique) et parfois des produits divers (éthanol, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>), cette fermentation est appelée fermentation acides mixtes (Delarras, 2007).

Après incubation, on ajoute quelques gouttes de rouge de méthyle à la culture (lecture immédiate)

- Une coloration rouge indique RM positive,
- Une coloration jaune indique RM négative (Garg *et al.*, 2010).

➤ **Réaction de Voges-Proskauer (test VP)**

La fermentation du glucose par certaines entérobactéries produit de l'acide pyruvique, qui sera ensuite transformé en acétyl-méthyl-carbinol (AMC) généralement appelé acétoïne puis en 2,3-butandiol, cette fermentation est dite butanediolique (Delarras., 2007).

Après incubation on ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2. La lecture s'effectue après quelques minutes.

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

#### ✓ **Test de Citrate de Simmons**

Certaines bactéries, dont les entérobactéries, sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie du milieu. La recherche de cette propriété se fait avec le milieu de Simmons au citrate de sodium, initialement décrit par Simmons en 1926. Ensemencer la pente de ce milieu gélosé en stries longitudinales et parallèles à l'aide d'une pipette, préalablement stérilisée à la flamme, à partir d'une colonie isolée. Incuber à 37 °C pendant 24 heures (Delarras, 2007).

Le milieu au citrate de Simmons contient du citrate de sodium et du sel d'ammonium ainsi que du bleu de bromothymol. Une utilisation du citrate se traduit par une culture sur la gélose et, le plus souvent, cette croissance s'accompagne d'une libération d'ammoniaque à partir des sels d'ammonium, ce qui traduit par un virage du bleu de bromothymol au bleu (Denis *et al.*, 2011).

#### ✓ **Test de l'indol**

Le test indole peut être réalisé sur plusieurs milieux de culture dont le milieu urée-indole et l'eau peptonée exempte d'indole (Delarras, 2007).

Après ensemencement et incubation de 24 heures, ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs, agiter et laisser monter le réactif à la surface. La réaction positive se caractérise par la formation d'un anneau rouge à la surface de milieu cette anneau est brun (teinte originelle du réactif) dans le cas d'une réaction négatif (Freney *et al.*, 2000).

#### ✓ **La recherche de l'uréase**

La recherche d'une uréase s'effectue en milieu urée tryptophane (improprement appelé milieu urée indole). Ce milieu contient du tryptophane, de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH. L'urée, sous l'action d'une uréase bactérienne va être transformée en carbonate d'ammonium alcalin entraînant une coloration rouge du milieu (Denis *et al.*, 2007)

▪ **La galerie API**

La galerie API, commercialisée depuis la décennie 1970, est un système standardisé pour l'identification des bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent) contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques (Delarras 2007, 2014).

✓ **La galerie API 20E**

La galerie API 20 E est constituée de 20 microtubes prêts à l'emploi et permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram-, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Cette méthode consiste à prélever une colonie suspecte bien isolée pour en faire l'inoculum à partir de l'eau distillée stérile. L'inoculum est distribué dans les microtubes contenant des substrats déshydratés. Cette galerie est incubée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (tryptophane désaminase : TDA, JAMES pour indole, VP1+VP2 pour le pyruvate de sodium). La lecture est faite à l'aide d'un tableau de lecture (Annexe 2) et l'identification obtenue par un catalogue analytique (Degbey *et al.*, 2011).

✓ **La galerie API 20 NE**

La galerie API 20 NE est un système standardisé utilisé pour l'identification des bacilles à Gram(-) non exigeants et non entériques (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*...etc.)

C'est une méthode rapide d'identification fréquemment utilisée, basée sur la dégradation des substrats biochimiques contenus dans les micros tubes.

La galerie API 20 NE se compose de 20 micros tubes contenant des milieux et des substrats sous forme déshydraté.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (VP, NR 1 et NR 2, JAMES) (Annexe 3). Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries se cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant (in Rahmani, 2015).

# *Chapitre 04: résultats et discussion*



## 1. Les résultats des analyses physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques comprennent :

- Les paramètres mesurés *in situ* : la température, le pH, la conductivité et l'oxygène dissous ;
- Les paramètres mesurés au niveau de laboratoire : l'ammonium, les orthophosphates, la DBO<sub>5</sub>, la DCO et les MES.

### 1.1. La température :

La température de l'eau régit presque sur la totalité des réactions physiques, chimiques et biologiques. Elle joue un rôle important dans la solubilité des sels et surtout des gaz et conditionne les équilibres de dissociation (Tfeila *et al.*, 2016).

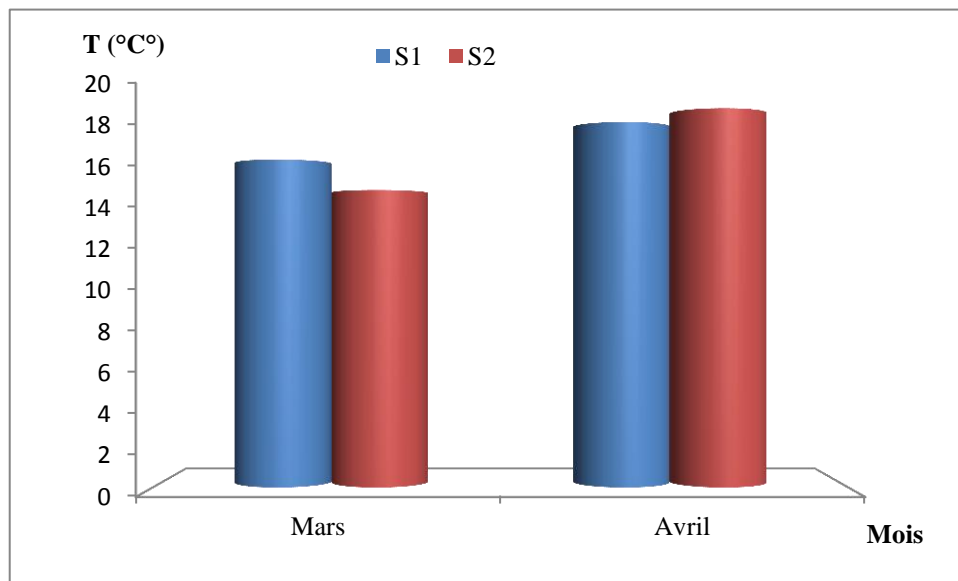


Figure 18: Variation de la température de l'eau de nos sites d'étude

Les températures enregistrés au niveau de l'eau de l'Oued Seybouse (Figure 19) se situent dans un intervalle qui va de 16.6 °C à de 18.5 °C avant le rejet de l'eau épurée de STEP dans l'Oued, soit une moyenne de 17.5 °C et entre 15.06 °C et 19.2 °C après le rejet avec une moyenne de 17.1 °C. Nous observons que la température ne présente pas des grandes variations entre les deux sites (avant et après rejet) et reste voisine de la température atmosphérique.

Selon la grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température, notre eau est de qualité très bonne (< 20 °C) (Annexe 4).

## 1.2. Le pH

Le pH de l'eau mesure la concentration des protons  $H^+$  contenus dans l'eau (Djedaoune, 2015). Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques et dépend des facteurs multiples, dont la température et l'origine de l'eau (Aissaoui *et al.*, 2017).

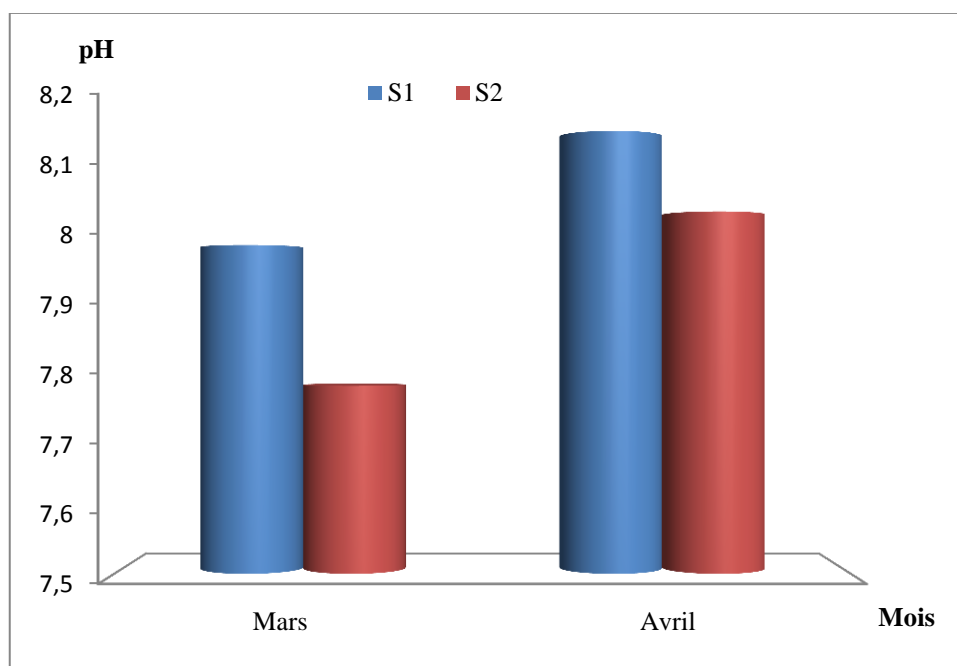


Figure 19 : Variation de pH pendant la période d'étude (mars et avril).

L'analyse de l'évolution du pH au niveau de l'eau de l'Oued Seybouse (Figure 20) montre que les valeurs moyennes du pH pour les deux sites étudiées sont presque identiques avec des valeurs moyennes de 7,91 avant le rejet de STEP et 8,07 après le rejet.

Ces résultats montrent que le pH de l'eau de l'Oued Seybouse est légèrement alcalin dans les deux sites étudiés, ce qui favorise le développement et la croissance des microorganismes. Ce qui est le cas habituel dans les eaux de surface.

### 1.3. La conductivité

La mesure de la conductivité constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau (Makhoukh *et al.*, 2011).

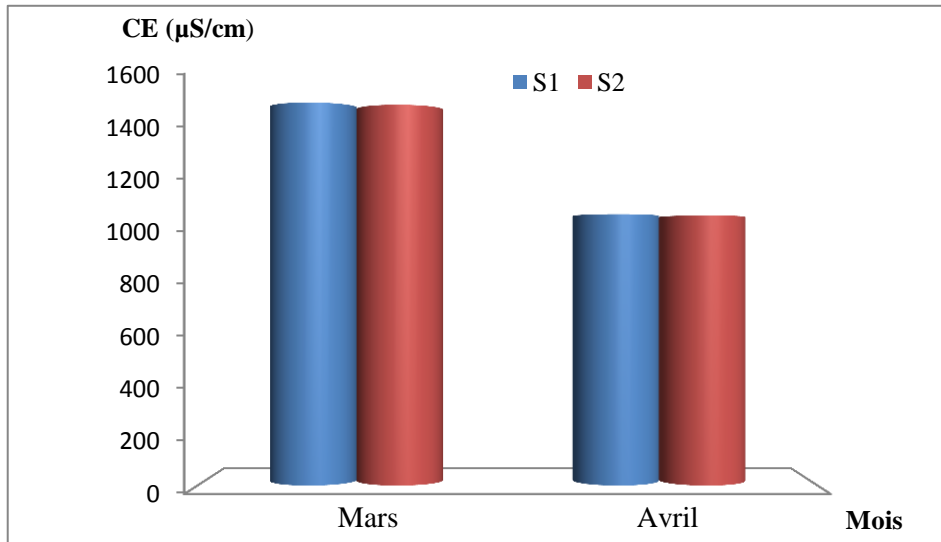


Figure 20 : Variation de la conductivité électrique de l'eau

Les valeurs de la conductivité électrique (CE) enregistrées sont approximativement égales (Figure 21), ils varient de 1520 à 1077  $\mu\text{S/cm}$  avec une valeur moyenne de l'ordre de 1298.5  $\mu\text{S/cm}$  avant le rejet de STEP, et de 1511 à 1072  $\mu\text{S/cm}$  avec une valeur moyenne de l'ordre de 1291.5  $\mu\text{S/cm}$  après le rejet.

L'analyse des résultats de la conductivité des eaux montrent que ces eaux sont fortement minéralisées (Tableau 12). Ces valeurs importantes semblent être la conséquence des apports de l'Oued d'une part et d'autre part elles peuvent être le résultat des lessivages des sols avoisinants.

Tableau 12 : Relation existant entre la minéralisation et la conductivité (Rodier *et al.*, 2009).

Conductivité ( $\mu\text{S/cm}$ )	minéralisation
Conductivité <100	Minéralisation très faible
100<Conductivité <200	Minéralisation faible
200<Conductivité <333	Minéralisation moyenne
333<Conductivité <666	Minéralisation moyenne accentuée
666<Conductivité <1000	Minéralisation importante
1000<Conductivité	Minéralisation élevée

### 1.4. L'oxygène dissous

L'oxygène constitue un excellent indicateur de la qualité de l'eau. Sa valeur nous renseigne sur le degré de pollution et par conséquent sur le degré de l'auto-épuration d'un cours d'eau (Derradji *et al.*, 2005).

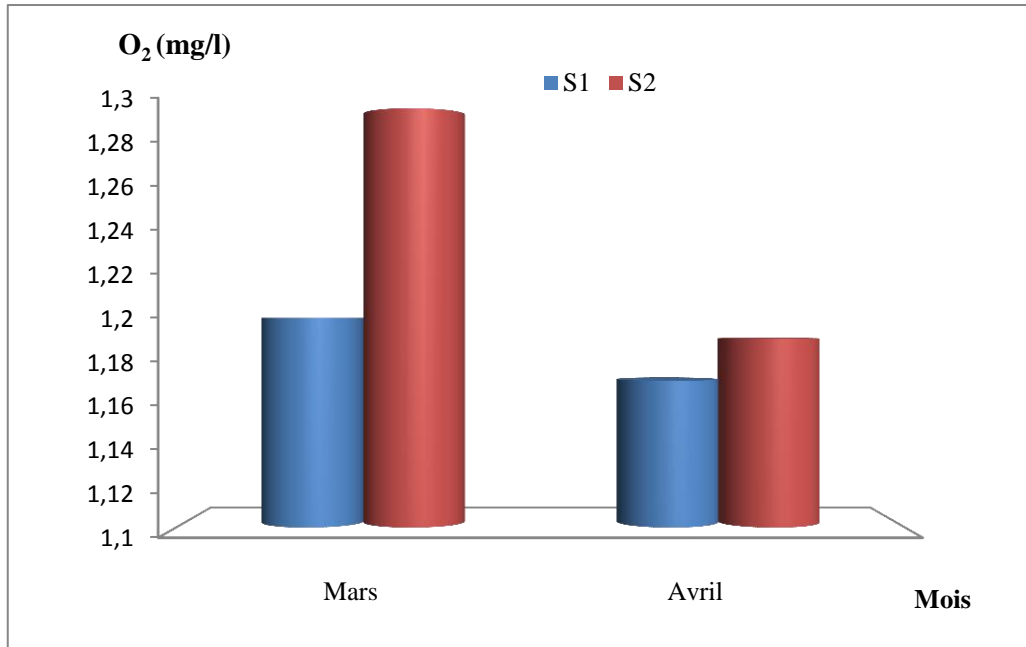


Figure 21 : Variation de l'oxygène dissous de l'eau.

Les teneurs en oxygène dissous enregistrées pendant notre étude et dans les deux sites de l'Oued Seybouse (avant et après rejet de STEP) ne présentent pas des grandes variations, avec une valeur moyenne de 1.18 mg/l avant le rejet de STEP et de 1.24 mg/l après le rejet. La concentration de l'oxygène dissous dans l'eau de l'Oued Seybouse traduit une dégradation de la qualité de ces eaux (selon la grille de classification, Tableau 13).

Ces teneurs faibles en oxygène dissous peut être expliqué par l'abondance de la matière organique proviennent généralement des rejets animal et même aussi les activités agricoles autour ce site.

Tableau 13: Classes des eaux en fonction de l'oxygène (mg/l) (Bliefert et Perraud, 2004).

(O <sub>2</sub> mg/l)	O <sub>2</sub> ≥ 7	5 ≤ O <sub>2</sub> ≤ 7	3 ≤ O <sub>2</sub> ≤ 5	O <sub>2</sub> < 3
Qualité de l'eau	Absence de pollution	Pollution modérée	Pollution nette	Pollution importante

### 1.5. La DBO<sub>5</sub>

La DBO<sub>5</sub> traduit la quantité d'oxygène moléculaire utilisée par les microorganismes pendant une période d'incubation de 5 jours à 20 °C pour décomposer la matière organique dissoute ou en suspension, contenue dans l'eau (Derwich *et al.*, 2010).

Ce paramètre caractérise les capacités d'autoépuration des milieux aquatiques ainsi que leur qualité et de leur degré de pollution (Cardot et Gilles, 2013).

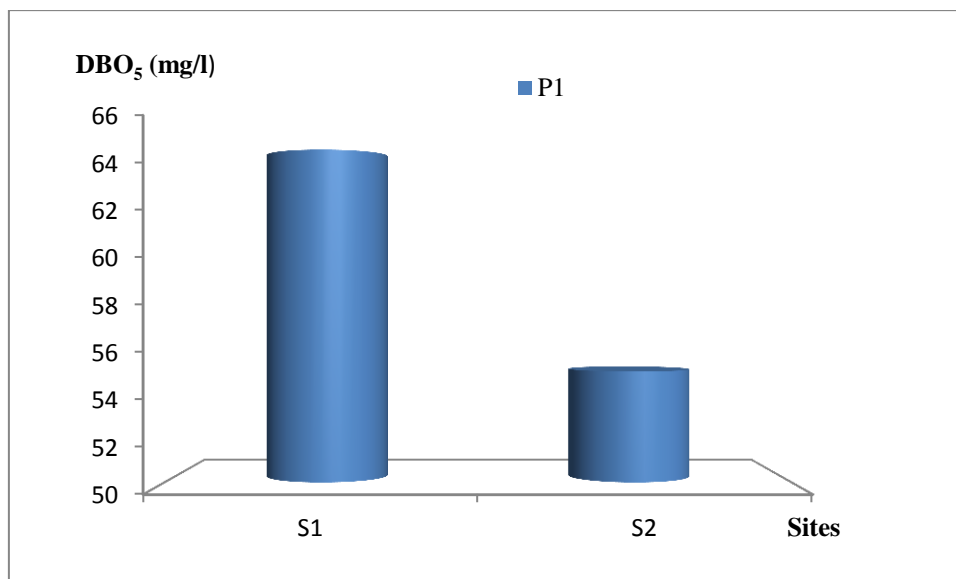


Figure 22 : Variation de la DBO<sub>5</sub> dans l'eau de nos sites d'étude

L'analyse des résultats de la DBO<sub>5</sub> au niveau des eaux de l'Oued Seybouse (figure 23) montre une pollution très importante (voir tableau 24 : Annexe 4), avec une valeur de 65 mg/l avant le rejet de STEP, et de 55 mg/l après.

La diminution de la teneur en DBO<sub>5</sub> après la STEP est principalement due à l'eau rejeté par la station d'épuration qui présent des teneurs en DBO<sub>5</sub> ≤ 40 mg/l (après le rejet, l'eau épurée est mélangé avec celle de l'Oued Seybouse et provoque comme une dilution de sa teneur en DBO<sub>5</sub>)

### 1.6. La DCO

La valeur de la DCO est une indication importante, avec laquelle on peut caractériser la pollution globale d'une eau ou d'eaux usées (Bliefert et Perraud, 2004).

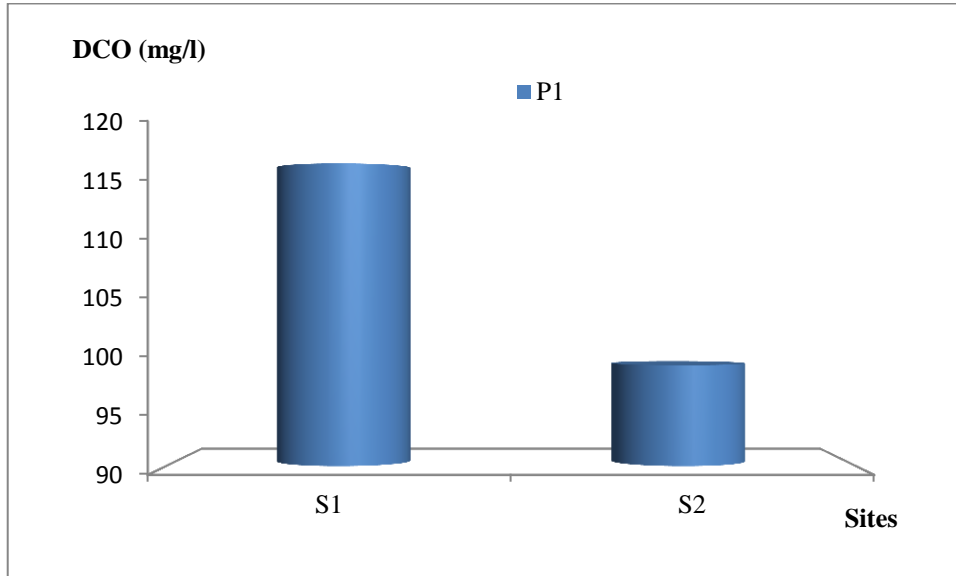


Figure 23 : Variation de la DCO dans l'eau.

La teneur de la DCO dans les eaux de l'Oued Seybouse montre une différence nette entre les deux sites. Avant le rejet de station la teneur enregistré est de 117 mg/l, alors que la teneur après le rejet est de 99 mg/l.

Ces valeurs dépassent 80 mg/l dans les deux sites montrant ainsi une pollution très importante (Annexe 4). Et cela est probablement du à la surcharge des effluents par la matière organique et minérale.

### 1.7. L'Ammonium

C'est la forme d'azote la plus toxique (Aissaoui *et al.*, 2017). Il présente dans les eaux habituellement par un processus de dégradation incomplète de la matière organique et il se transforme assez rapidement en nitrites et nitrates par oxydation (Diagne *et al.*, 2017).

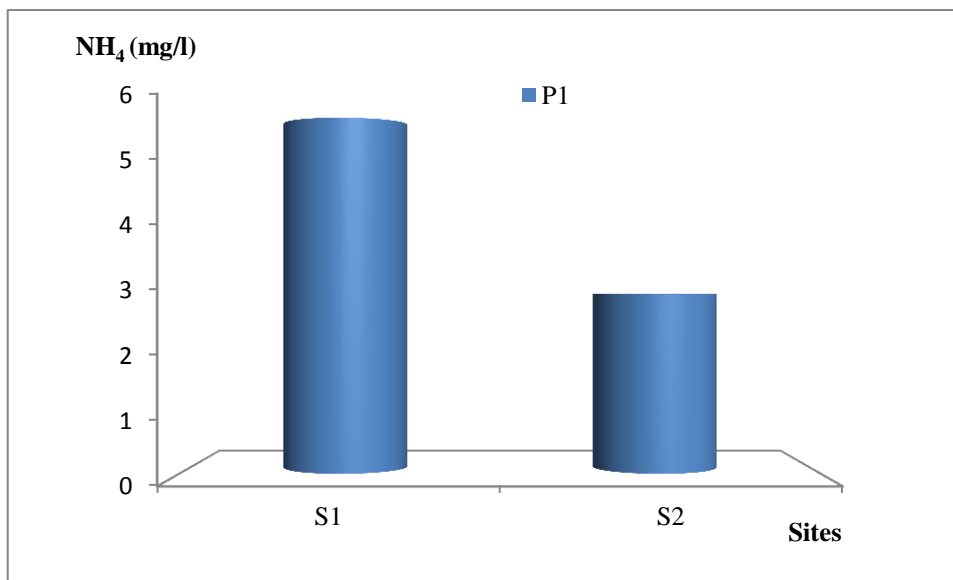


Figure 24 : Variation de la concentration de l'ammonium dans l'eau

Le résultat de la concentration de l'ammonium est représenté dans la figure 25. La valeur pour les eaux de l'Oued Seybouse avant rejet de STEP est de 5.81 mg/l, diffère nettement de celle après rejet 2.93 mg/l.

Ces valeurs sont comprises entre 2 et 8, montrent une qualité d'eau médiocre. La présence de ces ions peut être attribuée aux eaux de ruissellements urbains, industrielles ou domestiques qui contiennent de l'urine, potentielle source d'ammonium.

### 1.8. Les Orthophosphates

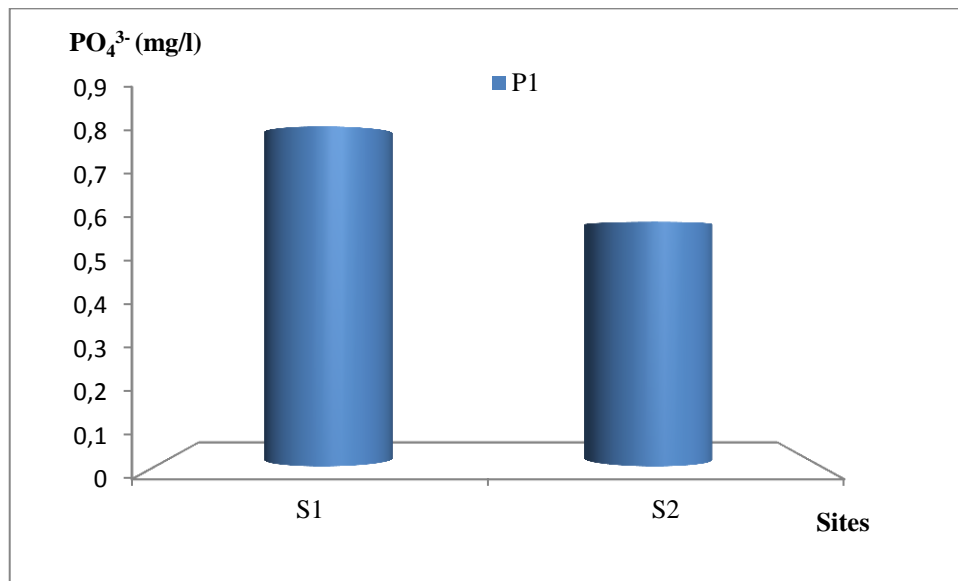


Figure 25 : Variation de la concentration des orthophosphates dans l'eau.

La teneur en orthophosphate enregistrée au niveau de l'Oued Seybouse est de 0,83 mg/l avant rejet de STEP, elle diminue légèrement dans l'eau après la STEP on nous enregistrons 0,6 mg/l.

Ces résultats ont montré que la qualité d'eau d'Oued Seybouse est passable dans les deux sites.

La présence des orthophosphates peut être due aux activités domestiques et aux rejets des eaux industrielles riches en phosphore.



### 1.9. Les MES

Les MES désignent toutes les matières minérales ou organiques qui ne se solubilisent pas dans l'eau et la troublent. Les MES diminuent la luminosité dans l'eau, donc la photosynthèse (Koller, 2009). Elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, de régime d'écoulement des eaux, de la nature des rejets, etc. (Makhoukh *et al.*, 2011).

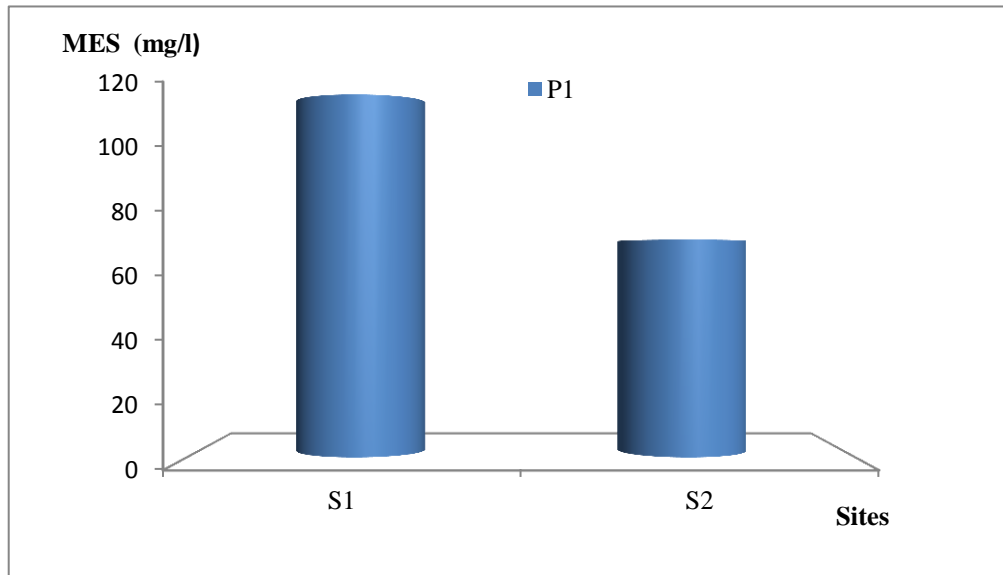


Figure 26 : Variation de la concentration des MES dans l'eau.

La teneur en matière en suspensions dans l'eau de l'Oued Seybouse est très variable entre les deux sites. Pour l'eau avant le rejet de la STEP, la concentration enregistrée est de 120 mg/l, alors qu'elle est de 72 mg/l après la STEP.

D'après la grille de classification des eaux (Annexe 4), la qualité de l'eau de l'Oued avant les rejets de la STEP est mauvaise, ceci est vraisemblablement dû aux rejets liquides et solides déposés aléatoirement sur les rives de l'Oued.

Après le rejet de STEP l'eau est de qualité passable, ceci dû à l'eau épurée rejeté par la STEP qui présente des teneurs en MES  $\leq 40$  mg/l (la plupart des MES dans les eaux usées sont éliminées dans les bassins de décantation).

## 2. Les résultats des analyses bactériologiques

Après une série des analyses bactériologiques sur les échantillons d'eau prélevée, au niveau du laboratoire de la microbiologie de l'université 8 Mai 1945 Guelma, nous avons obtenu des résultats qui sont exprimés dans les tableaux et les graphes présentant les différentes variations des paramètres indicatrices de la pollution, soit :

- Les germes totaux ;
- Les coliformes totaux et fécaux ;
- Les streptocoques fécaux ;
- Les anaérobies sulfito-réducteurs ;
- Les germes pathogènes.

### 2.1. Le dénombrement des germes totaux (GT)

La variation du nombre des bactéries dans les différents sites de prélèvement sont illustrés dans la Figure ci-dessous (Figure 28).

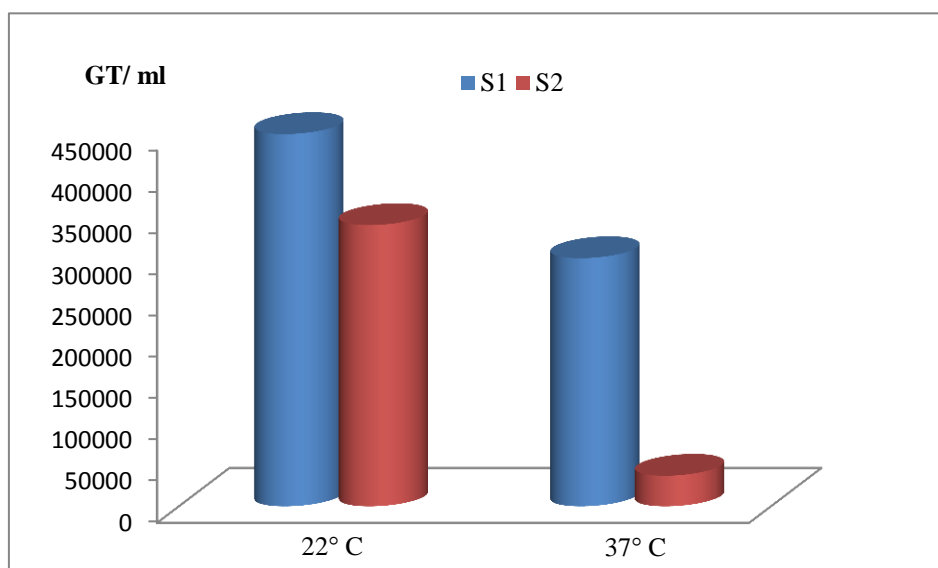


Figure 27 : Estimation des germes totaux à 22°C et 37 °C dans l'eau de nos sites d'étude

(mars 2018)

D'après le graphique, pendant le premier prélèvement (mars), la valeur la plus élevée est enregistrée dans le site 1 avec  $4,5 \cdot 10^5$  GT/ml à 22°C. La valeur minimale est de  $3,7 \cdot 10^4$  GT/ml dénombrée dans le site 2 à 37°C.

Les résultats obtenus montrent que le dénombrement de la flore totale est plus élevé à 22°C au niveau du site 1, en comparant à 37 °C dans le site 2. Cela se traduit par l'influence de la température sur la croissance de ces microorganismes.

Les bactéries revivifiables ne sont pas forcément d'origine fécale mais ont également une origine environnementale. Elles fournissent quelques informations, comme la prolifération de la flore dans une eau riche en matière organique. Ces bactéries se développent principalement à des températures basses.

Dans notre étude nous avons aussi recherché des germes totaux pendant le mois d'avril et lors de la manipulation les boîtes contenant la culture de ces germes ont été contaminées, et du fait ont été éliminé de l'analyse.

## 2.2. Le dénombrement des germes test de contamination fécale

### 2.2.1. Le dénombrement des coliformes totaux



Figure 28 : Dénombrement des coliformes totaux dans les deux sites par la méthode de NPP (avril 2018) (photos personnelles).

Les coliformes totaux sont considérés comme de bons indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux sont résumés dans la figure suivante :

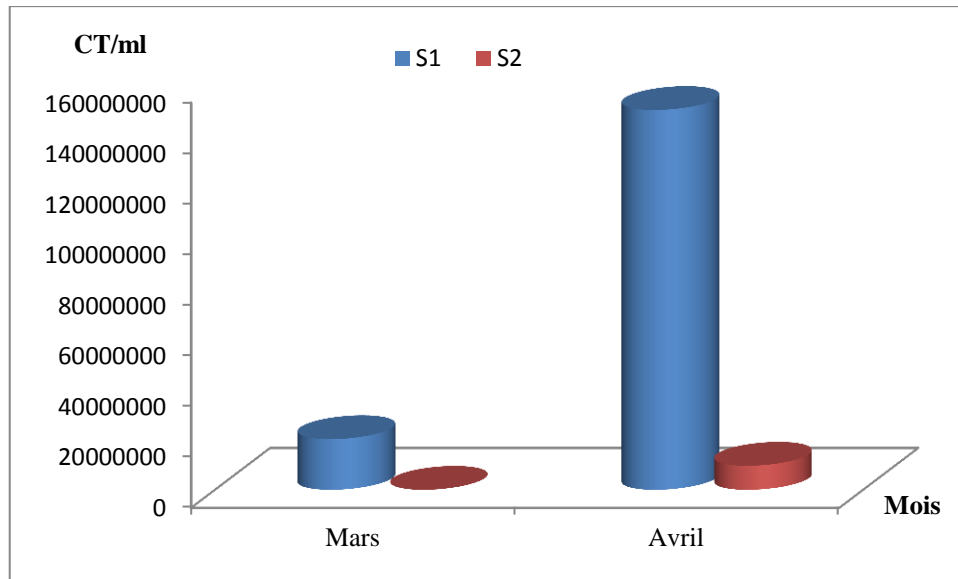


Figure 29 : Estimation des coliformes totaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars-avril 2018)

Nous observons que la valeur maximale est de  $1,5.10^7$  CT/ml dans le site 1 pendant le mois d'avril, tandis que la valeur minimale est enregistrée dans le site 2 pendant le mois de mars ; elle est de  $2.10^4$  CT/ml. Ces valeurs sont élevées en comparaison avec la norme internationale pour les eaux de surfaces ( $>50000$  CT/ml). De ce fait, la qualité de l'eau est très mauvaise.

Nous pouvons traduire ces résultats par une très forte contamination bactérienne dans l'eau avant la station d'épuration des eaux usées, et cela est dû à la présence des décharges domestiques et des affluents de certains habitats situés surtout aux voisinages du site 01. En outre, ce dernier est alimenté par les eaux de l'Oued Bouhamdane et l'Oued Cherf qui sont aussi des vecteurs de transmission des polluants et des autres substances conduisant à la prolifération de ces germes. Cette contamination de l'eau diminue après la STEP durant toute la période de l'étude montrant l'influence positif de la station d'épuration sur la qualité de l'eau de l'Oued Seybouse.

### 2.2.2. Le dénombrement des coliformes Fécaux

L'évaluation du nombre de coliformes fécaux dans les eaux de l'Oued Seybouse est présentée dans la figure 31.

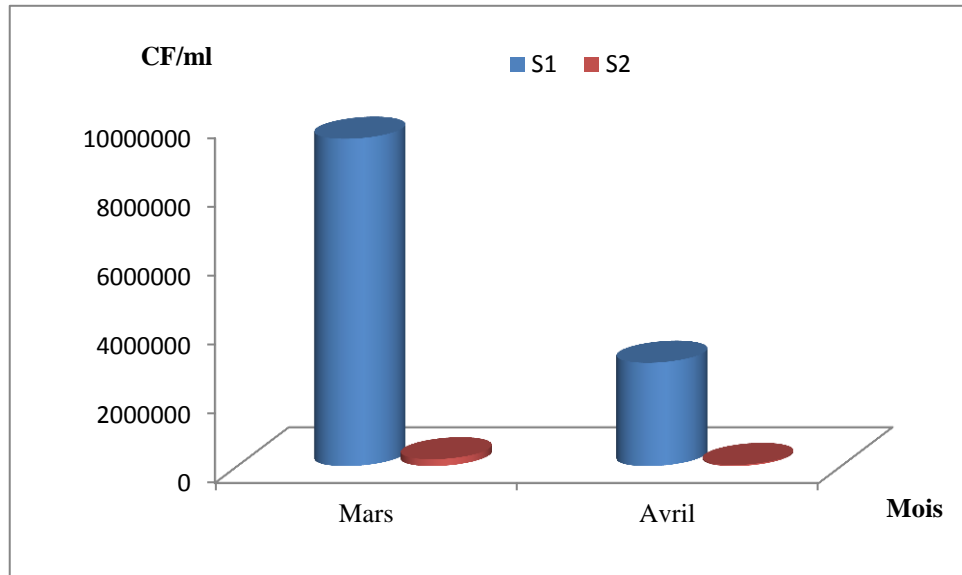


Figure 30 : Estimation des coliformes fécaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars -avril 2018)

Le dénombrement des micro-organismes fécaux, a montré une différence significative entre les deux sites où la concentration élevée est enregistrée toujours dans le site 01 pendant les deux mois, avec un maximum de  $9,5 \cdot 10^5$  CF/m, et la faible concentration est enregistrée dans le site 02 avec un minimum de  $2 \cdot 10^3$  CF/ml.

Ces résultats sont expliqués par la présence d'une contamination récente provenant principalement des déchets fécaux ; plus probablement ; d'origine humaine (déchets domestique) et animal (matière fécale des animaux à sang chaud), ainsi que les effluents viennent des élevages.

D'après la norme internationale, nous avons noté que la qualité de l'eau de l'Oued Seybouse avant la STEP est très mauvaise ( $>20000$  CF/ml), alors que l'eau après la STEP est de mauvaise qualité (2000-20000 CF/ml), ce qui traduit l'influence positive de la station d'épuration sur la qualité de l'eau de l'Oued Seybouse.

### 2.2.3. Le dénombrement des streptocoques fécaux

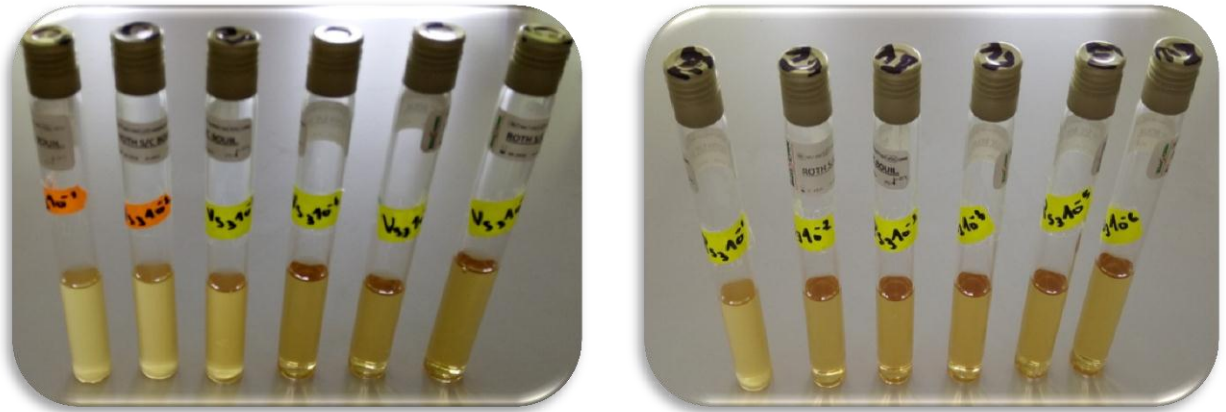


Figure 31 : Dénombrement des streptocoques fécaux dans les deux sites par la méthode de NPP (Avril 2018) (photos personnelles)

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux. Les résultats de dénombrement de ces derniers sont présentés dans la figure ci-dessous (Figure 33).

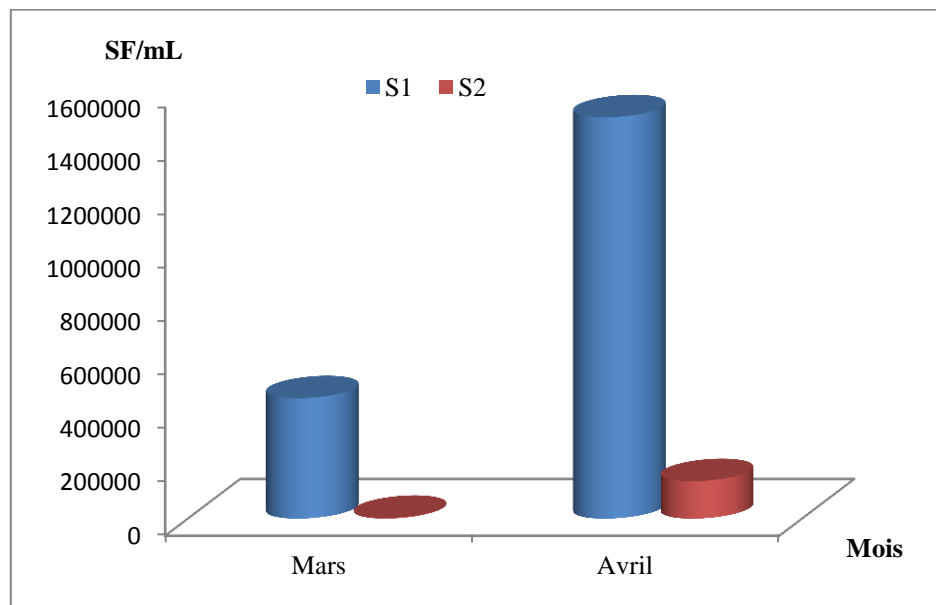


Figure 32 : Estimation des streptocoques Fécaux par ml des eaux avant et après la STEP de Guelma (mars-avril).

Le graphique nous montre que la valeur la plus élevée a été enregistrée durant le mois d'avril avec une valeur maximale enregistrée dans le site 1 (avant la STEP  $1,5 \cdot 10^6$  SF/ml) et une valeur minimale observé pendant le mois de mars dans le site 2 (après la

STEP) avec  $3.10^3$  SF/ml. Ces valeurs sont élevées en comparaison avec la norme internationale pour les eaux de surfaces ( $>10000$  SF/ml). De ce fait, la qualité de l'eau est très mauvaise.

Le nombre de streptocoques fécaux est directement lié à la quantité de matière fécale se trouvant dans l'eau. Cet enrichissement est principalement dû aux lessivages des terres agricoles avoisinantes chargées d'énormes quantités de fumier, aux rejets domestiques des agglomérations rurales (fosses septiques qui déchargent à l'air libre) et à l'élevage intensif d'ovin et de bovin.

A partir d'un tube Eva Litsky positif nous avons effectué une coloration de Gram qui a fait apparaître des cocci à Gram positif en courtes chaînettes (Figure 34).

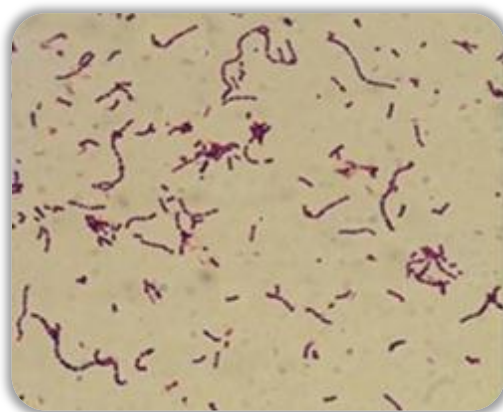


Figure 33 : Cocci à Gram positif en courtes chainettes (Grossissement x 100)

#### 2.2.4. Le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs

Le tableau récapitule les résultats de dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) (tableau 14).

Tableau 14: Evaluation du nombre des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR/ml).

Mois	Avant station d'épuration	Après station d'épuration
Mars	43	21
Avril	Indénombrable	Indénombrable

Durant le premier prélèvement, le taux des ASR a baissé après la station d'épuration, ce qui indique l'effet positif de la STEP sur la qualité de l'eau de l'Oued Seybouse. Pendant le mois d'avril suite aux intempéries, il nous a été impossible de dénombrer les ASR.

Pour l'identification de ces germes nous avons effectués un prélèvement d'une colonie dans un tube positif (Figure 35), suivi par une coloration de Gram ; l'observation microscopique des colonies a montré la présence des bacilles Gram (+) sous deux formes : végétative et sporulant.



Figure 34 : Observation microscopique des ASR (Grossissement x100)


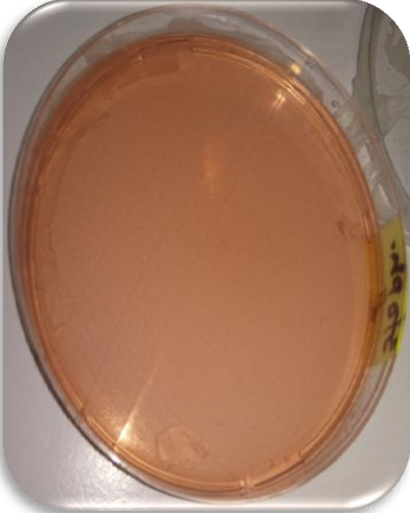
### 2.3. Recherche des germes pathogènes

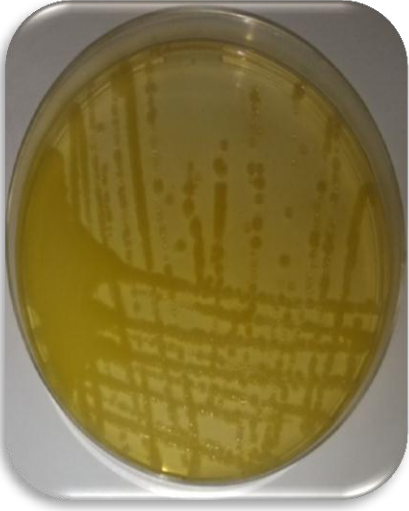

Deux étapes primordiales ont été suivies durant la recherche des germes pathogènes : l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées et une identification biochimique par la galerie biochimique classique, les API systèmes et autres tests. Les résultats sont résumés dans les tableaux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


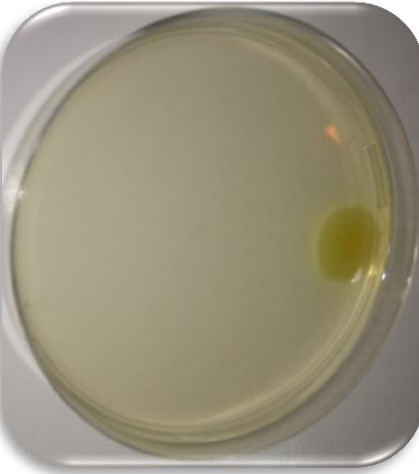



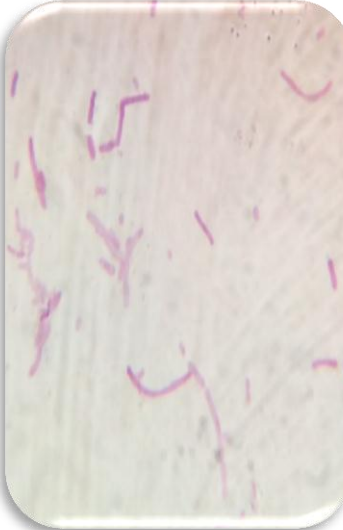

**2.3.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram de différents germes isolés :**


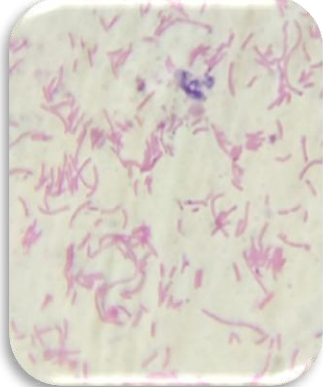

Tableau 15: Aspect macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées à partir de nos prélèvements

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
<p><b>Gélose Chapman</b></p> 	<p>➤ Avant station d'épuration :</p> <p>-Colonies petites, rondes, opaques, lisses à contours réguliers, bombés, blanchâtres entourées d'un halo jaune avec dégagement d'odeur.</p> <p>-Colonies jaunes, lisses, rondes, bombées, très petites (moins de 1 mm de diamètre), translucides.</p>	<p>-Cocci, Gram positif, isolées ou regroupés en diplocoques, tétrades ou en grappes de raisin.</p>
	<p>➤ Après station d'épuration :</p> <p>-Absence totale des colonies.</p>	

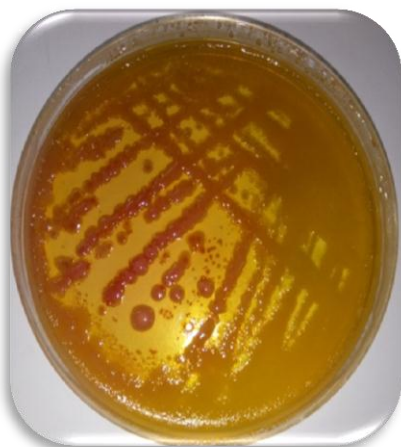
<p><b>Gélose Nutritif Alcaline Bilée.</b></p> <p><b>(GNAB)</b></p> 	<p>➤ Avant station d'épuration :</p> <p>-Colonies moyennes, lisses, rondes, bord réguliers, blanchâtres, crémeuses avec dégagement d'odeur.</p> <p>-Colonies petites, plates, rondes, lisses à contours réguliers, incolores, crémeuses avec dégagement d'odeur.</p>	<p>-Bacilles droits ou incurvés, Gram négatif, isolés.</p>
	<p>➤ Après station d'épuration :</p> <p>-L'apparition du même type des colonies.</p>	

<p><b>Gélose cétrimide</b></p> 	<p>➤ Avant station d'épuration :</p> <p>-Colonies moyennes, plates, lisses à contours réguliers, opaques, blanchâtres, crémeuses, avec dégagement d'odeur.</p> <p>-Colonies petites, incolores circulaires, bombées, lisses et transparentes.</p> <p>-Colonies très petites, bleu-vertes, rondes, convexes, lisses et translucides.</p> <p>-Colonies grandes, plates, lisses à contours réguliers, opaques, blanchâtres, crémeuses avec dégagement d'odeur.</p>	<p>-Bacilles, Gram négatif, isolés ou en amas.</p>
	<p>➤ Après station d'épuration :</p> <p>-Absence totale des colonies causée par une contamination de la boîte.</p>	

<p><b>Gélose Salmonella- Shigella</b> (SS)</p> 	<p>➤ Avant station d'épuration :</p> <p>-Colonies moyennes, rondes, lisses, plates, bord réguliers, marron avec un centre noir, opaques, muqueuses avec dégagement d'une mauvaise odeur.</p> <p>-Colonies petites, rondes, plates, lisses à contours irréguliers, opaques, marron, muqueuses avec dégagement d'odeur.</p>	<p>Bacilles, Gram négatif, isolés</p> 
	<p>➤ Après station d'épuration :</p> <p>-L'apparition du même types des colonies.</p>	

<p style="text-align: center;"><b>Gélose Hektoen</b></p> 	<p>➤ Avant station d'épuration :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies très petites (moins de 1 mm de diamètre), verdâtres à centre foncés, bombées lisses à contours irréguliers.</li> <li>- Colonies moyennes, marron, bombés, opaques.</li> </ul>	<p>Bacilles, Gram négatif, isolés ou en amas</p> 
	<p>➤ Après station d'épuration :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Colonies moyennes verdâtres avec centre foncé, circulaires, lisses à contours réguliers, plates, muqueuses.</li> <li>-Colonies moyennes jaunâtres, plates, rondes, lisses aux bords réguliers opaques.</li> <li>-Colonies petites à centre noir, rondes, lisses, plates, opaques, muqueuses avec dégagement d'odeur.</li> </ul>	

**Gélose Mac conkey**



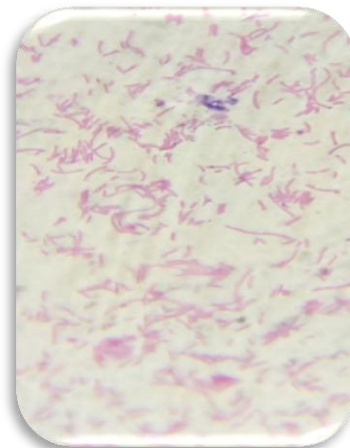
➤ Avant station d'épuration :

-Colonies grandes, lisses, bombés muqueuses, violettes, circulaires à contours réguliers.

-Colonies moyennes, lisses, violettes, bombées, muqueuses aux bords réguliers.

-Colonies punctiformes, opaques, lisses, rondes avec dégagement d'une odeur.

Bacilles, Gram négatif, isolés ou regroupés.



➤ Après station d'épuration :

-Colonies moyennes, lisses, bombés, muqueuses, violettes, rondes à contours irréguliers avec dégagement d'une odeur.

### 2.3.2. 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 36: Aspect des colonies sur milieu Chapman (Site 1) (photo personnelle)

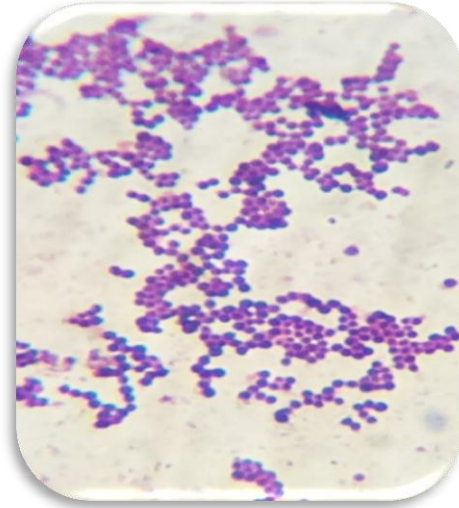


Figure 35: Cocci à Gram positif (Grossissement x100) (photo personnelle)

Les résultats des différents tests effectués pour l'identification des *Staphylococcus* nous ont permis d'identifier deux espèces différentes considérés comme non pathogènes et qui sont résumés dans le tableau 16.

Tableau 16: Résultats du profil biochimique des *Staphylococcus* isolés.

	Station 1	
<b>Oxydase</b>	-	-
<b>Catalase</b>	+	+
<b>Mannitol</b>	+	-
<b>Staphylocoagulase</b>	-	-
<b>Espèces trouvées</b>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>

D'après les résultats, la coagulase est négative, cela se traduit par l'absence de l'espèce *Staphylococcus aureus*.



Figure 37: Photo d'observation du test de coagulase libre (Coagulase négatif) (photo personnelle)



➤ **Profil biochimique des *Pseudomonas***

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

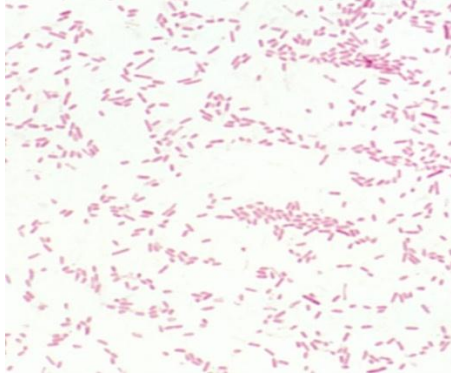


Figure 39: Des Bacilles Gram négatifs (Grossissement x100) (photo personnelle)

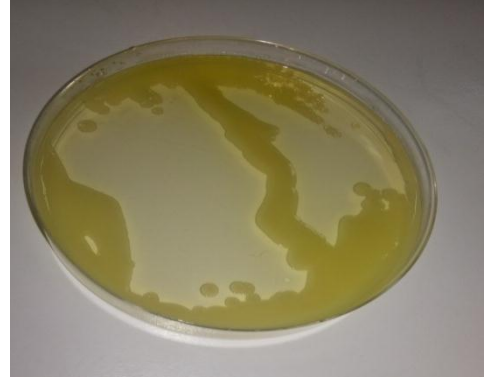


Figure 38: Aspect des colonies sur gélose cétrimide (photo personnelle)

Les résultats de différents tests effectués pour l'identification des *Pseudomonas* sont résumés dans le tableau et la figure ci-dessous :

Tableau 17: Résultats du profil biochimique des *Pseudomonas* isolés.

	Site 1	
<b>Oxydase</b>	+	+
<b>Mobilité</b>	+	+
<b>King A</b>	-	-
<b>King B</b>	-	+
<b>Nitrate</b>	+	-
<b>Citrate de Simmons</b>	+	+
<b>Espèces trouvées</b>	<i>P. stutzeri</i>	<i>P. putida</i>



Figure 40 : Résultat de la recherche de la pyocyanine et de la pyoverdine dans les milieux King A et King B. (photos personnelles)

➤ **Identification par la galerie biochimique classique**

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

Tableau 18: Les espèces identifiées par la galerie biochimique classique.

Milieux de cultures	Espèces bactériennes identifiés	
	Avant la STEP	Après la STEP
<b>Hektoën</b>	- <i>Salmonella arizonae</i> - <i>Pantoea stewartii</i>	- <i>Klebseilla singaporensis</i> - <i>Enterobacter cloaceae</i>
<b>SS</b>	- <i>Salmonella paratyphi A</i>	- <i>Klebsiella singaporensis</i>
<b>Mac Conkey</b>	- <i>Yersinia pestis</i> - <i>Enterobacter gergoviae</i>	- <i>Yersinia intermedia</i> - <i>Klebseilla singaporensis</i>

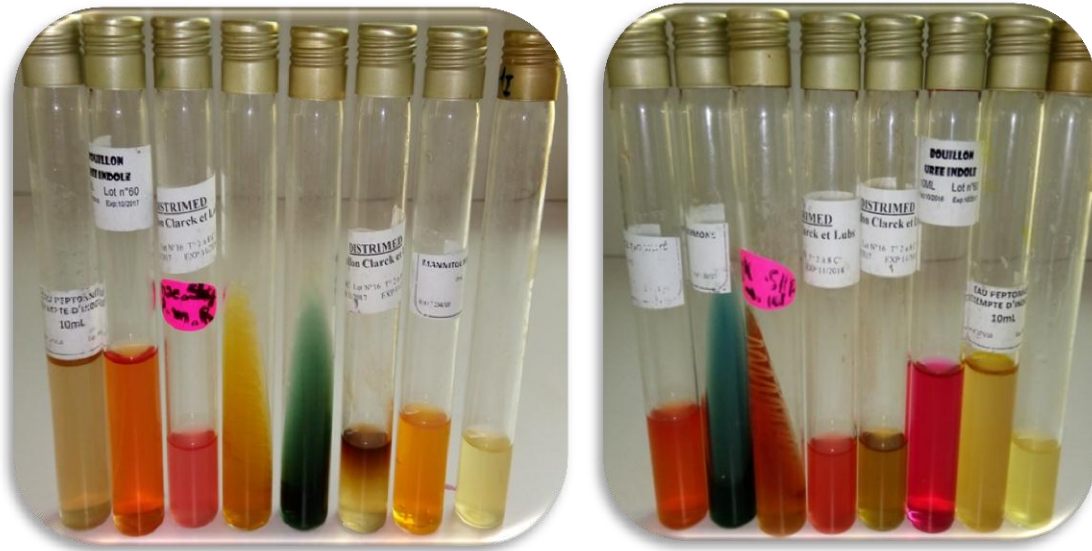


Figure 41: Résultats de quelques galeries biochimiques classiques. (photos personnelles)

➤ **Identification par les API systèmes**

L'étude biochimique réalisée par deux types de systèmes bioMérieux (API 20 E, API 20 NE) nous a permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes (Tableau 19).

Tableau 19 : Résultats de l'identification par les API systèmes (API 20 E, API 20 NE).

API système	Milieux de culture	Espèces bactériennes identifiées
<b>API 20 E</b>	<b>Hektoën</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i> <i>Providencia rettgeri</i>
	<b>SS</b>	<i>Serratia odorifera.1</i> <i>Klebsiella ornithinolytica</i> <i>E. coli</i>
	<b>Mac Conkey</b>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i> <i>E. coli</i>
<b>API 20 NE</b>	<b>GNAB</b>	<i>Vibrio alginolyticus</i> <i>Pasteurella multocida</i>
	<b>Cétrimide</b>	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

❖ Profil biochimique des souches avant la STEP



Figure 42: Profil biochimique de la souche *Pasteurella multocida* (photo personnelle)



Figure 43: Profil biochimique de la souche *Vibrio alginolyticus* (photo personnelle).



Figure 44: Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa* (photo personnelle).

❖ Profil biochimique des souches après la STEP



Figure 45: Profil biochimique de la souche *Providencia rettgeri* (photo personnelle).



Figure 46: Profil biochimique de la souche *Serratia odorifera 1* (photo personnelle).



Figure 47: Profil biochimique de la souche *Pasteurella pneumotropica* (photo personnelle).

❖ Profil biochimique des souches dans les deux sites :



Figure 48: Profil biochimique de la souche *Klebsiella ornithinolytica* (photo personnelle).



Figure 49: Profil biochimique de la souche *E. coli* (photo personnelle).

Tableau 20: Répartition des espèces bactériennes isolées entre les sites.

<b>Espèces bactériennes</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	X	X
<i>Serratia odorifera 1</i>		X
<i>Providencia rettgeri</i>		X
<i>Vibrio alginolyticus</i>	X	
<i>E. coli</i>	X	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	
<i>Pasteurella multocida</i>	X	
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		X
<i>Salmonella arizonae</i>	X	

Suite de Tableau 21: Répartition des espèces bactériennes isolées entre les sites.

Espèces bactériennes	S1	S2
<i>Pantoea stewartii</i>	X	
<i>Klebsiella singaporensis</i>		X
<i>Enterobacter cloaceae</i>		X
<i>Salmonella paratyphi A</i>	X	
<i>Yersinia pestis</i>	X	
<i>Enterobacter gergoviae</i>	X	
<i>Yersinia intermedia</i>		X



# *Conclusion*

Notre étude a été portée sur l'étude de l'impact de la STEP de Guelma sur la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse.

Les différents paramètres physicochimiques mesurés pour l'eau avant la STEP indiquent évidemment une pollution importante. Cette eau présente une température moyenne, un pH légèrement basique, une conductivité élevée et une faible teneur en oxygène dissous. Elle est caractérisée par une DBO<sub>5</sub>, DCO et MES élevées, ainsi que des fortes teneurs en orthophosphates et en ammonium.

Après la station d'épuration, la température, le pH, la conductivité électrique et l'O<sub>2</sub> dissous ne varient pratiquement pas. Par contre nous notons une diminution des paramètres indicateurs d'une pollution organique (DBO<sub>5</sub>, DCO, MES, orthophosphates).

L'étude bactériologique réalisée (dénombrement et recherche des germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et les ASR), a permis d'évaluer un degré de contamination sérieux surtout avant la STEP. Les taux diminuent après le rejet de l'eau épurée.

Nous avons aussi identifiés des bactéries plus ou moins pathogènes. Avant la STEP la plupart des espèces sont strictement pathogènes (*Salmonella paratyphi* A, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pestis*...etc.) susceptible de provoquer des graves maladies, alors que après la STEP la majorité sont des pathogènes opportunistes (*Yersinia intermedia*, *Serratia odorifera* 1, *Enterobacter cloacae*...etc.).

Enfin, nous pouvons conclure que la STEP de Guelma a un impact positif sur la qualité de l'eau de l'Oued Seybouse, traduit par la diminution de la pollution organique et bactériologique.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

- 📖 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 8 Mai 1945, Guelma. 141 p.
- 📖 Abdi S., Razkallah Z. et Zerari A. 2013. *Etude de la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides du complexe de Guerbes-Sanhadja (Wilaya de Skikda)*. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945, Guelma. 105 p.
- 📖 Achiche K. et Larbi S. 2010. *Impact des eaux usées et des embouchures des oueds sur la qualité des eaux de la baie de Bouismail*. Mémoire d'Ingénieur. Ecole nationale supérieure des Sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. 131 p.
- 📖 Adjagodo A., Agassounon Djikpo Tchibozo N., Agbossou A., Vissin E. et Agbossou E. 2017. Pollution physique et bactériologique de l'eau du fleuve dans la basse vallée de l'Ouémé pendant les périodes de basses et hautes eaux au Bénin. *European Scientific Journal, ESJ* .13 (33). 167-186 p.
- 📖 Aissaoui M., Benhamza M. et Guettaf M. 2017. Caractéristiques hydro chimiques des eaux de l'oued Seybouse - Cas de la région de Guelma (Nord est Algérien). *Revue des Sciences et de la Technologie* .35 (1).178-186 p.
- 📖 Aminot A. et Kérouel R. 2004. *Hydrologie des écosystèmes marins paramètres et analyses*. Ifremer. 336 p.
- 📖 Arouya K. 2011. *Pollution des eaux : impact des eaux usées sur la qualité des eaux de surface*. Editions Universitaires Européennes. Allemagne. 124 p.
- 📖 Attoui B. 2014. *Etat de la vulnérabilité à la pollution des eaux des grands réservoirs d'eaux souterraines de la région d'Annaba- El-Tarf et identification des sites d'enfouissement de déchets*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 172p.
- 📖 Badot P. et Crini G. 2007. *Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique*. Presses universitaires de Franche-Comté. France. 352 p

## Références bibliographiques

---

- 📖 Battaglia P., Grange D. et Venel G. 2003. *Evaluation des impacts des stations d'épuration et leur réseau de collecte : éléments techniques*. Certu. France. 129 p
- 📖 Bechiri N. 2011. *Evolution du chimisme des eaux de surface et Souterraines dans le bassin versant de la Seybouse (Nord-Est Algérien)*. Mémoire de Magister, université Badji Mokhtar, Annaba. 129 p.
- 📖 Bedouh Y. 2014. *Évaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon « Allium cepa »*. thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 158 p.
- 📖 Bengherbia A., Hamaidi F., Zahraoui R., Hamaidi M. et Megateli S. 2014. Impact des rejets des eaux usées sur la qualité physicochimiques et bactériologique de l'oued Beni Aza (Blida, Algérie). *Lebanese Science Journal* 15 (2): 13 p.
- 📖 Benyahia H. et Stiti H. 2017. *Contribution à l'étude de la qualité de l'eau d'Oued Seybouse (Guelma)*. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 63 p.
- 📖 Berné F. et Cordonnier J. 1991. *Traitement des eaux*. OPHRYS. 320 p.
- 📖 Bernhard B., Bertrand O., Bertrand P., Baideau F., Boucly D., Brelet G. et Chauveau J. 2009. *Techniques du traitement de l'eau dans les bâtiments: habitat, collectivités, industrie*. Le Moniteur Editions. 551 p.
- 📖 Bertrand J., Caumette P., Lebaron F., Matheron R. et Normand F. 2011. *Ecologie microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropisés*. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour. 1002 p.
- 📖 Béthemont J. et Créatin C. 1979. *Loire et l'aménagement du bassin ligérien*. Université de Saint-Etienne. 260 p.
- 📖 Bianchi V., Duployez N. et El Anbassi S. 2013. *Bactériologie - virologie*. De Boeck Supérieur. 188 p.
- 📖 Bliefert C. et Perraud R. 2004. *Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets*. 1<sup>re</sup> éd. De Boeck Supérieur. Bruxelles. 499 p.

## Références bibliographiques

---

- 📖 Bouchelaghem H. 2017. *Approche spatio-temporelle de l'ichtyofaune du bassin de la Seybouse (Algérie, Nord-Est)*. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma. 134 p.
- 📖 Bougherira N. et Aoun-Sebaiti B. 2012. Impact des rejets urbains et industriels sur l'eau superficielle et souterraine dans dans la plaine d'Annaba (Algérie). *Courrier du Savoir*. n° 13. 63-69.
- 📖 Bouhaous M. et Bengharez Z. 2012. *Contamination des eaux souterraines par les nitrates : analyse microbiologiques, source de contamination et évaluation sanitaire*. Editions Universitaires Européennes. Allemagne. 80 p.
- 📖 Boulahbel H., Debieche T., Boudjemaa A., Boukarroum M. et Ghemit Y. 2016. *Qualité physico-chimique des eaux de surface de la wilaya de jijel (NE Algérien)*. 2<sup>nd</sup> International Conference on Water Resources (ICWR), Exploitation and Valorization. Université Kasdi Merbah Ouargla. 1-4 p.
- 📖 Bourbon B., Lapalus G., Le Daheron V., Louvet C., Marais J. et Pages M. 2015. *Les traitements tertiaires : Pour quoi faire ?*. Rapport Bibliographique. Université Montpellier 2. 30 p.
- 📖 Brun R. et Mary L. 2003. *La rose sous serre pour la fleur coupée*. Quae. 258 p.
- 📖 Canler J., Perret J., Duchène P. et Cotteux P. 2011. *Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées*. Quae. 157 p.
- 📖 Cardot C. et Gilles A. 2013. *Analyse des eaux : Réglementation, analyses volumétriques et spectrophotométriques, statistiques cours et exercices corrigés*. Ellipses. France. 296 p.
- 📖 Cardot C., Lafrage P., Ortega N., Portes G. et Vincent D. 2001. *Techniques appliquées au traitement de l'eau: hydraulique, électrotechnique, procédés de traitement*. Ellipses. Paris. 248 p
- 📖 Charchar N. 2009. *Contribution à l'étude de la pollution d'Oued Seybouse (Guelma) par les tensioactifs anionique (LAS)*. Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 121 p

- 📖 De Villers J., Squilbin M. et Yourassowsky C. 2005. *Qualité physico-chimique et chimique des eaux de surface: cadre général*. Fiche documentée. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement. 16p.
- 📖 Debieche T. 2002. *Evolution de la qualité des eaux (salinité, azote et métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle application à la basse plaine de la Seybouse-Nord- Est Algérien* . Thèse de Doctorat. Université Franche-Comté. France. 235 p.
- 📖 Degbey C., Makoutode M., Agueh V., Dramaix M. et Brouwer C. 2011. Facteurs associés à la qualité de l'eau de puits et prévalence des maladies hydriques dans la commune d'Abomey-Calavi (Bénin). *Santé*. 21 (1). 47-55 p.
- 📖 Delarras C. 2000. *Microbiologie de l'environnement avec législation*. gaetan morin éditeur. 231 p.
- 📖 Delarras C. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Tec & Doc/Lavoisier. Paris. 476 p.
- 📖 Delarras C. 2014. *Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Tec & Doc/Lavoisier. 800 p.
- 📖 Delarras C. et Trébaol B. 2003. *Surveillance sanitaire et microbiologiques des eaux*. Tec & Doc EM INTER. France. 304 p.
- 📖 Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E. et Quentin R. 2007. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Elsevier Masson. 612 p.
- 📖 Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E. et Quentin R. 2011. *Bactériologie médicale : Techniques usuelles*. 2<sup>e</sup> éd. Paris: Elsevier Masson. 640 p.
- 📖 Derradji E., Kherici N., Djorfi S., Romeo M. et Caruba K. 2005. Etude de l'influence de la pollution de l'oued Seybouse sur l'aquifère d'Annaba (Algérie Nord-orientale) par le chrome et le cuivre. *La Houille Blanche*, n° 1. 73-80 p.
- 📖 Derwich E., Benaabidate L., Zian A., Sadki O. et Belghity D. 2010. Caractérisation physico-chimique des eaux de la nappe alluviale du haut Sebou en aval de sa confluence avec Oued Fes. *LARHYSS Journal*. 101-112 p.

- Diagne I., Drame S., Ndiaye M., Ndiaye B. et Diop A. 2017. Caractérisation physico-chimique et contamination métallique des eaux usées déversées au niveau de la baie de Hann (Dakar/Sénégal). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 11 (1). 462-472 p.
- Djedaoune A. 2015. Comportement des polluants des eaux pluviales urbaines en réseaux d'assainissement (caractéristiques et origines) : cas de la plaine d'Annaba. *Revue des Sciences et de la Technologie* 30 (1). 40-47 p.
- Djenidi R. 2016. Étude de la contamination superficielle des carcasses ovines à l'aide d'examen bactériologiques au niveau de l'abattoir de Bordj Bou Arréridj. *Revue Agriculture*. 47-56.
- Elafri A. 2009. *Contribution à l'étude de la pollution des eaux du bassin de la Seybouse : cas des rejets industriels de l'unité du marbre et des carrelages. (suivi de la qualité physicochimique et bactériologique)*. Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945. Guelma. 140 p.
- Ellis J., Chocat B., Fujita S., Marsalek J. et Rauch W. 2004. *Urban Drainage*. IWA Publishing. 528 p.
- Fagrouch A., Amyay S., Berrahou A., EL Halouani H. et Abdelmoumen H. 2010. Performances d'abattement des germes pathogènes en lagunage naturel sous climat aride : cas de la filière de traitement des eaux usées de la ville de Taourirt. *Afrique SCIENCE*. 06 (3). 16 p.
- Fauchère J. 1997. *Bactériofiches: techniques en bactériologie clinique*. Ellipses. Paris. 175 p.
- Flandrois J. 1997. *Bactériologie médicale*. Presses Universitaires Lyon. 328 p.
- Fouad S., Chlaida M., Belhouari A., Hajjami K. et Cohen N. 2013. Qualité bactériologique et physique des eaux de l'Oued Hassar (Casablanca, Maroc): Caractérisation et analyse en Composantes principales. *Les technologies de laboratoire*. 7 (30): 9 p.
- Freney J., Renaud F., Hansen W. et Bollet C. 2000. *Bactériologie clinique*. ESKA. Paris. 1692 p.



## Références bibliographiques

---

- 📖 Gabert J. 2018. *Mémento de l'assainissement: Mettre en œuvre un service d'assainissement complet, durable et adapté*. Quae. 884 p.
- 📖 Garg N., Garg K. et Mukerji K. 2010. *Laboratory Manual of Food Microbiology*. I. K. International Pvt Ltd. 206 p.
- 📖 Guettaf M. 2015. *Caractérisation hydrochimiques et évaluation des indicateurs de pollution dans l'environnement : cas de l'oued Seybouse et ses effluents dans le sous bassin de Guelma (Nord-Est Algérien)*. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma. 185 p.
- 📖 Guezlane-Tebibel N., Kahlouche B. et Athmani-Guemouri S. 2008. *Microbiologie: travaux pratiques*. Office des Publications Universitaire. Alger. 144 p.
- 📖 Hadeif D. et Hasni M. 2017. *Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'Oued de Boutane région de Khemis-Miliana -Ain Defla-*. Mémoire de Master, université Djilali Bounaâma, Khemis Miliana. 84 p.
- 📖 Hafsi R. 2017. *Contribution à l'étude des flux de polluants dans les hydro-systèmes*. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 135 p.
- 📖 Hounsounou E., Ayi-Fanou L., Ayéna A., Agassounon Djikpo Tchibozo M. et Mama D. 2018. Contamination Des Eaux De Puits Par Les Salmonelles Et Les Vibrions non-O1/non-O139 Dans Les Quartiers Précaires Du Sixième Arrondissement De Cotonou (Sud-Bénin). *European Scientific Journal, ESJ*. 14 (6). 6 p.
- 📖 Joffin J. et Leyral G. 2009. *Microbiologie technique*. 4<sup>e</sup> éd. CRDP aquitaine. 312 p.
- 📖 Khadri S. 2009. *Qualité des eaux de la vallée de la Seybouse dans sa partie aval : Impacts des néofacteurs de pollution*. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. 109 p.
- 📖 Khelifa R., Youcefi A., Kahlerras A., Alfarhan A., Al-Rasheid K. et Samraoui B. 2011. L'odonatofaune (Insecta : Odonata) du bassin de la Seybouse en Algérie : intérêt pour la biodiversité du Maghreb. *Revue d'écologie*. 66 (1). 55-66 p.
- 📖 Koller E. 2009. *Traitement des pollutions industrielles*. 2<sup>ème</sup>. Dunod, L'Usine Nouvelle. Paris. 570 p.

## Références bibliographiques

---

- 📖 Labres E. 2002. *Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments*. Institut Pasteur. 34 p.
- 📖 Lagnika M., Ibikounle M., Montcho J., Wotto V. et Sakiti N. 2014. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des puits dans la commune de Pobè (Bénin, Afrique de l'ouest). *Journal of Applied Biosciences*. 79 (1). 68-87 p.
- 📖 Louamri, A. 2013. *Le bassin-versant de la Seybouse (Algérie orientale) : hydrologie et aménagement des eaux*. Thèse de Doctorat. Université Constantine 1. 315p
- 📖 Mahdjoub H. 2017. *Cycle de vie et écologie de Coenagrion mercuriale dans le bassin versant de la Seybouse (Nord-Est de l'Algérie)*. Thèse de Doctorat. université Badji Mokhtar, Annaba. 98 p.
- 📖 Makhoukh M., Sbaa M., Berrahou A. et Clooster Van M. 2011. Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (Maroc oriental). *Larhyss Journal*, n° 09. 149-169 p.
- 📖 Merzoug S. 2015. *Structure du Fuligule nyroca Aythya nyroca dans les zones humides du littoral est de l'Algérie : statut et description des habitats*. thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. 145 p.
- 📖 N'guessan Y., Wognin V., Kouadio K., Probst A. et Probst J. 2017. Paramètres influençant la distribution des éléments traces métalliques dans les affluents du fleuve Garonne (France). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 11 (3). 1363-1372.
- 📖 ONA (l'Office National de l'Assainissement). 2011. Journée mondiale de l'eau. Guelma. 19 p.
- 📖 Plagellat C. 2004. *Origines et flux de biocides et de filtres UV dans les stations D'épuration des eaux usées*. Thèse de Doctorat. École Polytechniques Fédérale de Lausanne. 244 p.
- 📖 Pourcher A. 1991. *Contribution à l'étude de l'origine (humaine ou animale) de la contamination fécale des eaux de surfaces*. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques de Lille FLANDRES ARTOIS. 177 p.

## Références bibliographiques

---

- 📖 Quilici M. 2011. Le diagnostic bactériologique du choléra. *Revue Francophone des Laboratoires*. 51-65.
- 📖 Rahmani S. 2015. *Impact de la carence en fer et l'infection sur le système immunitaire Chez des enfants: production des siderophores par Pseudomonas*. Thèse de Doctorat. Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes. 226 p.
- 📖 Rampal P. 2000. *Colites infectieuses de l'adulte*. John Libbey Eurotext. 228 p.
- 📖 Raweh S., Belghyti D., Al-Zaemey A., El Guamri Y. et Elkharrim K. 2011. Qualité physico-chimique des eaux usées de la station d'épuration de la ville de S'anaa (Yémen). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 1-10 p.
- 📖 Reggam A., Bouchelaghem H. et Houhamdi M. 2015. Qualité Physico-Chimique des Eaux de l'Oued Seybouse (Nord-Est de l'Algérie): Caractérisation et Analyse en Composantes Principales. *Journal of Materials and Environmental Science*. 1417-1425 p.
- 📖 Reggam A. 2015. *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physico-chimique des eaux d'Oued Seybouse*. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma. 174 p.
- 📖 Rejsek F. 2002. *Analyse des eaux : aspect réglementaires et techniques*. CRDP. 360 p.
- 📖 Richard S., Arnoux A. et Cerdan P. 1997. « Évolution de la qualité physico-chimique des eaux de la retenue et du tronçon aval depuis le début de la mise en eau du barrage de Petit-Saut ». *Hydroécologie Appliquée*. 57-83 p.
- 📖 Rodier J. 1984. *L'analyse de l'eau*. 7<sup>e</sup> éd. Dunod. 1356 p.
- 📖 Rodier, J. 2016. *L'analyse de l'eau*. 10<sup>e</sup> éd. Dunod. 1824 p.
- 📖 Rodier J., Legube B., Merlet N. et Brunet R. 2009. *L'analyse de l'eau - 9e éd.: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. 9<sup>e</sup> éd. Dunod. 1579 p.
- 📖 Satha Yalles A. 2008. *Caractérisation du peuplement Odonatologique des bassins versants de Bouhamdane et Seybouse*. Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 129 p.

## Références bibliographiques

---

- 📖 Sayad L. 2015. *Le pouvoir autoépurateur de l'oued Seybouse sur les rejets de la laiterie de l'Edough (Annaba-Algérie) et les objectifs environnementaux des rejets*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 203 p.
- 📖 Station de météo, Belkhir (Guelme). 2018.
- 📖 STEP (Station d'épuration des eaux usées), Guelma. 2012.
- 📖 Terbeche M. 2006. *Tendances de la contamination bactériologique et métallique chez la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) exploitée dans la baie d'Oran*. Mémoire de Magister. Université ES SENIA, Oran. 162 p.
- 📖 Tfeila M., Ouled Kankou M., Souabi S., Aboulhassan M., Taleb A. et Bouezmarni M. 2016. Suivi de la qualité physicochimique de l'eau du fleuve Sénégal : Cas du captage du Beni Nadji alimentant en eau potable les wilayas de Nouakchott. *Journal of Materials and Environmental Science*.7 (1).148-160.
- 📖 Tir E., Bounouira Y. et Chedad A. 2017. Physico-Chemical and microbiological quality of water from the source of the community of Tissemsilt: case of Ain Loura and Ain Sfa. *LARHYSS Journal*. 111-119 p.
- 📖 Tortora G., Funke B. et Case, C. 2012. *Introduction à la microbiologie*. 2<sup>e</sup> éd. Editions Du Renouveau Pédagogique INC. 630 p.
- 📖 Le loir Y. et Gantier M. 2009. *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. 301 p.
- 📖 Zebsa R. 2016. *Ecologie et statut des Gomphidae (Odonata) à Oued Seybouse*. Thèse de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma.139 p.
- 📖 Zouag B. et Belhadj Y. 2017. *Analyse physico-chimique et bactériologique et parasitologique de l'eau de mer traitée par la station de dessalement de Souk Tleta « Tlemcen »*. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 155 p.

# *Annexes*

Tableau 22 : La table de Mac Grady

<b>3 tubes par dilution</b>					
<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellules</b>	<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellules</b>	<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellules</b>
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		

Annexe 2

Tableau 23 : Lecture de l'API 20E

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incoloré	jaune
<b>ADH</b>	L-arginine	1,9	Arginine Dihydrolase	Jaune	rouge / orangé
<b>LDC</b>	L-lysine	1,9	Lysine Décarboxylase	Jaune	rouge / orangé
<b>ODC</b>	L-ornithine	1,9	Ornithine Décarboxylase	Jaune	rouge / orangé
<b>CIT</b>	trisodium citrate	0,756	utilisation du Citrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
<b>H<sub>2</sub>S</b>	sodium thiosulfate	0,075	production d'H <sub>2</sub> S	incoloré / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
<b>URE</b>	Urée	0,76	Uréase	Jaune	rouge / orangé
<b>TDA</b>	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Désaminase	TDA / immédiat	
				Jaune	marron- rougeâtre
<b>IND</b>	L-tryptophane	0,19	production d'Indole	JAMES / immédiat	
				incoloré vert pâle / jaune	rose
<b>VP</b>	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incoloré / rose pâle	rose / rouge
<b>GEL</b>	Gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (Gélatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(Glucose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
<b>MAN</b>	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (Mannitol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>INO</b>	Inositol	1,9	fermentation / oxydation (Inositol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (Sorbitol)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>RHA</b>	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (Rhamnose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (Saccharose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>MEL</b>	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (Melibiose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>AMY</b>	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (Amygdaline)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (Arabinose)	bleu / bleu-vert	jaune
<b>OX</b>	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-Oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Tableau 24 : Lecture de l'API NE.

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



Tableau 25 : Grille de classification des eaux d'Oued (Bengherbia *et al.*, 2014).

<b>Paramètre</b>	<b>Très bonne</b>	<b>Bonne</b>	<b>passable</b>	<b>Mauvaise</b>	<b>Très mauvaise</b>
<b>Température</b>	< 20	20 - 21,5	21,5 - 25	25-28	> 28
<b>pH</b>	< 8	8 – 8,5	8,5 - 9	9 - 9,5	> 9,5
<b>MES</b>	< 25	25 - 50	50 - 100	100-150	>150
<b>DBO<sub>5</sub></b>	< 3	3 - 6	6 - 10	10-25	>25
<b>DCO</b>	< 20	20 - 30	30 - 40	40-80	> 80
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	< 0,5	0,5 - 1,5	1,5 - 4	4-8	> 8
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	< 0,1	0,1 - 0,5	0,5 - 1	1-2	>2
<b>Coliformes totaux</b>	< 50	50 - 500	500 - 5000	5000-50000	>50000
<b>Coliformes fécaux</b>	< 20	20 - 200	200 - 2000	2000-20000	>20000
<b>Streptocoques fécaux</b>	< 20	20 - 200	200 - 1000	1000-10000	>10000

# *Résumé*

L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma (STEP) sur la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse, l'un des principaux cours d'eau de l'Est de l'Algérie avec une superficie d'environ 6471 km<sup>2</sup>. Il est caractérisé par une pollution industrielle et agricole très importante. L'Oued reçoit annuellement 4,5 millions de m<sup>3</sup> des rejets et il est considéré comme un milieu récepteur des eaux traitées par la STEP.

Les résultats des analyses montrent une diminution de la pollution organique (DBO<sub>5</sub>, DCO, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, MES) et bactériologique (les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux, ASR) après les rejets de la STEP. Cette diminution est causée par un phénomène de dilution de la plupart des polluants suites des rejets d'une eau traitée qui présente des teneurs en matières organiques et bactériologiques plus faible que celle de l'eau de l'Oued.

**Mots clés :** Oued Seybouse, station d'épuration, analyse physicochimique, analyse bactériologique.

The objective of this study is to determine the influence of Wastewater treatment plant (WWTP) of the city of Guelma on the physico-chemical and bacteriological quality of the water of the Wadi Seybouse, one of the principal watercourses in the east of Algeria with a surface approximately 6471 km<sup>2</sup>. It is characterized by a very important industrial and agricultural pollution, the Wadi receives annually 4,5 millions of m<sup>3</sup> of the rejections, and it is regarded as a receiving medium of the water treated by the WWTP.

The results of the analyzes show a reduction in organic pollution (BOD<sub>5</sub>, COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, total suspended solids (TSS)) and bacteriological pollution (total germs, total and faecal coliforms, faecal streptococci, ASR) after the rejection of the WWTP. This reduction is caused by phenomenon of dilution of most pollutants following the rejection of treated water which has lower organic and bacteriological contents than that of water from the Wadi.

**Keywords:** Seybouse Wadi, wastewater treatment plant, physicochemical analyzes, bacteriological analyzes.

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير محطة تنقية المياه المستعملة لمدينة قالمة على الجودة الفيزيوكيميائية والبكتيريولوجية لمياه واد سيبوس، أحد أهم مجاري المياه الرئيسية في شرق الجزائر بمساحة تقدر ب 6471 كم<sup>2</sup>. فهو أكثر عرضة للتلوث الصناعي والزراعي، باكتسابه سنويا 4.5 مليون م<sup>3</sup> من الملوثات، و يعتبر أيضا وسط مستقبل للمياه المعالجة من طرف محطة تنقية المياه.

أظهرت نتائج التحاليل انخفاضا في التلوث العضوي (الطلب البيوكيميائي للأوكسجين، الطلب الكيميائي للأوكسجين، الأمونيوم، الفوسفات العضوي، المواد الصلبة العالقة) و البكتيريولوجي (مجموع الجراثيم، مجموع القولونيات، القولونيات البرازية، العقديات البرازية، البكتيريا اللاهوائية المختزلة للكبريت) بعد مصب محطة تنقية المياه. وينجم هذا الانخفاض عن ظاهرة تخفيف لمعظم الملوثات جراء إختلاط مياه الواد بالمياه المعالجة التي تحتوي على مواد عضوية وبكتيريولوجية أقل من سابقتها.

**الكلمات المفتاحية :** واد سيبوس، محطة تنقية المياه المستعملة، تحليل فيزيوكيميائي، تحليل بكتيريولوجي.

Benabassa Marwa  
Merzoug Khawla

Juin 2018



**Mémoire de Master en Biologie**

**Option : Microbiologie appliquée**

**Thème :**

## **Étude de l'impact de la station d'épuration sur la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'Oued Seybouse**

### **Résumé**

L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma (STEP) sur la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau de l'Oued Seybouse, l'un des principaux cours d'eau de l'Est de l'Algérie avec une superficie d'environ 6471 km<sup>2</sup>. Il est caractérisé par une pollution industrielle et agricole très importante. L'Oued reçoit annuellement 4,5 millions de m<sup>3</sup> des rejets et il est considéré comme un milieu récepteur des eaux traitées par la STEP.

Les résultats des analyses montrent une diminution de la pollution organique (DBO<sub>5</sub>, DCO, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, MES) et bactériologique (les germes totaux, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux, ASR) après les rejets de la STEP. Cette diminution est causée par un phénomène de dilution de la plupart des polluants suites des rejets d'une eau traitée qui présente des teneurs en matières organiques et bactériologiques plus faible que celle de l'eau de l'Oued.

**Mots clés :** Oued Seybouse, station d'épuration, analyse physicochimique, analyse bactériologique.

### **Les membres de jury :**

<b>Présidente :</b> Mme. Boussaâdia	<b>(M.C.B)</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Examineur :</b> Mr. Aissaoui	<b>(M.C.B)</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>Encadreur :</b> Mr. Houhamdi M.	<b>(Pr.)</b>	<b>Université de Guelma</b>