

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : Biologie Moléculaire des Procaryotes

Thème

**Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued
Messida (Parc National d'El Kala, W. d'El Taref)**

Présenté par :

BAZINE Nadjla

BOURENANE Amel

Devant le jury composé de :

Président : **Mr. HOUHAMDI M.**

Examineur : **Mr. MERZOUG A.**

Encadreur : **Mme. BENHALIMA Lamia**

Prof. Université de Guelma.

M.A.B. Université de Guelma.

M.A.B. Université de Guelma.

Junin 2011

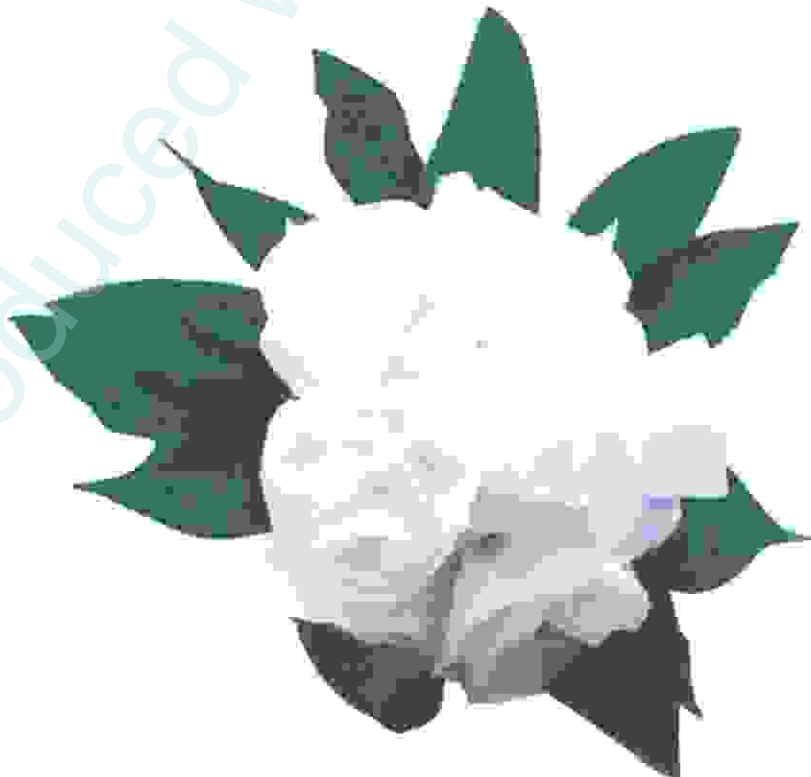
REMERCIEMENT

Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadreur Mme BENHALIMA LAMIA qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à Mr KEBIECHE H. et Mr BOURENANE A. de nous avoir fait bénéficier de sa précieuse aide, ses encouragements, ses conseils et ses bonnes humeurs.

Nous exprimons également notre reconnaissance à Mr HOUHAMDI M. et Mr MERZOUG A. qui ont accepté de participer à ce jury et de juger ce travail.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces

Je dédie ce travail :

*Au pur esprit de ma mère ZHAIRA et ma grande mère GUARMLA qui j'espère
qu'elles être au paradis*

A Mon grand père BELGACEM

*Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te
protège et longue vie*

pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et d'affection

A Mon père MOSTEFA et ma belle mère KARIMA

A mes frères :

REDOUANE, HICHEM et NASR EDDINE

A mes sœurs :

HOUDA, YASMINE et à ma belle sœur HANANE

*A toute ma famille et surtout mes oncles RACHID et AHMED ainsi que leurs
épouses RAFIKA et FAIROUZ*

A ma tante SASSIA et son époux MOKHTAR,

A mes cousins et cousines :

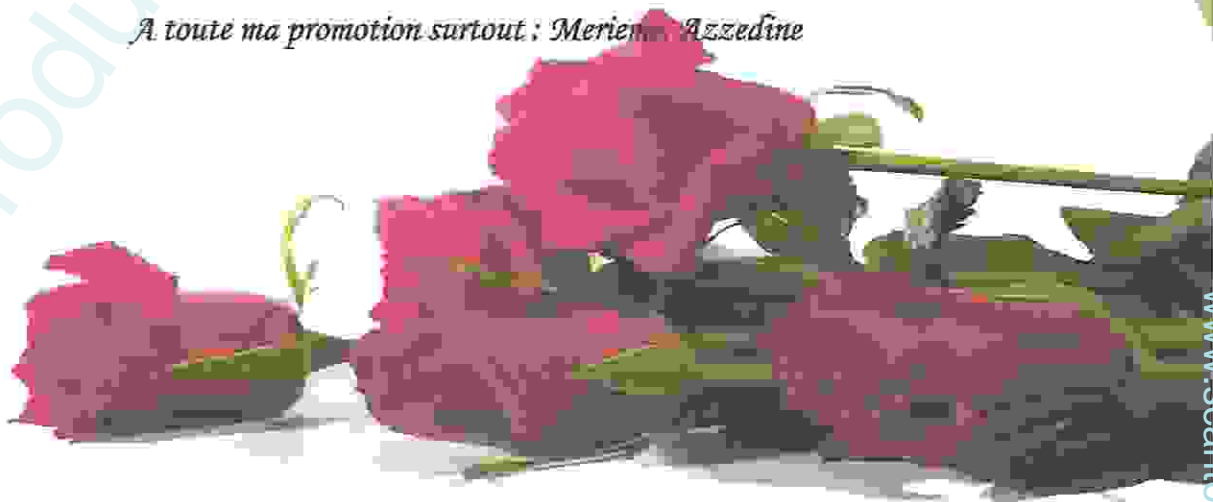
Ramzi, Nour El Islam, Aya, Salah Eddine, Soumia, Hadile et Nada

A NADJLA mon binome

A mes chères amies :

Akila, Sara, Kamila, Nazihia, Mouna, Merieme, Wafa

A toute ma promotion surtout : Meriem, Azzedine



Amel

Dédicaces

Je dédie ce travail

Aux deux êtres les plus chers, mes parents

*Khemissi et Salihâ pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et
d'affection*

A mon frère : Adel et son fiancée Karima

A mes sœurs : Dounia et Asma

A mon beau frère Nadjim

Aux anges de ma maison :

Mon neveu Chihabe Eddine et ma nièce Ritaj

A Amel mon binome

A mes amies :

Sara M, Akila, Kamila, Nazihâ, Mouna, Merieme, Wafa,

Mouna K, Sara G, Hadjer, Amina

A toute ma famille surtout : Ma tante Nadia

A toute ma promotion



Nadjla

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	les principaux caractères de l'oued Messida.	8
Tableau 2	principales maladies d'origine hydriques et leurs agents responsables.	18
Tableau 3	Principale maladies hydriques d'origine bactériennes.	24
Tableau 4	Principales maladies hydriques d'origine virales.	29
Tableau 5	Principale maladies hydriques d'origines parasitaires.	33
Tableau 6	Présentation des points de prélèvement.	38
Tableau 7	Aspects culturels des Entérobactéries sur les milieux sélectifs.	54
Tableau 8	les paramètres physicochimiques.	78
Tableau 9	résultats de dénombrement des germes totaux dans les points de prélèvement de l'eau de l'Oued Messida.	80
Tableau 10	dénombrement des coliformes totaux dans les eaux de l'Oued Messida.	82
Tableau 11	dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux de l'Oued Messida.	83
Tableau 12	dénombrement des streptocoques dans les eaux de l'Oued Messida.	85
Tableau 13	dénombrement des Anaérobies Sulfite-Réductrices dans les eaux de l'Oued Messida.	86
Tableau 14	Résultat de l'isolement des germes sur les milieux gélosés.	87/88
Tableau 15	les bactéries isolées durant la période d'étude.	90
Tableau 16	résultats de l'isolement des staphylocoques pathogènes sur la gélose Chapman.	92
Tableau 17	Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolées	93

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Carte du parc national d'El Kala et de ses sites d'intérêt touristique (source : Ministère algérien de l'Agriculture, Direction des Forêts, dépliant délivré par le parc animalier de Braptia).	4
Figure 2	Carte du réseau hydrographique du PNEK. (Source: LANDSCAPAMENAGEMENT. 1998).	5
Figure 3	Carte de localisation du site d'étude.	7
Figure 4	Localisation du point de prélèvement. (Google Earth 2010).	36
Figure 5	Les points de prélèvement des eaux de l'Oued Messida.	37
Figure 6	Multiparamètres utilisé pour la détermination de : température, pH, et conductivité électrique.	39
Figure 7	Evolution spatio-temporelle de la température dans les eaux de l'Oued Messida.	76
Figure 8	Evolution spatio-temporelle de pH dans les eaux de l'Oued Messida.	76
Figure 9	Evolution spatio-temporelle de la conductivité électrique dans les eaux de l'Oued Messida.	76
Figure 10	Répartition spatio-temporelle des germes totaux dans les eaux de l'Oued Messida.	81
Figure 11	Evolution spatio-temporelle du nombre de coliformes totaux dans les eaux de l'Oued Messida.	82
Figure 12	Evolution du nombre d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux de l'Oued Messida.	83
Figure 13	Test indole positif sur eau peptonée exempte d'indole incubée à 44°C confirme la présence d' <i>E. coli</i> .	84
Figure 14	Evolution du nombre des Streptocoques fécaux dans les eaux de l'Oued Messida.	85
Figure 15	Evolution du nombre des Anaérobies Sulfito-Réductrices (ASR) dans les eaux de l'Oued Messida.	86
Figure 16	colonie verte sur la gélose Hektoen	89

Figure 17	Bacille Gram négatif	89
Figure 18	Colonie noir sur la gélose Hektoen	89
Figure 19	Colonie noir sur la gélose SS	89
Figure 20	Colonies bleues, blanche et transparentes sur la gélose BCP	89
Figure 21	Coccobacille Gram négatif	89
Figure 22	Résultat de la galerie classique de <i>Klebsella oxytoca</i>	91
Figure 23	Résultat de la galerie classique d' <i>Enterobacter</i>	91
Figure 24	Résultat de la galerie classique de <i>Citrobacter</i>	91
Figure 25	Résultat de la galerie classique de <i>Proteus</i>	91
Figure 26	Profil biochimique de d' <i>Aeromonas calco. var. anitrat</i>	90
Figure 27	Colonie jaune sur la gélose Chapman	92
Figure 28	Cocci Gram positif	92
Figure 29	Résultat du test catalase	93
Figure 30	Résultat du test staphylocoagulase	93
Figure 31	Profil biochimique de <i>Staphylococcus epidermidis.</i>	93

Liste des schémas

Numéro	Titre	Page
Schéma 1	Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.	42
Schéma 2	Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.	45
Schéma 3	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.	48
Schéma 4	Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réductrices.	50
Schéma 5	Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes.	53
Schéma 6	Recherche de <i>Vibrio cholérique</i> .	69
Schéma 7	Recherche de <i>Pseudomonas</i> .	72
Schéma 8	Recherche des <i>Staphylocoques</i> pathogènes.	76

Produced with ScanTopdf

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase

API : Analytique Prophylactic Index

ARN : Acide ribonucléique

ASR : Anaérobie Sulfito-Réductrice

BCP : Gélose lactosé pourpre au bromocrésol

BCPL : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre

°C : Degré Celsius

CT : Coliformes totaux

D/C : Double concentration

E. coli : Escherichia coli

EPA : Eau peptonée alcalin

Fig : Figure

g : Gramme

GN : Gelose Nutritive

h : Heure

IND : Indole

LDC : Lysine déshydrogénase , **LDC** : Lysine decarboxylase

Nb : Nombre

NIT : Nitrate

NPP : Nombre le plus probable

ODC : Omithine décarboxylase

ONPG : Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase

P : Point

PH : Potentielle Hydrogène

PNEK: Park National d'El Kala

RM: Rouge de méthyle

S/C : Simple concentration

SF : Streptocoque fécaux

SS : Salmonella-Shigilla

T : Température

TDA : Tryptophane décarboxylase

TGEA : gélose tryptone glucose à l'xtrait de levure

TSI : Triple Sugar Iron

UFC : Unité formant colonie

UV : Ultraviolet

VF : Viande foie

VHA : Virus hepatite A

VP : Voges Proskauer

Produced with ScanTOPDF

Sommaire

Résumé

Partie I : Etude bibliographique

Introduction 1

Chapitre I : Description de site d'étude

I. Description de la région d'étude (PNEK)..... 3

1. Situation générale de la région 3

2. Hydrologie 5

II. Description du site d'étude: l'oued Messida 6

1. Situation de l'oued Messida..... 6

2. Caractéristiques de l'Oued Messida..... 8

3. Diversité biologique de l'oued Messida 9

4. Utilisation des eaux de l'oued Messida 11

5. Caractéristiques climatiques 11

Chapitre II : Pollution d'eau et santé publique

I. Etude de la pollution des eaux 13

1. généralité 13

2. Mode de pollution..... 13

2.1. La pollution physique 13

2.2. La pollution chimique 14

2.3. La pollution organique..... 14

2.4. La pollution microbiologique 15

3. Les indicateurs biologiques de la pollution 15

II. Eau et santé publique 17

1 Les maladies hydriques	17
1.1. Maladies d'origine bactérienne	19
1.1.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes	19
1.1.2. Le Choléra.....	19
1.1.3. Maladies des légionnaires ou légionelloses	20
1.1.4. Gastroentérites aiguës et diarrhées	21
1.2. Maladies d'origine virale	25
1.2.1. La poliomyélite	25
1.2.2. L'hépatite A	25
1.2.3. L'hépatite E	26
1.2.4. Gastroentérites virales	27
1.3. Maladies d'origine parasitaire	30
1.3.1. Les protozoaires	30
1.3.2. Les helminthes	32

Partie II : Matériels et Méthodes

Chapitre III : Matériels et Méthodes

I. Matériels	34
II. Méthodes	34
1. Objectif du travail	34
2. Echantillonnage	34
2.1. Présentation des points de prélèvement	34
2.2. Choix des points de prélèvement	35
3. Examen physico-chimique	39
4. Analyse bactériologique	39

4.1. Mode de prélèvement	39
4.2. Identification, transport et conservation des échantillons	40
4.3. Méthodes d'analyse	40
4.3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	41
4.3.2. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination	43
a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants	43
b. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	46
c. Recherche et dénombrement des Spores de Anaérobies Sulfite-Réductrices (A.S.R)	49
4.3.3. Recherche des germes pathogènes	51
a. Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes	51
b. Recherche de <i>Vibrio cholérique</i>	67
c. Recherche de <i>Escherichia coli</i>	70
d. Recherche des Staphylocoques pathogènes	73

Partie III : Résultats et Discussions

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Résultats et discussions	78
Conclusion	98
Références bibliographiques	
Annexes	

Produced with ScanTOPDF

RESUME

Résumé :

Le Park national d'El Kala (PNEK) est classé parmi les sites du patrimoine mondial grâce à sa richesse biologique diversifiée (faunes et flores).

Les rejets solides et liquides ont un impact important sur le développement d'une contamination bactériologique menaçant la nature et l'homme de façon générale.

Afin d'évaluer la pollution des eaux de surface du PNEK, nous avons suivi, pendant trois mois (Mars, Avril, Mai), l'évolution de la pollution bactériologique dans les eaux de l'Oued Messida qui relie le lac Tonga à la mer méditerranée.

Quatre points de prélèvement ont été choisis le long de notre site avec un échantillonnage mensuel.

La recherche a été portée sur l'évaluation des germes totaux, la recherche et le dénombrement des germes témoignant d'une pollution fécale ainsi que la recherche des microorganismes pathogènes.

Les résultats obtenus ont montré à la forte charge en bactéries indicatrices de contamination fécale qui le confère, ce qui nous a amené à les classer impropre à la consommation et à l'irrigation.

Mots clés:

PNEK, Oued Messida, Pollution fécale, Qualité bactériologique.

Abstract:

National Park of El Kala (PNEK) is classified as a World Heritage Site because of its diverse biological richness (flora and fauna).

The solid and liquid wastes have a significant impact on the development of bacterial contamination threatening the man and nature in general.

To assess the pollution of surface waters PNEK we followed for three months (March, April, May), the evolution of bacterial pollution in the waters of the Oued Messida which connects to Lake Tonga Mediterranean Sea.

Four sampling points were selected along with a sampling site monthly. The research was focused on the evaluation of total bacteria, the detection and enumeration of bacteria indicating fecal pollution and the search for pathogenic microorganisms.

The results obtained showed the high load of fecal indicator bacteria that confers, which led us to classify them unfit for drinking and irrigation.

Keywords:

PNEK, Oued Messida, fecal pollution, Bacteriological quality.

Produced with Scantopdf

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥
॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

॥ अथ चतुर्थः अध्यायः ॥

***ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE***

Produced with ScantOPDF

Introduction :

L'eau est un élément vital indispensable à la vie de tous les êtres vivants sur terre, c'est le lieu où la vie a pris naissance et une grande partie des phénomènes vitaux s'y déroule encore. Il est aussi indispensable au développement des sociétés : santé, nourriture, ou activité humaines.

L'eau qu'elle soit son origine : eau souterraine ou eau superficielle peut comporter des risques sur la santé lorsqu'elle est souillée par des matières qui peuvent la rendre nocive.

La contamination des eaux de surface par des agents pathogènes est un problème de pollution remonte très loin dans le temps. Elle est à l'origine de différentes maladies hydriques qui ont été responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, choléra et autre.

Aujourd'hui, ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé de la population des pays en voie de développement.

Actuellement, en Algérie, la qualité des eaux est soumise à une forte pression exercée par l'accroissement de la population et par l'activité industrielle.

Cette qualité est altérée notamment par l'utilisation des pesticides et des engrais dans l'agriculture, les rejets industriels, les eaux usées d'origine urbaines et les déchets solides.

Les indicateurs microbiologiques sont considérés parmi les paramètres les plus importants pour contrôler la qualité des eaux [6].

La présente étude vise à déterminer la qualité bactériologique d'une eau naturelle « Oued Messida » qui se situe dans le Parc National d'El Kala (wilaya d'El Tarf). Cet écosystème est riche en patrimoine naturelle, donc le contrôle de ces eaux est important pour essayer de conserver sa richesse biologique et ses habitats.

Ce contrôle est porté principalement sur :

- La recherche et dénombrement des germes indicateurs de pollution fécale qui regroupent : les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, et les Anaérobies Sulfito-Reductrices.

- La recherche des bactéries pathogènes telle que : les entérobactéries pathogènes, Vibrions cholériques, *Pseudomonas* et staphylocoques pathogènes.

Généralement, nous avons organisé notre démarche en trois parties :

- La première est purement théorique rassemble d'une part des généralités sur le site d'étude, et d'autre part la pollution des eaux de surface et les maladies hydriques qui peuvent être véhiculés que ce soit son origine.
- La deuxième est une partie expérimentale consacré aux méthodes utilisées pour l'analyse bactériologique.
- Enfin, la troisième partie, mentionne les différents résultats obtenus au cours de notre étude sous forme des tableaux et des graphes, avec une discussion et conclusion clôturant le mémoire.

***DISCRIPTION DE
SITE D'ETUDE***

Produced with Scantopdf

I. Description de la région d'étude (PNEK):

1. Situation générale de la région :(Fig 1)

Le Parc National d'EL-Kala est un ensemble de plans d'eau répartis entre lacs et marais dont les principaux sont le lac Tonga, le lac Oubeira, le lac Mellah, le lac Bleu, le marais de Bourdim et beaucoup d'autres d'importances écologiques égales. Il a été créé en 1983, et classé réserve de Biosphère en 1990, regroupe neuf communes [19].

PNEK se situe dans la wilaya d'EL Tarf à l'Est Algérien et s'étend sur une superficie de 78 400 ha. Appartenant à la partie Nord-Est du tell algérien, il est limité au Nord par la mer Méditerranée, à l'Est par la frontière Algéro-Tunisienne, au Sud par les monts de la Medjerda et à l'Ouest par la ville d'EL-Tarfet par les marais de la Mekkada[19].

Le parc national d'EL-Kala est une région très diversifiée abritant une richesse floristique et faunistique remarquable et unique au monde qui a attiré depuis très longtemps l'attention des naturalistes nationaux et internationaux ; on y trouve 1264 espèces végétales, soit 32% de la flore algérienne et 878 espèces animales [19].

2. Hydrologie : (Fig 2)

A l'intérieure du PNEK, se situer deux plus belles zones d'expansion touristique à savoir : Messida et Cap Rosa, ainsi que les lacs : Mellah (eau salée), Oubeira (eau douce), et le lac Tonga (eau saumâtre) [20].

De nombreux affluents issus des massifs formant la frontière Algéro-Tunisienne, s'écoulent suivant une direction de l'Est vers l'Ouest et aboutissent à la plaine d'Oum Teboul. Une partie des eaux alimente alors le lac Tonga par l'intermédiaire de l'Oued El-Hout. Une autre partie s'infiltré dans les alluvions et recharge la nappe phréatique. Le reste stagne sous la forme de marécages sur les argiles de Numidie[20].

Par ailleurs la partie méridionale de cette région est drainée par 3 oueds avec Oued Bougous, Oued Mellila et Oued El-Kebir lequel joue le rôle de collecteur principal. Par contre la partie occidentale englobe plusieurs chaâbet et oueds liés aux lacs Mellah et Oubeira[20].

L'importance du réseau hydrographique existant dans la région d'El Kala joue un rôle considérable dans le maintien du complexe de zone humide. La longueur de chaque oued existant dans la région varie entre 1,5 à 35 km [19].

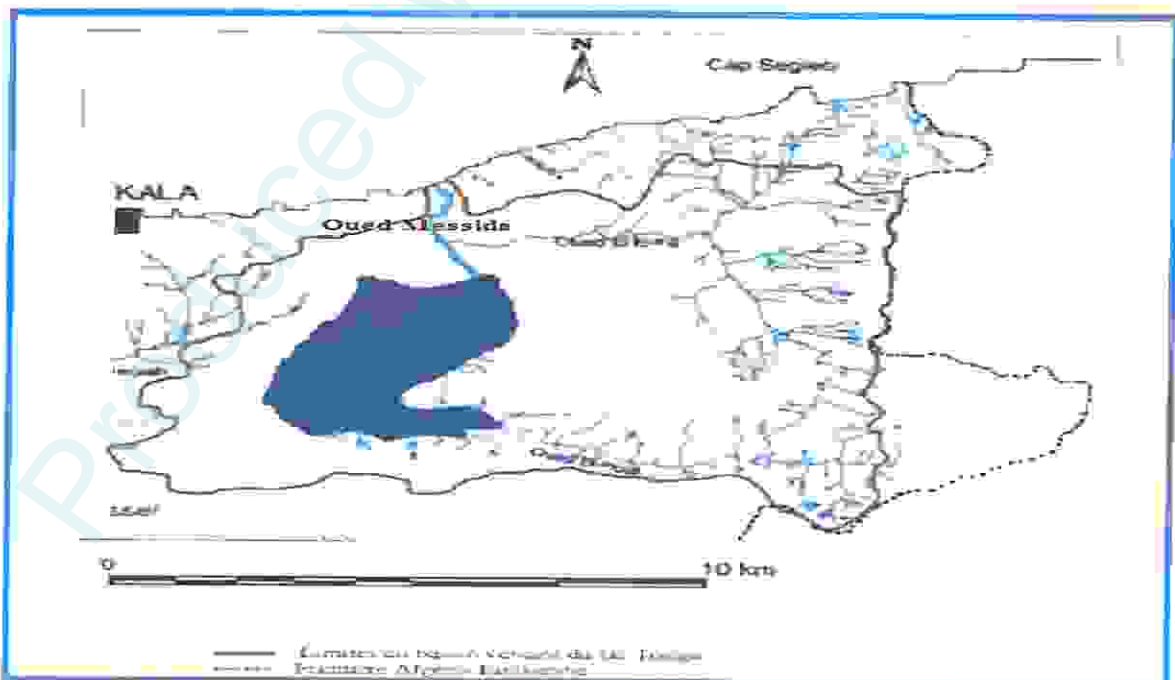


Figure 2: Carte du réseau hydrographique du PNEK. (Source:LANDSCAPAMENAGEMENT, 1998)

II. Description du site d'étude : l'Oued Messida :

1. Situation de l'Oued : (Fig 3)

Le canal Oued Messida est un oued artificiel creusé par les français pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga. Il présente une altitude égale à 0 et de ce fait coule dans les deux sens suivant le niveau d'eau du lac. Ainsi, en hiver l'écoulement se fait du lac vers la méditerranée et en été, il coule dans le sens inverse.

Le canal artificiel Messida relie le lac Tonga (zone humide d'importance internationale)[12] à la mer méditerranée la Messida qui est localisé dans le Parc National d'El-Kala (PNEK) à l'extrême Nord-Est de l'Algérie, ses coordonnées géographiques sont comprises entre OS' 29' et OS' 3S' E et 36' 30' N, à environ 3km de la frontière Algéro-Tunisienne à l'Est, et à l'Ouest d'environ 3 km des complexes industriels d'Annaba

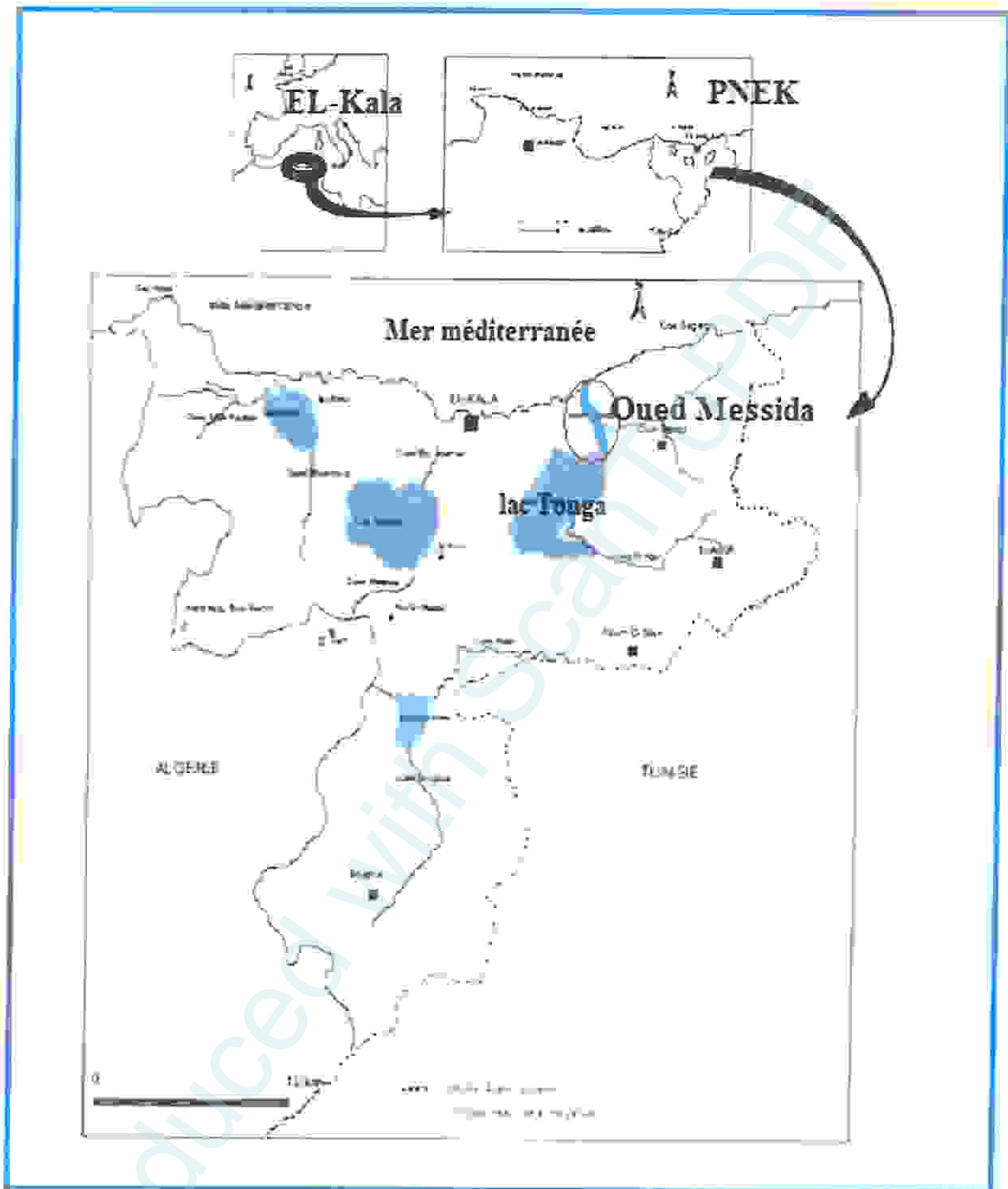


Figure 3 : Carte de localisation du site d'étude (Source:LANDSCAPAMENAGEMENT, 1998)

2. Caractéristiques de l'Oued Messida :

Les caractéristiques de l'Oued Messida sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : les principaux caractères de l'Oued Messida.

Cours d'eau	Oued Messida
type	Canal
Largeur moyenne (m)	> 3
Profondeur moyenne (m)	1 – 2.5
Vitesse du courant	Modérée
Type du terrain (lit du cours d'eau)	<ul style="list-style-type: none"> • A dominance : de sable • Peu de : gravier, grosses pièces, boue.
Conditions du fond	<ul style="list-style-type: none"> • Branches • Feuilles • Peu de déchets • Matière organique en décomposition
Structure des bords	Naturelle
Exposition	Ouvert
Végétation aquatique	<ul style="list-style-type: none"> • Sur les bords : abondante • Au milieu : modérée
Environnements aux alentours	<ul style="list-style-type: none"> • Auberge • Agriculture • Pâturage • Quelques habitations.

3. Diversité biologique de l'Oued Messida :

De par sa localisation, l'Oued Messida héberge une faune et une flore bien diversifiée.

- **La faune :**

L'Oued Messida constitue l'habitat d'espèces animales d'immenses valeurs :

- Des oiseaux migrateurs et hivernant (dont des canards, foulques et autres).
- Des poissons d'eau douce ainsi que de nombreux groupes de la faune intérieure.
- les herbivores et les insectes.

La faune recensée, reste insuffisante et ne représente qu'une fraction de la véritable richesse biologique du site.



Fig: Foulque pontée d'eau



Fig: Civelles d'anguilles



Fig: Les herbivores

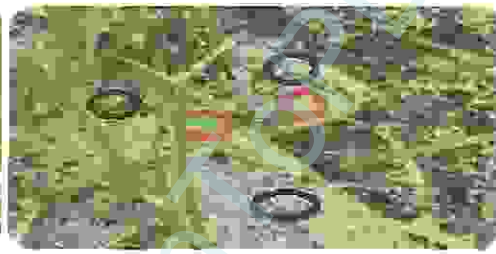
• La flore :

Le lit de l'Oued Messida est caractérisé par une organisation typique de végétation, sa superficie est encombrée d'herbiers flottants, d'hydrophytes courant le plan d'eau en partie.

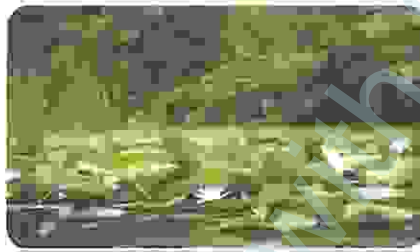
La végétation aquatique à dominance de :



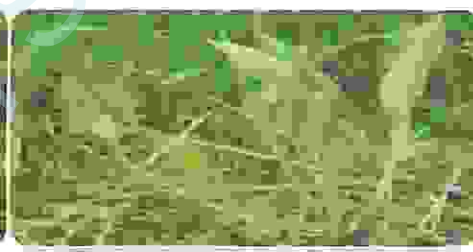
Juncus acutus



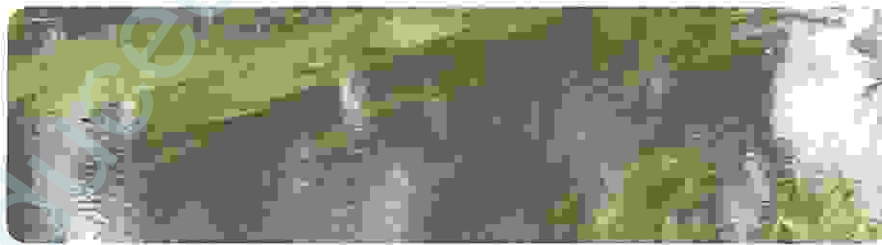
Lemna minor callitriche sp
Lemna trisulca



Nymphaea alba



Alisma plantago-aquatica



Mille feuilles Myriophyllum spicatum

- *Typha angustifolia*
- *Veronica sp*
- *Cynodon dactylon*

4. Utilisation des eaux de l'Oued Messida :

Les eaux de l'Oued sont destinées à :

- L'agriculture qui est le premier secteur de consommation d'eau, notamment pour l'irrigation.
- Corridor biologique permette aux civelles d'anguilles de se déplacer.
- Ecosystème recèle une diversité biologique importante par la faune et la flore qu'elle abrite, ce qui lui confère un rôle de conservation important (reproduction, développement).
- Lieu où les animaux qui vivent aux alentours (vaches, chèvre, chevaux...) abreuvent.
- Offre un milieu favorable aux scientifiques et aux chercheurs qui engagent leurs recherches sur diverses problématiques liées aux milieux aquatiques.
- Place pour la chasse, Loisirs, activités touristiques....

5. Caractéristiques climatiques :

Le climat est certainement un facteur du milieu très important [18].

La zone d'étude est sous l'influence d'un climat subhumide, caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec [21]. La forte humidité de la région est causée par la forte évaporation de nombreuses zones humides et la proximité de la mer, ainsi que la richesse de la région en écosystèmes forestiers [18].

Le régime pluviométrique est de type Méditerranéen [20]. Le niveau moyen de précipitations atteint 800 mm et 700 mm respectivement [21].

Par ailleurs, la pluviométrie forte généreuse de la zone d'étude permet non seulement l'entretien du couvert forestier, mais surtout le maintien du réseau hydrographique important existant au sein du Parc. Ce dernier est représenté essentiellement par les 3 grands lacs cités précédemment à savoir El Mellah, Oubeira et Tonga, de même que les nombreux oued (rivières) et sources traversant la zone [21].

La température moyenne annuelle est de l'ordre de 18°C. Les mois les plus chauds sont juillet et août où la température moyenne oscille autour de 25°C. Les mois les plus froids sont décembre et janvier avec des températures moyennes de l'ordre de 12°C [21].

Les vents du Nord-Ouest sont prédominants, surtout en hiver, et leur stabilité depuis le quaternaire est attestée par l'orientation des dunes dans toute la Numidie [18].

Produced with ScanTOPDF

***POLLUTION D'EAU
ET SANTE
PUBLIQUE***

Produced with SCANTOPDF

I. Etude de la pollution des eaux :

1. généralité :

La pollution d'eau est une altération qui rend son utilisation dangereuse et/ou perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines.

Elle a pour origines principales :

- L'activité humaine.
- Les industries.
- L'agriculture.
- Les décharges de déchets domestiques et industriels.

Elle se manifeste principalement dans les eaux de surface par :

- Une diminution de la teneur en oxygène dissous.
- La présence de produits toxiques.
- Une prolifération d'algues.
- Une modification physique du milieu récepteur.
- La présence de bactérie ou virus dangereuse [22].

2. Mode de pollution :

Il existe différentes natures de pollution :

2.1. La pollution physique :

On parle de pollution physique lorsque le milieu aquatique est modifié dans sa structure physique par divers facteurs.

Il peut s'agir :

D'un rejet d'eau réchauffée (pollution thermique) : due essentiellement par les centrales thermiques qui, situées le plus souvent aux abords des cours d'eaux, puisent de grandes quantités d'eaux pour le refroidissement de leurs systèmes. Cette eau réchauffée dans le milieu naturel, ce qui a pour effet d'en modifier fortement la flore et la faune [1].

Telle que, l'eau « chaude » diminue la solubilité de l'oxygène dans l'eau et elle pousse aussi les organismes vivants dans l'eau à respirer plus rapidement, et par conséquent, beaucoup d'organismes meurent par manque d'oxygène, ou deviennent plus sensibles aux maladies [1].

D'un rejet liquide ou solide des sédiments ou matière en suspension ce qui conduit à une altération de la transparence, diminution de l'absorption de la lumière par l'eau, modification de la turbidité du milieu (boue, limon, ... etc.) [1].

2.2. La pollution chimique :

La plupart des pollutions sont de nature chimique, avec différents types de rejets : les polluants sont fréquemment des molécules organiques. Celles-ci sont pour l'essentiel biodégradables, mais leur disparition nécessite de l'oxygène, qui diminue alors dans les milieux aquatiques [17].

Il peut aussi s'agir des substances minérales, comme les (nitrates, phosphates) qui deviennent polluants lorsque leur concentration augmente [17] dont, ils entraînent une croissance excessive des algues et des plantes aquatiques, ce qui diminue la quantité d'oxygène dans l'eau. Les poissons meurt, et lorsque ce type de polluants se trouvent dans l'eau potable, ils peuvent entraîner la mort des enfants en bas âge [30], ou peut être encore dangereuses (métaux et autres micropolluants), qui provoque de profonds déséquilibres chimiques (activité, salinité) ayant des effets biologiques [31].

La pollution chimique peut être chronique, accidentelle ou diffuse, elle a des origines diverses dues à :

- L'insuffisance de certaines stations d'épuration.
- L'absence de réseaux d'assainissement dans certaines zones.
- Le lessivage des sols, mais aussi des chaussées et des toits par les Plines.
- Le rejet d'effluents par les industries [32].

2.3. La pollution organique :

L'eau peut également être polluée par un certain nombre de composés organiques tels que le pétrole, les plastiques et les pesticides [30], provenant des eaux usées domestiques et des industries agroalimentaires, provoque une surconsommation d'oxygène

(nécessaire à sa dégradation) et peut entraîner la mort de la vie aquatique [31], parce qu'ils sont nocifs pour l'homme ainsi que pour toutes les plantes et tous les animaux vivant dans l'eau [30].

Elle peut également provoquer l'apparition ou la mise en solution de produits non désirables (métaux, ammoniac, sulfures) [31].

2.4. La pollution microbiologique :

La pollution microbiologique des eaux est le terme utilisé pour désigner la présence des microorganismes qui sont à l'origine de contamination des eaux littorales, proviennent d'homme ou d'animaux qui hébergent dans leur appareil digestif, une quantité considérable de bactéries, voir de virus [33].

Les rejets provenant de l'intestin des animaux et de l'homme sont évacués dans le sol, ils y subissent une épuration naturelle [31]. Mais s'il pénètre dans un environnement aquatique, les germes pathogènes, et les indicateurs fécaux sont transférés à ce dernier, où ils se diluent [2].

Le fait que les bactéries intestinales soient très souvent des germes aérobies/anaérobies facultatifs, leur permet de survivre dans les différents horizons aquatiques, aussi bien en eaux superficielles que souterraines ; leur survie sera d'autant mieux assurée que la charge organique de l'eau polluée sera plus importante [17].

3. Les indicateurs biologiques de la pollution :

Les organismes et micro-organismes vivant dans les milieux aquatiques sont de bons indicateurs pour suivre l'évolution de la qualité de l'eau [34].

L'analyse bactériologique permet de mettre en évidence la pollution fécale de l'eau. Elle doit être utilisée comme un outil complémentaire de l'enquête sanitaire [35].

Les organismes pathogènes ont pour origine la pollution fécale de l'eau. Ils sont très nombreux et très variés et ne peuvent donc pas faire l'objet d'une recherche spécifique. De plus leur identification est très difficile voire impossible dans le cas des virus. Enfin leur durée de vie peut être très courte [35].

Pour ces différentes raisons, il est préférable de rechercher des germes qui sont toujours présents en grand nombre dans les matières fécales des hommes et des animaux, qui se maintiennent plus facilement dans le milieu extérieur et qui sont clairement identifiés [35].

Ces germes sont dénommés germes indicateurs de pollution fécale et leur présence témoigne de l'existence d'une contamination fécale au moment du prélèvement. Leur mise en évidence dans l'eau n'est pas la preuve de la présence de pathogènes, mais elle permet de la suspecter fortement [35].

- Les *coliformes totaux* et les *coliformes thermotolérants* sont considérés comme des germes testent de contamination fécale.

L'indicateur le plus utile pour estimer la pollution fécale est la bactérie *Escherichia coli*, abondant dans les fèces humaines (jusqu'à 1 milliard de bactéries par gramme de matière fraîche), assez persistant pour être recherché (sa durée de détection dans l'eau à 20°C varie de 1 semaine à 1 mois), son identification est cependant difficile sur le terrain. Ces indicateurs sont cependant peu spécifiques : une présence importante de coliformes thermotolérants, en l'absence de risque sanitaire détectable (enquête sanitaire), doit inciter à rechercher la présence spécifique d'*E. Coli*. En effet, les coliformes thermotolérants autres qu'*E. Coli* peuvent se trouver dans les eaux enrichies en matière organique, comme les produits de décomposition des plantes et du sol [35].

- Les *streptocoques fécaux* sont en grande partie d'origine humaine. Cependant, certaines bactéries classées dans ce groupe peuvent être trouvées également dans les fèces animales, ou se rencontrent sur les végétaux. Ils sont néanmoins considérés comme indicateurs d'une pollution fécale, et leur principal intérêt réside dans le fait qu'ils sont résistants à la dessiccation. Ils apportent donc une information supplémentaire sur une pollution [35].

- Les spores de *Clostridium* Sulfito-Réductrices (C.S.R) : groupe important de bactérie Gram positif, anaérobies, forment des spores et son capable de réduire les sulfites en sulfure. Leur habitat naturel est le sol ou le gros intestin de l'homme ou des animaux. Les spores peuvent survivre de longues périodes dans les fèces, le sol, la poussière, et l'eau. Leur présence dans l'eau peut être utilisée pour détecter une pollution fécale ancienne ou intermittente [36].

II. Eau et santé publique :

L'eau peut constituer un réservoir à certain nombre de microorganismes, donc elle peut également être un vecteur majeur de maladies. Le risque sanitaire hydrique est dépendant de facteurs environnementaux et individuels. Les mesures préventives et les mesures de contrôle mis en place ont permis une meilleure maîtrise des risques, mais la vigilance reste de mis [37].

1. Les maladies hydriques :

Les maladies d'origine hydrique sont des infections, causées par la consommation d'eau contaminée par des matières fécales animales ou humaines qui contiennent des micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, ou protozoaires) [38].

Ces infections se propagent rapidement dans les pays ne disposant pas de bonnes conditions d'hygiène et de système de traitement des eaux [39].

Le tableau 2 présente les principales maladies d'origine hydriques et leurs agents responsables :

Tableau 2 : Principales maladies d'origine hydriques et leurs agents responsables [2].

Maladies	Agents
Origine bactérienne	
Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi A et B</i>
Dysenterie bacillaire	<i>Shigella</i>
Choléra	<i>Vibrio cholerae</i>
Gastro-entérites aiguës et diarrhées	<i>Escherichia coli enterotoxinogène</i> <i>Campylobacter jejuni/coli</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i>
Origine virale	
Hépatites A et E	<i>Virus Hépatite A et E</i>
Poliomyélite	<i>Virus Poliomyélique</i>
Gastro-entérites aiguës et diarrhées	<i>Virus de Norwalk</i> <i>Rotavirus</i> <i>Astrovirus</i> <i>Calicivirus</i> <i>Coronavirus</i> <i>Enterovirus</i> <i>Adenovirus</i> <i>Reovirus</i>
Origine parasitaire	
Dysenterie amibienne	<i>Entamoeba histolytica</i>
Gastro-entérites	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i>

1.1. Maladies d'origine bactérienne :

1.1.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes :

Ce sont de véritables septicémies dues à *Salmonella typhi* et *paratyphi A, B* et *C*. Elles sont caractérisées par de la fièvre, céphalées, diarrhée, douleurs abdominales, accompagnées d'un abattement extrême (le tymphos) et peuvent avoir des complications graves, parfois mortelles : hémorragies intestinales, collapsus cardiovasculaire, atteintes hépatiques, respiratoires, et neurologiques [17].

La contamination se fait par voie digestive à partir d'eaux contaminées par des matières fécales, d'aliments avariés ou encore par des mains sales. La bactérie traverse la barrière intestinale et se fixe dans les ganglions mésentériques. Après incubation elle se répand dans la circulation sanguine ce qui conduit à une septicémie. Elle libère lors de son élimination une endotoxine neurotrope provoquant des ulcérations. La toxine peut être également responsable de trouble plus généraux par atteinte du système nerveux central. La bactérie est retrouvée dans les selles du malade dans 50 à 80 % des cas [17].

Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des zones où l'hygiène est précaire, et frappent principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique latine. Le taux de mortalité est de 10 % en l'absence de traitement [40].

Des antibiotiques permettent de baisser le risque de mortalité à moins de 1 %, mais malheureusement, des souches résistantes aux antibiotiques font leur apparition. De plus, il existe des vaccins antityphoïdiques qui sont généralement administrés aux voyageurs qui se rendent dans les pays où les risques sont élevés [41].

1.1.2. Le Choléra :

Le choléra est une toxi-infection entérique contagieuse due à la bactérie *Vibrio cholerae*, ou bacille virgule, découverte par Koch en 1883 [42].

Le choléra est une maladie à incubation courte allant de quelques heures à 5 jours. Il se caractérise par une diarrhée suraigüe qui a l'aspect de l'eau de riz. Elle s'accompagne de vomissements et de douleurs abdominales [17].

Le Choléra est une maladie très virulente qui touche les enfants et les adultes [42], et sans traitement, la mortalité peut atteindre 50%. [43] La contamination est orale, d'origine fécale par l'eau de boisson ou des aliments souillés [42].

Alors que le mécanisme d'action est dû à une toxine de 103 acides aminés qui se fixe sur les cellules du duodénum responsable de l'absorption de l'eau de la lumière intestinale vers le milieu intérieur et en inverse le mécanisme ce qui conduit à une perte d'eau de 8 à 10 L/jours. Les selles riziformes ne contiennent pratiquement pas de germes fécaux ce qui traduit un intense lavage de l'intestin [35].

Le diagnostic exact se fait par culture de germe à partir de selles, et le traitement consiste essentiellement en une réhydratation, qui maintient le patient en vie le temps qu'il guérisse spontanément en quelques jours. Conjointement des antibiotiques peuvent être administrés surtout afin de limiter la diffusion des germes [42].

1.1.3. Maladies des légionnaires ou légionelloses :

Cette affection a été mise en évidence pour la première fois en 1976 à l'occasion d'un congrès de l'American légion dans un hôtel de Philadelphie. Plus de 200 participants ont été atteints et 40 en sont morts [17]. L'agent responsable est les légionelles qui sont des bactéries fréquemment retrouvées dans l'environnement [44].

La légionellose est une infection respiratoire, dont le réservoir est principalement hydrique. Les sources de contamination incriminées lors d'épidémies sont les installations qui favorisent la multiplication des légionelles dans l'eau chaude. Parmi celle-ci, on trouve les circuits d'eau chaude sanitaire (douches), les climatisations et tours aérorefrigérantes, Les aérosols médicaux pour traitements respiratoires. Pour l'instant, aucune transmission interhumaine n'a été rapportée [17].

La maladie est le plus souvent caractérisée par une pneumonie aiguë présentant un large spectre de signes cliniques allant de la toux avec fièvre modérée jusqu'à la détresse respiratoire. Dans 20 à 40 % des cas, on observe des symptômes gastro-intestinaux. La mortalité est importante : 10 à 15 % (20 à 30 % chez les immunodéprimés) [17].

1.1.4. Gastroentérites aiguës et diarrhées :

La gastro-entérite est une affection inflammatoire de l'estomac et des intestins dans la cause peuvent être liés à des germes, des virus ou des parasites [45].

Généralement les gastroentérites bactériennes sont dues à :

- ***Escherichia coli* :**

Escherichia coli, également appelée colibacille ou *E. coli*, est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'être humain. Découverte en 1885 par Théodore Escherichia, dans des selles de nourrissons ; c'est un coliforme fécal généralement commensal. [46]. Elle est responsable d'une :

- **Gastroentérite inflammatoire :**

Les germes pénètrent dans la muqueuse de l'intestin provoquant des ulcérations (perte de substance de la muqueuse) susceptibles d'entraîner un saignement et une inflammation. Celle-ci s'accompagne d'une hypersécrétion (sécrétion exagérée) de liquide à l'intérieur de l'estomac : l'exsudat, liquide riche en minéraux et en protéines [47].

On constate la présence dans les selles d'une variété de globules blancs : les leucocytes, contrairement à la gastro-entérite aiguë non inflammatoire [47].

- **Gastroentérite non inflammatoire :**

Les germes sont ingérés avec les aliments qui sont contaminés et ceux-ci se multiplient dans l'organisme, entraînant un mauvais fonctionnement de l'intestin grêle. Dans ce cas les globules blancs ne sont pas présents dans les selles [47].

- ***Campylobacter jejuni* :**

Bien qu'étant l'une des causes les plus courantes de gastroentérites, ce n'est que vers la fin des années 1970 que cette bactérie a été reconnue comme agent d'infection gastro-intestinale [17].

La contamination humaine s'effectue soit par contacte avec un animal domestique infecté (chiot, chaton, rongeur) ou bien du bétail, ou des oiseaux (volaille), soit par contacte

interhumain (contamination fécale), soit enfin de manière indirecte, par ingestion d'aliments infectés (lait, viande, mal cuite, eau infectée...) [48].

Les manifestations de l'infection vont de la forme asymptomatique à l'atteinte sévère avec fièvre, crampes abdominales, diarrhées plus ou moins sanglantes pouvant durer plus d'une semaine. Cette affection peut parfois prendre l'allure d'une appendicite aigue ayant conduit, dans certains cas, à une chirurgie parfaitement inutile [17].

La maladie débute habituellement 2 à 5 jours après l'infection de la bactérie : ses effets peuvent être très gênants, pouvant persister jusqu'à 10 jours [49].

L'impact de *Campylobacter* dans les pays en voie de développement est de plusieurs fois supérieur à celui observé dans les pays développés et donne lieu à l'apparition de porteurs sains. Sa prévalence parmi les gastroentérites est de l'ordre de 2 % dont 78 % chez des enfants de 1 à 15 ans [17].

- ***Yersinia enterocolitica* :**

Yersinia enterocolitica est un bacille à gram négatif de 1.3 à 3.5 μm de longueur sur 0.5 à 1.0 μm de diamètre [50].

Ils sont présents dans l'environnement, notamment dans les eaux de surface, dans les aliments d'origine végétale et animale et dans le tube digestif de diverse espèce animale (porcs, bovins, ovins, caprins, chiens, chats ...) [51].

Elle est responsable d'une entérocolite ou appelée encore yersiniose. L'infection peut causer une série de symptômes selon l'âge de la personne infectée, et se produit le plus souvent dans les enfants en bas âge [52]. Elle provoque une diarrhée souvent sanglante qui régresse au bout d'une semaine. Des complications abdominales peuvent néanmoins laissant penser parfois à une crise d'appendicite [17].

- ***Salmonella sp* :**

Il existe plusieurs centaines de salmonelles dont la classification a été modifiée de nombreuses fois et qui n'est toujours pas bien stabilisée. Leur transmission par voie hydrique est oro-fécale [17].

Parmi les 841 espèces estimées par Kaufman-White, c'est la sous-espèce *enterica* qui est responsable des affections des animaux à sang chaud. Elles sont responsables de l'ordre de 8,6% des diarrhées infantiles hospitalisées dont 88% chez des enfants de 1 à 5 ans. Les sérotypes *typhi*, *paratyphi* A, B et C sont responsables des salmonelloses humaines les plus graves, parfois mortelles. D'autres sous-espèces d'origines animales peuvent être responsables de gastroentérites autolimitées avec fièvre de l'ordre de 2 jours et diarrhées n'excédant pas 7 jours [17].

- *Shigella dysenteriae* :

Les dysenteries bacillaires sont dues à des bactéries du genre *Shigella* (*Shigella dysenteriae*) et ne représentent que de l'ordre de 0,7% des gastroentérites de patients hospitalisés, dont 80% sont des enfants de 1 à 15 ans. Leur début est brutal avec élévation brutale de température accompagnée de douleurs abdominales et émission d'importantes selles aqueuses suivies, 1 à 2 jours plus tard, par des volumes moindres de matières fécales contenant beaucoup de sang et de mucus [17].

L'espèce *Shigella dysenteriae* peut provoquer une forme particulièrement sévère de dysenterie dont la mortalité peut atteindre 20 %. L'examen des selles est indispensable pour faire la distinction entre dysenterie bacillaire et dysenterie à protozoaires [17].

L'affection cède à l'antibiothérapie ce qui permet d'éviter des complications comme arthrites ou phlébites ou encore l'apparition de formes hypertextoïques, de type choléra, à mortalité parfois élevée [17].

- *Aeromonas* :

Bien que le genre *Aeromonas* soit peu cité pour ce qui concerne son association avec les gastroentérites, il n'en demeure pas moins qu'il serait responsable en troisième, voir seconde position des gastroentérites des mois d'été aux Etats-Unis [17].

Dans sa forme légère la gastroentérite provoquée par *Aeromonas* se présente comme une diarrhée aqueuse, très semblable à celle causée par de nombreux autres entéropathogènes et ce n'est que très rarement qu'elle présente un caractère cholériforme [17].

Les principales maladies hydriques d'origine bactériennes sont représentées dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Principales maladies hydriques d'origine bactériennes [6].

Maladies	Bactéries responsables
Gastro-entérite	<i>Aeromonas</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Salmonella</i> (autres) <i>Shigella</i> (autres) <i>Yersinia enterocolitica</i>
Syndrôme cholériforme	<i>Aeromonas</i>
Gastro-entérite et autres maladies	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterotoxigène et enteroinvasifs</i>
Pneumopathie, fièvre	<i>Legionella pneumophila</i>
Leptospirose ictérohémorragique	<i>Leptospira</i>
Infection cutanée, pus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fièvre typhoïde et paratyphoïdes	<i>Salmonella typhi et paratyphi A</i>
Dysenterie bacillaire	<i>Shigella dysenteriae</i>
Infection cutanée	<i>Staphylococcus aureus</i>
Cholera, gastro-entérite, infections cutanées	<i>Vibrio</i>

1.2. Maladies d'origine virale :

Les virus responsables d'infections hydriques sont excrétés dans les selles d'individus infectés. Il a été démontré que plus de 130 virus pathogènes, que l'on peut dénommer virus entériques, peuvent être éliminés dans les fèces humaines [6].

1.2.1. La poliomyélite :

La poliomyélite est une maladie infectieuse aiguë de l'homme, qui se localise de préférence dans une région circonscrite de la moelle [54]. Cette paralysie atrophique est due à l'entérovirus, qui est des virus à ARN appartenant à la famille des *Picornaviridae* [55], pouvant provoquer des maladies invalidantes chez les enfants [56], et ils sont parmi les plus courants et les plus importants agents pathogènes pour les humains [17].

La poliomyélite, se caractérise par la destruction des neurones moteurs (cellules nerveuses permettant un mouvement) du système nerveux central ce qui entraîne une paralysie des muscles qui sont innervés par ces neurones [54].

Le plus souvent, le début est soudain, de type grippal (mimant une simple grippe) avec des douleurs du dos et de la nuque. Les paralysies s'installent en quelques jours, une fois la fièvre tombée [57].

De puis les années soixante cette maladie peut être prévenue grâce à des vaccins efficaces. Pour lutter contre ces maladies, il est donc nécessaire de disposer d'une méthodologie permettant le contrôle et la surveillance virologique des milieux hydriques [58].

1.2.2. L'hépatite A :

Le virus de l'hépatite A (VHA) est un virus à ARN appartenant à la famille des picornaviridae. C'est un virus nu (non enveloppé) donc très résistant dans le milieu extérieure et aux agressions physico-chimique [59].

Il se transmet par voie digestive oro-fécale soit directe (manuportée) soit indirectement par l'eau souillée, contaminée par des selles infectées par virus d'où une plus forte incidence dans les pays où les réseaux d'eau potable et les stations d'épuration sont de qualité

insuffisante [59] causant l'hépatite A ; qui est une maladie infectieuse du foie, considéré comme la plus fréquente des hépatites virales [60].

L'évolution clinique de l'infection varie de la maladie anictérique à l'ictère hépatique sévère et prolongé [17].

Après une courte phase pré-ictérique, de l'ordre d'une semaine, caractérisée par de la fièvre, de la fatigue, myalgies, nausées et vomissements, survient la phase ictérique avec urines brun-doré, sombre en raison de la présence de bilirubine, se continuant de un à plusieurs jours plus tard par des selles décolorées avec coloration jaune de la conjonctive et de la peau. La durée des symptômes est de 4 à 8 semaines [17].

Plusieurs complications peuvent accompagner l'affection :

Méningo-encéphalite, atteintes rénale et cardio-vasculaire. Dans 5 à 20% des cas, la maladie peut conduire à une hépatite fulminante avec détérioration des fonctions hépatiques, encéphalopathie et coma. Dans ces conditions, la mortalité est de l'ordre de 1% après 40 ans [17].

1.2.3. L'hépatite E :

L'hépatite E est une infection aiguë due au virus de l'hépatite E. Son individualisation s'est faite progressivement depuis 1980 sur le continent asiatique, à la suite d'épidémies massives affectant des sujets ayant déjà l'immunité vis-à-vis du virus A [2].

L'hépatite E peut également se manifester par un syndrome gastrique fébrile. Dans la forme fulminante le taux de létalité est de l'ordre de 1 à 2 % au cours des épidémies, mais il peut atteindre de 20 à 30 % chez les femmes enceintes au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse [12] elle n'évolue jamais vers la chronicité. Elle n'a pas été observée en France et n'a été rencontrée que dans les pays où les conditions d'hygiène sont très déficientes [2].

Dont, elle touche essentiellement les voyageurs de retour de pays d'endémie [17].

1.2.4. Gastroentérites virales :

Les virus responsables de ce type d'infection sont :

- **Rotavirus :**

Les gastro-entérites à rotavirus sont actuellement largement décrites et elles représentent la grande majorité des épidémies de gastro-entérites des enfants mais, elles peuvent affecter également les adultes [2].

Elles se présentent sous forme de diarrhée sévère, persistante, durant 5 à 8 jours, accompagnée de fièvre et de vomissements et quelquefois de déshydratation, nécessitant une hospitalisation [2].

L'excrétion atteint 10^{10} particules virales par gramme de matière fécale.

La mort est généralement due à la déshydratation et au déséquilibre électrolytique [17].

- **Virus de Norwalk :**

Le virus de Norwalk constitue le prototype de la souche la plus largement étudiée de virus non cultivables dénommés « Norwalk *like* ». Il est responsable d'une gastro-entérite, qui a été survenue la première fois dans une école primaire de Norwalk dans l'Ohio [17].

La gastro-entérite, spécifiquement épidémique, est explosive, bénigne et de courte durée (24 à 48 heures), elle est caractérisées par des diarrhées, des vomissements, des crampes abdominales, des nausées, des maux de tête, et une fièvre peu élevée [2].

L'excrétion du virus dans les selles dure de l'ordre de 3 jours avec des quantités de particules supérieures à 10^6 par gramme [17].

- **Adénovirus :**

Ils sont comme les rota virus, les plus fréquemment retrouvés dans les selles de jeunes enfants vivant dans des pays en voie de développement. Au Guatemala et au Bangladesh, la prévalence des gastroentérites à Adénovirus varie respectivement de 31 % à 3 %. En Europe, Etats-Unis et en Australie, ils sont responsables de 1.1 à 7.9 % des gastroentérites. Leur excrétion dure de 5 à 12 jours et elle est supérieure à 10^6 particules par gramme de selles [17].

- **Astrovirus :**

Ils ont été décrits comme cause occasionnelle de gastroentérite dans diverses parties du monde. La symptomatologie comporte, après une période d'incubation de 24 à 48 h, des vomissements, diarrhée et fièvre supérieure à 39,5°C. L'ensemble dure 2 à 3 jours, mais l'infection peut être asymptomatique [17].

Ils sont excrétés à une concentration estimée à 10^6 particules par gramme de selles. L'incidence actuelle des infections à Astrovirus, évaluée par techniques immun enzymatiques, est estimée entre 2,7 et 8 % quel que soit le statut économique du pays [17].

- **Calicivirus :**

Décrits pour la première fois en 1976, isolés dans des selles d'enfants atteints de gastroentérite [17].

Des virus à morphologies similaire ont été isolés chez le porc, le chat et l'otarie sans qu'aucun ne soit apparu comme une cause manifeste de diarrhée. Ils paraissent responsables d'épidémies de vomissements durant la période hivernale et, comme l'agent de Norwalk, les calicivirus ont été fréquemment associés à la maladie désignée par le terme « *winter vomiting disease* » « *maladie des vomissements d'hiver* » [17].

Le tableau 4 présente les principales infections d'origine virales liées à l'ingestion d'eau ou de coquillages, ou au contact avec une eau contaminée [6].

Tableau 4 : Principales maladies hydriques d'origine virales [6].

Maladies provoquées	Espèces responsables	Mode de contamination
Poliomyélite, paralysie, méningite.	Virus de la poliomyélite	Ingestion
Méningite, infection respiratoire	Virus <i>coxsackie A</i>	Ingestion
Myocardite, éruption cutanée.	Virus <i>coxsackie B</i>	Ingestion
Méningite, infection respiratoire.	<i>Echovirus</i>	Ingestion
Hépatite infectieuse.	Virus de l'hépatite A	Ingestion
Gastro-entérite.	<i>Rotavirus</i> humains	Ingestion
Gastro-entérite.	<i>Calicivirus</i> humains	Ingestion
Gastro-entérite.	Virus de <i>Norwalk</i>	
Hépatite infectieuse.	Virus de l'hépatite E	Ingestion
Gastro-entérite.	<i>Astrovirus</i>	
Gastro-entérite, pharyngite, conjonctivite.	<i>Adénovirus</i>	Ingestion et contact
Entérocolite.	<i>Coronavirus</i> humains	Ingestion.
Gastro-entérite.	<i>Coronavirus like</i>	Ingestion
Verrues.	<i>Papilloma-virus</i> humains	Contact

1.3. Maladies d'origine parasitaire :

On distingue deux types différents d'organismes impliqués dans ces infections :

1.3.1. Les protozoaires :

Organismes unicellulaires eucaryotes dont plusieurs sont des agents d'épidémies hydriques. Ces dernières années, des épidémies de ce type ont fait leur apparition dans les pays industrialisés, ce qui a bouleversé complètement non seulement la notion même des transmissions par voie hydrique mais aussi le traitement de potabilisation nécessaire pour leur élimination [2].

- *Giardia-lamblia* :

Ce sont des flagellées habitant les régions intestinales et atriales. Ils sont responsables de Giardiase [17].

L'infection est oro-fécale par ingestion de kystes. Les trophozoites infectent le haut intestin grêle mais n'envahissent pas les tissus et ne provoquent pas d'ulcération. Le temps d'incubation peut aller de quelques jours à plusieurs semaines [17].

Les symptômes incluent des crampes abdominales, nausées et diarrhée aqueuse. A la phase aigüe de l'infection peut succéder un état chronique qui reproduit à un degré moindre les symptômes de la phase aigüe [17].

Les raisons de ces épidémies sont maintenant bien définies. Elles proviennent habituellement d'eaux de surface, considérées comme d'excellente qualité, exemptes de contamination fécale et qui ne font l'objet que d'une simple désinfection au chlore, sans traitement physico-chimique de coagulation filtration [2].

Les kystes de Giardia, bien connus pour leur résistance aux agents chlorés, restent donc contaminants dans l'eau de distribution. Les enquêtes réalisées aux Etats Unis, dans les états du Colorado, du Minnesota et de Washington, suggèrent que les eaux de distribution non traitées, ou simplement désinfectées, constituent vraisemblablement une cause importante d'infections endémiques de giardiase, en particulier chez les touristes, les campeurs, et les randonneurs [2].

- *Cryptosporidium parvum* :

Ce sont des coccidies intestinales parasites obligatoires de tissus, habitant la muqueuse de l'intestin grêle [17]. Ils sont maintenant considérés comme d'importants contaminants de l'eau, dont le rôle, dans les infections humaines d'origine hydrique, reste pour l'instant mal connu [2]. Occasionnellement, ils peuvent infecter les cellules d'autres organes chez des hôtes immunodéprimés [17].

Les effets cliniques des infections à *Cryptosporidium* peuvent être divisés en deux groupes : les patients à fonctions immunitaires intactes et les patients immunodéprimés. Dans le premier cas, ils développent une diarrhée profuse aqueuse avec crampes abdominales modérées, nausée et anorexie qui cesse en 10 à 15 jours [17].

Les patients immunodéprimés développent une infection bien plus sévère et de longue durée. Les symptômes sont les mêmes mais peuvent durer plusieurs semaines, voire même quelques années. Les épidémies ont eu pour origine les eaux contaminées de distribution publique [17].

Au cours d'études prospectives, réalisées dans les pays en voie de développement, les *Cryptosporidium* ont été isolés chez 3 à 13% des malades souffrant de diarrhée, tandis que les contrôles étaient totalement négatifs. Dans les pays industrialisés, la prévalence des *Cryptosporidium* serait de 0,6 à 7,3% chez les malades et de 0,1% chez les témoins [2].

- *Amibes* :

L'amibe *Entamoeba histolytica* est responsable de la dysenterie amibienne. Elle induit les symptômes classiques des entérocolites avec crampes et diarrhée muco-sanglante dans les cas sévères. Elle peut diffuser dans tous l'organisme à travers le système porte et engendrer des abcès du foie, du poumon et du cerveau [17].

Le genre *Naegleria* fréquemment isolées des eaux de lacs, de piscine et de distribution, est capable de provoquer, après franchissement de la muqueuse nasale, une méningo-encéphalite primitive mortelle [17].

1.3.2. Les helminthes :

Organismes pluricellulaires de type vers. Les infections causées par ce type d'organismes constituent un problème de santé publique dans le monde entier, notamment dans les pays en voie de développement où elles causent de nombreux décès et invalidités [6].

- **Bilharziose :**

Seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme, la bilharziose ou schistosomiase est une maladie chronique et débilitante dont la prévalence atteint les 180 millions d'individus. Un des parasites responsable, *Schistosoma haematobium*, a été identifié en 1851 par le parasitologiste allemand Théodore Bilharz, d'où le nom de la maladie [56].

L'homme contracte les bilharzies au contact de l'eau qui permet le passage à travers la peau des larves du parasite. Cette contamination se traduit par des réactions cutanées : rougeurs, prurit puis trois semaines plus tard apparaissent une fièvre et une éruption cutanée [57].

Cette maladie touche environ 200 millions d'habitants des zones rurales à travers le monde. La gravité de la maladie se mesure par le nombre d'œufs retrouvés par gramme de selles [56].

- **Filariose :**

Les filarioses sont des maladies parasitaires engendrées par différentes espèces de vers ronds non segmentés et à sexes séparés connus sous le nom de filaires. Les embryons rencontrés dans le sang ou dans les tissus sous-cutanés portent le nom de microfilaires [58].

Les espèces filariennes décrites chez l'homme sont au nombre de 9 et se répartissent selon leurs impacts en santé publique en filarioses majeures (pathogènes) et en filarioses mineures (peu ou pas pathogènes) qu'il est important de ne pas confondre avec les majeures souvent plus sensibles aux thérapeutiques classiques [57].

Ce sont des maladies largement répandus, dont 300 millions de personnes sont infectées dans les régions tropicales et subtropicales [58].

Le tableau 5 représente les principales maladies d'origine parasitaire transmise par l'eau :

Tableau 5 : Principale maladies hydriques d'origines parasitaires [6].

Type d'organisme	Nom	Maladie	Type de contamination
Protozoaire	<i>Amibe</i>	Amibiase.	Ingestion des kystes
Protozoaire	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Gastro-entérite.	Ingestion
Protozoaire	<i>Giardia lamblia, intestinalis</i>	Gastro-entérite.	Ingestion des kystes
Protozoaire	<i>Plasmodium</i>	Paludisme.	Piqûre d'Anophèle
Protozoaire	<i>Trypanosome</i>	Maladie du sommeil	Piqûre par Glossine
Helminthe	<i>Anguillule</i>	Anguillulose.	Contact ou ingestion
Helminthe	<i>Ankylostoma duodenale</i>	Ankylostomose.	Contact
Helminthe	<i>Fasciola hepatica</i>	Douve du foie.	Ingestion
Helminthe	<i>Schistosoma</i>	Bilharziose.	Contact
Helminthe	<i>Filaires</i>	Filariose.	Ingestion
Helminthe	<i>Ver de Guinée</i>	Dracunculose.	Ingestion de crustacés

***PARTIE
EXPERIMENTALE***

Produced with ScantOPDF

***MATERIEL ET
METHODES***

Produced with Scantopdf

Matériels et méthodes :

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de Département de biologie à l'Université de Guelma.

Pour aboutir au travail présentée, des sorties mensuelles ont été organisé durant la période d'étude (Mars 2011 → Mai 2011).

I. Matériels :

L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

II. Méthodes :**1. Objectif du travail :**

Les analyses bactériologiques de l'eau ont pour but de mettre en évidence la présence ou non des bactéries qui modifient l'aptitude d'une eau à une utilisation donnée. L'existence des bactéries ne saurait être tolérée, car elle présente de risques pour la santé des êtres vivants [60].

Notre étude consiste à évaluer la qualité bactériologique des eaux de l'oued Messida et son aptitude à assurer certaines fonctionnalités ainsi que l'impact sur la santé humaine et animale.

2. Echantillonnage :**2.1. Présentation des points de prélèvement :**

Pour analyser la qualité microbiologique de l'eau du « Oued Messida », on a choisi quatre points de prélèvement (Tableau 6) (Fig 4, 5) dont le travail est réalisé sur une période de trois mois (Mars, Avril, Mai 2011).

- *Premier point de prélèvement* : Près de la route nationale N44 où lac Tonga.
- *Deuxième point de prélèvement* : Après le rejet d'un égout.
- *Troisième point de prélèvement* : Près d'une zone de pâturage des bétails.
- *Quatrième point de prélèvement* : Près de la Mer Méditerranées (la Messida).

2.2. Choix des points de prélèvement :

- *Premier point de prélèvement* :

Ce point est situé à côté de la ligne 44, près du lac Tonga qui est riche par un Grand nombre d'espèces animales et végétales rares.

Le site représente un point focal entre le lac et l'oued et le début de son cours.

- *Deuxième point de prélèvement* :

Elle est caractérisée par la présence d'un canal d'échange d'anonymes (égout) d'une source inconnue, et en même temps, les propriétaires de terrains adjacents utilisent l'eau de ce point pour l'irrigation.

- *Troisième point de prélèvement* :

On a choisi ce point en raison de sa proximité avec les zones de pâturage où le bétail doit traverser l'oued pour atteindre l'autre côté, et par conséquent la possibilité de boire à partir de ces eaux.

- *Quatrième point de prélèvement* :

Ce point est situé à la fin de l'oued et près de la mer où les lieux de pêche et les vacanciers de résidence nager dans ces plages.

Nous avons choisi ces points en raison de la possibilité d'être des zones contaminées peuvent affecter la qualité de l'eau de l'oued Messida, ce qui peut poser un danger pour les objets environnants.

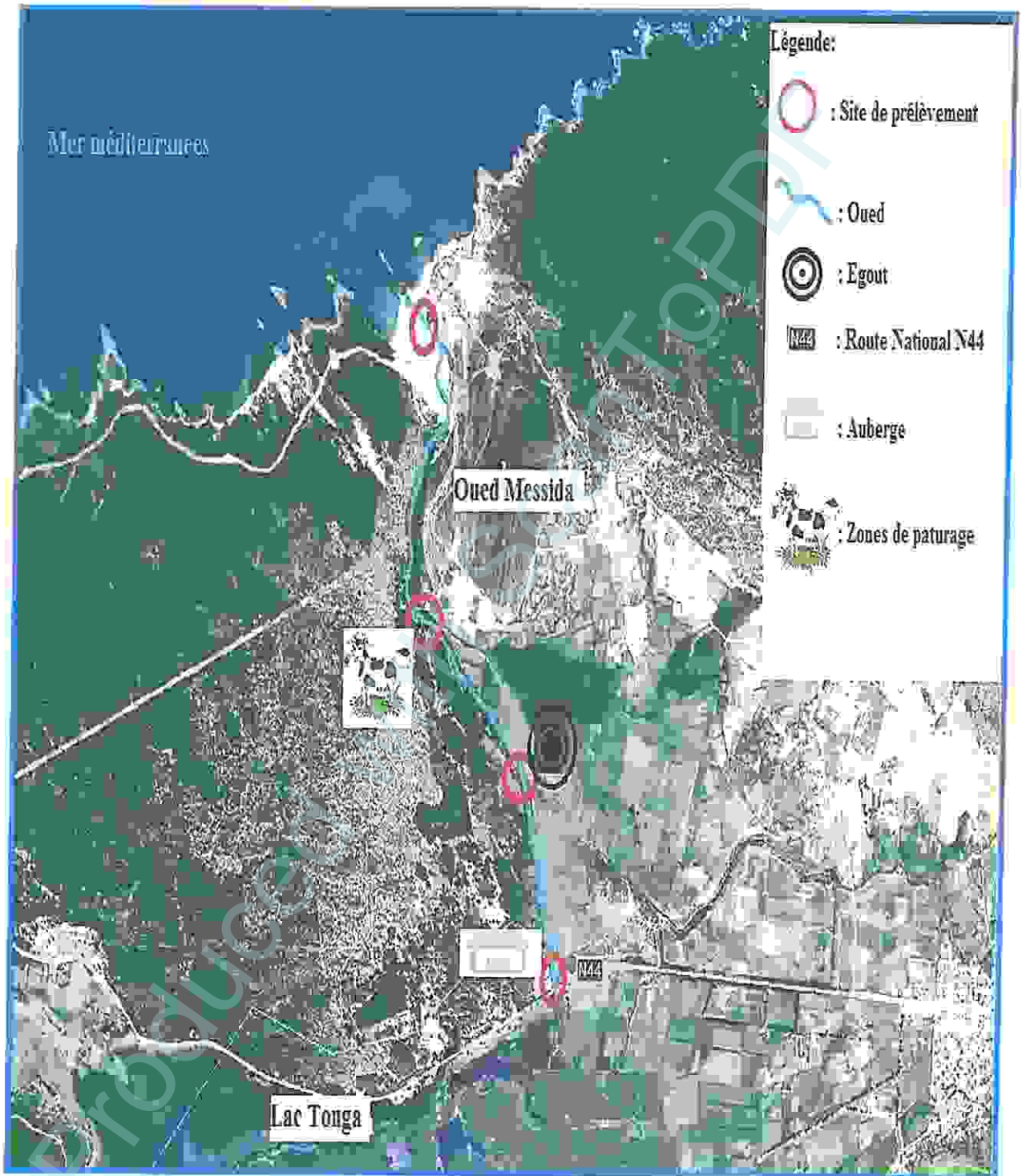
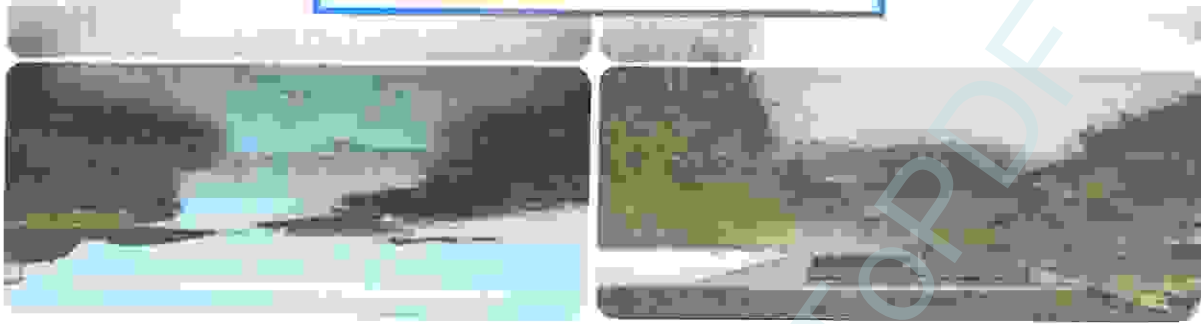


Figure 4 : Localisation des points de prélèvement (Google Earth 2010).

Figure 5 : Les points de prélèvement des eaux de l'Oued Messida.

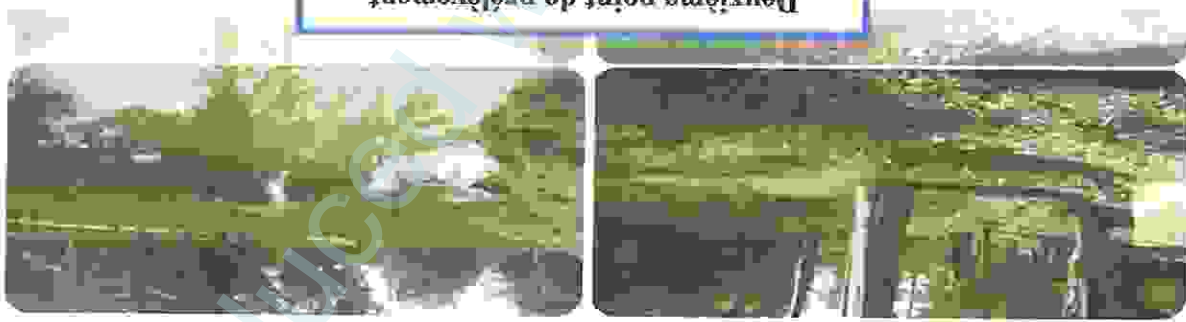
Quatrième point de prélèvement



Troisième point de prélèvement



Deuxième point de prélèvement



Premier point de prélèvement

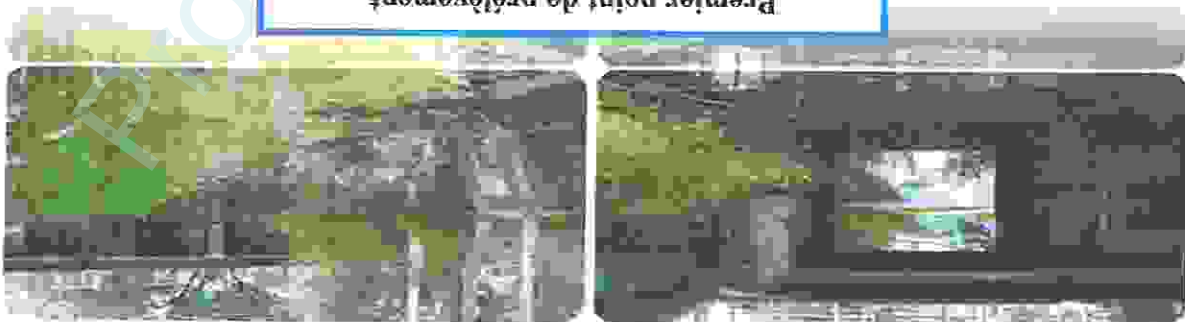


Tableau 6 : Présentation des points de prélèvement.

	Date de prélèvement		Heure de prélèvement	Caractéristiques
Point 1	Prélèvement 1	13-03-2011	7 :00 h	Près de linge N44 où lac Tonga (l'auberge) 36°53'1.70"N 8°31'47.03"E
	Prélèvement 2	03-04-2011	7 :15 h	
	Prélèvement 3	02-05-2011	7 :10 h	
Point 2	Prélèvement 1	13-03-2011	7 :05 h	Après rejet d'égout 36°53'34.57"N 8°31'26.67"E
	Prélèvement 2	03-04-2011	7 :25 h	
	Prélèvement 3	02-05-2011	7 :15 h	
Point 3	Prélèvement 1	13-03-2011	7 :13 h	Près des zones de pâturage des bétails 36°53'51.63"N 8°31'8.61"E
	Prélèvement 2	03-04-2011	7 :35 h	
	Prélèvement 3	02-05-2011	7 :30 h	
Point 4	Prélèvement 1	13-03-2011	7 :20 h	Près de la Mer 36°54'26.91"N 8°31'6.79"E
	Prélèvement 2	03-04-2011	7 :55 h	
	Prélèvement 3	02-05-2011	7 :45 h	

3. Examen physico-chimique :

Dans les quatre points de prélèvement, certains paramètres physico-chimiques ont été déterminés *in situ* : température, pH, conductivité électrique.

Ces paramètres ont été mesurés à l'aide d'une sonde multiparamètres de marque HANNA (HI98 12-5 pH/°C/EC/Tbs METER) (Fig 6)

L'odeur et la couleur des eaux de l'Oued, ont été estimés à l'œil nu.



Figure 6 : Multiparamètres utilisé pour la détermination de : température, pH, et conductivité électrique.

4. Analyse bactériologique :

4.1. Mode de prélèvement :

Les prélèvements pour l'analyse bactériologique ont été faits dans des flacons en verre de 250 ml qui sont lavés et rincés avec de l'eau distillée. Après séchage, ils sont ensuite stérilisés à l'autoclave (120°C pendant 20 minutes). Les bouchons sont aussi lavés, rincés de même manière, séchés, et stérilisés dans les mêmes conditions que les flacons [6].

Les prélèvements ont été réalisés à la main, le flacon est débouché et immergé complètement en position verticale renversé en le tenant par le fond, retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigé dans le sens contraire du courant [9].

Il faut toujours éviter les zones mortes, et prélever en pleine d'eau c'est à dire 1 à 2 m du bord et 30 à 50 cm du fond.

4.2. Identification, transport et conservation des échantillons :

Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant :

- Point du prélèvement ;
- Lieu et la nature ;
- Date et heure ;
- Conditions météorologique (pluies, vents...).

Les prélèvements sont transportés dans des glacières dont la température est comprise entre 4 à 6 °C, et les analyses bactériologique ont été débuté dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon [6].

4.3. Méthodes d'analyse :

Le principe général des techniques des analyses microbiologique des eaux consiste àensemencer une quantité connue d'eau à analyser sur milieu de culture adapté, solide ou liquide. On suppose que, pendant l'incubation, chaque microorganisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide, essentiellement un trouble de celui-ci [6].

Le choix d'une technique d'ensemencement dépend de la nature des microorganismes recherchés, de celle de l'eau et des raisons qui ont conduit à l'analyse [2].

4.3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale : (schéma n°1)

Le dénombrement de la microflore totale a été réalisé sur milieu GN et TGEA à une T° de 22° et 37°C.

Technique :

- A partir de l'échantillon mère nous réalisons une série de dilution décimale en reportant 1 ml de chaque échantillon dans 9 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à la dilution 10^{-6} . Cette série de dilution sera utilisée pour toutes les recherches ultérieures.
- Couler le milieu GN ou TGEA préalablement fondue et maintenu en surfusion à 45°C dans des boîtes de Pétri.
- Ensemencer le milieu de culture par étalement à l'aide d'un râteau avec 1 ml de chaque dilution à raison de deux boîtes par dilution.
- Incuber la première boîte à 22°C et la deuxième boîte à 37°C [16].

Lecture :

- Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.
- Les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont dénombrées avec précision. Le nombre de colonies dénombrées est ensuite ramené au nombre de microorganisme présents dans 1 ml, en suite au nombre d'UFC/100 ml d'eau [16].

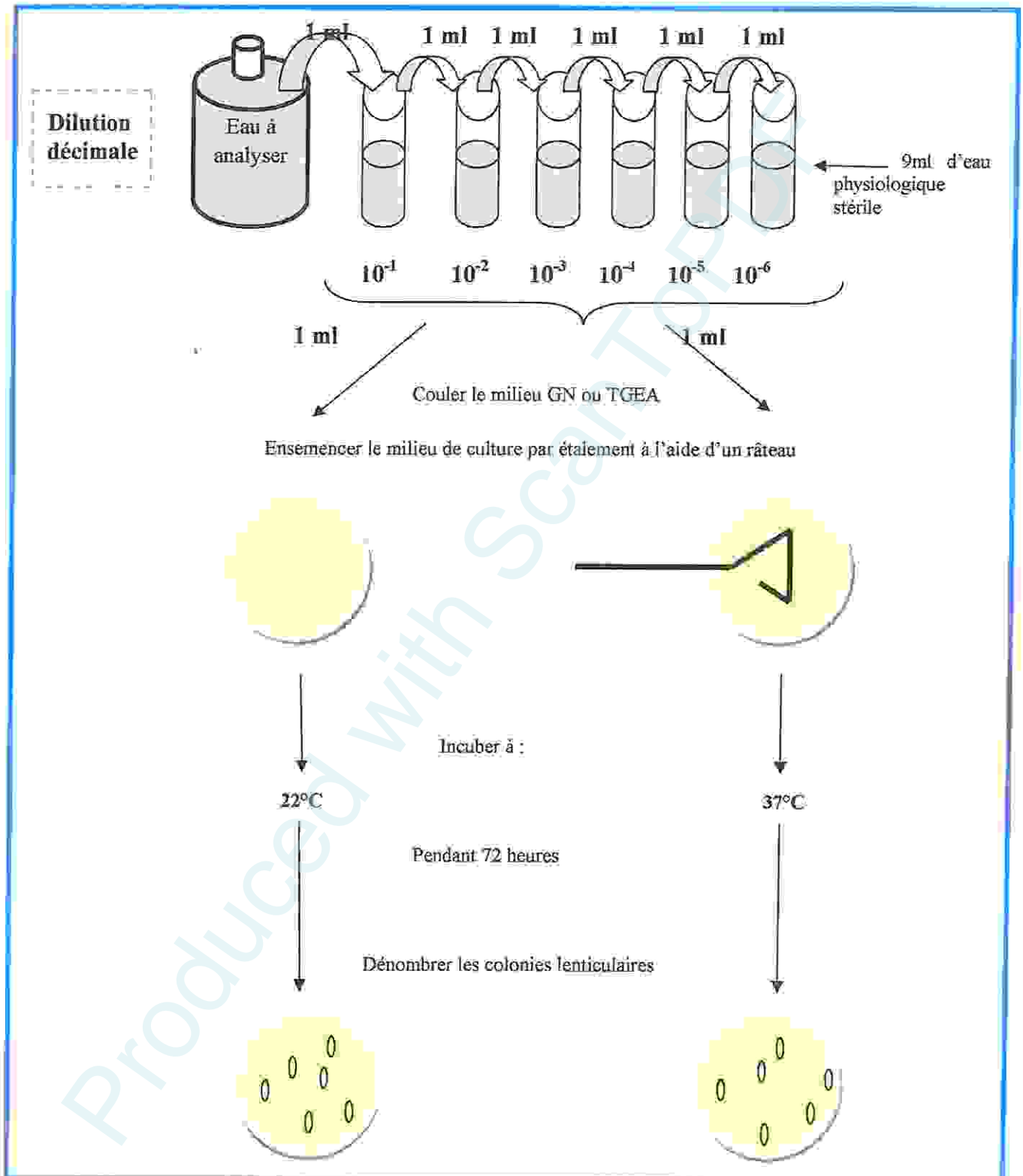


Schéma 1 : Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.

4.3.2. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination fécale :

a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants : (schéma n°2)

La recherche et le dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du NPP (Nombre le Plus Probable) [3].

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- ❖ le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux.
- ❖ le test de confirmation : encore appelé test de Mac Kenzie est réservé à la recherche d'*E. Coli* avec confirmation de la présence des coliformes totaux et les coliformes thermotolérants [3].

❖ Test présomptif :

Technique :

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche),
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui signifie la fermentation du lactose présent dans le milieu) [3].

Dénombrement :

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série, puis nous nous reportons à la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes présents dans 1 ml ensuite dans 100 ml d'eau [3].

❖ Test confirmatif :

Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie est basé sur la recherche de Coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*. Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C [3].

Technique :

- Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une ase bouclée dans tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham et un tube d'eau péptonée exempte d'indole.
- Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait cette fois-ci à 44°C pendant 24 à 48 h [3].

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant :

- Un dégagement gazeux, et un trouble dans le tube du milieu Schubert.
- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia Coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube de l'eau péptonée exempte d'indole.
- La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady pour déterminer le NPP d'*E.Coli* pour 100 ml d'eau [3].

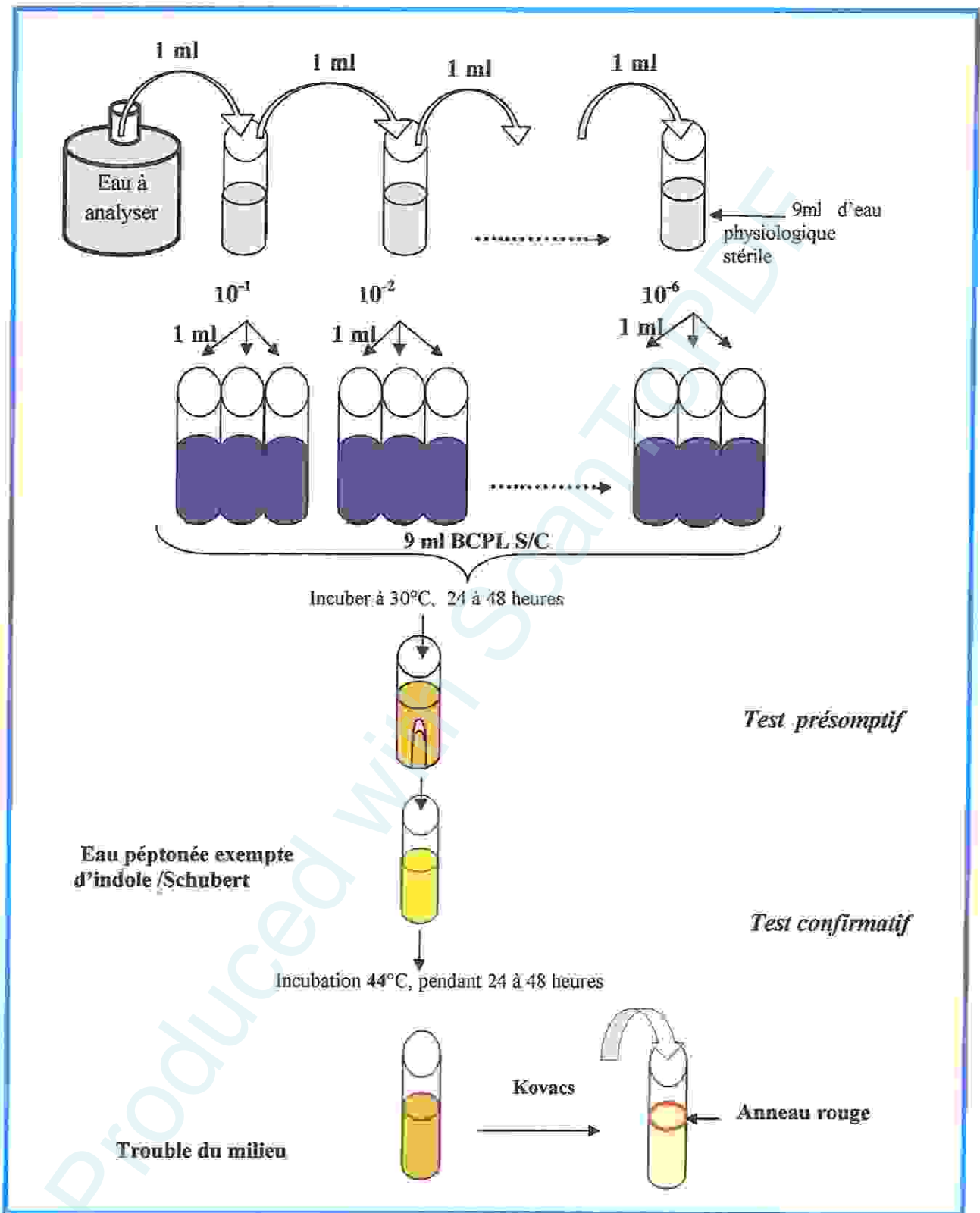


Schéma 2 : Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.

b. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux : (schéma n°3)

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux sont réalisées selon la technique de colimétrie en milieu liquide.

Les milieux utilisés sont :

- Le milieu de ROTHE qui contient comme agent sélectif l'azide de sodium (inhibiteur de la flore secondaire Gram négatif).
- Le milieu de Litsky-Eva qui renferme en plus de l'azide de sodium une faible concentration de cristal violet qui freine le développement des bactéries Gram positif [3].

❖ Test présumptif :**Technique :**

- Préparer une série de tubes contenant le milieu ROTHE.
- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 ml, dans chacun des 3 tubes de ROTHE à partir de la même dilution.
- Incuber à 37° C pendant 24 à 48 h [10].

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien [10].

❖ Test confirmatif :**Technique :**

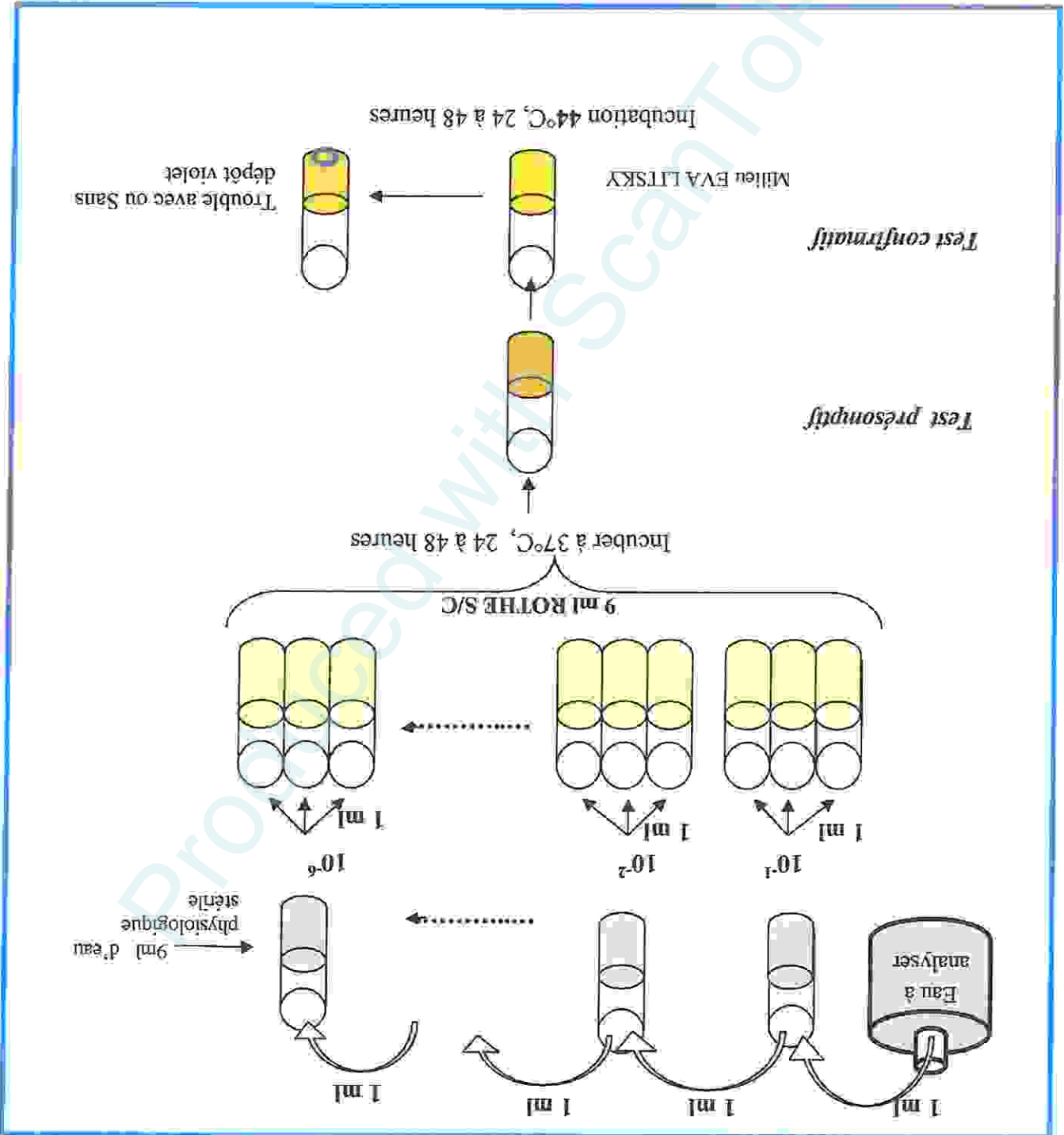
- Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.
- Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une ose bouclée dans tube contenant le milieu Litsky-Eva.
- L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 à 48 h [10].

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien, qui confirme la présence de streptocoques fécaux, parfois la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes [10].

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (voir annexe II).

Schéma 3 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.



c. Recherche et dénombrement des Spores de Anaérobie Sulfite-Réductrices (A.S.R) :
(schéma n°4)

Les Anaérobies Sulfite-Réductrice (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram (+), se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire [60].

Technique :

- prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet (55°C).
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 15 ml de gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Refroidir les tubes de l'eau du robinet.
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C , pendant 24 à 48 heures [60].

Lecture :

- La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales de 10^{-1} voire 10^{-2} , la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.
- Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse.

Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 25 ml d'eau à analyser [60].

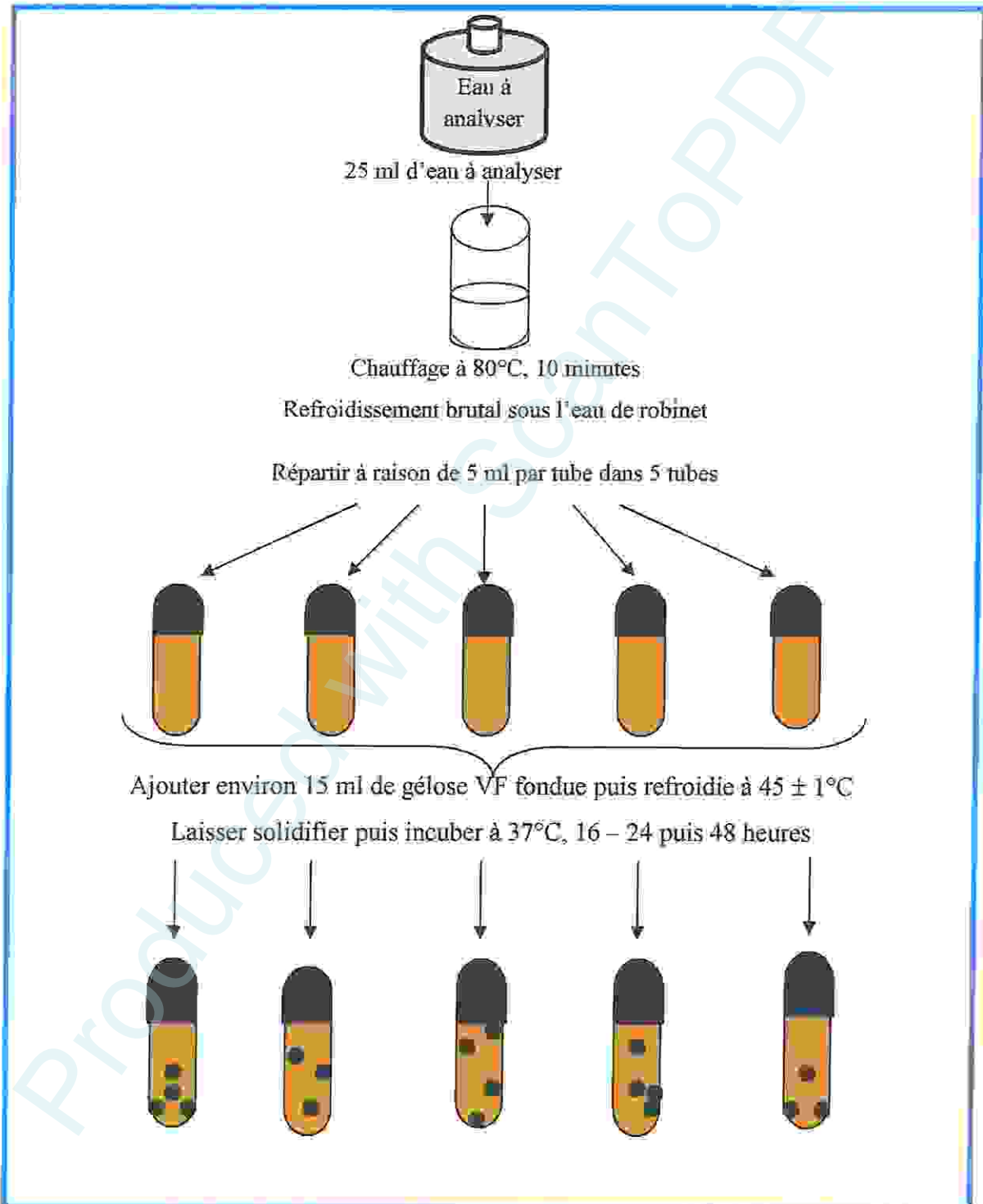


Schéma 4 : Recherche et dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réductrices.

4.3.3. Recherche des germes pathogènes :

a. Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes : (schéma n°5)

❖ Pré-enrichissement :

Cette étape a été réalisée uniquement pour la recherche des Salmonelles et Shigelles.

Le pré-enrichissement s'effectue sur le milieu d'eau péptonée tamponnée D/C réparti à raison de 100 ml par flacon.

Ce dernier sera donc ensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures [10].

❖ Enrichissement:

- A partir du milieu de pré-enrichissement, nous ensemençons un bouillon au Sélénite-Cystéine avec un volume d'échantillon correspond au 1/10 du volume du bouillon.

Exemple : ensemencer de 1 ml d'eau dans 10 ml du bouillon Sélénite.

- L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h [10].

❖ Isolement :

Quatre milieux de culture ont été utilisés :

- La gélose au bromocrésol pourpre BCP : permet uniquement la différenciation des espèces lactose positive de celle lactose négative [10].
- La gélose Mac Conkey : milieu sélectif pour les Entérobactéries en général, elle permet l'élimination de la flore secondaire grâce à l'action de deux inhibiteurs : le cristal violet (inhibiteur de la flore Gram positive) et les sels biliaires (sélection des Entérobactéries) [10].

- La gélose Hektoen : c'est le milieu de choix pour l'isolement des Entérobactéries pathogènes. Ce milieu permet une première orientation quant à l'identification de l'espèce isolée sur la base de l'attaque de trois glucides : lactose, salicine et saccharose. Une différenciation supplémentaire (présence de thiosulfate et de citrate de fer dans le milieu) qui se traduit par des colonies à centre noir dû à la formation de sulfure de fer [10].
- La gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : c'est le milieu sélectif des Salmonelles et des Shigelles. Il contient du vert brillant, sels biliaires et de fortes concentrations en thiosulfates et en citrate inhibent totalement la croissance de la microflore secondaire Gram positive ainsi que celle de nombreux coliformes et *Proteus* [10].

Les géloses BCP, Mac Conkey et Hektoen ont été ensemencés avec 0.1 ml de chaque échantillon mère sans enrichissement préalable.

Les géloses SS et Hektoen ont été ensemencés avec 0.1 ml de culture prélevée en milieu d'enrichissement.

Toutes les boîtes sont incubées à 37° C pendant 18 à 24 h [10].

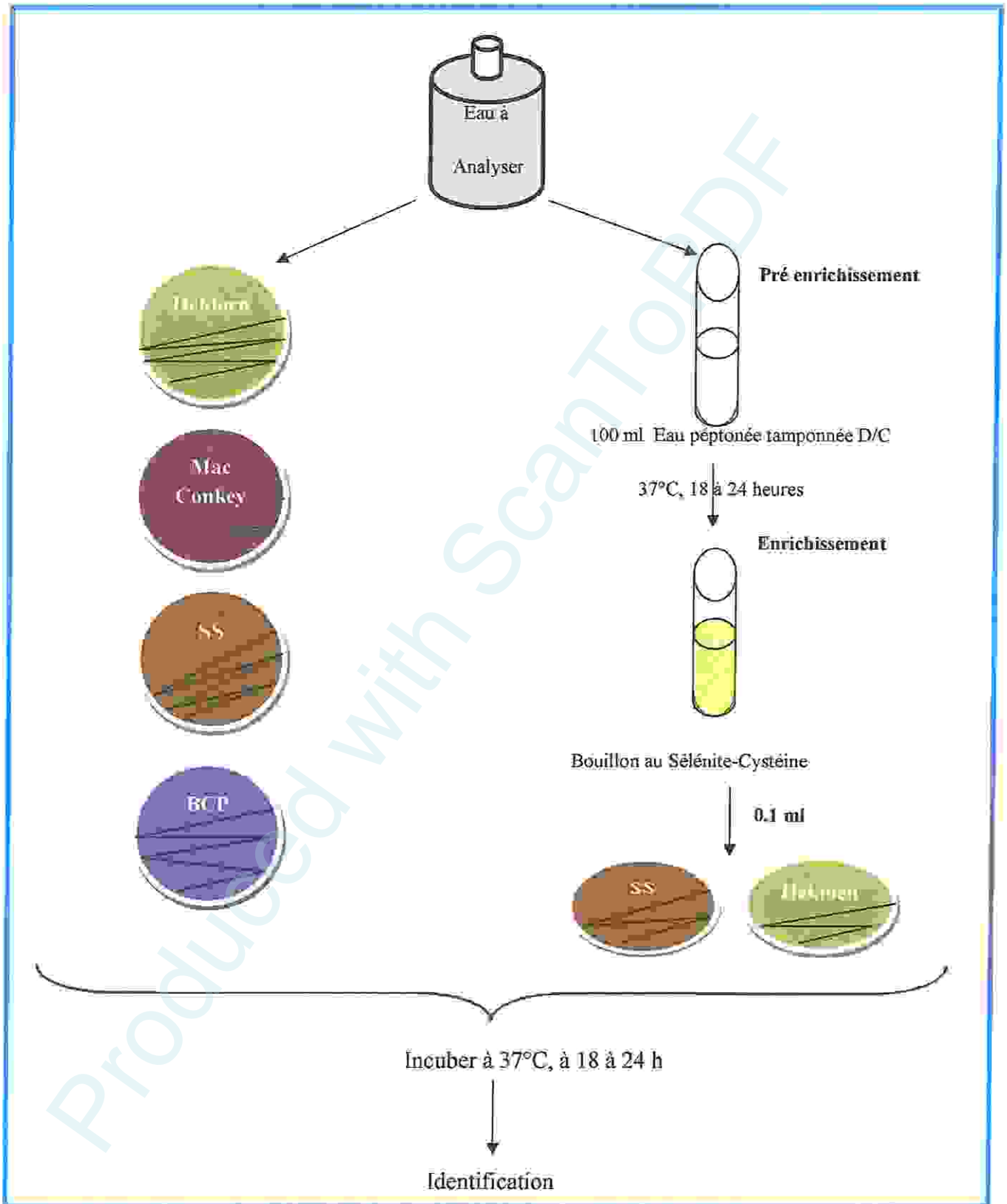


Schéma 5 : Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes.

❖ **Lecture :** la lecture des différents milieux de culture est faite selon le tableau 7.

Tableau 7 : Aspects cultureux des Entérobactéries sur les milieux sélectifs [6].

Milieu d'isolement	Micro-organismes	Colonies
BCP	- <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> et autres.	- Jaunes avec halo jaune.
	- <i>Salmonella</i> , <i>Proteus</i> et autres.	- Transparentes, incolores, entourages intact.
Mac Conkey	- <i>Escherichia coli</i> .	- Grandes, rouges, halo trouble.
	- <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> et autres.	- Incolores, transparentes.
	- <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> .	- Grandes, roses, visqueuses.
Hektoen	- Coliformes	- Saumon avec halo de précipitation.
	- <i>Salmonella</i> , <i>Paracolobacterium</i> , <i>Proteus</i> .	- Bleu vert, avec ou sans centre noir.
	- <i>Shigella</i> , <i>Pseudomonas</i> .	- Vertes, humides, aplaties et Transparentes.
SS	- Shigelles et la plupart des Salmonelles.	- Incolores, transparentes.
	- <i>Escherichia coli</i> .	- Roses à rouges.
	- <i>Enterobacter aerogenes</i> .	- Plus grandes qu' <i>E.coli</i> rose à blanc, crème, opaque, visqueuse.

❖ Identification :**➤ Examen macroscopique :**

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie : La forme du relief, La taille, La couleur, L'aspect (collant, filamenteux...), L'odeur, La transparence, L'allure des contours [11].

➤ Examen microscopique :**• Etat frais :**

L'examen microscopique à l'Etat frais permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées [11].

Technique :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine une fraction de la colonie sur milieu gélosé.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique en incorporant l'inoculum.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulle d'air.

L'observation s'effectue à faible luminosité à l'objectif X10 puis X40 [11].

• Coloration de Gram :

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de composition chimique et d'ultrastructure des parois cellulaires [11].

Technique :

- Réaliser sur une lame propre un frottis puis le fixer.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Recouvrir la lame d'une solution de lugol durant 30 secondes.

- Laver la lame à l'éthanol jusqu'à ce que la dernière goutte soit transparente.
- Laver rapidement à l'eau et recouvrir la lame de fuschine pendant 1 minute.
- Laver abondamment à l'eau.
- Sécher la lame à l'aide d'un papier buvard.

L'observation s'effectue à immersion (objectif X100) après avoir déposé une goutte d'huile de cèdre sur la lame [11].

Lecture :

Les bactéries Gram négatif apparaissent colorées en rose tandis que les bactéries Gram positives sont colorées en violet [11].

➤ **Recherche de l'oxydase :**

Principe :

Ce test à la base de l'identification des bactéries Gram (-), permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine [61].

Technique :

- Déposer un disque pré-imprégné par le Réactif N diméthyl paraphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbibé le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Étaler la colonie sur le disque.
- Attendre 3 à 5 secondes [11].

Lecture :

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif [11].

➤ Identification biochimique :

L'identification des différentes bactéries isolées a été réalisée grâce à la galerie biochimique classique pour certaines souches et par la galerie biochimique standardisée et miniaturisée API 20E (Bio Merieux) pour d'autres souches.

• Galerie biochimique classique :**± ONPG :**Principe :

Ce test est pratiqué pour toute bactérie lactosé (-) en 24 h [5].

Technique :

- réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.
- ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- incuber 30 min à 37°C [5].

Lecture :

- virage de couleur du milieu au jaune : le test ONPG est positif.
- Milieu reste sans couleur : le test ONPG est négatif [5].

✚ Test VP :Principe :

La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne [5].

Technique :

- Ensemencer le milieu Clark et Lubs par la souche à tester.
- Incuber à 37°C pendant 48 h.
- Ajouter à 1 ml de cette culture, 0.5 ml d'une solution à 6 % d'alpha naphтол dans de l'alcool à 90° (VPI) et 0.5 ml d'une solution de soude 4N (VPII) [5].

Lecture :

- La présence de l'acétoïne se manifeste par l'apparition d'une coloration rose du liquide : le test VP est positif.
- Si la couleur du milieu persiste jaune : le test VP est négatif [5].

✚ Test RM :Principe :

Mise en évidence des bactéries produisant des acides organiques par la voie des acides mixtes [5].

Technique :

- Ensemencer un milieu de Clark et Lubs.
- Incuber 24 - 48 h à 37°C.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle [5].

Lecture :

- Virage de couleur du milieu au rouge ; le test RM est positif.
- Si la couleur du milieu reste jaune ; le test RM est négatif [5].

✦ **Test Uréase :**Principe :

Se fait sur milieu Urée Indole qui est un milieu synthétique (milieu dont la composition est connue exactement tant qualitativement que quantitativement). C'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens, notamment parmi les *Enterobacteriaceae*.

L'Uréase, enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation. Il transforme l'urée en ammoniac et en carbonate d'ammonium [61].

Techniques :

- Faire une suspension en milieu Urée-Indole.
- Incuber à 37°C pendant 24 h [5].

Lecture :

- La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium : Uréase (+)
- Si le milieu persiste orange alors pas d'alcalinisation test Uréase (-) [5].

✦ *Test Indole :*

Principe :

Se fait sur le même milieu du test Uréase (milieu Urée-indole).

L'indole est issu de l'hydrolyse du tryptophane par action de milieu tryptophanase, ce dernier est mis en évidence, après addition du réactif de Kovacs. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge [5].

Techniques :

- Faire une suspension en milieu Urée-indole.
- Incuber à 37° C pendant 24 h [5].

Résultats :

- Formation d'un anneau rouge : le test indole est positif.
- Absence de coloration rouge : le test indole est négatif [5].

✦ *Test TDA :*

Principe :

Le tryptophane désaminase (TDA), après addition de chlorure de Fer III. Le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole-pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron [61].

Techniques :

- Faire une suspension en milieu Urée-tryptophane
- Incuber à 37°C pendant 24 h [5].

Lecture :

- Obtention d'un précipité brun foncé : le test TDA est positif.
- Absence de précipité : le test TDA est négatif [5].

↓ **Test Décarboxylase ODC, LDC, ADC... et des dihydrolase ADH bactériennes :**

Principe :

Le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* et *Pseudomonadaceae*, est souvent facilité par la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH) [61].

Les deux types d'enzymes ont été rassemblés parce que leurs techniques de recherche sont identiques. De plus, en ce qui concerne l'ADH, la technique utilisée ne permet pas de distinguer entre deux activités enzymatiques : l'activité dihydrolase et l'activité décarboxylase.

Techniques :

- Ensemencer le milieu de Moeller avec une goutte de suspension.
- Agiter (si le tube n'est pas plein le recouvrir de vaseline stérile).
- Fermer le tube entièrement afin de créer une anaérobiose relative.
- Incuber à 37°C pendant 24 h [61].

Lecture :

- Une bactérie non décarboxylante utilisera les peptones du milieu, et produira des acides organiques ainsi que des bases faibles comme l'ammoniac. Le milieu deviendra jaune.
- une bactérie décarboxylante après avoir utilisé le glucose va produire du dioxyde de carbone et des amines. L'alcalinité des amines est importante, et le virage de l'indicateur de pH sera obtenu : le milieu restera violet [61].

🔪 Test Nitrate réductase :

Principe :

- Certaines bactéries peuvent utiliser les nitrates comme accepteur final d'électrons, c'est la respiration nitrate.
- La Nitrate Réductase est une enzyme qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites suivant la réaction suivante : [4].



Techniques :

- Ensemencer un bouillon nitraté (1% de KNO_3) avec de la suspension bactérienne à étudier.
- Incuber à 37°C pendant 48h.
- La mise en évidence de l'apparition des nitrites par l'addition de 3 gouttes d'acide parasulfanilique (NIT I) puis 3 gouttes d'alpha naphtylamine (NIT II) [4].

Lecture :

Elle est immédiate.

- Le milieu devient rouge ; présence de nitrites.

Donc la bactérie possède une nitrate réductase. Résultat Nitrate Réductase (+)

- Le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis à vis des nitrates.

Coloration rouge : on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme. Résultat Nitrate Réductase (-) [4].

- Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. Résultat Nitrate Réductase (+) [4].

↓ **Test TSI :**

Principe :

Le milieu de Hajna-Kligler est un milieu complexe sous forme d'un tube semi-incliné avec un culot, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques : (Utilisation du glucose, utilisation du lactose, production H_2S , production de gaz et recherche de la LDC) [4].

Techniques :

- Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette scellée et chargée par la suspension bactérienne à étudier.
- Mettre à l'étuve 24h à 37°C [4].

Lecture :

- Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (+) : culot jaune et pente jaune.
- Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (-) : culot jaune et pente rouge.
- Bactérie de type oxydatif du glucose ou glucose (-) et lactose (-) : culot rouge et pente rouge.
- Bactérie de type oxydatif du glucose et lactose (+) : culot rouge et pente jaune.
- Pour la production d' H_2S , nous devons voir des colonies noirâtres au niveau du culot.
- S'il existe des bulles gazeuses, cela veut dire une production de gaz [4].

↳ Test citrate de Simmons :Principe :

Ce test permet de vérifier si la bactérie testée est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.

Le milieu utilisé est le milieu citrate de Simmons qui est sous forme d'un tube semi incliné avec un culot [61].

Techniques :

- Inoculer la pente par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile.
- Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C [4].

Lecture :

- Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons (+).
- Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons (-) [4].

↳ Test Mannitol-mobilité :Principe :

L'étude de la dégradation du mannitol et l'appréciation de la mobilité sont réalisés sur le milieu Mannitol-mobilité qui est un milieu semi solide [9].

Techniques :

- Inoculer le milieu par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit chargé de la suspension bactérienne préparée préalablement.
- Incuber 24 h à 37°C [9].

Lecture :

- Fermentation du mannitol :
 - virage de la couleur du milieu du rouge au jaune : le test mannitol est positif
 - Pas de virage de la couleur du milieu : le test mannitol est négatif.
- La mobilité : se traduit par un envahissement plus ou moins grand à partir de la pique centrale [9].
- **Galerie biochimique miniaturisé API 20E :**

Principe :

La galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée.

Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification [62].

Technique :**Préparation de la galerie :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation [62].

Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé [62].

Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures [55].

Lecture :

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

- Test VP : VPI + VPII
- TDA et IND : Réactif de Kovacs
- Test NO₂, NIT I + NIT II [62].

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

- Au tableau de lecture.
- Soit avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui sert de code d'identification [9].
- Soit Avec un logiciel d'identification : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (voir l'Annexe II).

b. Recherche de *Vibrion cholérique* : (schéma n°6)

Les *Vibrions* se présentent sous forme de Bacilles Gram Négatifs droits ou incurvés, très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d' H_2S [60].

Technique :**Enrichissement :**

- Ajouter 1 ml de l'eau à analyser dans un tube de 10 ml de l'eau péptonée alcaline (milieu d'enrichissement)
- Incuber à 37° C pendant 3 heures.
- Après incubation, prélever en surface une anse de culture et ensemercer un autre tube contenant 10 ml E.P.A.
- Incuber à 37°C pendant 3 heures.
- Procéder à un troisième ensemencement de même type si les possibilités d'horaires le permettent [4].

Isolement :

- Ensemencer une boîte de GN à partir du dernier milieu d'enrichissement.
- Incuber à 37° C pendant 24 h [4].

Lecture :

- Les *vibrions* se présentent le plus souvent sous forme de grosse colonies lisses et transparentes caractéristique sur la gélose nutritive [4].

Identification :

Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (+),
- Tests biochimique : classique ou de préférence une API 20E [4].

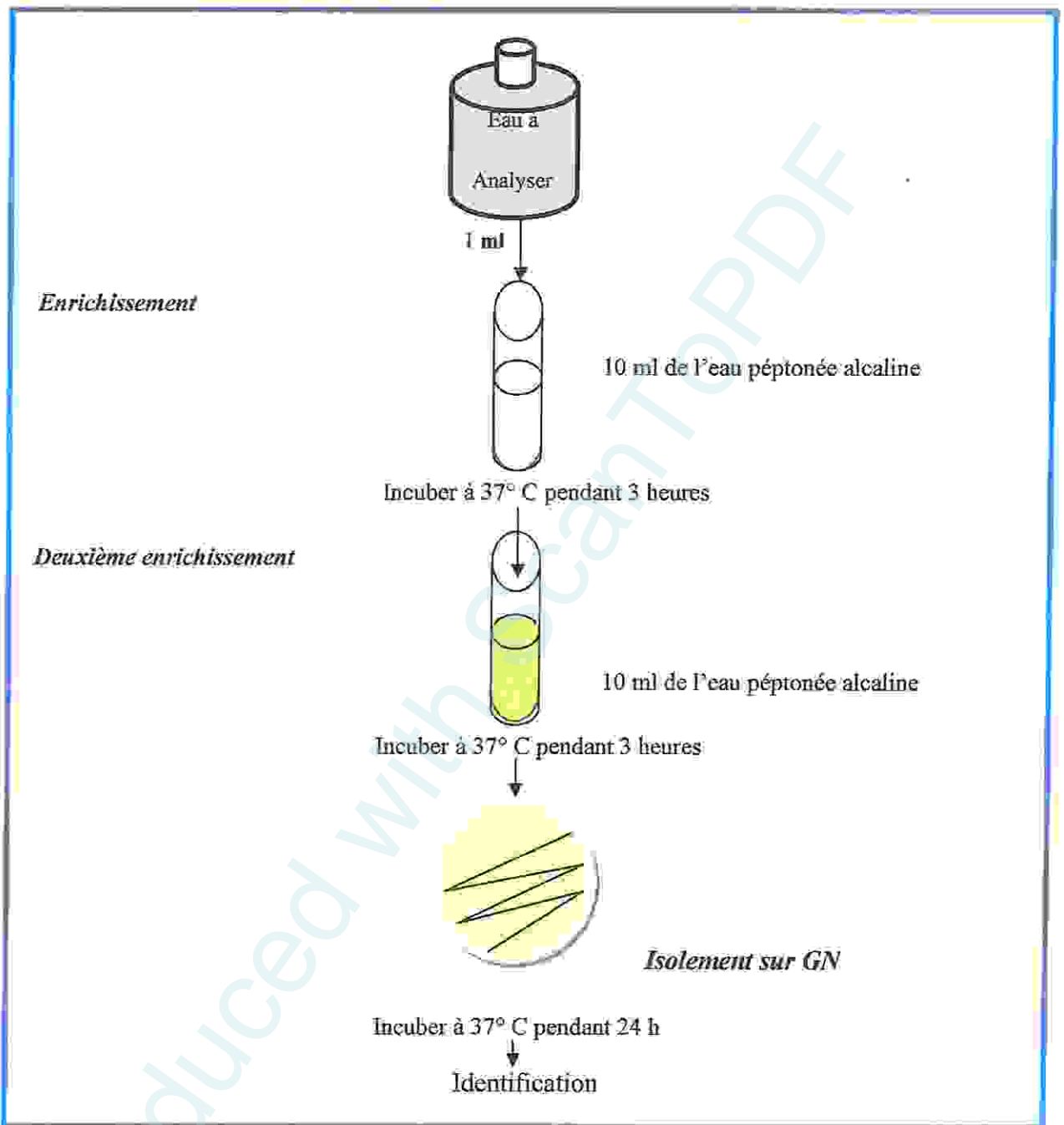


Schéma 6 : Recherche de *Vibrio cholérique*.

c. Recherche de *Pseudomonas* : (schéma n°7)**Technique :****Isolement des *Pseudomonas* :**

- Lorsque le germe *Pseudomonas* a la capacité de se cultiver très facilement sur un milieu ordinaire à cause de leur faible exigence nutritive, son isolement a été réalisé sur GN ordinaire.
- L'incubation se fait à 37° C pendant 24 h [4].

Lecture :

- Sur GN, les colonies de *Pseudomonas* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3 mm), à bord irréguliers, lisses régulières et bombées.
- Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments : la pyocyanine et la pyoverdine [4].

Identification :

- Examen microscopique : état frais et coloration de Gram.
- Recherche de l'oxydase.
- Recherche de la pyoverdine et la pyocyanine.
- Tests biochimiques : par galerie classique et API 20E (selon la disponibilité) [4].

***Recherche des pigments spécifiques : pyocyanine et pyoverdine :**Technique :

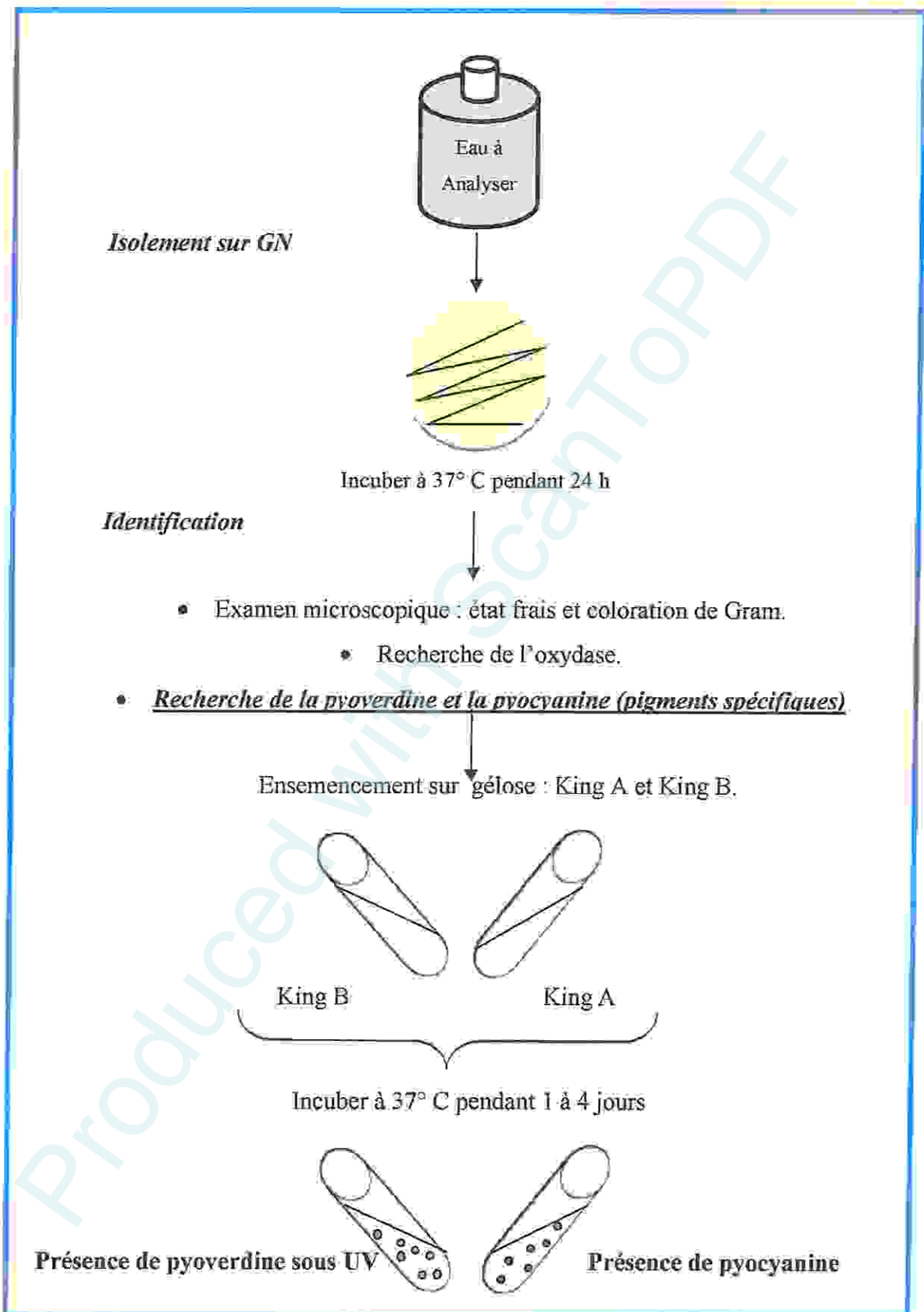
- A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée stérile), ensemencer deux milieux gélosés : King A et King B.
 - Le milieu King A est destiné à favoriser sélectivement la synthèse de la pyocyanine (pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique).
 - Le milieu King B est destiné à favoriser la synthèse du pigment jaune-vert fluorescent (pyoverdine) par le bacille pyocyanique et divers autres *Pseudomonas*. Exemple : *Pseudomonas fluorescens*.
- Les milieux sont inoculés par une strie médiane.
 - L'incubation se fait à 37° C pendant 1 à 4 jours [4].

Lecture :

- Couleur bleue sur le milieu King A : présence de pyocyanine.
- Couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B sous UV : présence de pyoverdine [4].

Remarque :

En cas de doute pour la production de la pyocyanine, verser 0,5 ml de chloroforme à la surface de la culture sur le King A et laisser les tubes inclinés pendant 10 à 15 minutes. La pyocyanine est soluble dans le chloroforme colore celui-ci en bleu [6].

Schéma 7 : Recherche de *Pseudomonas*.

d. Recherche des Staphylocoques pathogènes : (schéma 8)**Isolement :**

- L'isolement sélectif des Staphylocoques a été réalisé sur la gélose Chapman qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g.L^{-1}), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl.
- L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation.

On peut étudier la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies [16].

Lecture :

- Les colonies mannitol (+) sont entourées d'une auréole jaune.
- Des colonies pigmentées en jaunes et mannitol (+) : forte suspicion de *Staphylococcus aureus*.
- Les autres espèces de Staphylocoques donnent généralement des colonies plus petites, rosées et n'entraîne pas de virage du milieu [16].

Identification :

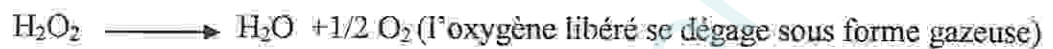
Pour l'identification des Staphylocoques :

➤ Examen microscopique :

Ce sont des cocci Gram positive, regroupés en amas (grappe de raisin).

➤ Recherche de la catalase :Principe :

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



Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (+) [16].

Techniques :

- Sur une lame propre et séchée déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes,
- A l'aide d'une pipette Pasteur bouchonnée, ajouter l'inoculum bactérien
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles gazeuses [16].

Lecture :

- Dégagement immédiat de bulles gazeuses: test catalase est positif.
- Pas de dégagement de bulles gazeuses: test catalase est négatif [16].

➤ Recherche de la Staphylocoagulase :

La recherche de la Staphylocoagulase in vitro est mise en évidence par la capacité de cette enzyme à coaguler le plasma de lapin dans un délai de 24 h [16].

Cette recherche constitue un critère taxonomique important pour l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* [16].

Techniques :

- Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur cerveau de la souche à étudier.
- Placer le mélange à 37°C.
- Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures [16].

Lecture :

- Coagulation du plasma : test Coagulase est positif : la souche est *Staphylococcus aureus*.
- Pas de coagulation du plasma : test Coagulase est négatif. Où le résultat est ininterprétable, il faut faire d'autres tests (ADNase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène) [16].

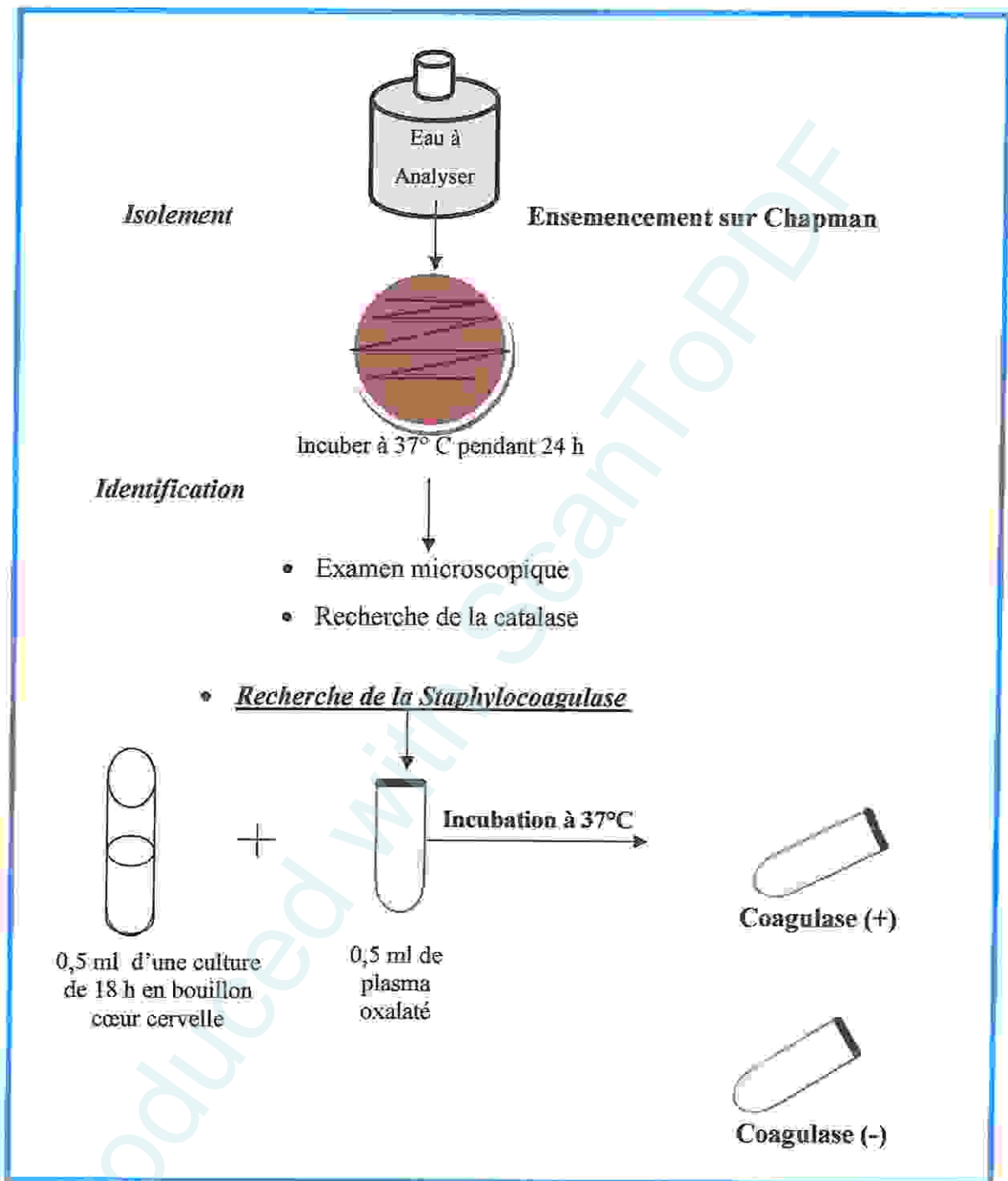


Schéma 8 : Recherche des *Staphylocoques* pathogènes.

➤ **Identification biochimique :**

Elle est réalisée grâce à l'API Staph.

• **API Staph :**

Principe :

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs [63].

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification [63].

Mode opératoire :

- La préparation de la galerie API Staph et la préparation de l'inoculum s'effectue selon le même schéma que la galerie API 20E [63].
- **Inoculation de la galerie :**
 - Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur en évitant la formation de bulles.
 - Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine pour créer une anaérobiose.
 - Incuber 24 heures à 37°C [63].

Lecture :

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture [63].
- Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de lecture de la galerie miniaturisé API Staph (voir l'Annexe II).

Identification :

L'identification des espèces est réalisée de la même manière que la galerie API 20E [63].

***RESULTATS ET
DISCUSSIONS***

Produced with ScantopDF

I. Résultats :

I. Résultat des Examens physico-chimiques :

Les résultats des paramètres physico-chimiques déterminés au niveau des quatre points de prélèvement des eaux de l'Oued Messida sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 8: Les paramètres physico-chimiques.

Mois	Mars				Avril				Mai			
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 1	P 2	P 3	P 4	P 1	P 2	P 3	P 4
Paramètre												
T °C	18	18	19	18	20	19	20	18	23	22	22	22
pH	8	7.2	7	7.3	7.9	7.7	7.6	8.1	7.7	7.8	7.9	8.2
Conductivité électrique μS/cm	330	340	350	350	340	360	360	370	360	380	380	380
Couleur	Vert				Vert				Vert			
Odeur	Normal				Normal				Anormal			

L'évolution spatio-temporelle de la température, le pH et la Conductivité électrique dans les quatre points de prélèvement sont présentés respectivement dans les figures : 7, 8 et 9.



Figure 7 : Evolution spatio-temporelle de la température dans les eaux de l'Oued Messida.

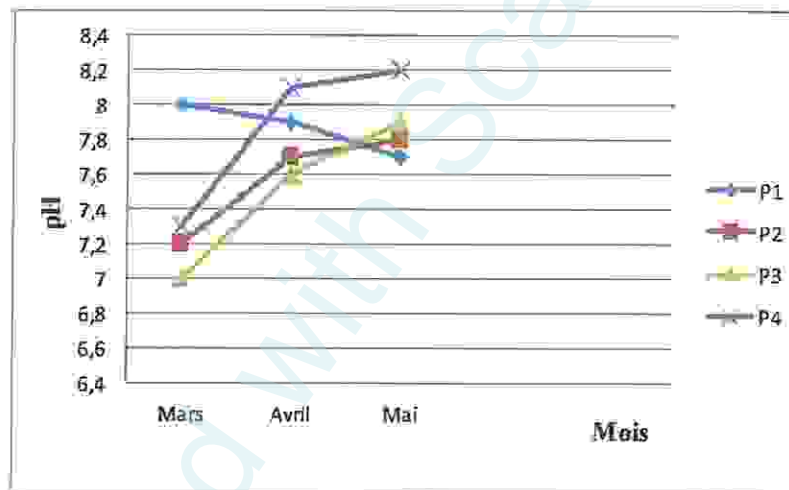


Figure 8 : Evolution spatio-temporelle de pH dans les eaux de l'Oued Messida.

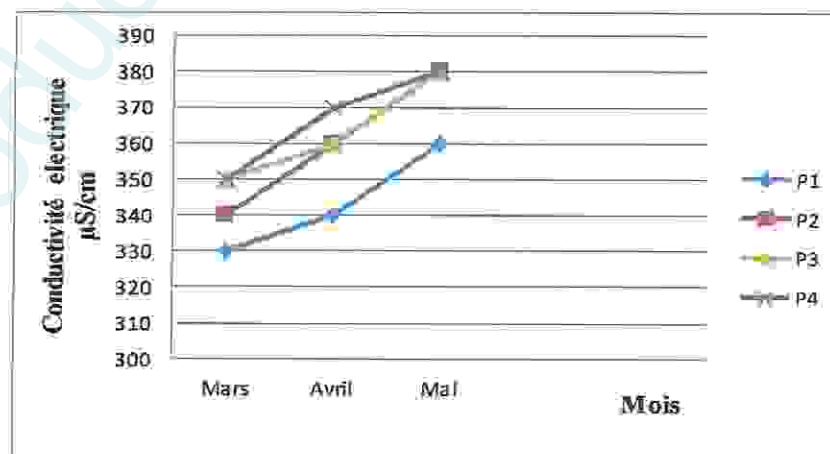


Figure 9 : Evolution spatio-temporelle de la conductivité électrique dans les eaux de l'Oued Messida.

2. Résultats de l'analyse bactériologique :

2.1. Les germes revivifiables : les résultats de dénombrement des germes totaux sont les suivants :

Tableau 9 : Résultats de dénombrement des germes totaux dans les points de prélèvement de l'Oued Messida.

Prélèvement		Température	
		37°C	22°C
Mars	Point1	3700 UFC/100ml	3000 UFC/100ml
	Point2	3500 UFC/100ml	>30000 UFC/100ml
	Point3	3600 UFC/100ml	15000 UFC/100ml
	Point4	1600 UFC/100ml	>30000 UFC/100ml
Avril	Point1	18000 UFC/100ml	12000 UFC/100ml
	Point2	13000 UFC/100ml	18700 UFC/100ml
	Point3	>30000 UFC/100ml	>30000 UFC/100ml
	Point4	>30000 UFC/100ml	6000 UFC/100ml
Mai	Point1	1200 UFC/100ml	200 UFC/100ml
	Point2	2400 UFC/100ml	500 UFC/100ml
	Point3	2300 UFC/100ml	4200 UFC/100ml
	Point4	2600 UFC/100ml	3300 UFC/100ml

La figure 10 représente la répartition spatio-temporelle des germes totaux au niveau des quatre points de prélèvement des eaux de l'Oued Messida.

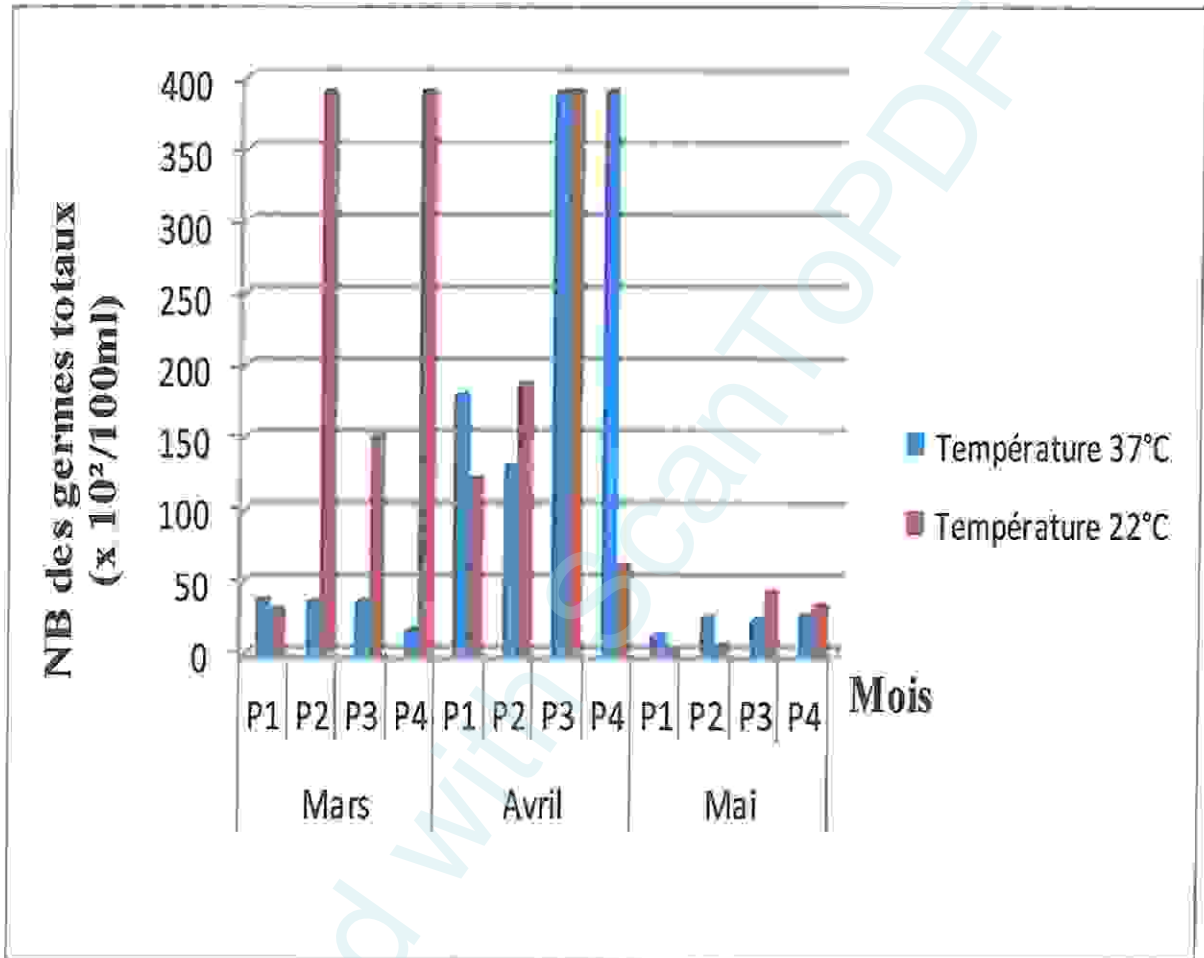


Figure 10 : Répartition spatio-temporelle des germes totaux des eaux de l'Oued Messida.

2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux sont les suivants :

Tableau 10 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans les eaux de l'Oued Messida.

Les points de prélèvement	Mars	Avril	Mai
Point 1	60000 CT/100 ml	150000 CT /100 ml	110000CT/100ml
Point 2	60000 CT/100 ml	110000 CT /100 ml	90000 CT /100ml
Point 3	250000 CT/100ml	140000 CT /100 ml	20000 CT /100ml
Point 4	70000CT/100ml	30000 CT /100 ml	70000 CT /100ml

La figure 11 représente la répartition spatio temporelle des coliformes totaux dans les quatre points de prélèvement.

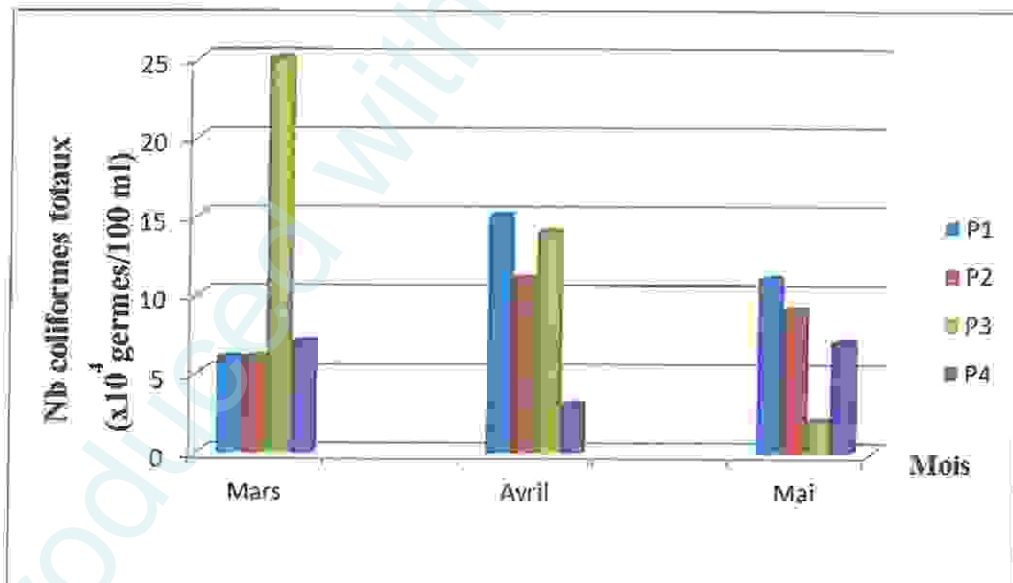


Figure 11 : Evolution spatio-temporelle du nombre de coliformes totaux dans les eaux de l'Oued Messida.

2.2. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* :Tableau 11 : Résultats de dénombrement d'*Escherichia coli* dans les eaux de l'Oued Messida.

Les points de prélèvement	Mars	Avril	Mai
Point 1	0 <i>E. coli</i> /100 ml	3000 <i>E. coli</i> /100 ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml
Point 2	0 <i>E. coli</i> /100ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml
Point 3	0 <i>E. coli</i> /100 ml	3000 <i>E. coli</i> /100 ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml
Point 4	0 <i>E. coli</i> /100 ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml	0 <i>E. coli</i> /100 ml

La figure 12 représente la répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les quatre points de prélèvement.

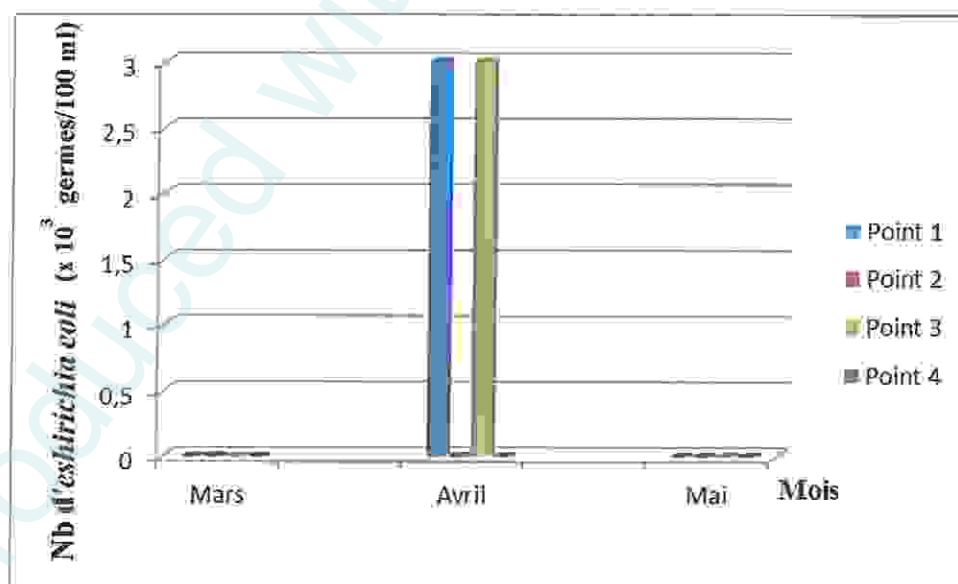


Figure 12 : Evolution spatio-temporelle du nombre d'*Escherichia coli* dans les eaux de l'Oued Messida.

Les résultats des tests présomptif et confirmatif de la présence d' d'*Escherichia coli* sont représentés par la figure 13.

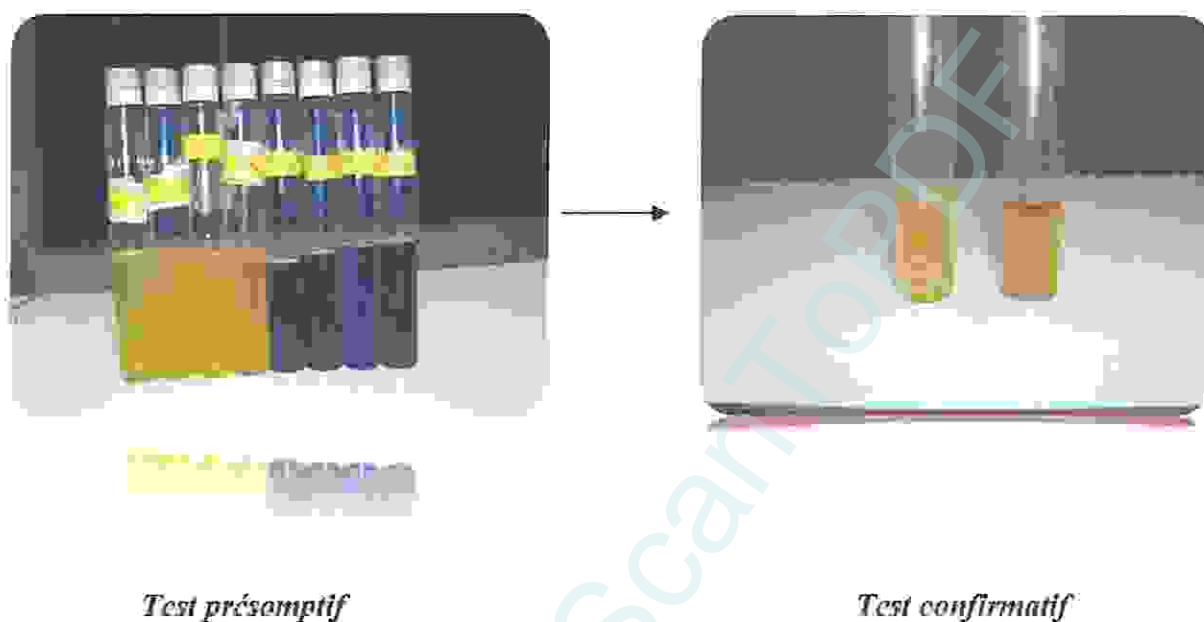


Figure 13 : Test indole positif sur eau peptonée exempte d'indole incubée à 44°C confirme la présence d'*E.coli*.

2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux sont les suivants :

Tableau 12 : Résultats de dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux de l'Oued Messida.

Les points de prélèvement	Mars	Avril	Mai
Point 1	/	4000 SF /100 ml	4000 SF /100 ml
Point 2	/	0 SF /100 ml	6000 SF /100 ml
Point 3	/	6000 SF /100 ml	6000 SF /100 ml
Point 4	/	7000 SF /100 ml	11000 SF/100 ml

Remarque : Durant le mois de Mars, la recherche des streptocoques fécaux n'a pas été effectuée.

La figure 14 représente la répartition des streptocoques fécaux dans les quatre points de prélèvement.

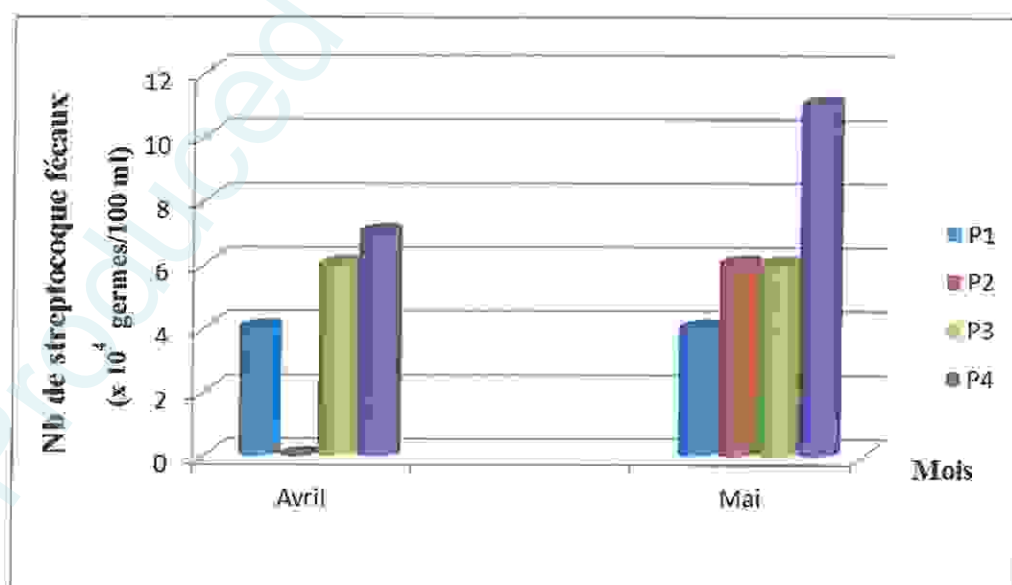


Figure 14: Evolution du nombre des Streptocoques fécaux dans les eaux de l'Oued Messida.

2.4. Recherche des Anaérobies sulfito-réductrices :

Les résultats de dénombrement des Anaérobies sulfito-réductrices sont les suivants :

Tableau 13 : Résultats de dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réductrices dans les eaux de l'Oued Messida.

Les points de prélèvement	Mars	Avril	Mai
Point 1	/	96 germes/100 ml	12germes/100ml
Point 2	/	176 germes/100 ml	20germes/100ml
Point 3	/	40 germes/100 ml	8germes/100 ml
Point 4	/	>1500 germes/100ml	28germes/100ml

Remarque : Durant le mois de Mars, la recherche des streptocoques fécaux n'a pas été effectuée.

La figure 15 représente la répartition des Anaérobies Sulfito-Réductrices (ASR) dans les quatre points de prélèvement.

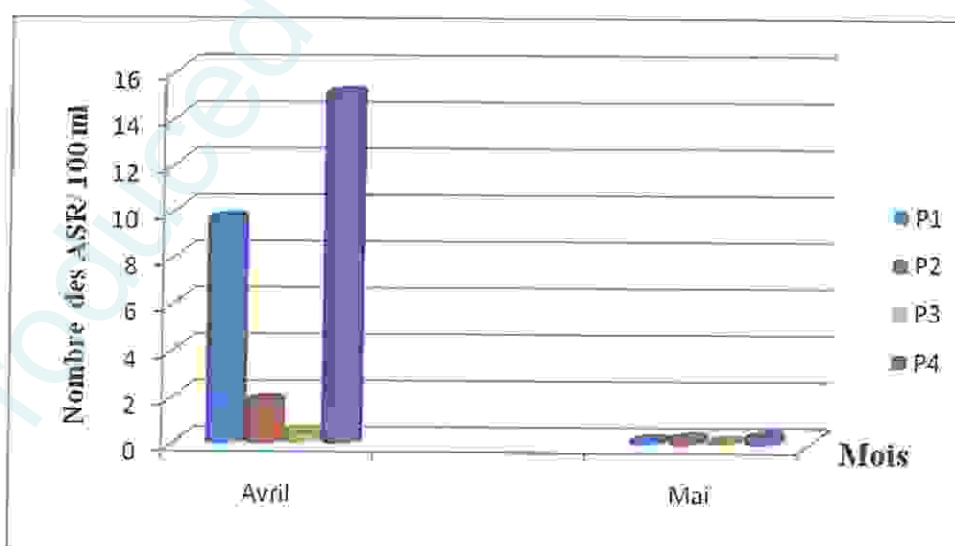


Figure 15 : Evolution du nombre des Anaérobies Sulfito-Réductrices (ASR) dans les eaux de l'Oued Messida.

3. Résultats de recherche des bactéries pathogènes :

3.1. Les Entérobactéries pathogènes :

❖ Résultat de l'isolement :

Tableau 14 : Résultat de l'isolement des Entérobactéries.

Type de gélose	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies, lisses, à contour régulier, pigmentées en vert ou en bleu vert (Fig 16). - Colonies moyennes, bombées, lisses, à contour régulier, brillantes, noires (Fig 18). 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles isolés, Gram négatif (Fig 17). - Coccobacilles, bâtonnets, diplocoques, en chaînettes, gram négatif (Fig 19).
SS	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies petites et moyennes, lisses, à contour régulier, bombées, brillantes et pigmentées en : rose, rose à centre jaune, rose à centre marron, jaune à centre marron. - Colonies moyennes et grandes, à contour irrégulier, de couleur marron. - Colonies petites et moyennes, à contour régulier et irrégulier et de couleur marron. - Une colonie noire à contour irrégulier (Fig 20). 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles isolés à Gram négatif. - Bacilles isolés, diplocoques et en chaînettes, à Gram négatif. - Bacilles isolés à Gram négatif. - Bacilles isolés à Gram négatif.

Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies, lisses, à contour régulier, bombées, brillantes, de couleurs rouge et rose. - Colonies moyennes ou grandes, à contour irrégulier, incolores et de couleur marron. - Petites colonies, lisses, à contour régulier, de couleur rose claire et transparente. - Quelques colonies de taille moyenne, lisses, à contour régulier, transparentes légèrement blanchâtre. - Colonies de taille petite, lisses, à contour régulier, de couleur rose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Des coccobacilles et des bâtonnets, isolés à Gram négatif. - Des coccobacilles et des bâtonnets, diplocoques et en chaînettes, isolés, à Gram négatif. - Bacilles isolés à Gram négatif. - Bacilles isolés à Gram négatif. - Bacilles isolés et en chaînettes à Gram positif.
BCP	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies de couleur bleu, petites, lisses, à contour irrégulier, bombées, brillantes (Fig 21). - Colonies incolores, petites, moyennes et grandes, à contour irrégulier (Fig 21). - Colonies blanches, petites et moyennes, à contour irrégulier (Fig 21). 	<ul style="list-style-type: none"> - Bacilles isolés à Gram négatif. - Bacilles isolés à Gram négatif. - Coccobacilles isolés à Gram négatif.



Figure 16 : Colonie verte sur la gélose Hektoen

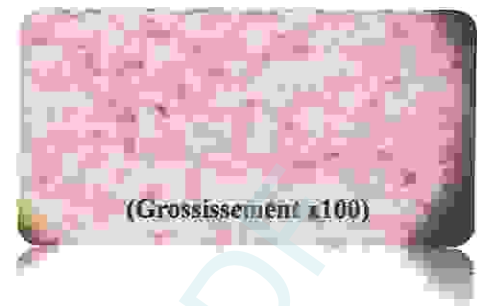


Figure 17 : Bacilles Gram négatif



Figure 18 : Colonie noire sur la gélose Hektoen

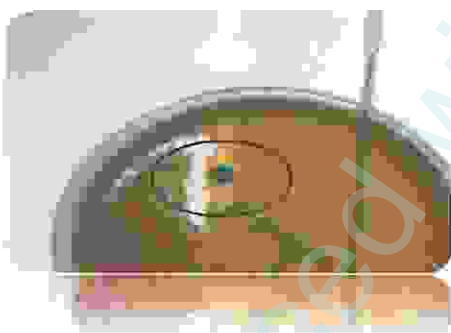


Figure 19 : Colonie noir sur la gélose SS.



Figure 20 : Colonies bleues, blanche et transparentes sur la gélose BCP.

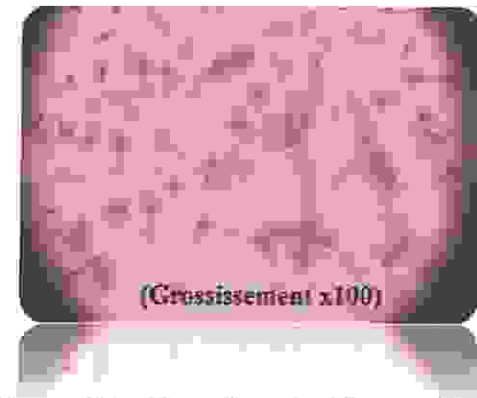


Figure 21 : Coccobacilles Gram négatif.

3.2. Résultats de l'identification biochimique :

Les tests biochimiques réalisés ont permis l'identification des bactéries suivantes:

Tableau 15 : Les bactéries isolées à partir des milieux d'isolement des entérobactéries.

	Mars	Avril	Mai
Bactérie	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Klebsiella oxytoca</i> (Fig 22) ➤ <i>E. coli</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Enterobacter</i> (Fig 23) ➤ <i>Salmonella mineur</i> ➤ <i>Citrobacter</i> (Fig 24) ➤ <i>Proteus</i> (Fig 25) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Klebsiella</i> ➤ <i>Enterobacter</i> ➤ <i>Aeromonas.calco.var.anitrat</i> (Fig 26)

La colonie rose de la gélose SS a été identifiée par l'Api 20E et on a confirmé que c'est une : *Aeromonas.calco.var.anitra*.

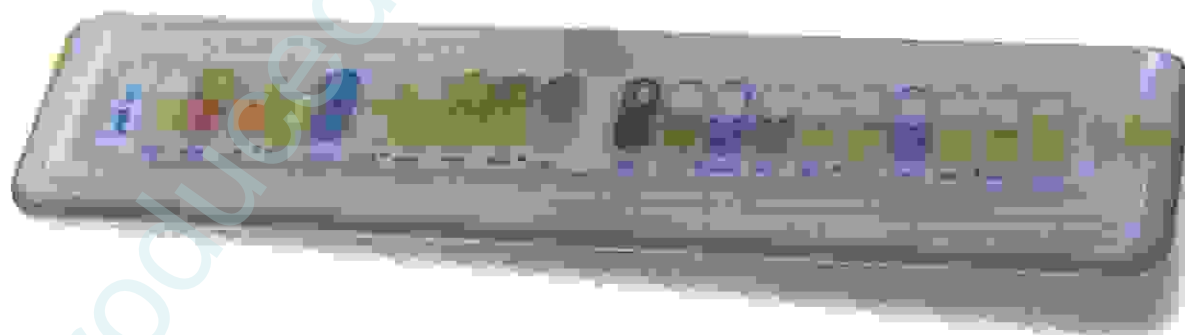


Figure 26 : Profil biochimique de *Aeromonas.calco.var.anitrat*.

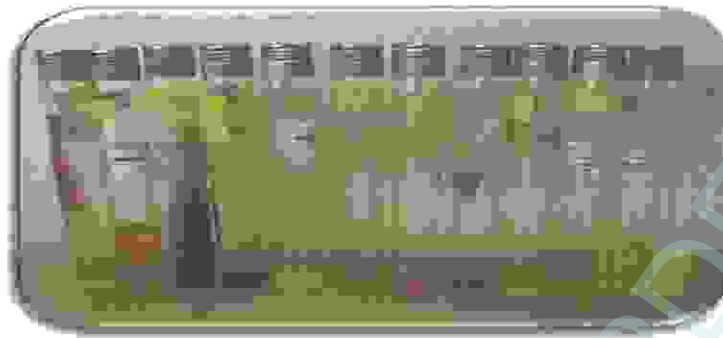


Figure 22 : Résultat de la galerie classique de *Klebsiella oxytoca*.



Figure 23 : Résultat de la galerie classique d'*Enterobacter*.

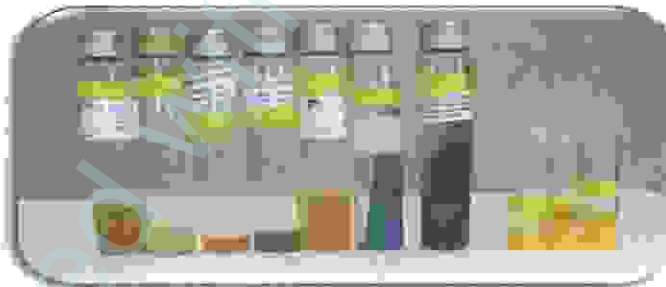


Figure 24 : Résultat de la galerie classique de *Citrobacter*.



Figure 25 : Résultat de la galerie classique de *Proteus*

7.2 Les staphylocoques pathogènes:

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

Tableau 16 : Résultats de l'isolement des staphylocoques pathogènes sur la gélose Chapman.

Points de prélèvement	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
P1	- Petites colonies, bombées, lisses, à contour régulier, brillantes, de couleur jaune avec virage de la couleur du milieu du rouge au jaune. (Fig 29)	- Cocci en amas et en chaînettes à Gram positif. (Fig 30)
P2	(-)	(-)
P3	- Petites colonies de couleur jaune, lisses, brillantes, à contour régulier.	- Bacilles isolés à Gram positif.
P4	- Quelques petites colonies, bombées, lisses, à contour régulier, brillantes, de couleur jaune.	- Cocci en diplocoques, en amas et en chaînettes, à Gram positif.

(-) : résultat négatif.

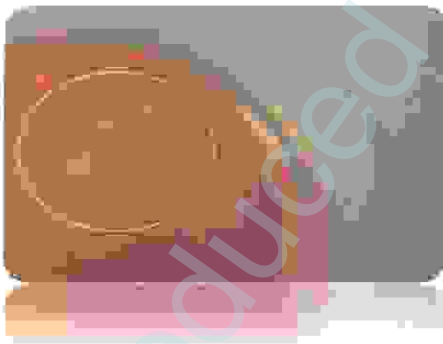


Figure 27: Colonies jaunes sur la gélose Chapman.

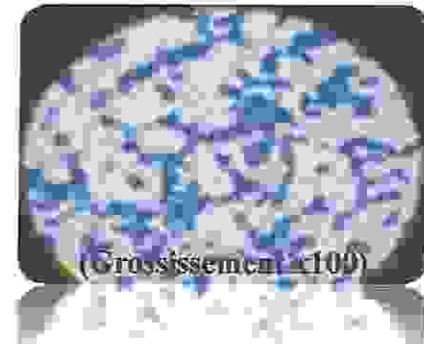


Figure 28: Cocci Gram positif en chaînettes et en amas.

Tableau 17 : Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolées

	Mannitol mobilité	Catalase (Fig 29)	Staphylocoagulase (Fig 30)
Souche 1	+ / -	+	-
Souche 2	+/-	+	-
Bactérie	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		

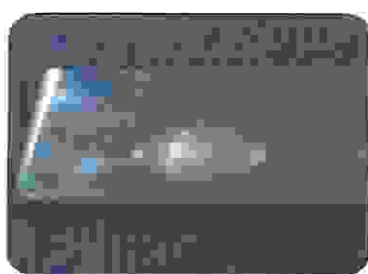


Figure 29 : Résultat du test catalase

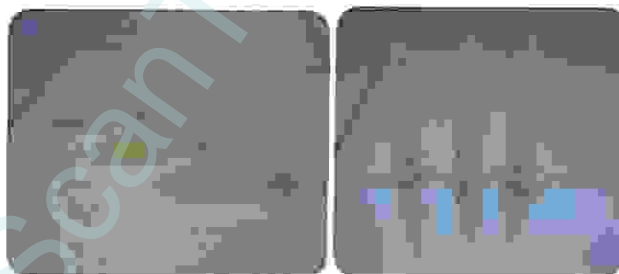


Figure 30 : Résultat du test staphylocoagulase

La souche 2 a été identifiée par l'API Staph et on a confirmé que c'est une : *Staphylococcus epidermidis*.



Figure 31: Profil biochimique de *Staphylococcus epidermidis*.

7.3 Les Vibrions cholériques et *Pseudomonas* :

Les résultats de la recherche du Vibron cholérique et des *Pseudomonas* sont négatifs tout le long du suivi.

II. Discussion :

Paramètres physico-chimiques :

Evolution spatio-temporelle des paramètres physico-chimiques :

La température des eaux de l'Oued Messida a tendance à augmenter ou à diminuer dans les quatre points de prélèvement, ceci dépend généralement de l'ensoleillement et des échanges avec l'atmosphère.

La température minimale obtenue est de 18°C, enregistrée dans les points de prélèvement P₁, P₂, pendant le mois de Mars et dans le point P₄ durant le mois d'Avril ; cependant la température maximale est 23°C enregistrée au mois de Mai dans le point 1.

Les températures enregistrées durant la période d'étude (comprise entre 18-23°C) indiquent que les eaux de l'Oued Messida sont de bonne qualité et ceci selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux superficielles d'après Monod (1989) (< 20°C-22°C= bonne qualité).

Le pH de l'Oued Messida est généralement neutre, il oscille entre 7-8.2. Un pH compris entre ces valeurs permet un développement correct de la faune et de la flore aquatique.

La valeur la plus élevée est enregistrée au prélèvement de Mai au point P₄, la plus faible est observée au point P₃ du mois de Mars.

Les valeurs du pH enregistrées ont permis de classer aussi les eaux de l'Oued Messida en eau de bonne qualité et ceci selon la grille d'appréciation de la qualité des eaux superficielles déterminée par le Ministère Algérienne des ressources (2005) (valeur guide: 6.5 ≤ pH ≤ 8.5).

La conductivité de l'eau augmente progressivement de l'amont vers l'aval du l'oued Messida.

La valeur la plus faible est 330 µS/cm enregistrée au mois de Mars au niveau du point P₁, la plus élevée est 380 µS/cm enregistrée au niveau du point P₄ au mois de Mai.

Ces valeurs obtenues indiquent une minéralisation moyenne des eaux de l'Oued Messida [6].

D'une manière générale, ces faibles valeurs de la conductivité dans les périodes pluviales peuvent être attribuées à un phénomène de dilution. Ce paramètre croît progressivement avec l'évaporation de l'eau.

Selon la grille de la qualité des eaux de rivière [13], (voir Annexe III), les eaux de l'Oued Messida sont de bonne qualité d'après la période de prélèvement.

Les eaux de l'Oued Messida ont une couleur qui vire au vert à cause de la végétation aquatique ; elles sont généralement sans odeur sauf au mois de Mai, l'Oued Messida présente une odeur désagréable due probablement à la décomposition des matières organiques (algues, feuilles d'arbres, végétation aquatique).

Variation de la flore totale et des germes indicateurs de contamination fécale :

La présente étude nous a permis de suivre la contamination bactérienne dans les eaux de l'Oued Messida pendant trois mois.

Le résultat de dénombrement des germes totaux à 22°C et à 37°C est compris entre 200 et plus de 30000 germes/ 100 ml d'eau. Il est important de signaler que le nombre élevé des germes totaux est enregistré durant les mois de Mars et Avril ; et il est diminué au mois de Mai.

Cette diminution bactérienne est expliquée soit par la dilution des eaux par les pluies durant la fin du mois d'Avril ; soit par la présence de prédateurs bactériens tels que les protozoaires [6], comme elle peut être liée aux rejets de produits toxiques.

D'après le graphique des coliformes totaux, on note que le nombre minimal des germes est obtenu au niveau du point numéro 1 (6000 Ct/100 ml) pendant le mois de Mars, tandis que la valeur maximale est enregistrée au niveau du point de prélèvement numéro 3 (14×10^5 Ct/100 ml) durant le mois d'Avril.

Escherichia coli le plus important des coliformes fécaux est détecté seulement au mois d'Avril avec une valeur de 3000 *E.coli* /100 ml au niveau des points de prélèvement 1 et 3.

ceci est expliqué par la contamination des eaux par les matières fécales des animaux qui se trouvent près des deux points de prélèvement.

Les streptocoques fécaux sont des flores intestinales dominantes chez les animaux herbivores domestiques, donc la présence de ceux-ci indique un signal de pollution fécale d'origine animale.

La présence des Anaérobies Sulfito-Réductrices durant les mois d'Avril et Mai associée à l'apparition des germes exclusivement fécaux, indique qu'ils proviennent sans doute de la même origine et que l'eau est soumise à une contamination répétée [6].

D'une façon générale, nous pouvons classer les eaux de l'Oued Messida en eau constamment contaminée par des germes de pollution fécale, telles que le sont presque toutes les eaux de surface [5].

Les germes pathogènes :

A partir des quatre points de prélèvement des eaux de l'Oued Messida, nous avons isolé les bactéries suivantes : *Klebsella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Entérobacter*, *Salmonella mineur*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsella*, *Aeromonas.calco.var.anitrat* et *Staphylococcus epidermidis*.

Selon ces résultats, la recherche des germes pathogènes n'a pas révélé leur présence dans l'eau analysée durant notre période d'étude, ceci est expliqué :

- Soit par leur absence effective dans l'eau.
- Soit à la présence de quantité importante de germes fécaux qui ont tendance à les supplanter [6].

La présence d'une espèce de *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus*) est due au caractère ubiquiste de ce genre bactérien (très répandue dans la nature) [9].

- ❖ L'étude de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued Messida durant trois mois a permis de constater que l'eau de cet écosystème nécessite un traitement complexe (traitement physique, chimique, affinage et désinfection...) pour

destinée à être utilisée pour la production d'eau livrée à la consommation humaine selon les normes françaises [6].

L'eau de l'Oued Messida ne répond pas puisque aussi aux exigences bactériologiques des eaux destinées à des utilisations agricoles. Les textes réglementaires français exigent que l'eau utilisée pour l'irrigation des terrains où sont cultivés des fruits et des légumes susceptibles d'être consommés crus ne doit pas contenir plus de 10 coliformes fécaux et 10 streptocoques fécaux par 100 ml [6].

CONCLUSION

Produced with Scantopdf

Conclusion :

Le risque de contamination des eaux de surface est un problème environnemental croissant.

Notre étude portant sur l'analyse bactériologique des eaux de l'Oued Messida a permis de confirmer une contamination d'origine fécale de ces eaux par la présence de coliformes fécaux, *Escherichia coli*, streptocoques fécaux et Anaérobies Sulfito-Reductrices.

Malgré la forte charge des bactéries indicatrices de contamination fécale, les germes pathogènes n'ont pas été détecté au niveau des eaux de l'Oued Messida, ceci ne permet pas d'exclure la possibilité que ces germes soient présente dans l'eau analysée du fait que ces bactéries ne sont pas détectables par les techniques de culture classique.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que l'eau de cet écosystème est impropre et de ce fait, il peut engendrer des conséquences néfastes, causant des nuisances importantes pour les usagers (irrigation) et les ressources faunistiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Produced with ScanTOPDF

Références bibliographiques

1. Biney C, Amuzu A.T, Calamari D. (1996). revue de la pollution dans l'environnement aquatique Africain ; (Etude des métaux lourds). Archive de documentation la FAO disponible sur le site internet : www.fao.org
2. C.haslay.h.leclerc. (1993).Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Tec et Doc. P : 153-192.
3. Degremont. (2005). Memento technique de l'eau. Dixième édition. Edition Tec et Doc. P : 144-173.
4. Delarras. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaetan moriu éditeur. P : 117-136.
5. Delarras, Camille. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, prélèvement, analyses. Editions Tec et Doc, Edition médicales nationales. P : 65-102.
6. Jean Rodier et coll. (2005). l'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847.
7. Haslay.C. (1993).Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Tec et Doc. P : 153-192.
8. Guiraud J. Pierre. (1998). Microbiologie alimentaire. RIA Dunod. P : 186-378.
9. Guiraud J. Pierre. (2003). Microbiologie alimentaire. RIA Dunod. P : 359-722.
10. Larpent JP. (1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire : Technique de labo. Edition Tec et Doc. p : 294-718.
11. Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
12. M^{lle}Boussadia Meriem Imen. (2008). thèse. Les cyanobactéries peuplant les lacs Tonga et Oubeira « Parc National d'El kala »inventaire et distribution spatio-temporelle. P : 70 .

13. Masson J.P. (1988). Suivi de la qualité des eaux superficielles : l'expérience française. In : *la qualità della acqua superficial, criteria per una metodologia omogenea di valutazione, atti del convegno interazione. Palazzodei congresi. (28-29 April), P : 99-110.*
14. Ministère Algérienne des ressources. (2005). *Qualité des eaux superficielles dans le bassin hydrographique constantinois-Seybouse-Mallegue. DHWCNE*
15. Monod T. (1989). *Méharées géographiques (N.A.N.T) normes Algérienne et normes international (2002). Edition France loisir. P : 233.*
16. Rodier J. (1996). *L'analyse d'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eau mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847.*
17. Roland vilagines. (2003). 2eme édition. *Eau, environnement et santé publique. Edition médicales internationales. P : 43-138.*
18. Samraoui B. et De Belair G. (1998). *les zones humides de la Numidie orientale: Bilan des connaissances et perspectives de gestion. Synthèse. P : 90.*
19. http://www.ornithomedia.com/pratique/voyages/voyage_art65_1.htm (16/03/2011)
20. http://www.ornithomedia.com/pratique/voyages/voyage_art65_2.htm (16/03/2011)
21. ressources.iamm.fr/thèses/78.pdf (16/03/2011)
22. www.eau-rhin-meuse.fr/.../pollu/pol02.htm (14/04/2011)
23. <http://www.cite-sciences.fr/francais/ala-cite/expositions/eau-pour-ts/type-pollution-php?html=oketdossier=maitriser> (16/04/2011)
24. http://fr.wikipedia.org/wiki/Pollution_de_l'eau (12/04/2011)
25. <http://www.eau-rhin-meuse.fr/patrimoine/omenac/omenac31.htm> (14/04/2011)
26. <http://membres.multimania.fr/powl/Pollution/pollution.htm> (14/04/2011)
27. <http://www.smbcg-mareclean.eu/projet-life-mareclean/le-projet/quappelle-t-on-pollution-microbiologique/> (20/04/2011)
28. <http://www.campagnesenvironnement.fr/qualite-de-l-eau-et-meilleurs-indicateurs-1830.html> (19/04/2011)

29. http://www.oieau.fr/ReFEA/fiches/AnalyseEau/Enquete_bacterio_PresGen.htm
(21/04/2011)
30. <http://www.ressources-ghse.org/index.php?title=clostridium> (18/04/2011)
31. [http://www.ars.alsace.sante.fr/Les-risques-sanitaires-lies-a-91203-0.html\(mou9adima](http://www.ars.alsace.sante.fr/Les-risques-sanitaires-lies-a-91203-0.html(mou9adima)
(24/04/2011)
32. http://www.infosplusgabon.com/article.php3?id_article=1736 (24/04/2011)
33. http://www.citesciences.fr/francais/ala_cite/expositions/eau_pour_tous/maladies_hydriques.php?rub=maitrise_eau&ss_rub=20 (26/04/2011)
34. [http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/riches-sur-les-maladies-infectieuses\(fièvre-typhoïde\)](http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/riches-sur-les-maladies-infectieuses(fièvre-typhoïde)) (26/04/2011)
35. <http://www.futura-sciences.com/fr/définition/t/medecine-2/d/rièvre-typhoïde-3377/>
(26/04/2011)
36. <http://fr.wikipedia.org/wiki/chol%C3%A9ra> (27/04/2011)
37. <http://documentation.ledamed.org/img/html/doc-10186.html> (27/04/2011)
38. <http://www.ac-clarmont.fr/hygiene-securite/risques-et-ambiances/legionellose.htm>
(28/04/2011)
39. http://www.carevox.fr/sante-naturelle_57/article/gastro-enterite-quelles-hniles
(28/04/2011)
40. <http://fr.wikipedia.org/wiki/escherichia-coli> (30/04/2011)
41. <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/gastro-entérite-2024.html> (30/04/2011)
42. <http://www.123bio.net/cours/bactérie/campylo2.html> (01/04/2011)
43. <http://www.caducee.net/dossierspecialises/eufic/compylobacter> (01/05/2011)
44. <http://www.bactériologie.wikibis.com/yersinia-enterocolitica.php> (03/05/2011)
45. <http://www.bactério.cict.fr/bacdico/yy/entérocólitica.html> (03/05/2011)

46. <http://fr.babelfish.yahoo.com/medpedia.com/translateml?trurl=http%3a%25wiki.medpedia.com%2fyersinia-entérocoliticaetlp=en-fret.intl=fr> (05/05/2011)
47. <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/poliomyelite-5294.html> (05/05/2011)
48. <http://www.larouse.fr/encyclopedie/medical/ent%3a9rouvirus/12820> (07/05/2011)
49. <http://www.santedev.org/biblio/index.php?dossier=cimb97.1> (07/05/2011)
50. http://www.med.univ-rennes/1.fr/sisrai/art/poliomyelite_p_230-236.html (10/05/2011)
51. [indexmedicus.afro.who.int/iah/.../rev.../7-article\(54_64\).pdf](http://indexmedicus.afro.who.int/iah/.../rev.../7-article(54_64).pdf) (10/05/2011)
52. <http://fr.wikipedia.org/wiki/H%3a9patite-virale> (11/05/2011)
53. <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/hepatits/sa-so87-hepatite-a-bengne.htm> (13/05/2011)
54. <http://fr.wikipedia.org/wiki/bilharziose> (13/05/2011)
55. <http://www.doctissimo.fr/html/sant/encyllopedie/sa-1442-bilharzioses.html> (13/05/2011)
56. <http://www.vulgaris.medical.com/encyclopedie/bilharziose-745.html> (15/05/2011)
57. <http://coursdeparasitologie.ifrance.com/parasites/fiarioses.htm> (15/05/2011)
58. <http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:cKEemEGRSU0J:www.sante.univ-nantes.fr/med/ticem/univf/filarioses/site/html/cours.pdf> (13/05/2011)
59. http://www.memoireonline.com/02/11/4267/m_contribution--lamelioration-de-la-gqualite-de-leau--usage-domestique-dans-le-5eme-arrond2.html (18/05/2011)
60. microbiologie.110mb.com/.../Manuel%20des%20TP%20Eaux.doc (20/05/2011)
61. http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm (22/05/2011)
62. <http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf> (24/05/2011)
63. <http://www.arnobio2.com/techniques/staph.pdf> (26/05/2011)
64. <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/macgrady.htm> (28/05/2011)

ANNEXES

Produced with ScantOPDF

Annexes

Annexe I : Milieux de culture et Réactifs:

- **Eau péptonée exempte d'indole :**

Peptone exempte d'indole.....	10 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
PH final.....	7.2

- **B.C.P (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) :**

- **Simple concentration :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Lactose.....	5 g/l
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l
Eau distillée.....	1000 ml
PH final=6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes	

- **Milieu Chapman :**

Peptone bactériologique.....	10 g/l
Extrait de viande de bœuf.....	1 g/l
Chlorure de sodium.....	75 g/l
Mannitol.....	10 g/l
Rouge de phénol.....	0.025 g/l
Agar.....	15 g/l
PH final= 7.5 (environ)	

- **Milieu de Mac Conkey:**

Peptone bactériologique.....	20 g/l
Sels biliaires.....	1.5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Lactose.....	10 g/l
Rouge neutre.....	0.03 g/l
Cristal violet.....	0.001 g/l
Agar.....	15 g/l

PH=7.1 (environ)

- **Milieu de Hektoen:**

Protease peptone.....	12 g/l
Extrait de levure.....	3.0 g/l
Saccharose.....	12.0 g/l
Lactose.....	2.0 g/l
Solicine.....	2.0 g/l
Chlorure de sodium.....	5.0 g/l
Thio sulfate de sodium.....	5 g/l
Citrate ferrique ammoniacal.....	5 g/l
Sels biliaires.....	9.0 g/l
Bleu de bromothynol.....	0.064 g/l
Fushine acide.....	0.04 g/l

- **Viande foie (VF):**

- **Milieu de base:**

Base viande foie.....	30 g
Glucose.....	2 g
Amidon.....	2 g
Agar.....	1 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Au moment de l'emploi:** Ajouter à 20 ml de base fondé

Sulfate de sodium à 5%.....	0.5 ml
Alun de fer commonacol.....	4 gouttes

- **Gélose nutritive :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	1 g/l
Extrait de levure.....	2 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Agar.....	15 g

PH=7.4 (environ)

- **Rothe (bouillon glucose l'acide de sodium) : il y a deux types :**

- **Simple concentration :**

Tryptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate bi potassique.....	2.7 g
Acide de sodium.....	0.2 g
Eau distillée.....	1000 ml

PH=6.8, autoclavage 15 minutes à 121°C

- **Eva-Litsky :**

Peptone.....	20 g/l
Glucose.....	5 g/l
Chlorure de sodium.....	5 g/l
Phosphate bi potassique.....	2.7 g/l
Azophosphate de sodium.....	0.3 g/l
Ethyle-vliote.....	5 g/l

PH=7

- **TGEA (gélose numération : gélostryptone-glucose-Extrait de levure) :**

Tryptone.....	5 g
Glucose.....	1 g
Extrait de levure.....	2.5 g
Gélose.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

PH=7

- **B.C.P.L (bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre) :**

Peptone.....	5 g/l
Extrait de viande.....	3 g/l
Lactose.....	5 g/l
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l

PH final=6,9

- **Schubert :**

Tryptone.....	10.00 g
Tryptophane.....	0.20 g
Glutamicacid.....	0.20 g
Mannitol.....	7.50 g
Magnesium sulfate.....	0.70 g
Ammonium sulfate.....	0.40 g
Sodium citrate.....	0.50 g
Sodium chloride.....	2.00 g
Disodium phosphate.....	4.12 g
Potassium dihydrogen phosphate.....	0.58 g

PH à 25°C : 7.6 ±0.2

- **Milieu Clarek et Lubs :**

Peptonethropsine de caséine.....	5 g
Glucose.....	5 g
Phosphate bipotassique.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Eau physiologique :**

Chlorure de sodium.....	9 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Bouillon nitrate réductase :**

Infusion cœur-cervelle.....	25.0 g
Nitrate de sodium.....	10.0 g
Eau distillée.....	1L

- **Salmonella-Shigella (SS) :**

Peptone.....	5 g
Extrait de viande.....	5 g
Lactase.....	10 g
Citrate de sodium.....	10 g
Citrate de fer III.....	1 g
Sels biliaires.....	8.5 g
Vert brillant.....	3.3 g
Rouge neutre.....	25 mg
Thiosulfate de sodium.....	8.5
Agar.....	12 g

PH=7,3

- **Milieu TSI :**

Agar.....	12 g
Extrait de bœuf.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Peptone.....	20 g
Lactose.....	10 g
Saccharose.....	10 g
NaCl.....	5 g

Glucose.....	1 g
Citrate ferrique.....	3 g
Thiosulfate de sodium.....	3 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Eau distillée.....	1000 ml

• **Citrate de simmons :**

Chlorure de sodium.....	5 g
Sulfate de magnésium 7420.....	0.2 g
Phosphate d'ammo.....	1 g
Phosphite dipotassique PO_4HK_2	2 g
Citrate trisodique.....	2 g
Solution de bleub bromothymol.....	8 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

• **Milieu Mannitol-mobilité :**

Peptone pancréatique de viande.....	20 g
Agar-Agar.....	4 g
Mannitol.....	2 g
Nitrate de potassium.....	1 g
Rouge de phénol en solution à 1%.....	4 ml
Eau distillée.....	1000 ml

B/les Réactifs :

• **Réactif kovacks :** la mise en évidence de la production d'indole:

Paradiméthylamino-benzaldéhyde.....	5 g
Alcoolamylique.....	75 ml
Hcl pur.....	25 ml

- **Réactif TDA** : pour la recherche du tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....3.4 g
 Eau distillée..... 100 ml

- **Réactif IND** : pour la recherche de l'indole ;

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....5.0 g
 Alcool isoamylique..... 75.0 ml
 HCL 37%.....25.0 ml

- **Réactif de Voges Proskauer (VP)** : pour la recherche de l'acétoïne :

- **VP 1 :**

Hydroxyde de potassium.....40 g
 Eau distillée..... 100 ml

- **VP 2 :**

Alpha naphthol.....6 g
 Ethanol..... 100 ml

- **Rouge de Methyl :**

Rouge de Methyl.....0.1 g
 Alcool éthylique à 95%.....300 ml
 Eau distillée.....500 ml

- **Réactif de Griess pour les nitrites :**

- **NIT 1 :**

Acide sulfanilique.....0.8 g
 Acide acétique 5 N..... 100 ml

- **NIT 2 :**

N-N-diméthyl- 1-naphtylamine.....0.6 g
 Acide acétique 5 N..... 100 ml

• **Colorant :**

➤ **Violet de gentiane :**

Violet de gentiane.....	1 g
Ethanol à 90%.....	10 ml
Phénol.....	2 g
Eau distillée.....	100 ml

➤ **Lugol :**

Iode.....	1 g
Iodure de potassium.....	2 g
Eau distillée.....	300 ml

➤ **Fushine :**

Fushine basique.....	1 g
Alcool éthylique.....	100 ml
Phénol.....	5 g
Eau distillée.....	100 ml

Produced with ScanTOPDF

Annexe II :

- Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E [62].

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

- Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API Staph [63].

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate		
MNE	D-mannose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-melibiose			
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 mm	
			Incolore/rose	Rouge
PAL	β -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mm	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl Méthyl-carbonyl	VP 1 - VP 2 / 10 mm	
			Incolore/rose	Violet / rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	Jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-D- glucosamine			
NAG	N-acétyl- glucosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

• Tables de Mac Grady [64].

<i>2 tubes par dilution</i>		<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

<i>5 tubes par dilution</i>							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Annexe III :**Tableau : Grille d'appréciation de la qualité de l'eau en fonction de la température [15].**

Température	Qualité	Classe
$\leq 20^{\circ}\text{C}$	Normale	1 A
$20^{\circ}\text{C}-22^{\circ}\text{C}$	Bonne	1B
$22^{\circ}\text{C}-25^{\circ}\text{C}$	Moyenne	2
$22^{\circ}\text{C}-30^{\circ}\text{C}$	Médiocre	3
$>30^{\circ}\text{C}$	Mauvaise	4

Tableau : Qualité des eaux en fonction de la conductivité électrique [13].

Conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Qualité des eaux	Classe
$\text{CE} < 400$	Normale	1 A
$400 < \text{CE} < 750$	Bonne	1B
$750 < \text{CE} < 1500$	Passable	2
$1500 < \text{CE} < 3000$	Médiocre	3