

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SNV



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

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

**Thème : Etude des paramètres physico-chimiques et microbiologiques du
lac Oubeira**

Présenté par :

-OWASSA DZA Annisha Rébecca

-SATHA Mouna

Devant le jury composé de :

Président : Mlle AMRI .S

M.A.A Université de Guelma

Examineur: ^{Mr} BOUCHLAGHEM .M .E

M.A.A Université de Guelma

Promoteur : Mme BEDIQUI .S

M.A.A Université de Guelma

Juin 2014

Résumé :

Lac Oubeira est une eau douce endoréique qui fait partie du complexe des zones humides de l'Est algérien. qui présente une importance bio- géochimique caractérisé par la présence des plusieurs espèces rares tel que (les hélophytes, les sédentaires, flamant rose).

Notre étude a été basée sur deux types d'analyse physico-chimique qui permette à déterminer la présence d'une forte concentration de turbidité ,valeur hydrique et calcium au niveau de site 1 et le matière en suspension ,matière organique ,TAC , Magnésium, au niveau de site 2 et la température ,DCO ,DBO au niveau de site 3, et le Ph , conductivité au niveau de site 4. et autre microbiologique subdivisée en bactériologie s'explique par la présence d'une forte concentration de coliforme totaux au niveau de site 2 (140000 germes/ml), et de streptocoques fécaux au niveau de site 3 (140000 germes/100ml), et autre fongique par la présence de plusieurs espèces tel que penicillium et l'aspergillus. qui favorise la multiplication de plusieurs micro-organismes capable de provoquer des maladies hydriques.

Dans le but d'une évaluation de risque de contamination confirme la présence des plusieurs types des germes bactérienne et fongique pathogènes ou saprophytes.

Mots Clés : lac Oubeira , eau douce, turbidité, coliforme totaux, *streptocoques fécaux*, *Aspergillus* , *Penicillium*

Abstract

Oubeira Lake is an endorheic freshwater which is a part of waterlands complex of the Algerian est, which has a biogeochemical importance characterized by the presence of several unusual species such as (The helophytes, the sedentaries, the flamingo). Our study has been based on two types of physico chemical analysis that allows to determine the presence of a high concentration of turbidity, water value, and calcium at site 1 and suspended matter, organic matter, TAC, magnesium at site 2 and temperature, DCO, DBO at site 3 and Ph, conductivity at site 4 and other microbiological analysis subdivided into bacteriological that are explained by the presence of a high concentration of total coliforms at site 2 (140000 microbes/ml) and faecal Streptococci at site 3 (140000 microbes/100ml) and other fungal analysis by the presence of several kinds such as Penicillium and Aspergillus which can cause several diseases for the purpose of assessing the risk of contamination

Key words: Oubeira lake, fresh water, turbidity, total coliforms, *faecal Streptococci*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

ملخص

تعد بحيرة اوبيرة من المياه الغازية التي هي جزء من مجمع للأراضي الرطبة في شرق الجزائر تمثل الأهمية الجيوكيميائية الحيوية التي تتميز بوجود العديد من الأنواع النادرة.

واستندت الدراسة لدينا على نوعين من التحاليل الفيزيائية والكيميائية والتي تمكن تحديد وجود تركيزات عالية من العكارة والماء و قيمة الكالسيوم في الموقع (1) و المواد العالقة ، والمواد العضوية ، المغنيزيوم ، درجة الحرارة على مستوى الموقع 2، والعناصر العضوية في الموقع 3، و درجة الحموضة ، والموصلية في موقع 4. و أوضحت الدراسة الميكروبيولوجية التي تنقسم إلى علم الجراثيم من خلال وجود تركيز عال من المستوى الإجمالي للقولونية في الموقع 2 (140000 خلية / مل) و العقاديات البرازية في موقع 3 (140000 مل خلية/مل) ، و الفطرية الأخرى من خلال وجود العديد من الأنواع مثل الرشاشات و البنسليوم . الذي يعزز تكاثر العديد من الكائنات الدقيقة قادرة ع

لى التسبب في الأمراض التي تنقلها المياه.

الهدف في تقييم مخاطر التلوث يؤكد وجود عدة أنواع من مسببات الأمراض البكتيرية و الفطرية .

كلمات مفتاحية : بحيرة اوبيرة ، المياه العذبة ، التعكير ، مجموع القولونيات ، العقاديات البرازية ، الرشاشات ، البنسليوم .

Sommaire

Partie I : Etude bibliographique

Introduction

Chapitre I : Description de site d'étude

I-1 Description du site d'étude

Situation géographique de lac.....03

I-2 les caractéristiques du lac Oubeira.....04

I-3 Diversité biologique du lac Oubeira.....04

I-4 les problèmes du lac Oubeira.....05

Chapitre II : Paramètre physico-chimique

II.1. Paramètre physique06

II.2. Paramètre chimique.....07

Chapitre III : Différents types de contamination

III.1. Contamination

bactérienne.....10

III.2. Contamination Fongique.....11

III.2.1. L'appareil végétatif ou thalle12

III.2.2. Classification des champignons.....13

III.2.3. Arrangements des deux espèces *Aspergillus et Penicillium*.....14

III.2.4. Culture des champignons.....14

III.2.4.1. Les critères d'identification des champignons filamenteux.....15

Partie II : Partie expérimentales

Chapitre VI : Matériel et Méthodes

IV.1 L'échantillonnage17

IV.1.1 Prélèvement des échantillons17

IV.1.2 Transport des échantillons.....	17
IV.1.3 Stérilisation des milieux	17
IV.2 Analyse fongique	17
IV.2.1 Coulage des boîtes	17
IV.2.2 Préparation des dilutions.....	17
IV.2.3 Ensemencement et incubation	18
IV.2.4 Lecture.....	19
IV.3 Examen microscopique des souches.....	20
IV.3.1 Examen à l'état frais	20
IV.3.2 Examen après coloration.....	20
IV.4 Analyse bactériologique	21
IV.4.1 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des thermo-tolérants	21
IV.4.2 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	23
IV.4.3 Isolement et identification des entérobactéries pathogènes	25
IV.4.4 Examen microscopique	26
IV.4.4.1 Coloration de Gram.....	26
IV.4.5 Détermination des caractères biochimique des entérobactéries	26
IV.4.5.1 La galerie biochimique classique.....	26
IV.4.5.2 .Teste complémentaire	28
IV.4.6 .La galerie API 20 ^E	29

IV.5.La recherche et identification des <i>staphylocoques</i>	30
IV.5.1. L'observation macroscopique	30
IV.5.2. L'observation microscopique.....	30
IV.5.3. L'identification biochimique des staphylocoques.....	30
IV.5.4. Test catalase.....	30
IV.5.5. Recherche de l'enzyme staphylocoagulase.....	30
IV.5.6. Recherche des <i>Pseudomonas-aeruginosae</i>	31
IV.6 Analyse physico-chimique.....	32
IV.6.1. Mesure de la température.....	32
IV.6.2.La Conductivité.....	32
IV.6.3. L'oxygène dissous.....	32
IV.6.4. Le pH.....	32
IV.6.5. La turbidité.....	33
IV.6.6 Magnésium	33
IV.6.7. Calcium.....	34
IV.6.8. Titre alcalimétrique simple et complet.....	34
IV.6.9. Les matières en suspension (MES).....	35
IV.6.10. Les Chlorure.....	36
IV.6.11.Les matières organiques.....	36

Chapitre V : Résultats et Discussion

V.1. Paramètres physico-chimique.....	38
V.1.1.Paramètres physique.....	38
V.1. 1.1.Température.....	39
V.1.1.2. La Conductivité.....	39
V.1.1.3.La turbidité.....	40
V.1.1.4.Matière en suspension	41
V.1.2.Paramètres chimiques	42
V.1.2.1potentiel d'hydrogène (pH).....	42
V.1.2.2. Le titre alcalin (TA)	42
V.1.2.3. Le titre alcalin complet (TAC)	43
V.1.2.4. La valeur hydrique (TH)	44
V.1.2.5.Matière organique.....	44
V.1.2.6.Calcium.....	45
V.1.2.7.Magnésium.....	46
V.1.2.8.La Chlorure.....	46
V.1.2.9.Demande Biochimique en Oxygene5(DBO ₅).....	46
V.1.2.10.Demande chimique en oxygène (DCO).....	47
V.1.2.11.Oxygène dissous	48
V.2. Analyse microbiologique	49
V.2.1 : bactériologique.....	49
V.2.1.1. Résultat de la recherche des entérobactéries.....	49
V.2.1.2. Résultat de la recherche des staphylocoques	53
V.2.1.3 Détermination des caractères biochimique	54

V.2.1.3.1. Recherche et dénombrement des contaminations fécales coliformes totales	
Coliformes totaux (CT)	54
V.2.2. Identification fongique	55
Conclusion.....	59

Références bibliographiques

Annexes

L'eau est un élément vital et indispensable à la vie. Elle couvre 70% de la planète. Son importance pour l'économie ne cesse de croître. Sa demande et son approvisionnement deviennent de plus en plus difficiles à acquérir. Elle est nécessaire à la santé, l'agriculture, l'industrie, le tourisme, les loisirs et la navigation. [34]

A l'échelle planétaire, l'eau douce est une ressource rare, précieuse et menacée. En effet, les hommes consomment l'eau et génèrent diverses pollutions dans le cadre de leurs activités industrielles, artisanales, agricoles, domestiques et urbaines. Lorsque ces pollutions sont rejetées sans traitement préalable dans les milieux naturels, elles altèrent la qualité des rivières, lacs et nappes souterraines provoquant de graves nuisances.

Les eaux douces voient ainsi leur qualité dégradée tout autour du globe depuis plus d'un demi-siècle, du fait notamment de l'explosion démographique, occasionnant des difficultés d'approvisionnement en eau potable et des perturbations des écosystèmes aquatiques. [47]

Le Parc National d'El Kala (wilaya d'El Tarf) est une grande réserve hydrique naturelle faisant partie des réserves des zones humides en Algérie, enregistré dans la convention de Ramsart à cause de nombreuses richesses écologiques (*Typha angustifolia*) avec une diversité abondante de la faune (*Aythya nyroca*) et la flore (*ultracularia exolcta*). Elle est aussi réputée d'être l'escale prolongé des oiseaux migrateurs, regroupant plusieurs lacs d'eaux douces et salées tel que le lac Mellah et le **lac Oubeira** qui fait l'objet de notre étude. [2]

Dans le cadre de ce travail notre objectif permet de déterminer l'évaluation des risques de contamination illustrés par une étude physico-chimique, bactériologique (indicateur de contamination) et fongique. Ces derniers permettent de quantifier la qualité des eaux du lac Oubeira et déterminer précisément les altérations de la qualité de ces eaux engendrées notamment par les rejets d'eaux usées, l'industrie, l'artisanat ou l'agriculture.

La présente étude vise à déterminer la qualité d'eau naturelle «Lac Oubeira»

Elle est regroupée en deux parties :

Une théorique subdivisée en trois chapitres :

- La description du lac Oubeira
- Les paramètres physico-chimiques
- Les différents types de contaminations

Une partie expérimentale :

- La recherche et des cellules fongiques.
- La recherche et le dénombrement des germes indicateurs de pollution fécale qui regroupent : *les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux.*
- La recherche des bactéries pathogènes (les *Entérobactéries* pathogènes, *Pseudomonas* et *Staphylocoques* pathogènes).
- Les paramètres physico-chimiques
- Résultat et discussion mentionnant les différents résultats obtenus au cours de notre étude, avec une discussion et

Le présent travail est sanctionné par une conclusion.

Créé en 1983, le Parc National d'EL-Kala est un ensemble de plans d'eau répartis entre lacs et marais dont les principaux sont le lac Tonga, le **lac Oubeira**, le lac Mellah, le lac Bleu, le marais de Bourdim et beaucoup d'autres d'importances écologiques égales. Il est classé comme une réserve de Biosphère en 1990. [1]

I.1 - Description du site d'étude le lac Oubeira

Lac d'eau douce endoréique d'origine naturelle occupe une superficie de 2.200 hectares de forme subcirculaire. L'Oubeïra est situé près des Lacs Mellah et Tonga au centre d'un bassin versant de 9.900 hectares, à 4 kilomètres à vol d'oiseau de la mer. [2]

A 3 Km à l'Ouest de la ville d'El-Kala, dans la Wilaya d'El-Tarf à l'extrême Nord-est de l'Algérie, La grande ville la plus proche est Annaba à 70 Km à l'Ouest. [3]



Fig. 01 : Situation géographique du lac Oubeira dans le parc national d'EL- Kala. [3]

I.2 - Les caractéristiques du lac Oubeira

Sont nombreuses tel que physique ou hydrologique

Tab.01 : Caractéristique physique du lac Oubeira

Géologie, géomorphologie Et hydrologique	La profondeur maximale est de 4m. - Le substrat est entièrement composé d'argile, alimenté essentiellement par l'Oued Messida et d'une dizaine de petits affluents des collines avoisinantes. constitue un dépotoir de sédiment provenant du bassin versant
Climat	- Vents dominants Nord. ouest (permanents) - Pluviométrie annuelle entre 800 mm et 1000 mm
Température	- Température de l'eau varie de 8,8 à 15,2° au Mois de Janvier
Qualité des eaux	- Eaux turbides surtout en hiver, un pH variant entre (8 et 10,653) [3]

I.3 - Diversité biologique du lac Oubeira

Lac Oubeira héberge une faune et une flore diversifiées.

- **La flore remarquable**

C'est le seul du complexe humide de la région qui présente une organisation spatiale typique en ceintures de végétation (hélrophytes), avec une importante superficie colonisée par des herberies flottantes d'hydrophytes :

- Les hélrophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau.
- le polygomum (*polygonum senegalens*).
- le scribe incliné (*scirpu inclinatus*).
- l'ultrriculaire (*ultracularia exolcta*) [4]

- **Faune remarquable**

Lac Oubeira constitue l'habitat de plusieurs espèces animales telle que :

- Les oiseaux d'eau
- Les sédentaires : Blongios nain ; Poule sultane.
- Les hivernais : Erismature a tête blanche ; Grande aigrette spatule blanche.
- Les mammifères représentés par la loutre [3]

I.4 - Les problèmes du lac Oubéira

- **l'introduction d'une carpe exotique.**
- **en 1986, mais durant l'été 1990 :** le lac s'est asséché complètement, du fait des pompages et de la sécheresse, ce qui présente un effet de tuer les intruses, mais cette disparition de l'eau avec un impact sévère sur la végétation aquatique.
- **Extension de l'agriculture spéculative autour du Lac :** Il s'agit de la culture des arachides, pastèque et melon, nécessitant un pompage pendant la saison d'étiage.
- **Déversement des eaux usées :** Ces eaux usées proviennent de l'agglomération du village El Frine, d'une partie d'El Kala et de la cité Djeffal Toriki.
- **La pollution par les déchets jetés sur les bords du lac.** [44]



Fig 02 : les bords du lac Oubeira.

L'appréciation de la qualité des eaux de surface se base sur la mesure de paramètres physico-chimiques et ainsi que sur la présence ou l'absence d'organismes et de micro-organismes aquatiques, indicateurs d'une bonne qualité de l'eau. [57]

II.1 – Les paramètres physiques

➤ La température

La température de l'eau joue un rôle important, accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques d'un facteur 2 à 3 pour une augmentation de Température de 10 degrés Celsius (°C). L'activité métabolique des organismes aquatiques est donc également accélérée lorsque la température de l'eau s'accroît.

La valeur de ce paramètre est influencée par la température ambiante mais également par d'éventuels rejets d'eaux résiduelles chaudes. Des changements brusques de température de plus de 3° C s'avèrent souvent néfastes. [7]

➤ La conductivité

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes et permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau. [7]

➤ La turbidité

La turbidité s'explique par la présence dans l'eau de particules en suspension minérales ou organiques, vivantes ou détritiques. Ainsi une eau est chargée en biomasse phytoplanctonique ou en particules sédimentaires. [33]

➤ La matière en suspension (MES)

Des particules fines dans une eau sont soit d'origine naturelle en liaison avec les précipitations, soit produites par les rejets urbains et industriels. Leur effet néfaste est mécanique, par formation de sédiments et d'un écran empêchant la bonne pénétration de la lumière d'une part (réduction de la photosynthèse), ainsi que par colmatage des branchies des poissons d'autre part. Leur effet est par ailleurs chimique par constitution d'une réserve de pollution potentielle dans les sédiments. [38]

II.2 – Les paramètres chimiques

➤ Le potentiel hydrogène

Le pH (potentiel hydrogène) mesure la concentration en ions H^+ de l'eau. Il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14,7 étant le pH de neutralité. Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples dont l'origine de l'eau.

Le pH doit impérativement être mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre ou par colorimétrie [3]

Tableau2 : la variation du pH

$pH \leq 5$	Acidité forte = présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
$pH = 7$	pH neutre
$7 \leq pH \leq 8$	Neutralité approchée la majorité des eaux de surface
$5.5 \leq pH \leq 8$	Majorité des eaux souterraines
$pH = 8$	Alcalinité forte évaporation intense

➤ L'alcalinité d'une eau

Dans les eaux, l'alcalinité est principalement due à la présence d'ions carbonate CO_3 , d'ions hydroxyle OH et hydrogencarbonate HCO_3 (anciennement appelés ions bicarbonate). L'alcalinité d'une eau est mesurée par un dosage avec un acide fort. Par convention, on exprime ce résultat par :

- le titre alcalimétrique (TA) mesurant la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalis caustiques

Le titre alcalimétrique (TA) : ce titre est égal au volume d'acide (en mL) à 0,02 mol. L⁻¹ d'ions H_3O^+ nécessaires pour doser 100 ml d'eau en présence de phénolphthaléine.

- Le titre alcalimétrique complet (TAC) correspondant à la teneur de l'eau en alcalin libre, carbonates et hydrogencarbonates. C'est la somme des ions OH et CO_3 . [8].

➤ **La dureté ou l'hydrotimétrie (TH)**

En reconnaissant la valeur du TH, on peut classer les eaux douces, eaux moins dures ou eaux dures. La dureté ou (titre hydrotimétrique) d'une eau correspond à la somme des concentrations en cation métallique à l'exception de ceux des métaux alcalis et de l'ion hydrogène. Dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions de fer, aluminium, manganèse, strontium. [9]

➤ **Le phosphore**

Le phosphate est la forme sous laquelle le phosphore peut être assimilé par les êtres vivants, en particulier les algues. Chimiquement, le phosphate est une combinaison d'atomes de phosphore et d'oxygène. [56]

➤ **Le magnésium (Mg)**

Le magnésium est un élément chimique, métallique, structurel léger dans l'industrie, causé par son poids faible et sa capacité à former des alliages mécaniquement résistants. [38]

➤ **Le chlorure (Cl)**

Des chlorures peuvent être localement impliqués dans les pluies acides et phénomènes d'acidification d'eaux superficielles ou souterraines. [55]

➤ **Le calcium (Ca)**

Le calcium est un métal alcalinoterreux extrêmement répandu dans la nature et en particulier dans les roches calcaires sous forme de carbonates. Composant majeur de la dureté de l'eau, le calcium est généralement l'élément dominant des eaux potables. Sa teneur varie essentiellement suivant la nature des terrains traversés. Il existe surtout à l'état d'hydrogénocarbonates et en quantité moindre, sous forme de sulfates, chlorures. [13]

➤ **La demande chimique en oxygène (DCO)**

La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder toute la matière organique contenue dans une eau. C'est l'un des paramètres de la qualité d'une eau. [53]

➤ **La demande biochimique en oxygène (DBO₅)**

Généralement exprimée en milligrammes d'oxygène dissous par litre d'eau pendant un nombre de jours précis à température donnée, la DBO d'une eau polluée par des rejets d'égouts est élevée. Ce qui signifie qu'il ne reste presque plus d'oxygène dissous dans l'eau. [33]

➤ **L'oxygène dissous**

La concentration en oxygène dissous est un paramètre essentiel dans le maintien de la vie et donc dans les phénomènes de dégradation de la matière organique et de la photosynthèse utilisée essentiellement pour les eaux de surface. [10]

Un plan d'eau est considéré comme étant contaminé lorsque sa composition et son état sont directement ou indirectement modifiés par l'activité de l'homme dans une mesure telle qu'il se prête moins facilement à toutes ou certaines des utilisations auxquelles il pourrait servir dans son état naturel. [48]

Parmi ses contaminants on a :

III.1 - La contamination bactérienne

Certaines bactéries peuvent être pathogènes. Les bactéries ont colonisé tous les milieux et font preuve d'une extraordinaire diversité. Certaines peuvent vivre dans des conditions extrêmes devenant capables de croître à partir des éléments soufrés, qui composent leur environnement, de méthane ou d'hydrogène. [39]

Parmi ces microorganismes on cite les coliformes totaux, fécaux.

Tableau 3 : Description de quelques espèces

Espèces	Description
Les coliformes totaux	Les coliformes totaux sont des bactéries utilisées comme indicateur de la qualité microbiologique de l'eau. Leur présence en excès dans l'eau. [49]
Les coliformes fécaux	Les coliformes fécaux, (<i>E. coli</i>) et les entérocoques sont des bactéries d'origine fécale qu'on retrouve dans le tube digestif des humains et des animaux. [50]
<i>Salmonella</i>	Responsable de la fièvre typhoïde et paratyphoïde. des bacilles à Gram négatif, mobiles dans toutes les directions grâce à des flagelles. Elles sont aéro-anaérobies facultatifs. [51]

<i>Staphylococcus aureus</i>	S. aureus est un coque a coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 a 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase positif. [45]
Anaérobies Sulfite Réducteurs	Les Anaérobies Sulfite Réducteurs (ASR) sont des germes telluriques (présents dans le milieu extérieur : sol, eau, air, capables d'y résister très longtemps sous forme de spore), présents également dans la flore intestinale de l'homme et des animaux. Cette appellation regroupe essentiellement les <i>Clostridium</i> (dont <i>Clostridium perfringens</i> , 3eme cause d intoxications alimentaires, agissant par une enterotoxine et <i>Clostridium botulinum</i> , responsable du bôulisme. [46]

III.2 - La Contamination fongique

Les champignons sont présents avec les espèces animales ou végétales. Des interactions saprophytisme (*aspergillus*) au parasitisme (moisissure noire du pain), et symbiotiques (lichens, mycorhize) traduisent vraisemblablement leur coévolution avec les végétaux d'une part et les animaux d'autre part. [6]

➤ La reproduction

La reproduction chez les champignons est asexuée ou sexuée.

- **La reproduction asexuée**

Elle réalise de différentes façons : Une cellule parentale se divise en deux cellules filles par constriction centrale et formation d'une nouvelle paroi cellulaire.

Les cellules végétatives bourgeonnent et peuvent subir simultanément une mitose, un phénomène fréquent chez les levures.

Le mode le plus commun de reproduction asexuée est la production de spores. Les spores asexuées sont produites chez un champignon par une mitose suivie d'une division cellulaire. Il existe plusieurs types de spore asexuée, chacun portant un nom : (arthroconidies ou arthrospores, chlamydospores, sporangiospores, conidiospores, blastospores). [35]

- **La reproduction sexuée**

Les organes de reproduction sexuée sont les gamétocystes à l'intérieur desquels se différencient les gamètes. Les gamétocystes males (spermatocytes) et femelles (oogones) peuvent être morphologiquement identiques ou différents. [35]

III.2.1 - L'appareil végétatif ou thalle

Le thalle peut être unicellulaire : constituant l'appareil végétatif. Il se transforme à maturité plusieurs organes reproducteurs (champignons monocarpiques). Il donne la naissance à une partie reproductrice (champignons eucarpiques).

Les cellules peuvent être associées en colonies (levures). Elles peuvent être aussi pluricellulaires : on distingue alors différents types de thalles [36]

Thalle filamenteux constitué de filaments ramifiés latéralement ou par dichotomie appelés hyphes. L'ensemble des hyphes constitue le mycélium. On distingue : Le thalle cloisonné et Coenocoytique (ou siphonné). [36]

III.2.2 - Classification des champignons

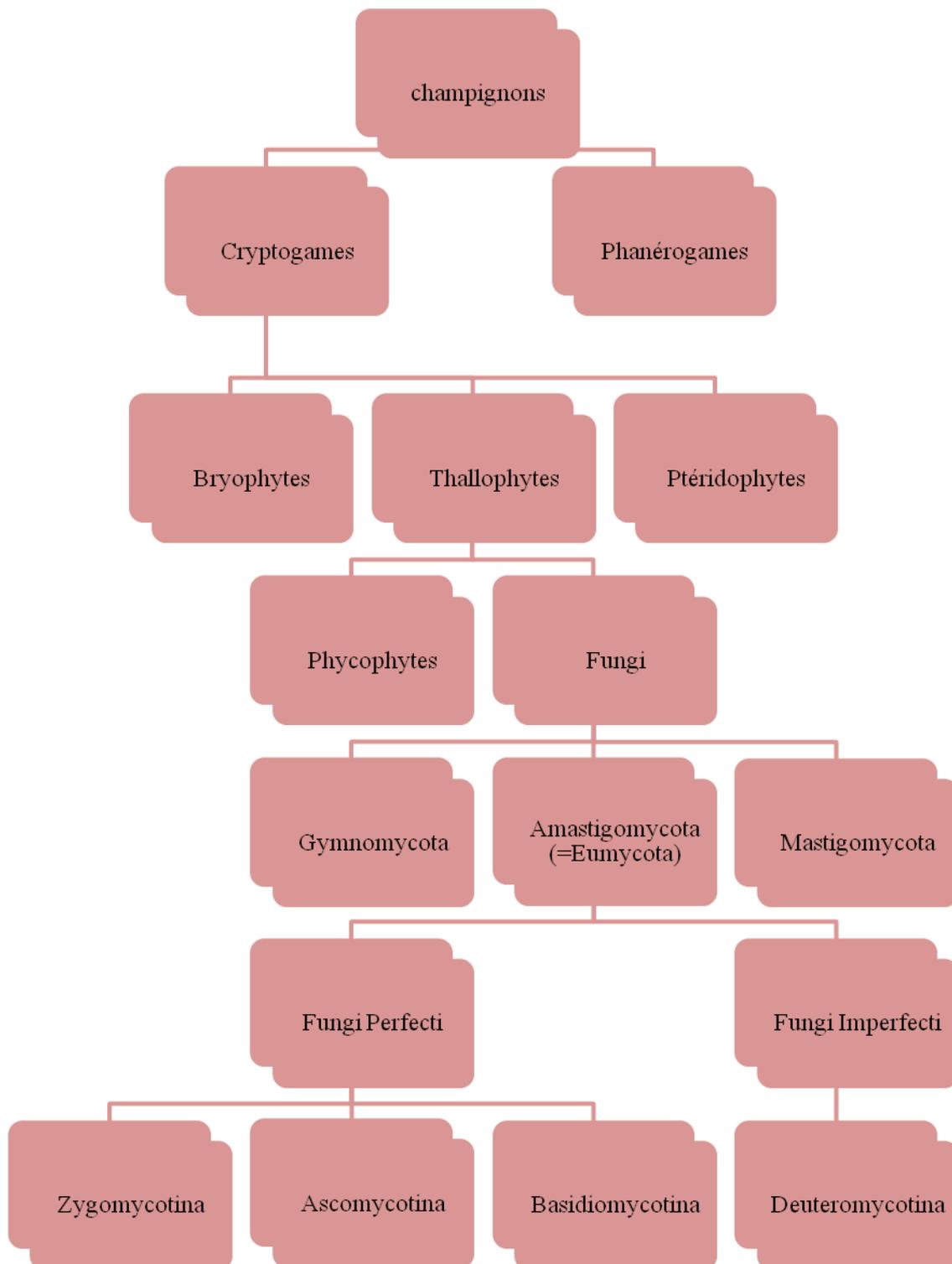


Schéma1 : La classification des champignons.

III.2.3 - Arrangements des deux espèces *Aspergillus* et *Penicillium*

L'identification d'*aspergillus* et *penicillium* est basé sur plusieurs caractéristiques selon les critères illustrés dans le tableau:

Tableau 4: Identification d'*aspergillus* et *penicillium*.

Le Genre <i>Aspergillus</i>	Le Genre <i>Penicillium</i>
<p>sont des champignons saprophytes, très répandus dans la nature et inhalés quotidiennement par la plupart des humains. agents responsables d'aspergilloses: <i>l'Aspergillus fumigatus</i>, <i>l'Aspergillus flavus</i>, <i>l'Aspergillus nidulans</i>, <i>l'Aspergillus versicolor</i>, <i>l'Aspergillus niger</i> et <i>l'Aspergillus terreus</i>. [54]</p>	<p>Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des <i>Ascomycètes</i>.</p> <p>Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores.</p> <p>Les <i>Penicillium</i> sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations.</p> <p>Les espèces du genre <i>Penicillium</i> se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des <i>Aspergillus</i>, à des températures plus basses, Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées. [37]</p>

III.2.4 - Culture des champignons

Le milieu Sabouraud favorise la croissance d'un mycélium des Champignons filamenteux, mais non leur sporulation. La morphologie microscopique des organes de reproduction asexuée est le critère majeur d'identification spécifique de ces champignons. Il est nécessaire de repiquer les colonies sur des milieux d'identification non glucosés qui stimulent la fructification des organes sporigènes et des spores. Culture dans Czapek simple et concentré. [6]

III.2.4.1- Les critères d'identification des Champignons filamenteux

- * Le délai d'apparition des colonies et la vitesse de leur croissance
- * La thermo tolérance du Champignon et son optimum thermique de croissance
- * Les caractères macroscopiques des colonies : forme (plane, bombée,), consistance (poudreuse, duveteuse), couleur
- * Les caractères microscopiques : mycélium (diamètre, régularité ; ramification) organes sporigènes (conidiophores et vésicules), spores (abondance, dimensions, morphologie), ornements de mycélium (nœuds)

Dans le but d'une analyse qualitative et quantitative complète, notre étude a été répartie sur plusieurs sites désignés dans la carte du lac Oubeira.



Fig. 03 : Les sites de prélèvement du lac Oubeira

Les quatre sites y sont :

Site 1 au nord ;

Site 2 à l'est ;

Site 3 à l'ouest ; et

Site 4 au sud du lac **Oubeira**

IV.1 - L'échantillonnage

IV.1.1 - Prélèvement des échantillons

Lac Oubeira a été partagé sur 4 sites différents pour avoir une variation des résultats. Les échantillons ne doivent pas être contaminés. On utilise des flacons de 250 ml en verre bien stérilisé à four pasteur pendant 30 minutes à 180°C. L'ouverture et la fermeture des flacons se fait dans l'eau à une profondeur de 25 à 30 cm de manière à éviter de les remplir totalement.

IV.1.2 - Transport des échantillons

Les échantillons sont mis dans une glacière (4°C) et transportés jusqu'au laboratoire dans la même journée.

IV.1.3 - Stérilisation des milieux

La Stérilisation destinée à détruire tous les germes est réalisée dans un autoclave par la vapeur d'eau sous pression. Elle est habituellement pratiquée à 120 degrés pendantes 20 minutes. [11].

IV.2 - Analyse fongique :

IV.2.1 - Coulage des boites

Les différents milieux de cultures utilisés sont : **Sabouraud ; Czapek simple ; Czapek concentré et le milieu TGEA** (Tryptone-Glucose-extrait de levure-Agar) sont coulés dans les boites de pétries et laissés refroidir

IV.2.2-Préparation des dilutions

- **But** : La diminution de la charge fongique a pour but d'avoir un isolement des filaments séparés.
- **Principe** : L'addition de 1 ml dans chaque tube.
- **Mode opération** : A l'aide d'une pipette graduée ; préparer une série de dilutions à raison de mettre 9 ml dans chaque tube. [12]

IV.2.3 - Ensemencement et incubation

L'ensemencement s'effectue par l'addition de 1 ml de l'échantillon. Par une pipette pasteur à la surface des milieux coulée sur la boîte de pétrie, suivi d'un étalement à l'aide d'une anse de platine. [12]

1/ La préparation des dilutions

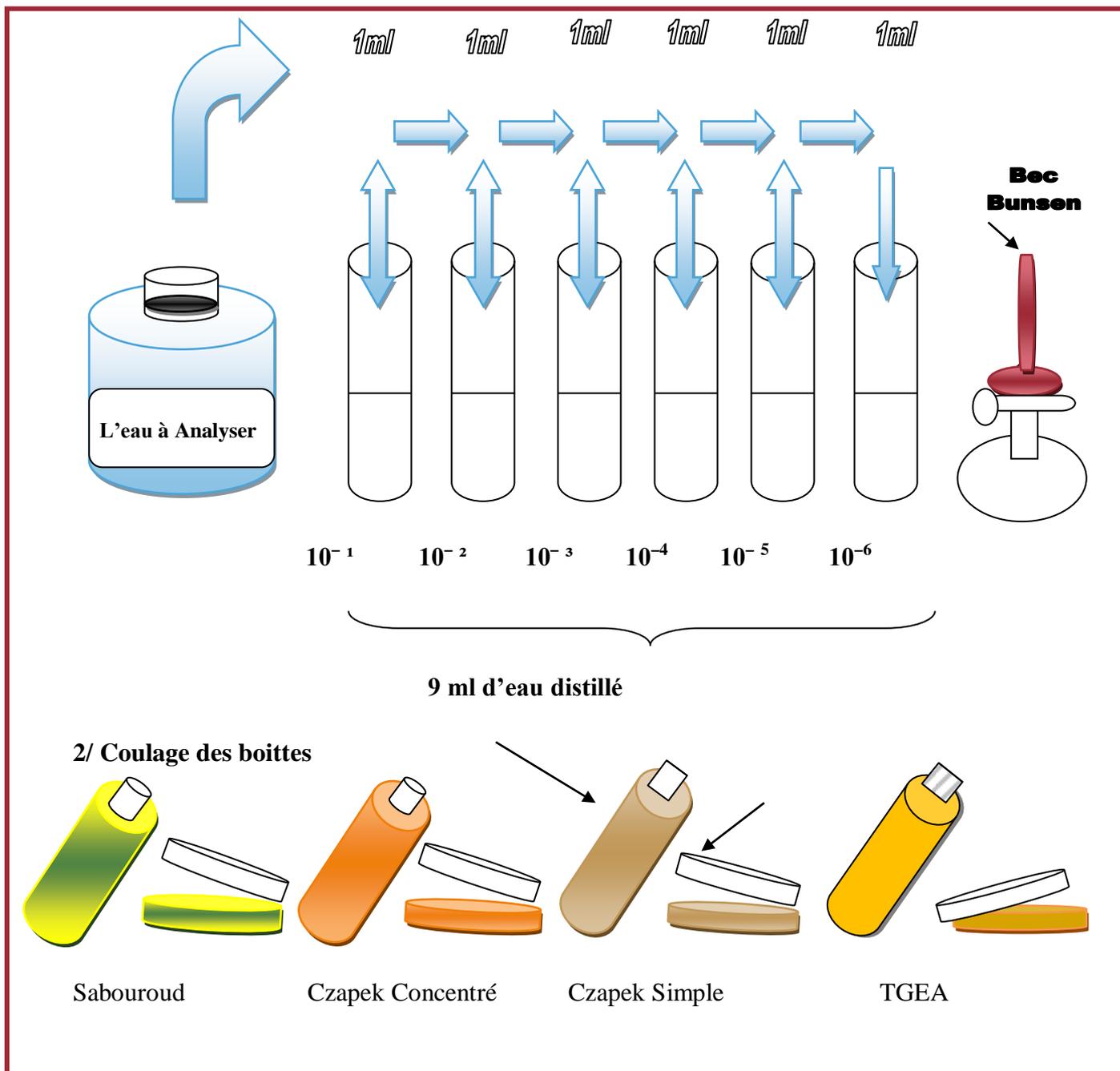
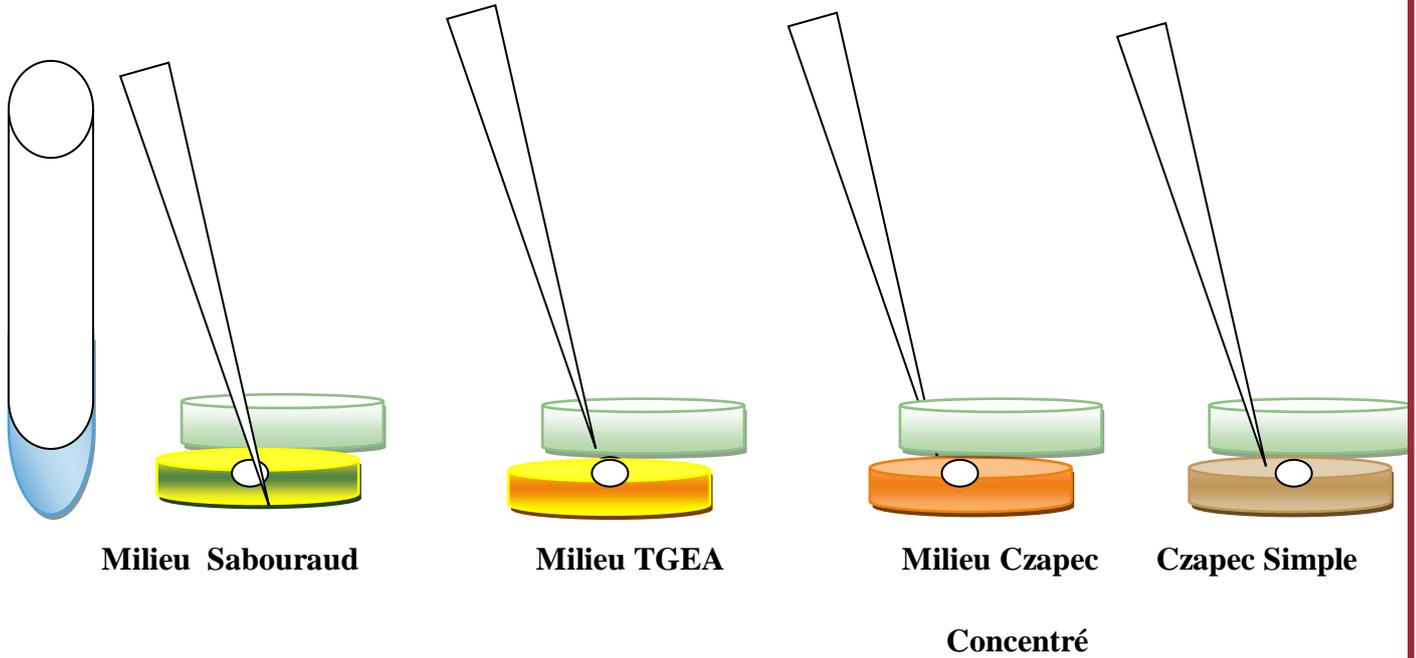
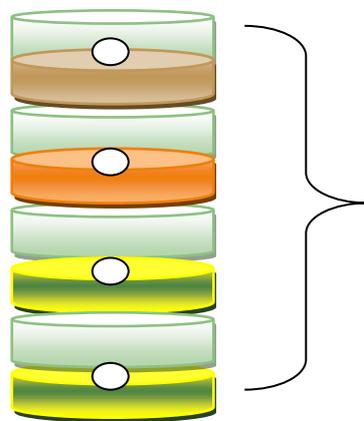


Schéma.02 : méthode de dilution et coulage des boîtes.

3/ L'ensemencement



4/ L'incubation



L'incubation de toutes les Boîtes
Ensemencées dans l'étuve à des
Températures différentes 26-28 °C

Schéma. 03 : Technique d'ensemencement pour l'identification fongique. [12]

IV.2.4 - Lecture

La lecture se fait à partir du troisième jour pour déterminer les caractéristiques des filaments et suivre leur cycle, ce qui nous aide à les identifier.

❖ **Aspect macroscopique** : Permet de connaître :

- ✓ Caractères culturaux.
- ✓ Couleur.
- ✓ Couleur du revers.
- ✓ Exsudat : présence ou absence.
- ✓ Odeur : présence ou absence.

❖ **Aspect macroscopique des colonies** :

- ✓ Organes de fructification.
- ✓ Aspect et taille de spores.
- ✓ Couleur des spores.
- ✓ Disposition des spores.[13].

IV.3 - Examen microscopique des souches :

❖ **Fongique** consiste à décrire les spécificités de chaque espèce qui sont basées sur les caractères culturaux et morphologiques, pour avoir une identification fongique. [14].

❖ **Principe** : La préparation microscopique s'effectue à partir d'un fragment mycélien, sur le thalle, intermédiaire du mycélium juvénile à la marge et le vieux mycélium. Ceci permet le visionnement idéal des appareils. Le matériel biologique fongique est préparé pour l'observation sous le microscopique photonique des différents grossissements. [14].

IV.3.1 - Examen à l'état frais

Cet examen permet l'observation des filaments vivant pour déterminer :

- La morphologie des champignons.
 - Leur mode de regroupement et leur structure. [14].
- **La technique** : Prélever à l'aide d'une pipete pasteur fragment d'un mycélium en utilisant lame et lamelle. L'observation se fait à l'aide d'un microscope optique avec grossissement (X10 et 40)

IV.3.2 - Examen après coloration

Indispensable pour la morphologie et la structure des champignons.

Les filaments consistent une coloration simple (Bleu de méthylène).

1. Technique

- Recouvrir le mycélium avec le bleu de méthylène.
- Laisser agir de 1 min ;
- Rincer la lame ;
- Additionner l'huile de cèdre ; et
- Examiner après grossissement (X 100). (02)

IV.4-Analyse bactériologique

IV.4.1 - Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants

La Recherche et dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du Mac Grady (NPP).

Technique :

- Préparer une série de tubes contenant le milieu BCPL (bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol) qui est un milieu liquide avec une cloche de Durham.
- A partir des dilutions décimales (jusqu'à la 10⁻⁶), porter aseptiquement 1 ml, dans chacun des 3 tubes de BCPL à partir de la même dilution.
- Incuber à 30°C pendant 24 à 48h.

Lecture :

Les tubes considérés comme positifs présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur la cloche).
- Un trouble accompagné d'un virage du milieu au jaune (fermentation du lactose).

Dénombrement :

On note le nombre de tubes positifs dans chaque série, et illustration de la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes présents dans 1 ml ensuite dans 100 ml d'eau. [04].

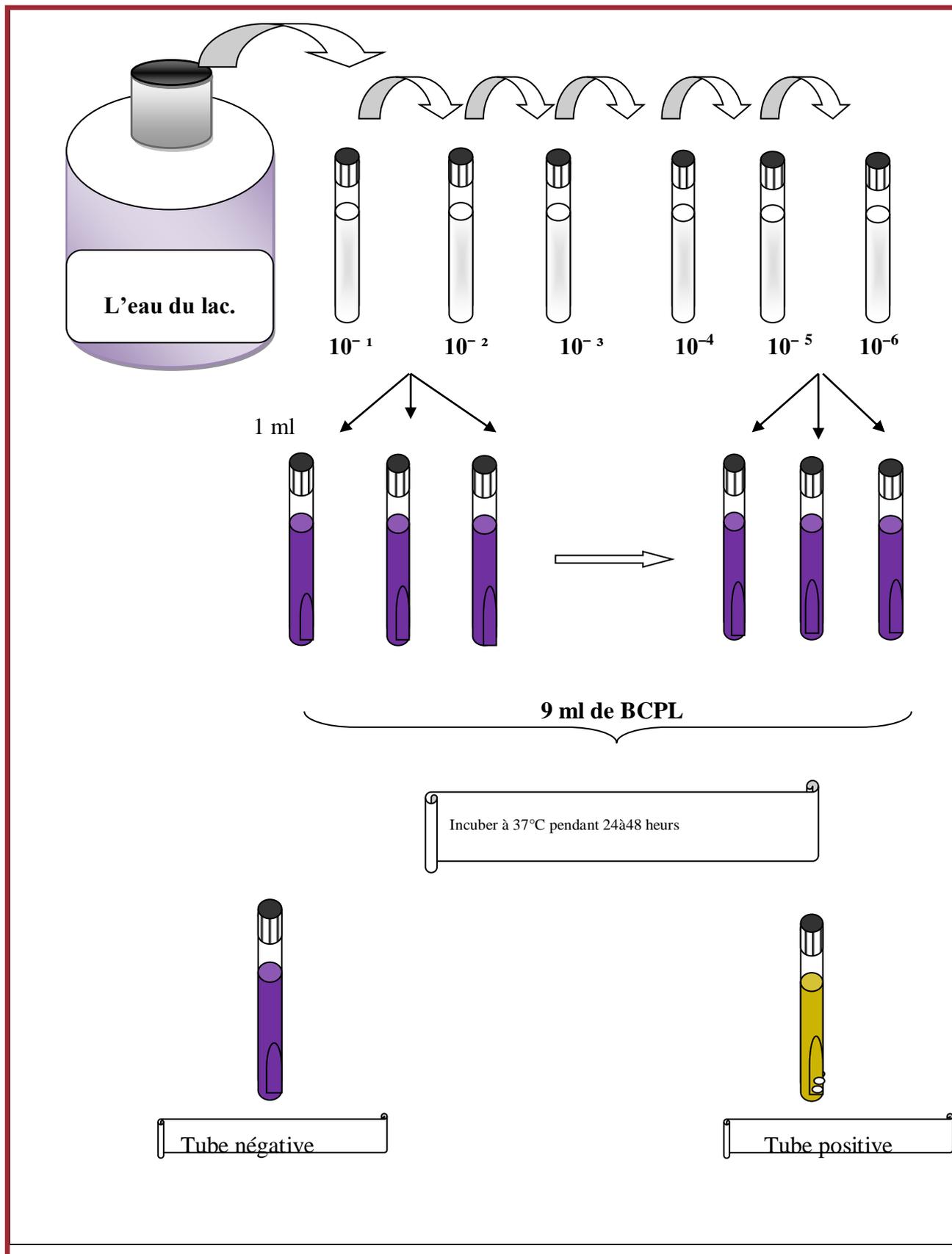


Schéma.04 : Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

IV.4.2 - Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Le milieu utilisé pour la recherche des streptocoques fécaux est (ROTHER) qui contient un agent sélectif (l'acide de sodium).

Technique

- Préparer une série de tubes contenant le milieu ROTHER.
- A partir d'une dilution décimale, porter aseptiquement 1 ml, dans chaque tube ROTHER
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48h [15]

Lecture

Les tubes présentant un trouble microbien considèrent comme positive.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du mac Grady.

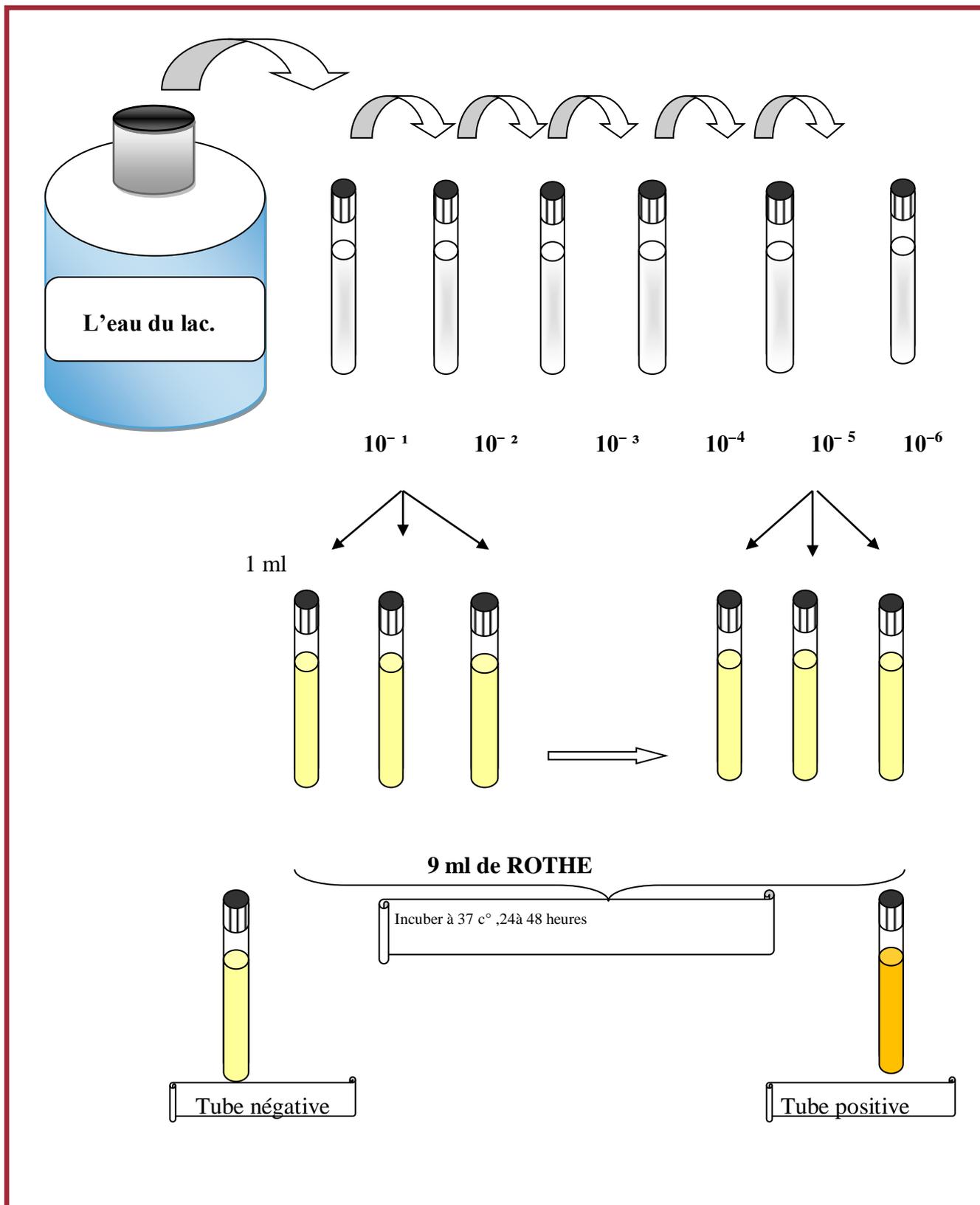


Schéma.05 : Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination

IV.4.3 - Isolement et identification des entérobactéries pathogènes

Pour la recherche des entérobactéries on utilise trois milieux gélosés : [Mac Conkey, Hektoen, *Salmonella-Shigella* (SS)].

- Les géloses SS et Hektoen et mac Conkey ont étéensemencés avec 0.1 ml d'eau analysée.
- Toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h. [15]

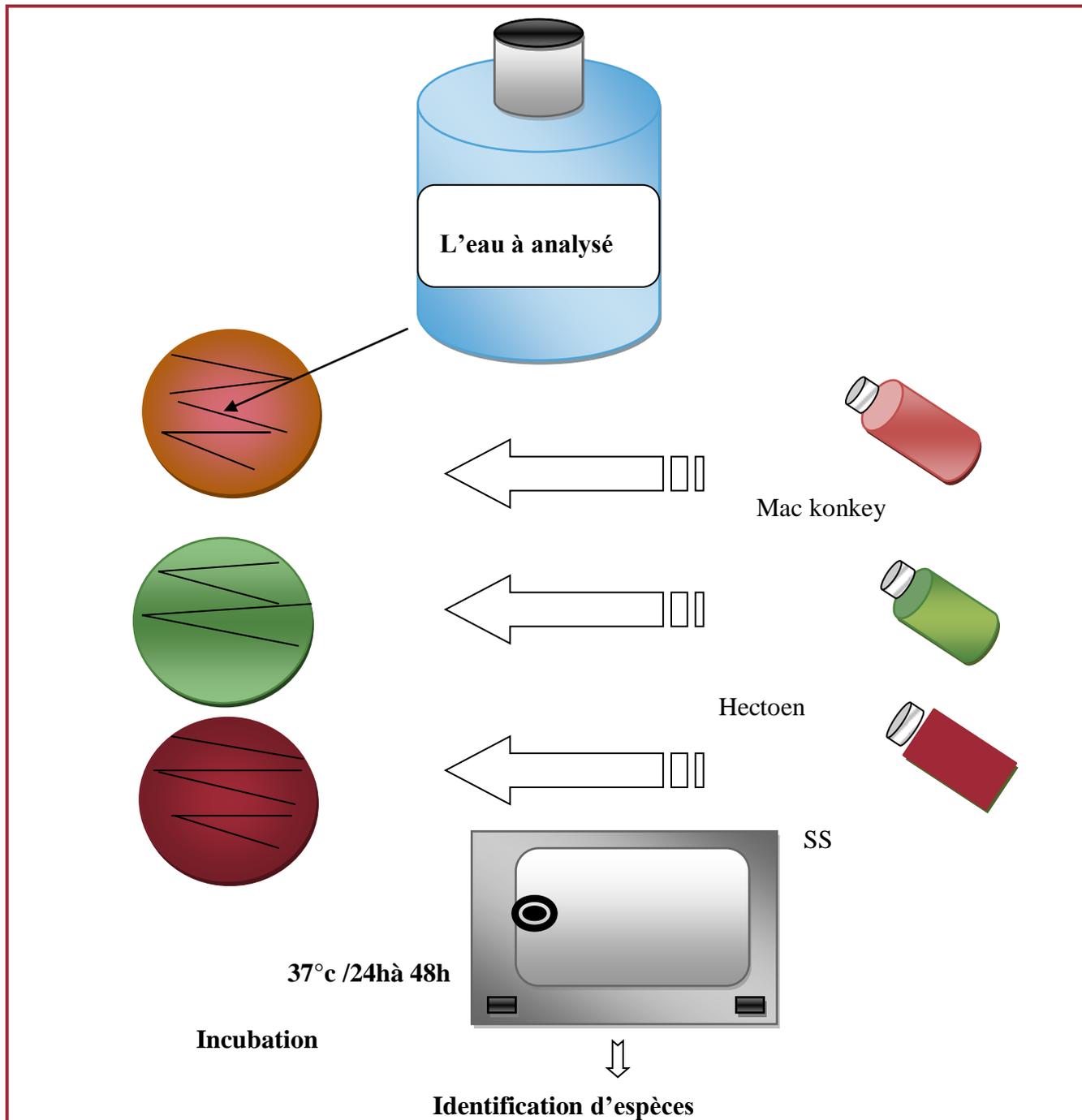


Schéma 6 : Isolement et identification des Entérobactéries pathogène.

IV.4.4.Examen microscopique

A partir des colonies isolées sur les milieux de culture, on utilise la coloration de Gram pour. [16]

IV.4.4.1- Coloration de Gram

C'est une coloration différentielle qui s'effectue selon les étapes suivantes :

- Préparation d'un frottis bactérien.
- le voile de Gentiane : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn puis laver la lame avec l'eau ;
- Mordançage : laisser agir le Lugol pendant 1mn puis rincer avec l'eau ;
- Décoloration : recouvrir la lame avec l'alcool, rincer avec l'eau.
- Recoloration : laisser agir d'une solution de fushine pendant 30 à 40 secondes et laver avec l'eau et enfin sécher.

IV.4.5 - Détermination des caractères biochimiques des entérobactéries

IV.4.5.1 - La galerie biochimique classique

Le tableau 05 présente les milieux, les techniques et les résultats pour la galerie classique.

Tableau05 des caractères recherchés

Milieux	Ensemencements	Caractères recherchés	Résultats
TSI (Triple Sugar Iron.)	Ensemencement par stries avec une simple pique. Mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h	Utilisation du glucose, du saccharose, du lactose. - Production d' H ₂ S - Production du gaz	Virage des réactions vers le jaune :(de glucose, lactose, saccharose). Formation des zones noire (H ₂ S). Bulles de gaz dans le culot : gaz (+). [17]

Citrate de Simmons	<p>L'ensemencement par stries, au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne.</p> <p>Mettre à l'étuve à 37°C Pendant 24h. [17]</p>	<p>Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme source de carbone et d'énergie. [17]</p>	<p>Virage de couleur vers le rose (VP+)</p> <p>2. Test RM : Virage de couleur vers le rouge (RM+). [18]</p>
Clark et clubs	<p>Ensemencement par Incorporation et incubation à 37°C pendant 24h.</p> <p>1- Teste VP : Ajouter quelque goutte de (VP1 et VP2) de 2 à 3 gouttes. Attendre quelque min à 1 heure.</p> <p>2- Teste RM : Ajouter 2à3 gouttes de rouge de méthyle [18]</p>	<p>Production de l'acétone La réaction de vouges proskauer (vp) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butane diol et l'acétone.</p> <p>Misse en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le test RM (au rouge de méthyle). [18]</p>	<p>Virage de couleur vers le rose (VP+)</p> <p>2. Test RM : Virage de couleur vers le rouge (RM+). [18]</p>
Mannitol mobilité	<p>Ensemencer par piqure central à laide d'un fil droite.</p> <p>Mettre à 1 étuve 37°C à 24h. [19]</p>	<p>- Mannitol.</p> <p>- Mobilité. [19]</p>	<p>Virage de couleur vers le rouge (mannitol+)</p> <p>Formation d'une voile autour de la piqure (mobilité). [18]</p>
Urée indole	<p>Ensemencer largement.</p> <p>Mettre à 1 étuve 37°C à 24h. [18]</p>	<p>L'uréase, enzyme hydrolysant l'urée.</p> <p>Formation d'indole. [18]</p>	<p>Virage de couleur vers le rose uréase (+).</p> <p>Apparition d'un anneau rouge à la surface (indole+)</p>

I V.4.5.2 - Les Teste complémentaires :**A) catalase :**

Cette enzyme en effet l'accumulation d' H_2O_2 et le dégrade selon la Réaction suivante :

**Techniques :**

- Sur une lame propre et séchée, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes ;
- A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter l'inoculum bactérien ; et
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bouilles gazeuses.

Lecture :

- Dégagement immédiat de bouilles de gaz considérés comme positif.
- Absence des bouilles de gaz, négatif. [20]

(B) Oxydase :**Technique**

- Déposer un disque pré-imprégné par le Réactif N diméthyle paraphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Etaler la colonie sur le disque.

Lecture :

- L'appariation d'une teinte (rose-violette) indique l'oxydase : positif.
- Incolore : négatif. [20].

C) Recherche de l'enzyme Béta-galactosidase

La détection de l'enzyme Béta-galactosidases illustré dans le tableau N : °07

Tableau 06 : La technique de la recherche de l'enzyme Béta-galactosidase.

Technique	Métabolite finale	Résultats
Réaliser une suspension bactérienne. Ajouter un disque imprégné d'Ortho-Nitrophényle-Galactosidase (ONPG) dans la suspension. Incuber 30 min à 37°C. [18]	Enzyme B-galactosidase.	Virage de couleur vers le jaune ONPG(+). Absence de couleur (-).

Teste TDA :(Tryptophane décarboxylase)

La technique de la recherche du TDA traduit dans le tableau suivant :

Tableau 07 : La technique de la recherche du tryptophane désaminase.

Technique	Métabolite finale	Résultats
Réaliser une suspension bactérienne dans milieu Urée indole. Incuber 37°C à 24h. - A joute 2 à 3 gouttes du réactif de TDA (Tryptophane décarboxylase). [50]	Le tryptophane désaminase (TDA), après addition de chlorure de fer III : le fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole-pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron. [40]	Apparition de marron foncé : (TDA+) Absence de transformation du couleur du milieu : (TDA-). [50]

IV.4.6-La galerie API 20E:

Permette à déterminer les caractères biochimiques

Technique

Faire une suspension bactérienne dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile,

Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes autres tests.

Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer 1boite d'incubation et la placer à 37°C pendant 24 heures. [21]

Lecture

Les Réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certains sont par l'addition de Réactifs :

- Test VP : VPI + VP II.
 - TDA et IND : Réactif de Kovac.
- Test NO₂: NIT I + NIT II. [42]

La lecture de la galerie doit se faire en se référant :

- Soit avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondant aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres sert la code d'indentification. [19]
- Soit avec un logiciel d'indentification : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (voir l'Annexe II).

IV.5 - La recherche et d'indentification des staphylocoques

L'isolement sélectif des staphylocoques a été réalisé à partir de Chapman qui contient un inhibiteur des sels minéraux (Na Cl) à concentration élevée (75g/L). [17]

IV.5.1- L'observation macroscopique

- Les colonies mannitol (+) sont entourées d'une auréole jaune.
- Des colonies pigmentées en jaunes et mannitol (+)
- Les autres colonies sont petites de taille colorée en rose. [22]

IV.5.2 - L'observation microscopique

Entre lame et lamelle en détermine la forme et la mobilité.

IV.5.3 - L'identification biochimique des staphylocoques

En utilise l'Api staph. [23]

IV.5.4 - Teste catalase

Toutes les espèces de la *staphylococcie* sont catalase positive.

IV.5.5 - Recherche de l'Enzyme *Staphylocoagulase* :

La méthode de la recherche de l'enzyme Staphylocoagulase déterminée dans le tableaux N°09

Tableau 08 : La technique la recherche la Staphylocoagulase :

Technique	Caractère recherché	Résultat
<p>Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18h en bouillon cœur cervelle de la souche à étudier.</p> <p>Placer le mélange à 37°C. [22]</p>	<p>La recherche de Staphylocoagulase in vitro est mise en évidence par la capacité de coaguler le plasma de lapin dans un délai de 24h.</p> <p>Cette recherche constitue un critère taxonomique important pour l'identification des souches de Staphylocoque.</p>	<p>Coagulation du plasma :</p> <p>Test Coagulasse est positif : la souche est <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Absence d'une coagulation test négatif. Où le résultat est ininterprétable il faut faire d'autres tests (ADN ase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène) [22]</p>

IV.5.6. - La recherche des *Pseudomonas aeruginosae*

Lorsque la bactérie a présente une capacité de se cultiver très facilement sur un milieu ordinaire à cause de leur faible exigence nutritive, son isolement a été réalisé sur GN ordinaire.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h. [17]

❖ L'observation macroscopique :

- Sur GN, les colonies de *Pseudomonas* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3 mm), à forme régulière, lisses régulières et bombées.
- Les colonies de *Pseudomonas* sont souvent pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments : la pyocyanine et la pyoverdine. [17]

❖ L'observation microscopique :

Les *pseudomonas* présentent des formes allongés bâtonnet.

IV.5.6.1- L'identification biochimique des *Pseudomonas* :

L'identification biochimique des *Pseudomonas* à été réalisée comme les autres genres des entérobactéries.

Pour la confirmation de *Pseudomonas aeruginosa*, procéder aux différents tests biochimiques comme la recherche des pigments spécifiques : pyocyanine et properdine.

- A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée stérile), ensemercer deux milieux gélosés : King A et King B.
- Les milieux sont inoculés par une strie médiane.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 1 à 4 jours. [17]

Lecture

Présence de pyocyanine donne la couleur bleu sur King A.

Présence de pyoverdine donne la couleur jaune- vert fluoresce sur King B.

IV.6 - Analyse physico-chimiques

IV.6.1 - Mesure de la température

L'immersion de la sonde de l'appareil de mesure dans l'eau est d'une durée suffisante pour que la valeur affichée soit stabilisée. Ainsi on procédera à la lecture en laissant la sonde dans l'eau.

La mesure de la température, oxygène dessous, pH mettre ont été réalisés par le Multi-paramètre de type (Multi 1970 i).

IV.6.2 - Mesure de la conductivité

La sonde de la conductimètre est rincée à plusieurs reprises avec de l'eau déminéralisée deux fois au moins avec l'eau à examiner. Ceci avant d'effectuer la mesure de la conductivité.

La mesure de la conductivité a été réalisée d'un Multi-paramètre de type (Multi 1970 i), qui comprend une sonde de type : (Tétra Con® 325).

IV.6.3 - Mesure d'oxygène dissous

L'immersion de la sonde de l'appareil de mesure dans l'eau était d'une durée suffisante pour que la valeur affichée soit stabilisée. Ainsi on procédera à la lecture en laissant la sonde dans l'eau.

L'immersion de la sonde de l'appareil de mesure dans l'eau est réalisée à l'aide d'un Multi-paramètre de type : (Multi 1970 i) qui comprend une sonde de type : Oxi Cal® -SL.

IV.6.4 - Mesure de pH

On fait prolonger dans l'eau l'électrode de verre et on ne procède à la lecture qu'après la stabilisation du pH mètre. Ce qui prend plusieurs minutes.

Le paramètre a été mesuré à l'aide d'un mètre électronique de type : pH mètre de terrain



Fig. 4:représente la Multi-paramètres pour la détermination de : température, pH, et conductivité électrique

IV.6.5 - La turbidité

La turbidité peut être évaluée par un certain nombre de méthodes qui sont pratiquées suivant les nécessités sur le terrain ou laboratoire.

A l'aide d'un turbidimètre, il est recommandé d'effectuer la mesure aussi rapidement que possible après le prélèvement, de préférence le même jour. Les échantillons doivent être agités rigoureusement avant la mesure.

IV.6.6 - Le Magnésium

Mode opératoire

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer au col large, ajouter 2 ml de NH_4OH à pH 10 et une pincée de noir urochromes T.
- Titrer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur bleu (V2).

Expression des résultats

$$[Mg^2] \text{ mg/l} = (V2 - V1) \times F \times 4,8$$

V2 : Volume titré de calcium et de magnésium.

V1 : Volume titré de calcium.

Facteur

- 50 ml de solution mère de CaCl₂.
- 2 ml de NaOH (2).
- Une pincée de murex ide.
- Tirer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur viole

$$F = 12,5/V \text{ (EDTA)}$$

IV.6.7- Le calcium

Principe

Le principe est identique à celui de la méthode complexa-métrique pour la dureté

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

Mode opératoire

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un Erlenmeyer au col large.
- Ajouter 2 ml de solution d'hydroxyde et quelques graines d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage du rose au violet.

Expression des résultats

Soit V le volume de solution d'EDTA verser

$$[Ca^2] \text{ mg/l} = V \text{ (EDTA)} \times F \times 8$$

IV.6.8 - Titre alcalimétrique simple et complet (TA et TAC)

Principe

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

Mode opératoire**a) : TA**

- 100 ml d'eau à analyser.
- 2 à 3 gouttes de phénolphaléine.
- Si une coloration rose apparaît titrer avec l'H₂SO₄ jusqu'à la disparition de couleur.
- Si la couleur n'apparaît pas : TA = 0 (pH < 8,3 => TA = 0).

Minassions

$$TA (^{\circ} F) = V (\text{titrer})$$

b) TAC

100 ml d'eau à analyser.

2 à 3 gouttes de méthyle orange à 0,5%.

Titrer par l'H₂SO₄ N/50 50 jusqu'au virage rouge.

Expression des résultats

$$TAC (^{\circ} F) = V (\text{titrer}) - 0,5$$

IV.6.9 - Les matières en suspension (MES) :

La détermination de la matière en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation

La méthode utilisée est la filtration sur fibre de verre ou l'eau est filtrée à l'aide des filtres de Wattman et le poids des matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

Mode opératoire :

- Laver le disque filtrant fibreux à l'eau distillée, le sécher à l'étuve (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne) et le placer en attente dans un dessiccateur ;
- Peser le disque : Mo
- Placer le disque dans l'appareil de filtration et mettre en route le système d'aspiration ;
- Verser progressivement le volume Ve d'eau à analyser sur le disque filtrant jusqu'à ce que l'appareil de filtration se vide ;
- Rincer le récipient qui a contenu l'échantillon avec 10 ml d'eau distillée et filtrer les eaux de lavage

- Mettre le disque filtrant à sécher (1h à 105°C ou 15 min à la micro-onde à puissance moyenne). Laisser refroidir le filtre au dessiccateur ; peser le filtre.

Expression des résultats :

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$$

M_0 = masse du disque filtrant avant utilisation

M_1 = masse du disque filtrant après utilisation

V = volume d'eau utilisé

IV.6.10 - Les chlorures :

Principe :

- En milieu neutre, les chlorures sont dosés par une solution titrée de nitrate d'argent ;
- En présence de chromate de potassium, la fin de la réaction est indiquée par l'apparition d'une teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Mode opératoire :

- Introduire 25 ml d'eau à analyser dans un erlenmeyer à col large, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10%
- Verser au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3 minutes.

Expression des résultats :

Soit V , le volume de millimètres de nitrate d'argent utilisés :

La teneur en Cl^- (mg/l) = (ml) \times 142

IV.6.11 - Les matières organiques

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

➤ **Mode opératoire :**

- Introduire dans un erlenmeyer de 500 ml, 100 ml d'eau à analyser et 10 ml d'acide sulfurique à 50%, ajouter 10 ml de solution de permanganate de potassium N/80 ;
- Porter l'échantillon à ébullition ménager dans une plaque chauffante pendant 10 minutes à partir du moment où il y a formation de bulles au fond du ballon viennent crever à la surface du liquide ;
- Ajouter ensuite 10 ml d'acide oxalique N/80 à titrer à l'aide d'une burette graduée contenant la solution de permanganate de potassium jusqu'à l'apparition d'une faible coloration rose ;
- Faire un essai en opérant dans les mêmes conditions.

➤ **Expression des résultats :**

$$\text{MO (O}_2\text{/l)} = V (\text{échantillon}) - V (\text{blanc})$$

Notre travail a été réalisé au niveau de la station d'épuration de Guelma durant deux mois (mars et avril) pour déterminer les paramètres physicochimiques mentionnés dans le tableau.

Les paramètres physicochimiques sont ce qui nous permet d'apprécier la qualité de l'eau par différentes analyses : température, conductivité, turbidité, pH, demande chimique en oxygène et autres.

Tableau 9 : Les différents données des paramètres physiques chimiques prélevés des quatre sites du lac Oubeira

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Température	12	13	20	18
Conductivité (s)	483	445	429	554
Turbidité	340	290	316	305
Matières en suspensions(MES) (mg/l)	244	456	344	152
Potentiel hydrogène	6.29	6.31	7	7.02
Tétra alcalin	0	0	0	0
Tétra alcalin complet(TAC)	55.2	64.1	60.3	54.5
Valeur hydrique(TH) (°F)	20.6	15	17.2	19
Matières organiques(MO)	7	7.6	7.2	7.5
Calcium	30.27	28.88	27.23	30.17
Magnésium	8.8	9.22	7.99	8.93
Chlorure	49.7	56.9	41	57.3
Demande biologique BO5 (mg/l)	52.53	59.83	95.5	1.78
Demande chimique en oxygène(DCO) (mg/l)	244	192	288	96
Oxygène dissous	8.1	8.3	7.5	8.01

V.1. Paramètres physico-chimiques

V.1.1. Paramètres physiques

V.1.1.1. Température

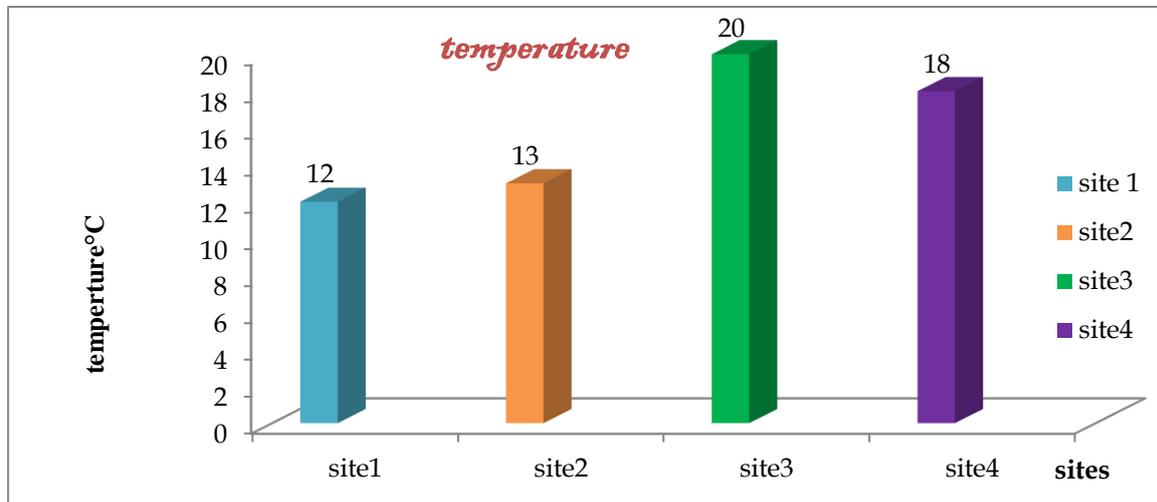


Fig05 : Variation de la température en fonction des sites de prélèvements du lac Oubeira

Les valeurs de la température varient d'un site à l'autre seulement la plus élevée a été enregistrée au niveau du site3 (20°C), d'après l'organisation mondiale de la santé (OMS) on remarque que la température est normale (saisonnière) [24]

V.1.1.2. La Conductivité

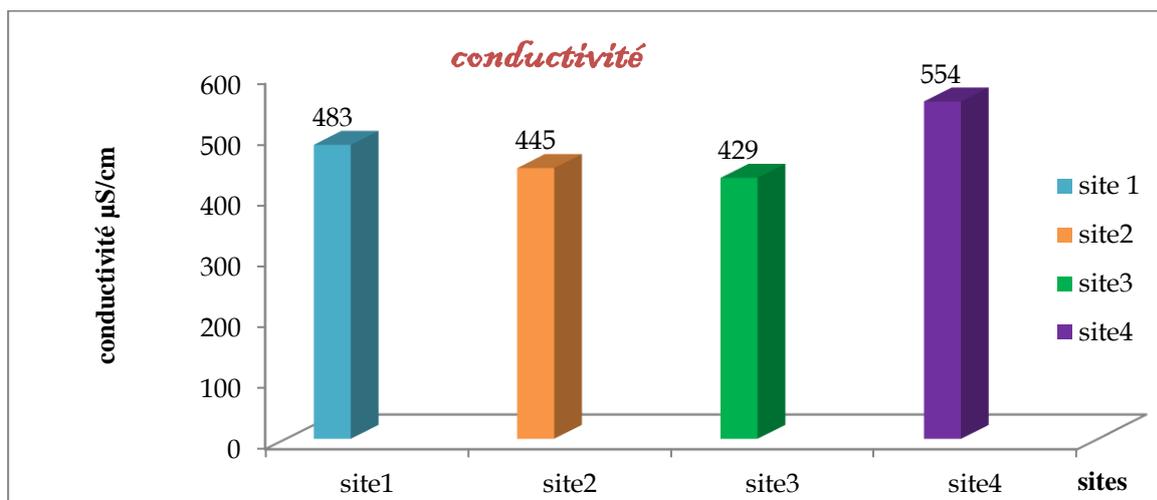


Fig06 : Variation de la conductivité électrique en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau et La minéralisation est influencée par la conductivité. [27]

On remarque que nos résultats obtenus sont compris entre 429 et 554 $\mu\text{s}/\text{cm}$ avec une moyenne de 477.75 $\mu\text{s}/\text{cm}$ une minéralisation importante du site4 (554 $\mu\text{s}/\text{cm}$) selon les normes de l'OMS $C > 500$ très forte à excessive eaux polluées ou en contact avec des roches très solubles chargées en sels minéraux [26]

.V.1.1.3.La turbidité

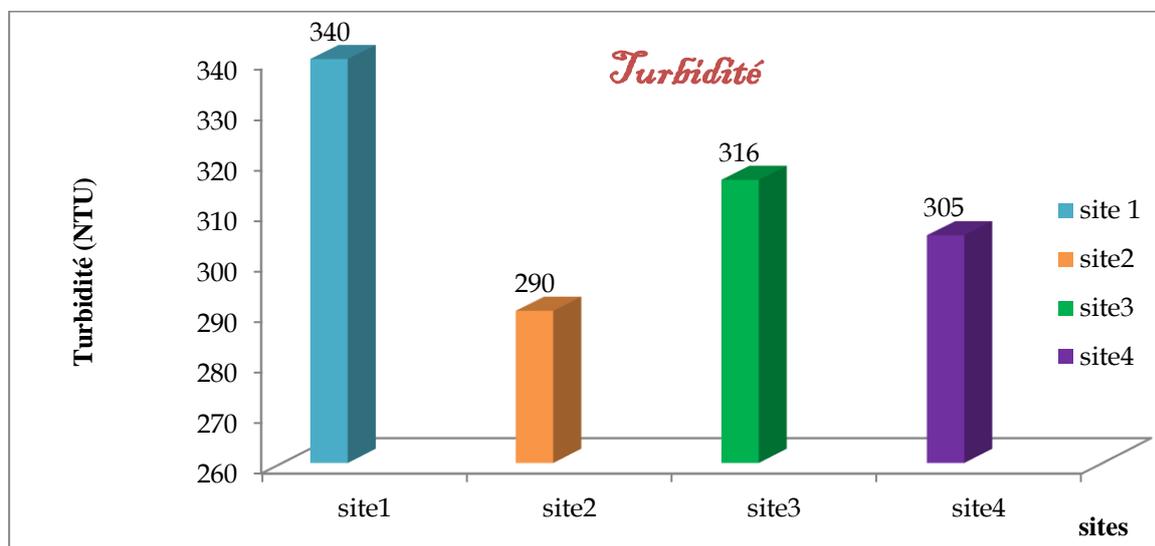


Fig07 : Variation de la turbidité en fonction des sites de prélèvements du lac Oubeira

Les valeurs de la turbidité des quatre sites sont proches, la plus élevée a été enregistrée au niveau du site1 (340NTU) la plus faible est enregistrée au niveau du site2(290NTU) ce qui signifie que le site N°1 est turbide , plus polluées en comparant aux trois autres sites, avec une moyenne de 312NTU d'une manière générale l'eau du lac Oubeira est très trouble et pollué.

La turbidité empêche la propagation de la lumière, ce qui a pour conséquence l'élimination de la végétation, ainsi que la diminution d'intensité et résiduelle constitue une gêne pour l'efficacité des traitements de décontamination. [26]

V.1.1.4. Matière en suspension

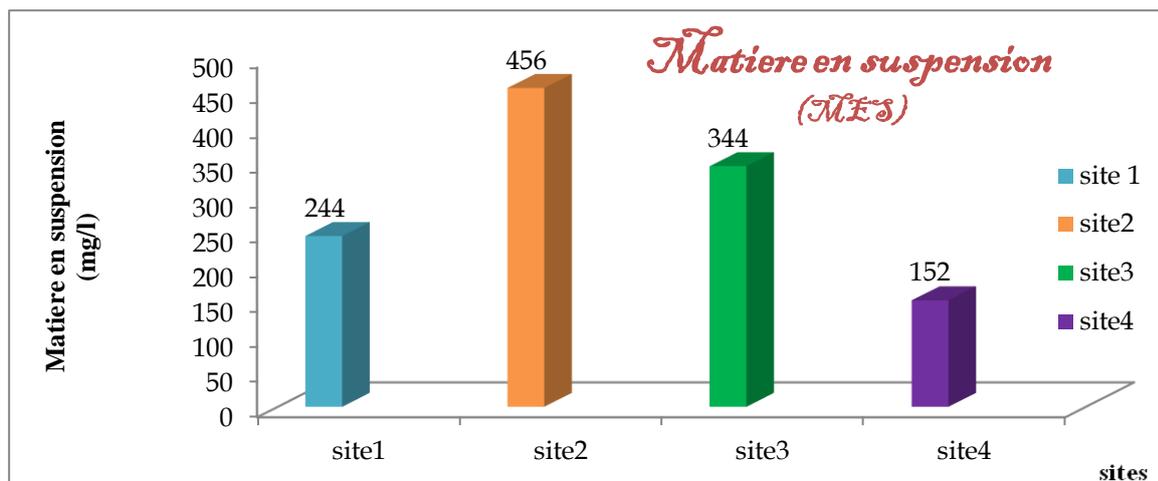


Fig08 : variation de la Matière en suspension d en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

L'analyse des matières en suspension (MES) permet de connaître la quantité de matières non dissoutes présente dans l'échantillon. Les MES biodégradables contribuent de façon significative à la demande en oxygène et occasionnent la diminution de la concentration en oxygène dissous dans le milieu aquatique [29]

Les résultats obtenus de la matière en suspension varient d'un site à l'autre, dont la plus élevée est enregistré au niveau du site2 (456mg/l). qui sont peut être causé par les pluies [26]

La moyenne de ses sites (299mg/L) dépasse les normes de l'Organisation mondiale de la santé (OMS)

V.1.2.Paramètres chimiques

V.1.2.1.potentiel d'hydrogène (pH)

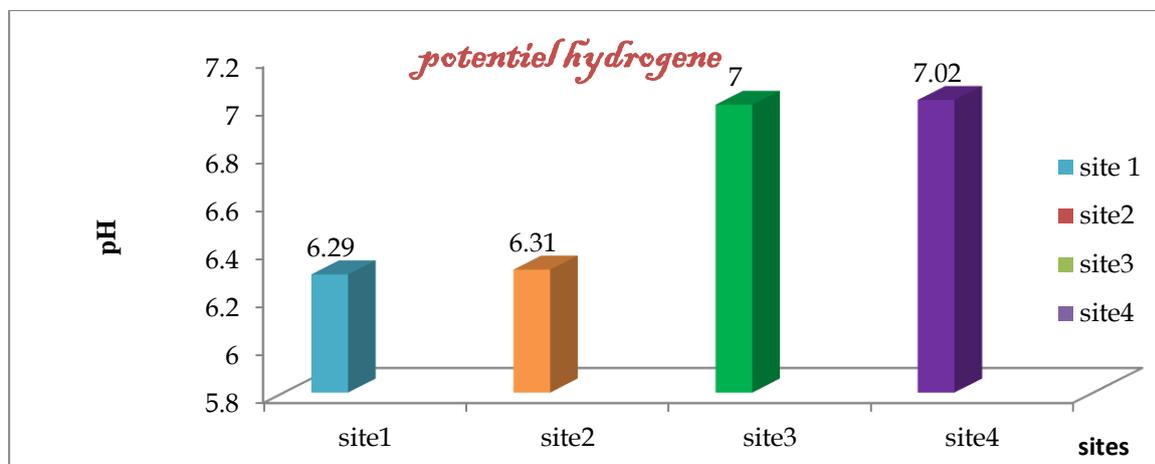


Fig09 : Variation du Potentiel hydrogène (pH) en fonction des sites de prélèvements du lac Oubeira

Les valeurs du pH varient entre 6.29 et 7.02, la concentration la plus élevée est enregistrée au niveau du site4 (7.2). Ce qui s'explique par l'influence de la photosynthèse (végétation est la nature des fonds avec déplacement de carbonate sur le dernier site est élevé [25])

V.1.2.2. Le titre alcalin (TA) :

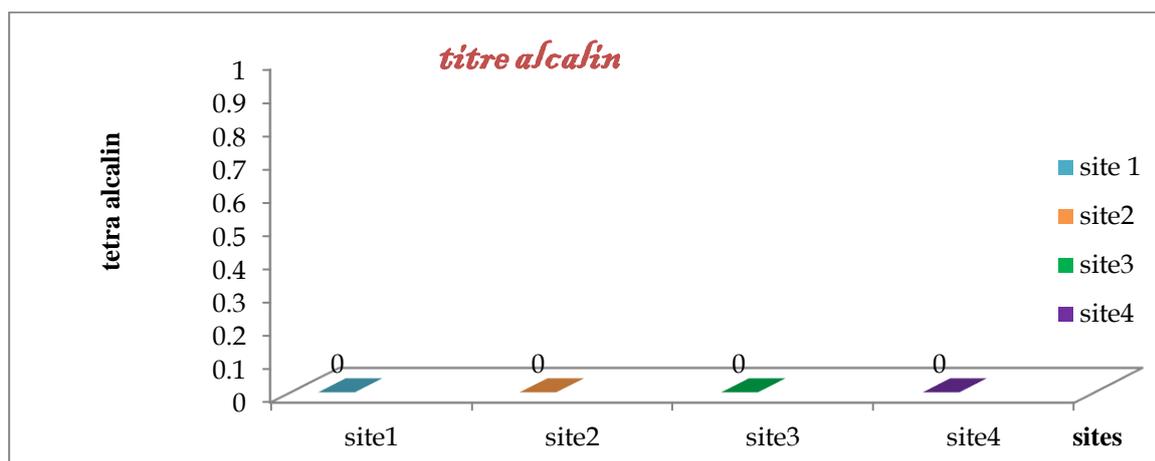


Fig10 : variation du titre alcalin en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira

Les valeurs de (TA) est sensiblement égale à 0. La production importante des boues humides

V.1.2.3. Le tétra alcalin complet (TAC)

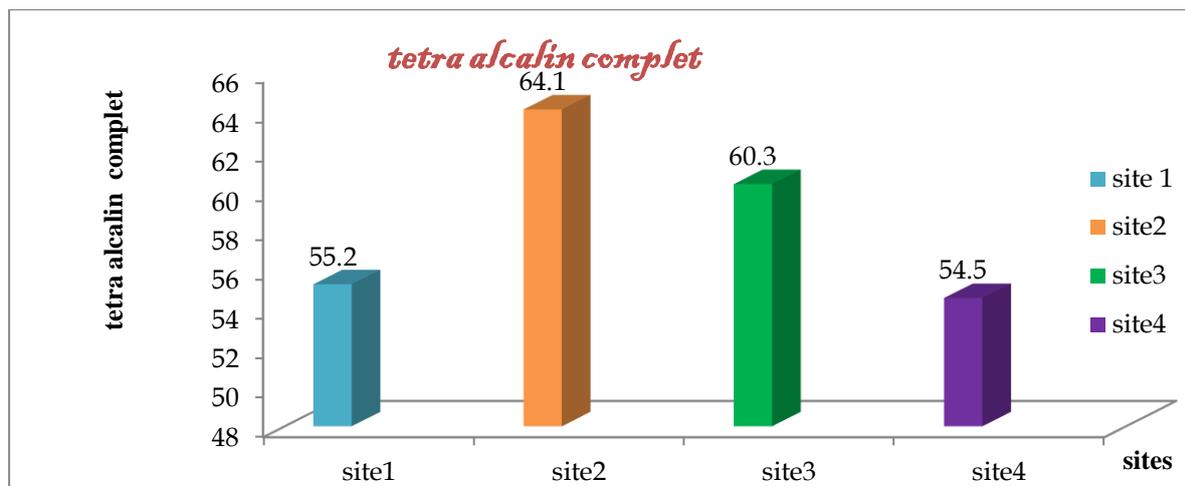


Fig11 : variation de titre alcalin complet en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira

La valeur Maximal est enregistrée au niveaux du 2^{ème} site (64,1mg/l), l on constate que chaque site à une valeur de (TAC) différent des autres, avec une moyenne de 55.52mg/l. Ce qui s explique les conditions naturelles (conditions météorologiques, caractéristiques de l'eau d'appoint, etc.), permettant de connaitre la quantité et la précipitation du carbonate de calcium [26]

V.1.2.4. La valeur hydrique (TH)

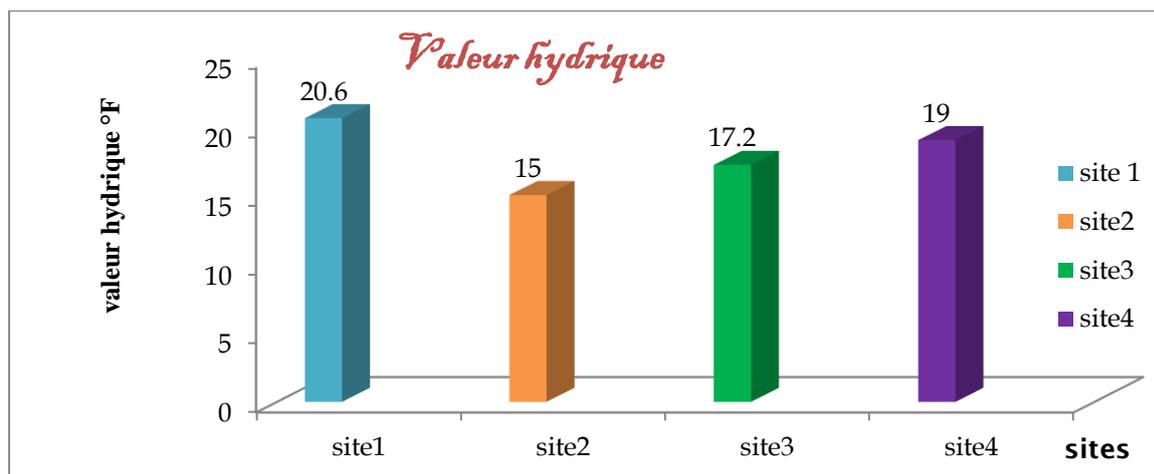


Fig12: variation de la valeur hydrique (TH) en fonction des sites de prélèvements du lac Oubeira.

On remarque une à proximité des valeurs entre les sites avec une valeur la plus faible au niveau du site4 La dureté d'une eau est due principalement à la présence de sels de calcium sous forme de bicarbonates, de sulfate, et de chlorures. [26]

La dureté enregistrée du lac est comprise entre (15°F) et (20.6°F), et selon le classement de l'organisation mondiale de la santé (OMS) l'eau de lac est peu dure [24]

V.1.2.5.Matière organique

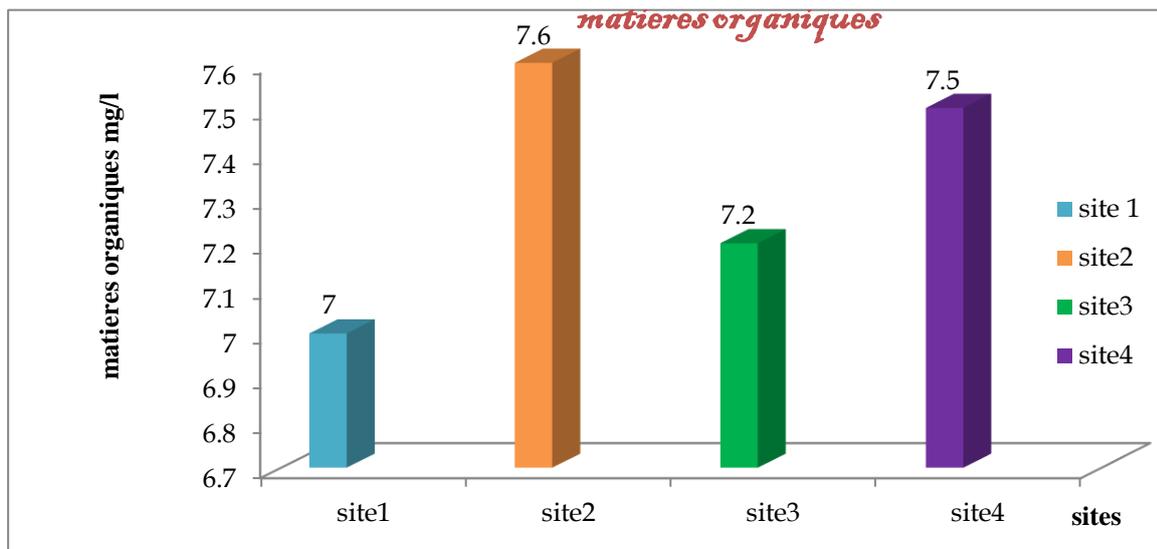


Fig13 : de la matière organique en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

Les quatre sites présentent une moyenne de 7mg/l, avec une mauvaise odeur, ce qui est une pollution qui résulte des activités humaines, et les matières susceptibles d'être rencontrées dans les eaux qui sont dues à la décomposition d'origine animale ou végétale, élaborées sous l'influence des microorganismes [26]

V.1.2.6.Calcium

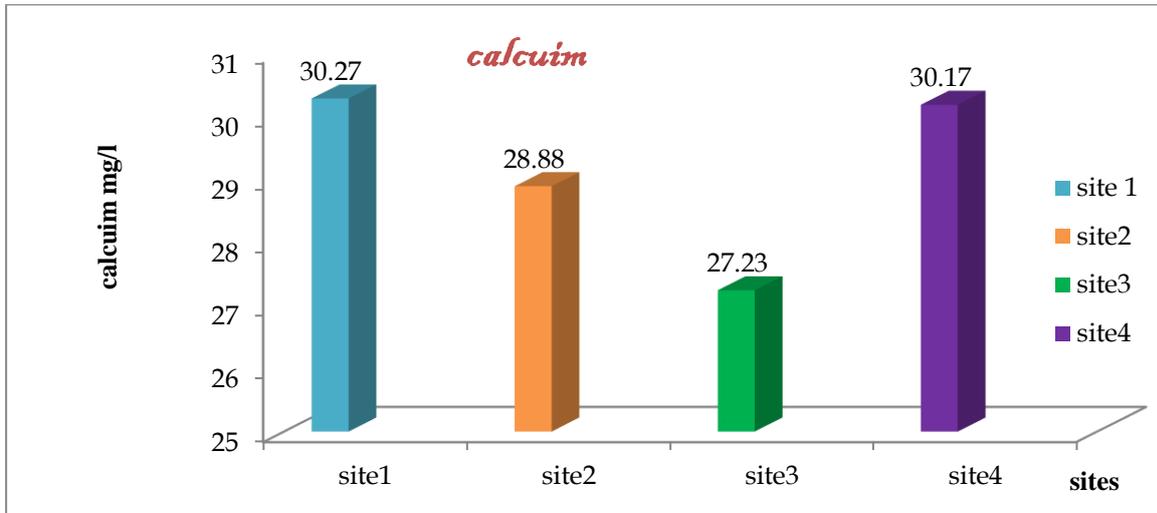


Fig14 : variation du calcium en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

On constate une valeur maximale de calcium à (30,27 mg/l) dans le 1^{er} site, et une valeur minimale égale à (27,23mg/l) dans le S3. Le calcium est un composant majeur de la dureté de l'eau en fonction de la nature des terrains traversés par l'eau qui influence la dureté de l'eau.[26]

V.1.2.7.Le

magnésium

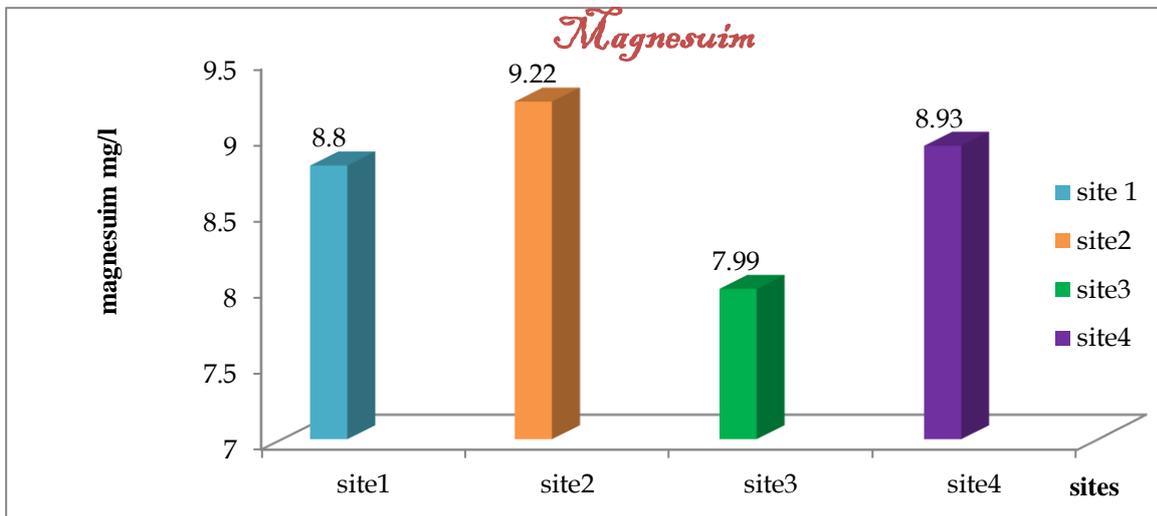


Fig15 : variation du magnésium en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

On remarque qu'il y a une perturbation dans les valeurs en commençant par le site1 (8.8) après une diminution enregistrée dans le site3(7.99) avec une moyenne de 8.73mg/l. Ce qui

explique l'existence des roches sédimentaires rencontrés par les eaux lors de l'écoulement du lac Oubeira. [26]

V.1.2.8. La Chlorure

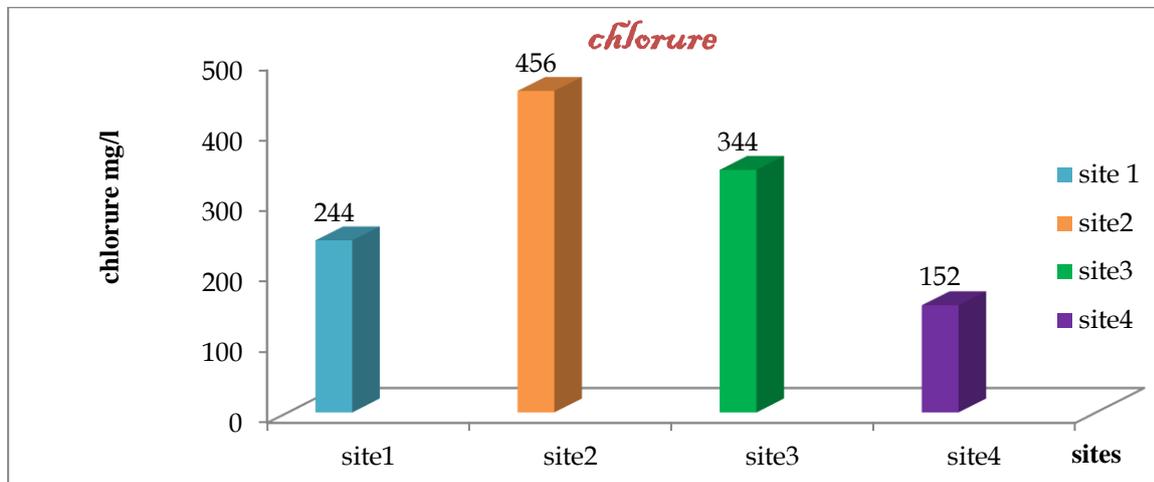


Fig16 : variation du chlorure en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

L'eau contient des quantités faibles de chlorures, les teneurs en chlorure des eaux liées principalement à la nature des terrains traversés. [27]

La teneur maximale est enregistrée au niveau du 4^{ème} site et égale (57,3mg/l), nos valeurs dépassent les normes selon l'organisation mondiale de la santé (OMS). Ces teneurs en chlorures sont susceptibles des variations provoquées par le lessivage superficiel en cas de fortes pluies et une pollution à travers les eaux usées [26]

V.1.2.9. Demande Biochimique en Oxygène 5 (DBO₅)

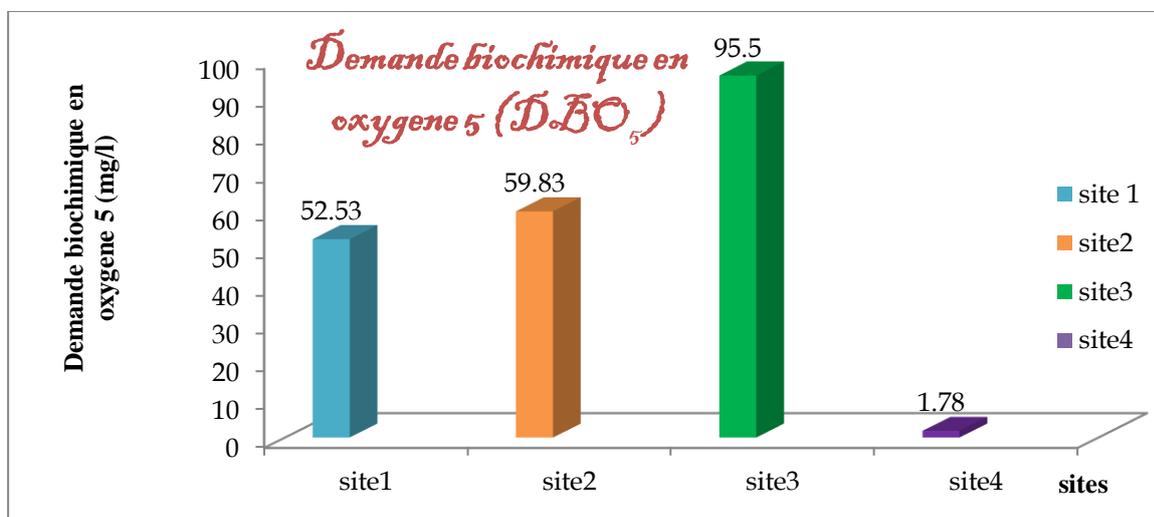


Fig17 : variation de la Demande Biochimique en Oxygène (DBO₅) fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira

Le résultats obtenu la plus élevé a été enregistré au niveau du site3 (95.5mg/l) et la plus faible au niveau du site4 (1.78), avec une moyenne de 52 ce qui explique que la dégradation des composés glucidique, lipidiques et protidiques des matières organiques existants dans le lac sont difficile ses composés peut être due au rejets domestiques et industriel [26]

V.1.2.10. Demande chimique en oxygène (DCO)

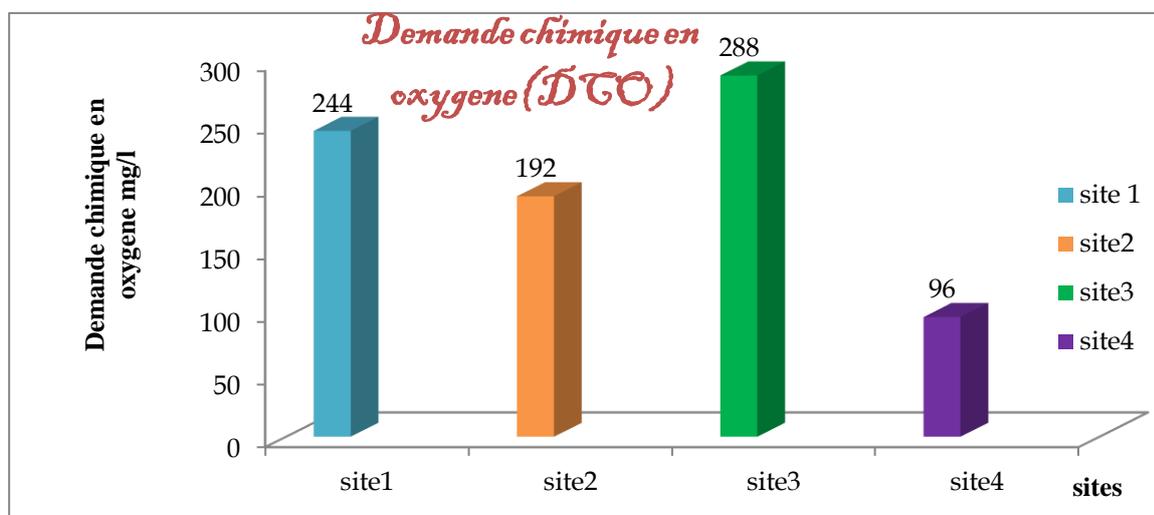


Fig18: variation De la Demande chimique d oxygène (DCO) en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

Les sites présentent des valeurs irrégulières importantes avec une moyenne de 205mg/l ce qui exprime la présence des composés azotés provenant des rejets industriel, de la décomposition par des bactéries de l'azote organique ou des rejets d'animaux (urines, excréments) [31]

Ainsi que certaines chaînes aliphatiques retrouvées qui échappent à l'oxydation [26]

V.1.2.11. Oxygène dissous

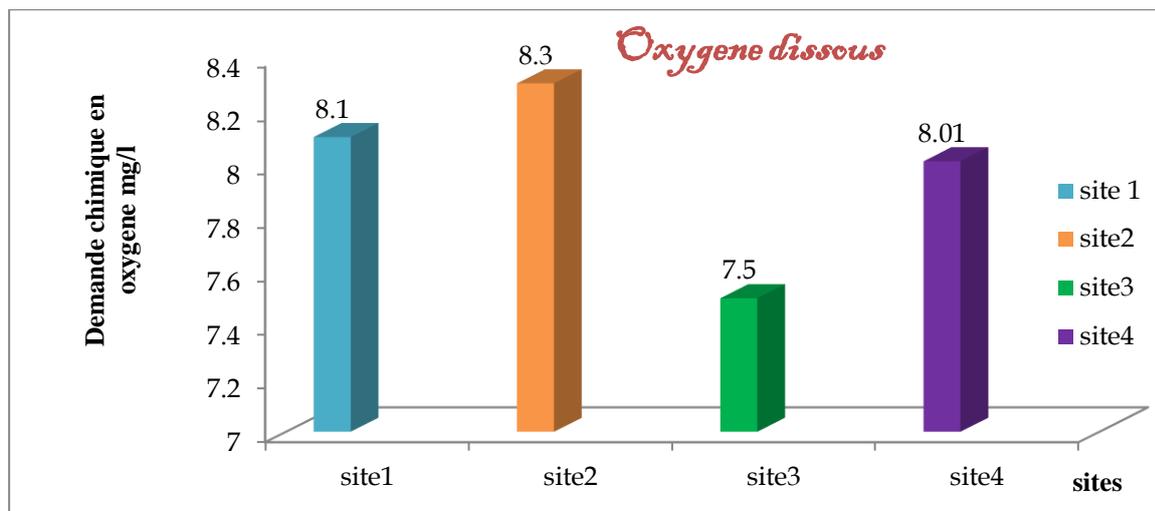


Fig19: variation oxygène dissous en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira.

Le taux d oxygène élevé est enregistré au niveau du site2 (8.3mg/l), et On remarque une baisse au niveau du site3 (7.5mg/l) e la concentration de la matière organique et des nutriments dans le lac ainsi que de la quantité de plantes aquatiques, d'algues et de bactéries présentes dans le lac. [58]

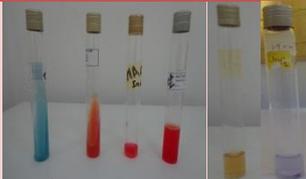
V.2. Analyse microbiologique

V.2.1. bactériologique

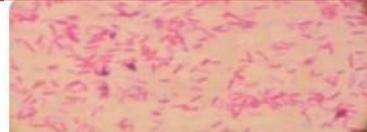
L'analyse bactériologique consiste à déterminer l aspect macro et microscopique et la galerie classique pour l identification de plusieurs genre existant dans des différents sites étudiés.

V.2.1.1. Résultat de la recherche des entérobactéries

Tableaux10 : des résultats bactériologiques

	Gelose Hektoen	Gelose nutritive
L'aspect macroscopique	 <p>Fig20 : des Colonies verdâtres, taille variantes, lisses, avec contour régulier, pigmentées en vert et d autre en noir.</p>	 <p>Fig21 : Des colonies jaunâtre une variation de taille, lisses, avec contour régulier, bombées, brillantes et pigmentées, et d autre marron</p>
L'aspect microscopique	 <p>Fig22 : Bacilles Gram négatif</p>	 <p>Fig23 : cocci Gram négatif.</p>
La galerie classique	 <p>Fig 24 : Résultat de la galerie classique Manitol mobilité :virage de couleur vers le jaune avec formation d' une voile -TSI : transformation de couleur avec l apparition d' une bulle de gaz et absence d' une zone noire (lactose,saccharose+ et gaz+ et H₂S-) -Urée indole :absence de couleur rose,formation d'aneau rouge, à la surface(uréase-, et indole+) -Clark et lubs : Addition de Vp1 et Vp2 absene d acetone et addition de rouge de methyl apparition de couleur rouge ridophile -Citrate de simmons : le milieu vert(citrate+)</p>	 <p>Fig25 : Résultat de la galerie -Manitol mobilité :virage de couleur vers le jaune avec formation d' une voile -TSI : transformation de couleur avec l apparition des bulles de gaz,absence d' une zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H₂S-) -Urée indole :absence de couleur rose,formation d'aneau rouge , à la surface(uréase-, et indole+) -Clark et lubs : Addition de Vp1 et Vp2 absene d acetone et addition de rouge de methyl apparition de couleur rouge ridophile -Citrate de simmons : le milieu vert(citrate+) virage de couleur vers le vert(citrate+).</p>

<p>22222</p> <p>Les tests complémentaires</p>	 <p>Fig26 :les tests complimentaires. ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+). -Oxidase :apparition de couleur violet(oxidase+). -Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+).</p>	 <p>Fig 27 :les tests complimentaires -ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+). -Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase-). -Catalase :absence des bulles de gaz(catalase-).</p>
	<p><i>E.coli.</i></p>	<p><i>Moraxella spp</i></p>

	Gélose Mac konkey	Gelose Salmonella Shegella (SS)
<p>Aspect macroscopique</p>	 <p>Fig28 : Colonie noire. colonies de taille variable, lisses, avec contour régulier, transparentes légèrement blanchâtre</p>	 <p>Fig 29 : Colonie noire Colonies petites et moyennes, lisses, avec contour régulier, bombées, brillantes et pigmentées de couleur marron</p>
<p>Aspect microscopique</p>	 <p>Fig 30 : Bacilles Gram négatif</p>	 <p>Fig 31 : Bacilles Gram négatif.</p>

	 <p>Fig 32 : Résultat de la galerie classique</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mannitol mobilité : virage de couleur vers le jaune et formation d'une voile (mannitol +mobilité+) -TSI : coloration en jaune et formation des bulle de gaz,absence d' une zone noire (lactose,saccharose+ et gaz+ et H2S-) -Urée indole :absence de virage de couleur (uréase-, et indole-) -Clark et lubs: Addition de Vp1 et Vp2 absene d acetone et addition de RM apparition de couleur rouge ridophile -Citrate de simmons : virage de couleur vers le bleu(citrate+). 	 <p>Fig 33 : Résultat de la galerie classique</p> <ul style="list-style-type: none"> -Manitol mobilité :virage de couleur vers le jaune avec formation des voile(mobolité+et manitol+). -TSI : coloration en jaune et formation des bulle de gaz,absence des zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H2S-) -Urée indole :absence de couleur rose,formation d'aneau rouge ala surface(uréase-, et indole+) -Clark et lubs :absence de couleur rouge après l'adition de vp et l apparition de rouge après l'adition de RM(VP-et RM+) -Citrate de simmons : virage de couleur vers le bleu(citrate+).
	 <p>Fig34 :Recherche de l enzyme galactosydase</p> <ul style="list-style-type: none"> -ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+).-Oxidase :apparition de incolore (oxidase-). -Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+ 	 <p>Fig 35 : Recherche de l enzyme galactosydase</p> <ul style="list-style-type: none"> -ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+). -Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase+). -Catalase :apparition des bulle du gaz (catalase+).
<p>Espèces</p>	<p><i>Enterobacter aerogenosa.</i></p>	<p><i>Citrobacter intermedius.</i></p>

Tableau11 : Résultats du profil biochimique

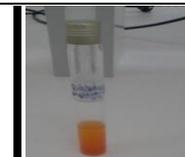
Milieux	GN	Mackonkey	Hektohen
Galerie classique/ Api20E	 <p>Fig36 :Profil biochimique ONPG(+) : jaune ADH(+) :rouge LDC(+):rouge ODC(+):rouge CIT(+) : bleu H₂S(+): dépôt noire URE(-): jaune TDA(-): jaune. IND(-): incolore, . VP(-) :incolore GEL(+) : diffusion piment noire GLU(+): jaune. MAN(+):jaune INO(+) :jaune SOR(+) :jaune RHA(+):jaune SAC(-):vert-bleu MEL(+):jaune AMY(+):jaune ARA(-) :vert</p>	 <p>Fig 37 : Profil biochimique ONPG(+) : jaune ADH(+) :rouge LDC(+):rouge ODC(+):rouge CIT(+) :bleu H₂S(-): incolore. URE(+):rouge TDA(-): jaune. IND(-): incolore VP(-) :incolore GEL(+) :pigment noire GLU(+):jaune MAN(+):la couleur INO(-) :bleu SOR(+) :jaune RHA(+):jaune SAC(+):jaune MEL(+):jaune AMY(+):jaune ARA(-):vert</p>	 <p>Fig38:Profil biochimique ONPG(-) : incolore ADH(-) :jaune. LDC(-):jaune ODC(-):la couleur reste jaune Citrate(-) : incolore H₂S(-): incolore. URE :(-):la couleur reste jaune TDA(-):la couleur jaune. IND(-): absence d'anneau rouge. VP(-) :incolore GEL(-) : absence de diffusion de pigment noire GLU(-):vert-bleu MAN(-):vert.bleu INO(-) :vert-bleu SOR(-)vert-bleu RHA(-) :vert-bleu SAC(-) :vert-bleu MEL(-) :vert-bleu AMY(-) :vert-bleu ARA(+) : jaune</p>
Espèces	<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Salmonella choleraesuis spp arizonae</i>	<i>Providencia alcalifaciens rustigianii</i>

V.2.2. Résultat de la recherche des staphylocoques

Les résultats de la recherche des staphylocoques sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 12 : Résultats d'identification de la souche de staphylocoque isolée.

Aspect	L'aspect macroscopique	L'aspect microscopique
Milieu chapman	 <p>Fig39: Colonies jaune de taille moyenne</p>	 <p>Fig40: Cocci Gram positif en amas</p>
	 <p>Fig 41 : Résultat de la galerie classique -Mannitol mobilité : virage de couleur vers le jaune et formation d'une voile (mannitol +mobilité+) -TSI : coloration en jaune et formation des bulle de gaz,absence des zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H2S-) -Urée indole :absence de couleur rose,absence d'anneau rouge a la surface(uréase-, et indole-) -Clark et lubs : : Addition de Vp1 et Vp2 absene d acetone et addition de rouge de methyl apparition de couleur rouge ridophile -Citrate de simmons : virage de couleur vers le bleu(citrate+).</p>	
Test complémentaires	 <p>Figure 42 : Recherche de l enzyme galactosydase</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+) ➤ Oxidase :apparition de la couleur violet (oxidase+),. ➤ Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+) 	



Catalase +

Couagulase +

Manitol +

Staphylococcus auerus

V.2.1.3. Détermination des caractères biochimique

V.2.1.3.1. Recherche et dénombrement des contaminations fécales coliformes totales

Coliformes totaux (CT)

Les variations du nombre de bactéries dans les différentes sites, situées sur le Lac Oubeira sont illustrées dans cette figure si dessous

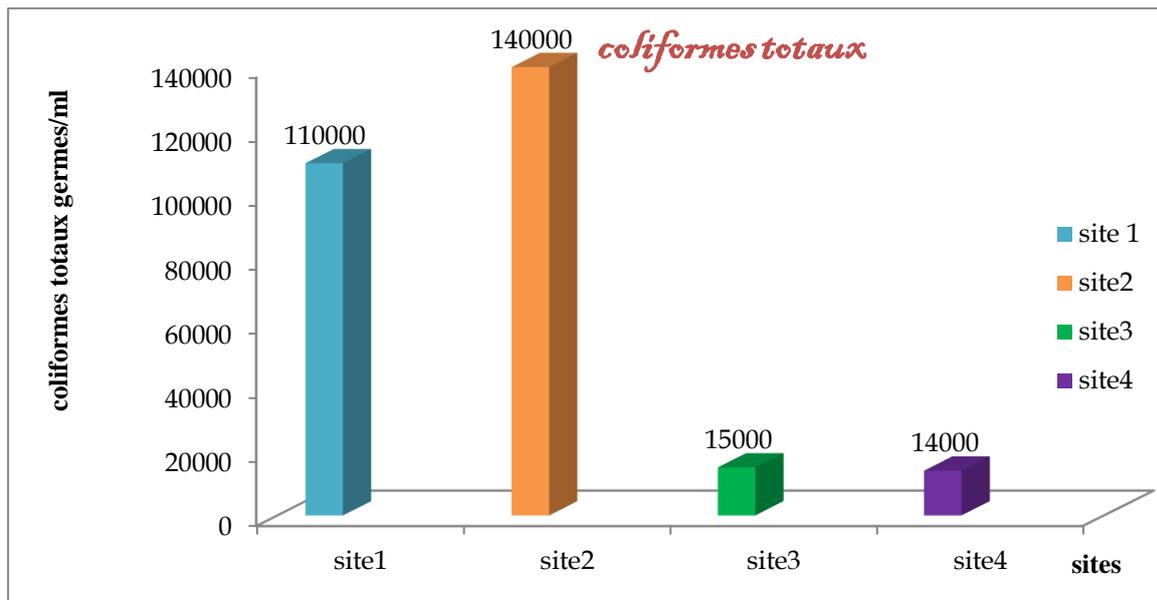


Fig 43 : variation de la présence des coliformes totaux en fonction des sites de prélèvement du lac Oubeira

Des résultats inquiétants sont enregistrés au niveau du site2(140000) qui présente une forte concentration de coliformes totaux ce qui explique l'abondance de ses germes grâce à la contamination d'origines fécale

Streptocoques fécaux(SF)

Les résultats de dénombrement de ces derniers sont présentés dans cette figure 17. si dessous

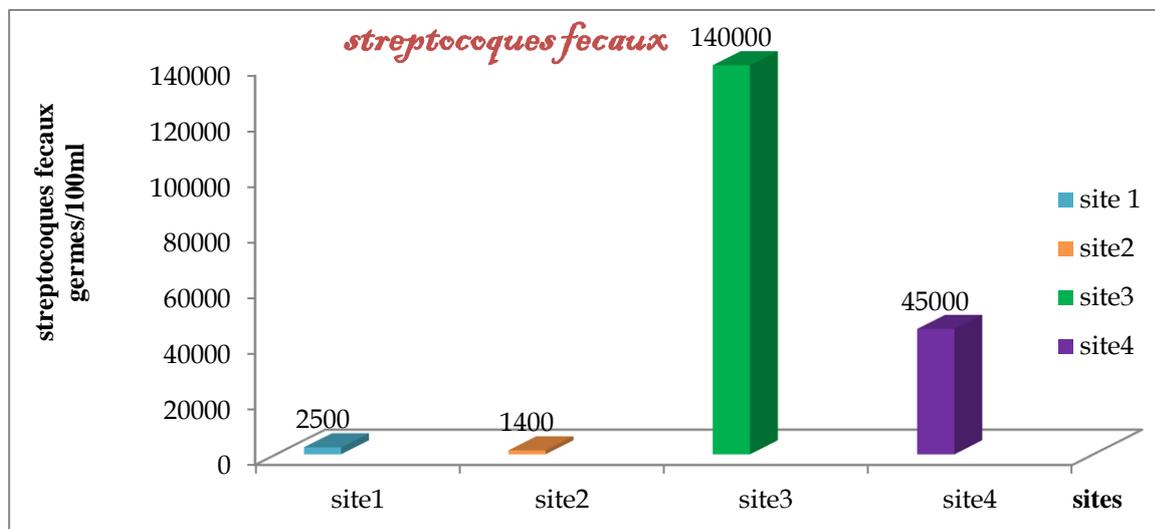


Fig44: variation de la présence des streptocoques fécaux en fonction des sites de prélèvements du lac Oubeira

La forte concentration des streptocoques fécaux est enregistrée au niveau du site3(140000) et la plus faible concentration au niveau du site2, tandis que la valeur minimale est enregistrée au niveau du site 2(1400), ce qui explique la présence des bactéries qui sont des indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux. [28]

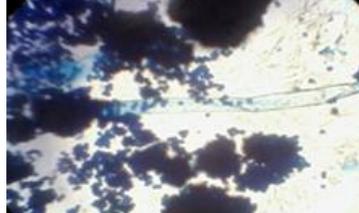
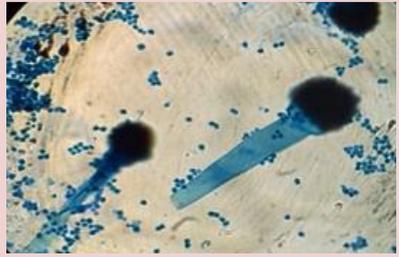
V.2.2. Identification fongique

L'aspect macroscopique des espèces fongiques dans les milieux de culture sont présentées dans le tableau suivant :

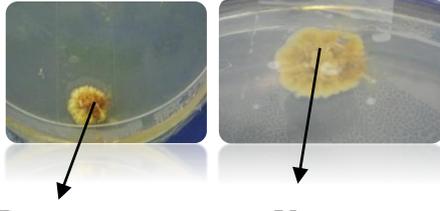
Tableau 13 : l'aspect macroscopique des espèces fongiques dans les milieux de culture.

	Site N°1	Site N°2	Site N°3	Site N°4
<i>Czapek simple</i> A 37°C	1 ^{er} ensemencement absence de colonie après repiquage Plusieurs types de colonies de couleur verte avec un diamètre 3-4cm et jaune avec des filaments simple	colonies de couleur verte avec un diamètre 3	Colonie jaune avec des filaments simples	Plusieurs types de colonies de couleur verte avec un diamètre 3-4cm et jaune avec des filaments simple
<i>Czapek cosentré</i> A 30°C	Des colonies de couleur gris verte leur diamètre atteint 4cm	Des colonies de couleur verdâtre et grisâtre	Des colonies verdâtre	Des colonies de couleur grisâtre
<i>Sabouraud</i> A 30°C	Colonie marron plate de 1cm de diamètre et 50colonies blanchâtre de 2mm de diamètre	Colonie marron plate de 1mm de diamètre >100 colonies	Plusieurs types de colonies de 1 et 3mm de diamètre marron verdâtre, jaunâtre et d autre de 2cm de couleur blanchâtre	Colonies jaunâtre
<i>TGEA</i> A 37°C	Colonie blanchâtre et jaunâtre petites taille	Colonie blanchâtre et jaune foncé de taille moyenne	Colonies de différentes tailles de couleur blanchâtre	Colonies de différentes tailles de couleur blanchâtre

Tableau14 : des aspects macroscopiques et microscopiques des analyses fongiques

Milieux de culture	Aspect macroscopique	Aspect Microscopique (Gx100)	Espèces
Czapek Simple	 <p>Recto Verso</p> <p>Fig 45 :l'aspect macroscopique de la colonie. Des colonies verte avec un diamètre 3-5cm d autre sont jaunâtre filamenteux</p>	 <p>Fig 46 : l'aspect microscopique de la colonie Les têtes conidiennes, bisériées, radiées sont disposées en plusieurs filaments.</p>	<p><i>Penicillium</i> <i>Crysogium</i></p>
Czapek Concentré	 <p>Recto Verso</p> <p>Fig 47 :l'aspect macroscopique de la colonie. Des colonies de couleur grisâtre avec un diamètre de 4cm</p>	 <p>Fig 48 : l'aspect microscopique de la colonie . Le conidiophore de longueur variable se renfle à son extrémité terminale formant une vésicule.</p>	<p><i>Aspergillus</i> <i>Ochraceus</i></p>
Sabouraud	 <p>Recto Verso</p> <p>Fig49 :l'aspect macroscopique colonies marron avec un contour blanchâtre</p>	 <p>Fig 50 : l'aspect microscopique de la colonie Les filaments sans cloisonnés avec des têtes allongées</p>	<p><i>Aspergillus</i> <i>terreurs.</i></p>

TGEA



Recto

Verso

Fig 51 :l'aspect macroscopique

Colon.ie jaune, de 1cm de diamètre. Caractérisé par La présence de petite boule jaune visible

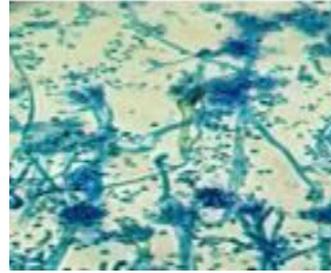


Fig 52 :l'aspect microscopique

Le thalle, hyalin, présente un mycélium cloisonné

Aspergillus glaucus

Discussion générale

Le **lac Oubeira** fait parti du complexe d El kala, abrite une faune et flore diversifié malheureusement ces eaux sont touché par une **double pollution une chimique** qui s'explique par une forte concentration :

De la turbidité au niveau du **site1** qui se traduit par la présence des sels sous forme de carbonate.

Le **site2** avec une concentration élevée de matières en suspension, matières organique, tétra alcalin complet, chlorure et magnésium traduisent par la présence des matières en suspensions qui influent sur la matière organique

Le **site3** indique une température, demande chimique en oxygène et demande biologique oxygène⁵ élevées qui sont probablement du à la surcharge des effluents par la matière organique, minérale, des rejets d eaux usée et domestique.

Le **site4** indique un potentiel hydrique et une conductivité élevé qui s explique par la concentration des protons H⁺ contenus dans l'eau. qui résume la stabilité de l'équilibre établi entre les différentes formes de l'acide carbonique et la conductivité traduit le degré de la minéralisation globale, qui nous renseigne sur le taux de salinité, et la capacité en électrons.

Et une autre **pollution microbiologique** s explique par les analyses bactériologiques qui nous ont permis de déterminer la présence de plusieurs types de microorganisme pathogènes telque : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis spp*, autre d'origine fécale grâce à la présence d'*Escherichia Coli* et une autre fongique par la l'existence d'*Aspergillus et Penicillium* qui peuvent être toxique.

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer le risque de contamination des eaux du lac Oubeira à partir des analyses microbiologiques et physicochimiques.

Un aspect trouble avec une dégradation des matières organiques en présence du magnésium et du chlorure au niveau du site2 exprime un milieu favorable pour le développement de plusieurs microorganismes pathogènes tel que *Staphylococcus aureus*. Ces derniers sont capables de coaguler le sang en causant des maladies dangereuses, d'autre d'origine fécale par la présence des *E.coli* et d'autres fongiques qui peuvent être toxiques (*Aspergillus*, *Penicillium*).

Après ces résultats obtenus on peut conclure que l'eau du lac Oubeira est très polluée. En conséquence, la consommation de cette eau est capable de provoquer des grands problèmes sanitaires.

L'étude de la qualité des eaux du lac Oubeira a permis de constater que l'eau de cet écosystème nécessite un traitement complexe (traitement physique, chimique, affinage et désinfection) avant l'utilisation humaine.

Pour terminer notre analyse complète, nous suggérons, afin d'aider la conservation de cet écosystème et de prévenir la population avoisinante contre les maladies hydriques susceptibles d'être causées par ces eaux en vue de l'avenir, des perspectives suivantes:

- ❖ Sensibiliser les habitants autour du lac afin de les emmenés à ne pas déverser leurs ordures domestiques au bord ou dans le lac.
- ❖ Les eaux usées qu'elles que soient industrielles et ménagères ne devraient pas être directement déversées dans le milieu naturel car elles peuvent engendrer de graves problèmes environnementaux et de santé publique, il est nécessaire que ces eaux soient déversées dans des stations d'épurations avant d'être rejeter dans la nature.

.Annexe II :

- **Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E.**

			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/Immédiat	
IND	Tryptophane	Production d'indole	Jaune	Marron foncé
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	Ox / 5-10 mn	
			incolore	Anneau violet
NO ₃ -NO ₂	Tube GLU	Production de NO ₂ Réduction au stade N ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
			Zn	
			Rouge	Jaune
MOB	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Milieu de Mac Conkey	Culture sur	Absence	Présence
OF	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'aire	Vert Vert	Jaune Jaune
CAT		Possession d'une catalase	H ₂ O ₂ / 1-2 mn	
			Pas de bulles	Bulles

Tables de Mac Grady

<i>2 tubes par dilution</i>		<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						
<i>5 tubes par dilution</i>							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0

121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Annexe III :

Tableau : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température.

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

Tableau : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique.

Conductivité électrique (µs/cm)	Qualité des eaux	Classe
CE<400	Normale	1 A
400<CE<750	Bonne	1B
750<CE<1500	Passable	2
1500<CE<3000	Médiocre	3

I. Matériels et réactifs des paramètres physicochimiques :

1.1. Matériels

- Dispositif de filtration (pompe à vide ou sous pression)
- Disques filtrants en fibre de verre (filtres de *Wattman*)
- Etuve réglable à 105-110°C et 175-185°C
- Dessiccateur
- Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml
- Enceinte thermo statée (étuve) à 20°C, plus ou moins 1°C
- Matériel nécessaire pour le dosage de l'oxygène (oxymétrie)
- Barboteur
- Appareil à reflux composé d'un ballon à fond plat de 250 ml à col rodé et d'un réfrigérant adaptable réservé exclusivement à la détermination de le DCO
- Spectrophotomètre
- Bêchers
- Papier filtre
- Pipetes gradées
- Fiole jaugée 200ml
- Appareil à distiller par entrainement de la vapeur
- Verrerie
- Autoclave

1.2. Réactifs

- Solution de chromate de potassium à 10%
- Solution de nitrate d'argent N/10
- Solution d'acide sulfurique à 50%
- Solution de permanganate de potassium N/80 (1 ml de la solution N/80 correspond à 0,1g d'oxygène)
- Solution d'acide oxalique
- e N/80 à partir d'une solution de N/10 récemment titrée
- Solution d'EDTA N/50
- Noir urochrome T
- Indicateur coloré d'urochrome T

- Solution tampon : Ammoniaque à 34%
- Indicateur coloré d'hydroxyde de sodium à 2N
- Solution de phénolphthaléine dans l'alcool à 0.5%
- Eau permutée exempte d'anhydride carbonique libre (par ébullition de 15 min)
- L'eau distillée
- Eau de dilution
- Eau d'ensemencement
- Solution de sulfate d'argent AgSO_4
- Solution de féronie
 - Solution de fer 0.7 g
 - Eau permutée q.s. 100ml
 - 1,10-phénanthroline 1.5g
- Sel de mohr (sulfate de fer et d'ammonium)
- Sulfate mercurique cristallisé
- Solution de salicylate de sodium
- Solution tartrate
- Solution Zambelli
- Anti-mousse (silicone)
- Réactif Nasser
- Acide ascorbique à 5%
- Chlorure de potassium
- Solution de molybdate d'ammonium
- Réactif de phosphate
- Solution de minéralisation
- Persulfate de potassium 3g

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Situation géographique du lac Oubeira dans le parc national d'Elkala.	03
Figure 2	Les bords du lac Oubeira.	05
Figure 3	Les sites de prélèvement sur la carte géographique à partir du lac Oubeira.	16
Figure 4	Multi-paramètres utilisé pour la détermination de : température, pH, et conductivité électrique.	33
Figure 5	Variation de la température en fonction des sites de prélèvement.	39
Figure 6	Variation de la conductivité en fonction des sites de prélèvement.	39
Figure 7	Variation de la turbidité en fonction des sites de prélèvement.	40
Figure 8	Variation de la matière en suspension en fonction des sites de prélèvement.	41
Figure 9	Variation du Ph en fonction des sites de prélèvement.	42
Figure 10	Variation de titre alcalimétrique en fonction des sites de prélèvement.	42
Figure 11	Variation de titre alcalimétrique complet en fonction des sites de prélèvement.	43
Figure 12	Variation de la valeur hydrique TH en fonction des sites de prélèvement.	43
Figure 13	Variation de la matière organique en fonction des sites de prélèvement.	44
Figure 14	Variation du calcium en fonction des sites de prélèvement.	45
Figure 15	Variation du magnésium en fonction des sites de prélèvement.	45
Figure 16	Variation du chlorure en fonction des sites de prélèvement.	46
Figure 17	Variation de la demande biochimique en oxygène (DBO) en fonction des sites de prélèvement.	47
Figure 18	Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) en fonction des sites de prélèvement.	48
Figure 19	Variation de l'oxygène dissous en fonction des sites de prélèvement.	48
Figure 20	Colonie verdâtre.	49
Figure 21	Colonie jaune.	49
Figure 22	Bacilles Gram négatif.	49
Figure 23	Cocci Gram négatif.	49
Figure 24	Résultat de la galerie classique <i>E. coli</i> .	49
Figure 25	Résultat de la galerie classique <i>Citrobacter intermedies</i> .	49
Figure 26	Les tests complémentaires.	50
Figure 27	Les tests complémentaires.	50

Figure 28	Colonie noire sur la gélose <i>Mac konkey</i> .	50
Figure 29	Colonie noire sur la gélose <i>SS</i> .	50
Figure 30	Bacilles Gram négatif.	50
Figure 31	Bacilles Gram négatif.	50
Figure 32	Résultat de la galerie classique d' <i>Enterobacter aerogenes</i> .	51
Figure 33	Profil biochimique d' <i>Aeromonas hydrophyla</i> .	51
Figure 34	Les tests complémentaires.	51
Figure 35	Les tests complémentaires.	51
Figure 36	Profil biochimique d' <i>Enterobacter Sakazakii</i> sur la GN.	52
Figure 37	Profil biochimique de <i>Salmonella cholera-esues spp arizonae</i> sur la gélose Mac konkey.	52
Figure 38	Profil biochimique de <i>providencia alealifaciens/riestigianii</i> sur la gélose Hektoen.	52
Figure 39	Colonie jaunes sur la gélose Chapman.	53
Figure 40	Cocci Gram positif en amas.	53
Figure 41	Résultats de la galerie classique des Staphylocoque.	53
Figure 42	Les tests complémentaires.	53
Figure 43	Variation de la présence des coliformes totaux en fonction des sites de prélèvement.	54
Figure 44	Variation de la présence des Streptocoques fécaux en fonction des sites de prélèvement.	55
Figure 45	L'aspect macroscopique de la colonie <i>Penicillium crysogium</i> sur la gélose Czapek simple.	57
Figure 46	L'aspect microscopique de la colonie <i>Penicillium crysogium</i> sur la gélose Czapek simple.	57
Figure 47	L'aspect macroscopique de la colonie <i>Aspergillus Ochraceus</i> sur la gélose Czapek Concentré.	57
Figure 48	L'aspect microscopique de la colonie <i>Aspergillus Ochraceus</i> sur la gélose Czapek Concentré.	57
Figure 49	L'aspect macroscopique de la colonie <i>Aspergillus terreurs</i> sur la gélose Sabouraud.	57
Figure 50	L'aspect microscopique de la colonie <i>Aspergillus terreurs</i> sur la gélose Sabouraud.	57
Figure 51	L'aspect macroscopique de la colonie <i>Aspergillus Glaucos</i> sur la gélose TGEA.	58
Figure 52	L'aspect microscopique de la colonie <i>Aspergillus Glaucos</i> sur la gélose TGEA.	58

Liste des schémas

Numéro	Titre	Page
Schéma 1	La classification des champignons.	13
Schéma 2	La méthode de la dilution et coulage les boites.	18
Schéma 3	De protocole d'ensemencement à partir des sites.	19
Schéma 4	Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.	22
Schéma 5	Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination.	24
Schéma 6	Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes.	25

Liste de tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableaux 1	Les caractéristiques physiques du lac Oubeira.	04
Tableaux 2	De variation du pH.	07
Tableaux 3	Description de quelques espèces.	10
Tableaux 4	Identification d' <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i> .	14
Tableaux 5	Des caractères recherchés.	26
Tableaux 6	La technique de la recherche de l'enzyme bêta-galactosidase.	28
Tableaux 7	La technique de la recherche du tryptophane désaminase.	29
Tableaux 8	La technique de la recherche de la <i>staphylocoagulase</i> .	31
Tableaux 9	Les différents donnés des paramètres physico-chimiques prélevés des quatres sites du lac Oubeira.	38
Tableaux 10	Résultat de l'isolement des <i>Entérobactéries</i> .	49
Tableaux 11	Résultats d'un profil biochimique.	52
Tableaux 12	Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolées.	53
Tableaux 13	L'aspect macroscopique des espèces fongique dans les milieux de culture.	56
Tableaux 14	L'aspect macroscopique et microscopique des milieux de culture.	57

Liste des abréviations

AAS : la spectrophotométrie d'absorption atomique

ADN : Acide désoxyribonucléique.

API : Analytique Prophylactique Index

BCPL : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre

°C : Degré Celsius

CL : chlorure

CT : Coliformes totaux

DBO : demande biochimique en oxygène

DCO : demande chimique en oxygène

D/C : Double concentration

E. coli: *Escherichia coli*

Fig: Figure

G: Gramm

GN: Gélose Nutritive

H: heure

He: hectare

H₂O₂: eau oxygen

IND: Indole

L: Litre

LDC : Lysine déshydrogénase

M : mètre

Min : minute

MI : millilitre

Mes : matière en suspension

Nb : Nombre

NIT : Nitrate

NPP : Nombre le plus probable

NTU : Unité de Turbidité Néphélométrique

ODC : Omithine décarboxylase

OMS : organisation mondiale sanitaire

ONPG: Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase

Pb : plomb

Ph : Potentielle Hydrogène

PNEK : Park National d'El Kala

RM : Rouge de méthyle

S : site

SF : Streptocoque fécaux

SS : Salmonella-Shegilla

T : Température

TDA : Tryptophane décarboxylase

TGEA : gélose tryptone glucose à l'extrait de levure

TSI : Triple Sugar Iron.

UFC : Unité formant colonie

Us/cm : micro –Siemens par centimètre

VP : Vouges Proskawer

Zn : zinc

F° : Un degré français

MAN: Mannitol

INO: Insitol

SOR: Sorbitol

RHA: Rhamnose

SAC : Sacharose

MAL: Milbiose

ARA: Arabinose

AMY: Amygdaline

GEL: gelatinase

VP: Acetoine

IND: Indole

TDA: tryptophane désaminase

URE: Uréase

H₂S: production d' H₂S

CIT: Citrate

ODC: Onithine décarboxylase

LDC: Lysine décarboxylase

ADH: Arginine dés hydrolase

ONPG: Orthro -Phényle β galactosidase.

Annexes

Annexe I : Milieux de culture et Réactifs :

- **Czapek simple**

NaOH ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
KCl.....	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.5g
FeSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.01g
ZnSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.005g
CuSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.01g
Saccharose	30g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

- **Czapek concentré**

NaOH ₃	30g
KH ₂ PO ₄	20g
KCl.....	10g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	10g
FeSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.2g
Saccharose.....	30g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

- **Bouillon nitrate réductase:**

Infusion Coeur-cervelle.....	25.0g
Nitrate se sodium.....	10.0g
Eau distillée.....	1L

- **Milieu TSI :**

Agar.....	12g
Extrait de boeuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
NaCl.....	5g
Glucose.....	1g
Citrate ferrique.....	3g
Thiosulfate de sodium.....	3g
Rouge de phénol.....	0.025g
Eau distillée.....	1000ml

- [1] - Djebbari N(all) (2009) , l infestation de l anguille anguilla par le parasite +anguillicolacrasus kuwahara, niimi et itagaki,1974 dans le complexe des zones humides d El Kala .Université Badji, Moktar Annaba
- [2] - MESSERER Y. (1999) : Etude morphométrique et hydrologique du complexe lacustre d'El Kala (cas du lac Mellah et du lac Oubeira. Magister. (Université de Annaba).
- [3] - DE VILLERSI, SQUILBIN M., 2005. -Qualité physicochimique et chimique des eaux de surface. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement. 16 p
- [4] - Anonyme fiche descriptive sur les zones humides ramsar (2003)
- [5] - Anonyme, Identification des champignons filamenteux.
- [6] - Amirouche N,bouguedoura N, hadj-arab H.botanique(license science de la nature et de la vie) p30
- [7] - Anonyme, qualité physicochimique et chimique d'eau de surface cadre generale (novembre 2005) p5
- [8] - Lycée Val de Garonn TP de chimie : Alcalinité d'une eau année 2010-2011
- [9]- Rodier.J (1996). L'analyse d'eau :eaux naturelles , eaux résiduaires ,eaux de mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847
- [10] - Leclerc H., 1969. -Microbiologie générale. Edition Doin. P 384, 386.
- [11] - Bourgeois et Leveau, 1980 (Bourgeois C.M. et Leveau.J.Y, (1980).Technique bactériologique. *Doin*.335p)
- [12] -Roux.M, (2003) TP de microbiologie : Analyse de l'eau.Novello Célia. (3).1-9
- [13] -Rodier J. Legube B., Marlet N., et coll., (2009). L'analyse de l'eau. 9ème édition. Dunod. Paris. P 1579.
- [14] - Rejsek.F, (2002).;Délarras, 2008 : Analyse des eaux : technique et aspects réglementaires Scérène CRDP Aquitaine. 358p.
- [15] - B Larpent JP.(1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire :Technique de labo. Edition Tec et Doc.p : 294-718.

- [16] - Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologique des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
- [17] - Delarras. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaetan moriu éditeur. P : 117-136.
- [18] - Delarras, Camille. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : règlementation, prélèvement, analyses. Edition Tec et Doc, Edition médicales nationales P : 65-102.
- [19] - Guiraud J.Pierre. (2003) Microbiologie alimentaire.RIA Dunod. P : 359-722.
- [20]- Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
- [21]- C.Ganet, G.Fessy, O.Rode, Api la référence mondial en identification, Edition Biomérieux
- [22] - Jean Rodier et coll. (2005). L'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847.
- [23] - Arnaud Delahyr, Api Staph.
- [24] - Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique
- [25] - Etude comparative entre le traitement des eaux usée par boue activée Kariman Merzougui (2011) p7
- [26] - L. R. P.BUTLER D.BRINK The determination of magnesium calcium, potasuim, soduim, copper and iron in watter samples by atomic absorption spectrophotometer p 17-152)
- [27]- Anonyme, qualité physico chimique et chimique d eaux de surfaces cadre generale (novembre 2005) p34
- [28]- J.GUIRAUD, P.GALZY, Analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Les éditions de l'usine nouvelle 1980 p.37
- [30]- Bactériologie Prof. Dr. Jan Verhaegen p1-54

[31] - Article Commissariat général au développement durable • Service de l'observation et des statistiques Études & documents n°13 novembre 2009

[32]- Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation. Tous droits réservés

[33] - P.hraven, All. Environnement , traduction de la 6eme edition americaine par marie-pascal colace, anne hancock, guy lemperiere, chapitre,22 la pollution d eau p551

[34] - Anonyme La « Guerre de l'eau » : nouveau moyen de pression économique pour demain? (2009) p2

[35]- Prescott, all microbiologie 2eme edition française, edition boeck. P2

[36]- B.Botton, P.Veau, 1990.moisissures (utile et nuisible importance industrielle) édition Masson p 2

[37] -Thèse de doctorat université bucares spécialité pathologie , mycologique, génétique et nutrition institut nationale polytechnique de Toulouse Cristina Tabuc (2007)

[38]-http://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/matiere_en_suspension_mes.php4 visité le 05/004/2014

[39]- <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/medecine-bacterie-101/> dernière modification lundi 9 juin 2014 09:10:00 visité le 17/03/2014

[40]- http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm(22/05/2011)

[42]- <http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf>(24/05/2011)

[43]-
http://www.actuenvironnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/matiere_en_suspension_mes.php4

[44] - (<http://www.elmoudjahib.com/fr/actualites/30989> 2012)

[45]- http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/hcl2004/CNR_staphylocoques/

[46]-http://www.labo-abioc.fr/abioc/base_documents/pdfs/Germes/Clostridium%20perfringens.pdf visité le 03/04/2014

[47]-

http://ecole.siaap.fr/fileadmin/user_upload/Assainissement/Dossiers_thematiques/Le_deficit_d_assainissement_dans_le_monde/Le%20d%C3%A9ficit%20d'assainissement%20dans%20le%20monde%20et%20ses%20cons%C3%A9quences.pdf visité 02/03/2014

[48]-

http://supprem.unige.ch/bricks/unisi_b20_v1/ressources_et_guides/chapitres/lecture/pollution/Chap32.html visité 08/01/2014

[49]-

http://www.agencessbsl.gouv.qc.ca/Telechargements/Sante_publique_et_services/Sante_environnementale/colitotaux.pdf visité 14/2/2014

[50]-

http://www.agencessbsl.gouv.qc.ca/Telechargements/Sante_publique_et_services/Sante_environnementale/colifecaux.pdf visité 07/04/2014

[51]-<http://macherkimohamed.centerblog.net/12.html> visité 4/03/2014

[52]-http://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition_matiere_en_suspension_mes_php4 visité le 17/04/2014

[53]-http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/demande-chimique-en-oxygene_6372 visité le 25/02/2014

[54] - <http://lucid-state.org/forum/archive/index.php/t-10680.html> visité le 02/04/2014

[55] -<http://fr.wikipedia.org/wiki/Chlorure> Dernière modification de cette page le 29 avril 2013 à 02:53.

[56]-<http://www.cipel.org/sp/article46.html> visité 27/02/2014

[57]-<http://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/viewFile/88482/78094>

[58]-http://www.troussedeslacs.org/pdf/fiche_oxygene.pdf visité le 06/03/2014