

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

UNIVERSITE 08 Mai 1945 de GUELMA
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE L'INGÉNIERIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE
Pour l'obtention du Diplôme de Magister en
BIOLOGIE

Option : Hydro-écologie
Santé, eau et environnement

THÈME

**Degré de contamination du Lac des Oiseaux et
contribution à l'étude du pouvoir auto-épurateur de
l'eau : Isolement et étude de *Bdellovibrio
bacteriovorus***

Présenté par :
Ismahan HALASSI

Membres de jury :

Président : BENOUARETH D.E. (Pr.)
Examineur : KACHI S. (M.C.)
Promoteur : HOUHAMDI M. (Pr.)

Université de Guelma
Université de Guelma
Université de Guelma

Année 2010

Remerciements

La réalisation de ce travail ne saurait être considérée comme le fruit d'un effort individuel. Tout au contraire, ce travail est la résultante d'un ensemble conjugué d'apports humains, financiers et intellectuels. Certes, nous ne pouvons pas citer ici toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien, mais nous tenons tout de même à remercier particulièrement

Avant tout à Dieu le tout puissant qui m'a donné le courage et la force pour réaliser ce modeste travail, et à qui j'adresse mes remerciements par sa grâce infinie pour moi.

Puis j'aimerais adresser ma plus sincère gratitude à mon directeur de recherche, monsieur Houhamdi Moussa, maître de conférences à l'université de Guelma. Un homme de science et de qualité passionné qui a à cœur la formation et la réussite de ses disciplines. merci infiniment pour vos conseils, votre soutien et votre confiance qui m'ont beaucoup aidé.

Et surtout, j'adresse mes plus profonds remerciements et tout mon amour Au plus adorable et gentil grand père au monde qui ma tout encouragé

A mes très chères parents, que j'adore et je souhaite toujours les avoir à mes cotés. Je vous remercie infiniment de vos sacrifices. Que DIEU les protège et les garde pour moi.

A mes oncles qui ont été toujours disponible pour moi.

A mon très cher frère: Abd el rezaq

A mes très cher sœurs: Nabila, Imen.

Qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances.

A mes très chères et meilleures amies et sœurs : lamia, mouna, moufida, nora, semsouma

A une personne qui compte beaucoup pour moi : Ali.

A tous mes amis et collègues qu'ensemble on a vécu des moments difficiles et on a surmonté toutes les difficultés qu'on a subit durant notre cycle universitaire et surtout a Seyf et Assia.

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	01
Chapitre I : Présentation de la zone d'étude	
1. Les zones humides	04
1.1.Définition.....	04
1.2. Les fonctions des zones humides	04
2. Généralités sur la Numidie.....	06
3. les principaux sites humides de la Numidie.....	07
4. Présentation du site d'étude «Le Lac des Oiseaux».....	11
4.1. La commune.....	11
4.2. Le Lac des Oiseaux (site Ramsar).....	14
4.2.1. Hydrologie.....	15
4.2.2 Pédologie	18
4.2.3. Géologie	18
4.2.4. Climatologie	22
4.2.5. Cadres biotiques.....	26
4.2.6. Exploitations et altération du Lac des Oiseaux	29
4.2.7. Mesures de conservations	30
Chapitre II : La pollution biologique	31
1. définition	31
1.1. La microflore des milieux aquatiques	31
1.1.1. Les microorganismes autochtones	32
1.1.2. Les microorganismes allochtones	32
1.2. Dispersion et devenir des bactéries dans l'eau	32
2. L'autoépuration	33
2.1. Définition	33
2.2. Mécanismes d'auto-épuration	35
2.2.1. Mécanismes physico-chimiques.....	35
2.2.2. Mécanismes biologiques.....	39
2.2.2.1. L'amensalisme	39
2.2.2.2. Parasitisme	39
2.2.2.2.1. Bactériophages	39

2.2.2.3. Prédation	38
2.2.2.3.1. Protozoaires	40
2.2.2.3.2. Les bactéries prédatrices	40
2.2.2.3.2.1. <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	41
3. <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	41
3.1. Position taxonomique	41
3.2. Découverte.....	42
3.3. Morphologie	42
3.4. Mécanisme de prédation	44
3.5. Ecologie du <i>Bdellovibrio</i>	44
3.6. Cycle biologique du <i>Bdellovibrio</i>	45
3.6.1. La phase d'attaque	45
3.6.2. La phase d'attache	46
3.6.3. La phase de pénétration	46
3.6.4. La phase de croissance	47
3.6.5. La phase de segmentation et libération	47
Chapitre III : Matériel et Méthodes	50
Introduction.....	50
L'échantillonnage.	51
1. Analyses physico chimiques.....	52
1.1. Mesures in situ.....	52
1.2. Dosage des paramètres	55
1.3. Indices d'altération chimique	59
2. L'analyse bactériologique	60
2.1. La méthode du nombre le plus probable	61
2.2. La mesure directe de la croissance bactérienne	62
2.3. Dénombrement des microorganismes dans l'eau	62
2.3.1. Dénombrement des germes totaux	62
2.3.2. Dénombrement des germes de contamination fécale	63
2.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	66
2.3.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissure.....	67
2.4. Détermination de la qualité microbiologique de l'eau (recherche microbienne et isolement des microorganismes pathogènes) :.....	68
2.4.1. Principe	68

2.4.2. Procédure	68
2.4.3. Isolement et purification des souches fermentant le lactose (Lac+)	68
2.4.4. Identification	69
2.4.4.1. Caractéristiques morphologiques	69
2.4.4.2. La coloration de Gram	69
2.4.4.3. Identification biochimique	70
2.4.4.3.1. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes	70
2.4.4.3.2. Galeries d'API 20 E	77
2.4.5. Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80
2.4.6. Recherche des vibrions cholériques	80
2.4.7. Recherche des <i>Staphylococcus</i>	81
2. 5. Indice de qualité microbiologique (IQM)	82
3. Détermination du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du Lac des Oiseaux	84
4. Détermination du facteur bactéricide	84
5. Etude du rôle de <i>Bdellovibrio</i> dans la lyse des principaux coliformes	86
Chapitre VI : Résultats et discussion :	90
1. Analyses physico-chimiques.....	90
2. Analyses microbiologiques.....	102
2. 1. Résultats des dénombrements des microorganismes de l'eau	102
2.2. Résultats d'identifications des souches bactériennes.....	105
2.2.1. Résultats des caractères morphologiques et coloration de Gram	105
2.2.2. Résultats d'identification biochimique	108
3. Résultats de détermination du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du Lac des Oiseaux .	109
3.1. Resultats en milieu solide.....	118
3.1.1. Resultats d'isolement et de purification de <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	118
Discussion	122
Conclusion	133
Référence	135
Résumés	
Annexe	

Liste des tableaux

Tableau.1.1. Données sur la commune Lac des Oiseaux	13
Tableau.1.2. Paramètre morphométriques du Lac des Oiseaux	17
Tableau.1.3. Données météorologique de la région d'El Kala (1997-2006)	23
Tableau.3.1. Caractéristiques des points de prélèvement	49
Tableau.3.2. Nature et période de prélèvement	51
Tableau.3.3. Intervalle des valeurs attribuées aux trois paramètres	59
Tableau .3.4. Classe d'indice d'altération chimique	59
Tableau.3.5. Intervalles des paramètres de l'IQM	81
Tableau.3.6. Classes de l'indice IQM	81
Tableau.4.1. Grille d'appréciation de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989)	90
Tableau.4.2. Grille de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989)	92
Tableau.4.3. La qualité des eaux d'après la grille de l'Agence du Bassin Adour Garonne (Monod, 1989)	95
Tableau 4.4. Grille d'appréciation de la qualité des eaux (Masson ,1988)	98
Tableau 4.5. Grille de la qualité des eaux naturelles appliquée par (ANRH)	99
Tableau.4.6. Résultats des NPP pour les germes totaux /ml à 37 °C	101
Tableau.4.7. Résultats des NPP pour les coliformes totaux/ml	102
Tableau.4.8. Résultats des NPP pour les coliformes fécaux/ml	102
Tableau.4.9. Résultats des NPP pour les Streptocoques fécaux/ml	103
Tableau 4.10. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées de l'eau du Lac des Oiseaux	106
Tableau 4.11. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du Lac des Oiseaux autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps	110
Tableau 4.12. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45µm) Du Lac autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps	111
Tableau 4.13. Variation des nombres des cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du lac autoclavés et non autoclavés en fonction du temps	112
Tableau 4.14 : Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' <i>Escherichia coli</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station	114
Tableau 4.15. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' <i>Enterobacter agglomerans</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station	115
Tableau 4.16. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de <i>Klebsiella oxytoca</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station	116
Tableau 4.17. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>) additionnées chacune à 0.5ml d'eau filtrée du lac du point de prélèvement	117
Tableau 4.18. Source de contamination selon le Ratio CF/SF (Borrego et Romero, 1982)	123

Liste des figures

Figure.1.1. La réserve naturelle du Lac des Oiseaux	10
Figure.1.2. Le complexe de zones humides de la Numidie orientale (Houhamdi 2002)	10
Figure. 1.3. Situation géographique de la commune Lac des Oiseaux	11
Figure. 1.4. Le Lac des Oiseaux (Houhamdi 1998)	14
Figure. 1.5. Carte des sols du Lac des Oiseaux (Joleaud 1936)	21
Figure. 1.6. Coupe géologique du Lac des Oiseaux à partir des coupes géologiques méridiennes de la région d'El-Kala	21
Figure.1.7. Situation de la Numidie orientale dans le climagramme d'Emberger	25
Figure.1.8. Diagramme ombro-thermique de la région d'El Kala	25
Figure. 1.9. Cartographie de la végétation du Lac des Oiseaux (Houhamdi 1998)	27
Figure .2.1 . Photo de <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	43
Figure.2.2. Cycle de <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> (Lansing,2003)	48
Figure.3.1. Galerie avant incubation	78
Figure.3.2. Mode opératoire de l'analyse bactériologique de l'eau du Lac des Oiseaux	82
Figure.3.3. Détermination du pouvoir bactériolytique de l'eau du Lac des Oiseaux	87
Figure.3.4. Détermination du pouvoir bactéricide de l'eau du Lac des Oiseaux	87
Figure.3.5. Etude du rôle de <i>Bdellovibrio</i> dans la lyse des Entérobactéries	88
Figure.4.1. Variations de la température de l'eau du Lac des Oiseaux	91
Figure.4.2. Variations spatio-temporelles des pH de l'eau du Lac des Oiseaux	92
Figure.4.3. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Lac des Oiseaux	93
Figure.4.4. Variations de la salinité de l'eau du Lac des Oiseaux	93
Figure.4.5. Variations des teneurs de l'oxygène dissous (%) de eau du Lac des Oiseaux	95
Figure.4.6. Variations des teneurs de l'oxygène dissous (en mg/l) de eaux du Lac des Oiseaux	95
Figure.4.7. Variations spatio-temporelles de la demande biochimique en oxygène DBO ₅ dans l'eau du Lac des Oiseaux	96
Figure.4.8. Variations des concentrations de PO ₄ ⁻³ dans l'eau du Lac des Oiseaux	97
Figure.4.9. Variations des teneurs d'ammonium dans l'eau du Lac des Oiseaux	98
Figure.4.10. Variations des teneurs des nitrites dans l'eau du Lac des Oiseaux	99
Figure.4.11. Variations des teneurs des nitrates dans l'eau du Lac des Oiseaux	100
Figure.4.12. Evolution des germes totaux dans l'eau du Lac des Oiseaux	101
Figure.4.13. Evolution des coliformes totaux dans l'eau du Lac des Oiseaux	102
Figure.4.14. Evolution des coliformes fécaux dans l'eau du Lac des Oiseaux	103
Figure.4.15. Evolution des Streptocoques fécaux dans l'eau du Lac des Oiseaux	104
Figure.4.16. Aspect microscope des colonies des Clostridies sulfito-réductrices sur milieu VF	105
Figure.4.17. Vue sous le microscope optique de la coloration de Gram de quelques souches bactériennes isolée	107
Figure.4.18. Galerie biochimique Api 20 E d' <i>E. coli</i>	108
Figure.4.19. Galerie biochimique Api 20 E de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	108
Figure. 4.20. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du Lac des Oiseaux autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps	110
Figure.4.21. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45µm) du Lac autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps	111
Figure. 4.22. Variation des nombres des cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du lac autoclavés et non autoclavés en fonction du temps	112
Figure.4.23. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' <i>Escherichia coli</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station en fonction du temps	114
Figure .4.24. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' <i>Enterobacter agglomerans</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station	115

Figure.4.25. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de <i>Klebsiella oxytoca</i> additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station	116
Figure.4.26. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>) additionnées chacune à 0.5ml d'eau filtrée du lac du point de prélèvement	117
Figure.4.27. Formation des plages de lyse sur le tapis d' <i>Escherichia coli</i> durant les Sept jours (troisième purification)	119
Figure. 4.28. Formation des plages de lyse sur le tapis d' <i>Enterobacter agglomerans</i> durant les sept jours (troisième purification)	120
Figure.4.29. Formation des plages de lyse sur le tapis de <i>Klebseilla</i> durant les six jours (troisième purification)	121

Introduction

L'homme a sans cesse transformé son environnement. La croissance économique et démographique de ces trente dernières années a bouleversé la nature souvent de façon néfaste et irréversible comme jamais auparavant.

Jean-Baptiste Lamarck a déjà noté, dans son *Système analytique des connaissances positives de l'homme* (1820): « *L'homme, par son égoïsme trop peu clairvoyant pour ses propres intérêts, par son penchant à jouir de tout ce qui est à sa disposition, en un mot, par son insouciance pour l'avenir et pour ses semblables, semble travailler à l'anéantissement de ses moyens de conservation et à la destruction même de sa propre espèce* ».

Aujourd'hui, la conservation de la nature est devenue une nécessité de la société contemporaine. La problématique environnementale a priori vaste, récente pour beaucoup et surtout difficile à cerner, s'inscrit alors dans un défi de société qui s'accompagne forcément d'un déficit scientifique (Sayad, 2008).

Les zones humides, espaces de transition entre la terre et l'eau, constituent un patrimoine naturel exceptionnel. Cette exception ne tient pas à leur superficie globale qui représente 6% des terres émergées soit environ 1,5% de la planète (Mitsch et Gosselink, 1993), mais à leur richesse et à leur diversité biologique. Elles fournissent l'eau et les aliments à d'innombrables espèces de plantes et d'animaux en jouant le rôle d'infrastructures naturelles irremplaçables.

Ces écosystèmes caractérisés par une dynamique et un fonctionnement singuliers, rencontre de très graves menaces qui se généralisent en des :

- Détériorations suivies de méfaits sur le milieu environnemental.
- Épuisements des ressources naturelles.
- Pollutions de leurs eaux, qui représentent une préoccupation majeure.

Les dernières décennies ont été marquées par la régression des zones humides dans le monde entier ce qui a suscité de nombreux programmes scientifiques ou de conservation à l'origine de réglementations spécifiques internationale, (Barnaud, 1997). Les récentes catastrophes climatiques confirment la nécessité de préserver les zones humides qui subsistent, restaurer celles qui menacés de disparaître aussi en raison de leur utilité démontrée.

La convention de Ramsar (également appelée convention sur les zones humides) est un traité intergouvernemental qui fut adoptée en 1971 et entré en vigueur en 1975. Son objectif, la conservation et l'utilisation rationnelle des zones humides comme moyens de parvenir au développement durable de ces écosystèmes dans le monde entier. C'est le seul traité mondial sur l'environnement qui soit consacré à un écosystème particulier.

L'Algérie abrite une gamme de zones humides très diversifiées : lacs, lagunes, marais, sebkhas,.....etc. L'adhésion de l'Algérie à cette convention a été effective en 1984 avec l'inscription de deux sites d'importance internationale : le Lac Tonga et le Lac Oubeira situés tous deux dans le complexe de zones humides d'El Kala.

Le Lac des Oiseaux, a rejoint la liste en février 1999. Cet écosystème lacustre tire son nom du grand nombre d'oiseaux migrateurs qui y hivernent. Il s'étend sur 70 hectares au maximum en hiver (Boumezbeur, 2001).

Actuellement, cet écosystème lacustre servant d'exécutoire aux rejets urbains (les rejets en eaux usées on doublé 30.65l/s (DSA El-Taref 2006), agricoles et industriels enrichies de différents polluants chimiques, d'agent pathogènes menacent l'intégrité écologique de cet hydrosystème et sur le bien-être des humains et des espèces animales et végétales qui en dépendent.

La dépollution des eaux, de ces micro-organismes et des éléments physico-chimiques qui les sursaturent reste un problème énorme en sante publique. En effet, une surcharge minérale et organique corrobore avec une prolifération bactérienne intense qui diminue naturellement dans le temps. Cette qualité propre à ces milieux est qualifiée de capacité d'auto-épuration.

Ceux qui se sont amenés à étudier les degrés de contaminations des écosystèmes aquatiques par les microorganismes connaissent alors à l'eau un pouvoir auto-épurateur qui est resté depuis longtemps attribué aux virus et aux phages (Boukroune ,2008). Ce pouvoir hypothétique a été révélé depuis la fin des années 1980 par des chercheurs qui ont isolé une micro-bactérie prédatrice nommée *Bdellovibrio bacteriovorus* (Stolp.et Petzold, 1962).

Elles a la taille d'un virus et d'ailleurs infecte à la manière de ce dernier les bactéries (Gram positif et Gram négatif) dès que leur taux s'élevé au delà d'un seuil admissible.

Nous projetons dans ce travail de contribuer à :

- Estimer d'abord le degré de contamination chimique et biologique de l'eau de l'écosystème lentique : Lac des Oiseaux.
- Isoler cette bactérie micro-prédatrice de l'eau de cet écosystème lacustre pollué.
- Elaborer une méthode qui servira à l'identification rapide de *Bdellovibrio bacteriovorus* du fait que c'est une bactérie non cultivable.
- Etudier et vérifier son pouvoir lytique vis-à-vis de nombreux micro-organismes isolés de l'eau du même lac.

Chapitre I

1. Les zones humides

1.1. Définition:

Au niveau international, la Convention de Ramsar du 2 février 1971, considère comme zones humides :

«Les étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres» (Boumezbeur, 2001).

La définition adoptée par l'union européenne en 1992 (de la loi sur l'eau française) est plus restrictive et permet une différenciation plus nette vis-à-vis des écosystèmes marins et fluviaux :

« On entend par zone humide les terrains exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année».

Une autre notion a été ajoutée par (Barnaud, 1991). Il s'agit de la biodiversité :

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

1.2. Les fonctions des zones humides :

1.2.1. Fonction hydrologique :

Les zones humides jouent un rôle capital dans le maintien des réseaux hydrologiques
Elles :

- ❖ Contribuent à l'atténuation de l'effet des crues et donc un contrôle des inondations par le jeu de la variation de surface de la zone humide et alimentent des aquifères pendant la saison sèche.
- ❖ Permettent de maintenir le niveau des nappes souterraines (Sayad, 2008).

1.2.2. Epuration naturelle :

Les plantes et les sols des zones humides jouent un rôle crucial en épurant l'eau. De grandes quantités de matières nutritives, telles que le phosphore et l'azote qui proviennent de la nappe et les cours d'eaux, selon les processus suivants :

- Sédimentation.
- Dénitrification.
- Absorption (elles neutralisent les eaux usées par absorption de leurs contaminants).

Ainsi, elles jouent le rôle d'un tampon (interception et rétention de phosphore et des métaux) et d'épurateur vis-à-vis de l'azote (Sayad, 2008).

1.2.3. Biodiversité :

Les zones humides en général hébergent une diversité et une richesse incroyable d'espèces. Bien que les écosystèmes d'eau douce ne couvrent qu'un pour cent de la superficie terrestre, ils contiennent plus de 40 pour cent des espèces de la planète et 12 pour cent de toutes les espèces animales.

1.2.4. Les fonctions climatiques :

Les zones humides participent aussi à la régulation des microclimats. Les précipitations et la température atmosphérique peuvent être influencées localement par les phénomènes d'évaporation intense d'eau au travers des terrains et de la végétation (évapotranspiration) qui caractérisent les zones humides [1].

Du point de vue des changements climatiques, les zones humides jouent au moins deux rôles qui, pour être différents, n'en sont pas moins vitaux: d'une part, dans la gestion des gaz à

effet de serre (en particulier le dioxyde de carbone) et, d'autre part, en tamponnant concrètement les effets des changements climatiques [2].

1.2.5. Stabilisation et protection des sols :

La végétation des zones humides adaptée à ce type de milieu fixe les berges, les rivages, et participe ainsi à la protection des terres contre l'érosion.

1.2.6. Aspect paysager et touristique :

Les zones humides, par leur beauté naturelle ainsi que par la diversité de la vie animale et végétale que l'on y trouve, sont des destinations touristiques idéales.

Il apparaît que les fonctions écologiques et valeurs économiques des zones humides sont intimement liées: que l'on touche à l'une des composantes, et c'est le rôle de l'ensemble qui risque d'être perturbé. De ce fait, leur gestion doit être conçue de manière intégrée dans le cadre de projets de développement durable et d'aménagement raisonné.

2. Généralités sur la Numidie :

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

La Numidie orientale délimitée dans sa partie occidentale par l'Oued Seybouse, a pour limite septentrionale la Méditerranée et pour limite méridionale les collines de l'Atlas téllien, tandis que les frontières algéro-tunisiennes la délimitent à l'Est. Cette région de l'Algérie renferme un grand nombre de sites humides exceptionnels au Maghreb par leurs dimensions et notamment par leur diversité (profondeur, salinité) (Houhamdi, 1998).

Cependant grâce à cette diversité des écosystèmes marins, lacustres et forestiers qui renferment une richesse animale et végétale élevée, une superficie de 76438 ha de cette région jouit d'une protection légale (décret N° 83458) et ce depuis le 23 juillet 1983 sous le nom de parc national d'El-Kala (PNEK). Le Lac des Oiseaux a été érigé site Ramsar en avril 1999.

Les zones humides de la Numidie orientale occupent une superficie de 156000 ha et constituent le complexe humide le plus diversifié de l'Algérie (Fig. 1.2). Elles sont constituées principalement de:

- ✓ Deux marais, le marais de la Mekhada (10 000 ha) et le marais de Bourdim (25 ha).
- ✓ Un lac endoreique ouvert, le Lac Oubeïra (2 600 ha).
- ✓ Un lac exoréique assimilable à un écosystème palustre, le Lac Tonga (2 400 ha).
- ✓ Une lagune, le Lac Mellah (873 ha).
- ✓ Trois petits lacs, le Lac des Oiseaux (70 ha), le Lac Noir qui a complètement disparu et le Lac Bleu (2 ha).

Chacun de ses sites présente des particularités de profondeur, de salinité et de couverture végétale très distinctes et très caractéristiques (Houhamdi, 1998).

3. Les principaux sites humides de la Numidie :

3.1. Le marais de la Mékhada :

Avec ses 10000 ha le marais de la Mékhada constitue après le Lac Fetzara (15 000 ha) le deuxième site humide de l'Algérie. Il présente une salinité voisine de 4.6g/l et une profondeur moyenne de 1 m (Morgan, 1982).

Cette étendue d'eau caractérisée par ses assèchements annuels entre le mois de juin et le mois de novembre, présente une végétation très diversifiée recouvrant plus de 90% du marais. Le cortège floristique du site est constitué principalement de scirpes (*Scirpus lacustris* et *S. maritimus*), phragmites (*Phragmites australis*), typhas (*Typha angustifolia*), glycéries, myriophylles (*Myriophyllum spicatum*), *Nitella sp*, *Alisma plantago aquatica*, *Zanichellia sp*, *Lemna minor*, *Ranunculus baudotii*. Autour du marais *Cynodon dactylon*, *Paspalum distichum*, *Bellis annua* et *B. repens*. 5000 canards ont été recensés durant l'année 1977 et 8000 durant l'année 1978 (Houhamdi, 1998).

Pendant le mois de décembre 2 000 nous avons recensé un effectif voisin de 40 000 oiseaux d'eau, constitué principalement de Fuligule Morillon, Fuligule Milouin, Sarcelle d'hiver,

Canard Colvert, Canard Souchet et Canard Siffleur. Enfin quatre nichées d'Erismature à tête blanche ont été observées durant le mois de juillet 1992 (Boumezbeur, 1993).

3.2. Le marais de Bourdim :

Cette étendue d'eau est entièrement encerclée d'une frênaie mélangée avec des aulnes et des saules. Elle s'étale sur une superficie de 25 ha dont la partie centrale est dominée par des nénuphars blancs *Nymphaea alba*, de franges de renouées d'eau avec des touradons de laïches. Ce marais est surtout réputé pour sa héronnière à Héron garde bœuf sur les aulnes et les saules (Houhamdi, 2002).

3.3. Le Lac Oubeïra (site Ramsar) :

Le Lac Oubeïra (36°50'N, 08°23'E) et une altitude moyenne 25m, est une étendue d'eau douce qui s'étale sur une superficie de 2 600 ha avec une profondeur maximale de 2 m (MORGAN 1982). Le périmètre du plan d'eau est de l'ordre de 19,75km. Son bassin versant couvre 125km² dont 85km² de terrains plats et 40km² de collines de basses altitudes, la densité du drainage est de 106km/km².

Le lac est entouré par une ceinture de végétation très diversifiée; sur le bassin versant du plan d'eau nous observons principalement le chêne liège, le peuplier noir, le plan d'eau est réputé pour sa châtaigne d'eau *Trapa natans* qui donne une couleur rouge caractéristique. Ce lac constitue un site d'importance unique en Afrique du Nord pour le Fuligule Morillon et le Canard Chipeau (Houhamdi, 1998).

Le lac a été classé site Ramsar en 1982 et classe réserve intégral au sein du Parc National d'El Kala reconnu lui-même réserve de la biosphère par L'UNESCO en 1990 en raison de la diversité et la densité des populations ornithologiques y afférentes.

3.4. Le Lac Tonga (site Ramsar) :

Le Lac Tonga (36°53'N, 08°31'E) et une altitude moyenne 2,20m ; un lac de type palustre d'eau douce s'étale sur une superficie de 2 400 ha (ABBACI 1999), avec un périmètre de 23km (basse eaux) et une profondeur voisine de 2,80m (Sayad, 2008).

Son bassin versant est plus important a celui de l'Oubeira s'étend sur 165km² avec une densité de drainage égale a 209km/km², et alimenté d'une part par de nombreux affluents secs en été tout au long des rives Ouest et Sud et d'autre part à l'Est et au Nord Est par des oueds et deux sous bassins versants, celui d'Oued El-Hout au Sud et par l'Oued El-Eurg au Nord-est ce dernier est aujourd'hui canalisé directement vers la Méssida.

Au Nord, nous remarquons l'Oued Messida l'exutoire du Tonga qui permet d'évacuer l'excès d'eau vers la Méditerranée. Le plan d'eau joue un rôle important dans la maîtrise des crues. La végétation du Lac Tonga est très diversifiée (Houhamdi, 2002) ,14 groupements émergents et 82 espèces dont 32 classées rares, comme : *Marsilea diffusa*, *Ultricularia exulta*.

Le site est caractérisé aussi par une faune remarquable :

Mammifère : la loutre *Lutra lutra*, et le Cerf de Barbarie *Cervus elaphus barbarus*, espèce endémique de l'Algérie et de la Tunisie.

Les oiseaux d'eau : le lac est un site de nidification d'un grand nombre d'espèces à l'instar de canards, d'oies, rallidés, limicoles et autres (Kadid, 1989) (Chalabi, 1990).

Le lac a été classé site Ramsar en 1982 et réserve de la biosphère en 1990.

3.5. Le Lac Mellah :

Le Lac Mellah (36°53'N, 8°20'E) qui en réalité une lagune de 864 ha. Le lac doit son nom à la salinité relative (voisine de 8.5 g/l) de ses eaux du fait de son contact direct avec la mer grâce à un chenal artificiel long de 900m. Son périmètre en basses eaux est de 15,63km avec profondeur maximale de 6m.

C'est un site de richesse étonnante (220 espèces phytoplanctoniques et 50 taxons zooplanctoniques) car il dispose en plus des apports aquatiques maritimes, des sources de montagnes. Un bassin versant couvre 82,5km², formé essentiellement par Oued Bouaroug et Oued Mellah (Morgan, 1982).

Deux flores algales sont rencontrées habituellement dans le lac, les Destimidiés près des oueds et les Myxophycées et les Diatomées loin des oueds. La végétation du lac est peu diversifiée. Elle est réduite à une ceinture de *Juncus maritimus*.

Le lac a été classé site Ramsar en 1983.



Fig. 1.1. La réserve naturelle du Lac des Oiseaux.

10m

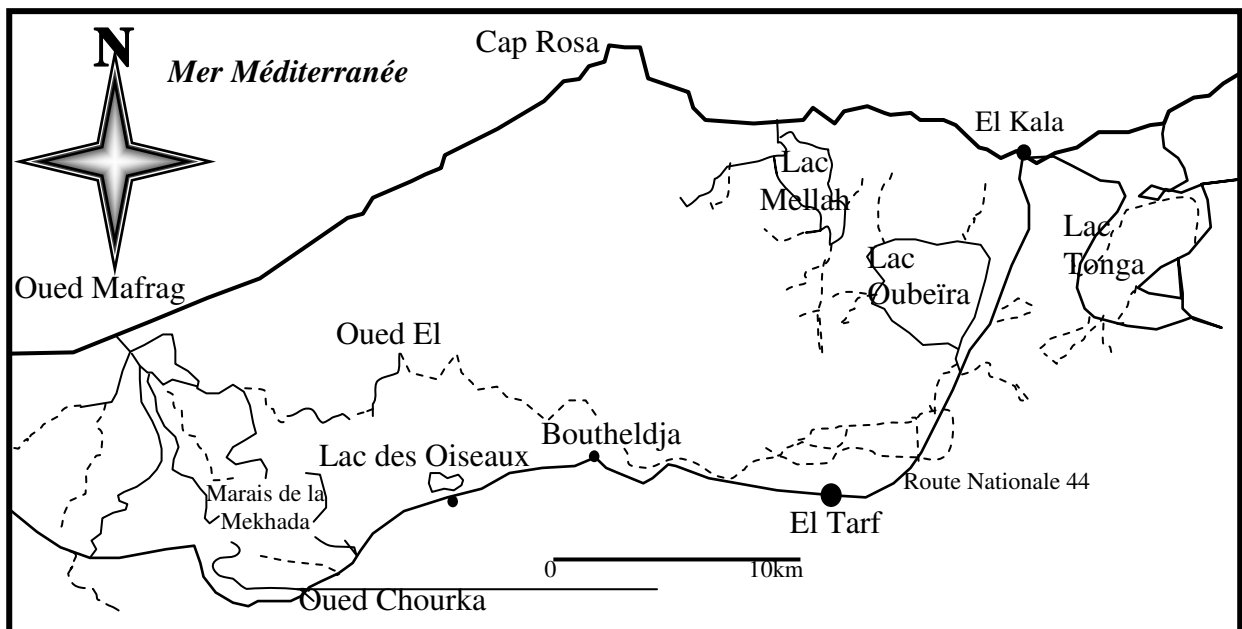


Fig.1.2. Le complexe de zones humides de la Numidie orientale (Houhamdi 2002)

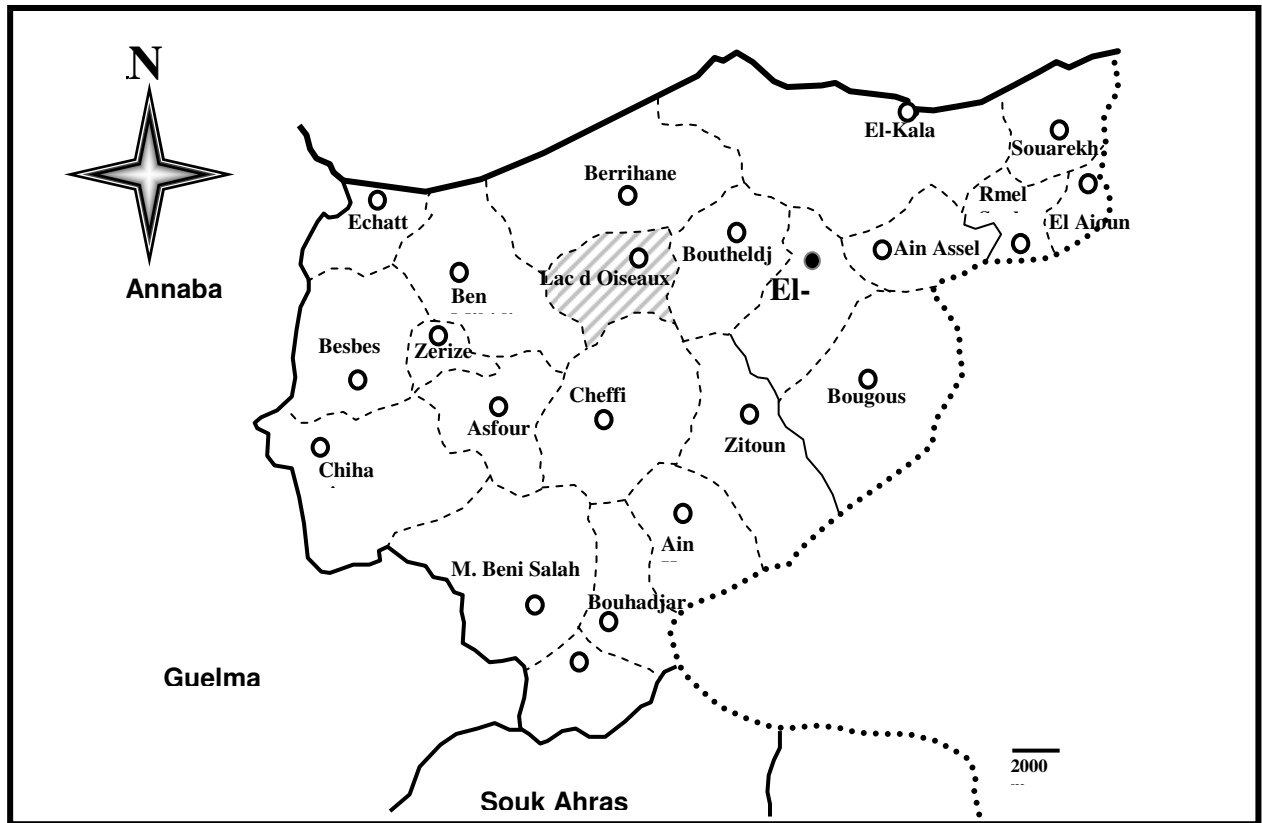


Fig. I.3. Situation géographique de la commune Lac des Oiseaux

Source: Direction des services agricoles de la wilaya d'El-Tarf in Houhamdi 2002

4. Présentation du site d'étude «Le Lac des Oiseaux» :

4.1. La commune :

La commune «Lac des Oiseaux» est rattachée administrativement à la wilaya d'El-Tarf dont elle est distante de 25 km du chef lieu. Elle se trouve sur les bords de la route nationale 44 (RN 44) à 45 m à l'Est de la ville d'Annaba et à 45 km à l'Ouest de la ville d'El-Kala. Elle est limitée (fig 1.3) :

- Au Nord par la commune de Berrihane
- Au sud par la commune de Cheffia
- A l'Est par la commune de Boutheldja
- A l'ouest par la commune de Ben M'Hidi

Comme toute la région d'El-Kala, la commune «Lac des Oiseaux» présente la particularité d'être insérée dans une rupture nette entre deux entités naturelles, autrement dit présente un relief de montagne et de basses plaines marécageuses (Houhamdi, 2002). D'une manière générale le relief est modelé de la manière suivante:

- **La partie montagneuse:** «Argilo-gréseuse»:

Djebel Hammoun (352m) se prolonge au sud par une série de crêtes gagnant progressivement de l'altitude pour atteindre enfin 484 m: Djebel Mekefel à l'Est, le massif montagneux s'achève brusquement par la dépression de la vallée de l'Oued Bou-Lathan.

Le massif présente un profil plus ou moins doux, néanmoins vers la partie est du massif, le versant devient abrupt par endroits, la rupture entre plaine et montagne devient nette. La série de lignes des crêtes d'orientation sud-ouest, Nord-Est représente la limite territoriale de la commune et le début du bassin versant qui alimente toute la plaine

- **Les collines:**

Représentées surtout par le mont Nemlia (98m) qui est situé dans la partie nord-est de la commune et qui s'apparente à un îlot dans la plaine.

- **La plaine:**

Elle est considérée comme rassemblant les terrains les plus bas après les eaux de marécages. Elle est de formation Argilo-gréseuse au Sud (Djebel Hammoun) et de type dynamique de marais au Nord (Sebâa).

- **Le territoire marécageux:**

Les eaux stagnantes s'étendent sur une surface globale de 1068 ha Cette surface n'est qu'une partie de la Mekhada qui s'étend sur plusieurs kilomètres. Les surfaces inondables peuvent s'étendre jusqu'aux terrains destinés à l'agriculture (Houhamdi, 2002).

3.2. Activités anthropiques :

Avec une population de 10766habitants et une densité 125hab/km² et un taux d'accroissement 1.9% (DPAT El-Tarf 206) la commune du « Lac des Oiseaux »est une région a vocation strictement agricole. Essentiellement l'agriculture pratiquée est de nature vivrière à l'exception de sa partie sud ou se développe les terrains agricoles morcelés.

La topographie du lac et l'utilisation d'engrais chimiques entraines sa contamination par le biais des eaux de ruissellement et de lessivage.

3.2. Climat :

Le climat qui règne dans la région est le climat méditerranéen avec un hiver doux et pluvieux et un été chaud et humide (Sayad, 2008).

Tab .1.1. Données sur la commune Lac des Oiseaux

commune Lac des Oiseaux			
Superficie (km ²)	85.88	Besoin (m ³ /j)	800
Population (hab.)	10766	Dotation (1/hab. /j)	140
Taux d'accroissement (%)	1.91	Volume d'eau potable distribué (m ³ /j)	690
Densité (hab. /km ²)	125	Déficit (m ³ /j)	110

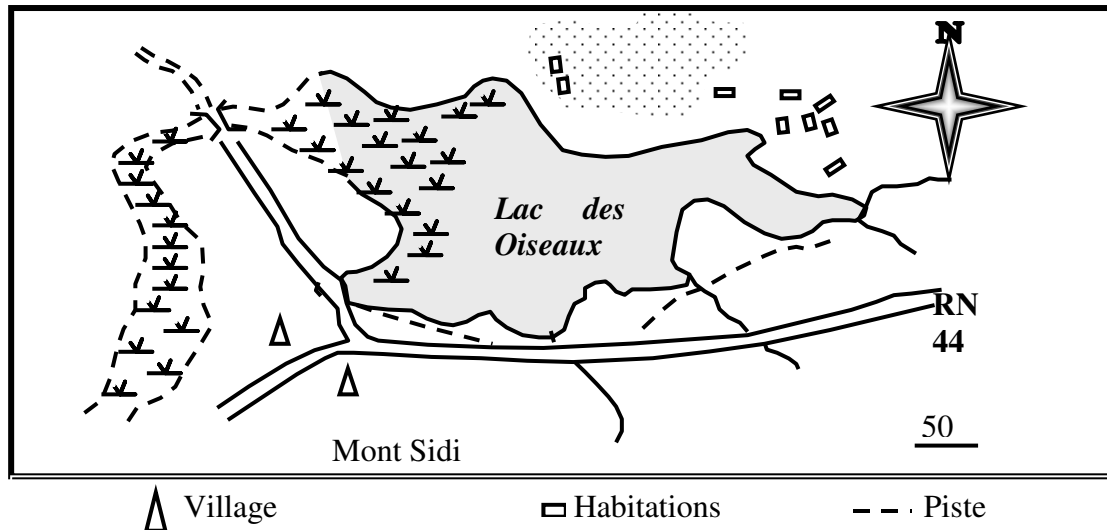


Fig. 1.4. Le Lac des Oiseaux (Houhamdi, 1998)

4.2. Le Lac des Oiseaux (site Ramsar) :

Le Lac des Oiseaux ou Garaat Ettouyour, ($36^{\circ}47'N$ $08^{\circ}7'E$, altitude de 20m). C'est un lac d'eau douce qui doit son nom à sa richesse ornithologique, autrement dit au grand nombre d'oiseaux migrateurs qui s'y hivernent malgré sa taille réduite (0,35km² ou 35 ha) (Sayad, 2008).

Facilement observable par sa situation en bordure de la route nationale 44, il se penche vers Koudait Nemlia au Nord et au Nord-est, et Djbel Bouabed au Sud et au Sud-est, il s'ouvre à l'Ouest sur les terrains marécageux de la Mekhada ou l'excès d'eau du lac est déversé. Il fait partie de la commune du Lac des Oiseaux, Daïra de Boutheldja et wilaya d'El Tarf.

Le lac présente une surface plus ou moins ovale, étirée vers le Nord-Ouest par une queue d'étang caractéristique (Fig. 1.4), de rives faiblement inclinées et de petite profondeur (Houhamdi, 2002).

D'après Joleaud(1936) le lac s'étalait sur une superficie de 150ha avec une profondeur maximale voisine de 2.5m et un dépôt de matière organique allant de 1 à 3cm .mais suite aux diverses pressions exercées sur le lac, il se trouve menacé dans son intégrité écologique. Il occupe actuellement une superficie de 70 ha en période de pluie et 40 ha au maximum en période sèche. Avec un dépôt de matière organique de 20 cm.

Actuellement après des estimations et après des planmétrages à partir d'orthophotoplans, le lac s'étale sur 46 ha avec une surface d'eau libre de 35 ha et une profondeur de 1 m (Houhamdi 1998).

Concernant son régime foncier, le site est réserve domaniale appartenant à l'état, la région voisines est occupée par des terrains agricole privés, de zones de pâturage et d'élevage et de quelques petites agglomérations (Sayad, 2008).

Le Lac des Oiseaux (site Ramsar) qui justifie les critères suivants :

Critère 1 :

Le lac est un bon exemple d'une zone humide représentative, rare et unique de type de zone humide naturelle de la région méditerranéenne se situent dans un complexe de zones humides qui viendrait en troisième position après ceux du Delta de l'Ebre, en Espagne et la Camargue en France.

Critère02 :

Le site abrite, une importante avifaune rare telle que l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala* espèce en voie de disparition sur la liste rouge de l'IUCN, et le fuligule nyroca *Aythya nyroca* et la sarcelle marbrée *Marmaronetta angustirostris* inscrites comme espèces vulnérables sur la liste rouge de l'IUCN.

Critère 3 :

Caractérise le mieux le site. Malgré une superficie réduite, le lac des oiseaux est l'habitat d'une grande diversité faunistique et floristique

Critère 6 :

Le lac abrite plus de 2% des individus de la population mondiale d'Erismature à tête blanche, en 1998 ,164 individus ont été recensés (Maazi, 1991).

4.2.1. Hydrologie :

Les zones humides sont souvent situées dans les points les plus bas des réseaux hydrographiques. Les caractéristiques hydrologiques du lac des oiseaux sont extrêmes variées selon l'origine des eaux, l'importance du flux entrant et le flux sortant, le niveau de l'eau et ses variations.

Ces conditions hydrologiques composent le facteur déterminant des caractéristiques physico-chimiques du Lac des Oiseux. Elles déterminent les apports de matières solides et dissoutes en particulier d'éléments nutritifs parfois de contaminant et leur devenir au sein du lac.

Le réseau hydrologique du lac est très déficient. Les sources qui l'alimentent, en raison des pentes relativement faibles, drainent difficilement les eaux vers la cuvette du lac. De même, plusieurs affluents issus des crêtes du bassin versant et dont les débits sont importants en hiver, drainent leurs eaux vers la cuvette permettant ainsi au Lac des Oiseux d'avoir un bilan hydrique positif sans oublier l'alimentation naturelle par les eaux souterraines (Maazi, 1991).

Ce lac qui ne s'asséchait qu'occasionnellement dans le passé (Morgan, 1982) a connu cinq assèchements majeurs: 1957, 1965, 1992, octobre 1994, et celui du mois d'août 1997.

Durant l'année 2007, la mesure de la profondeur du lac (1m) était élevée pendant la période d'hivernage.

Les données concernant l'hydrologie du lac et son bassin versant estimé à 80320ha nous permettent d'estimer la fragilité du face aux modifications anthropiques du territoire (Sayad, 2008). Le taux de sel qui dépend de climat et essentiellement de la pluviométrie est maximal durant les mois de septembre et octobre et minimale en hiver.

Le niveau d'eau fluctue en fonction des saisons, il atteint son maximum en hiver, puis baisse progressivement à partir du printemps pour atteindre son niveau le plus bas en été (Blondel, 1967).

Un taux de renouvellement adéquat permet de restreindre l'accumulation des nutriments et des charges particulières, ce qui assure une conservation accrue de l'écosystème.

Le régime hydrique du Lac des Oiseux est peu documenté par contre, en tenant compte de la pluviométrie moyenne annuelle (700mm) ainsi que la superficie du bassin versant et du lac. Le taux de renouvellement des eaux est très faible, ce qui le rend vulnérable à l'eutrophisation.

Les paramètres relatifs à l'hydrologie du lac et de son bassin versant sont présentés au tableau suivant (Tab .1.2)

Tab .1.2. Paramètre morphométriques du Lac des Oiseaux

Paramètre	Valeur	Méthode	Signification
Altitude(m) moyenne	04	Carte topographique (Boutheldja 1/25000)	Altitude par rapport au niveau de la mer
Superficie (S)	0.35km ²	Planimétrage orthophotoplans	Superficie du plan d'eau
Périmètre	3.74 km	Carte topographique (Boutheldja 1/25000)	Périmètre de rivage
Longueur maximale (L)	0.37 km	Carte topographique (Boutheldja 1/25000)	Longueur maximale sans quitter l'eau
Indice de développement du paramètre (Dp)	1.78	$Dp = p/2$ I.I.S	Degré de sinuosité d'un rivage
Profondeur maximale (Z)	2.0	Houhamdi ,2002	Profondeur maximale de la colonne d'eau
Profondeur moyenne (Zm)	1.10	Houhamdi, 2002	Profondeur moyenne de la colonne d'eau
Volume du lac (V)	385,10 ³ m ³	$V=S.Zm$	Volume calculé du plan d'eau

4.2.2 Pédologie :

Le Lac des Oiseaux est constitué principalement de deux types de sols (figure 1.5) :

Sol zonal :

Très dépendant du climat, constitué de deux catégories :

- ✓ Les sols insaturés acides.
- ✓ Les sols podzoliques.

Les premiers sont formés sur des roches mères non acides (argile de Numidie) alors que les seconds sont formés sur des roches mères perméables.

Sol azonal :

Est constitué de trois catégories :

- ✓ Les sols des marais.
- ✓ Les sols hydromorphes (Gyttga).
- ✓ Les sols des prairies marécageuses.

Les premiers très argileux sont concentrés dans la cuvette du lac, sur lesquels se développent *Typha angustifolia*, *Lythrum junceum* et *Paspalum distichum*. Ils sont rarement exondés mais ils sont humides dès les premiers cm de leurs horizons.

Les sols hydromorphes sont caractérisés par la présence d'une nappe d'eau libre et donc déficit en air et en oxygène. Cela se traduit par des processus de réduction du fer et du manganèse en période sèche.

Tandis que les sols des prairies marécageuses sont caractérisés par un assèchement de leurs horizons supérieurs (Rehahli, 2008).

4.2.3. Géologie :

Afin de comprendre mieux la géologie de la zone d'étude, il convient de décrire la géologie de la région, les études de (Joleaud 1936) dans ce domaine ont montrées qu'à part la plaine de Annaba ou les terrains quaternaire affleurent le reste du domaine est marqué par l'existence des grés numidien qui occupent l'ensemble des massifs. Seuls les bassins montrent des affleurements de roches tendres des unités telliennes ou massyliennes ou mauritaniennes.

4.2.3.1. Stratigraphie :

La stratigraphie de l'extrême Nord-Est révèle des formations géologiques qui datent du secondaire au quaternaire récent.

Le Secondaire :

Le Secondaire affleure à l'Est de la région dans les monts de cheffia, à Cap Rosa (crétacé supérieur), il est représenté par des marnes, marno-calcaires et des schistes légèrement argileux avec des intercalations de calcaire (Sayad, 2008).

Le Tertiaire :

Il est largement représenté par des formations gréso-argileuse du numidien .la formation gréso-argileuse est constituée à sa base d'argiles et de marnes très épaisses dépassant 200m, disséminées sur l'ensemble de la cuvette.

Au Sud, la formation est surnotée de séries mixtes d'alternance d'argiles et de bancs gréseux durs parfois grossiers perméables et érodés. Par endroit ces grés affleurent sous forme de grands bancs de quelques mètres formant les différentes crêtes visibles (Koudiet Netnlia) sur les quelles passent la ligne de partage des eaux de surface.

Le Quaternaire :

Le quaternaire est l'ère des systèmes lagunaires et des lacs, Joleaud (1936) et Villa (1980) font apparaître dans l'extrême Nord-Est algérien les traits essentiels du quaternaire, on y distingue :

Le Quaternaire ancien :

Caractérisé par l'affaissement du littoral de la région d'Annaba –El Kala. Il est constitué par des alluvions situées de 150à100m d'altitude au dessous de la seyhouse.

Le Quaternaire moyen :

Ces formations sont bien développées le long des versant des oueds marque généralement par des matériaux alluvionnaires, des limons et des cailloux.

Le Quaternaire récent :

Il est caractérisé par la lagune marine du lac Mellah et les autres dépressions marécageuses : le lac Oubeira, le lac Tonga et le Lac des Oiseaux ainsi que par les sables des dunes littorales d'Annaba.

Le Quaternaire actuel :

Il constitue les lits des oueds par des dépôts alluvionnaires (sables, cailloux.....) et les plages actuelles formées par des sables d'origine marine.

4.2.3.2. Interprétation des coupes géologiques :

Coupe géologique dans la plaine de Boutheldja :

Cette coupe montre une dépression entre les collines (Koudiet Ech Nanit) au Nord-Est et Koudiet El Mouhguen au Sud-Ouest.

Les reliefs sont formés par des grès numidiens et subissent le même pendage. La couverture de la dépression est constituée essentiellement par les alluvions d'âge quaternaire.

Coupe géologique dans la plaine d'El-Tarf :

D'orientation Sud-Ouest - Nord-Est, la nappe numidienne est formée par des argiles d'âge Oligocène moyen à supérieur et des grès de l'Aquitainien (fig 1.6)

Ainsi, l'étude géologique de la région a permis d'envisager la prédominance de deux grands ensembles morphologiques :

- La nappe numidienne : caractérisée par la succession croissante d'argiles sous numidiennes, grès numidien et des argiles supra numidiennes et qui longe tous les monts et collines de la région.
- Les formations récentes d'âge quaternaire qui remplissent les bas fonds des collines et les zones plates.

Du point de vue hydrologique, les zones aquifères se localisent évidemment dans les formations récentes (Sayad, 2008).

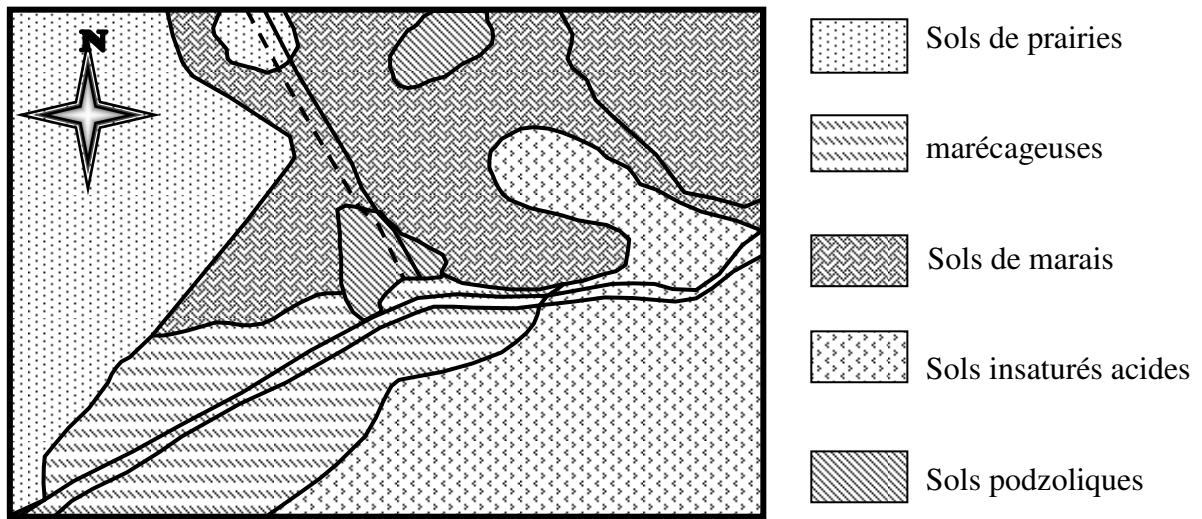


Fig. 1.5. Carte des sols du Lac des Oiseaux (Joleaud, 1936)

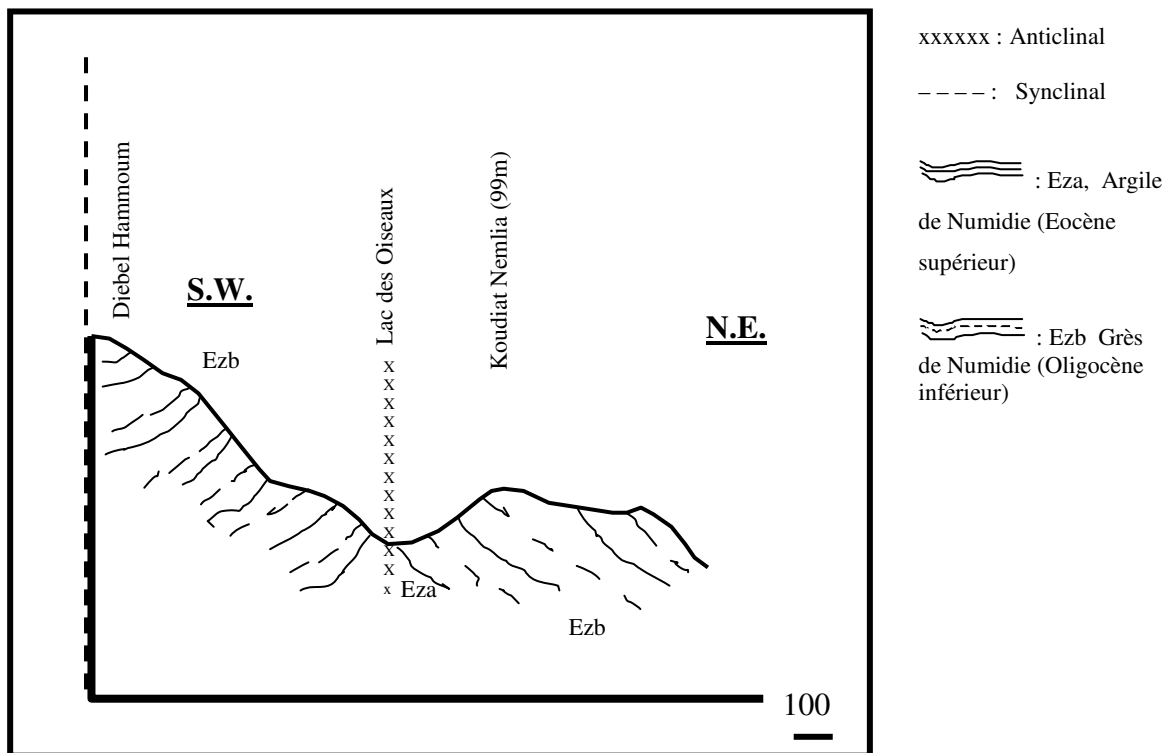


Fig. 1.6. Coupe géologique du Lac des Oiseaux à partir des coupes géologiques méridiennes de la région d'El-Kala (JOLEAUD 1936)

4.2.4. Climatologie :

Le climat est un facteur abiotique important dans l'étude de la typologie et le fonctionnement d'un milieu naturel (Fustec et Lefeuvre, 2000), il nous permet de déterminer les composants et les caractéristiques de ce dernier, Il a une influence directe sur la faune et la flore Un climat méditerranéen règne sur la région caractérisé par une pluviométrie abondante pendant la saison humide et les mois froids et par une sécheresse pendant l'été . (Houhamdi M, 1998).

Les facteurs climatiques : les principaux facteurs sont

- **Les Précipitations :**

Les précipitations sont un facteur fondamental qui caractérise le climat d'une région et joue un rôle essentiel dans son comportement hydrologique, c'est un élément important du bilan hydrique. Les précipitations sont régulées par trois autres facteurs : l'altitude, la longitude (elles augmentent de l'ouest vers l'est et la distance à la mer).

L'analyse des données récoltées de la station météorologique d'El-Kala (36°54'N, 08°27'E) sur une période de 9 ans allant de 1997 à 2006 montre que les maximums de précipitation sont enregistrés pendant le mois de décembre tandis que les minimums de précipitation sont enregistrés durant la période estivale pendant le mois de juillet.

- **La Température :**

La température est un facteur primordial dans l'étude du fonctionnement du cycle de l'eau. Ainsi par ses effets sur la végétation aquatique (pouvoir d'évapotranspiration) permet le développement d'espaces envahissantes (Sayad, 2008). La température dépend de l'altitude, de la distance du littoral et de la topographie.

Les données de température sont opposées aux données de précipitation. Donc les minimums (6°C) sont enregistrés pendant les mois de janvier et Février alors que les maximums sont alors notes pendant les mois de juillet et d'août (32°C) pour la région d'El- Kala.

- **L'Humidité :**

C'est un paramètre remarquablement particulier à la région. Les formations marécageuses et lacustres, la proximité de la mer et la présence d'une couverture forestière intense entretiennent une humidité considérable dont le maximum est atteint au mois de janvier 77.36%. Elle est donc invariable au cours de l'année

- **Le Vent :**

Le Lac des Oiseaux est très exposé aux vents, les vents dominants du Nord-Ouest, avec une vitesse moyenne variant de 13.80 km/h, véhiculent les précipitations les plus importantes venues de l'atlantique. A l'opposé les vents Sud –Est (le Sirocco) assèchent l'atmosphère et favorisent avec les températures élevées les incendies de forêts (Rehahli, 2008).

Tab. 1. 3. Données météorologique de la région d'El Kala (1997-2006)

Mois	Précipitation Moyennes (mm)	Température (C°)			Humidité moyenne (%)	Fréquence moyenne vents (Km/h)
		Moyenne	Max	Min		
Janvier	85.19	10.96	16.15	6.66	77.36	13.86
Février	64.16	11.27	16.60	6.49	76.94	14.26
Mars	35.77	13.63	19.41	8.11	73.82	13.73
Avril	52.09	15.64	21.50	9.86	72.99	13.94
Mai	38.00	19.02	24.62	13.28	74.00	13.13
Juin	7.14	23.00	28.99	16.78	69.48	13.77
Juillet	2.46	25.39	31.20	19.26	68.86	14.58
Août	13.29	26.02	31.84	20.14	69.01	14.01
Septembre	52.15	23.38	29.07	18.07	72.42	13.36
Octobre	43.69	20.63	27.08	15.08	72.18	12.40
Novembre	107.47	15.89	21.57	11.22	75.94	13.69
décembre	133.42	12.17	17.39	7.84	77.49	14.66

Source : Station météorologique d'El Kala (1997-2006), (Touati, 2008)

Bioclimat :

Climagramme d'Emberger :

En 1955, Emberger a classé les climats méditerranéens en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la température. (Figure 1.7)

$$Q2 = \frac{P1000}{(M+m) \frac{1}{2} \times (M-m)}$$

Q2 = quotidien pluviométrique

P = précipitations moyennes annuelles

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

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

Le quotidien pluviométrique de la région d'El Kala Q2=103.71. La Numidie est localisée dans l'étage bioclimatique sub-humide à hiver chaud.

Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gausson :

Pour l'élaboration du diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gausson (1957), nous avons tenu compte des données climatique bien précises qui sont les précipitations annuelles et les températures moyennes étalées sur plusieurs années des deux stations. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide. Les courbes ombro-thermiques ainsi, établies, nous ont permis de visualiser deux saisons distinctes (figure 1.8):

Une saison sèche de mai à septembre

Une saison humide d'octobre à avril (Touati, 2008).

Ainsi l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux constitue une protection contre les inondations. C'est un véritable espace d'expansion des crues en hiver. Il contribue au soutien d'étiage très précieux en période de sécheresse (Sayad, 2008).

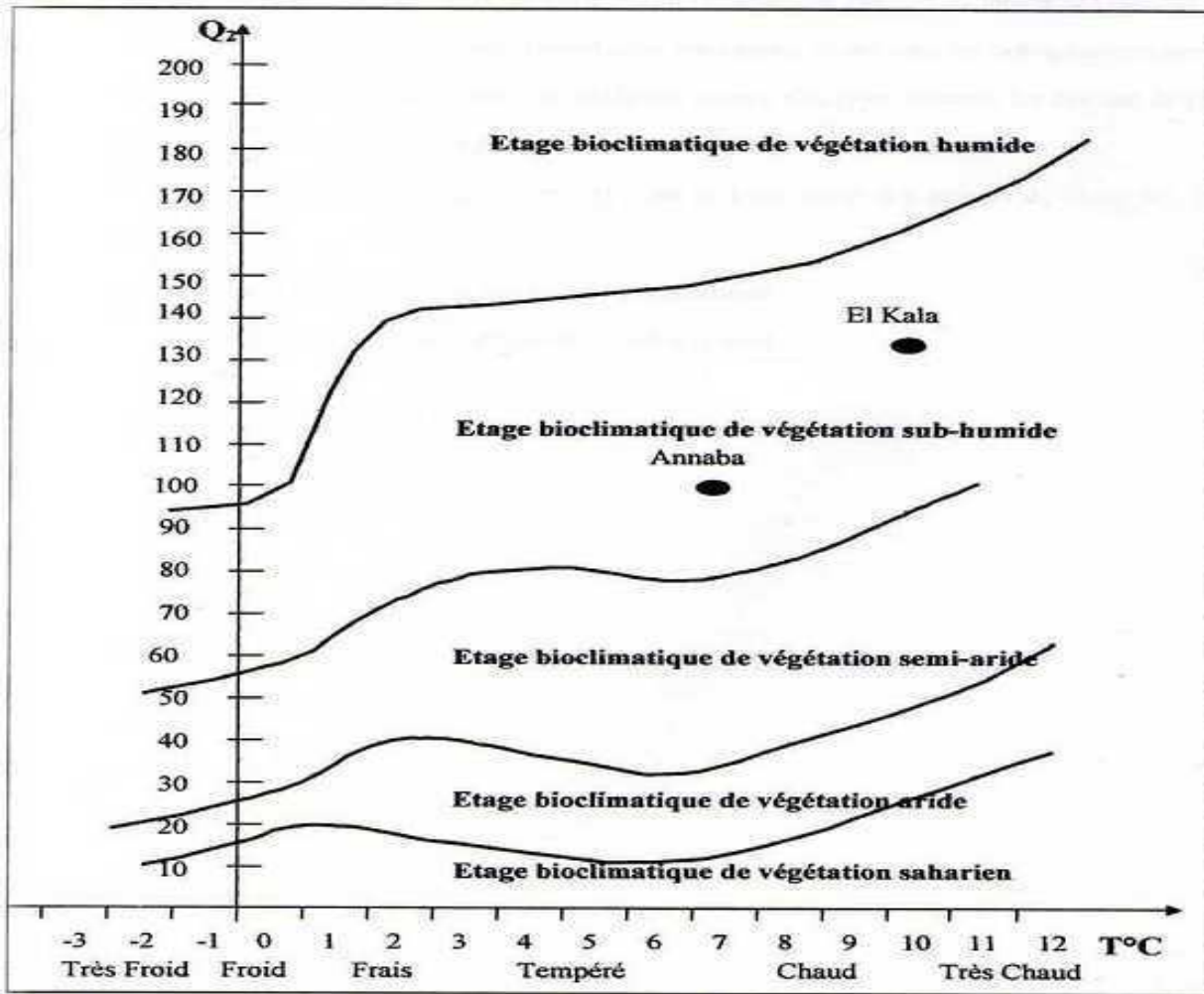


Fig.1.7. Situation de la Numidie orientale dans le climagramme d'Emberger (Touati, 2008).

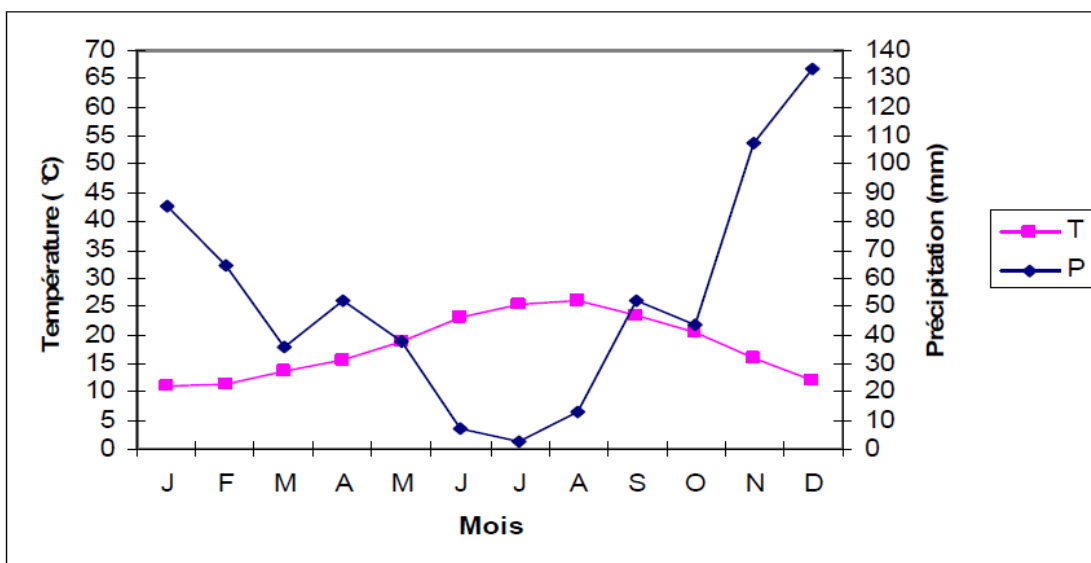


Fig.1.8. Diagramme ombro-thermique de la région d'El Kala (Touati, 2008).

4.2.5. Cadres biotiques :

De nombreux auteurs (Blondel 1967 ; Morgan 1982 ; Samraoui, *et al* 1992) confèrent au Lac des Oiseaux le statut de rare en raison de sa richesse en végétation en avifaune et la présence de nombreux insectes, Lephemeropteres, Trichopteres, et Odonates dont 23 espèces ont été signalées. Ceci représente le tiers de toutes les espèces d'Odonates rencontrées en Algérie, parmi ces espèces ,5 d'origine afrotropicales .De nombreuses espèces de poissons peuplent le lac, notamment l'anguille, le barbeau et le mullet (Blondel, 1967).

4.2.5.1. La flore :

Plus il y a de végétation autour du lac, plus celui-ci sera susceptible d'être en bonne santé.les végétaux créent un véritable bouclier anti-polluant et empêche le réchauffement de l'eau. Donc, planter des végétaux spécialement adaptés aux rives est une excellente action environnementale.Les espèces végétales du lac présentent des ressemblances morphologiques bien qu'elles appartiennent à des taxons différents.

La végétation du Lac des Oiseaux est très liée au substrat pédologique qui diffère du Nord-ouest au Sud-Est. Le plan d'eau est dominé par *Typha angustifolia*, *Ranunculus baudotii*, *Nymphaea alba*.

Le lac est entièrement délimité par une ceinture de *Juncus acutus* montrant la limite des hautes eaux. La couverture végétale et le cortège floristique diffèrent d'une saison à une autre (figure 1.9) et au total 187 espèces appartenant à 47 familles ont été recensées en 1997(Houhamdi 1998).

Cependant deux d'entre elles sont nouvelles pour la région *Cotula coronopifolia* (Composées) et *Asparagus officinalis* (Liliacées) et une autre est à ajouter à la flore algérienne *Cyperus aristatus* (Cypéracées) (Houhamdi, 2002).

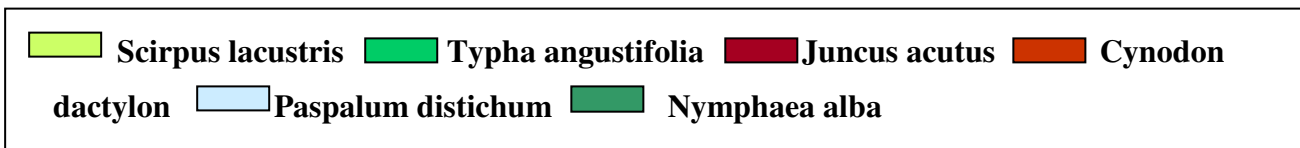
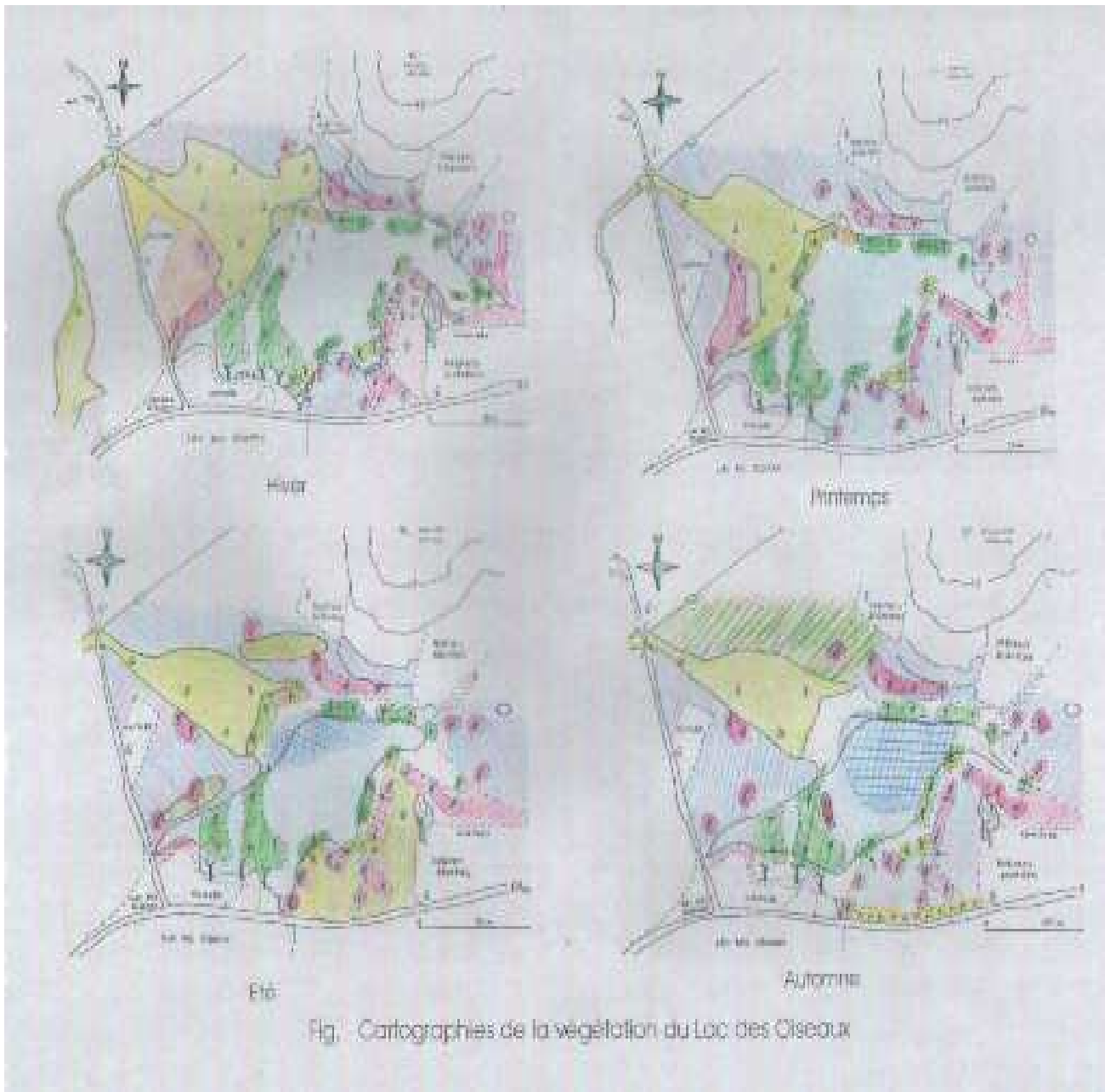


Fig. 1.9. Cartographie de la végétation du Lac des Oiseaux (Houhamdi 1998)

4.2.5.2. L'avifaune:

Le Lac des Oiseaux, comme son nom l'indique, est un refuge pour de nombreux oiseaux d'eau et rapaces hivernant ou de transit. Plus de 10 000 oiseaux d'eau y hivernent chaque année et sa richesse spécifique est supérieure à 45. Il est aussi le site de nidification privilégié de l'Erismaure à tête blanche *Oxyura leucocephala* et des Fuligules Nyroca *Aythya nyroca* (Boumezbour, 1993) (Houhamdi, 2002).

4.2.5.3. L'entomofaune (insectes et autres invertébrés aquatiques):

Le Lac des Oiseaux abrite 21 espèces d'Odonates (Houhamdi et Samraoui 2002), dont 7 Zygoptères et 14 Anisoptères. 19 parmi les 21 observés se reproduisent dans le lac (Sayad, 2008).

4.2.5.4. Vertébrés:

La périphérie du Lac des Oiseaux grâce à sa végétation luxuriante et diversifiée est largement fréquentée par de nombreux animaux. Nous avons observé à plusieurs reprises des renards *Vulpes vulpes*, des Chacals *Canis aureus*, des hérissons *Ericaceus algirus*, des sangliers *Sus scrofa* (avec ou sans les marcassins). Maazi a noté en avril 1992 la présence de mangouste *Herpestes ichneumon* Enfin, le plan d'eau et malgré sa pollution abrite toujours des Anguilles *Anguilla anguilla*, des barbeaux *Barbus callensis*, des carpes *Cyprinus carpio* et de nombreuses tortues *Mauremys leprosa* (Maazi, 1992).

4.2. 6-Exploitations et altération du Lac des Oiseaux:

Le Lac des Oiseaux supporte diverses activités exercées surtout par les riverains tels que l'élevage, le ramassage des produits végétaux, le braconnage.....etc (Villa, 1980).

Le problème majeur actuel concernant la gestion des ressources naturelles de l'écosystème d'El Kala est soumis au conflit traditionnel entre les aspirations et les besoins d'une population à croissance rapide et la préservation de l'environnement (Maazi, 1991).

Cinq menaces réelles sont connues :

Le pâturage:

C'est l'une des plus grandes menaces régnant sur le Lac des Oiseaux, les ruminants des riverains pâturent les bords du Lac pendant toute l'année, provoquant la destruction des plantes qui sont souvent difficilement identifiables surtout pendant l'été (Houhamdi, 1998). Cette végétation est aussi menacée par les riverains qui coupent les touffes de *typha angustifolia* et de *Joncs Juncus acutus* pour construire des abris et renforcer les toits de leurs chaumières.

Le développement urbain :

Le village est en pleine expansion surtout du côté de la sortie vers Boutheldja occupant toute la région méridionale du lac (construction des habitats et du lycée). L'aménagement d'un terrain de football sur les rives sud du lac, utilisé par les jeunes pendant toute l'année et les habitations implantées sur les secteurs Nord-Est et Sud-Ouest provoquent des dérangements importants pour l'avifaune aquatique.

L'agriculture:

L'eau du lac est souvent utilisée pour irriguer les cultures environnantes, mais son pompage n'est pas important. L'équilibre minéral du lac est perturbé suite à l'utilisation excessive des produits chimiques à des fins agronomiques.

Le dérangement des oiseaux :

Par son positionnement à proximité de la Route Nationale 44 et suite à l'expansion du village, les oiseaux se trouvent dérangés par les activités humaines autour du lac (la pêche, la chasse, le pâturage..), surtout pour les espèces nicheuses, telles que l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, la Poule sultane *Porphyrio porphyrio* et la Fuligule *Nyroca Aythya nyroca*.

Les pollutions:

Le site est devenu une décharge publique, où les riverains viennent jeter leurs rejets, déchets et ordures. Les eaux polluées des entreprises et les égouts du village menacent dangereusement la qualité de l'eau du Lac, augmentant ainsi la quantité des polluants (Rehahli, 2008)

4.2.7. Mesures de conservations :

Le Lac des Oiseaux, situé en dehors de la zone protégée du Parc National d'El Kala, ne bénéficiait d'aucune mesure de protection spéciale (Blondel, 1967). Néanmoins en raison de son importance plusieurs tentatives de protection ont été menées dans le passé notamment par le biais de l'installation à deux reprises de clôtures sur la rive sud interdisant ainsi son accès. Malheureusement que cette installation a été mal acceptée par les riverains a été détruite. Une station de relevage a été installée en 1997 et équipée en novembre 1998 par les services de l'hydraulique en vue de canaliser les eaux usées du village du lac des oiseaux vers l'Oued El-Kabir (Rehahli, 2008).

4.2.6. Exploitations et altération du Lac des Oiseaux :

Le Lac des Oiseaux supporte diverses activités exercées surtout par les riverains tels que l'élevage, le ramassage des produits végétaux, le braconnageetc (Villa ,1980).

Le problème majeur actuel concernant la gestion de ressources naturelles de l'écosystème d'El Kala est soumis au conflit traditionnel entre les aspirations set les besoins d'une population à croissance rapide et la préservation de l'environnement (Maazi, 1991).

Cinq menaces réelles sont connues:

Le pâturage:

C'est l'une des plus grandes menaces régnant sur le Lac des Oiseaux, les ruminants des riverains pâturent les bords du lac pendant toute l'année, provoquant la destruction des plantes qui sont souvent difficilement identifiables surtout pendant l'été (Houhamdi, 2002). Cette végétation est aussi menacée par les riverains qui coupent les touffes de *Typha angustifolia* et de *Juncus acutus* pour construire des abris et renforcer les toits de leurs chaumières.

Le développement urbain:

Le village est en pleine expansion surtout du côté de la sortie vers Boutheldja occupant toute la région méridionale du lac (construction des habitats et du lycée). L'aménagement d'un terrain de football sur les rives sud du lac, utilisé par les jeunes pendant toute l'année et les habitations implantées sur les secteurs Nord-Est et Sud-Ouest provoquent des dérangements importants pour l'avifaune aquatique.

L'agriculture:

L'eau du lac est souvent utilisée pour irriguer les cultures environnantes, mais son pompage n'est pas très important. L'équilibre minéral du lac est perturbé suite à l'utilisation excessive des produits chimiques à des fins agronomiques.

Le dérangement des oiseaux:

Par son positionnement à proximité de la Route Nationale 44 et suite à l'expansion du village, les oiseaux se trouvent dérangés par les activités humaines autour du lac (la pêche, la chasse, le pâturage...), surtout pour les espèces nicheuses, telles que l'Erismature à tête blanche *Oxyura leucocephala*, la Poule sultane *Porphyrio porphyrio* et la Fuligule Nyroca *Aythya nyroca*.

Les pollutions :

Le site est devenu décharge publique, ou les riverains viennent jeter leurs rejets, déchets et ordures. Les eaux polluées des entreprises et les égouts du village menacent dangereusement la qualité de l'eau de Lac, augmentant ainsi la quantité des polluants (Rehahli, 2008).

4.2.7. Mesures de conservations :

Le lac des oiseaux, situé en dehors de la zone protégée du parc national d'El Kala, ne bénéficiait d'aucune mesure de protection spéciale. Néanmoins en raison de son importance plusieurs tentatives de protection ont été menées dans le passé notamment par le biais de l'installation à deux reprises de clôtures sur la rive sud interdisant ainsi son accès. Heureusement que cette installation a été mal acceptée par les riverains a été détruite. Une station de relevage a été installée en 1997 et équipée en novembre 1998 par les services de l'hydraulique en vue de canaliser les eaux usées du village du lac des oiseaux vers l'OuedEl-Kebir (Blondel, 1967).

Chapitre II

1. Définition :

La pollution résulte de l'introduction dans un milieu de substances conduisant à sa détérioration. En effet, un rejet ne sera par définition polluant que s'il amène une dégradation. Il existe plusieurs formes de pollution qui ont conséquences différentes sur la qualité de l'eau.

Dans ce chapitre, nous nous limiterons à la pollution biologique qui est due aux microorganismes ou aux matières organiques résultant essentiellement d'une mauvaise gestion des déchets naturels, humains et animaux. Les microorganismes comprennent principalement des bactéries mais aussi des protozoaires, des champignons et des virus, ils proviennent tous des matières fécales dont ils représentent environ 10% du poids.

Cette forme de pollution sera dangereuse surtout s'il y a dans l'eau des microbes pathogènes. Elle peut entraîner la propagation de certaines maladies graves. En général, la pollution microbiologique a souvent pour source des eaux usées improprement traitées, des rejets urbains industriels, des eaux de ruissellement (Hurst, 1997) (Metcalf, 1991) ou même proviennent des aérosols (allochtones).

1.1. La microflore des milieux aquatiques :

L'hydrosphère, autrement dit à la fois les eaux douces et marines, constitue un habitat approprié pour la croissance de nombreux microorganismes, ces microorganismes sont de trois types : des germes typiquement aquatiques, des germes telluriques et des germes de contamination humaine ou animale (Guiraud .et Galzy, 1980).

La composition et l'activité des populations bactériennes sont fortement influencées par la pollution de l'environnement.

La majorité des bactéries aquatiques sont hétérotrophes. Les bacilles à Gram négatif sont prédominants (83%) par rapport aux bactéries Gram positif (17%) dont 11% sont des cocci et 6% sont des bacilles (Leclere *et al.* 1977).

1.1.1. Les microorganismes autochtones :

Ces bactéries sont naturellement présentes dans le milieu aquatique ou elles se multiplient. Elles jouent un rôle considérable dans les cycles biogéochimiques de divers éléments constitutifs de la matière vivante comme, le carbone, l'oxygène, l'azote ou le soufre (Abarnou, 2000).

Les bactéries autochtones appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Spirillum*, *Crenothri* (Guiraud .et Galzy, 1980).

1.1.2. Les microorganismes allochtones :

Ils sont apportés dans les milieux aquatiques, autrement dit des « passagers » de l'écosystème, qui peuvent être transportés et croître dans un écosystème étranger. Ils peuvent être d'origine fécale ou tellurique (Martin, 1985).

1.1.2.1. Les microorganismes telluriques : (présents dans les sols) :

Ils sont apportés par les eaux de ruissellement. Ces microorganismes sont des bactéries sporulées (*Bacillus*, *Clostridium*) ou appartenant au genre *Streptomyces* et quelques fois des spores fongiques (Guiraud.et Galzy, 1980, Dommergues *et al.* 1970).

1.1.2.2. Les microorganismes fécaux :(de pollution humaine ou animale) :

Rencontrés dans les eaux usées et les rejets de station d'épuration, ces microorganismes proviennent des déchets animaux ou humains, Les germes de pollution humaine ou animale sont des germes souvent pathogènes et essentiellement d'origine intestinale. Il s'agit, d'Entérobactéries (*Escherichia coli*, coliformes, *Salmonella*, *Shigella*),

des streptocoques fécaux et dans une moindre mesure de *Clostridium Perfringens* et de *vibrio Cholerae*.

1.2. Dispersion et devenir des bactéries dans l'eau :

Lors du décharge des microorganismes dans l'eau, ils seront rapidement adsorbés de toute taille (plancton, particules, débris organiques,... etc). Cette adsorption a pour résultat la diminution apparente dans le nombre de microorganismes par unité de volume. (Brisou, 1976).

Ces adsorbants sont ensuite dilués, dispersés, floculés, sédimentés ou transportés vers les bords ou les côtes. Les grosses particules ont tendance à se sédimenter rapidement en fixant les microorganismes sur lesquels ils sont adsorbés (Mitchell, 1975). Alors que les fines particules vont subir des processus de diffusion par les quels elles vont transporter des grandes quantités de microorganismes avec eux (Borrego, 1982).

La majeure partie de la charge bactérienne des eaux résiduaires, soit environ 98,5%, suit les particules de faibles dimensions.

Ainsi, c'est en surface et au large des émissaires que l'on trouvera la plupart des bactéries rejetées, alors que sur le fond adjacent, la charge bactérienne sera d'extension relativement plus faible (Borrego, 1982).

2. L'autoépuration :

L'eau, riche en espèces animales et végétales, transforme et élimine naturellement (en totalité ou en partie) les pollutions auxquelles elle sert d'exutoire. Grâce aux phénomènes de filtration et d'oxydation, combinés à l'action des organismes (bactéries, insectes, plantes...)

biologique

vivant dans le milieu aquatique, l'eau assure le maintien de la qualité de son eau et préserve l'équilibre de son écosystème: c'est ce qu'on appelle l'auto-épuration que l'on définit comme suit :

2.1. Définition :

L'ensemble des processus biologiques (dégradation, consommation de la matière organique, photosynthèse, respiration animale et végétale...), chimiques (oxydoréduction...) ou physiques (dilution, dispersion, adsorption...) permettant à un écosystème aquatique équilibré (rivière, lacs, mer et océan...) de transformer ou d'éliminer lui-même les substances le plus souvent organiques qu'il produit ou qui lui sont apportées de l'extérieur (Apports naturels et pollution).

C'est un ensemble de processus biogéochimiques par lesquels un biotope aquatique pollué retrouve après l'arrêt des rejets et un laps de temps variable sa pureté initiale dont il contribue de ce fait à la stabilité du système aquatique (Namour, 2006).

Les organismes vivants dans les milieux aquatiques jouent dans ce processus un rôle important (bactéries, protozoaires, algues, invertébrés, poissons...). La température et le temps de séjour augmentent l'efficacité de l'autoépuration.

L'auto-épuration est limitée (si les rejets concentrés de matières organiques dépassent un certain seuil, la capacité d'autoépuration naturelle est dépassée et la pollution persiste). Par ailleurs, la présence de substances toxiques peut inhiber le phénomène d'autoépuration. Aussi cette capacité d'autoépuration est toujours fortement corrélée avec la capacité d'oxygénation du système. Il faut distinguer cependant l'autoépuration vraie (élimination de la pollution - phénomène rare) de l'autoépuration apparente (transformation, transfert).

De nombreux investigateurs ont rapporté que l'eau douce exhibe une activité bactéricide particulièrement envers les bactéries entériques (Boukroune, 2008). En effet, les eaux de surface ne constituent pas l'environnement naturel pour la plus part des microorganismes telluriques particulièrement celle dont l'origine est le tractus intestinal

humain ou animal à sang chaud, leurs concentrations initiales ne restera pas constantes mais tend progressivement à disparaître grâce au pouvoir auto-épuration de l'eau.

D'après plusieurs études faites au laboratoire, il est admis que des facteurs physicochimiques varies (lumière, température, pH, toxicité des métaux lourds...) ont un impact significatif sur la mortalité bactérienne, alors que Campanille *et al* 1970, et Guelin *et al* (1966) considèrent que le pouvoir bactéricide des eaux terrestres est essentiellement dévolu aux facteurs microbiologiques. Les mécanismes biotiques (compétition, prédation..) constituent le foyer des recherches récentes et qui sont largement impliqués dans le pouvoir bactéricide des eaux naturelles (Sanders *et al.* 1986, Mc Cambridge *et al.* 1981).

2.2. Mécanismes d'auto-épuration :

L'eau est constamment contaminée, le fait ne peut plus être discuté ; mais fort heureusement les bactéries dangereuses s'y raréfient et finissent même par disparaître. Un ensemble de facteurs physico-chimiques et biologiques contribuent à cette autoépuration.

2.2.1. Mécanismes physico-chimiques:

La croissance des microorganismes est affectée par une grande variété de facteurs physiques et chimiques.

2.2.1.1. La lumière :

Les radiations solaires sont un facteur très important responsable de l'inactivation microbienne, cette dernière est proportionnelle avec l'intensité des radiations, le temps d'exposition à celles-ci, (Cameson *et al.* 1975) dont l'effet létale augmente avec l'intensité (OMS. 1991). Les effets principaux de la radiation solaire contribuent à l'inactivation des organismes pathogènes des façons suivantes:

Les UV les plus létaux ont une longueur d'onde de 260nm. Leur action provoque la dimérisation de la thymine : deux nucléotides thymines adjacents dans un brin d'ADN se

retrouvent alors associées par deux liaisons covalentes. La transcription et la réplication de l'ADN se retrouvent alors inhibées sur cette portion transformée.

Les UV activent aussi la dégradation du tryptophane en photoproduits toxiques, causant des cassures de l'ADN.

L'UV-A interfère avec le métabolisme et détruit la structure de la cellule de la bactérie. L'UV-A (longueur d'onde 320-400 nm) réagit avec l'oxygène dissolu dans l'eau et produit une forme très réactive d'oxygène (radical d'oxygène libre et des peroxydes d'hydrogène), ceux-ci détruisent les pathogènes.

La radiation infrarouge chauffe l'eau. Quand la température de l'eau dépasse les 50°C, le processus de désinfection est trois fois plus rapide (Guillaume, 2007).

Plusieurs auteurs ont déduit que la lumière a un effet négatif sur les cellules d'*E.coli* dans les eaux douces dont elle cause des effets sublétales du système enzymatique du catalase d'*E.coli* en le rendant autrement sensible à des concentrations de peroxyde qui sont normalement inoffensives (Kapuschinski, 1981).

2.2.1.2. La température :

La température a une importance majeure dans le métabolisme et la croissance des microorganismes, elle affecte tous les processus vitaux. Chaque souche microbienne est caractérisé par une température optimale de croissance et par un intervalle entre un minimum et un maximum en dehors duquel sa croissance est difficile, voir impossible (Martin, 1985).

Le froid comme la chaleur sont des sources de stress physiologique. Une température trop basse va entraîner la formation de cristaux de glace dans le milieu intracellulaire. Les bactéries ont alors besoin de produire des « molécules antigel » comme des carbohydrates. Le stress oxydatif est également décuplé, du fait que l'oxygène se dissout très bien dans l'eau froide.

Enfin, les membranes phospholipidiques se rigidifient et nécessitent des compositions en lipides permettant d'assurer leur fluidité à basse température. La composition en acides aminés des protéines synthétisées par les bactéries vivant à basse température peut également varier.

Lorsque les températures dépassent l'optimum de croissance, les protéines sont dénaturées, tandis que les membranes phospholipidiques « fondent » sous l'effet de la chaleur. Les bactéries thermophiles doivent donc augmenter la rigidité leurs membranes pour lutter contre la désagrégation. Des protéines capables de résister à de plus fortes températures sont également synthétisées (heat shock proteins) (Guillaume, 2007).

Ainsi l'effet de la température dépend de l'organisme testé. Certaines bactéries ou virus tel *Salmonella typhi* et certain coliphages sont plus sensibles aux températures élevées que d'autres tel *Shigella sp.* L'espèce de *Vibrio cholerae* est généralement plus sensible aux basses températures dont elle est généralement indétectable dans l'environnement marin à des températures au dessous de 15 à 18°C (OMS. 1991). Du même, la survie d'*E.coli* dans les eaux est très limitée à des températures variantes de 5 à 15°C, et plus prolongée dans les eaux chaudes (>25°C).

2.2.1.3. Les métaux lourds :

Généralement le pourcentage de la survie des bactéries hétérotrophes diminue proportionnellement avec l'augmentation de concentrations en métaux lourds (Sn, Cd, Cu, Ni, Pb, Hg, Mn, Zn) en raison de leur toxicité spécifique sur de nombreux organismes (Jones, 1975) (Niewolak, 1996). Selon (Savage *et al.* 1971) les métaux lourds constituent l'un des facteurs contribuant au processus de purification des eaux car ils sont capables d'inactiver les systèmes enzymatiques des organismes cibles.

Dans les conditions naturelles, l'existence des substances organiques, l'adsorption des métaux lourds tel le cadmium sur les particules, la formation des ligands et la chélation sont des facteurs qui peuvent réduire leur toxicité.

2.2.1.4. Les conditions nutritionnelles :

La quantité des nutriments disponibles est un autre facteur influant le phénomène d'auto-épuration. L'eau de mer est un milieu oligotrophe dont la matière organique constitue un facteur limitant la croissance des microorganismes dans l'eau dont l'origine est l'eau

biologique

d'égout stimule la croissance des bactéries, par conséquent elle compense partiellement l'effet bactéricide des autres facteurs négatifs (Sinclair, 1984).

2.2.1.5. Autres facteurs :

Il est à noter que la dilution, la sédimentation, la pression jouent un rôle très mineur ainsi que l'influence du pH et de l'oxygénation des eaux est encore discutée (Aubert, 1969).

2.2.1.5.1. Le pH :

La croissance et la reproduction de microorganismes sont affectées par le pH du milieu. Pour les bactéries aquatiques, l'optimum de pH se situe entre 6,5 et 8,5, ce qui correspond aux pH de leur environnement aquatiques. Le pH moyen se situe en effet à 7 pour les lacs.

Le pH manifeste une action directe sur les microorganismes et, plus particulièrement, sur les enzymes microbiens, en dissociant des groupes fonctionnels sur les protéines ce qui rend l'enzyme inactive, sur la traduction des protéines spécifiques, souvent via l'activation d'un facteur de transcription σ spécifique.

Escherichia coli et *Salmonella typhimurium* sont ainsi capables de produire des protéines en cas de stress acide mais aussi il peut exercer une action indirecte à différents niveaux : sur la solubilité des gaz, notamment du CO₂, avec des répercussions importantes sur la productivité primaire, sur la disponibilité de certains nutriments (NH₄, PO₄), facteurs limitants de l'écosystème aquatique et sur la mobilité des métaux lourds (Martin, 1985).

2.2.1.5.2. La pression :

La plupart des bactéries des eaux douces ne se développent pas à des pressions à 200 atmosphères. Les hautes pressions hydrostatiques semblent affecter différentes fonctions microbiennes telles que les synthèses des ARN, ADN, protéines enzymatiques par la déformation de la configuration tertiaire et donc baisse de l'activité enzymatique. Les hautes pressions affectent aussi et les fonctions de transport membranaires (Martin, 1985).

2.2.1.5.3. L'oxygène :

L'utilisation de l'oxygène comme accepteur final des électrons dans les chaînes respiratoires présente un avantage énergétique net, dont les bactéries aérobies savent tirer parti pour leur métabolisme. L'oxygène est également un élément dangereux, capable de générer plusieurs formes toxiques pour les cellules. Les aérobies sont donc, dotés d'enzymes spécialisées dans la détoxification des composés oxygénés actifs parallèlement à la mise en place de chaînes respiratoires.

Aussi des concentrations élevées en oxygène inhibent la survie des microorganismes micro- aérophiles présents dans les eaux pauvres en oxygène (Guillaume, 2007). Ainsi, l'étude de l'écophysiologie des micro-organismes représente donc à la fois un défi scientifique, permettant de repousser les limites connues d'adaptation du vivant à l'environnement, mais également une manne technologique inestimable.

2.2.2. Mécanismes biologiques:

2.2.2.1. L'amensalisme :

Il décrit l'effet négatif qu'un organisme exerce sur un autre. Il s'agit d'un processus unidirectionnel, basé sur la production par un organisme, d'un composé spécifique qui agit négativement sur un autre organisme (Lansing *et al.* 2003), tels les phénomènes de lyse et d'antibiose :

Après leur croissance dans un milieu favorable les bactéries meurent puis disparaissent sous l'action des enzymes autolytiques : c'est l'autolyse. De nombreuses espèces bactériennes produisent des enzymes glucidolytiques ou protéolytiques actifs vis-à-vis d'autres bactéries. De même, de nombreuses espèces bactériennes aquacoles produisent des antibiotiques (Leclerc, 1989).

Certains antibiotiques synthétisés par la biomasse phytoplanctonique servent pour maintenir l'activité bactériostatique ou bactéricide dans l'eau (Aubert, 1969).

2.2.2.2. Parasitisme :

Le parasitisme est l'une des interactions microbiennes les plus complexes, la frontière entre parasitisme et prédation s'avérant difficile à établir. Il s'agit d'une relation où l'un des deux partenaires tire profit de l'autre, et où l'hôte est habituellement lésé. Cela peut comprendre un prélèvement de nourriture sur l'hôte, et/ou l'installation physique dans ou sur l'hôte. Dans le parasitisme, le parasite et l'hôte coexistent en association jusqu'à un certain degré. Selon l'équilibre établi entre les deux organismes. Cette coexistence peut varier et passer d'une relation parasite stable à une relation pathogène qui peut être considérée comme prédation (Ramade, 1984, Lansing *et al.* 2003).

2.2.2.2.1. Bactériophages :

Les bactériophages sont considérés comme des facteurs biotiques affectant l'élimination des bactéries dans l'environnement naturel. Ils peuvent être responsables du déclin des bactéries entériques et autochtones.

Les phages causent généralement la mort des cellules bactériennes, en produisant des plages de lyses sous les conditions optimales nécessaires pour la croissance bactériennes. Il est difficile de spécifier le degré de contribution des bactériophages dans le processus de purification de l'eau (Borrego, 1982).

2.2.2.3. Prédation :

Prise dans sa signification la plus large-la consommation de nourriture-la prédation est le facteur initial du transfert de l'énergie dans les biocénoses. C'est un processus écologique essentiel qui contrôle aussi les populations constituant les communautés et leur évolution.

La prédation est un phénomène répandu où le prédateur engloutit ou attaque une proie. La proie peut être plus grande ou plus petite que le prédateur, et le résultat normal est la mort de la proie (Ramade, 1984). Ce phénomène est bien étudié dans le règne animal mais moins décrit au niveau microbien (Borrego, 1982). Maintenant il est admis que la prédation des

biologique

bactéries est un facteur majeur dans le maintien de la biodiversité des procaryotes et dans l'écologie microbienne en général.

2.2.2.3.1. Protozoaires :

Les protozoaires ont un rôle efficace soit directement ou indirectement dans les processus de purification, en éliminant la matière organique et les bactéries dans l'environnement (Mallory ,1983).

Gonzalez *et al* en 1990 ont montré que les protistes flagellés ou ciliés ingèrent et digèrent certaines bactéries entériques dans les eaux douces et marines.

Les ciliés à leur tour sont d'excellents exemples de prédateurs engloutissent leur proies bactériennes, dont un seul ciliés peut ingérer de 60à70 bactéries par heure.

2.2.2.3.2. Les bactéries prédatrices :

Un ensemble intéressant de bactéries prédatrices est actif dans la nature telle *Bdellovibrio*, *Vampirococcus* et *Daptobacter*. Chacun de ceux-ci a sa technique spécifique pour attaquer une bactérie sensible (Leclerc, 1989).

2.2.2.3.2.1. *Bdellovibrio bacteriovorus* :

Découvert il y'a seulement une trentaine d'années, *Bdellovibrio* est une bactérie qualifiée de parasite obligatoire ou micro-prédatrice capable de se multiplier aux dépens des bactéries aquacoles (Davet, 1997). Elle fut considérée par de nombreux auteur comme l'agent auto-épurgateur par excellence (Leclerc, 1989). Shilo (1966) suggère que cette bactérie joue un rôle significatif dans la dynamique écologique des populations microbiennes dans la nature.

3. *Bdellovibrio bacteriovorus* :

3.1. Position taxonomique :

Sur la base des caractères morphologiques, *Bdellovibrio bacteriovorus* peut appartenir à deux familles, soit à la famille des Vibrionacées au genre *Vibrio* ; soit à la famille

biologique

des spirillacées, genre *Compilobacter* (Seidler *et al.* 1969). Hespell *et al* (1984) ont montré d'après les analyses des oligonucléotides 16 SRNA de ce prédateur, une parenté étroite de *Bdellovibrio bacteriovorus* avec les bactéries sulfate-réducteurs et les Myxobactéries. De ce fait, ils ont proposé le classifie dans le groupe de Daltaprotéobactéries et la famille des Spirillaceae avec les Myxobactéries et les sulfato-réducteurs (Varon, 1981)

Classification récente :

Récemment les *Bdellovibrio* sont reclassés sous l'ordre de *Bdellovibrionales* , l'ordre qui ne compte que la famille de *Bdellovibrionaceae* et trois genres (*Bdellovibrio* ,*Micavibrio* ,*Vampirovibrio*) (Lansing *et al.*..., 2003).

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Proteobacteria*

Classe : *Delta Proteobacteria*

Ordre : *Bdellovibrionales*

Famille : *Bdellovibrionaceae*

Genre : *Bdellovibrio*

Espèce : *bacteriovorus*

3.2. Découverte :

La première bactérie prédatrice connue est découvert accidentellement en 1962 à Berlin par Stolps et Heinz. C'est au cours d'un essai d'isoler les bactériophages du sol, Stolp et Heinz avait remarqué que les plages de lyse se développaient dans un tapis de *Pseudomonas* longtemps après que sa croissance eût cessé (au bout de trois jours). Ceci était inhabituel, car les plages dues aux bactériophages ne s'agrandissent plus après l'arrêt de la croissance bactérienne. Stolp, grâce à son sens aigu de l'observation, nota que les *Pseudomonas* étaient cogné par quelque chose. Il ne pouvait voir *Bdellovibrio* du fait de sa très petite taille et parce qu'il se déplace trop vite. Il examina ce matériel au microscope électronique, et découvrit alors *Bdellovibrio bacteriovorans* (Neidhardt, 1994).

Les études sur cette minuscule bactérie et leur interaction avec les bactéries hôtes ont été effectuées ultérieurement en 1963 par Stolp et Starr. Le nom *Bdellovibrio* vient du grec

biologique

dont la signification est comme suit (*Bdello* : sangsue *vibrio* : incurvé, *bacterio* : bactérie, *vorus* : mangeur) (Singleton, 2005).

3.3. Morphologie :

Ce sont des organismes Gram négatif mesurant 0.1 à 0.3 µm de diamètre et 0.4 µm de longueur, aérobies strictes, cependant il est possible de noter des écarts légers dans la forme et la grandeur (Fig 1.1).

Le caractère le plus significatif de cette bactérie est le mode d'attaque périplasmique, suivi d'une lyse de la proie qui libère la descendance, ce qui la confère un cycle biologique intéressant (Lansing *et al.* 2003).

Il est démontré par Abram et Shilo 1967 que *Bdellovibrio* présente plusieurs fibres rigides émergentes ressemblant à des ongles dans l'extrémité antérieure et qui sont impliqués dans le processus d'attache à la cellule hôte. Le matériel nucléaire occupe les deux tiers du volume bactérien et l'enveloppe cellulaire apparaît limitée à l'extérieur par trois couches : deux feuillets denses séparés par un feuillet clair qui présentent un aspect très tourmenté (Starr *et al.* 1971). En effet, la bactérie prédatrice *Bdellovibrio bacteriovorus* se déplace rapidement par rotation d'un seul flagelle polaire avec une vitesse atteignant jusqu'au 160 µm s⁻¹ pour la souche HD100.

Ce flagelle de largeur généralement uniforme (d'approximativement 28 µm), a comme origine la paroi cellulaire. Il a une forme ondulée tendue complexe et constitue de deux portions : l'une est centrale et l'autre est un fourreau externe composé à leur tour de deux majeures bandes de protéines du flagellines, dont l'une est d'approximativement 29.5 K dalton et l'autre d'approximativement 28 K Dalton. L'épaisseur du fourreau est d'approximativement 7.5 µm (Thomashow *et al.*, 1985). Ce flagelle sera perdu pendant la phase d'attache ou immédiatement avant l'entrée à la cellule de la proie.

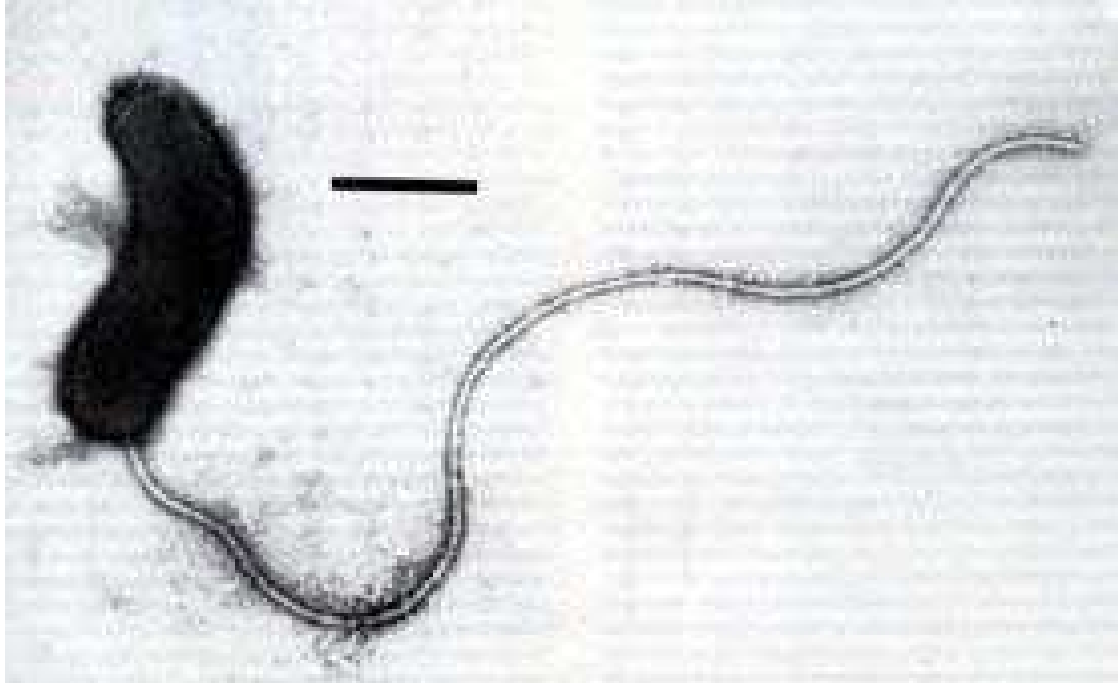


Fig .2.1 .Photo de *Bdellovibrio bacteriovorus*

3.4. Mécanisme de prédation :

Pour que le *Bdellovibrio* infecte une proie, il doit y pénétrer la membrane cellulaire externe de la proie ainsi que la couche de peptidoglycane, grâce à la rotation d'un flagelle polaire. Cette activité de forage au travers de l'enveloppe est facilitée par des enzymes lytiques produites par *Bdellovibrio* elle-même (Neidhardt, 1994).

Les enzymes impliqués sont :

- Lipopolysaccharidase.

biologique

- Glycanase (solubilise rapidement 10% N-acetyl glucosamine durant la pénétration).
- Déacetylase (déacetylation de peptidoglycane en le rendant plus loin insensible à l'attaque par glycanase).
- Peptidase : il est exhibé par toutes les souches de *Bdellovibrio* et sert à casser les chaînes croisées de peptidoglycane.

La mort rapide de la cellule proie et la capacité de *Bdellovibrio* de vivre dans l'espace périplasmique a fait pousser les recherches sur les mécanismes de ce phénomène. En effet, il est admis que *Bdellovibrio* provoque la mort de la cellule hôte, en implantant sa protéine membranaire dans la membrane cytoplasmique de la cellule proie, ou en déplaçant une protéine de la membrane externe appartenant à la cellule proie dans son enveloppe (Talley, 1987).

Ceci va provoquer immédiatement la chute du potentiel membranaire de la cellule cible permettant ainsi l'écoulement du cytoplasme dans la partie périplasmique afin de faire nourrir le prédateur.

3.5. Ecologie du *Bdellovibrio* :

Bactéries aérobies du sol, des égouts, d'eau douce ou de mer, et dans les sédiments. Bragimov (1980) a trouvé que les vaches, chevaux, cochons, et les canards hébergent cette bactérie dans leurs intestins. De même les gents présentant un bon état sanitaire peuvent porter cette bactéries dans les intestins.

Elles parasitent uniquement les bactéries Gram négatif. Spectre d'hôtes variable selon les souches. Comparativement aux autres bactéries, leur nombre est relativement moindre dans la nature [3]. C'est un parasite intracellulaire obligatoire et il ne peut être cultivé dans un milieu acellulaire. Cependant, après mutation on obtient des souches cultivables dans les milieux de laboratoire (Neidhardt, 1994).

Bdellovibrio joue un rôle très important dans le processus écologique d'autoépuration en diminuant le nombre des bactéries pathogènes dans les systèmes aquatiques (Sprung, 2006). En effet, la colonisation des surfaces par les biofilms présente une stratégie

biologique

importante dans l'écologie des *Bdellovibrio* et un mécanisme important pour la survie dans les écosystèmes aquatiques.

3.6. Cycle biologique du *Bdellovibrio* :

Le cycle de *Bdellovibrio* est complexe bien qu'il se déroule en une à trois heures seulement (Lansing *et al.* 2003), il est résumé dans la figure (2.2) .

3.6.1. La phase d'attaque :

Dans cette phase, le prédateur se déplace rapidement et peut faire jusqu'aux 100 rotations par seconde (équivalent à une distance d'un mètre par deux heures afin de chercher la proie) jusqu'à entrer en collision violente avec sa proie (Lansing *et al.*, 2003).

Au cours de cette phase, il n'existe aucune croissance ou réplication d'ADN. La connaissance et l'invasion de la cellule hôte par *Bdellovibrio* est un processus complexe nécessitant des cascades de multiples signaux. Le chimiotactisme et la rapidité du déplacement du prédateur constituent des points critiques pour la survie de celui-ci dans les habitats naturels (Straley, 1977). La rapidité du déplacement est générée par un seul long flagelle polaire fourré.

La phase d'attaque tire profit d'un large répertoire de protéines responsables du phénomène de chimiotactisme, ces protéines servent à sentir les différents signaux chimiques pour pouvoir localiser la proie.

Les recherches récentes ont montré que la souche *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J possède au moins 13mcp (Chemotaxis Protein récepteur of Methyl) (Boukroune ,2008).

3.6.2. La phase d'attache :

Cette étape suit la phase de reconnaissance et dure de 15à30 minutes et peut être réversible. En effet, pour effectuer une liaison irréversible, le prédateur doit former une jonction très forte avec la cellule proie, puis la cellule cible commence à tourner autour d'elle-même. Ensuite les deux cellules : prédateur- proie tournent comme une seule unité, et à

ce moment le prédateur propulse le microbe en avant à la vitesse maximale (Boukroune, 2008).

Il est montré que le prédateur attaque la proie par l'extrémité antérieure qui est opposée à celle du flagelle dont plusieurs fibres rigides émergent de cette extrémité et servent à s'accrocher sur la couche externe de la proie, par suite la membrane cytoplasmique sera détruite (Scheffer, 1971).

3.6.3. La phase de pénétration :

Dans cette étape le prédateur commence à percer le site gonflé de l'enveloppe cellulaire de l'hôte, et forme un pore en appliquant une pression et en sécrétant des enzymes qui servent à casser la membrane externe et la couche de peptidoglycane de l'hôte. Ces enzymes sont probablement associés avec des mésosomes antérieures et servent à relâcher la jonction entre les deux couches permettant au prédateur d'entrer sans entraîner la couche de la paroi de l'hôte avec lui (Varon et al, 1978). Ceci est suivi d'une désorganisation complète de l'organisation interne de la cellule hôte. La violente collision suivie des mouvements rotatifs sont suggérés comme des facteurs responsables de la formation de pore. Dernièrement, Rendulic et al (2004) ont suggéré que le pili constitue un autre moyen pour l'entrée de *Bdellovibrio*.

L'étape de pénétration sera suivie automatiquement par l'inactivation du métabolisme cellulaire de l'hôte et par la perte de sa viabilité. Le prédateur demeure ensuite dans l'espace périplasmique de la cellule envahie (Boukroune, 2008, Neidhardt, 1994).

3.6.4. La phase de croissance :

Pendant la phase de croissance, le *Bdellovibrio* reste immobile et utilise des enzymes pour digérer le périplasme de la cellule hôte en le dégradant à des composants macromoléculaires.

biologique

La bactérie en croissance utilise les acides aminés de son hôte comme source d'énergie, de carbone et d'azote (Lansing et al, 2003). *Bdellovibrio* utilise non seulement l'énergie et les matériaux de base de la cellule hôte, mais il peut aussi utiliser des composants performés tels que des acides gras et des nucléotides urique, épargnant ainsi carbone et énergie (Neidhardt, 1994).

La croissance se manifeste par l'élongation d'un filament spiral qui est un caractère commun avec la famille des spiralés. L'extension de ce filament se développe généralement en cinq a deux fois la longueur de la cellule infectée, et peut même atteindre jusqu'aux 20 fois la taille initiale. Elle se produit à l'extrémité non flagellaire du *Bdellovibrio*.

Généralement la cellule infectée gonfle et perd l'intégrité osmotique, cette forme se nomme sphéroplaste ou bdelloplaste .Le bdelloplaste est limité par une seule membrane lisse qui est la couche généralement associée avec le lipopolysaccharide de la paroi cellulaire de l'hôte. Cette couche offre la protection contre les dommages induits par la photo-oxydation, l'attaque des phages ainsi qu'elle augmente la résistance contre les polluants et assure la rétention des nutriments disponibles (Boulkroune ,2008).

3.6.5. La phase de segmentation et libération :

Le mécanisme de division consiste en une division asymétrique d'un long filament se traduisant par des phénomènes de dépression de la paroi cellulaire dans les régions de division. Les flagelles sont formés au cours de la régénération de la paroi cellulaire mais avant la fragmentation du filament.

Les mésosomes jouent un rôle important dans le processus de division. Une fois que la cellule envahie est pleine avec la nouvelle génération de prédateurs, la paroi du bdelloplaste sera lysée pour libérer les nouvelles cellules jeunes qui sont prêtes à attaquer d'autres bactéries .

Des mutants saprophytes peuvent être isolés de clones parasites on site trois catégories :

biologique

- Souches dépendant de l'hôte viable ou non viable (H-D).
- Souches ne dépendant pas de l'hôte et capables de croître sur milieu complexe in vitro (H-I).
- Souches parasites facultatives capables de se développer dans une bactérie ou un milieu de culture (F-P) [3].

Le cycle de *Bdellovibrio* ressemble en beaucoup de points à celui des bactériophages. Il n'est pas étonnant que lorsque *Bdellovibrio* est cultivé sur gélose avec des bactéries hôtes, il se forme des plages de lyses dans le tapis bactérien. Cette technique est utilisée pour isoler les souches pures et compter le nombre d'organismes viables, exactement comme s'il s'agissait de phages (Lansing, 2003).

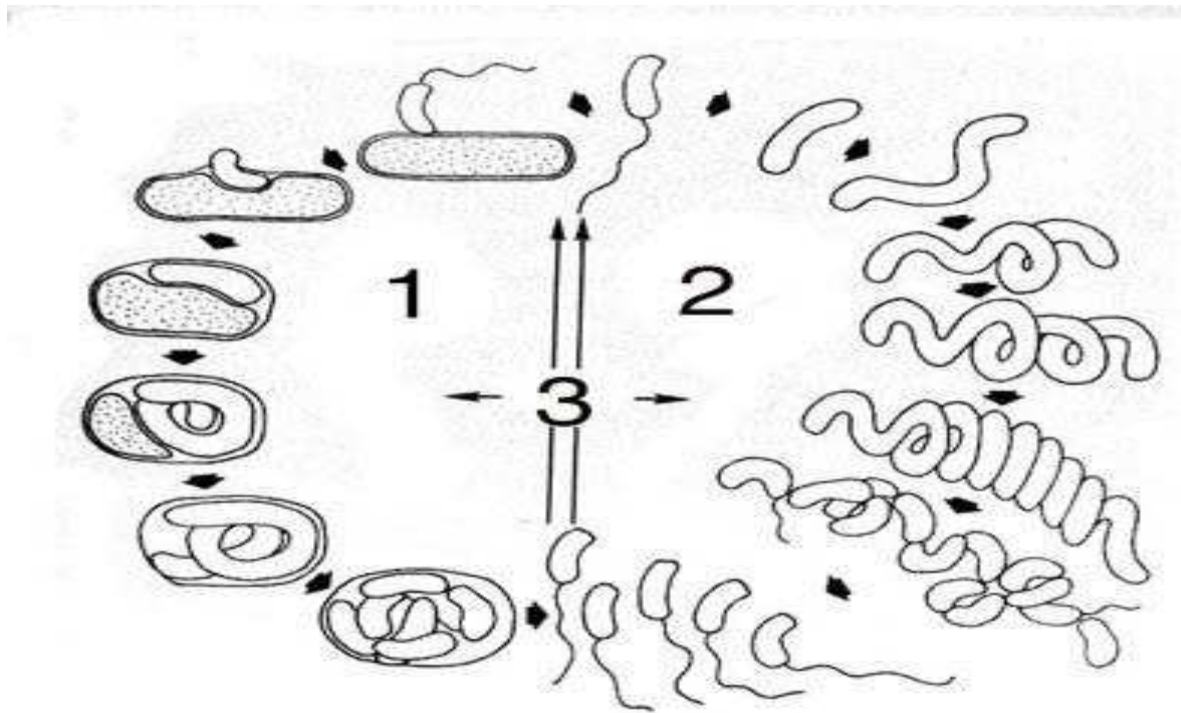


Fig.2.2. Cycle de *Bdellovibrio bacteriovorus* (Lansing, 2003).

- 1: Souches parasites.**
- 2: souches indépendantes de l'hôte.**
- 3: souches facultatives.**

Chapitre III

L'objectif de cette étude est d'estimer d'abord le degré de contamination chimique et biologique du Lac des Oiseaux puis isoler une bactérie micro-prédatrice de l'eau de cet écosystème lacustre pollué *Bdellovibrio bacteriovorus*.

A cette fin trois stations de prélèvement ont été sélectionnées pour l'analyse physico-chimique et pour la recherche bactériologique, ce choix n'est pas fortuit mais figure mieux la variabilité spatiale et temporelle de la qualité du plan d'eau.

Tab.3.1. Caractéristiques des points de prélèvement.

Points de prélèvement	X	Y	Z	Distance de RN 44 (m)	caractéristiques
P1	984.55	400.30	06	420	Situé au sud du lac Absence de la végétation dégagée Présence d'une source d'eau naturelle
P2	984.20	400.10	04	350	Situé à l'Est du lac Absence de la végétation dégagée
P3	983.80	400.00	04	200	Situé au Sud-Ouest du lac Présence de la végétation Prés d'un égout d'eau usée de la commune

L'échantillonnage :

L'échantillonnage est primordial car il conditionne la pertinence de l'analyse. Il doit être de qualité mais également représentatif de ce que l'on veut analyser. Les échantillons d'analyse physico chimiques ont été prélevés dans des bouteilles en polyéthylène propres et en verre fumé pour la DBO₅.

Pour les analyses bactériologiques, les échantillons sont prélevés au moyen des flacons en verre d'une contenance de 250 ml fermés hermétiquement et préalablement bien stérilisés dans un four Pasteur à une température de 170° - 180°C pendant 30 minutes à 1 heure (Boulkroune, 2008). Les flacons de prélèvement sont plongés dans l'eau du Lac fermés, nous les ouvrons à une profondeur de 25 cm et nous les rinçons 2 à 3 fois avec l'eau de Lac avant de les remplir et fermer hermétiquement dans l'eau sans laisser de bulles d'air.

NB : Le prélèvement s'effectue à environ 30 à 40 cm où a mi profondeur si l'hauteur de l'eau est faible, en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier, 2005).

Le diagnostic établi sur le Lac des Oiseaux se base sur cinq campagnes entre septembre 2008 et juin 2009 durant la période matinale, soit entre 9h et 10h. Il permet de suivre tous les événements importants qui se produisent dans le plan d'eau et prendre compte des phénomènes les plus remarquables du cycle annuel de cet hydrosystème.

Le fait de prélever un échantillon d'eau et de le séparer de son milieu naturel entraîne des modifications plus ou moins importantes selon les paramètres. Certains peuvent être considérés comme stables à l'échelle de temps à laquelle on travaille, mais d'autres varient très rapidement, diverses réactions chimiques et biologiques se produisent tels la précipitation de sels, favoriser la mise en solution de gaz...ainsi que la prolifération bactérienne. Donc les échantillons sont transportés directement au laboratoire dans des glacières (4 à 6 °C) (Rodier, 1996).

Tab.3.2. Nature et période de prélèvement

Nature du prélèvement	Période du prélèvement	Type d'analyse effectuée
Eau du lac	Septembre - Octobre 2008	Physico-chimique et Bactériologique
	Novembre - Décembre 2008	
	Janvier - Février 2009	
	Mars - Avril 2009	
	Mai – Juin 2009	

1. Analyses physico chimiques :

Les analyses physico chimiques, ont été réalisées dans le laboratoire de génie des procédés du département de chimie de l'université 08 mai 1945de Guelma.

1.1. Mesures *in situ* :

La couleur apparente, la température, le pH, la conductivité, et l'oxygène dissous doivent être mesurés *in situ*. En effet, ces paramètres sont très sensibles aux conditions de milieu et susceptible de varier dans des proportions importantes s'ils ne sont pas mesurés sur site.

Le pH, la conductivité, l'oxygène dissous, les températures sont mesurées *in situ*. Ils permettent une première estimation de la qualité du plan d'eau.

1.1.1. Couleur apparente (examen visuel) :

Cette observation simple, expéditive, donne une première indication sur la coloration apparente de l'eau.

1.1.2. Turbidité :

La mesure de la turbidité permet de préciser les informations visuelles sur l'eau. C'est un paramètre en relation avec le degré de transparence et la propreté de l'eau qui dépend de la

quantité de matières en suspension (débris organiques, argiles, organismes microscopiques...) qui peuvent être la conséquence d'une possible activité biologique ou simplement la présence de composés indésirables. Cependant une turbidité forte peut permettre à des micro-organismes de se fixer sur des particules en suspension. La turbidité se mesure sur le terrain à l'aide d'un turbidimètre. L'unité usuelle de la turbidité est la NTU (nephelometric turbidity unit) [4].

NTU < 5	Eau claire
5 < NTU < 30	Eau légèrement trouble
NTU > 50	Eau trouble
NTU	La plupart des eaux de surface en Afrique atteignent ce niveau de turbidité

1.1.3. La température de l'eau :

Les variations de température affectent certaines propriétés de l'eau, comme la solubilité de l'oxygène ou la vitesse des réactions chimiques (exemple de réactions chimiques : la fermentation ou l'autoépuration des cours d'eau).

Une température élevée entraîne un déséquilibre écologique de l'écosystème aquatique. En effet, certaines espèces prolifèrent (exemple : algues) tandis que d'autres disparaissent (exemple : truites).

La température de l'eau est mesurée à l'endroit du prélèvement, à l'aide d'un conductimètre, et elle est exprimée en °C (AFNOR, NF T90-100, 1972).

1.1.4. Le pH :

La valeur du pH dépend de l'équilibre physique et chimique de l'eau. Elle dépend aussi des roches rencontrées par l'eau.

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre qui est préalablement étalonné au pH 4.7 et 9 à 20 °C (Afnor, NF T90-008 1953).

1.1.5. La conductivité électrique :

Le conductimètre et les résultats sont exprimés en $\mu\text{S}/\text{cm}$. Elle fournit une indication précise sur la concentration totale en sels dissous.

Généralement, elle est inférieure à 3000 mS. cm⁻¹. Une conductivité électrique élevée est signe de pollution du cours d'eau (Marc, 1999).

1.1.6. La salinité :

« La salinité est le poids en grammes de résidu solide contenu dans un kilogramme d'eau de mer quand tous les carbonates ont été transformés en oxydes, le brome et l'iode remplacés par une quantité équivalente de chlorures, et que toute la matière organique a été complètement oxydée ».

De nos jours, la détermination de la salinité par leur méthode dite « par titrage de la chlorinité » est abandonnée au profit d'une mesure de conductivité de l'eau, plus facile à mettre en œuvre. L'appareil utilisé pour la mesure est un salinomètre de précision de (0.003%) ou multiparamètres. Et les résultats sont exprimés en grammes de chlorure de sodium (Na Cl) par litre d'eau (Boukrouma, 2008).

1.1.7. Oxygène dissous :

L'oxygène est un des facteurs fondamentaux de la vie. Sa présence dans les eaux joue un rôle primordial dans le maintien de la vie aquatique et dans l'autoépuration.

La teneur en oxygène dépend de la respiration des organismes aquatiques, de la dégradation des polluants (consommation d'O₂) et de l'activité de photosynthèse de la flore (production d'O₂). Le pourcentage de saturation en oxygène (qui est fonction de la température de l'eau) permet de déterminer la qualité de l'eau.

La mesure de L'oxygène dissous se fait à l'aide d'un oxymètre, la lecture se fait en mg O₂/l et en pourcentage de saturation O₂ %.

1.1.8. Demande biochimique en oxygène DBO :

C'est la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques (biodégradables) par voie biologique (par les micro-organismes). Cette consommation est exprimée en mg O₂ /l. Elle permet d'évaluer les matières biodégradables présentes dans les eaux. Elle est en général calculée au bout de 5 jours à 20°C et dans le noir. On parle alors de DBO₅. Le DBO- mètre fonctionne selon le système de Warburg. Norme NF 1899-I [4].

1.2. Dosage des paramètres :

1.2.1. Dosage du phosphore :

Il est mesuré soit sous forme de phosphore total (Pt), soit sous forme de phosphates qui sont des nutriments pour la croissance des végétaux. En excès dans le milieu, le phosphore contribue au phénomène d'eutrophisation (Marc, 1999).

La majorité des apports de phosphore provient de sources ponctuelles : rejets urbains ou industriels, déjections animales provenant d'élevages industriels. Le phosphore se retrouve dans les eaux de surface et dans les sédiments sous plusieurs formes, organiques (phospholipides, phosphoprotéines, ...) et minérales (phosphate et poly phosphate) plus ou moins complexées.

La méthode d'analyse appliquée est spectrophotométrique.

Principes de la méthode :

La méthode de Murphy et Riley (1962) reste encore aujourd'hui l'une des plus rapides et des plus simple pour le dosage des ions ortho phosphate en eau de mer

Domaine d'application :

Gamme de concentration :

Le domaine des concentrations mesurables est très étendu : de 0.02 à 28 $\mu\text{mol/l}$ selon Koroleff (1976). La relation concentration absorbance serait linéaire jusqu'à 70 $\mu\text{mol/l}$ selon Riley et al. (1972).

Limite de détection

La plus faible quantité de phosphate détectée avec certitude est d'environ 0.002 $\mu\text{mol/l}$: en cuves de 10 cm de trajet optique .cela correspond à une absorbance de 0.05 environ.

Réactif :

Solution de molybdate d'ammonium :

Dissoudre 15g de paramolybdate d'ammonium «pour analyse». $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, de préférence en poudre fine .dans 500 ml d'eau distillée ou déminéralisée. En flacon de plastique et à l'abri de la lumière, cette solution est stable indéfiniment.

Acide sulfurique 2.5mol/l :

Ajouter petit à petit, avec précaution ,140 ml d'acide sulfurique (densité =1,84) «pour analyse» dans 900 ml d'eau distillée. Laisser refroidir et conserver en bouteille de verre bien bouchée.

Solution d'acide ascorbique :

Dissoudre 54 g d'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$) dans 500 ml d'eau distillée. En flacon de plastique, cette solution se conserve plusieurs mois au congélateur : dégeler juste avant utilisation et recongeler aussitôt après. Au réfrigérateur, en flacon protégé de la lumière .on peut la conserver quelques semaines.

Solution d'oxytartrate de potassium et d'antimoine :

Dissoudre 0.34 g d'oxytartrate de potassium et d'antimoine K (SbO) $C_4H_4O_6$. Dans 250 ml d'eau distillée en chauffant si nécessaire .cette solution se conserve plusieurs mois au réfrigérateur.

Mélanger les réactifs :

Mélanger les réactifs ci-dessus dans la proportion suivante :

- ❖ 100 ml de solution de molybdate d'ammonium.
- ❖ 250 ml d'acide sulfurique 2,5mol/l.
- ❖ 100 ml de solution d'acide ascorbique.
- ❖ 50 ml de solution d'oxytartrate de potassium et d'antimoine.

Ce mélange –réactif qui ne conserve pas plus de 6 h doit être préparé immédiatement avant chaque série d'analyses. La quantité ainsi préparée permet l'analyse de 50 échantillon : ne pas conserve tout excès de réactif inutilisé après 6 heures.

Mode opératoire :

Processus général :

La température des échantillons doit être comprise entre 15 et 30 °C.On procède comme suit :

- ❖ Préparer le mélange –réactif.
- ❖ Mesurer 100 ml d'échantillon.
- ❖ Ajouter 10 ± 0.5 ml du mélange –réactif et homogénéiser aussitôt.
- ❖ Attendre 5 min et mesurer à l'eau l'absorbance à 885 nm

Résultats :

On mesure l'absorbance de chaque échantillon puis à l'aide d'un logiciel on peut les convertir en $\mu\text{mol /l}$ et on mg/l (Sayed, 2008).

1.2.2. Dosage de l'azote ammoniacal :

L'azote ammoniacal constitue un des maillons du cycle de l'azote .dans la plus part des eaux de surface, le pH compris entre 6.5rt 8.5 la plus grande partie de l'azote ammoniacal se

trouve sous forme d'ions ionisée (ammonium NH_4^+). La forme non ionisée (ammoniac NH_3^+). (Rodier, 2005).

Les ions ammonium dans les eaux superficielles peuvent avoir une origine naturelle par la décomposition des déchets végétaux et animaux. Ils se transforment assez rapidement en nitrites et en nitrates par oxydation, donc la teneur en azote ammoniacal dans les eaux superficielles est normalement faible ($< 0.2\text{mg/l}$) (Rejsek 2002).

1.2.3. Dosage des nitrites :

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammonium et les nitrates, leur présence dans l'eau est due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammonium, soit à la réduction des nitrates, ils ne présentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates, leur présence dans les eaux naturelles est faible ($< 0.1\text{mg/l}$).

Une eau contenant des nitrites est à considérer comme suspecte car cette présence est souvent liée à une détérioration de la qualité microbiologique (Marc, 1999). La méthode d'analyse appliquée est par spectrophotométrie.

Principe de méthode spectrophotométrique :

Compte tenu de la vitesse d'oxydation des nitrites, il convient d'effectuer le dosage le plus rapidement possible après le prélèvement, l'idéal étant d'opérer sur place. Il existe plusieurs méthodes de dosage spectrophotométrique dont on a utilisé.

La méthode de Zambelli : l'acide sulfurique forme avec les nitrites, en milieu chlorhydrique et en présence d'ions ammonium, un complexe jaune susceptible d'être dosé le seuil de détection avec un spectrophotomètre est de l'ordre de 50 g/l et le domaine de détection est de $0,1$ à 2 mg/l la précision de cette méthode est de l'ordre de 5% et elle n'est pas applicable aux eaux colorées, turbides ou riches en matières organiques.

La coloration est stable 24 h, donc il est possible de préparer la réaction sur le terrain et d'effectuer la lecture au retour au laboratoire.

Dosage de l'échantillon :

Introduire dans une capsule d'évaporation la prise d'essai choisie (25ml). Ajouter ensuite 1 ml de réactif de Zambelli puis attendre 10 minutes ensuite ajouter 1 ml de la solution

d'ammoniaque concentré. La lecture des absorbance ce fait à une longueur d'onde $\lambda = 435$ nm (Rodier, 2005).

1.2.4. Dosage des nitrates :

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote et ils se trouvent naturellement dans les eaux de surfaces ainsi que dans les eaux souterraines (Rodier, 2005). leurs concentrations naturelles ne dépassent pas 10 mg/l.

Les effets néfastes des nitrates sur l'écosystème : Les nitrates ne sont pas toxiques directement, mais associés au phosphore, les nitrates modifient le comportement de certaines espèces végétales. Dans les eaux douces, ils participent aux phénomènes de prolifération d'algues microscopiques (eutrophisation) (Marc, 1999).

Dosage de nitrate par Méthode spectrophotométrique à l'acide sulfocalicylique :

Principe :

Afin de déterminer les nitrates dans les eaux, on utilise la méthode de l'acide sulfocalicylique. L'acide sulfocalicylique Réagit sur les nitrates en donnant un dérivé : acide nitrosulfosalicylique de couleur jaune.

Réactifs :

- *Solution de salicylate de sodium 0,05% ;
- *Nitrate de potassium ;
- *Ammoniaque diluée au demi ;
- *Tartre double de sodium et de potassium ;
- *Hydroxyde de sodium.

Mode Opérateur : On introduit dans une série de capsules de 60ml successivement.

Numéro de capsule	T	1	2	3	4
Solution étalon d'azote nitrique à 5 ppm	0	1	2	5	10
Eau distillée	10	9	8	5	0
Correspondance en (mg/l) d'azote	0	0,5	1	2,5	5
Solution de salicylate de sodium	1	1	1	1	1

Pour l'échantillon on prend 10 ml d'eau à analyser +1ml de solution de salicylate de sodium. On évapore dans une étuve à 75°-80°c, puis on laisse refroidir, ensuite on reprend le résidu par 2 ml d'acide sulfurique concentré en ayant soin d'humecter soigneusement. On attend 10mn, puis on ajoute 15ml d'eau distillée et 15ml de la solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium.

Enfin on effectue la lecture au spectromètre à $\lambda = 415\text{nm}$ (spécifique aux Nitrates)

Expression des résultats :

Après avoir effectué la lecture au spectromètre, on obtient les résultats suivants

Numéro	T	1	2	3	4	Echantillon
Concentration mg/l	0	0.5	1	2.5	5	C_x
Absorbance nm	0	0,108	0,209	0,431	0.548	0.02

Remarque :

En trace la courbe d'étalonnage $A = f(c)$ a fin de déterminer la valeur de la concentration de l'eau à analyser en nitrate (mg/l)

D'après la courbe d'étalonnage de NO_3^- (nitrates) on peut trouver la valeur de concentration à partir de l'équation de la droite (Abdellatif, 2000).

1. 3. Indices d'altération chimique :

Méthode de De Brabander et De Shepper (1981) :

Appelée aussi méthode Benelux l'indice d'altération chimique est calculer on se basant sur les concentrations de trois paramètres :

Oxygène dissous de saturation O_2 %, Demande biochimique en oxygène DBO_5 , Azote ammoniacal NH_4 . L'indice d'altération chimique : $\text{IAC} = \sum n q_i$. Avec :

n: nombre de paramètres et **q_i** : valeur du paramètre

Tab .3.3. Intervalle des valeurs attribuées aux trois paramètres

Valeurs attribuées (qi)	Oxygène dissous O ₂ %	DBO ₅ mg/l	N-NH ₄ (mg/l)
1	91 - 110	≤ 3	≤ 0.5
2	71 - 90 111 - 120	3.1 – 6	0.5 - 1
3	51 – 70 121 - 130	6.1 - 9	1.1 - 2
4	31 - 50	9.1 - 15	2.1 - 5
5	< 30 - > 130	> 150	>

Tab .3.4.classe d'indice d'altération chimique.

classe	Couleur	Somme des valeurs	Qualité
1	Bleu	4<6	Très bonne
2	Vert	6 <10	Bonne
3	Jaune	10<14	Moyenne
4	Orange	14<18	Mauvaise
5	Rouge	18 <20	Très mauvaise

2. L'analyse bactériologique :

Les analyses bactériologiques ont pour objectif de mettre en évidence la présence ou l'absence des bactéries ou des microorganismes eucaryotes qui modifient la qualité organoleptique d'une eau.

En effet, notre travail repose largement sur la numération des cellules bactériennes selon deux techniques : la première repose sur la mesure directe de la turbidité, alors que la deuxième repose sur une estimation directe des cellules bactériennes en milieu liquides (méthodes NPP : nombre le plus probable). Ces deux techniques sont utilisées pour le dénombrement des microorganismes aquatiques du lac et dans l'étude du pouvoir auto-épuration de l'eau pour déterminer le rôle du micro-prédateur *Bdellovibrio bacteriovorus*.

La totalité de nos analyses bactériologiques ont été effectuées au niveau de laboratoire de microbiologie département de biologie de l'université 08 mai 1945 de Guelma.

2.1. La méthode du nombre le plus probable :

Elle représente l'une des plus anciennes applications des statistiques à la microbiologie (Phelps, 1908). (Mc Crady, 1915). Elle est applicable au dénombrement des coliformes, des coliformes fécaux et des *Escherichia coli* aérogènes dans l'eau (y compris l'eau minérale et l'eau de source).

2.1.1. Principe :

C'est une estimation du nombre de microorganismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire. Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la « positivité » (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de prise d'essai (Rodier, 1996).

Cette méthode sera donc utilisée pour des eaux contenant une quantité de microorganismes plus importante que les eaux de consommation (Rejsek, 2002), il s'agit essentiellement de la détection des coliformes fécaux. Cette méthode présente l'avantage de ne prendre en compte que les germes vivants (ou révivables) et aptes à se développer dans un milieu sélectif choisi (Guiraud, 1998).

2.1.2. Lecture :

Après incubation, on compte les tubes positifs (apparition d'un trouble, virage de colorant, dégagement gazeux) dans les dilutions successives et on retient le nombre caractéristique constitué par les trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs (Bourgeois, 1980).

2.1.3. Expression des résultats :

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Crady au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en

compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées (Bourgeois, 1980) (Leclerc, 1983).

2.2. La mesure directe de la croissance bactérienne :

2.2.1. Principe :

Une culture bactérienne se comporte comme une suspension colloïdale absorbante et réfléchissante de la lumière qui passe à travers elle. Dans certaines limites, la lumière absorbée ou réfléchi par la suspension bactérienne peut être directement proportionnelle à la concentration des cellules dans la culture évidemment pour une longueur d'onde donnée (Larpen et al. 1970)

2.2.2. Procédure et lecture :

Nous mesurons le pourcentage de la lumière absorbée (la turbidimétrie) par une suspension bactérienne. Pour de telles déterminations, on utilise un spectrophotomètre qui exprime le plus couramment ces valeurs sous forme de densité optique (DO) définie comme suit :

Si I : intensité de la lumière incidente.

I_0 : intensité de la lumière transmise.

$$D.O = \log I_0 / I$$

La transmission $T = I / I_0$

La longueur d'onde choisie est celle correspondant au minimum d'absorption pour le milieu de culture soit 546 μ m. l'échantillon à cette longueur d'onde est analysé pour son contenu total en protéines (Larpen et al, 1970)

2.3. Dénombrement des microorganismes dans l'eau :

2.3.1. Dénombrement des germes totaux :

Après avoir bien agité l'eau échantillonnée, nous avons préparé des dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ,...) de l'eau du Lac des Oiseaux en utilisant l'eau physiologique stérile (0.9‰ Na Cl) puis ensemencé en masse dans la gélose TGEA (Tryptone Glucose Extract Agar) une série de boîtes de pétries est placée à 37°C pendant 48heures selon les normes internationales **ISO 6222**

.La gélose TGEA est utilisée pour le dénombrement de la flore totale et ne présente pas d'exigences particulières.

2.3.1.1. Lecture :

Chaque colonie étant par convention considérée comme ayant été engendrée par un seul microorganisme. Et les résultats sont exprimés en nombre de microorganismes révivables par millilitre.

2.3.2. Dénombrement des germes de contamination fécale :

2.3.2.1. Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants :

❖ Principe :

Selon l'organisation internationale de standardisation (ISO) le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnet, non sporogènes, Gram négatifs, facultativement anaérobies, capable de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires et capables de fermenter le lactose (mannitol) avec production d'acides et d'aldéhydes et présentant une réaction négative vis-à-vis de l'oxydase (ISO, 1999).

Selon la norme internationale ISO 9308-3 sont considérés comme coliformes totaux les microorganismes capables de croître en anaérobiose à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ soit en milieu liquide bilié au vert brillant (BLBVB) soit dans un bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) avec production d'acide et de gaz en 48 heures à partir de la fermentation du lactose présent dans les milieux déjà cités.

Selon la norme internationale ISO 9308-3, les coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux sont des coliformes qui fermentent le lactose à $44^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (Franck, 2002)

❖ Procédure :

La colimétrie permet de déceler et de dénombrer les germes coliformes. Parmi ces germes *Escherichia coli* dont seule l'origine de contamination est fécale. Le test original de mise en évidence des coliformes utilisé pour répondre aux définitions précédentes comporte le test de présomption et de confirmation.

❖ **L'étape présomptive :**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, nous avons réalisé des dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ,...) avec trois tubes par dilutions à partir de l'échantillon en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile selon la norme NFT 90-400, puis à partir de la suspension mère et de chacune de des dilutions, nous avons inoculé trois tubes de milieu à raison d'un millilitre par tube. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) avec cloche à simple concentration (Boulkroune, 2008). Le BCPL sert à mettre en évidence la fermentation du lactose par le virage d'un indicateur de pH au jaune.

Nous avons incubé les tubes ensemencés dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Si la réaction est négative, nous laissons les tubes dans l'étuve pendant 48 heures.

❖ **L'étape de confirmation :**

En effet, dans le test présomptif peuvent se produire des faux résultats en présence d'autres germes autres que les coliformes tels *Bacillus* et *Aeromonas*. Pour la recherche des coliformes nous avons ensemencé chaque tube de BCPL positif dans un tube contenant le milieu de Schubert à 44°C \pm 0.5°C pendant 24 heures selon la norme internationale ISO 9308-3. Ce milieu sert à mettre en évidence les coliformes thermotolérants.

❖ **Lecture :**

Pour les coliformes totaux, sont considérés positifs les tubes Schubert dans lesquels nous observons un trouble dû au développement bactérien et un dégagement de gazeux dans la cloche de Durham. La production d'indole par les coliformes thermotolérants peut nous orienter vers *E.coli*.

Nous pouvons la mettre en évidence par ajout de réactif de Kowacs dans le milieu de Schubert positif après incubation. La production d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge qui se rassemble à la surface du tube.

-S'il y a fermentation du lactose avec production du gaz à 44°C et production d'indole, conclure à la présence d'au moins un *E.coli* dans le tube initial.

-S'il y a fermentation du lactose avec production de gaz à 44°C sans production d'indole, conclure à la présence d'au moins un coliforme thermotolérant dans le tube initial.

-S'il y a fermentation du lactose avec production de gaz à 37°C mais pas à 44°C, conclure à la présence d'au moins un coliforme dans le tube initial (Boulkroune, 2008). (Lassoued, 2008)

Expression des résultats :

On utilise la méthode du NPP à trois tubes par série en ne prenant en compte que des résultats positifs des milieux confirmatifs.

2.3.2.2. Dénombrement des streptocoques fécaux :

❖ Principe :

Les streptocoques fécaux sont des cocci Gram positif, formant quand ils sont cultivés en milieu liquide diplocoques, des chaînettes. Ils sont catalases négatives et possédant un antigène de groupe D. Cet antigène correspond au polyoside C pariétal, caractéristique des streptocoques et support de la spécificité du groupe.

Dans la norme ISO 9308-3, sont considérés comme streptocoques D, les microorganismes donnant une réaction positive après 48 heures de culture dans un bouillon glucosé à l'azoture à 37°C et une réaction positive après 24 heures ou 48 heures sur milieu Litsky. La technique de cette recherche se fait en deux étapes :

❖ L'étape présomptive :

Les dilutions et l'inoculation du milieu de culture s'effectuent comme le cas précédent pour le milieu BCPL. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon glucosé à l'azoture (Rothe) à simple concentration. L'incubation des tubesensemencés s'effectue dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Si la réaction est négative les tubes sont laissés séjourner pendant 48 heures.

❖ Lecture :

Les tubes considérés comme positifs sont les tubes pour lesquels nous observons un trouble due à une croissance bactérienne.

❖ **L'étape confirmative :**

A partir de chaque tube positif du milieu Rothe, on aensemencé à l'aide d'une anse calibrée un milieu de Litsky qu'on a incubé à 37°C pendant 24 heures et/ou 48 heures.

❖ **Lecture :**

Dans le milieu Litsky, la présence de streptocoques D se caractérise par l'apparition d'un trouble du développement bactérien avec ou sans dépôt violet.

❖ **Expression des résultats :**

On utilise la méthode du NPP à trois tubes par série, en ne prenant en compte que les résultats positifs des milieux confirmatifs.

2.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices :

❖ **Principe :**

En basant sur le fait que ce groupe de bactéries est caractérisé par la résistance de leur spores et par équipement enzymatique réduisant plus ou moins activement les sulfites en sulfures, la recherche de ces bactéries est réalisée après destruction des formes végétatives par chauffage à 80°C pendant 5 à 10mn. Ensuite l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu additionné de sulfite de sodium et d'alun de fer permettent la mise en évidence l'action sulfito-reductrices.

Le principal milieu utilisé à cette fin est la gélose viande- foie additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer.

❖ **Procédure :**

La technique recommandée par l'AFNOR consiste à agiter soigneusement l'eau à analyser puis à chauffer 1ml ou 2 de cette eau pendant 10mn à 80°C afin de tuer toutes les formes végétatives. Seuls les spores survivant, puis nous refroidissons immédiatement le tube à l'eau de robinet. Après régénération du milieu viande foie au bain mari, nous ajoutons au contenu, du sulfite de sodium à 10% (ml) et 04 gouttes d'une solution d'alun de fer à 5% par

tube. Nous mélangeons doucement sans introduire d'air, et nous refroidissons aussitôt dans l'eau de robinet. L' incubons à 37°C pendant 18à24 heures.

❖ **Lecture :**

Les colonies de bactéries sulfito-réductrices sont entourées d'une auréole noire. Leur taille varie selon l'espèce bactérienne. *Clostridium perfringens* produit des colonies de grande taille en 18heures. Plus les colonies se développent tardivement et plus leurs tailles sont réduite moins elles ont de chance de correspondre à *C.perfringens*.

Le nombre de colonies par tube est déterminé après 18 à 24 heures. Le résultat final est exprimé en nombre de spores de CSR par 100ml d'eau analysée. Le dénombrement est effectué après 18 heures d'incubation, car parfois, après 24 heures, le tube devient complètement noire, et il est alors impossible compter les spores de CSR (Rodier, 2005) (Guiraud, 1998).

2.3.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

N'importe quel milieu de culture glucosé convient pour la numération des levures. Mais leur isolement est réalisée sur la gélose Sabouraud qui constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des Fungi (levures et moisissures) saprophytes ou pathogènes. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol.

Naturellement acide, il inhibe la croissance de nombreuses bactéries. Additionné de chloramphénicol à 0,5 g/L ou de gentamicine à 0,04 g/L, il inhibe une grande partie des bactéries permettant la sélection des levures et moisissures. L'addition d'actidione (cycloheximide) à la concentration de 0,5 g/L permet la sélection de moisissures et levures pathogènes. L'addition de chlorure de triphényl 2-3-5-tétrazolium (TTC) (à 0,1 g/L) permet la différenciation des levures du genre *Candida*. En effet, le TTC peut être réduit par certaines levures en produits colorés [5].

Mode d'ensemencement

Transférer l'échantillon à analyser sur le milieu .On étale l'inoculum en surface à l'aide d'un râteau en verre stérile et enfin on incuber à 20 - 25°C de 3 à 5 jours

❖ **Identification :**

L'identification ne peut être effectuée que sur une souche en culture pure préalablement isolée sur le milieu gélosé Sabouraud.

❖ **Coloration simple :**

Elle est effectuée entre lame et lamelle sur les cultures en milieu solide ayant permis d'observer les caractéristiques culturales : La forme (sphérique, ovoïde, allongée) et la taille des cellules en milieu solide.

2.4. Détermination de la qualité microbiologique de l'eau (recherche microbienne et isolement des microorganismes pathogènes) :

2.4.1. Principe :

Les milieux utilisés afin d'isoler les microorganismes sont la gélose nutritive qui est un milieu ordinaire permettant à la culture de la majorité des bactéries. Aussi nous avons utilisé la gélose de Mac Conkey qui est un milieu différentiel utilisé pour la détection des coliformes et des Entérobactéries pathogènes et dont elle permet leur croissance. Le développement des bactéries n'appartenant pas à la famille des Entérobactéries est inhibé par les sels biliaires. Elle est utilisée pour séparer les Entérobactéries fermentant le lactose (Lac+) de celles ne le fermentant pas (Lac-).

La fermentation du lactose conduit à la production des acides qui affectent l'indicateur de pH présent dans ce milieu avec l'apparition d'un halo (sels biliaires) (Singleton , 1999). Les bactéries (Lac+) donnent des colonies rouges tandis que les bactéries (Lac-) forment des colonies incolores (Guiraud, 1998).

Enfin, nous avons utilisé la gélose de Chapman qui est un milieu sélectif pour isoler les staphylocoques et empêcher la croissance des germes Gram négatif.

2.4.2. Procédure :

On stérilement prélevé avec une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis nous avonsensemencé par la méthode des stries les géloses suivants (gélose nutritive, Mac Conkey et Chapman) et incubé à 37°C pendant 24 heures.

2.4.3. Isolement et purification des souches fermentant le lactose (Lac+) :

Sur les trois géloses mises en culture, nous avons choisi les colonies suspectes ou désirées et les repiqué dans de nouvelles boîtes gélosés afin de vérifier la pureté des souches. Le repiquage sur milieu Mac Conkey permet aussi de vérifier si la fermentation du lactose est effective ou non. Ces milieux gélosés sont ensemencés en surface par stries et incubés à 37°C pendant 24 heures.

2.4.4. Identification :

❖ Caractéristiques morphologiques :

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques (Singlleton, 1999).

Nous avons noté pour chaque type des colonies distinctes les caractères suivants (contour, élévation, couleur, surface).

❖ La coloration de Gram :

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement des bactéries. Sur des lames dégraissées et à partir de chaque milieu d'isolement, nous avons prélevé par l'anse de platine une colonie bactérienne et l'étalé sur une goutte d'eau physiologique déposée sur la lame que nous avons laissé sécher à l'air libre puis fixé par simple passage sur la flamme de bec Bunsen (Dégremont, 1978).

Chaque frotti fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane, il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par la solution de Lugol et de nouveau rincé rapidement.

Nous soumettons alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'alcool. C'est l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant une à trois secondes. Celui-ci est alors rincé immédiatement à l'eau courante. À ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives restent violettes. Nous soumettons ensuite le frottis à une courte coloration de trente secondes à la

fushine pour recolorer les cellules Gram négatives présentes. Après un bref rinçage, nous séchons le frottis avec du papier buvard et nous examinons à l'objectif à immersion×100.

Nous avons appliqué la coloration de Gram pour toutes nos cultures (Sayad, 2008).

Expression des résultats :

Les bactéries « **Gram positif** »: qui gardent leur coloration violette après décoloration par l'alcool.

Les bactéries « **Gram négatif** » : qui, décolorées par l'alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses ou rouges.

2.4.4.3. Identification biochimique :

Seules les colonies qui sont apparues sur Mac Conkey ont été identifiées biochimiquement. Ces colonies sont conservées sur gélose inclinée avant d'être identifiées.

❖ Galeries biochimiques classiques pour les coliformes :

Test du mannitol- mobilité :

❖ Principe :

Le milieu utilisé est celui du mannitol -mobilité. Ce milieu faiblement gélosé en culot met en évidence la fermentation du mannitol par certaines bactéries qui entraînent l'acidification du milieu, indiqué par le virage d'un indicateur coloré de pH, le rouge de phénol devient jaune à pH acide et rose à pH alcalin.

Ce milieu permet simultanément d'établir la mobilité éventuelle des bactéries matérialisée lors de leur diffusion autour de la piqûre centrale d'ensemencement du milieu.

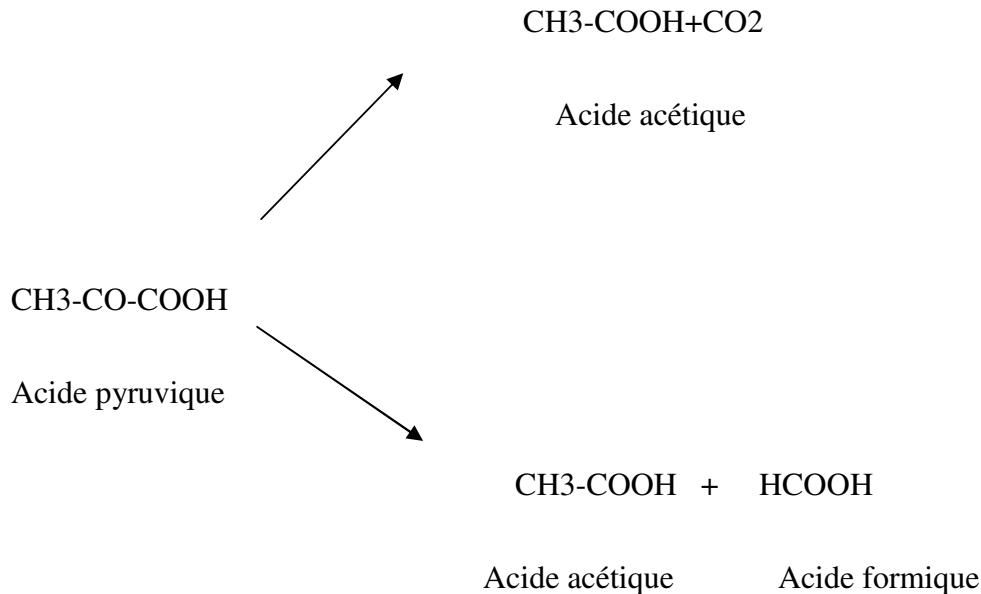
❖ Procédure :

Ensemencer le milieu par piqûre centrale à l'aide d'une anse de platine pointue à partir des boîtes d'isolement et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Test au rouge de méthyle (RM) :

❖ **Principe :**

C'est un test qualitatif qui permet de distinguer les Entérobactéries productrices de fortes concentrations d'acides (RM+) des bactéries faiblement productrices (RM-), par l'acidification finale d'un milieu peptoné tamponné au phosphate après fermentation du lactose. Le rouge de méthyle est l'indicateur de cette acidification, il vire au jaune à un $\text{pH} > 6.3$ et au rouge à un $\text{pH} < 4.2$.



❖ **Procédure :**

La réaction est étudiée dans le bouillon Clark et Lubs qui permet de mettre en évidence cette caractéristique. L'ensemencement se fait par inoculation à partir de boîtes de repiquages et l'incubation se fait dans les conditions habituelles. Après incubation, ajouter une à deux gouttes de rouge de méthyle. La réaction est instantanée.

Le test de Voges-Prauskauer (VP) :

❖ **Principe :**

Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoïne par un microorganisme, (acétyl méthyle carbino) qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP+), elle-même caractéristique de certaine Entérobactéries.

Dans un milieu bien aéré et fortement alcalinisé (par addition de NaOH), il se produit une auto oxydation de butanediol en acétoïne et en diacétyl.

L'acétoïne réagit avec le réactif VPI (soude au potasse) pour former le diacétyl ; ce dernier après addition du VP II va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose.

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé le milieu Clark et Lubs et incubé à 37°C pendant 24 heures, puis ajouter 1 ml de la solution potasse à 16% et 0.5 ml d' α naphthol. Maintenir le tube couché pour favoriser l'oxydation. L'apparition de la couleur rose ou rouge au bout de 30 minutes traduit une réaction dite VP+.

Le test de décarboxylase :

❖ **Principe :**

Ce test permet de détecter la production d'enzymes de décarboxylase : la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase et l'arginine deshydratase qui décarboxylent respectivement la lysine, l'ornithine et l'arginine en cadaverine, putrescine et agmatine par ordre successif (Singleton, 1999).

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé trois tubes contenant chacun un des trois acides aminés dissous dans du bouillon de Moeller (glucose - peptone) par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Initialement, les bactéries métabolisent en priorité le glucose, le milieu est alors acidifié et vire au jaune grâce au virage d'un indicateur de pH. Si les acides aminés sont à leur tour décarboxylés, le milieu est alors alcalinisé et devient pourpre (Bousseboua, 2005).

Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI :

❖ **Principe :**

Le milieu TSI est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries et qui permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H₂S) et la production de gaz (CO₂) (Bugnicourt, 1983). Ce milieu est composé d'un culot et une pente, et contient le rouge de méthyle comme un indicateur de pH.

Si les bactéries utilisent le glucose, le culot se colore en jaune, alors que si elles utilisent le saccharose et le lactose c'est la pente qui se colore en jaune. La production du gaz se traduit par la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose alors que la production d'H₂S se traduit par un noircissement du milieu.

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé le milieu TSI à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Nous avons incubé les tubes ensemencés à 37°C pendant 24 heures. La lecture est réalisée après 24 heures.

2.4.4.3.1.6. Le test de l'uréase :

❖ **Principe :**

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée (NH₂)₂CO en dioxyde de carbone et ammoniac qui se lient entre eux pour donner le complexe du carbonate d'ammonium (composé alcalin).

Le milieu urée -indole permet de mettre en évidence ce caractère dont le virage de l'indicateur au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu indique l'utilisation de l'urée par la bactérie.

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé 2 ml du milieu urée -indole par l'anse de platine stérile et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le test de l'indole :

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

de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kowacs (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (nitrose indole).

❖ **Procédure :**

Nous avonsensemencé 2 ml du milieu urée –indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif Kowacs en assurant une légère agitation des tubes.

Le test de réduction du nitrate :

❖ **Principe :**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-).

❖ **Procédure :**

L'ensemencement du bouillon nitraté permet de mettre en évidence, ce caractère par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase I (solution naphthol à 6% dans l'alcool à 60%) et deux gouttes du réactif nitrate réductase II.

Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.

Si le milieu reste incolore, on a deux éventualités :

- ❖ Les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.
- ❖ Ou les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc si la couleur apparaît, la bactérie est dite nitrate réductase négative.

La recherche du citrate perméase :

❖ **Principe :**

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie qui possède l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilisé.

Le milieu citrate de Simmons permet de mettre en évidence ce caractère, ainsi qu'il possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin) (Lassoued, 2008).

❖ **Procédure :**

On ensemence le milieu citrate de Simmons par des stries longitudinales de bas en haut et incubé à 37°C pendant 24 heures.

La recherche de l'enzyme tryptophane désaminase (TDA) :

❖ **Principe :**

L'enzyme TDA agit sur l'acide aminé tryptophane en formant l'acide indole pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration brun rouge.

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé 2ml du milieu urée –indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer).

La recherche de l'enzyme B -galactosidase :

❖ **Principe :**

Cette enzyme permet de scinder la molécule du lactose après leur pénétration dans la cellule bactérienne en glucose et galactose.

La présence de la galactosidase est mise en évidence à l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (orthonitrophényl B-D-galactoside) qui diffuse librement à l'intérieur des bactéries ou il est alors dégradé par B -galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive) (Boulkroune, 2008).

❖ **Procédure :**

Nous avons préparé une suspension dense d'une culture de la bactérie étudiée dans 0.25 ml d'eau physiologique, et ajouté un disque ONPG pasteur. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures.

La recherche du catalase :

❖ **Principe :**

C'est une enzyme qui élimine des sa formation chez les bactéries, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en l'hydrolysant en eau oxygénée. C'est un test important pour différencier les staphylocoques des streptocoques.

Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives.

❖ **Procédure :**

Sur une lame, nous avons déposé une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) et nous avons ajouté la colonie étudiée. S'il y a dégagement gazeux (O₂), le test est considéré comme positif.

La recherche de l'oxydase :

❖ **Principe :**

Ce test permet de mettre en évidence l'existence du cytochrome oxydase, enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire.

La présence de cette enzyme est réalisée par le disque oxydase qui se constitue de l'oxalate de diméthyle puruphénylène diamine et qui est incolore à l'état réduit et colore en rouge à l'état oxydé.

❖ **Procédure :**

Sur une lame propre, nous avons déposé un disque oxydase que nous avons imbibé d'eau distillée stérile et ajouté la colonie de bactérie à étudier puis étalé à l'aide d'une anse de platine.

Les bactéries oxydases positives donnent une coloration violette au disque en quelques minutes (Lassoued et al. 2008)

Galerie d'API 20 E :

❖ Principe :

C'est une galerie multi-tests, formée d'une vingtaine de cupules, contenant chacune un milieu de culture spécifique déshydraté, correspondant à l'identification d'un caractère métabolique. Il permet en totalité d'étudier ces caractères biochimiques avec plus de fidélité.

Le principe d'utilisation repose sur la comparaison de profils biochimiques d'espèces préalablement établis et répertoires.

Avec cette galerie plus performante, l'identification est considérée comme acceptable au delà d'un degré de probabilité de 80% et une signification statistique d'autant plus grande que l'on se rapproche des 100% (Bousseboua, 2005).

❖ Procédure :

Nous avons bien isolé deux bactéries (Lac +) à étudier sur le milieu Mac Conkey pour les Entérobactéries, puis reconstitué selon les indications du catalogue les différents micro-tubes de la galerie par la suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique qui sert à la fois d'inoculum et d'agent de réhydratation du milieu.

Après incubation pendant 24 heures, le test positif se manifeste par une coloration directe ou après ajout du réactif correspondant (Guemihi M et al. (2008).

Reporter sur la fiche d'identification tous les résultats spontanés. Vérifier si le test glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs. Révéler les tests nécessitant l'addition ou l'ajout de réactifs.

Le test VP : la lecture se fait 10mn après de l'addition d'une goutte de réactifs VP1 et VP2.

Le test TDA : la lecture se fait immédiatement après l'ajout de réactif TDA.

Le test IND : la lecture se fait 2mn après de l'addition d'une goutte de réactif de Kowacs. La non formation d'anneau rouge indique une réaction négative.

Imprimez la fiche de lecture API 20 E, traduisez les résultats de chaque caractère par (+ ou -), les réunir en un profil numérique de 07 chiffres qui sera ensuite identifié à l'aide du catalogue API20E (Chibani et al.2007).

❖ Milieux utilisés

On étudie les différents milieux utilisés dans l'ordre où ils sont placés sur la galerie.

► Tout d'abord étudions le milieu ONPG, celui-ci permet, lorsque la bactérie est lactose-, de trouver s'il y a présence d'une β - galactosidase que l'on reconnaît grâce à la coloration en jaune du milieu.

► Puis les milieux de Moëller (LDC=lysine décarboxylase qui transforme la lysine en une amine primaire et une cadavérine; ODC=ornithine décarboxylase qui transforme l'ornithine en une amine basique, la putrescine; ADH=arginine dihydrolase transforme l'arginine en ornithine, ammonium et gaz carbonique ce qui provoque une augmentation du pH). Ceux-ci permettent de montrer la présence de ces enzymes par la mise en évidence de l'acidification du milieu et sa réalcalinisation éventuelle.

► Le milieu Citrate permet de chercher la présence d'une citrate perméase mise en évidence par l'alcalinisation du milieu.

► Le milieu H₂S devient noir s'il y a production de sulfure d'hydrogène.

► Le milieu TDA (Tryptophane désaminase) permet de montrer la présence de cette enzyme.

► Le milieu indole se fait, tout comme le milieu TDA, à partir du milieu uréase. Il permet de faire la recherche de l'indole.

► Le test VP (Vosges-Proskauer) se fait sur un milieu Clark et Lubs et met en évidence la production d'acétoïne.

► Le milieu Gélatine met en évidence la gélatinase grâce à la coloration obtenue. ► Les milieux Hugh & Leifson permettent de trouver la voie d'attaque des glucides (fermentative, oxydative ou les deux). Le milieu Mannitol permet de voir s'il y a dégradation du mannitol.

Enfin on a 8 milieux contenant des glucides à une concentration égale à 1g.L^{-1} :

Man=Mannose

Ino=Inositol

Sor=Sorbitol

Rha=Rhamnose

Sac=Saccharose

Mel=Melibiose

Amy=Amygdaline

Ara=Arabinose

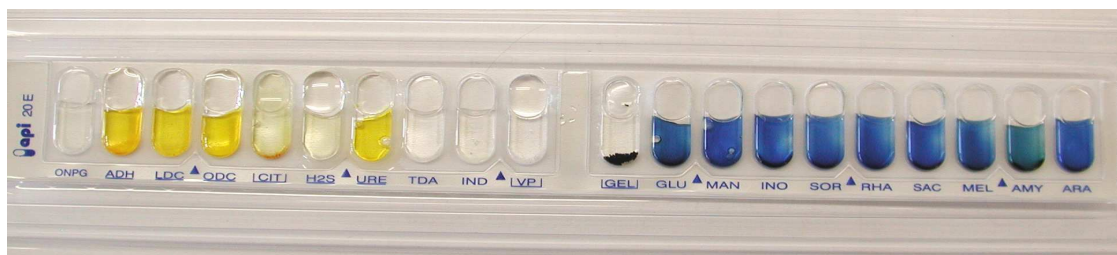


Fig.3.1. Galerie avant incubation

2.5. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

❖ Isolement :

L'isolement est fait directement sur milieu sélectif King A et King B qui seront coulés dans des boîtes de pétri stérilisés. On ensemence avec une anse de platine l'eau à analyser par stries à la surface de la gélose puis on incube à 37°C pendant 24 heures.

❖ Confirmation :

Deux examens microscopiques : Coloration de Gram et examen direct entre lame et lamelle (état frais). Il permet d'observer la mobilité des germes.

Recherche de la pyocyanine ; pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa*. Nous ensemençons à partir colonies développées, l'eau peptonée, et on incube à 37°C jusqu'à apparition de couleur verdâtre, ajouter 2ml de chloroforme. Après agitation, la pyocyanine communique au chloroforme une teinte bleue (Pilet et al.1987).

2.4.6. Recherche des vibrions cholériques :

❖ Principe :

Après enrichissement par passage en milieu hypersalé, et après isolement d'une part sur un milieu sélectif et d'autre part sur un milieu non sélectif, l'identification est basée essentiellement sur des épreuves immunologiques.

❖ Procédure :

Enrichissement :

Se fait en ensemençons 1à2 ml de l'eau à analyser dans l'eau peptonée alcaline. Après incubation à 37°C pendant 3 heures. On réensemence à partir du premier tube une seconde fois le milieu d'enrichissement et on réincube ensuite à 37°C pendant 3 heures.

Isolement :

On prélève à la surface du deuxième tube d'enrichissement une ansée pour ensemencher la gélose alcaline biliée (GNAB) et la gélose hyperalcaline et on incube à 37°C pendant 24 heures.

Identification :

Les colonies sont très fines sur la gélose nutritive, jaunâtre sur la gélose hyperalcaline. L'identification du germe est faite par ; un examen microscopique entre lame et lamelle pour observer la morphologie des bactéries, forme incurvé et une coloration de Gram.

Une recherche de l'oxydase qui doit être positive.

2.4.7. Recherche des *Staphylococcus* :

❖ Principe :

Après enrichissement par passage en milieu contenant le tellurite de potassium comme inhibiteur, la culture sur un milieu de Chapman mannité. Ce milieu, du fait de la haute concentration de sodium (7.5%) inhibe le développement des germes G- et certaines bactéries.

❖ Procédure :

Nous ensemençons à partir de l'échantillon brut le milieu Chapman mannité. Nous incubons à 37°C pendant 24h à 48h, et en cas de réussite négatif nous laissons 24h à la température du laboratoire. Les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune du à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve. Les autres espèces de *Staphylococcus* donnent des colonies généralement plus petites rosées et n'entraînent pas de virage du milieu.

Le milieu de Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus*. Mais il ne s'agit que d'une étape de présomption et d'une confirmation par des tests spécifiques reste obligatoire.

❖ identification:

Nous choisissons une colonie suspecte et nous effectuons les tests suivants : (Institut Pasteur service des eaux).

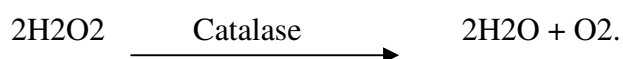
1. Coloration Gram :

Les *Staphylococcus* apparaissent à l'examen microscopique comme des cocci à Gram +, immobile.

2. Recherche de la catalase :

❖ Principe :

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (issu de la voie respiratoire oxydative directe) en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction :



Toutes les espèces de *Staphylococcus* sont catalases positives.

❖ Procédure :

Nous déposons sur une lame, une goutte d'eau oxygénée et nous y dissocions directement un peu de culture à étudier, prélevé sur le milieu Chapman. Si la souche examinée possède une catalase, nous observons un dégagement immédiat de bulles gazeuses (Sayad, 2008).

2. 5. Indice de qualité microbiologique (IQM) :

Il est calculé on se basant sur les concentrations des paramètres suivants: Les Germes Totaux /ml, les Coliformes fécaux /ml, les Streptocoques fécaux /ml dont la moyenne des classes fait ressortir l'indice de qualité microbiologique

Tab.3.5. Intervalles des paramètres de l'IQM.

Classe	Germes Totaux	Coliformes fécaux	Streptocoques fécaux
05	<2000	<100	<5
04	2000-9000	100-500	5-10
03	9000-45000	500-2500	10-50
02	4500-360000	2500-20000	50-500
01	>360000	>20000	>500

Tab.3.6. Classes de l'indice IQM :

Classe	l'indice de qualité microbiologique	Contamination fécale
05	4.3-5	Nulle
04	3.5-4.2	Faible
03	3.7-3.4	Modéré
02	1.9-2.6	Forte
01	1.0-1.8	Très forte

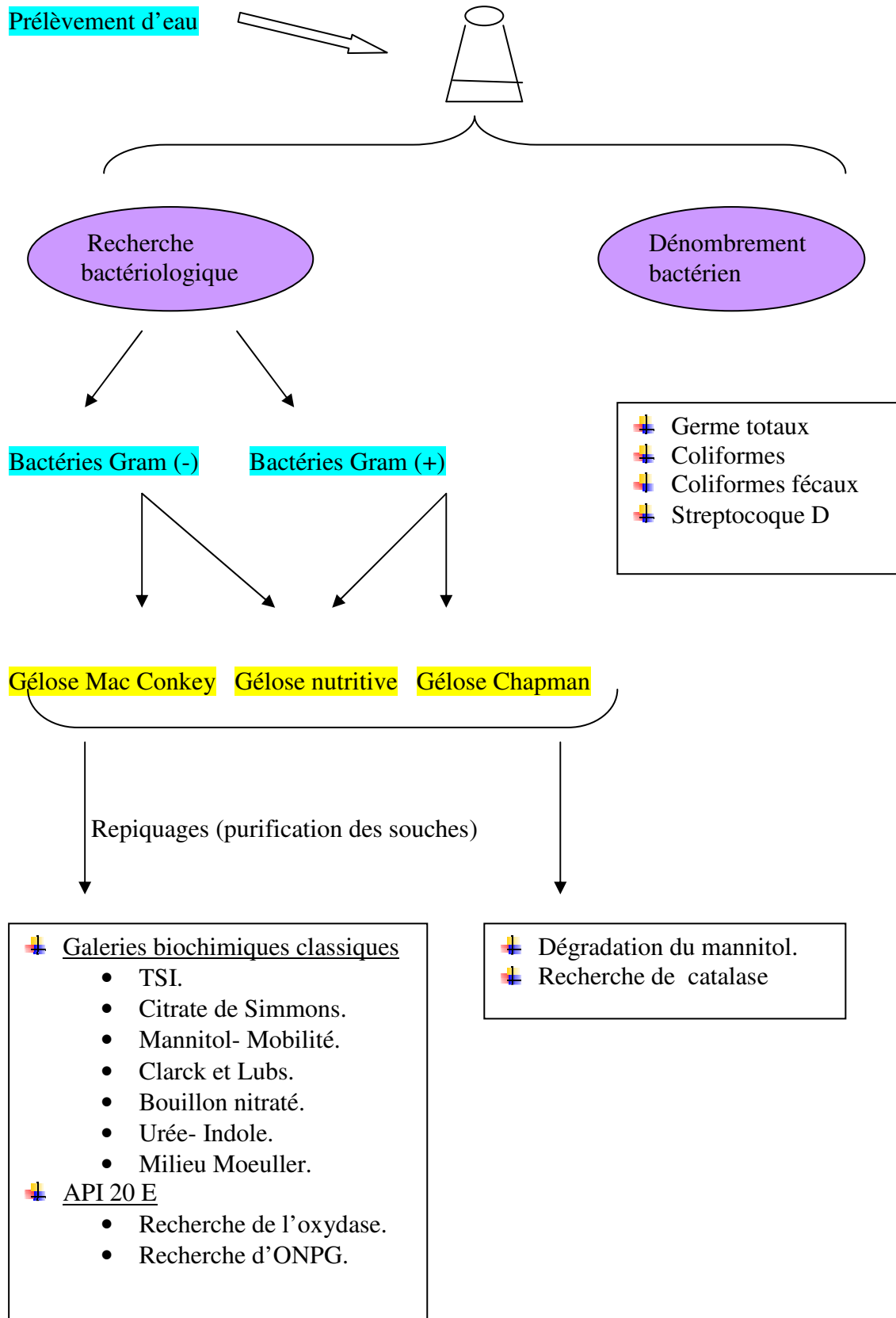


Fig.3.2. Mode opératoire de l'analyse bactériologique de l'eau du Lac des Oiseaux.

3. Détermination du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du Lac des Oiseaux :

Pour mettre en évidence ce pouvoir, nous avons coulé dans deux tubes stériles l'eau du Lac de chaque station. Un des deux est pris comme témoin, le deuxième est autoclavé à 120°C pendant 2 heures.

Refaire la même procédure mais avec l'eau du lac filtré sur membrane filtrante 0.45µm. Les tubes sont alors bondonnés dans le laboratoire pendant deux semaines à la température ambiante. Concernant l'estimation directe, nous avons effectué les expériences sur deux échantillons de chaque station.

Nous avons évalué pour chaque tube la densité optique (à 546 nm) ainsi que le nombre de coliforme en calculant l'indice NPP successivement après une semaine et deux semaines dont le NPP est calculé uniquement pour l'eau non filtrée.

4. Détermination du facteur bactéricide :

4. 1. En milieu liquide :

Parmi les espèces d'Entérobactéries préalablement isolés et bien identifiées, nous avons choisi trois germes appartenants aux coliformes.

Nous avons prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile une culture pure de chaque germe étudié puis nous l'avonsensemencé dans deux tubes contenant chacun 5ml de bouillon nutritif. Le premier est qualifié de tube témoin alors que dans le deuxième est additionné 0.5ml d'eau du Lac filtré sur membrane filtrante 0.45µm de chaque station des trois stations étudiées.

Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 72 heures. Durant l'incubation nous avons procédé à deux techniques de numération des cellules bactériennes :

- ❖ L'estimation directe (turbidimétrie) en lisant la densité optique de la suspension bactérienne à 546nm. Pour cette estimation, nous avons répété l'expérience une deuxième fois.

- ❖ L'estimation indirecte en calculant l'indice NPP après inoculation dans le bouillon lactose au pourpre de bromocrésol avec cloche de Durham à simple concentration. Le NPP est calculé uniquement pour l'échantillon de la 3ème station (Boulkroune ,2008).

4. 2. En milieu solide :

4. 2. 1. Isolement de *Bdellovibrio* :

La méthode utilise pour isoler ce microprédateur correspond à la technique de la double couche décrite par Stolp et Starr (1963) (Stolp et al, 1963).

4. 2. 1.1. Procédure :

Nous avons débuté par l'ensemencement de quelques bactéries (préalablement bien isolées et identifiées) dans 5 ml de bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 12 heures.

Après avoir coulé et solidifier la couche inférieur de milieu YP en boites Pétri, nous avons étalé 0.5 ml de la suspension bactérienne de chacune des germes précédents dans une boite Pétri. Puis nous avons déposé séparément avec une pipette Pasteur stérile jusqu'au 10 gouttes de l'eau du Lac dans chacune des boites (bien homogénéisée l'eau préalablement dans le flacon). Après environ 15mn du dépôt, nous avons coule une autre fois le milieu YP (avec une auteur mois importante que la couche inférieur) pour recouvrir le tout (couche supérieur). L'ensemble est alors incubé à 37°C durant plusieurs jours.

Durant l'incubation, nous avons procédé à déterminer chaque fois les diamètres des plages de lyse apparues.

À noter que le milieu YP a été préparé par nous même dans le laboratoire (annexe 2).

4. 2. 2. La purification de *Bdellovibrio* :

Pour réaliser la purification de ce microprédateur, nous avons prélevé une plage de lyse par une lame bistouri stérile et nous l'avons mis en suspension dans 5ml de bouillon nutritif. Après filtration sur membrane filtrante, nous ensemençons une autre fois *Bdellovibrio* selon la technique de la double couche préalablement décrite.

Stolp et Starr estiment qu'après trois cultures successives, les *Bdellovibrio* obtenues peuvent être considérées comme descendantes d'une même cellule (clone) (Stolp et al, 1963).

À noter que les ensemencements ultérieurs de *Bdellovibrio* sont réalisés avec la même bactérie hôte initialement additionnée durant l'étape d'isolement.

5. Etude du rôle de *Bdellovibrio* dans la lyse des principaux coliformes :

On commence par le choix de trois souches d'Entérobactéries appartenants aux coliformes et qui sont préalablement utilisées pour isoler et purifier *Bdellovibrio* et sur lesquelles nous allons déterminer l'effet de notre microprédateur. Ainsi, afin de mettre en évidence l'effet de *Bdellovibrio* sur ces Entérobactéries, nous avons évalué la croissance bactérienne de chacune de ces souches en présence et en absence de celui-ci.

À cette fin deux techniques de mesures ont été effectuées : une estimation directe et une estimation indirecte.

5. 1. Estimation directe :

À l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur préalablement stérilisé, nous avons prélevé chaque germe à étudier en culture pure et l'ensemence dans deux Erlen-Meyer contenant chacun 50ml de bouillon nutritif. L'ensemble est incubé à 37°C pendant 12 h.

L'une de ces deux Erlen-Meyer est un témoin alors que dans l'autre, on additionne trois plages de lyse (issues de la troisième purification dont chacune est d'environ 2mm de diamètre) qui ont été bien purifiées et sélectionnées à partir du milieu YP contenant la même bactérie qui a été inoculée dans l'Erlen-Meyer témoin.

L'ensemble des deux Erlen-Meyer est placé cette fois ci dans un bain Marie avec agitation durant les 4 premières heures, puis placé à l'étuve à 37°C. Des échantillons de 1ml de chaque Erlen-Meyer sont prélevés approximativement toutes les heures puis chaque 2 h (à partir de la dixième heure) de façon à suivre le devenir des cultures pendant 50 h.

Pour chaque germe on répète l'expérience ci décrite pour la deuxième fois.

Dés l'ajout des plages de lyses, la densité des suspensions bactériennes est estimée à chaque fois que nous mesurons l'absorbance (la turbidimétrie) ce qui nous permet de tracer des courbes correspondant à chacune des bactéries.

5. 2. Estimation indirecte :

Dans deux Erlen-Meyer contenant chacun 50ml de bouillon nutritif, nous avons ensemencé avec une anse de platine ou une pipette Pasteur stérile le germe étudié à partir de sa culture pure. L'ensemble est incubé à 37°C pendant 12 h.

L'une de ces deux Erlen-Meyer est un témoin, alors que l'autre est additionnée après 12 h d'incubation de trois plages de lyses de *Bdellovibrio* (issues de la troisième purification dont chacune est d'environ 2 mm de diamètre) qui ont été bien purifiées et sélectionnées à partir du milieu YP contenant la même bactérie qui a été inoculée dans l'Erlen-Meyer témoin.

À chaque fois le nombre de cellules viables est estimé par la méthode de colimétrie, car les espèces choisies pour les étudiées appartenant aux groupes de coliforme. Ce qui nous permet de suivre l'évolution de leurs courbes de croissances correspondantes.

Des échantillons de 1 ml sont prélevés de chaque Erlen-Meyer dès l'ajout des plages de lyses (t₀), approximativement toute les 24 heures pendant 10 jours successifs.

Chaque millilitre prélevé sert à réaliser jusqu'à 11 dilutions décimales successives en utilisant des tubes de 9ml d'eau distillée stérile. Puis à partir de chaque suspension mère et ses dilutions nous avons inoculé 3 tubes de bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol à simple concentration avec cloche.

L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24 heures ou 48 heures selon le cas.

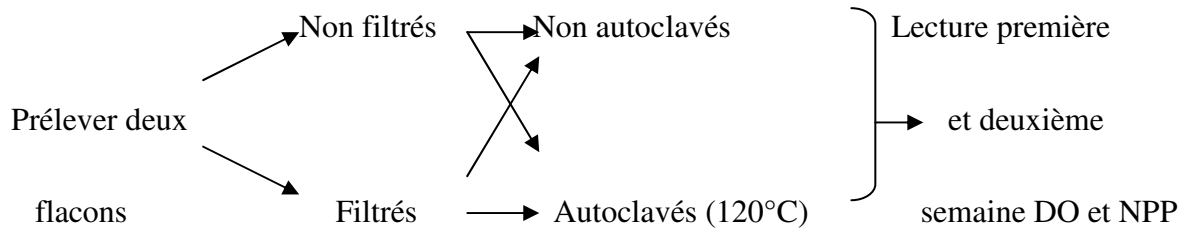


Fig.3.3. Détermination du pouvoir bactériolytique de l'eau du Lac des Oiseaux.

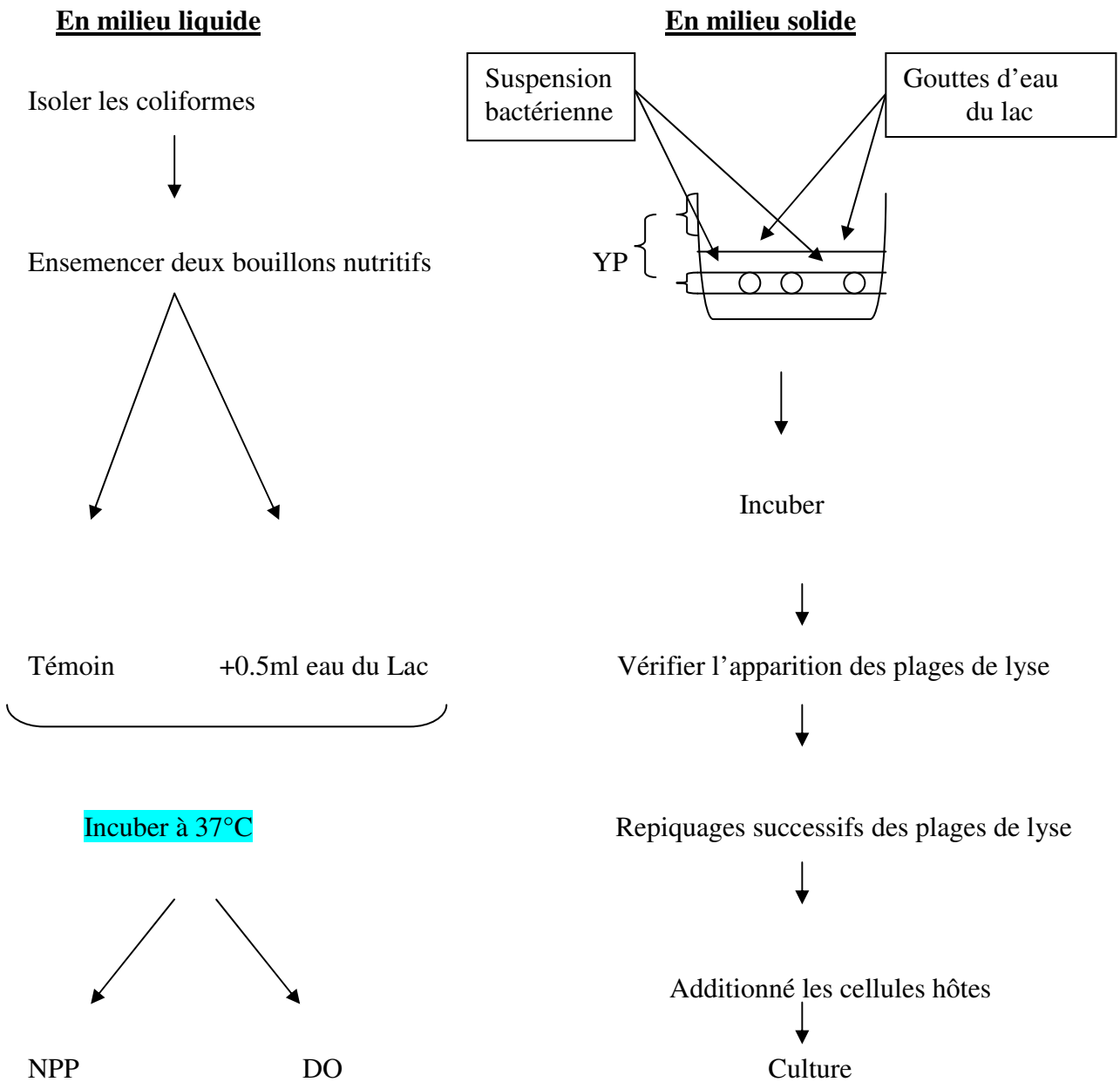


Fig.3.4. Détermination du pouvoir bactéricide de l'eau du Lac des Oiseaux

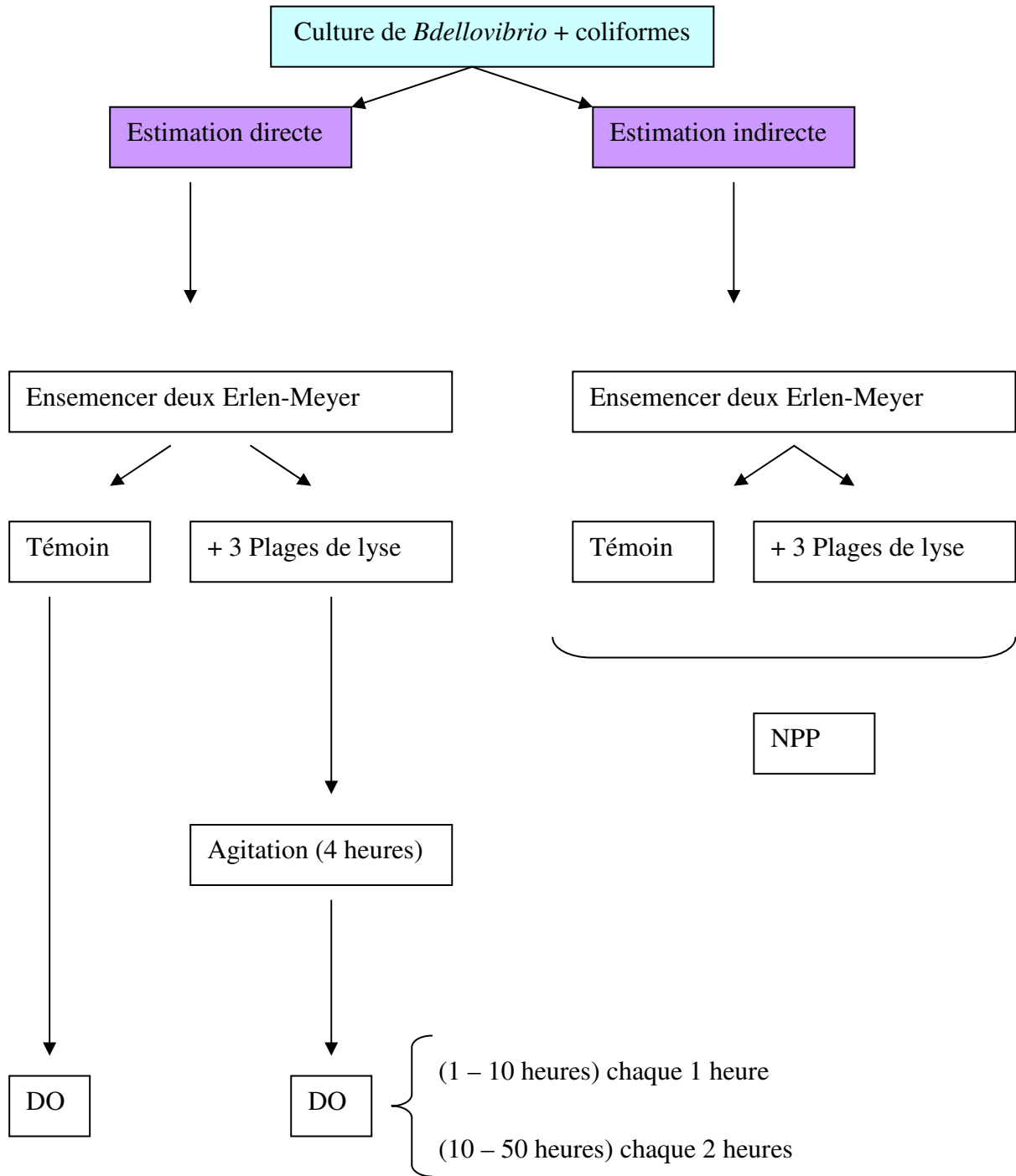


Fig.3.5. Etude du rôle de *Bdellovibrio* dans la lyse des Entérobactéries.

Chapitre IV

1. Analyses physico-chimiques :

La qualité physico-chimique des eaux est déterminée à partir de mesures ponctuelles et non continues. Il est donc possible que les prélèvements soient réalisés dans des conditions exceptionnelles (aussi bien favorables que défavorables) et peu représentatives du véritable état du milieu.

1.1. La couleur apparente :

La couleur peut être d'origine minérale ou organique. Les éléments minéraux susceptibles de colorer l'eau sont le fer (teinte rougeâtre) et le manganèse (teinte noirâtre). Les substances organiques qui donnent une coloration à l'eau sont nombreuses. On peut penser aux algues, à la décomposition de végétaux, aux tannins et aux lignines [7].

On n'a constaté que l'eau du Lac des Oiseaux été colorée presque durant toute la période de notre étude. Cette couleur s'est intensifiée à partir du mois de novembre surtout en période de crue ou cette eau a pris une couleur jaune à brune, mais à partir du mois d'avril on a constaté que l'eau redevient un peu claire.

L'eau colorée présente des inconvénients, indépendamment des problèmes esthétiques. Les substances qui donnent la coloration à l'eau peuvent former des chélates avec des ions métalliques. La couleur peut aussi suggérer la présence d'impuretés organiques.

1.2. La turbidité :

La turbidité est liée à la présence de particules en suspension dans l'eau qui diffusent la lumière dont le limon, l'argile, les matières organiques et inorganiques en fines particules. Certaines conditions météorologiques peuvent modifier la turbidité de l'eau; les hautes chaleurs en été, la pluviométrie sont des facteurs qui augmentent la turbidité [7].

L'eau du lac été trouble durant toute la période hivernale et cela est due à la pluviométrie.

1.3. La Température

La température de l'eau est principalement fonction de celle ambiante (Boukrouma, 2008). Celle-ci est très variable dans le temps. Ces variations sont directement liées au jour et à l'heure des prélèvements généralement effectués entre 07 h et 11h.

Elle est moyenne au début de notre étude ($T=15^{\circ}\text{C}$) puis elle chute dès le mois de décembre pour se réduire à ($T=7^{\circ}\text{C}$) au mois de janvier. Les valeurs élevées sont enregistrées à partir du mois de mars avec un maximum atteint pendant le mois d'Avril ($T = 24.5^{\circ}\text{C}$) (Fig.4.1).

Les variations de température affectent certaines propriétés de l'eau, comme la solubilité de l'oxygène ou la vitesse des réactions chimiques de dégradations et de minéralisation des matières organiques. Les réactions de dénitrification cessent à 3°C , elles reprennent à 5°C et sont cinq fois supérieures à 20°C quand les conditions d'oxygénation le permettent (Martin, 1979).

Sur le plan développement des microorganismes, particulièrement les bactéries et du point de vue physicochimique, elles influencent directement l'évapotranspiration, ce qui favorise la minéralisation et l'augmentation des concentrations des éléments dans l'eau. L'augmentation de la température favorise également le développement des algues et des végétaux aquatiques en liaison avec l'enrichissement du milieu en éléments nutritifs.

Les températures de l'eau enregistrées traduisent ainsi une qualité moyenne (Tab. 4.1).

Tab 4.1. Grille d'appréciation de la qualité des eaux de rivières (Monod, 1989):

Intervalle de température	Qualité des eaux	Classe
< à 20°C	normale	1A
20°C à 22°C	bonne	1B
22°C à 25°C	moyenne	2
25°C à 30°C	médiocre	3
> à 30°C	mauvaise	4

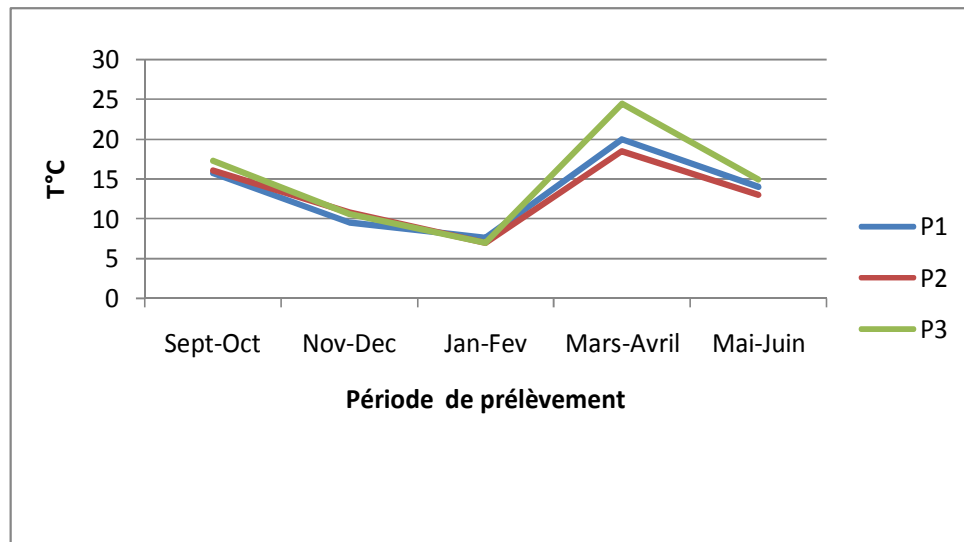


Fig.4.1. Variations de la température de l'eau du Lac des Oiseaux.

1.4. Le pH :

Le pH doit être compris entre 5 et 9 pour permettre un développement normal de la faune et de la flore.

L'eau du Lac les Oiseaux a présentée pendant toute la période de l'étude des valeurs de pH qui fluctuent entre (7 et 10). Le maximum est enregistré pendant le mois de septembre (9.5) tandis le minimum est enregistré pendant le mois de janvier (Fig.4.2). Ce pH de l'eau alcalin est favorable à la vie aquatique riche et diversifiée (Nisbet et Verneaux ,1970).

La valeur du pH dépend de la conductivité ; les eaux les plus minéralisées ont un pH élevé. Dans les eaux naturelles, elle dépend aussi des roches rencontrées par la rivière (en milieu calcaire, le pH est assez basique, tandis que dans une région granitique, il est acide).

Le pH est aussi un facteur très important sur la cinétiques des réactions chimiques (ammonification ; nitrification ; dénitrification) .La dénitrification est complète lorsque le pH est supérieur à 7 avec une vitesse de réaction optimale au alentour de 8 à10.

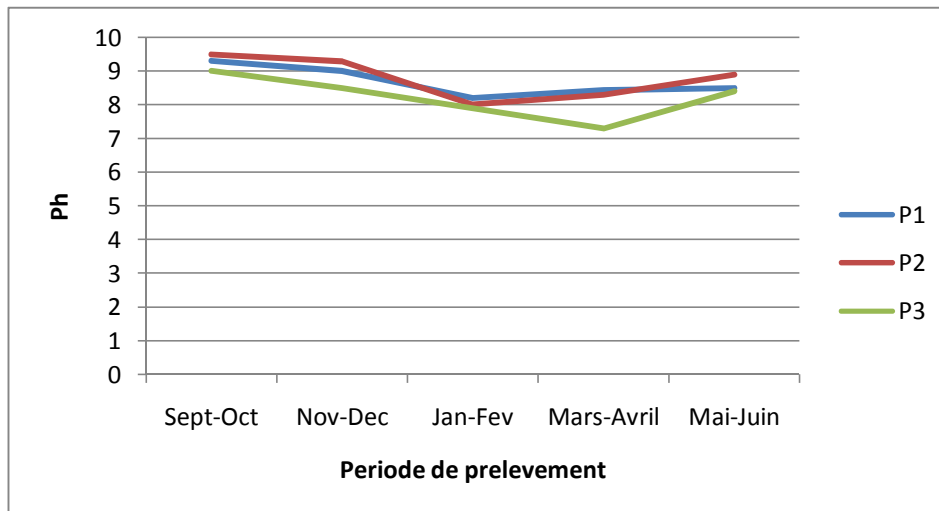


Fig.4.2. Variations spatio-temporelles des pH de l'eau du Lac des Oiseaux.

1.5. La conductivité électrique :

Elle est proportionnelle à la quantité de sels minéraux dissous dans l'eau et sa mesure permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau (Rodier, 1984). Une conductivité électrique élevée est signe de pollution d'un écosystème aquatique. La conductivité électrique permet d'avoir une idée de la salinité de l'eau. Elle traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée.

Comme le pH, les valeurs de la conductivité varient pendant toute la période de l'étude entre (400 et 1000 μ S/cm). Les valeurs les plus élevées sont enregistrés pendant le mois de septembre (973 μ S/cm) et le minimum est enregistré pendant le mois de janvier (450 μ S/cm) (Fig. 4.3). Ces valeurs vérifiant une minéralisation importante dont l'origine principale sont les rejets des eaux usées du village qui l'avoisine et aussi une accumulation de celles des terres agricoles.

Tab 4.2.Grille de la qualité des eaux de rivières de l'Agence du Bassin Adour Garonne (Monod, 1989) :

Conductivité électrique CE _{20°C} (μ S/cm)	Qualité des eaux	classe
CE _{20°C} < 400	Bonne	1A
400 < CE _{20°C} < 750	Bonne	1B
750 < CE _{20°C} < 1500	passable	2
1500 < CE _{20°C} < 3000	médiocre	3

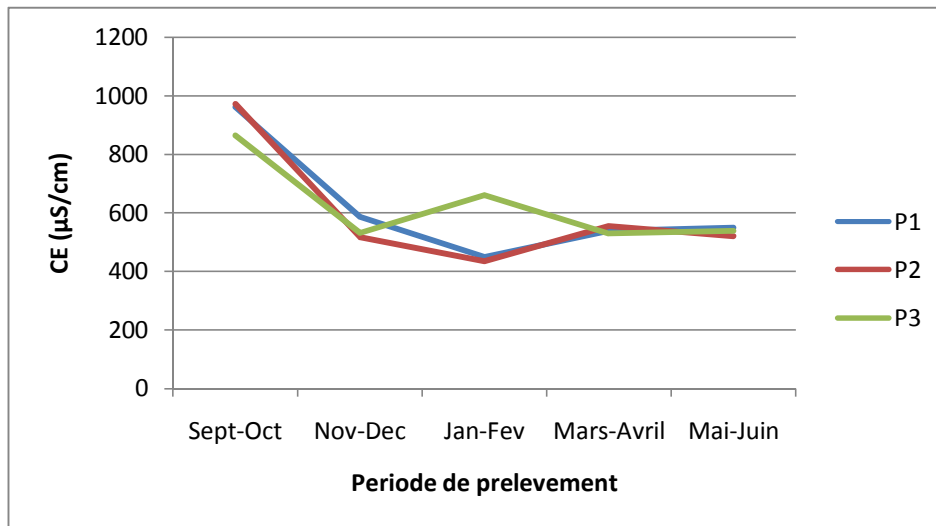


Fig.4.3. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Lac des Oiseaux

1.6. La Salinité :

Les résultats de la salinité confirment celles de la conductivité. Des valeurs nulles sont enregistrées pendant le mois d'avril et des valeurs élevées pendant le mois de septembre (1.2 g/l)

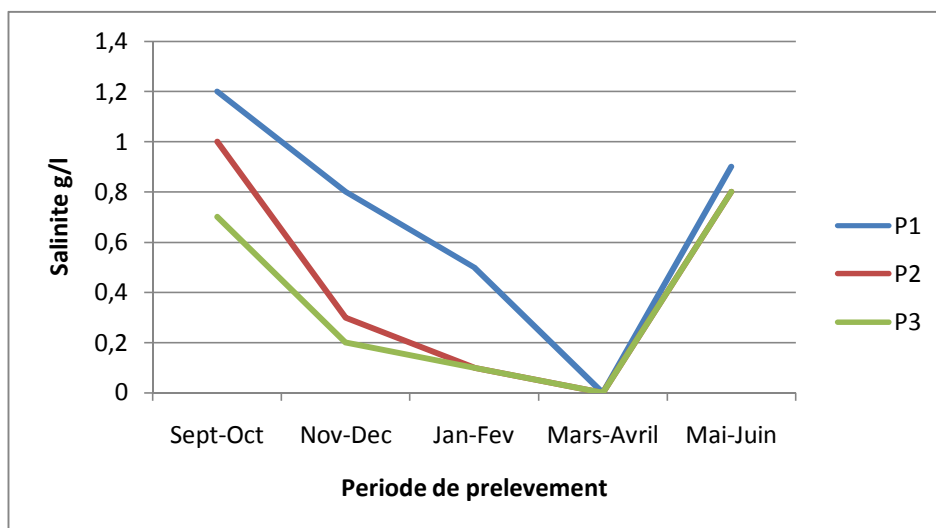


Fig.4.4. Variations de la salinité de l'eau du Lac des Oiseaux.

1.7. L'oxygène :

L'oxygène est un des facteurs fondamentaux de la vie. Sa présence dans les eaux joue un rôle primordial dans le maintien de la vie aquatique, et donc dans les phénomènes de l'autoépuration (dégradation de la matière organique) et de la photosynthèse.

La teneur en dioxygène dépend de la respiration des organismes aquatiques, de la dégradation des polluants (consommation) et de l'activité de photosynthèse de la flore (production). Il constitue un excellent indicateur du fonctionnement d'un plan d'eau à différents titres :

-Sur le plan physique (indicateur de pollution) : les matières minérales et organiques réduites sont oxydées biologiquement et font diminuer la concentration en oxygène dissous. Une eau appauvrie en O₂ peut à ce titre être considérée comme polluée.

-Sur le plan biologique : l'oxygène présent dans l'eau est vital aux organismes vivants. L'oxygène dissout provient en majeure partie de l'atmosphère. Une autre partie de l'oxygène est produite par les plantes aquatiques durant le jour car la nuit c'est le processus inverse qui se met en branle en produisant une consommation d'oxygène et une production de CO₂ par les plantes aquatiques.

En examinant le graphe illustré par la figure suivante, nous observons qu'il y'a des variations spatiales significatives dans le même site durant la période d'étude dont le maximum est enregistré pendant le mois de janvier (120%) et le minimum pendant le mois de mars (45%) (Fig. 4.5).

L'oxygène a la capacité de se dissoudre beaucoup plus facilement dans les eaux froides. Plus la température de l'eau du lac est élevée, plus la concentration de l'oxygène dissout dans cette eau aura tendance à diminuer. Les rejets domestiques contribuent à la diminution de la teneur en oxygène, ce dernier étant consommé par les microorganismes pour dégrader la matière organique. Quand la température est favorable, l'apport de nutriment par les effluents participe d'abord à un effet de sursaturation à la suite du développement, de végétaux verts, puis à la fin du cycle végétatif à un déficit qui peut être sévère pour la survie des organismes dont les macro-invertébrés benthiques et par conséquent pour l'équilibre de l'écosystème lacustre.

Le pourcentage de saturation en dioxygène (qui est fonction de la température de l'eau) permet de déterminer la qualité de l'eau. Il est à noter que la situation devient critique entre 50 et 30% de saturation et elle devient dangereuse entre 30 et 10% et elle est létale pour la faune aquatique si le pourcentage est inférieur à 10%.

Tab 4.3. La qualité des eaux d'après la grille de l'Agence du Bassin Adour Garonne (Monod, 1989) :

Oxygène dissous (mg/l) Oxygène de saturation (%)	Qualité des eaux	classe
> 7 mg/l → >90%	Normale	1A
entre 5 et 7mg/l → 70% à 90%	Bonne	1B
entre 3 et 5 mg/l → 50% à 70%	Moyenne	2
< 3mg/l → < 50%	Médiocre	3

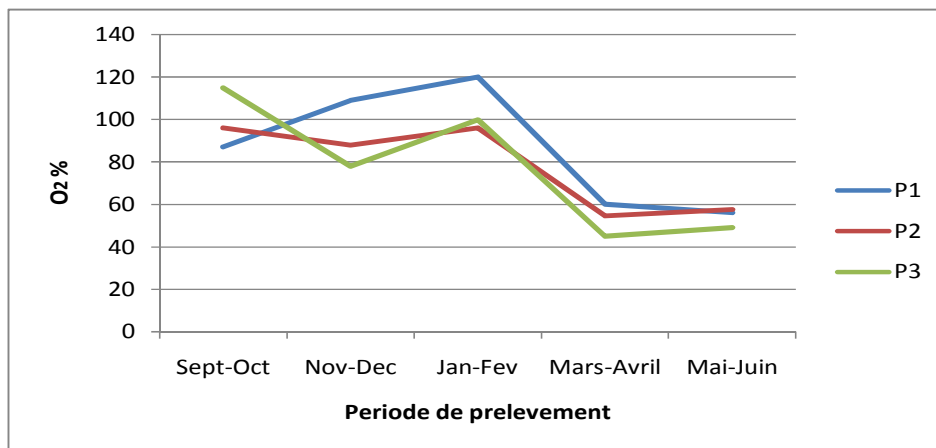


Fig.4.5. Variations des teneurs de l'oxygène dissous en (%) de l'eau du Lac des Oiseaux.

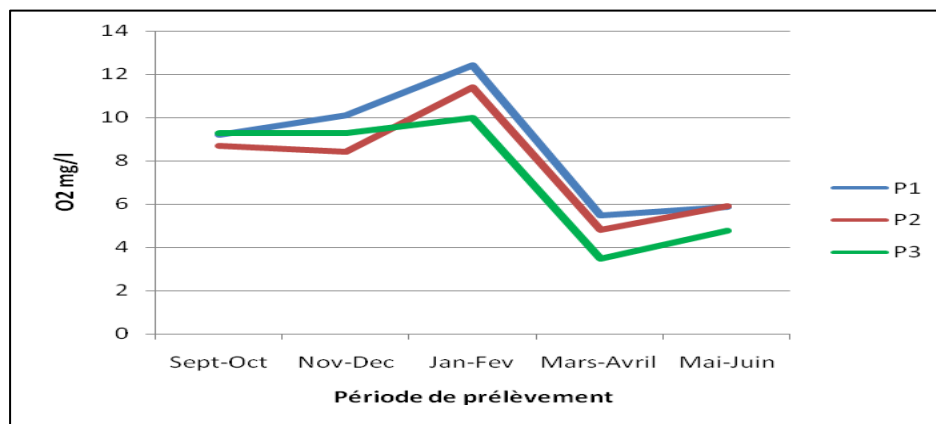


Fig.4.6. Variations des teneurs de l'oxygène dissous (en mg/l) de l'eau du Lac des Oiseaux

1.8. La Demande Biochimique en Oxygène DBO₅ :

L'effet principal d'un rejet des matières organiques biodégradables dans le milieu naturel est la consommation de l'oxygène qui en résulte. L'oxygène est alors un élément fondamental du maintien et du développement de la flore et de la faune présentes dans le milieu naturel. La détermination de la DBO₅ a donc pour but d'évaluer cette nuisance et d'estimer ses effets (Rejsek, 2002).

Les valeurs de la DBO₅ du lac fluctuent entre 10 et 25 (mg/l O₂) (Fig. 4.7). Pour (Nisbet et Verneaux, 1970) la DBO₅ ne doit en aucun cas être considérée comme unique critère d'estimation de la qualité d'eau, étant donné qu'elle se trouve, sauf dans de très cas de pollution organiques strictes.

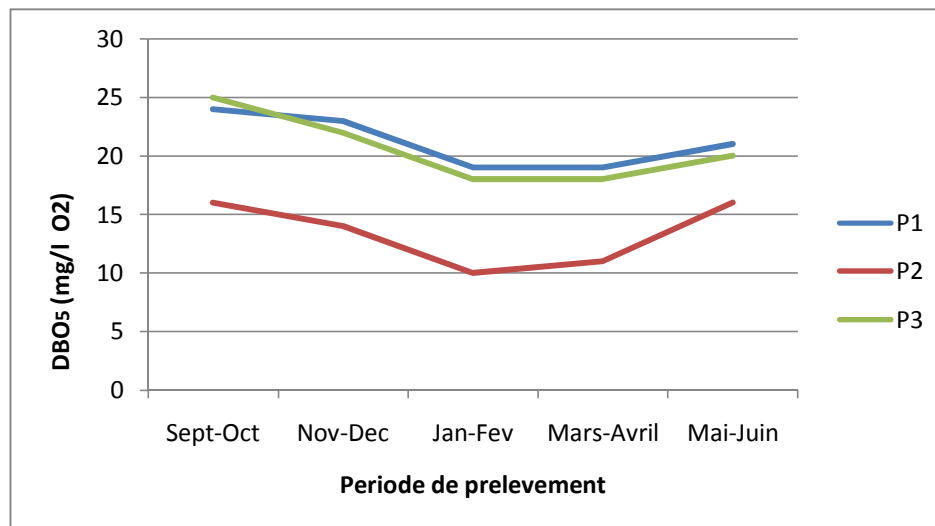


Fig.4.7. Variations spatio-temporelles de la demande biochimique en oxygène DBO₅ dans l'eau du Lac des Oiseaux

1.9. L'Ortho phosphate :

Les matières phosphorées sont des nutriments pour le développement des bactéries et des végétaux et qui sont considérées comme les facteurs de maîtrise de la croissance du phytoplancton dans les eaux continentales.

Les valeurs du PO₄ varient entre (0 et 0.4 mg/l). Elles chutent dès le mois de janvier et deviennent même nulle pour le site 1 puis ces valeurs augmentent rapidement à partir du mois de mars avec un maximum atteint durant le mois d'avril (0.4 mg/l) (Fig. 4.8).

Le phosphore existe sous deux formes principales : le phosphore minéral ou le phosphore organique. La pollution par les matières phosphorées résulte essentiellement des rejets urbains (rejets de stations d'épuration et pertes par les réseaux d'assainissement), des rejets industriels et de l'agriculture. Le phosphore est considéré comme l'élément essentiel d'apparition de l'eutrophisation : phénomène de production végétale excessive due à des fertilisants (tel que le phosphore et le nitrate) mais aussi à la quantité d'ensoleillement, la température et la vitesse du courant ; il en résulte un appauvrissement du milieu en oxygène dissout.

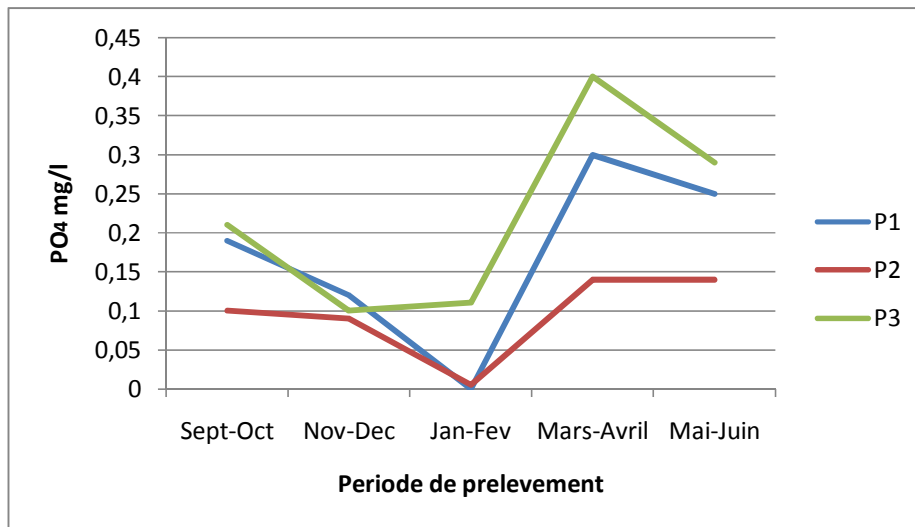


Fig.4.8. Variations des concentrations de PO_4^{-3} dans l'eau du Lac des Oiseaux

1.10. Azote ammoniacal NH_4^+ :

L'ion ammonium correspond à la forme réduite de l'azote. Ce composé azoté est caractéristique des eaux résiduaires où il est associé à l'azote organique. Dans des conditions d'oxygénation normale, cet élément est oxydé en nitrites puis en nitrates. Ce n'est pas la forme ionisée (NH_4^+) qui est toxique, mais la forme non ionisée (NH_3). La transition vers cette forme non ionisée dépend du pH, de la température et du taux d'oxygène. A fortes doses, l'azote ammoniacal et organique peut être toxique pour la biocénose (faune et flore) du milieu récepteur. Pourriot et Meybek (1995), considère que les eaux naturelles ont une teneur de l'ordre de 0.015mg/l en NH_4 . En générale une eau bien oxygénée ne contient que des traces d'ammoniaque.

Les valeurs en azote ammoniacal oscillent entre (0.05 et 0.3 g/l). La partie sud du lac est la plus touchée car elle représente le point de déversement des eaux usées dans le site (Fig. 4.9).

Les sites pollués par la matière organique sont aussi pollués par l'ammonium dont les teneurs augmentent avec l'augmentation de la température et la diminution de l'oxygène dissous (Martin 1979).

Tab 4.4. Grille d'appréciation de la qualité des eaux (Masson ,1988)

Teneur en azote ammoniacal (NH ₄) mg/l	Qualité des eaux	Classe
< 0.07	normale	1A
0.07 < NH ₄ < 0.38	Bonne avec des signes de pollution.	1B
0.38 < NH ₄ < 1.54	Passable avec une pollution nette.	2
1.54 < NH ₄ < 6.2	>Médiocre, la pollution est importante	3
> 6.2 NH ₄	Mauvaise la pollution est excessive.	4

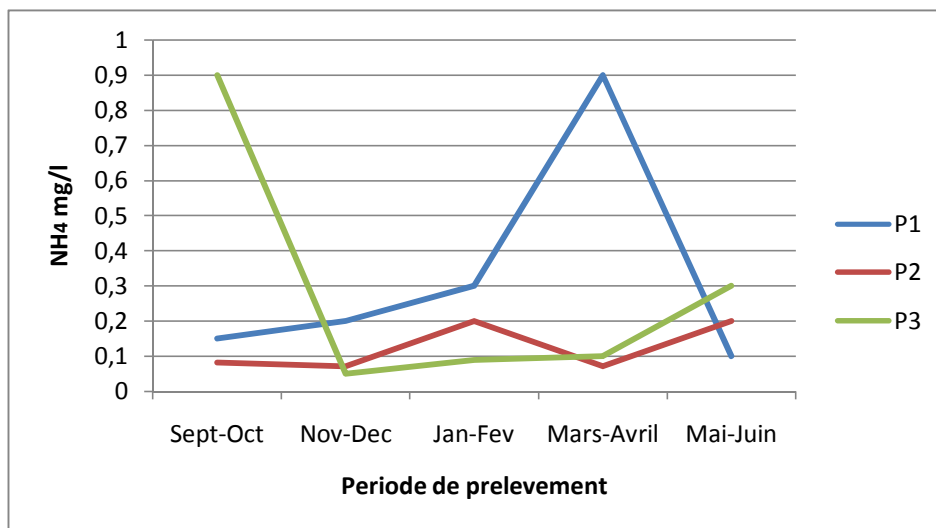


Fig.4.9. Variations spatio-temporelles des teneurs d'ammonium dans l'eau du Lac des Oiseaux.

1.11. Azote des nitrites :

L'ion nitrate est la principale forme d'azote inorganique trouvée dans les eaux naturelles. L'ion nitrite s'oxyde facilement en ion nitrate et se retrouve ainsi rarement en concentrations importantes dans les eaux naturelles.

Les nitrites instables ne se maintiennent que lorsque le milieu n'est pas suffisamment oxydé et leur présence indique un état critique de pollution organique. Ils proviennent de deux processus :

- oxydation incomplète de l'azote ammoniacal (nitrification incomplète)
- réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante.

Les valeurs des nitrites varient entre (0.02 et 0.4 g/l). La valeur la plus élevée est enregistrée pendant le mois de janvier au niveau du site 1 qui diminue aussitôt. La valeur la plus faible est enregistrée durant le mois de septembre au niveau du site 3 qui augmente progressivement jusqu'à atteindre son maximum durant le mois de juin (Fig.4.10).

Tab 4.5. Grille de la qualité des eaux naturelles appliquée par l'Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (ANRH)

Teneurs en nitrites NO ₂ mg/l	Qualité des eaux	Classe
<0.1	Excellente	1A
0.1<NO ₂ < 0.3	Bonne	1B
0.3<NO ₂ < 1	Passable	2
1<NO ₂ <2	Médiocre	3
> 2	Excessive	4

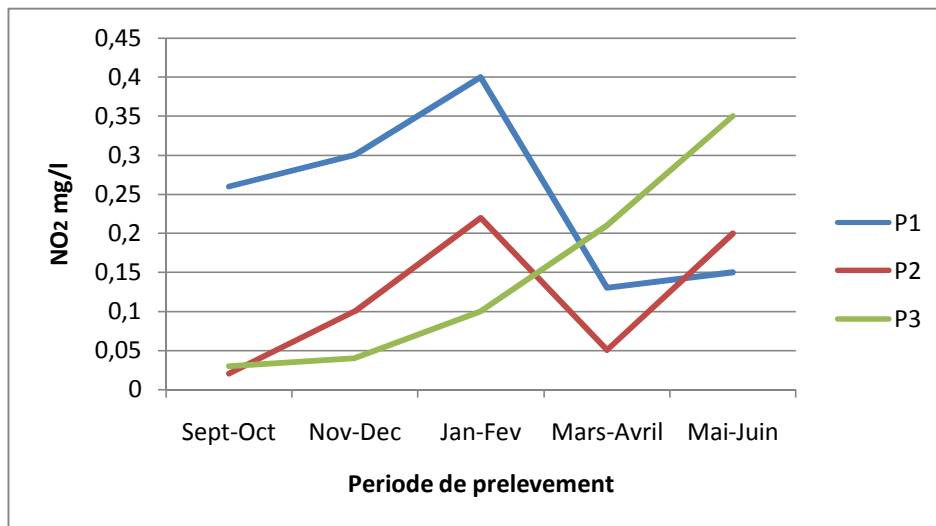


Fig.4.10. Variations spatio-temporelles des teneurs des nitrites dans l'eau du Lac des Oiseaux

1.12. Les nitrates :

Les nitrates sont en effet l'élément chimique majeur qui conditionne la vie des microorganismes dans un écosystème aquatique (Faurie, 2003). Les bactéries ont toujours besoin de sources azotées pour synthétiser leurs protéines. Les nitrates sont à la fois des nutriments pour la croissance des végétaux et une contrainte pour la production d'eau potable.

Les taux de cette élément varie dans le lac entre (0.03 et 0.85 mg/l). Le maximum est enregistré pendant le mois de janvier (pluviométrie élevée et effet de ruissèlement) tandis que le minimum est noté pendant le mois de septembre (Fig. 4.11).

La pollution par les nitrates provient des rejets directs (urbains et industriels) mais aussi des rejets agricoles, par le lessivage des sols à l'occasion d'épisodes pluvieux. Les nitrates contribuent avec le phosphore à l'apparition des phénomènes d'eutrophisation.

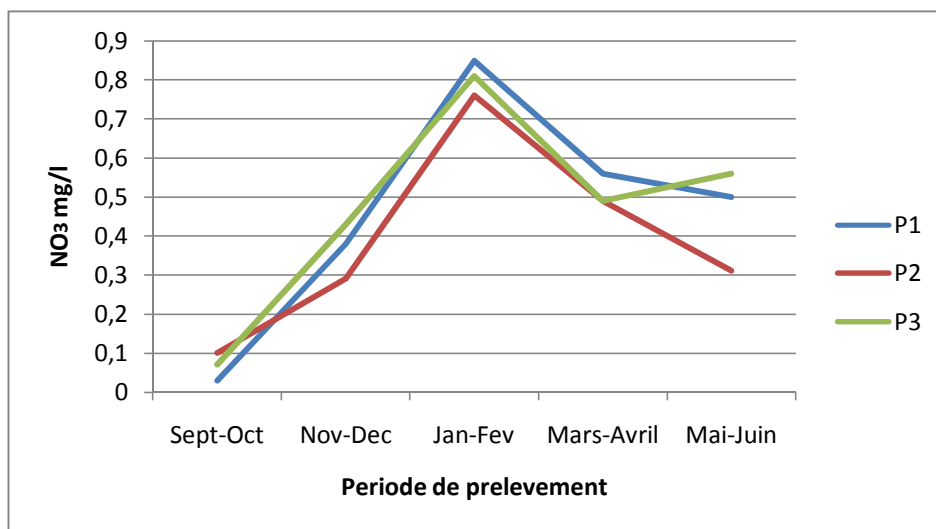


Fig.4.11. Variations spatio-temporelles des teneurs des nitrates dans l'eau du Lac des Oiseaux

2. Analyses microbiologiques :

L'eau doit être exempte de bactéries et de virus pathogènes. Elle ne doit pas non plus contenir des "germes tests" de contamination fécale car ceux-ci, bien qu'inoffensifs, signalent la présence de germes pathogènes. Par contre, la présence de germes banals est admise dans l'eau. Les germes pathogènes peuvent entraîner des infections sans gravité comme la diarrhée mais aussi des infections graves voire mortelles comme la méningite ou le choléra [8].

2. 1. Résultats des dénombrements des microorganismes de l'eau :

Bien qu'il soit très difficile à dénombrer, les germes totaux présentent des valeurs de dénombrement sont très élevés pendant toute la période d'étude et montre que l'eau du Lac des Oiseaux est non potable et donc impropre à la consommation et à l'irrigation. Les résultats des dénombrements sont exprimés en UFC/ml.

Tab.4.6. Résultats des NPP pour les germes totaux /ml à 37 °C.

Germes totaux /ml C°	Sept- Oct	Nov- Déc	Jan- Fév	Mars- Avril	Mai- Juin
P1	411. 10 ⁶	290. 10 ⁴	130. 10 ⁵	370. 10 ⁵	460. 10 ⁵
P2	370. 10 ⁶	380. 10 ⁴	200. 10 ⁵	508. 10 ⁶	550. 10 ⁶
P3	450. 10 ⁶	400. 10 ⁴	490. 10 ⁵	589. 10 ⁸	201. 10 ⁸

Dans les trois points de prélèvements, les germes totaux à 37°C sont très importants. Le minimum (290.10⁴ germes/ml) est dénombré au mois décembre, tandis que le maximum (110. 10⁷ germes/ml) est dénombré pendant le mois d'avril. Le site 3 est cependant la plus riche en micro-organismes (fig 4.12).

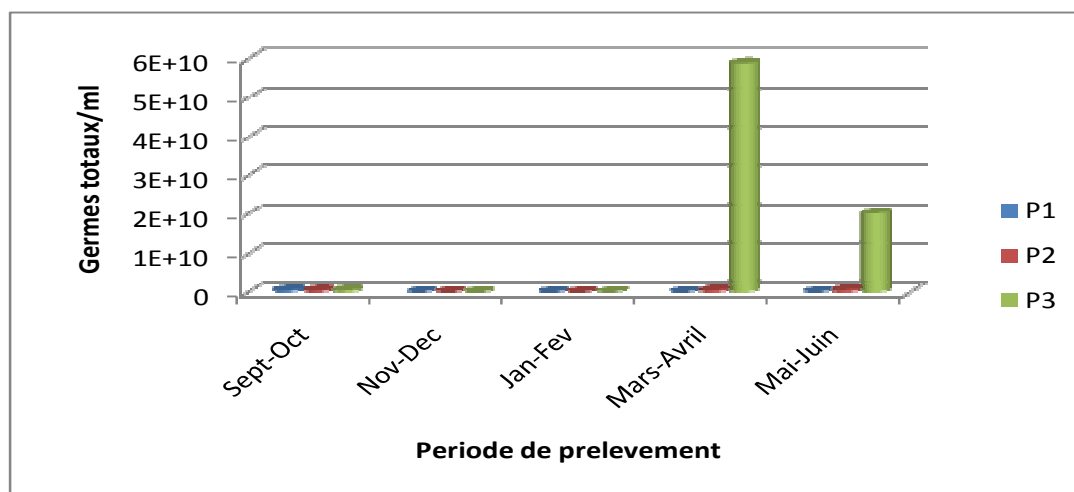


Fig.4.12. Evolution des germes totaux dans l'eau du Lac des Oiseaux

Tab.4.7. Résultats des NPP pour les Coliformes Totaux/ml

Coliformes Totaux/ml	Sept- Oct	Nov- Déc	Jan- Fév	Mars- Avril	Mai- Juin
P1	$160. 10^5$	$450. 10^2$	$450. 10^3$	$450. 10^3$	$0.4. 10^6$
P2	$240. 10^5$	$250. 10^3$	$25. 10^5$	$25. 10^6$	$0.7. 10^7$
P3	$240. 10^5$	$450. 10^3$	$45. 10^6$	$110. 10^7$	$1.5. 10^8$

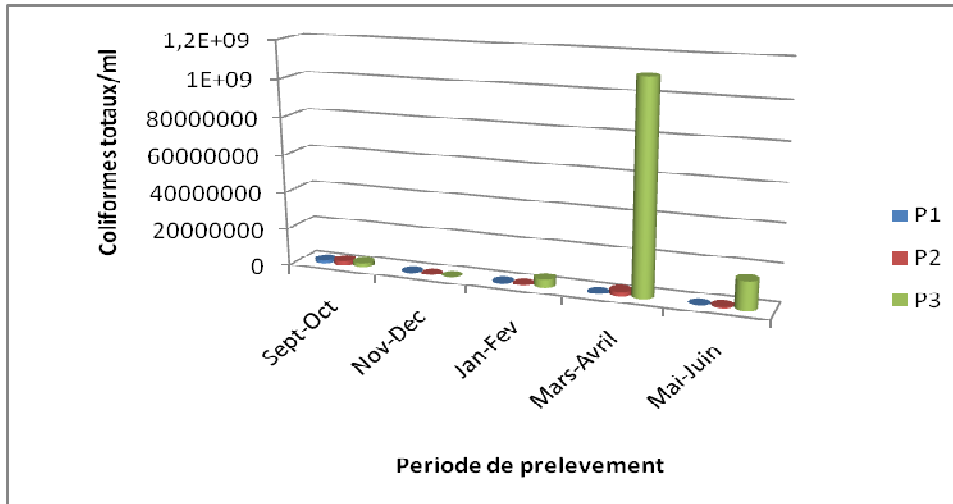


Fig.4.13. Evolution des coliformes totaux dans l'eau du Lac des Oiseaux

Les coliformes sont des Entérobactéries capable de dégrader le lactose. Leur présence dans l'eau est depuis longtemps considérée comme un bon indice de contamination fécale. Leur dénombrement dans le Lac Des Oiseaux a révélé une variation spatio-temporelle très importante (Fig.4.13). Les taux sont toujours supérieurs aux normes internationales et les dénombrements restent élevés et c'est toujours le site 3 qui renferme les nombres les plus importants du fait qu'il récolte directement l'eau de l'égout du village Lac des Oiseaux.

Tab.4.8. Résultats des NPP pour les coliformes fécaux/ml

Coliformes fécaux/ml	Sept- Oct	Nov- Déc	Jan- Fév	Mars- Avril	Mai- Juin
P1	10000	$4.5. 10^3$	$15. 10^3$	$2. 10^5$	$1.5. 10^5$
P2	12000	$7.5. 10^3$	$110. 10^4$	$2. 10^5$	$4. 10^5$
P3	14000	$9.5. 10^3$	$30. 10^4$	$7.5. 10^7$	$1.5. 10^6$

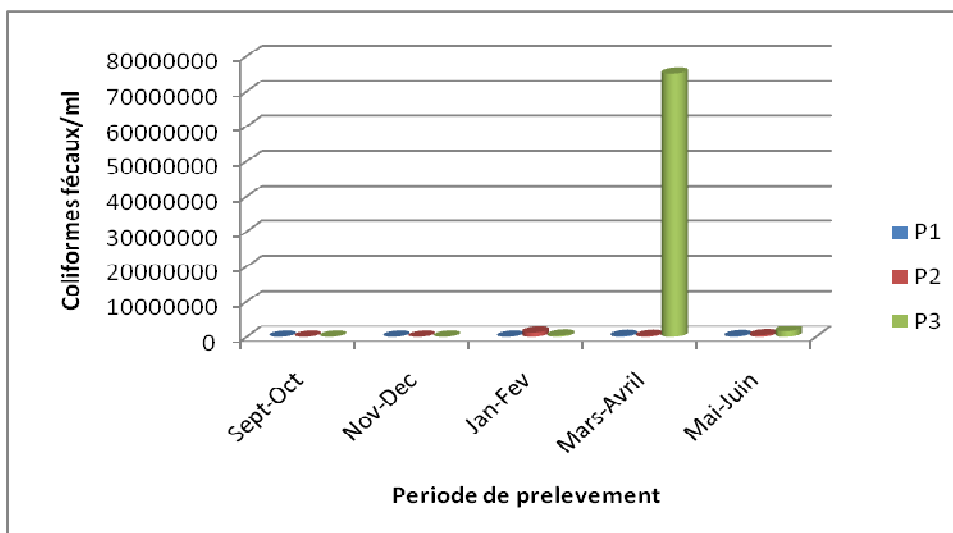


Fig.4.14. Evolution des coliformes fécaux dans l'eau du Lac des Oiseaux

Les coliformes fécaux qui présentent la faculté de dégrader le lactose à une température de 44°C (coliformes thermotolérants) indiquent une contamination récente due à la fréquentation du lac par les animaux (avifaune).

Les coliformes fécaux présentent des valeurs inférieures à celle des coliformes totaux, car les coliformes fécaux préfèrent des températures plus élevées.

Le dénombrement des coliformes augmente à partir du mois de janvier. Le taux le plus élevé est marqué au cinquième prélèvement au niveau du troisième site ($1.5 \cdot 10^8$ germes/ml) pour les coliformes totaux, et au quatrième prélèvement au niveau du même site ($7.5 \cdot 10^7$ germes/ml) pour les coliformes fécaux (figs .4.13 et 4.14).

Tab.4.9. Résultats des NPP pour les Streptocoques fécaux/ml

Streptocoques fécaux/ml	Sept- Oct	Nov- Déc	Jan- Fév	Mars- Avril	Mai- Juin
P1	$4.3 \cdot 10^3$	$1.5 \cdot 10^2$	$9.5 \cdot 10^3$	$2.5 \cdot 10^4$	$4.5 \cdot 10^3$
P2	$1.5 \cdot 10^3$	$2.5 \cdot 10^2$	$4.5 \cdot 10^4$	$4.5 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^4$
P3	$7.5 \cdot 10^3$	$9.5 \cdot 10^2$	$4.5 \cdot 10^4$	$4.5 \cdot 10^5$	$2.5 \cdot 10^5$

Les streptocoques du groupe D (streptocoques fécaux) ou les entérocoques, ce sont des germes non pathogènes très sensibles aux variations physicochimiques du milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils s'adaptent difficilement en dehors de leur milieu habituel et exclusif qui est l'intestin). Leur présence est étroitement liée à la quantité et à la concentration de la matière fécale dans l'eau. Dans le Lac des Oiseaux son origine est aviaire.

Tel, les coliformes (totaux et fécaux), leurs taux sont élevés vers la fin de l'étude comme si, ils résultent de l'augmentation de la température du milieu. Ils présentent une allure de graphes semblables aux trois premiers, le point 3 est celui qui contient les effectifs les plus élevés de streptocoques fécaux, dont le maximum est dénombré durant le mois d'avril et le minimum est noté pendant les mois de novembre- décembre dans le site 1 (Fig.4.15).

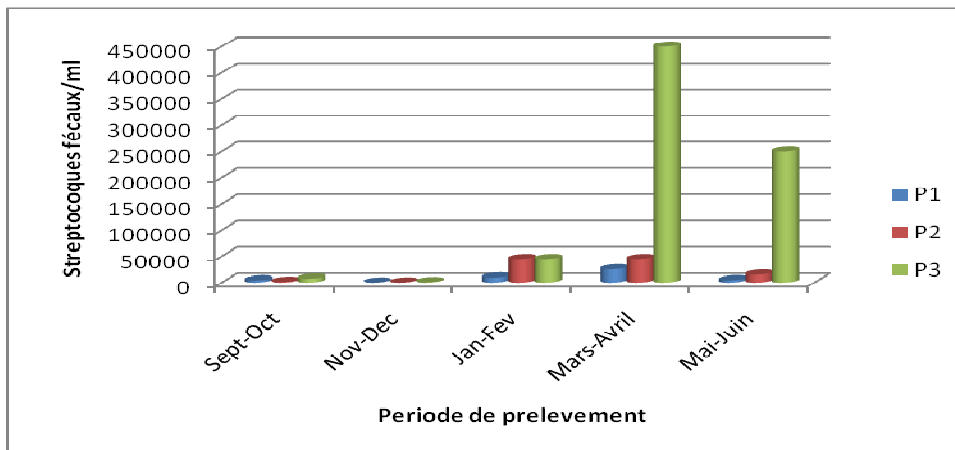


Fig.4.15. Evolution des Streptocoques fécaux dans l'eau du Lac des Oiseaux

2.2. Identifications des souches bactériennes:

2.2.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

La purification des colonies par le repiquage successive des colonies nous permet de distinguer les différents caractères de toutes les colonies sur leurs milieux d'isolement. Ces données sont résumées dans le tableau (4.10), et les photos présentées dans la figure (4.17) exposent quelques caractéristiques de certaines colonies isolées de l'eau de Lac des Oiseaux.

On constate du point de vue cytologique un grand pourcentage de bâtonnet Gram (-). Les cocci Gram (+) sont faiblement représentés. Des résultats plus ou moins semblables sont présentés dans les trois points de prélèvement durant toute la période d'étude.

NB : La couleur des colonies des clostridies sulfito-réductrices (halo noir) résulte de la réduction du sulfite. La présence de ces colonies n'est pas la preuve absolue d'une contamination fécale ancienne, car les clostridies peuvent aussi avoir une origine tellurique.



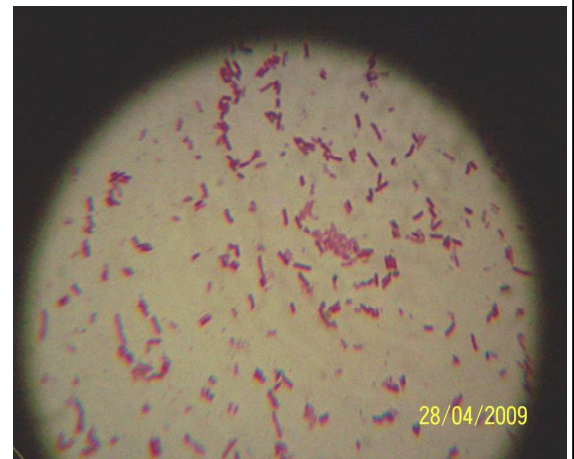
Fig.4.16. Aspect macroscopique des colonies des Clostridies sulfito-reductrices sur milieu VF.

Tab .4.10. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées de l'eau du Lac des Oiseaux.

	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique colonies
Gélose nutritive GN	<ul style="list-style-type: none"> -Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 2mm de diamètre -Dentelée, lisse, plate, opaque, blanche, 2mm de diamètre -Irrégulière, lisse, plate, jaune 1mm de diamètre -Ponctiforme, lisse, brillante, transparente. -Assez grande, plate, à contour dentelé, blanche légèrement transparente. 	<ul style="list-style-type: none"> -Bacilles isolés ou en chainettes, Gram négatif. -Cocci isolés, Gram positif. -Bacilles isolés, Gram négatif. - Bacilles isolés, Gram négatif. - Bacilles isolés, ou en chainette, Gram négatif.
Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> -Rose élevée, lisse brillante, circulaire, 1mm à 2 mm de diamètre -Bombée à contour irrégulier, d'aspect rigoureux, et de couleur blanchâtre. -Rose, clair, bombée, lisse, brillante, circulaire, 1mm de diamètre. 	<ul style="list-style-type: none"> -Bacilles isolés, Gram négatif.
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> -Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche. -Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les colonies au jaune brillant 	<ul style="list-style-type: none"> -Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.
Milieu VF	Colonies en halo noire	Bacilles isolés, Gram positif
Gélose Sabouraud	Petites colonies lisses et brillantes	Forme sphérique à ovoïde avec Bourgeoisements polaire et multipolaire, Gram positif



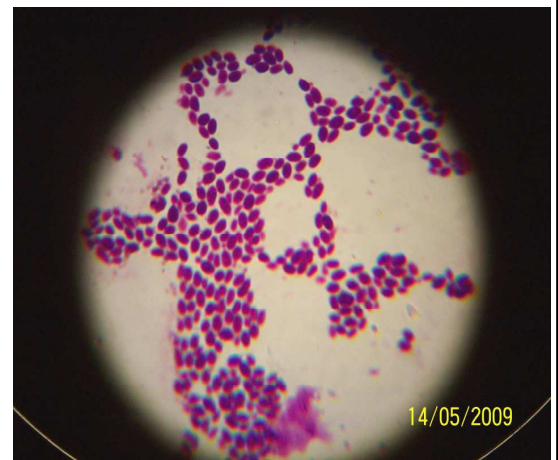
Souche d'*Enterobacteriaceae*



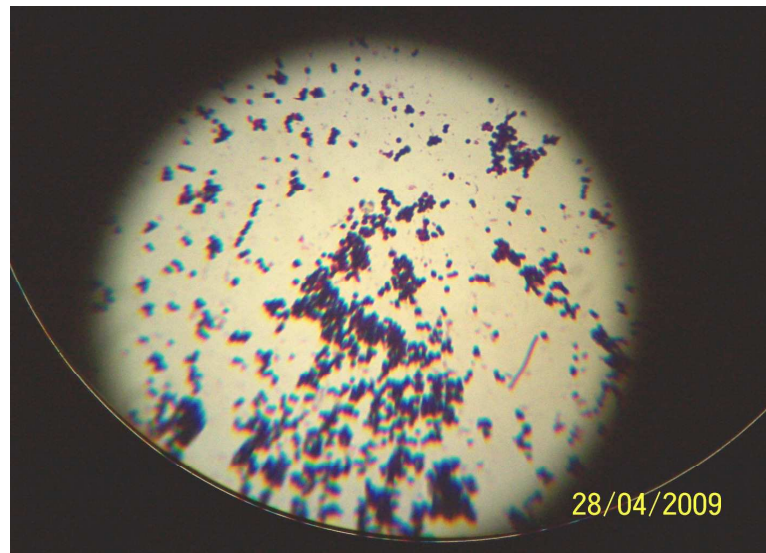
Souche d'*Escherichia coli*



Souche de *Clostridium*



Souche de levure



Souche de *Staphylococcus*

Fig.4.17. Observation microscopique de quelques souches bactériennes isolées.

2.2.2. Identification biochimique :

Ce type d'identification a été appliqué sur des germes (Lac+) isolés sur Mac Conkey et présentant des formes bacillaire, Gram (-) et qui sont suspectés d'être pathogènes.

L'identification biochimique a permis de détecter la présence des bactéries suivantes :

- ❖ *E. coli*
- ❖ *Klebsiella pneumoniae*
- ❖ *Klebsiella oxytoca* (5076773)
- ❖ *Salmonella arizonae* (7346573)
- ❖ *Citrobacter Freundii* (3643520)
- ❖ *Enterobacter cloacae* (3305572)
- ❖ *Enterobacter agglomerans*
- ❖ *Serratia* (5306523) spp.
- ❖ *Aeromonas hydrophila* (3246127).
- ❖ *Shigella boydii* (0144540)

Les staphylocoques ont été isolés dans tous nos prélèvements. Les figures suivantes (18, 19) représentent respectivement les résultats de l'identification biochimique des deux souches bactériennes (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) par le système l'API 20 E.



Fig.4.18. Galerie biochimique Api 20 E d'*E. coli*

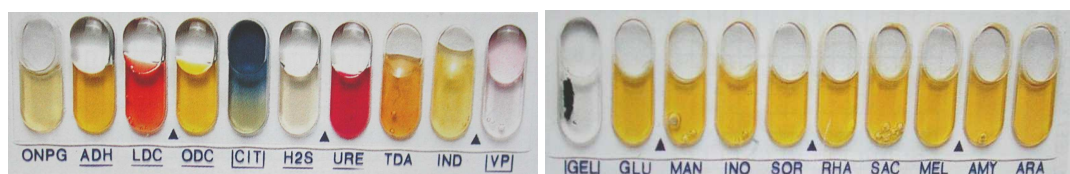


Fig.4.19. Galerie biochimique Api 20 E de *Klebsiella pneumoniae*

3. Appréciation du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du Lac des Oiseaux

3.1. Lecture de la densité optique :

Comme indiqué dans le chapitre 2 que l'eau est douée d'un pouvoir bactéricide et que les bactéries participent à ce pouvoir. Pour vérifier cette contribution au laboratoire, on a filtré les échantillons sur membranes filtrantes 0.45 μ m qui ne laissent passer que les microorganismes dont les tailles sont inférieures à ce diamètre soit les bactéries.

On a constaté pour l'eau non filtrée et filtrée (0.45 μ m) que les échantillons non autoclavés abandonnés au laboratoire sont devenus plus limpides après environ une semaine, pour les sites 2 et 3 et environ 8 jours pour site 1, alors que l'eau autoclavée a gardé son trouble initial durant les 2 semaines d'étude. Les résultats de variation de densité optique d'eau du lac non filtrée et filtrée (0.45 μ m) sont représentés respectivement dans les tableaux (4.11) (4.12) et les figures (4.20) (4.21).

Selon les résultats obtenus, on a observé que les densités optiques des tubes non autoclavés dans les deux cas (non filtrée et filtrée) diminuent considérablement après la première semaine pour l'eau non filtrée.

En effet, les densités optiques ne cessent à diminuer durant la deuxième semaine, mais les diminutions sont cette fois moins faibles par rapport à la première semaine. Par contre les densités des échantillons autoclavés n'ont pas vraiment changé durant les deux semaines.

Tab 4.11. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du Lac des Oiseaux autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Site 1	Site 2	Site 3	Site 1'	Site 2'	Site 3'
0	0.700	0.780	0.590	0.480	0.514	0.358
1	0.640	0.660	0.480	0.470	0.397	0.342
2	0.620	0.645	0.435	0.460	0.380	0.325

NB. Les résultats sont exprimés en moyennes des valeurs durant la première et deuxième semaine.

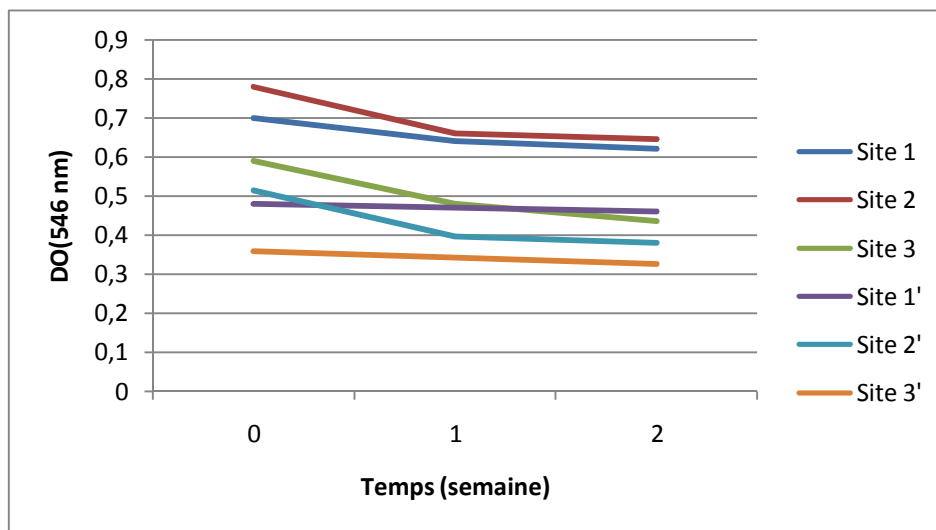


Fig. 4.20. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du Lac des Oiseaux autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Sites (1, 2 et 3) pour les échantillons non autoclavés.

Sites (1', 2' et 3') pour les échantillons d'eau autoclavés.

Tab 4.12. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45µm) du Lac autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations						
Temps (semaines)	Site 1	Site 2	Site 3	Site 1'	Site 2'	Site 3'
0	0.403	0.583	0.259	0.294	0.466	0.228
1	0.365	0.419	0.214	0.270	0.263	0.226
2	0.344	0.398	0.192	0.271	0.259	0.225

NB. Les résultats sont exprimés en moyennes des valeurs durant la première et deuxième semaine.

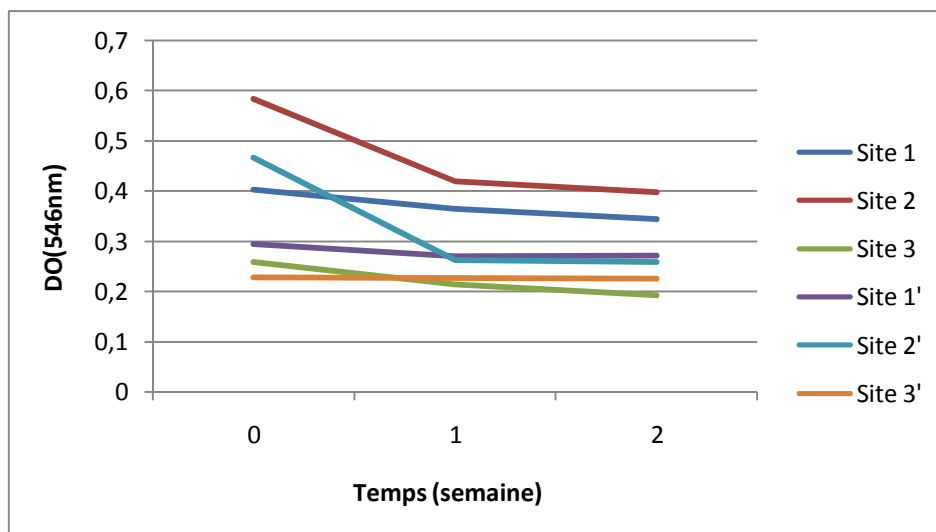


Fig.4.21. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45µm) du Lac autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Sites (1, 2 et 3) pour les échantillons non autoclavés.

Sites (1', 2' et 3') pour les échantillons d'eau autoclavés.

3.2. Lecture des NPP :

Les variations des nombres des cellules viables en coliformes dans les échantillons (autoclavés et non autoclavés) des trois sites laissées abandonnés durant deux semaines sont représentées dans le tableau (4.13) et la figure (4.22).

On remarque que dans tous les échantillons autoclavés, le taux de coliformes sont nulles alors que ceux dénombré au niveau des trois autres échantillons non autoclavés diminuent largement durant la première semaine. Le nombre des cellules viables en coliformes ne cesse à diminuer lors de la deuxième semaine des échantillons dans les trois sites.

Tab 4.13. Variation des nombres des cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du lac autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Site 1	Site 2	Site 3	Site 1'	Site 2'	Site 3'
0	$0.4 \cdot 10^6$	$0.7 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	0	0	0
1	$4.5 \cdot 10^4$	$0.6 \cdot 10^5$	$0.3 \cdot 10^5$	0	0	0
2	3000	7500	11000	0	0	0

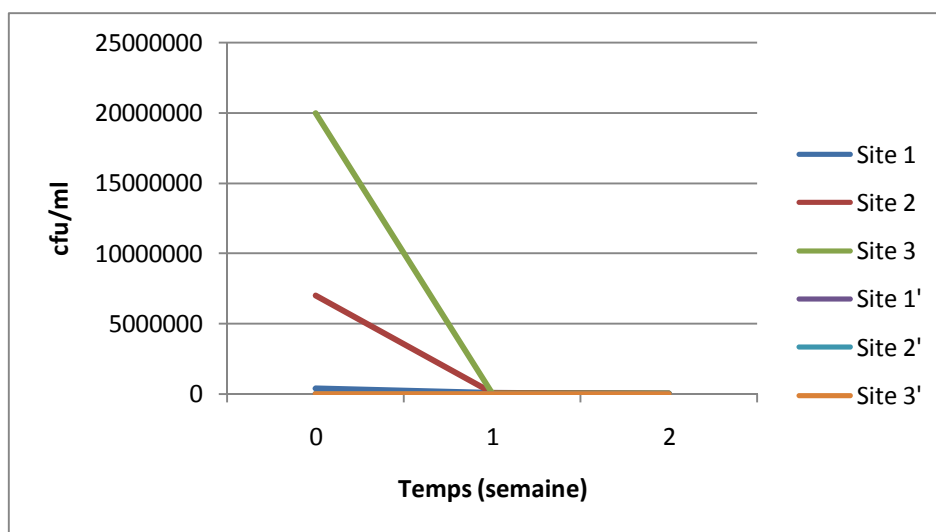


Fig. 4.22. Variation des nombres des cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du lac autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

Sites (1, 2 et 3) pour les échantillons non autoclavés.

Sites (1', 2' et 3') pour les échantillons d'eau autoclavés.

4. Détermination du facteur bactéricide :

4.1. Milieu liquide :

4.1.1. Lecture de la densité optique :

Les résultats obtenus concernant les variations de la densité optique de chaque suspension bactérienne à 546nm des trois bactéries isolées qui sont *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*, en présence et en absence d'eau du lac de chaque point des trois sites étudiées sont représentés respectivement dans les tableaux (4.14) (4.15) et (4.16) et les figures (4.23) (4.24) et (4.25).

L'étude comparative de ces résultats nous permis de conclure que le pouvoir bactéricide naturel est existant dans cette eau. On a pu constater une diminution hautement significative des densités optiques de toutes les cultures bactériennes en présence d'eau du lac des trois points pendant les deux premiers jours, comparativement à leurs témoins (en absence d'eau du lac) dont leurs densités optiques ne cessent d'augmenter pendant les deux premiers jours. D'une autre part, les densités optiques de tous les échantillons sont presque stables après la 48 eme heure.

Tab 4.14 : Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d'*Escherichia coli* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station.

Cultures Temps (heures)	Témoin	+P1	+P2	+P3
24	1.35	1.25	1.30	1.18
48	1.51	1.15	1.01	1.07
72	1.90	0.920	0.911	0.825

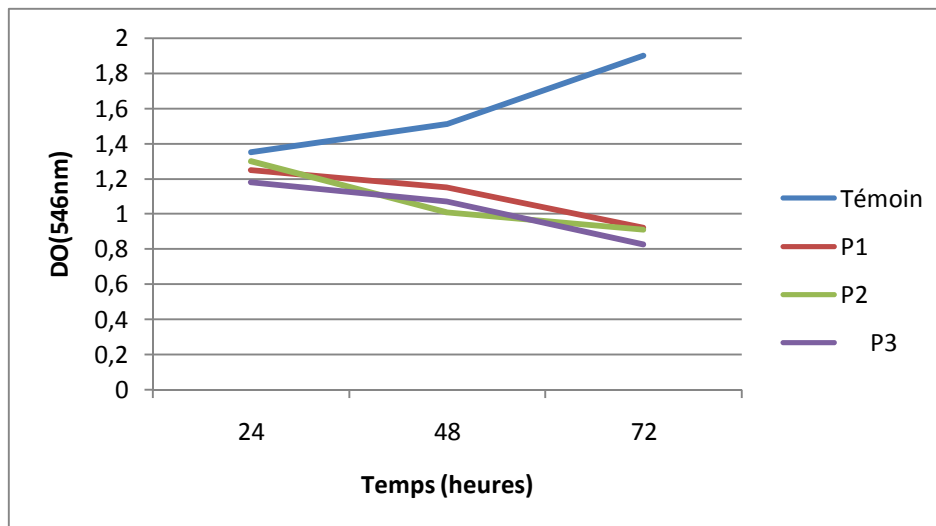


Fig.4.23. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d'*Escherichia coli* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station en fonction du temps.

P1 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 1.

P2 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 2.

P3 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 3.

Tab 4.15. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d'*Enterobacter agglomerans* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station.

Cultures Temps (heures)	Témoin	+P1	+P2	+P3
24	0.788	0.744	0.649	0.759
48	0.873	0.643	0.462	0.566
72	0.899	0.633	0.469	0.583

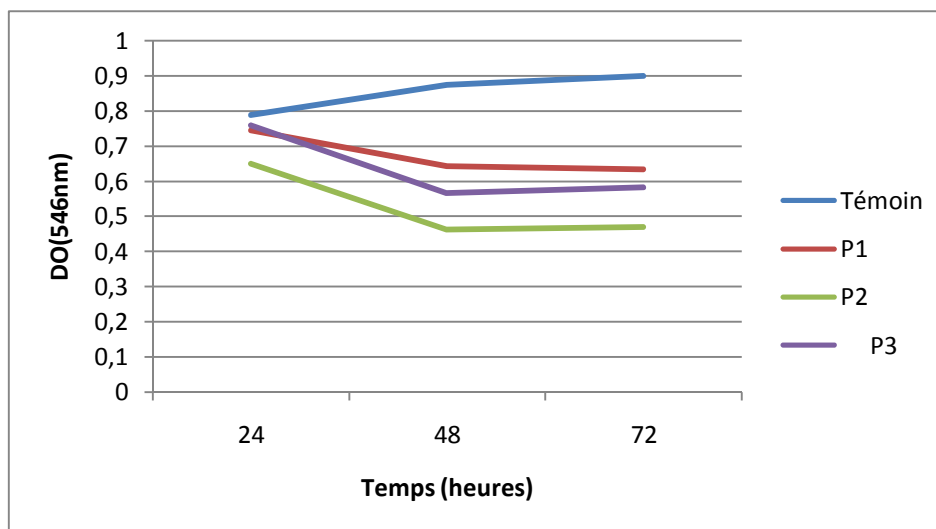


Fig .4.24. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d'*Enterobacter agglomerans* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station.

P1: 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 1.

P2 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 2.

P3 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 3.

Tab 4.16. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de *Klebsiella oxytoca* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station.

Cultures Temps (heures)	Témoin	+P1	+P2	+P3
24	0.722	0.714	0.645	0.831
48	0.844	0.618	0.415	0.579
72	0.868	0.605	0.423	0.506

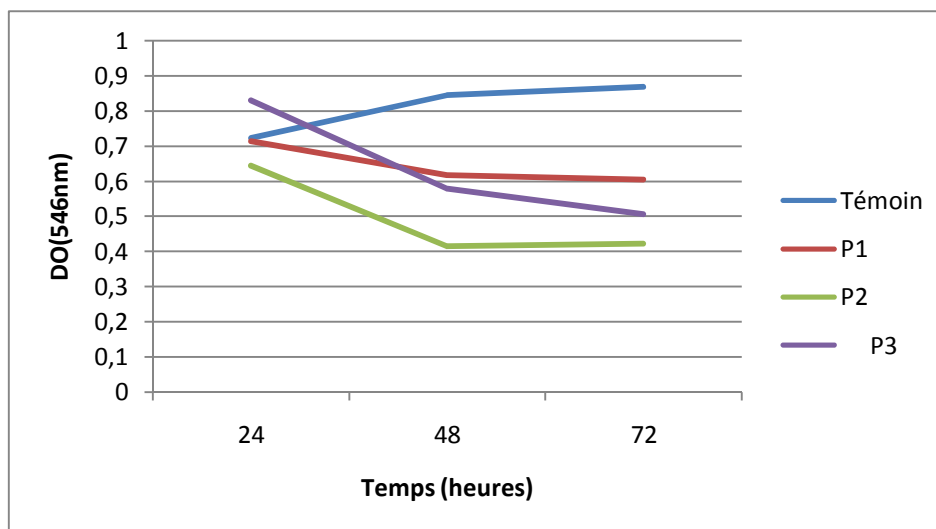


Fig.4.25. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de *Klebsiella oxytoca* additionnées de 0.5ml d'eau filtrée du lac de chaque station.

P1 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 1.

P2 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 2.

P3 : 0.5ml d'eau filtrée du lac du site 3.

4.1.2. Lecture des NPP :

L'évaluation du pouvoir bactéricide d'eau du lac se fait par estimation du nombre moyen des cellules viables appartenant au groupe des coliformes existants dans les échantillons étudiés. Ce pouvoir est estimé uniquement pour le 3eme point de prélèvement en raison du manque du milieu BCPL. Les résultats sont exprimés dans et la figure (4.26). L'addition de l'eau de prélèvement du site 3 a provoqué une diminution du nombre en cellules viables des coliformes dans toutes les cultures bactériennes, mais cette diminution varie d'une culture à une autre.

Tab 4.17. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) additionnées chacune à 0.5ml d'eau filtrée du lac du point de prélèvement 3.

Cultures Temps (heures)	Bactérie1	Bactérie2	Bactérie3	Bactérie1 +P3	Bactérie2 +P3	Bactérie3 +P3
24	2.10^5	11.10^5	12.10^5	11.10^4	15.10^4	12.10^4
48	27.10^4	15.10^5	26.10^5	18.10^3	97.10^3	75.10^3
72	38.10^4	21.10^5	25.10^5	28.10^2	39.10^2	28.10^2

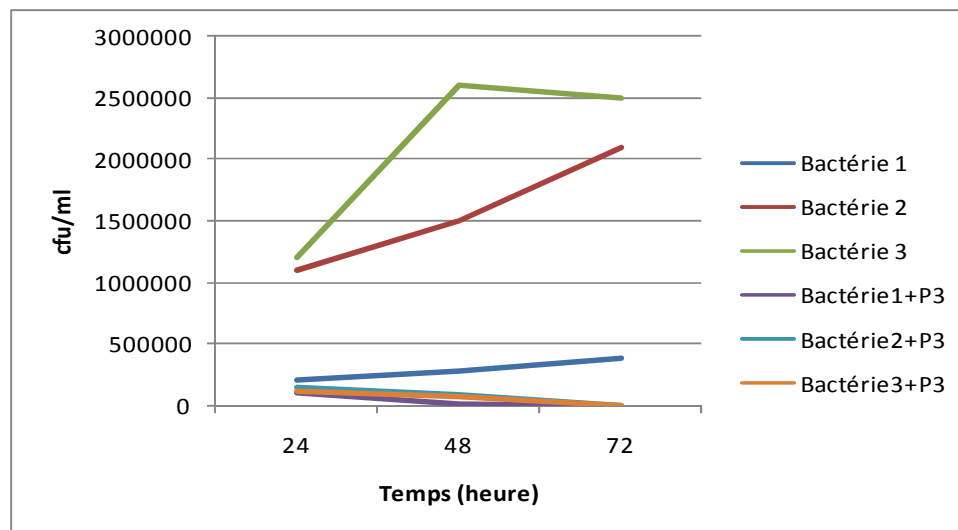


Fig.4.26. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) additionnées chacune à 0.5ml d'eau filtrée du lac du point de prélèvement 3.

Bactérie 1 : *Escherichia coli*.

Bactérie 2 : *Enterobacter agglomerans*.

Bactérie 3 : *Klebsiella oxytoca*.

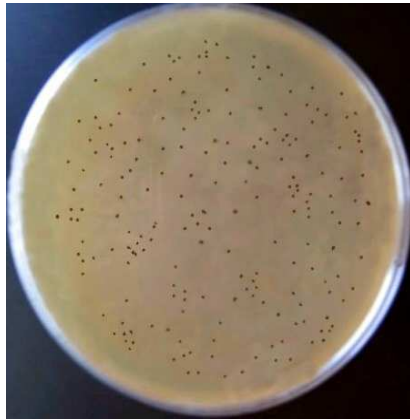
P3 : 0.5ml d'échantillon filtré de la station3.

4.2. Milieu solide:

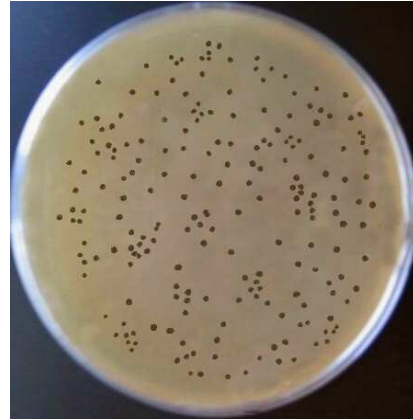
4.2.1. Isolement et de purification de *Bdellovibrio bacteriovorus*:

Dans la littérature relative au *Bdellovibrio*, les résultats relatifs aux formations des plages de lyse sont exprimés à partir de la mesure des diamètres de ces zones d'inhibition en millimètres. Nous n'avons pris en compte que les résultats issus après la troisième purification. Les figures (4.27) (4.28) et (4.29) représentent successivement la révolution de la formation des plages de lyse sur les tapis bactériens d'*Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca*.

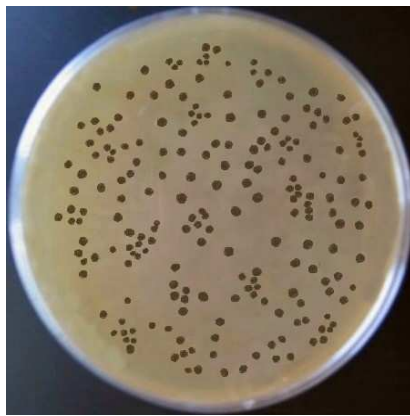
D'une part, nous avons constaté que les plages de lyse formées sur le tapis d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter agglomerans* ne se développent qu'après la 48^e heure, alors que celles formées sur le tapis de *Klebsiella oxytoca* ne se développent qu'après le troisième jour de l'ensemencement. D'un autre part, nous avons noté que les plages de lyse atteignant des diamètres maximaux après 6 à 7 jours avec *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* respectivement (3.36mm et de 2.16 mm) alors que les plages formées sur *Klebsiella oxytoca* sont plus petites par rapport à celles formées sur les deux autres bactéries et n'atteignent que 1.54 mm après 5 à 6 jours.



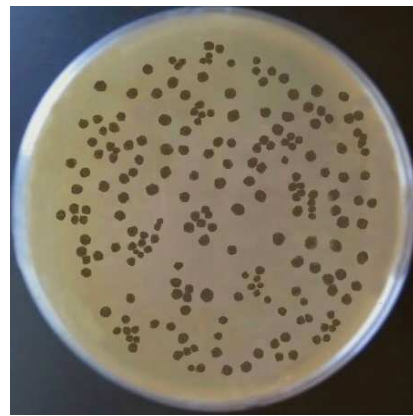
Après 2 jours



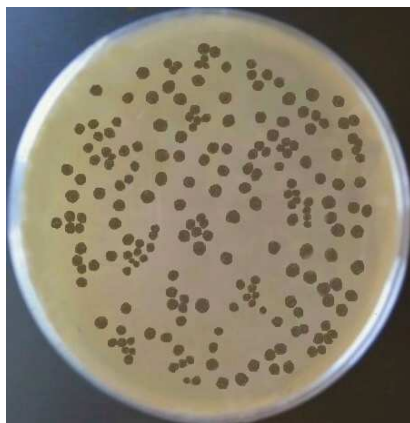
Après 3 jours



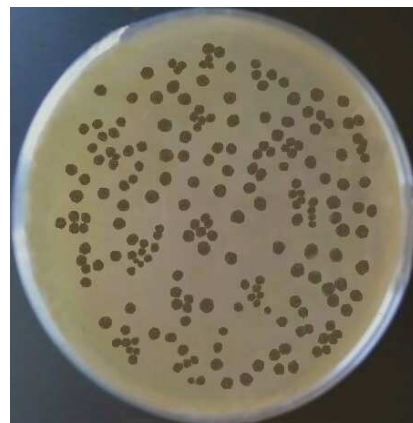
Après 4 jours



Après 5 jours



Après 6 jours

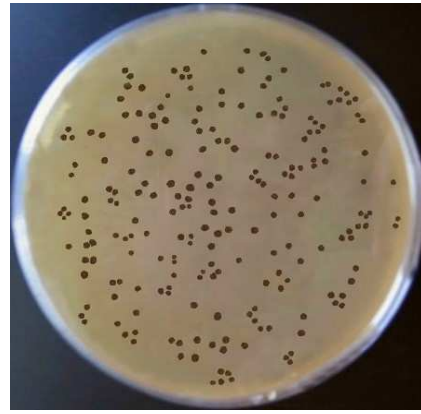


Après 7 jours

Fig.4.27. Formation de plages de lyse sur le tapis d'*Escharichia coli* durant les 7 jours (la troisième purification)



Après 2 jours



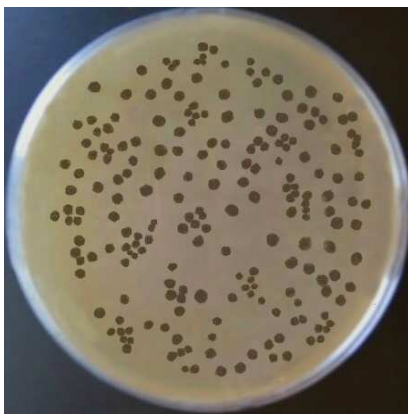
Après 3 jours



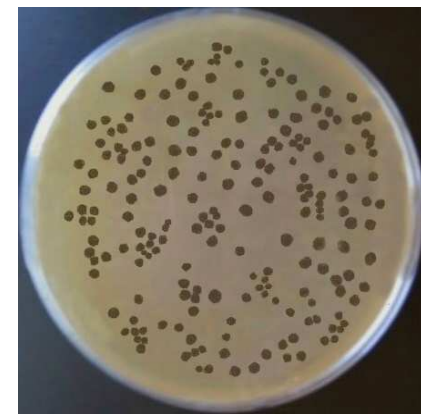
Après 4 jours



Après 5 jours



Après 6 jours



Après 7 jours

Fig. 4.28. Formation des plages de lyse sur le tapis d'*Enterobacter agglomerans* durant les sept jours (troisième purification).

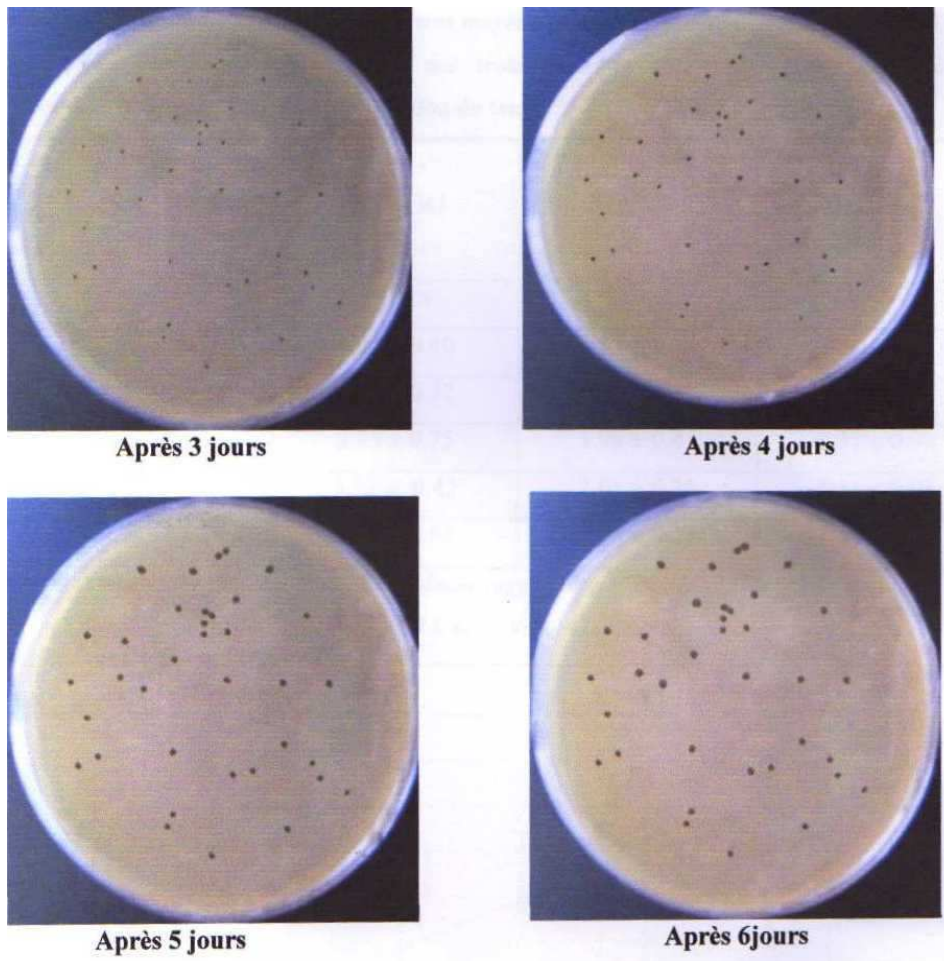


Fig.4.29. Formation des plages de lyse sur le tapis de *Klebseilla* durant les six jours (troisième purification).

Discussion :

La flore bactérienne concernée dans cette étude est la flore totale hétérotrophe, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques totaux et fécaux et les staphylocoques récupérés respectivement sur milieu gélose nutritive, Mac Conkey et Chapman.

Selon les résultats de notre travail, la flore totale récupérée sur ces milieux consiste en une variété de bactérie a Gram (-) et a Gram (+). *E.coli* occupe une part importante dont elle existe dans tous les prélèvements effectués, suivie par la présence irrégulière de *Klebsella oxytoca* et *Enterobacter agglomeran*.

La densité maximale en germes totaux à 37°C est de $589. 10^8$ germes/ml enregistrée au niveau du 3eme point de prélèvement. Selon Beverly *et al.* (1984) la température de 25° C est la température optimale pour une récupération efficace des flores totales hétérotrophes (bactéries Gram- Lac-). Ils ont aussi noté que certaines espèces bactériennes cultivent sur une large gamme de température et seront ainsi comptabilisées à 25° C et à 37° C.

La différence des numérations entre la flore totale et les coliformes laisse supposer qu'elle correspond essentiellement à la présence de microflore hétérotrophes (bactéries Gram- Lac-) qui constituent normalement la composante majeure de la flore totale, et qui seraient composés d'espèces Gram (+), dont les plus importantes sont les streptocoques et les staphylocoques.

Les données de la littérature relatives à la pollution des eaux laissent supposer que les bactéries Gram (+) sont surtout dominées par le genre *Bacillus*, par contre d'après les normes de l'OMS relatives à la qualité des eaux superficielles, il devrait y avoir une absence absolue des germes pathogènes et des streptocoques fécaux dans 50 ml d'eau. Les nombres des coliformes tolérés sont 10 et inférieur à 10 par 100 ml pour une eau destinée à la consommation.

Ainsi, nous pouvons déduire que l'eau que nous avons analysée est fortement contaminée. Cependant, la recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs de première importance.

Certains coliformes sont ubiquistes et vivent aussi bien dans le tube digestif que dans les milieux extérieurs (eau, sot) tel le cas de *Klebsiella oxytoca* et d'*Enterobacter agglomerans* et *E.coli*. La présence de ce dernier dans une eau est la preuve "majeure" que l'eau a subi une contamination par les matières fécales.

La présence des streptocoques fécaux dans les eaux indique généralement une pollution fécale. La recherche de ce groupe de bactéries dans l'eau constitue un complément justifié à celle des coliformes thermotolérants. Ils ne sont pas aussi ubiquitaires mais toujours présents dans les fèces d'animaux à sang chaud. Ils témoignent aussi d'une contamination fécale ancienne et de ce fait ils sont plus fiables que les coliformes. Ainsi, l'estimation du rapport coliformes fécaux / streptocoques fécaux (CF/SF) est considéré comme un indicateur de contamination par les bactéries fécales humaines ou animales. De ce fait, pour les trois stations cet indicateur donne des valeurs variant entre 2 et 4. Donc, on peut conclure que la pollution enregistrée est un mélange de pollution humaine et animale avec une prédominance humaine.

Tableau 4.18. Source de contamination selon le Ratio CF/SF (Borrego.et Romero, 1982).

Ratio CF/SF	Source de Contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animale
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine

Nous pouvons ainsi conclure que l'eau du Lac des Oiseaux est contaminée principalement par les rejets des riverains (regroupements d'habitations isolées, d'élevages, d'ovins, de bovins, de poulets,....), des fermes avoisinantes qui directement ou indirectement rejettent les déchets dans le lac ainsi que les différentes espèces animales qui fréquentent régulièrement ce plan d'eau pour s'abreuver.

Le degré de contamination peut être expliqué par l'importance de ces rejets et des saisons chaudes qui favorisent la multiplication des bactéries, ce qui rend, le système d'autoépuration assez délicat.

L'épuration des eaux douces apparaît ainsi comme un phénomène très complexe. En effet, il résulte de l'influence de plusieurs facteurs: physiques, chimiques, biologiques et c'est uniquement ainsi qu'intervient les facteurs physico-chimiques (température, dilution, irradiation, oxydation, etc....). Wuhurmann en 1972 a émis l'hypothèse selon laquelle l'élimination des coliformes des eaux est fonction des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du système aquatique considéré. Ces coliformes survivent *in situ* durant un temps plus ou moins long et qui dépend de tout un ensemble de facteurs environnants, puis quoiqu'il en soit leur destinée est l'élimination du système sous l'influence des facteurs précédents.

Dans notre étude, nous avons essayés de voir, vérifier puis quantifier le pouvoir autoépurateur biologique de l'eau de notre zone d'étude. En effet, la lecture des densités optiques des échantillons d'eau non filtrés nous a montré clairement que l'eau non autoclavée s'éclaircit naturellement et devient plus limpide. Cela est confirmé par la diminution des densités optiques des échantillons au bout d'une semaine alors que les échantillons témoins (eau autoclavée) gardent leur trouble initial. D'autre part, le dénombrement des cellules en coliformes restant viables pendant la même période d'étude nous a montré une diminution considérable dans la viabilité cellulaire de ces dernières. Brisou (1969) a effectué des expériences identiques et a observé des résultats similaires.

La turbidité de l'eau peut être causée principalement par la présence de nombreux microorganismes (bactéries, protozoaires, métazoaires...etc.), d'algues, de la matière organique et des différents nutriments. La diminution de la turbidité de l'eau signifie que le contenu total en protéines absorbants à 546 nm diminue. Ceci peut être expliqué par la disparition des impuretés et des bactéries existantes dans cette eau. Plusieurs facteurs peuvent être évoqués quant à la cinétique de l'auto-épuración naturelle de l'eau qu'il s'agit de la dégradation de la matière organique en présence de micro-organismes dont certains sont aussi minéralisés par les bactéries après leurs morts. Cette fraction bactérienne est alors éliminée à leur tour. Des facteurs physico-chimiques illustrés essentiellement dans notre cas par l'épuisement continu en nutriments et l'accumulation des déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre des cellules viables. D'autres auteurs expliquent la disparition d'une partie des bactéries par des processus physiologiques où le titre bactérien diminue normalement dans n'importe quel milieu à plus forte raison dans l'eau non autoclavée. Ce phénomène est connu sous le nom d'autolyse.

Ainsi, sans nier le rôle joué par ces différents facteurs, ainsi que par les divers agents biologiques tels les levures, les champignons, les algues, les virus, les métazoaires et les

protozoaires, d'autres chercheurs considèrent que le pouvoir bactéricide des eaux est essentiellement dévolu aux facteurs microbiologiques. Parmi les facteurs biologiques la lutte entre les espèces chez les microorganismes est une des armes les plus efficaces.

L'antagonisme microbien permet donc d'entretenir au sein des nappes d'eau l'équilibre nécessaire entre les différentes espèces mais l'afflux massif de nouveaux germes perturbe cet équilibre et alors les possibilités défensives de l'eau sont dépassées. Ainsi, nous pouvons cependant conclure que l'eau non autoclavée est douée naturellement d'un pouvoir autoépurateur.

L'éclaircissement de l'eau du lac non autoclavée se reproduit indéfiniment après filtration sur membrane filtrante de diamètre 0.45 μm . L'hypothèse d'un facteur physique est à écarter d'emblée comme le facteur lytique est filtrable. Les suspensions s'orientent vers la mise en cause d'un facteur biologique. La lyse des bactéries ne peut être imputée à des protozoaires (qui font plus de 0.45 μm de diamètre). Ceci conduit à conclure que l'eau d'un écosystème aquatique a un pouvoir bactéricide naturel.

Quant aux essais sur les trois bactéries déjà prélevées de l'eau du même lac et qui sont introduites dans des cultures riches "bouillons nutritifs", nous avons enregistré une augmentation considérable du nombre ou de la masse cellulaire des trois bactéries précédentes, de même le bouillon nutritif est devenu plus trouble. Cette augmentation est un résultat logique issu de la multiplication des bactéries au détriment du milieu nutritif qui sans cesse va devenir plus dense. Cependant, il est important de noter que la croissance bactérienne et sa vitesse de multiplication varient d'une bactérie à une autre.

En répétant le même essai mais avec l'addition de l'eau du lac filtrée, nous avons constaté que le nombre de bactéries a quand même augmenté mais de façon ralentie par rapport aux milieux de cultures "témoins correspondants". De même, les densités enregistrées cette fois sont moins importantes par rapport à leurs témoins. Ceci peut être expliqué par le fait que les jeunes bactéries introduites dans les bouillons nutritifs en présence d'eau du lac se dissolvent rapidement conduisant à des turbidités moins importantes correspondant à la lyse des bactéries.

Ainsi, nous avons constaté que l'eau de la troisième station qui semble être plus contaminée par rapport aux autres s'éclaircit mieux et plus rapidement que les deux autres stations. La deuxième station s'éclaircit à son tour plus rapidement que la première station qui est logiquement

la moins contaminée. Ces expériences qui ont pour but de mettre en évidence le pouvoir bactéricide des eaux polluées, permettent de supposer que plus une eau est polluée, plus elle est riche en facteurs bactéricides, car plus vite est obtenue la lyse des bactéries. Ces résultats sont en accord avec ceux de Guelin et Lamblin (1966).

Des expériences faites sur des eaux prélevées dans des endroits apparemment sains (sources, puits) montrent que ces eaux n'ont absolument aucun pouvoir lytique. En effet des germes introduits dans une telle eau restent intacts et la turbidité qu'ils confèrent à l'échantillon persiste comme dans le cas de l'eau autoclavée.

Ces expériences permettent d'une part de confirmer le pouvoir bactéricide naturel de l'eau et la répartition variable du facteur bactéricide selon le lieu du prélèvement et d'autre part de suspecter le rôle de micro-organismes infimes (<0.45µm) dans l'éclaircissement des échantillons.

Il reste cependant à déterminer la nature du facteur bactéricide responsable du processus d'autoépuration.

Les premières connaissances sur l'épuration des eaux douces remontent à la fin du 19^{mes} siècle. A cette époque on a cherché à doter l'eau un pouvoir bactéricide. La découverte des bactériophages par Herelle (1917) semblait fournir une explication concrète de ce pouvoir bactéricide.

Ainsi, dans notre étude et pour la première fois, nous avons confus l'activité de *Bdellovibrio* à celle des bactériophages dans cet éclaircissement. Afin de vérifier ces suppositions, nous avons eu recours à la méthode utilisée pour isoler ces microorganismes s'ils sont vraiment présents. La méthode correspond à la technique de la double couche décrite par Stolp et Starr (1963). Le liquide filtre est mélangé à la souche indicatrice, autrement dit aux bactéries qui serviront de proies aux prédateurs que nous avons isolé. Les cellules hôtes utilisées pour le titrage du parasite sont: *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca* ce qui nous donne un caractère épidémiologique à l'expérimentation. L'étalement du mélange sur un milieu nutritif gélosé forme un tapis continu. Les plages de lyse apparaissent au bout d'un certain temps.

Nous avons noté l'apparition des plages de lyse après deux jours sur *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* et après trois jours sur *Klebsiella oxytoca*. Après leurs apparitions, nous

avons noté que les plages s'élargissent avec le temps a des vitesses différentes d'un tapis bactérien a l'autre (fig.26, 27et 28).

Ainsi, nous pouvons conclure tout d'abord que le processus de bactériolyse n'est pas du a un processus de bactériophage. Actuellement, nous savons que le rôle joué dans l'autoépuration par les bactériophages est très faible. Sa fixation exige la présence dans l'eau d'une quantité élevée de bactéries.

Selon Pelement (1995) les plages de lyse formées par le prédateur se distinguent facilement des celles qui sont causées par les phages. Les plages de lyse formées au cours de 24 heures sont le plus souvent causées par des bactériophages, alors que celles qui sont dues à *Bdellovibrio* apparaissent au bout de plusieurs jours. Il estime que les plages de lyse dues au développement de *Bdellovibrio* ne prennent naissance en général qu'après 48 heures.

Entre autre, dans le premier cas qui est celui des virus, les plages des phages cessent de s'épaissir lorsque les cellules sont en phase stationnaire après avoir cessé de se diviser car les bactériophages n'attaquent que des bactéries vivantes en pleine croissance, tandisque les plages dues au *Bdellovibrio* continuent à s'agrandir même lorsque le tapis bactérien a cessé de se développer.

Il nous reste donc à envisager l'action de ce micro-organisme inconnu pour la plus part, qui est susceptible de s'attaquer aux Entérobactéries introduites. Ce microorganisme est de très petite taille appelé *Bdellovibrio bacteriovorus* que Stolp et Starr des sa découverte, prévoaient son rôle exclusif dans la destruction des bactéries des eaux polluées et qui aussi a été suspecté par plusieurs autres auteurs tel Ferro *et al.* (1970, 1971).

Le *Bdellovibrio* est largement distribué dans l'environnement aquatique dont certains le qualifie d'agent auto-epurateur. Jusqu'au ce jour, on connait une seule espèce appartenant au genre *Bdellovibrio* qui est *Bdellovibrio bacteriovorus*.

L'ensemble des recherches faites sur ces micro-organismes fascinants sont peu nombreuses pendant les années 90. Ainsi que la majorité des études écologiques sur la prédation bactérienne dans l'environnement aqueux a été effectuée sur la colonne d'eau. Ceci peut être du essentiellement a des raisons techniques: l'isolement de *Bdellovibrio bacteriovorus* n'est pas toujours une tentative

couronnée de succès. C'est une procédure délicate incluant des filtrations successives et par fois des centrifugations de l'échantillon ainsi qu'une méthode de culture spéciale selon la technique du double couche. Entre autre, en raison que le nombre de prédateurs bactériens connu est faible et que leur affiliation phylogénétiques est largement inconnu, la prédation a ce niveau est peu étudiée et comme ces prédateurs ne forment pas des colonies standards sur les milieux de culture, cette catégorie de micro-organismes a été le plus souvent négligée par les microbiologistes.

En effet nous avons essayé des dizaines de fois d'isoler ce micro-prédateur mais en vain et cela nous a été possible uniquement en été. La densité en *Bdellovibrio* dans les eaux est plus importante en été autrement dit de moment ou les températures optimisent leur développement et leur croissance.

Dans notre étude, les plages de lyse semblent arriver à leurs tailles maximales au bout de 7 jours avec *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* et au bout de 5 jours avec *Klebsiella oxytoca*. Les tailles des plages produites avec les deux premières bactéries sont plus grandes que celles obtenues avec *Klebsiella oxytoca*. Ces résultats sont en accord avec celles obtenus par Shemesh et al (2003) qui ont montré que la cinétique de la formation des plages de lyse et leur croissance diffèrent d'une souche bactérienne à une autre. Cela montre la grande spécificité d'attaque et de prédation de *Bdellovibrio bacteriovorus* des différentes espèces bactériennes.

Ceci peut être expliqué en partie du fait que l'efficacité dans la formation des plages de lyse semble être liée à la capacité des prédateurs de former un attachement irréversible avec leurs cellules proies car cette capacité paraît être le premier pas vers une prédation avec succès

Le milieu YP est le milieu sélectif le plus souvent utilisé pour isoler *Bdellovibrio bacteriovorus*. En effet cette technique a un avantage double: d'une part c'est elle qui permet d'isoler ce micro-prédateur à partir des milieux naturels lorsque la concentration des échantillons en *Bdellovibrio* est faible. Et d'un autre part, elle permet de titrer *Bdellovibrio* dont chaque plage est normalement engendrée par une seule cellule prédatrice.

Daniel (1969) a noté l'existence d'une spécificité d'action entre les couches de *Bdellovibrio*

bacteriovorus isolées dans une eau et les micro-organismes hôtes. En étudiant le spectre d'activité du *Bdellovibrio*, il a noté la variabilité de la croissance du micro-predateur selon les bactéries hôtes utilisées. Il a constaté que *Bdellovibrio bacteriovorus* donne des plages de lyse confluentes avec certains germes parallèlement à une multiplication intense du prédateur, alors que les plages de lyse sont plus ou moins nombreuses avec d'autres germes. Cette variation étant conjuguée à une variation de la multiplication de *Bdellovibrio bacteriovorus*.

Les recherches sur la bactériolyse spontanée, avaient déjà étudié dans les années soixante dix la distribution des germes responsables de la lyse des bactéries dans les eaux. Les observations effectuées jusqu'alors avaient mis en évidence leur répartition générale clans les eaux douces provenant de toutes les parties du monde, ainsi que dans les eaux marines prélevées le long du littoral.

Le nombre de micro-organismes dans l'eau 37 °C varie de $290 \cdot 10^4$ à $201 \cdot 10^8$ par millilitre. Les coliformes sont présents dans tous les échantillons, mais avec des taux variables selon les lieux de prélèvements. Il faut cependant noter que le taux de coliformes des échantillons d'eau n'est que rarement fonction des capacités polluante des différents points, autrement dit qu'il est rarement proportionnel à l'aptitude à polluer des zones considérées. Ce qui implique que les bactéries disparaissent assez rapidement sous l'influence de certains facteurs parmi lesquels les parasites bactériens.

C'est pour cette raison que Lambina *et al.* (1974) ont proposé trois indices de contamination de l'eau par les germes pathogènes, à savoir: le nombre total de micro-organismes, le titre en coliformes et la concentration de *Bdellovibrio* dans l'eau. Le dernier étant représenté comme le meilleur critère sachant qu'il est un bon témoin de pollution et qu'il participe activement à l'auto-épuración. Bien que l'identification des bactéries isolées ne constitue pas un but en lui-même, mais il est intéressant de noter les genres bactériens probables caractérisant le biotope dans lequel vit *Bdellovibrio* pour déduire plus tard son effet sur ces derniers.

L'identification a été faite par l'utilisation de la galerie biochimique classique avec confirmation de l'identification de bactéries (comme: *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans*) en utilisant la galerie d'API 20 E qui est un système rapide, plus fiable pour diagnostiquer un nombre d'organismes en étudiant plusieurs substrats.

Depuis la découverte de la bactérie parasitaire *Bdellovibrio* en 1962 par Stolp et Petzold, la majorité des recherches se sont intéressées à élucider leur caractéristiques physiologiques,

biochimiques et génétiques. D'autres ont plutôt essayé de déterminer son rôle au niveau des milieux habituels d'isolement. Suite à certaines études, plusieurs théories ont avancées le rôle de bio-contrôle que doit jouer *Bdellovibrio* dans la nature.

Bdellovibrio bacteriovorus n'est pas un prédateur spécifique d'une bactérie mais peut s'attaquer à de nombreuses espèces d'Entérobactéries. Au début, l'idée de Stolp et Petzold (1962) est que l'activité lytique de *Bdellovibrio bacteriovorus* était limitée uniquement au genre *Pseudomonas*, puis en 1963, Stolp et Starr ont découvert que son spectre d'activité est plus large et s'étend sur 34 souches bactériennes Gram (-). Plus tard ils ont montré que cette susceptibilité est hautement variable.

Nous pouvons conclure ainsi qu'*Escherichia coli* est la bactérie préférée de *B. bacteriovorus*. Elle est suivie d'*Enterobacter agglomerans* et enfin de *Klebsiella oxytoca*. Ceci rejoint les résultats de Fratamico *et al.* (1996) qui ont montré que le *Bdellovibrio* pris isolement réduit efficacement le niveau de biofilm d'*E.coli* par rapport aux autres bactéries. *Idem*, l'estimation indirecte (NPP) des cellules résiliables après ajout de *Bdellovibrio* nous confirme les mêmes résultats obtenus par l'estimation directe.

La majorité des recherches faites sur le cycle de vie de *Bdellovibrio* à été effectué en utilisant *E.coli* comme modèle d'expérimentation. Certains ont examiné le niveau de susceptibilité d'autres bactéries pour *Bdellovibrio bacteriovorus*, et qui sont arrivés aux mêmes conclusions, c'est que *Bdellovibrio bacteriovorus* préfère certaines bactéries et les attaque plus rapidement que d'autres.

Certes, l'activité de *Bdellovibrio* a été étudiée par plusieurs auteurs, mais l'interaction entre *Bdellovibrio* avec ses proies a été décrite comme très complexe. Il est bien admis même que ces prédateurs ont un champ d'attaque plus vaste, ils sont cependant spécifiques dans leurs infections et ils sont inoffensifs envers les organismes eucaryotes.

Néanmoins les raisons pour lesquels ce micro-prédateur préfère s'attaquer à quelques bactéries par rapport à d'autres restent peu claires.

Les observations visuelles de *Bdellovibrio bacteriovorus* mélange avec des bactéries non

susceptibles tel *Neisseria gonorrhoeae*, révèlent que ce parasite se colle rarement à cette espèce. Plus récemment, il a été montré que *B. bacteriovorus* circule autour de ces cellules en cherchant à trouver un site d'attachement, ce qui laisse suggérer que l'attachement de ce prédateur à sa proie ne s'effectue pas au hasard. La littérature scientifique nous montre que *Bdellovibrio bacteriovorus* se colle sur des récepteurs spécifiques existant sur la paroi cellulaire de la cellule hôte dite " récepteurs protéiques de méthyle ".

Solon Varon et Shilo (1969) l'attachement de *Bdellovibrio* à la paroi cellulaire des espèces de *Salmonella* et d'*Escherichia coli* varie selon la composition de la paroi cellulaire ce qui révèle que l'acceptabilité des récepteurs existant sur la paroi cellulaire peut expliquer la différence d'attache entre les différentes espèces bactériennes. L'examen des couches superficielles des cellules proies a révélé que la couche S et non la capsule forme une protection contre la prédation par *Bdellovibrio*. Ils ont aussi indiqué que les couches S peuvent bloquer l'accès du *Bdellovibrio* aux récepteurs de la paroi cellulaire de la cellule cible. Ainsi, le taux d'abattage réduit de *Klebsiella oxytoca* par ce prédateur par rapport aux deux autres bactéries est dû principalement à la présence de cette souche S.

Le chimiotactisme pariétal peut aussi jouer un rôle dans la localisation des proies cellulaires conduisant à une prédation différentielle. La perte des protéines chimiotactiques correspondantes aux récepteurs de méthyle fait réduire la prédation par *Bdellovibrio bacteriovorus* et l'arrangement séquentiel du génome de ce micro-prédateur a montré l'existence des gènes codants pour 20 protéines chimiotactiques réceptives et des gènes codant pour deux systèmes régulateurs du chimiotactisme de ce prédateur. La taille de la proie peut conditionner le taux de mortalité bactérienne du fait qu'une taille plus importante engendre un nombre plus important en *Bdellovibrio* de la nouvelle génération issue durant le cycle de multiplication.

D'autres facteurs peuvent aussi influencer le degré d'attaque à savoir l'âge des cultures bactériennes. L'âge de *Bdellovibrio* peut aussi influencer la relation dans le sens où les jeunes prédateurs sont plus actifs que les vieilles cellules.

Varon (1979) a montré que *Bdellovibrio* n'élimine pas complètement les proies bactériennes planctoniques. Ceci peut être expliqué par le fait que la composition cellulaire de *Bdellovibrio* sera rapidement altérée ainsi que sa viabilité sera rapidement réduite dans une suspension pauvre en bactéries proies. Cette altération engendre logiquement une diminution

voir même une suppression de l'activité prédatrice de *Bdellovibrio*.

Le nombre de cellules proies nécessaire soit pour assurer la survie ou la maintenance de l'équilibre de population constitue le sujet de quelques débats. Hespell *et al.* (1974) estiment qu'une densité de $1.5 \cdot 10^5$ de cellules Notes /ml est nécessaire pour avoir 50% de chance durant 10 heures. D'autres concluent que la survie des prédateurs dans l'eau non polluée est improbable. En appliquant des modèles mathématiques basés sur certaines suppositions et théories de l'écologie du comportement de *Bdelbvibrio*, Varon et Zeigler (1978) estiment qu'une densité minimale de 10^6 de cellules proies /ml est nécessaire pour la survie de ces micro-organismes.

Dans les conditions de laboratoire, une densité élevée de proies est nécessaire afin de garantir la survie de *Bdellovibrio*. Plusieurs auteurs ont rapporté qu'une concentration minimale de 10^5 à 10^6 CFU.g⁻¹ sol ou ml⁻¹ est nécessaire. Varon et Zeigler (1978) ont estimé la chance à 50 % pour que *Bdellovibrio* survivent et elle est assurée par la présence d'au moins $3 \cdot 10^6$ de cellules proies. Par contre, Varon *et al.* (1984) ont estimé que quelques fois *Bdellovibrio* survivent en laboratoire avec une seule espèce bactérienne à une densité de 2 à $5 \cdot 10^4$ cellules /ml.

A l'état naturel, *Bdellovibrio* sont exposés directement aux conditions externes et de ce fait ils sont menacés par la famine et la mort sauf dans le cas de présence de concentrations convenables des bactéries hôtes.

Des explications possibles sont alors émises. D'abord le nombre de bactéries hétérotrophes récupérées par des cultures typiques représente une toute petite proportion du nombre actuel rapporté par les méthodes directes de quantification totale. En prennent en considération le nombre nécessaire de proies pour *Bdellovibrio*, il est rapporté que ce prédateur peut se nourrir sur des cellules non viables, sous certaines circonstances. Aussi, il a été démontré que *Bdellovibrio* peut parasiter des cellules viables non cultivables.

Ainsi, nous pouvons donc affirmer que *Bdellovibrio* est un micro-destructeur des bactéries et en même temps un agent responsable de l'épuration des eaux. Il est donc impératif de signaler qu'il n'intervient pas seul car d'autres micro-organismes nettement les bactériophages jouent aussi le même rôle.

Selon Guelin. Et Lamblin (1966) la destruction totale des bactéries sensibles n'a jamais lieu et il s'établit donc un équilibre au niveau de l'écosystème et l'élimination totale des germes pathogènes doit être imputée à de nombreux facteurs qui complètent l'action du *Bdellovibrio*.

Il apparaît donc que l'équilibre de ces milieux aquatiques est assuré sur le plan biologique tout d'abord par un antagonisme bactérien complété par l'action des micro-prédateurs parmi lesquels *Bdellovibrio bacteriovorus* semble avoir une place primordiale même si ce rôle reste limité selon l'avis de Brisou (1968, 1969) .

Conclusion

Pour qu'un écosystème aquatique puisse se développer de façon équilibrée, il faut que la qualité de l'eau soit bonne. Soumise au développement industriel et urbain et à l'utilisation massive de produits chimiques comme les pesticides, les engrais ou les détergents, les qualités naturelles de l'eau sont dégradées et l'écosystème aquatique est souvent perturbé, alors il existe plusieurs sortes de pollutions, très différentes les unes des autres par leurs origines et par leurs conséquences.

Une pollution organique est historiquement la plus grave et la plus fréquente. C'est une pollution due au rejet d'eau d'égout ou d'eau riche en déchets provenant des industries agroalimentaires. Ces matières organiques sont décomposées par les bactéries présentes dans l'eau et qui pour cela consomment beaucoup d'oxygène. Cela peut entraîner la mort de nombreux animaux par asphyxie. De plus, les eaux d'égouts sont riches en microbes susceptibles de provoquer des maladies (pollution microbienne).

L'eau est naturellement capable d'éliminer (en totalité ou en partie) les pollutions auxquelles elle sert d'exutoire, notamment organique. Cette "autoépuration" de l'eau est due aux bactéries qui dégradent la matière organique. Si la pollution n'est pas trop forte, l'environnement est modifié localement mais redevient normal à une certaine distance du point de rejet. Ces mécanismes d'autoépuration sont rapidement saturés en cas de pollution accidentelle ou de forte pollution chronique.

Bdellovibrio bacteriovorus est un micro prédateur capable de jouer un rôle important dans l'autoépuration des écosystèmes aquatiques en diminuant le nombre de bactéries de contamination fécales.

Notre analyse de la qualité de l'eau du Lac des Oiseaux montre que ce dernier est soumis à plusieurs effets de pollution et que le degré de pollution biologique est très important.

L'ensemble de nos résultats mettant en évidence la prédation non fortuite, améliore nos connaissances sur *Bdellovibrio bacteriovorus* qu'il ne suffit pas lui seul, à éliminer les germes pathogènes hôtes dans la nature. Il y exerce une action bactériolytique vraisemblablement très importante en limitant les populations de germes cependant la destruction totale de ces derniers est très complexe. Toutes les expériences faites au laboratoire pour tenter de mieux évaluer le rôle éventuel de *Bdellovibrio bacteriovorus* dans l'épuration des eaux montrent que ce micro-prédateur intervient certainement dans l'épuration naturelle des eaux, mais dans la nature les conditions réunies au laboratoire ne sont jamais rassemblées. Pour cette raison il reste toujours nécessaire d'approfondir les études sur les différents mécanismes d'autoépuration des eaux pour bien situer et délimiter le rôle joué par ces micro-prédateurs dans ces processus.

Sous un autre angle, il est possible d'envisager des utilisations de *Bdellovibrio* dans le traitement des affections animales, humaines ou végétales. Dans le même sens, nous espérons que tels micro-prédateurs pourraient être appliqués sur les blessures afin de consommer les bactéries infectieuses, ou pour renforcer les dispositifs médicaux et les systèmes d'irrigation agricoles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abarnou A. (2000).** *Contaminations bactérienne et virale*. Editions Quae. 35 p
- Abdellatif H. (2000).** Traitement des eaux " traitement de l'eau de source .Mémoire d'ingeniorat. Université des sciences et de la technologie, Oran. 120p.
- Ameur N.** La Réserve Naturelle du Lac des Oiseaux, Wilaya d'El Tarf. Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar fevrier 1999.pdf
- Aubert M.et Aubert J. (1969).** Océanographie Médicale. Gauthier Villars.Paris.pdf
- Barnaud G. (1991).** Qu'est ce qu'une zones humide ?compte rendu des avis d'experts. Définition scientifique et juridique. MNHN- ESMEN, France 10p.
- Barnaud G. (1997).** Conservation des zones humides: concepts et méthodes appliqués à leur caractérisation. Thèse doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, France .451p.
- Beverly M.et Snell E. (1984).** *Biochemical factors in growth*. Edition American society for microbiology. 350p.
- Blondel. (1967):** Situation in the wetlands of Algeria. Proc. On wildfowl conservation 2en Noordwnijk aan zee, Netherlands 9-14 may 1962, 24.7 Slimbridge, IWRB.
- Borrego J. (1982).** Estudio de los bacteriofage de Escherichia coli en al agua de mar. Su relation con la polucion de dicho medio. Thèse Doctorat. Université of Malaga.
- Boukrouma N. (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire de Ain Fakroune (W. d'Oum El-Bouaghi). Memoire de Magister. Université de Guelma. 64p.
- Boulkroune H. (2008).** Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-Kennar. Mémoire due Magister. Université de Jijel. 119p.
- Boumezbeur A. (1993):** Ecologie et Biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*) et du Fuligule nyroca (*Aythya nyroca*) sur le lac Tonga et le lac des oiseaux. Thèse Doctorat EPHE. Université de Montpellier, France. 200p.
- Boumezbeur A. (2001).** *Atlas des zones humides algériennes d'importance internationale*. 2eme édition ATLAS. 56p
- Bourgeois C.et Leveau J. (1980).** *Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Volume 3. 2 eme édition Lavoisier TEC § DOC. 36P
- Bousseboua H. (2005).** *Éléments de microbiologie*. Edition Compus- clubs. 180p.

- Bragimov F-K. (1980).** *Dessemination of Bdellovibrio bacteriovorus in animals and their interaction with the agents of acute intestinal infections.* Epidemiol. Immunobiol. 99p.
- Brisou M. (1969).** *La pollution des eaux littorales.* La tec de l'eau et de l'assainissement. 60p.
- Brisou M-J. (1976).** An environmental sanitation plan for the Mediterranean seaboard; pollution and human health. World Health Organisation, Geneva.
- Bugnicourt M. (1983).** *Dictionnaire de microbiologie générale, la vie racontée par les bactéries.* Edition Ellipses. 699p.
- Cameson A. et Gould D. (1975).** *Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in seawater.* In Gameson. Edition Discharge of sewage from long sea press. 219p.
- Campanille E., Ferro V. et Simone E. (1970).** *Souches bactériolytiques dans l'eau de mer.* Rev, Océanogr-méd. 18-19, 117-124
- Chalabi B. (1990).** Contribution à l'étude de l'importance des zones humides algériennes pour la protection de la faune : Cas du lac Tonga. Mémoire de Magister .INA, Alger. p 125.
- Chibani S., Nabti K. et Sayeh C. (2007).** La biothérapie par association d'antibiotiques. Mémoire d'Ingénieur d'état en Génie biologique. Université de Guelma. 53p.
- Daniel S. (1969).** Etude de l'influence de bdellovibrio bacteriovorus dans l'autoépuration marine. Rev. Int Océanogr. Méd .98p.
- Davet P. (1997).** *Vie microbienne du sol et production végétale.* Editions Quae. 384 p.
- Dommergues Y. et Mangenot F. (1970).** *Ecologie microbienne du sol.* Edition Masson. 783p
- Dégrément . (1978).** *Mémento technique de l'eau.* 8 eme édition Tec et Doc, Paris. 986p.
- Faurie C., Ferra C., Medor P., Devaux J. et Hemptinnet J. (2003).** *Ecologies : approche scientifique et pratique .* TEC et DOC. 407p.
- Franck R. (2002).** *Analyse des eaux : Aspects réglementaires et techniques.* Edition CRDP d'Aquitaine. 460p.
- Fratamico P-M. et Cooke PH. (1996).** *Isolation of bdellovibrio bacteriovorus.* 173p
- Gonzalez J. et Sherr E. (1990).** Size selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. Appl. Environ . Microbiol. 1851p.
- Guelin A. et Lamblin D. (1966).** *Sur le pouvoir bactéricide des eaux.* Edition Bull Acad. 532p.
- Guemih M. et Guenifi A. (2008).** L'identification des microorganismes (Streptomyces). Mémoire d'ingénieur. Université de Guelma. 45p.

- Guillaume C (2007).** Ecophysiologie générale des bactéries. SpectroSciences : article 59
- Guiraud J. et Galzy P. (1980).** *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.* Edition l'usine nouvelle.
- Guiraud, J. (1998).** *Microbiologie Alimentaire .Edition Dunod.* 652p.
- Herelle A. (1917).** *The original and phylogeny of the bdellovibrios.* Edition Appl microbial.230p.
- Hespell R., Paster B., Macke T.et Woese C. (1984).** *The original and phylogeny of the bdellovibrios.* Syst Appl Microbiol .209p.
- Houhamdi M. (1998).** Ecologie du Lac des Oiseaux Cartographie, Palynothèque et utilisation de l'espace par l'avifaune aquatique. Mémoire de Magister. Université d'Annaba. 198p.
- Houhamdi M. (2002).** Ecologie des peuplements aviens du Lac des Oiseaux (Numidie orientale). Thèse Doctorat. Université d'Annaba. 135p.
- ISO. (1988).** International organisation for Standardization Microbiology- Dénombrement des microorganismes revivables- Comptage des colonies par inoculation dans ou sur un milieu de culture nutritif gélosé. ISO 6222.
- ISO (1999).** International organisation for Standardization Microbiology- méthode par ensemencement en milieu liquide du NPP. ISO 9308-3.
- Joleaud. L. (1936).** Etude géologique de la région de Bone et la Calle, 2^{eme} série stratigraphie et description générale Typo-litho § Jules Carbonel. 199p.
- Jones G. et Cobet A. (1975).** *Heavy metal ions as the principal bacterial agent in Caribbean seawater in Gameson.* Edition Discharge of sewage from long sea outfalls Pergamon. 208p.
- Kadid Y. (1989).** Contribution à l'étude de la végétation aquatique du lac Tonga. Mémoire d'Ingénieur d'état en agronomie .INA El Harrach. 80p.
- Kapuschinski R. et Mitchell R. (1981).** *Solar radiation induces sublethal injury in Escherichia coli in seawater .Applied and Environmental Microbiology.* 674p
- Lansing M., Prescott., John P., Harley., Donald A.et Klein. (2003).** *Microbiologie.* Edition Mc Graw Hill. 1164p.
- Larpent J.et Larpent G. (1970).** *Microbiologies pratique.* Edition Hermann. 97p.
- Lassoued K.et Touhami N. (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau du Barrage de Hammam Debagh. Mémoire d'Ingénieur d'état en Génie biologique. Université de Guelma. 44p.
- Leclere H., Buttiiaux R. et Guillaume J. (1977).** *Microbiologie appliquée.* Edition Doin.

- Leclerc H. (1983).** *Microbiologie générale*. Edition Doin. 450p.
- Leclerc H. et Mossel D. (1989).** *Microbiologie "le tube digestif, l'eau et les aliments"*. Edition DOIN.
- Maazi M-C. (1991).** contribution à l'estimation qualitative et quantitative des Anatides et Foulques hivernants et nicheurs au Lac des Oiseaux (Wilaya d'El Tarf). Mémoire d'Ingénieur en agronomie. Centre universitaire El-Taref. 58p.
- Mallory L., Yuk C., Liang L. et Alexander M. (1983).** *Alternative prey: A mechanism for elimination of bacterial species by protozoa*. Applied and Environmental Microbiology, 1073p.
- Marc S. et Béchir S. (1999).** *Guide Technique de l'assainissement*. Edition Le Moniteur. 660p.
- Martin G. (1985).** *Point sur l'épuration et le traitement des effluents : bactériologie des milieux aquatiques*. Edition Lavoisier. 336p.
- Mc Cambridge. et Mcmeekin J. (1981).** *Effects of solar radiation and predations microorganisms on survival of fecal and other bacteria*. App. Environ. Microbiol. 41, 1083.
- Mc Crady M. (1915).** *The numerical interpretation of fermentation tube results*. J infect. Dis. 212p.
- Metcalf E. (1991).** *Wastewater engineering : Treatment, disposal and reuse*. Edition McGraw-Hill.
- Mitchell R., Yankofsky S. et Jannasch W. (1975).** *Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea*. Edition Pergamon Press. 290p.
- Mitsch W. et Gosselink J-C. (1993).** *Biogeochemistry of Wetlands in: Wetlands, Van Nostrand Reinhold*. New York, USA. 163P.
- Morgane N-C. (1982).** *An ecological survey of standing waters in North-West Africa: II site description for Tunisia & Algeria* Biol. Cons 24: 83-113.
- Namour P-H. (2006).** L'autoépuration : processus "naturel" complémentaire des systèmes de traitement des eaux usées. 2^{ème} rencontres nationales de l'Eau, Aix-les-Bains.
- Neidhardt F-C., Ingraham J-L. et Schaechter M. (1994).** *Physiologie de la cellule bactérienne : Une approche moléculaire (Broché)*. Edition Dunod. 487 p.
- Niewolak S., Koj H. et Chomutowska H. (1996).** Influence of some heavy metals on the survival of heterotrophic bacteria in bottom sediments of eutrophic lake. Environ. Stud. 21p
- OMS.** Organisation mondiale de la santé.
- Pelement J. (1995).** *Bactéries et environnement*. Vol 1, Edition Office des publications universitaires. 82p.

- Phelps E. (1908).** *A method for calculating the number of E coli from the results of dillution tests.* Edition pub hyg.145p.
- Pilet C., Bourdon J., Toma B., Marchal N., Balbastre C.et Person J. (1987).** *Bactériologie médicale et vétérinaire.* Nouvelle édition Doin. 359p.
- Pourriot .R .et Meybeck .M . (1995).** *Limnologie generale.* Edition Masson. 956p
- Ramade F. (1984).** *Eléments d'écologie, écologie fondamentale.* Edition Mc Graw-Hill.391p.
- Rehahli A. (2008).** *Ecologies du Fuligule Milouin Aythya Perina dans le Lac des Oiseaux (Wilaya d'El Tarf).* Mémoire d'Ingéniorat d'état en agronomie. Institut des Sciences Agronomiques. Centre universitaire El-Taref.31p.
- Rejsek F. (2002).** *Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques.* Edition scéren CRdp. 358p.
- Rodier J. (1996).** *L'analyse de l'eau naturelle, eau residuaires et eau de mer.* Édition DUNOD. 1350p
- Rodier J. (2005).** *L'analyse de l'eau.* 8eme édition DUNOD. 1384p.
- Sanders R-W.et Porter K-G. (1986).** *Use of metabolic inhibi tos to estimate protozooplankton grazing and bacterial production in a monomictic eutrophic lake with an anaerobic hypolimonion.* *App. Environ. Microbiol.* 52,101.
- Sayad L. (2008).** *Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux.* Mémoire due Magister. Université d'Annaba. 118p.
- Scheffer R., De Vay J.et Carroll T.(1971) .** *The Prokaryotes,* edition Spinger Verlag. 3415p.
- Seidler R.et Starr M. (1969).** *Factors affecting the intracellular parasitic growth of Bdellovibrio bacteriovorus developing within Escherichia coli.* *Bacteriol.* 9 12p.
- Shemesh Y.,Davidov Y., Koval S.et Edouard J. (2003).** *Small eats big: ecology and diversity of bdellovibrio and like organisme.* 439p.
- Shilo M. (1966).** *Predatory bacteria.* *Sci J.* 59p
- Sinclair J.et Alexander M. (1984).** *Role of resistance to starvation in bacterial survival in sewage and lake water.* *Applied and Environmental Microbiology,* 415p
- Singleton P.(1999).** *Bactériologie.* 2eme cycle, 4eme édition dunod. 305p.
- Singleton P (2005).** *Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies.* 6e édition Dunod. 526p.
- Sprung J. (2006).** *Probitics, predatory bacteria plages.* Edition maison Vieux syndrome de réservoir.
- Starr M. et Seidler R. (1971).** *The Bdellovibrios.* *Ann. Rev. Microbiol.* 649p.

- Stolp H. et Petzold H. (1962).** Untersuchungen über einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivität für Pseudomonas Bakterien. Phytopathologische Zeitschrift. 45.
- Stolp H. et Sattler M. (1963).** Bdellovibrio bacteriovorus gen et sp predatory ectoparasite and bacteriolytic microorganism. Antonie van Leeuwenhoek. 248p.
- Straley S. (1977).** Chemotaxis by *Bdellovibrio bacteriovorus* toward prey. J Bacteriol. 640p.
- Talley B. et Dade R. (1987).** Verification of the protein in the outer membrane of *Bdellovibrio bacteriovorus* as the protein of its *Escherichia coli* prey. J Bacteriol. 694p.
- Thomashow L. et Rittenberg S. (1985).** Isolation and composition of sheathed flagella from *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. J Bacteriol. 1054p.
- Touati L. (2008).** Distribution spatio-temporelle des Genres Daphnia et Simocephalus dans les mares temporaires de la Numidie Mémoire de Magister. Université de Guelma. 110p.
- Varon M. et Shilo M. (1978).** Ecology of aquatic *Bdellovibrios*. Edition Academic Press, 48p.
- Varon M. et Shilo M. (1981).** Inhibition of predatory activities of *Bdellovibrio* by various environmental pollutants. Microb Ecol. 107p.
- Villa J-M. (1980).** Carte structurale de la chaîne alpine d'Algérie orientale et des confins Algéro-Tunisiens, échelle : 1/50000. 21.
- Hurst C J. (1997).** Overview of water microbiology as it relates to public health, *Manual of environmental microbiology*. Edition ASM Press. 135p.
- WHO. (World Health Organization). (1991).** Health impact of human exposure to fresh and saline recreational waters. Report on a WHO Working group, Rimini, Document ICP/RUD153. WHO Regional Office for Europe.
- Wuhrmann K. (1972).** Stream purification in water pollution microbiology. Edition Wiley International. 151p.

Sites Web :

- [1]. http://www.ifen.fr/zoneshumides/pages/medd_definition.htm
- [2]. http://www.ramsar.org/info/values_biodiversity_f.htm
- [3]. <http://garciajeanlouis9051.neuf.fr/aaBXIII4.html#Bdellovibrio>
- [4]. <http://www.fr.hidritec.com/Documentation/parametres2.htm>
- [5]. http://fr.wikipedia.org/wiki/Demande_biologique_en_oxyg%C3%A8ne
- [6]. [http://fr.wikipedia.org/wiki/Sabouraud_\(G%C3%A9lose\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Sabouraud_(G%C3%A9lose))
- [7]. <http://www.h2otech.ca/problemes-et-solutions-traitement-eau.aspx>
- [8]. <http://drink-o.ifrance.com/dangers.html>

Résumé

Résumé

L'eau est indispensable pour la vie mais peut comporter des risques pour notre santé surtout lorsqu'elle sert d'exécutoire aux divers rejets de l'être humain. La principale pollution issue de ces rejets est organique. En effet l'eau peut l'absorber et la dégrader dans une certaine mesure : c'est l'auto-épuration qui permet la stabilité biologique des eaux superficielle.

Notre étude réalisée sur l'eau du Lac des Oiseaux " Zone humide" au niveau de la wilaya d'El-Tarf vise à déterminer ce pouvoir auto-épurateur. Suite au dénombrement bactérien de l'eau, il est montré que cette eau souffre d'une pollution microbienne importante, ainsi qua la recherche microbienne nous a permet de mettre en évidence la dominance des bactéries Gram négatif et l'existence des bactéries pathogènes "*entérobactéries*" tel *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ainsi que d'autres germes or les entérobactéries tel *Staphylococcus aureus*.

L'étude au niveau de laboratoire des échantillons d'eau prélevés à partir des trois stations différentes montre que cette eau est douée d'un pouvoir bactéricide naturel important.

L'essai d'isolement des bactéries prédatrices selon la technique de la double couche nous a conduit à isoler les *Bdelovibrio bacteriovorus*.

Le traitement par *Bdelovibrio bacteriovorus* a montré l'action bactériolytique très important en réduisant considérablement les populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter*, et dans la moindre mesure la population de *Klebsiella*, mais l'élimination n'a été pas totale dans tous les essais.

Mots clef : Zone humide, pouvoir auto-épurateur, pollution microbienne, entérobactéries, *Bdelovibrio bacteriovorus*.

Summary

Water is essential for life but may pose risks to our health especially when used to execute the various throwing of the human being. The main outcome of such pollution is organic waste. In fact the water can absorb and degrade to some extent is self-purification which allows the biological stability of superficial water .

Our study is realised on the water from lake (Lac des Oiseaux) "humid zone" site in wilaya of El-Tarf and aim to determine this self-purification power. after the enumeration of bacteria populating the water, it was demonstrated that this water suffer from an important microbial pollution, thus the microbial search has allow to demonstrate the domination of Gram negative bacteria and the existence of pathogenic bacteria " enteric bacteria" like *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, thud other bacteria or the enteric bacteria like *Staphylococcus aureus*.

The study in laboratory of samples of water taken from three different stations demonstrate that this water in endowed with an important natural bactericide power.

The essay for isolation of predator bacteria according to technique of double layer was succeeded by isolation of *Bdelovibrio bacteriovorus*.

The treatment by *Bdelovibrio bacteriovorus* has demonstrated the very important bacteriolytical action by considerable reduction of population of *Escherichia coli*, *Enterobacter*, and in less measure the population of *Klebsiella*, but the elimination was not total in all tests.

Key words: Humid zone, self-purification, microbial pollution, enteric bacteria, *Bdelovibrio bacteriovorus*.

المخلص

الماء ضروري للحياة لكنه قد يشكل خطرا على صحتنا عندما يصبح منفذ لمختلف نفايات الإنسان خاصة المواد العضوية. يمكن للماء أن يتخلص من بعض الملوثات عن طريق قدرة التصفية الذاتية التي تسمح بالثبات البيولوجي للمياه السطحية.

إن الدراسة التي أجريت على مستوى المنطقة الرطبة بحيرة الطيور بالقالة تهدف إلى تحديد هته القدرة على التصفية الذاتية بعد تعداد البكتيريا المتواجدة بالمياه ، ا تضح أن هذا الماء يعاني من تلوث بكتيري كبير.

أیضا إن عملية البحث عن الجراثيم بينت هيمنة البكتيريا غرام سالب و كذا وجود البكتيريا المسببة للأمراض متشكلة خصوصا من بكتيريا معوية مثل اشريشيا كولي، انترو باكتر ، كليبسيالا و كذا جراثيم اخرى غير البكتيريا معوية مثل ستافيلوكوكس اوريس. ان الدراسة المجراة في المختبر لمختلف العينات المأخوذة من ثلاث محطات مختلفة تبين أن هذا الماء يتمتع بقدرة ذاتية طبيعية هامة في قتل البكتيريا

إن المحاولة المتعلقة بعزل البكتيريا المفترسة باستخدام تقنية الطبقة المزدوجة أدت بنا إلى عزل بديلو فييريو باكتيريو فوريس. ان المعالجة بواسطة بديلو فييريو باكتيريو فوريس بينت فعلها التحليلي البكتيري الهام جدا من خلال التقليل الجد معتبر لخلايا اشريشيا كولي، انترو باكتر و بصفة ثانوية خلايا كليبسيالا، ولكن تنحية الخلايا لم تكن كلية في جميع التجارب.

الكلمات المفتاح المناطق الرطبة، قدرة التصفية الذاتية، تلوث بكتيري ، بكتيريا معوية، بديلو فييريو باكتيريو فوريس.

Annexes

Annexe 01

Numération en milieu liquide : Méthode de Mac CRADY (Table de Mac Grady)

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

Annexe 02

Milieux de culture

Milieu YP :

A. Gélose YP (pour la couche inferieure)

Extrait de levure.....	5g
Bacto-peptone... ..	5g
Agar.....	12g
Eau distillée.....	1000ml
NaoH.....	2ml
pH.....	7.4

Autoclavé 15 minutes à 120°C.

B. Gélose YP (pour la couche inferieure)

Extrait de levure.....	5g
Bacto-peptone... ..	5g
Gélose.....	6g
Eau distillée.....	1000ml
NaoH.....	2ml
pH.....	7.4

Autoclavé 15 minutes à 120°C.

Milieu Chapman :

Peptone pepsique ou tripsique.....	2g
Extrait de viande.....	1g
Proteose peptone... ..	9g
NaCL.....	75g
Eau distillée.....	1000ml
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0.025g
pH.....	7.4

Milieu Mac Con Key :

Peptone tripsique de gélatine	17g
Peptone de viande et de caséine.....	3g
Lactose... ..	10g
Sels biliaires.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	40g
Gélose	13g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	7.4

Gélose nutritive :

Peptone	5g
Extrait de viande.....	3g
Lactose... ..	10g
Bromocrésol pourpre.....	0.025g
Gélose.....	15g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	7

Annexe 03

Tableau : Caractères d'identification biochimique des *Enterobacteries* :

	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobact</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providenci</i>	<i>Citrobacte</i>
Mobilité	+/-	-	+	+	+	+	+
Gaz	+	+	+	d	+(-)	d	+
Lactose	+/x	+	+/x	-/x	-	-	+/x
ONPG	+	+	+	+	-	-	+
H2S	-	-	-	-	d	-	+
Uréase	-	(+)	-	-	+	-	-(+)
TDA	+	-	-	-	d	+	-
Indole	d	d	d	+	-	-	-
LDC	d	-	+	+	d	d	+
Cit.Sim	-	+	+	+	d	+	+
Mannitol	+	+	+	+	d	d	+
Sacc	d	+	+	+	d	d	d
RM	+	-	-	-	+	+	+
VP	-	+	+	+	-(+)	-	-

LDC : Lysine décarboxylase ; TDA : Tryptophane désaminase ;

RM : Rouge de méthyle ; VP : Voges- Proskawer ; d : différent (x) : Tardivement et irrégulièrement.

Annexe 04

Tableau : Caractères d'identification biochimique de *Salmonella*

Milieux	Tests	<i>Salmonella</i>
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	Gaz	+ (sauf <i>S. typhi</i>)
	H ₂ S	+ (sauf <i>S. paratyphi A</i> et <i>S. choleraesuis</i>)
Mannitol- Mobilité	Mannitol	+
	Mobilité-	+
	Nitrate	+
Urée- Indole	Uréase	-
	TDA	-
	Indole	-
Simmons	Citrate	+ (sauf <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi A</i>)
Glycérol	Eau peptonée+glycérol	-/+

Annexe 05

Tableau : Caractères d'identification biochimique de *Shigella*.

Milieux	Tests	<i>Shigella</i>
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	H ₂ S	-
	Gaz	-
Mannitol- Mobilité	Mobilité	-
Urée- Indole	Uréase	-
	TDA	-
Simmons	Citrate	-

Annexe 06

Tableau : Caractères d'identification biochimique des principales espèces de *Pseudomonas*.

Espèce	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	<i>P.putida</i>	<i>P.stutzeri</i>	<i>P.pseudomallei</i>	<i>P.mallei</i>	<i>P.cepacia</i>	<i>P.diminuta</i>
caractère								
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydation du glucose	+	+	+	+	+	+	+	-
Pyocyanine	+	-	-	-	-	-	-	-
Pyoverdine	+	+	+	-	-	-	-	-
Culture 4°C	-	+	<i>d</i>	-	-	+	-	-
Culture 42°C	+	-	-	+	+	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
Nitrate	+	<i>d</i>	-	+	+	+	+	-
Gélatinase	+	+	-	-	+	+	<i>d</i>	-
Citrate Simmons	+	+	+	+	++	-	+	-

d : variable suivant les souches *P.mallei** : bacille immobile

Thème
**Degré de contamination du Lac des Oiseaux et contribution à l'étude du pouvoir auto-
épuration de l'eau : Isolement et étude de *Bdellovibrio bacteriovorus***

Présenté par : Ismahan HALASSI

Résumé

L'eau est indispensable pour la vie mais peut comporter des risques pour notre santé surtout lorsqu'elle sert d'exécutoire aux divers rejets de l'être humain. La principale pollution issue de ces rejets est organique. En effet l'eau peut l'absorber et la dégrader dans une certaine mesure : c'est l'auto-épuration qui permet la stabilité biologique des eaux superficielle. Notre étude réalisée sur l'eau du Lac des Oiseaux " Zone humide" au niveau de la wilaya d'El-Tarf vise à déterminer ce pouvoir auto-épuration. Suite au dénombrement bactérien de l'eau, il est montré que cette eau souffre d'une pollution microbienne importante, ainsi que la recherche microbienne nous a permis de mettre en évidence la dominance des bactéries Gram négatif et l'existence des bactéries pathogènes "entérobactéries" tel *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ainsi que d'autres germes ou les entérobactéries tel *Staphylococcus aureus*. L'étude au niveau de laboratoire des échantillons d'eau prélevés à partir des trois stations différentes montre que cette eau est douée d'un pouvoir bactéricide naturel important. L'essai d'isolement des bactéries prédatrices selon la technique de la double couche nous a conduit à isoler les *Bdellovibrio bacteriovorus*. Le traitement par *Bdellovibrio bacteriovorus* a montré l'action bactériolytique très important en réduisant considérablement les populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter*, et dans la moindre mesure la population de *Klebsiella*, mais l'élimination n'a été pas totale dans tous les essais.

Mots clef : Zone humide, pouvoir auto-épuration, pollution microbienne, entérobactéries, *Bdellovibrio bacteriovorus*.

Summary

Water is essential for life but may pose risks to our health especially when used to execute the various throwing of the human being. The main outcome of such pollution is organic waste. In fact the water can absorb and degrade to some extent is self-purification which allows the biological stability of superficial water. Our study is realised on the water from lake (Lac des Oiseaux) "humid zone" site in wilaya of El-Tarf and aim to determine this self-purification power. after the enumeration of bacteria populating the water, it was demonstrated that this water suffer from an important microbial pollution, thus the microbial search has allow to demonstrate the domination of Gram negative bacteria and the existence of pathogenic bacteria " enteric bacteria" like *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, thud other bacteria or the enteric bacteria like *Staphylococcus aureus*. The study in laboratory of samples of water taken from three different stations demonstrate that this water in endowed with an important natural bactericide power. The essay for isolation of predator bacteria according to technique of double layer was succeeded by isolation of *Bdellovibrio bacteriovorus*. The treatment by *Bdellovibrio bacteriovorus* has demonstrated the very important bacteriolytical action by considerable reduction of population of *Escherichia coli*, *Enterobacter*, and in less measure the population of *Klebsiella*, but the elimination was not total in all tests.

Key words: Humid zone, self-purification, microbial pollution, enteric bacteria, *Bdellovibrio bacteriovorus*.

الماء ضروري للحياة لكنه قد يشكل خطرا على صحتنا عندما يصبح منفذ لمختلف نفايات الإنسان خاصة المواد العضوية. يمكن للماء أن يتخلص من بعض الملوثات عن طريق قدرة التصفية الذاتية التي تسمح بالثبات البيولوجي للمياه السطحية. إن الدراسة التي أجريت على مستوى المنطقة الرطبة بحيرة الطيور بالقالة تهدف إلى تحديد هذه القدرة على التصفية الذاتية بعد تعداد البكتيريا المتواجدة بالمياه ، ا تضح أن هذا الماء يعاني من مشكلة تلوث بكتيري كبير. أيضا إن عملية البحث عن الجراثيم بينت هيمنة البكتيريا غرام سالب و كذا وجود البكتيريا المسببة للأمراض خصوصا من بكتيريا معوية مثل اشريشيا كولي، انترو باكتر ، كليسيالا و كذا جراثيم اخرى غير البكتيريا معوية مثل ستافيلوكوكس اوريس. ان الدراسة المجراة في المختبر لمختلف العينات المأخوذة من ثلاث محطات مختلفة تبين أن هذا الماء يتمتع بقدرة ذاتية طبيعية هامة في قتل البكتيريا إن المحاولة المتعلقة بعزل البكتيريا المفترسة باستخدام تقنية الطبقة المزدوجة أدت بنا إلى عزل بديلو فيريو باكتيريو فوريس. ان المعالجة بواسطة بديلو فيريو باكتيريو فوريس بينت فعلها التحليلي البكتيري الهام جدا من خلال التقليل الجد معتبر لخلايا اشريشيا كولي، انترو باكتر و بصفة ثانوية خلايا كليسيالا، ولكن تحية الخلايا لم تكن كلية في جميع التجارب.

الكلمات المفتاح المناطق الرطبة، قدرة التصفية الذاتية، تلوث بكتيري ، بكتيريا معوية، بديلو فيريو باكتيريو فوريس
