

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES ET DE L'INGENIERIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Option: Biologie moléculaire des procaryotes

**Thème : Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas du barrage Zit-Emba (W. SKIKDA)**

Présenté par : BENABDA NAZIHA

SERIDI HASNA

Membre de jury :

Président : HOUHAMDI M (Pr)

Université de Guelma

Examineur : BENOURETH D.E. (Pr)

Université de Guelma

Encadreur : GUETTAF M (M.A)

Université de Guelma

Juin 2010

## Remerciement

Louange à Dieu qui nous avons donné l'esprit, le courage pour surmonter toutes les difficultés durant cette étude ainsi que l'endurance pour terminer ce projet.

Nous remercions vivement Mr. **G. UOUSTAF MOHAMMED**, maître assistant au département de biologie à l'université de Guelma, qui nous a encadré et dirigé nos travaux par ses conseils bénéfiques, par son soutien et sa patience.

Nous adressons également nos remerciements aux membres de jury: le président Pr. **HOUHAMDJ MOUSSA** pour nous avoir honoré, de présider le jury et pour son encouragement et son aide et l'examinateur Pr. **BENOUAR DJAMEL Eddine**, d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions aussi **MERZOUG SEYF EDDINE** Magistère en biologie au département de Biologie Guelma, pour son aide.

Enfin, nous exprimons nos vives et profondes reconnaissances à tous ceux qui en ont cublé le citer et qui est de près ou de loin.



## Dédicaces

Dieu le Miséricordieux qui m'a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce j'ai réussi à achever ce travail.

Je dédie ce travail, fruit de recherche et d'étude :

À ma famille, ma mère "Zahia", mon père "Mohamed salah" mes frères "Badreddine" et "Mohamed amine" qui n'ont pas hésité de m'aider et m'encourager moralement jusqu'à la fin de cette ouvrage que dieu les protège et les garde, et ma très cher amie "benmachicho hana".

À toute la famille de mes parents et la famille de ma copine "Nazifa" sans oublier "Zohir" et sa petite famille.

Ma gratitude au personnels de la station de traitement des eaux potables pour leurs aides qu'ils m'ont porté pour me faciliter la tâche.

À "Warda" et "Mohamed" du laboratoire de bactériologie de l'ancien hôpital et sans oublier Mr "fiacene" de la DDS.

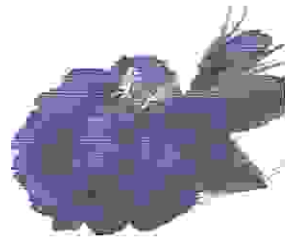
À l'ensemble du personnel de l'agence du barrage Zit- Emba

Au étudiants de 1<sup>ère</sup> année magister "Ali" et "Yamine".

À mes collègues de ma promotion, master : "Amira", "Ahlem", "samira", "Hanene", "Meriem", "Mouna" et "Asma".

Pour finir, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire, en particulier les enseignants et les étudiants du département de biologies.

## Dédicaces



Grâce à Allah on est parvenu à achever cet humble travail et que nous espérons qu'il va plaire à ceux qui s'y intéressent.

Je dédie ce travail, fruit de recherche et d'étude :

A mon père "rachid" et ma mère "wassila" qui ont veillé à mon chevet et à mon bien être que dieu les protège et les garde.

À mes sœur "Chahira", "Ceila", "Meysa", "Yousra" et mon petit frère "Khaled" pour leurs soutient moral, leurs affection et leurs encouragement et sans oublier ma tante "Wahiba".

A ma tante "Fousia" et son marie "Zohir" et ses deux petites filles "Malek" et "Rayen" pour leurs aide.

A la famille de ma copine "Hasna" sans oublier ma cher amie "Wahiba".

Ma gratitude au personnels de la station de traitement des eaux potables pour leurs aides qu'ils m'ont porté pour me facilité la tâche.

A "Warda" et "Mohamed" du laboratoire de bactériologie de l'ancien hôpital et sans oublier Mr "Hacene" de la DDS.

A mes collègues de ma promotion, master: "Amira", "Ahlem", "samira", "Hanene", "Meriem", "Mouna" et "Asma".

Au étudiants de 1<sup>ère</sup> année magister "Ali" et "Yamine".

Pour finir, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

## Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralité sur l'eau.</b>	
1. L'importance de l'eau .....	2
2. Différents types de l'eau .....	2
2.1. Les eaux de pluie .....	2
2.2. Les eaux souterraines .....	3
2.3. Les eaux de surface .....	3
3. La pollution de l'eau.....	3
3.1. Classification des polluants.....	3
3.1.1. Polluants biologiques .....	3
3.1.2. Les polluants chimiques .....	4
3.1.3. Les polluants radioactifs .....	4
3.2. Les principales causes de pollution .....	4
3.2.1. Pollution d'origine domestique .....	4
3.2.2. Pollution d'origine industrielle.....	4
3.2.3. Pollution agricole .....	5
4. Les infections d'origine hydrique.....	5
4.1. Causes techniques des infections.....	5
4.2. Les principales maladies à transmission hydrique .....	6
4.2.1. Les infections bactériennes .....	6
4.2.2. Les infections virales.....	8
4.2.3. Principales infections parasitaires .....	10
<b>Chapitre II : Description du site d'étude.</b>	
1. Historique du barrage Zif-Emba.....	11
2. Situation géographique de la zone d'étude.....	12
3. Situation administrative.....	13
4. Caractéristiques hydrologiques.....	13
5. Caractéristique géologiques et géotechniques.....	16
6. Etude climatique.....	18
6.1. Données climatiques de la station météorologique de Skikda.....	19
6.2. Synthèse climatique.....	21

7. Exploitation de site.....	22
------------------------------	----

### **Chapitre III : Matériel et méthodes.**

1. Choix des sites de prélèvement.....	23
1.1. Oued el hammam (Site 01).....	23
1.2. Barrage Zit-Emba (Site 02).....	24
1.3. Barrage Zit-Emba (Site 03).....	24
2. Caractéristiques des points de prélèvement.....	25
3. Matériel d'échantillonnage.....	25
4. Mode de prélèvement de l'eau.....	25
4.1. Pour l'analyse physico-chimique.....	25
4.2. Pour l'analyse microbiologique.....	26
5. Enregistrement et étiquetage des échantillons.....	26
6. Conditionnement et transport des échantillons.....	26
6.1. Pour l'analyse bactériologique.....	26
6.2. Pour l'analyse physico-chimique.....	26

#### **Partie 01 : Analyse physico-chimique**

1. Mesure <i>in situ</i> .....	27
1.1. La température.....	27
1.2. La conductivité électrique.....	27
1.3. Oxygène dissous.....	28
2. Mesure au laboratoire.....	28
2.1. Le PH.....	28
2.2. Turbidité.....	29
2.3. Nitrate.....	30
2.4. Nitrites.....	30
2.5. L'ammonium.....	31
2.6. Détermination des matières en suspension.....	31
2.7. Matière organique.....	32
2.8. Résidu sec.....	32

## Partie 02 : Analyse microbiologique.

1. Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables dans les eaux.....	33
2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d' <i>Escherichia coli</i> en milieu liquide.....	36
3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	40
4. Recherche microbiologique.....	43
4.1. Recherche bactériologique.....	43
4.2. Recherche des levures et moisissures.....	44
5. Tests complémentaires.....	43
5.1. Identification des <i>Enterobacteriaceae</i> .....	43
5.1.1. Galerie biochimique classiques.....	45
5.1.2. La Galerie API 20E.....	49
5.1.3. Test d'oxydase.....	51
5.2. Identification des <i>Staphylococcus</i> .....	51
5.2.1. Test catalase.....	51
5.2.2. Test Coagulase.....	52

## Chapitre IV : Résultats et discussion.

1. Paramètres physico-chimiques.....	53
1.1. La température.....	53
1.2. La conductivité électrique.....	53
1.3. Oxygène dissous.....	54
1.4. Le PH.....	56
1.5. Turbidité.....	56
1.6. Nitrates.....	57
1.7. Nitrites.....	57
1.8. L'ammonium.....	58
1.9. Détermination des matières en suspension.....	59
1.10. Matière organique.....	59
1.11. Résidu sec.....	60
2. Paramètres microbiologiques.....	61
2.1. Les germes revivifiables.....	61

2.2. Les coliformes totaux.....	62
2.3. Les coliformes fécaux.....	63
2.4. Les streptocoques fécaux.....	63
2.5. Recherche microbiologique.....	64
2.5.1. Identification des <i>Enterobacteriaceae</i> .....	67
2.5.2. Identification des <i>Staphylococcus</i> .....	69
<b>Conclusion.....</b>	<b>70</b>

**Résumé**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

Produced with ScanTOPDF



## Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	N° de page
01	Situation géographique du Barrage Zit-Emba	12
02	Photo satellite du barrage de Zit-Emba	13
03	Carte réseau hydraulique du bassin versant de Zit-Emba	14
04	Photo réel du Barrage Zit-Emba	14
05	Schéma structural de la région de Zit-Emba.	17
06	Evolution des températures moyennes (°C) (1997-2008)	19
07	Evolution de vent mensuel (m/sec) (1997-2008)	20
08	Evolution de vent mensuel (m/sec) (1997-2008)	20
09	Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS ET GAUSSENH	21
10	Situation de la station météorologique de la wilaya De Skikda dans le climagramme d'EMBERGER	22
11	Photo satellite des trois stations de prélèvements	23
12	Photo de Point de prélèvement dans l'Oued el hammam	23
13	Photo de Point de prélèvement dans le barrage Zit-Emba	24
14	Photo de Point de prélèvement dans le barrage Zit-Emba	24
15	Dénombrement des germes révivifiables	35
16	Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	39
17	Dénombrement des streptocoques fécaux	42
18	recherche microbiologique	44
19	Photo de la Galerie APi20E	49
20	Fiche de résultat de l'API 20E.	49
21	Variations de la température de l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	53
22	Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	54

23	Variations spatio-temporelles des valeurs de l'oxygène dissous dans l'eau	54
24	Variations du % de saturation en l'oxygène dissous dans l'eau	55
25	Variations spatio-temporelles des valeurs de PH dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	56
26	Variations De la turbidité de l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	56
27	Variations des teneurs des nitrites dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	57
28	Variations des teneurs des nitrates dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	58
29	Variations des teneurs de l'ammonium dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	58
30	Variations des teneurs en matière en suspension de l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	59
31	Variations des teneurs en matière organique de l'eau (Mar 2010-Mai 2010)	60
32	Variations des teneurs en résidus sec de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).	60
33	Evolution des taux des germes revivifiables à 37°C (Mar 2010-Mai 2010)	61
34	Evolution des taux des germes revivifiables à 22°C (Mar 2010-Mai 2010)	62
35	Evolution des taux des coliformes totaux (Mar 2010-Mai 2010)	62
36	Evolution des taux des coliformes fécaux (Mar 2010-Mai 2010)	63
37	Evolution des taux des Streptocoques fécaux (Mar 2010-Mai 2010)	63
38	Photo des résultats d'ensemencement sur gélose	64
39	Résultats des colorations de Gram et du bleu de méthylène	66
40	Photos des résultats l'Api 20E	67

41	Photo de galerie classique	68
42	Catalase positive	69
43	Coagulase positive	69
44	Délimite du bassin versant du barrage du Zit-Emba	Annexe
45	Dessin à main levée du barrage	Annexe

Produced with ScanTOPDF

## Liste des tableaux

<b>N° de tableau</b>	<b>titre du tableau</b>	<b>N° de page</b>
<b>01</b>	Principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique	07
<b>02</b>	Virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturelles	09
<b>03</b>	Infection d'origine parasitaire transmise par l'eau	10
<b>04</b>	Principales caractéristiques des ouvrages Bassin versant	15
<b>05</b>	Principales caractéristiques du Barrage	16
<b>06</b>	Caractéristiques techniques du barrage Zit-Emba	17
<b>07</b>	Données climatiques de la station météorologique de Skikda. (1984 à 2007)	18
<b>08</b>	Caractéristiques des points de prélèvement	25
<b>09</b>	Rapport entre la conductivité et la minéralisation	28
<b>10</b>	Classification des eaux d'après leur PH	29
<b>11</b>	Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit)	29
<b>12</b>	Lecture d'une galerie APi20 E.	50
<b>13</b>	Grille de qualité des eaux naturelles agréée par l'agence nationale des ressources hydriques (ANRH, 2001)	55
<b>14</b>	Résultats de l'ensemencement des milieux de cultures utilisés	65
<b>15</b>	Résultats d'identification des germes par Api20E	67
<b>16</b>	Résultats de la galerie classique	68
<b>17</b>	Résultats d'identification des Staphylocoques	69

## Liste d'abréviation

- ANRH** : Agence nationale des ressources hydrique
- BCPL** : Bouillon Lactosé au Bromocrésol Pourpre
- CIT** : Citrate de Simmons
- E. coli** : *Escherichia coli*
- G CH**: Gélose Chapman
- G He**: Gélose Hektoen
- G McC**: Gélose Mac-Cankey
- G SS**: Gélose *Salmonella-Shigella*
- GN**: Gélose Nutritive
- MAN**: Mannitol
- MEL**: Mélibiose
- MES** : Matières en suspension.
- NPP** : Nombre le plus probable
- ODC** : Ornithine décarboxylase
- OMS** : Organisation mondial de la santé.
- ONPG** : Orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside
- pH** : potentiel hydrogène.
- RHA** : Rhamnose
- RM** : Rouge de méthyle
- S/C** : Simple concentration
- SOR**: Sorbitol
- TDA** : Tryptophane Désaminase
- TSI** : Triple Sugar Iron Agar
- VP** : Voges-Proskauer

# Introduction



L'eau est omniprésente sur la terre. Sans elle, la vie humaine serait impossible. Elle est nécessaire à la vie des végétaux, des animaux et aux activités sur terre. L'eau douce, essentielle à nos besoins, ne représente que 1% du total des mers et des océans présents sur terre. Elle est donc un capital limité et fragile car menacée par une consommation croissante et par de multiples pollutions. Elle est donc une ressource naturelle indispensable, non renouvelable, qu'il faut impérativement préserver.

L'Algérie est classée parmi les pays qui souffrent du problème de manque d'eau provoqué principalement par la pollution qui provient des différentes origines : domestiques, industrielles et agricoles...etc.. cela conduit à minimiser ses domaines d'utilisation et l'apparition de nombreuses maladies dangereuses.

Donc l'insuffisance de l'eau nous oblige à protéger toutes les ressources disponibles.

La qualité de l'eau de ses écosystèmes aquatiques artificiels reste donc dépendante des charriages et des précipitations des éléments minéraux qui peuvent influencer la multiplication et la prolifération de nombreux micro-organismes. C'est dans cet objectif le but de notre travail consiste à étudier les caractères physico-chimiques et microbiologiques en vue de mettre en évidence la pollution de l'oud el hammam et du barrage de Bekkouche Lakhdar : Zit-Emba.

Notre étude est hiérarchisée en quatre chapitres, Le premier et le second sont purement théoriques rassemblent d'une part des généralités sur la pollution et les maladies à transmission hydriques et d'autre part une description du site d'étude.

Le troisième chapitre, est la partie expérimentale sous laquelle nous avons réalisé un mini procédé en effectuant des analyses physico-chimique et microbiologique.

Enfin, Le dernier chapitre. Mentionne sous formes de graphes et d'histogrammes les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique avec une discussion et une conclusion.

Chapitre I: Généralité sur  
l'eau





## 1. L'importance de l'eau :

L'eau est un élément essentielle à la vie et au fonctionnement global de la planète terre, car elle atteint 70-80% de la surface totale de la terre. Presque 98% de l'eau est de l'eau salée, impropre à la consommation et moins de 1% de l'eau est potable sont disponibles à l'utilisation, la majorité est enfermée dans les neiges et dans les polaires. (Lassoued et al., 2008).

Elle est la plus abondante de la matière vivante (jusqu'à 90% du poids pour certains être vivants, animaux et végétaux...) (Blandiot, 1986). L'eau est le principal constituant du corps humain, la quantité moyenne d'eau contenue dans un organisme adulte est de 65%, ce qui correspond à environ 45 litres d'eau pour une personne de 70 kilogrammes.

Outre d'être le constituant essentiel des cellules, l'eau remplit les fonctions :

- Participe aux nombreuses réactions chimiques dans le corps humain.
- Assure le transit d'un certain nombre de substances dissoutes indispensables aux cellules.
- Permet l'élimination des déchets métaboliques.
- Aide au maintien d'une température constante à l'intérieur du corps. (Monod, 1989).

## 2. Différents types de l'eau :

### 2.1. Les eaux de pluie :

Les eaux de pluie peuvent être collectées à partir des toitures des maisons dans des récipients ou dans des impluviums. A l'origine ces eaux sont pures sur le plan microbiologique, mais sur le plan chimique, il leur manque souvent certains éléments indispensables à la santé comme le sodium, magnésium, manganèse, fer, iode. (Coulibaly, 2005).

## 2.2. Les eaux souterraines :

Formées par les eaux d'infiltrations, les eaux souterraines sont exemptes de pollution. Cependant elles peuvent, d'une part être contaminées par la technique de puisage, la proximité des latrines ou d'autres sources de pollution, le manque de protection, d'autre part, elles peuvent être chargées par les éléments ; eaux saumâtres, (Na Cl) eau dure (Ca<sup>++</sup>) ; eau ferrugineuse (Fe<sup>++</sup>). (Coulibaly, 2005).

## 2.3. Les eaux de surface :

Composées d'eaux de mer, de fleuve, de rivière, de marigot, ces eaux couvrent la terre. La terre « planète bleue » en raison de la présence d'eau, 97,5% de celle-ci consiste toutefois en eau salée dont l'essentiel est dans les océans et 2,5% seulement en eau douce (AMH journée mondiale de l'eau 2003). Grossies par les eaux de ruissellement elles reçoivent toutes sortes de déchets contenant des germes nuisibles pour la santé. (Coulibaly, 2005).

## 3. La pollution de l'eau :

Toute action ou introduction volontaire, accidentelle ou naturelle de corps qui altèrent la qualité physique, chimique ou biologique de l'eau est appelée : pollution. D'une manière générale, toute contamination de cette eau par :

- Les impuretés naturelles indépendantes de l'homme.
- La matière organique entraînée par lessivage des sols qui se trouvent dans les rivières et les affluents.
- L'activité humaine : nitrates, des engrais phosphatés, du lessivage, de la matière organiques complexes des déjections humaines, animales et minérales diverses déversées par l'industrie. (Belhadj, 2006).

### 3.1. Classification des polluants :

Selon leur origine, les polluants des eaux de surface se divisent en 3 grands groupes :

#### 3.1.1. Polluants biologiques :

Ils sont constitués d'organismes libres et des agents pathogènes, Parmi les organismes libres présents dans l'eau, ceux qui importent sont : le plancton et les macro-invertébrés, et

pour les agents pathogènes comprennent : les virus, les bactéries, les parasites. Les plus courants sont liés au péril fécal. (Moussa Moumouni Djermakoye, 2005).

### 3.1.2. polluants chimiques :

Ils comprennent les sels minéraux et les composés toxiques. Ce sont des polluants majeurs des cours d'eau par leur abondance et leurs effets biologiques. (Moussa Moumouni Djermakoye, 2005).

### 3.1.3. polluants radioactifs :

Ces paramètres n'ont pas fait l'objet d'analyse par manque de matériels. Il existe plusieurs types de rayonnements :

- les rayons alpha ont un pouvoir de pénétration faible et sont arrêtés par la couche superficielle de la peau.
- les rayons bêta traversent quelques centimètres de tissus.
- les rayons gamma sont de nature plus énergétique. (Moussa Moumouni Djermakoye., 2005).

## 3.2. Les principales causes de pollution :

### 3.2.1. Pollution d'origine domestique :

Parmi les principaux polluants de l'eau, les eaux usées et autres consommateurs d'oxygène essentiellement les substances organiques qui entraînent un épuisement de l'oxygène ( $O_2$ ) dissous dans l'eau. (Belhadj, 2006) ils sont capables de subir un traitement par des stations d'épuration, afin de diminuer leur teneur en matière en suspension et organique, en composés inorganiques dissous notamment les composés phosphatés et azotés, et en bactéries nocives. (Brahem et al., 2008).

### 3.2.2. Pollution d'origine industrielle :

L'industrie est une grande consommatrice d'eau ; par conséquent, ces eaux utilisées seront rejetées sales, chargées en produit chimiques, en produits phytosanitaires, en métaux lourds, en hydrocarbures, en solvants, en matière organiques ou inorganiques, etc. ..., si elles ne sont pas traitées dans une station d'épuration, entraînent une pollution physique et chimique du milieu naturel. (Belhadj, 2006).

### 3.2.3. Pollution agricole :

Ces contaminations comprennent à la fois des sédiments provenant de l'érosion des terres agricoles, des composés phosphorés ou azotés, issus des déchets animaux et des engrais commerciaux, notamment des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et de produits phytosanitaires, qui n'ont pas décomposés, vont nourrir les algues qui se multiplient et prennent tout l'oxygène. Les déchets animaux sont avides d'oxygène, riche en azote et en phosphore et renferment souvent des organismes pathogènes. (Belhadj, 2006).

## 4. Les infections d'origine hydrique :

L'eau est vectrice de nombreux parasites, bactéries ou virus. Il faut prendre des précautions avant de consommer de l'eau dans la nature. Une part importante des micro-organismes est responsable à des maladies hydriques. [4].

Les maladies à transmission hydriques sont l'ensemble des maladies liées à la consommation d'eau ou d'aliment, souillées par des micro-organismes pathogènes : des bactéries pathogènes, des virus ou des parasites. Les maladies hydriques se propagent rapidement dans les pays ne disposant pas de bonnes conditions d'hygiène de systèmes de traitement des eaux : les pollutions sont transportées par ruissellement ou par infiltration dans des sources d'eau douce, contaminant ainsi l'eau potable et les aliments. (Rejsek, 2002).

### 4.1. Causes techniques des infections :

Dans les pays industrialisés. En considérant tous les systèmes de distribution, L'origine principale des épidémies provient de : l'eau de nappe non traitée et contaminée (44% des cas) mais la cause la plus fréquente des maladies est une déficience du traitement de l'eau qui peut avoir deux origines principales :

- **traitement de désinfection** : absence, interruption ou insuffisance de ce traitement.
- **incidents dans les circuits de distribution de l'eau** : interconnexion eau usée/eau potable ou siphonages d'eaux sales dans le réseau d'eau potable.

On peut considérer cependant que la pathologie infectieuse d'origine hydrique est négligeable dans les pays industrialisés, avec une mortalité qui ne représente que 0,0005% de la mortalité totale, très loin derrière les maladies cardio-vasculaires (47 % de la mortalité).

On peut conclure que le traitement de l'eau d'alimentation ainsi que la séparation dans des réseaux différents des eaux usées et d'alimentation ont permis l'éradication des grandes épidémies hydriques. Elles laissent place à des pathologies bénignes dont l'origine hydrique n'est pas toujours évidente. (Rejsek, 2002).

#### 4.2. Les principales maladies à transmission hydrique :

Les microorganismes polluants des ressources en eau, sont à l'origine des maladies prenant en général l'appellation d'infections d'origine hydrique. Les organismes microbiens responsables de ces infections prennent quant à eux le nom d'agents pathogènes ceux-ci peuvent être de trois types :

- Bactéries : *Salmonelles*, *Shigelles*, *Vibrions*.
- Virus : Poliomyélite, Hépatites A et E, Gastro-entérites virales.
- Parasites : Helminthes, Protozoaires. [5].

##### 4.2.1. Les infections bactériennes :

Le micro-organisme qui déclenche une infection intestinale aiguë, doit coloniser un étage du tube digestif où il provoque des altérations cellulaires et tissulaires, accompagnées le plus souvent d'une production de substances comme des toxines.

On distingue dans le groupe des bactéries à transmission hydrique, deux types :

- **Bactéries pathogènes et toxiques :**

**Salmonella** : Les Salmonelles forment un groupe taxinomique très diversifié, c'est un genre dans lequel on regroupe 5 sous-genres, répertoriant plus de 2000 sérotypes ayant des noms d'espèces. Ceux adaptés à l'Homme sont : *S.typhi* ; *S.paratyphi* ; *S.senftenbergii*, responsables de la fièvre typhoïde exclusivement humaine.

**Shigella** : Le genre *Shigella* est divisé en 4 espèces, regroupant plus d'une trentaine de sérotypes. Les Shigelles sont capables de provoquer la maladie par leur aptitude à coloniser le gros intestin, à pénétrer et à se diviser dans les cellules intestinales.

**Escherichia.coli** : il est recherché souvent comme germe indicateur de la contamination fécale, dans l'eau et les aliments. Cependant, il existe à l'intérieur de cette espèce quelques pathotypes responsables d'infections intestinales. Ces pathotypes sont responsables de

Gastro-entérites, Diarrhées, Intoxications alimentaires, d'autres souches peuvent être la cause de méningites néo-natales ou encore d'infections du tractus urinaire. [5].

• **Bactéries indicatrices de pollution :**

Cette classe de bactéries comprend des genres et espèces dont la présence dans les eaux ne constitue pas en elle même un risque sur la santé des populations, mais indique l'importance de la pollution biologique des eaux.

- Coliformes fécaux.
- Streptocoques fécaux. [5].

**Tab 1 :** Principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique. (Rejsek, 2002).

Bactéries	Maladies induites	Indications de la recherche
Aeromonas	Gastro-entérite syndrome cholérique	-
Clostridium perfringens	Gastro-entérite	Contamination fécale peu spécifique
Entérocooccus		Contamination fécale
E. coli entérotoxique et entéroinvasif	Gastro-entérite et autres maladies	Contamination fécale
Campylobacter jejuni ou coli	Gastro-entérite	-
Legionella pneumophila	Pneumopathie, fièvre	-
Leptospira	Leptospirose ictéro-hémorragique	Maladie professionnelles
Pseudomonas aeruginosa	Infections cutanées, pus	Contamination de proximité
Salmonella typhi et Paratyphi A	Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes	-
Salmonella (autres)	Gastro-entérite	-
Shigella dysenteriae	Dysenterie bacillaire	-
Shigella (autres)	Gastro-entérite	-
Staphylococcus aureus	Infection cutanées	Contamination de proximité
Vibrio	Choléra, gastro-entérite, infections cutanées	-
Yersinia enterocolitica	Gastro-entérite	-

#### 4.2.2. Les infections virales :

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. [5].

- **Les hépatites :**

Les hépatites virales sont causées par 5 virus ou familles de virus ; hépatites A, B, C, D, E. seules les hépatites A et E sont à transmission hydriques par voie digestive

Les hépatites surtout A et E, restent actuellement l'un des problèmes majeurs liés à l'utilisation d'eau de mauvaise qualité. [5].

- **Gastro-entérites virales :**

La majorité des infections à transmission hydrique sont des gastro-entérites ou des diarrhées, dont certaines sont d'étiologie virale.

Le tableau 2 présente les principaux virus identifiés responsables de pathogènes liés à l'ingestion d'eau ou de coquillage, ou au contact avec une eau contaminée. [5].

Tab 2 : Virus pathogènes pouvant être rencontrés dans les eaux naturelles. (Rejsek, 2002).

Famille	genre	espèce	Maladies provoquées	contamination
picornaviridae	entérovirus	Virus de la polomyélite	Poliomyélite, paralysie, méningite	Ingestion
		Virus coxsackie A	Méningite, infection respiratoire	Ingestion
		Virus coxsackie A	Myocardite, éruption cutanée	Ingestion
		Échovirus	Méningite, infection respiratoire	Ingestion
		Virus de l'hépatite A	Hépatite infectieuse	Ingestion
Reoviridae	Rotavirus	Rotavirus humains	Gastro-entérite	Ingestion
Caliciviridae	Calicivirus	Calicivirus humains	Gastro-entérite	Ingestion
		Virus de norwalk	Gastro-entérite	Ingestion
		Virus de l'hépatite E	Hépatite infectieuse	Ingestion
		Astrovirus	Gastro-entérite	Ingestion
Adenoviridae	Mastadénovirus	adénovirus	Gastro-entérite, pharyngite, conjonctive	Ingestion et contact
Coronaviridae	Coronavirus	Coronavirus humains	Entérocolite	Ingestion
		Coronavirus like	Gastro-entérite	Ingestion
Papovaviridae	papillomavirus	Papillomavirus humains	Verrues	Contact



#### 4.2.3. Principales infections parasitaires :

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

- **Les protozoaires :**

Organisme unicellulaire eucaryote dans plusieurs sont des agents d'épidémies hydriques. Ces dernières années, des épidémies de ce type ont fait leurs apparitions dans les pays industrialisés, ce qui a bouleversé complètement non seulement la notion même des transmissions par voie hydrique mais aussi traitement de potabilisation nécessaire pour leur élimination. (Rejsek, 2002).

- **Les helminthes :**

Organisme pluricellulaire de type vert, Ces infections constituent un problème de sante publique dans le monde entier, notamment dans les pays en voie de développement où elles causent de nombreux décès invalidités. (Rejsek, 2002).

Tab 3 : Infection d'origine parasitaire transmise par l'eau. (Rejsek, 2002).

Type d'organismes	Nom	Maladie	Type de contamination
Protozoaire	Amibe	Amibiase	Ingestion des kystes
Protozoaire	Cryptosporidium parvum	Gastro-entérite	Ingestion
Protozoaire	Giardia lamblia, intestinalis	Gastro-entérite	Ingestion des kystes
Protozoaire	Plasmodium	Paludisme	Piqûre d'anophèle
Protozoaire	Trypanosome	Maladie du sommeil	Piqûre par glossine
Helminthe	Anguillule	Anguillulose	Contact ou ingestion
Helminthe	Ankylostoma duodenale	Ankylostomose	Contact
Helminthe	Fasciola hepatica	Douve du foie	Ingestion
Helminthe	Schistosome	Bilharziose	Contact
Helminthe	Filaria	Filariose	Ingestion
Helminthe	Dracuncula	Dracunculose	Ingestion de crustaés

*Chapitre I I : Description  
du site*



## 1. Historique du barrage Zit-Emba :

L'aménagement hydraulique Zit-Emba est situé dans la Wilaya Skikda sur l'Oued Hammam (Wilaya Guelma), à 2 Km en amont de Boukkouche Lakhdar.

Cette zone est caractérisée par le développement intensif de l'industrie et de l'agriculture ce qui entraîne l'augmentation considérable de consommation en eau. Vu que les capacités hydriques des sources de la région sont limitées la construction d'une retenue s'imposait.

La première étude de choix du site du barrage sur l'Oued Hammam a été réalisée par la société «Grands travaux» en 1955.

Des études préliminaires du barrage, qui ont été faite en 1972, sur l'Oued Hammam, exposent l'estimation hydrologique de la retenue, tout en passant en revue des conditions hydrologiques. Les valeurs maximales du débit, sont déterminées.

La recherche réalisé en 1986 par l'institut « Sojuzhiprovodkhoz » « schéma d'utilisation de recoures hydriques dans la région de Annaba» détermine les paramètres principaux de la retenue.

Les études géotechniques des soles de l'assise du barrage et du terrain ont été faite par «Selkhozpromexort» au laboratoire du barrage Hammam- maskhoutine (Wilaya Guelma).

En 1987 la société russe « Ukrhyprovodhoz » a réalisé avant-projet « barrage Zit-Emba ».

En novembre 1989 le contrat, ayant pour objet la construction du barrage a été signé avec la société «Selkhozpromexort». (Vnoukoy et Kovalev, 2000).

Le barrage a été mis en service récemment en janvier 2001. Le but de la retenue est essentiellement de régulariser les apports en vue de satisfaire les besoins de l'irrigation du périmètre de la plaine de Ben Azzouz, puis à plus long terme le renforcement de l'alimentation en eau de la ville de Skikda.

La côte de la retenue normale a été fixée à 86.00m dans le Système Altimétrique du barrage (SAB).

La cote des Plus Hautes Eaux exceptionnelles est de 91.00m dans le Système Altimétrique du barrage (SAB).

Enfin pendant la campagne de mesures, l'altitude du plan d'eau varie de la cote 85.95m à la coté 86.00m dans le Système Altimétrique du barrage(SAB). (Belhadj M, 2006).

## 2. Situation géographique de la zone d'étude :

La région d'étude appartient à la chaîne alpine nord-orientale. Elle est située sur le territoire de la wilaya de Skikda.

Le site de barrage sur l'Oued Hammam est situé à 2 Km en amont du village Boukkouchba Lakhdar et Dindif

- Au Nord par Azzaba
- A l'Ouest par les contreforts de djebel Debagh, Taya et Grar
- A l'Est par djebel el Menchoura
- Au Sud par Bouati Mahmoud. (Vnoukoy et Kovalev, 2000).



Fig. 1. Situation géographique du Barrage Zit-Emba à l'échelle 1/600.000. (Vnoukoy et Kovalev, 2000).



Fig. 2. Photo satellite du barrage de Zit-Emba.

### 3. Situation administrative :

Sur le plan administratif, Le lac artificiel de Zit-Emba dépend de la Wilaya de Skikda, de la Daïra de Ben azzouz et de la Commune de Boukkouche Lakhdar. (ANB).

### 4. Caractéristiques hydrologiques :

La superficie du bassin versant du barrage Zit-Emba est de 485 km<sup>2</sup>. Le bassin a une forme compacte triangulaire et comprend la branche Est de l'Oued El-Hammam (2/5) de la superficie générale, et la branche Ouest de l'Oued Mouguer (3/5) de la superficie générale. La digue est implantée sur les terrains de la wilaya de Skikda et la majeure partie des eaux sont stockées sur les terrains de la wilaya de Guelma. (Belhadj, 2006).

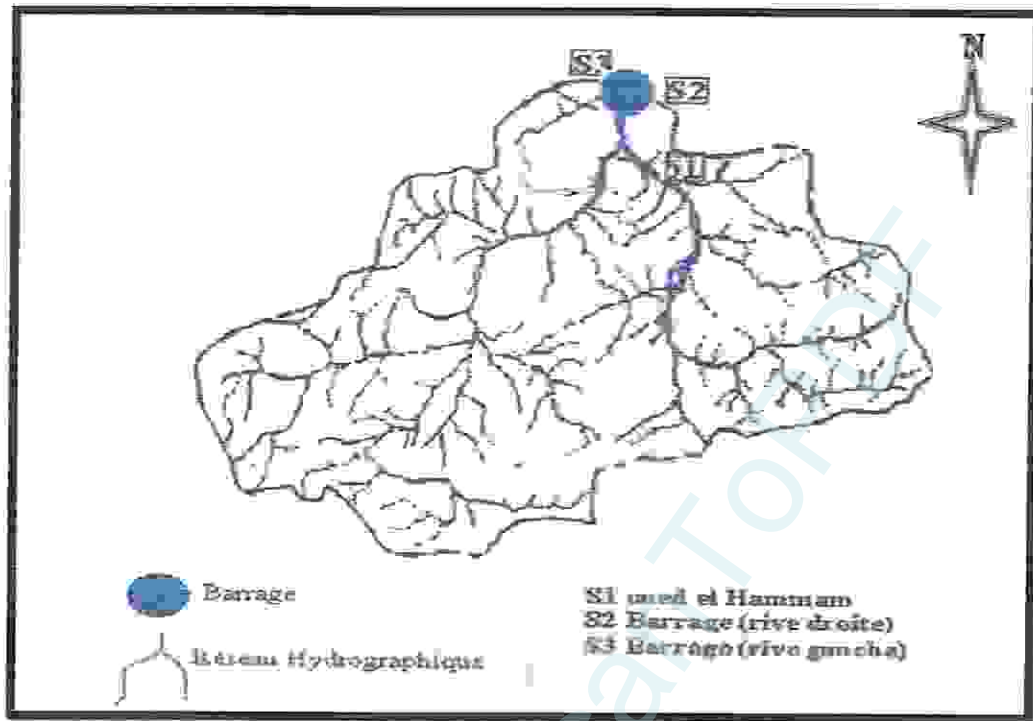


Fig. 3. Carte réseau hydraulique du bassin versant de Zit-Emba à l'échelle 1/200 000 (Amour Abda, 2009).

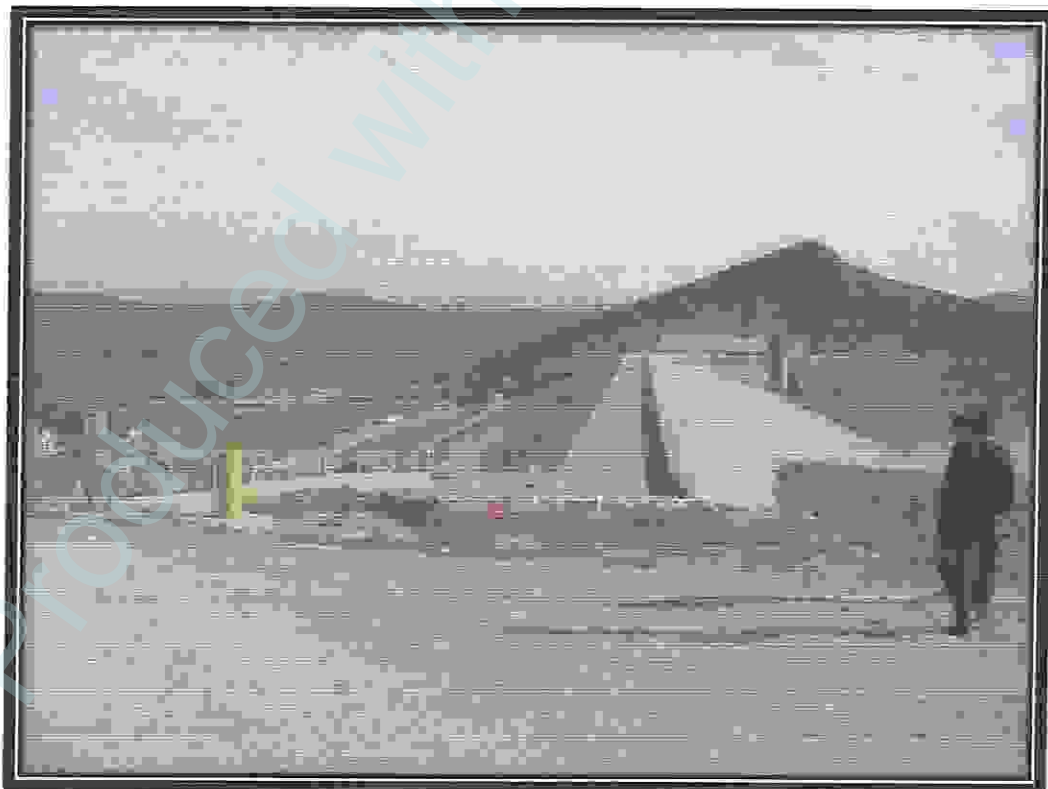


Fig. 4. Photo réel du Barrage Zit-Emba

- **La retenue :**

1. **Caractéristiques hydrologiques et paramètres de la retenue :**

Tab 4 : Principales caractéristiques des ouvrages Bassin versant. (ANB).

<b>paramètres</b>	<b>valeurs</b>
Superficie	<b>485 Km<sup>2</sup></b>
Altitude maximale	<b>1200 m NGA</b>
Altitude minimale	<b>50 m NGA</b>
Altitude moyenne	<b>376 m NGA</b>
Pluviométrie moy/annuelle	<b>700 mm</b>
Apport moyen annuel	<b>50,0 millions m<sup>3</sup></b>
Crue 10	<b>635 m<sup>3</sup>/s</b>
Crue 100	<b>1275 m<sup>3</sup>/s</b>
Crue 1000	<b>1920 m<sup>3</sup>/s</b>
Crue 10000	<b>3060 m<sup>3</sup>/s</b>
<b>retenue</b>	
Altitude de retenue normale	<b>86,00 m</b>
Altitude des plus hautes eaux	<b>91,00 m</b>
Surface de la retenue au niveau normal	<b>810 ha</b>
Surface de la retenue au niveau exceptionnel	<b>1030 ha</b>
Capacité totale de la retenue	<b>120.0 millions m<sup>3</sup></b>
Reserve d'envasement	<b>8,4 millions m<sup>3</sup></b>
Volume régularisé	<b>43,4millions m<sup>3</sup></b>

## 2. Le barrage :

Tab 5 : Principales caractéristiques du Barrage. (ANB).

paramètres	valeurs
Type	barrage en terre hétérogènes.
Hauteur maximale au-dessous du terrain naturel.	47,5m
Hauteur maximale au dessus du fond des fouilles.	52 m.
Largeur en crête.	10 m
Largeur maximale au niveau des fondations.	270 m
Longueur en crête.	640 m
Fuit du parement amont.	1/3,5 m
Fuit du parement aval.	1/2 ou 1/2,5
Cote de la crête de barrage.	92 m

## 5. Caractéristique géologiques et géotechniques :

La région d'étude concernée par cette étude s'étend sur les grandes surfaces représentées sur les cartes géologiques au 1/50000 de Hammam Meskhoutine, Guelma, Penthièvre et Jemmapes. L'édifice structurel des formations géologiques du bassin versant de Zit-Emba et ses environs présentes un empilement de nappes de charriages appartenant au trois domaines paléogéographiques.

Du Nord au Sud et de haut au bas, on distingue :

- La nappe numidienne ;
- La nappes du flysch de type Guerrouth = flysch mauretaniens ;
- La nappe de dorsale Kabyle ;
- La nappe du flysch de Penthièvre = flysch mauretaniens ;
- La nappe du flysch à microbrèches Sénonienne = flysch massylien ;
- La nappe épi-tellienne ;
- Les formations de la plateforme néritique constantinoise. (Belhadj, 2006).



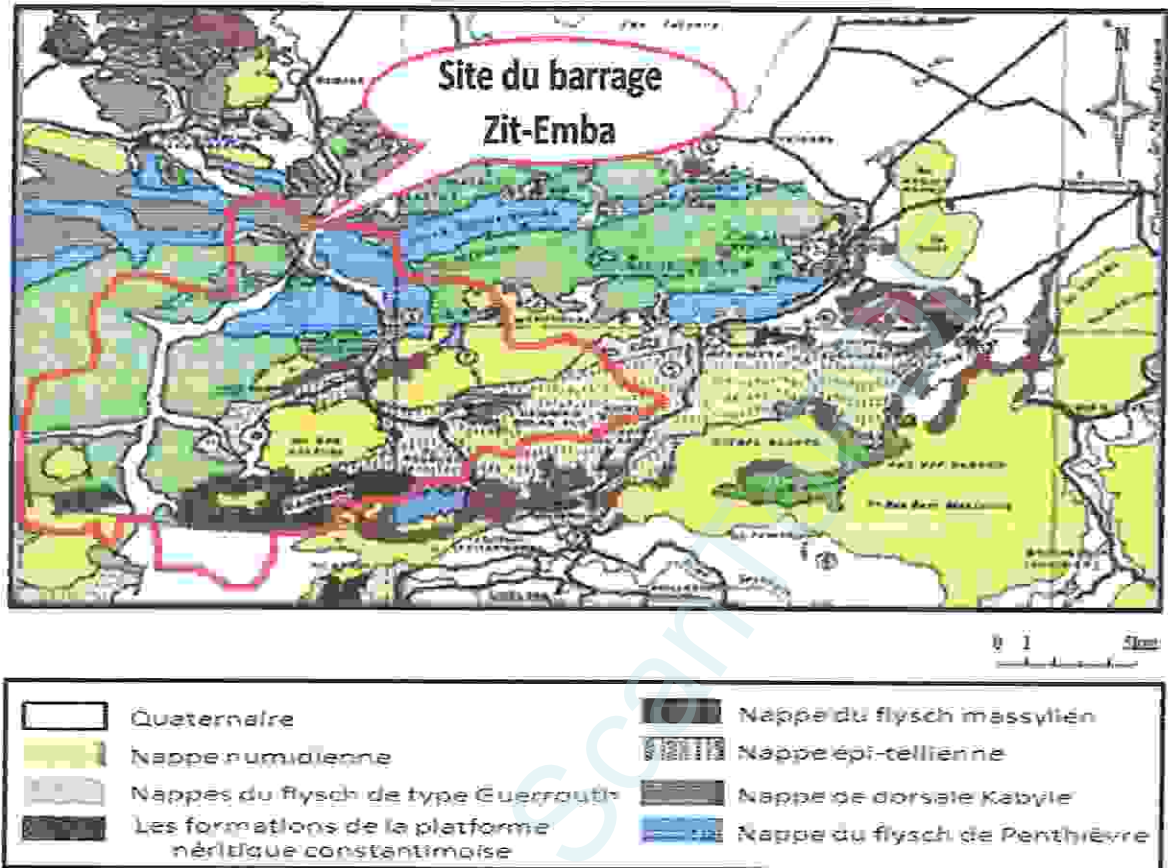


Fig. 5. Schéma structural de la région de Zit-Emba. (Amour Abda, 2009).

Tab 6 : Caractéristiques techniques du barrage selon (ANB).

Wilaya	SKIKDA
Oued	Oued El Hammam
Capacité initial	117,390 Hm <sup>3</sup>
Capacité levé 2004	116,590 Hm <sup>3</sup>
Apport moyen annuel	50 Hm <sup>3</sup>
Volume régularisés	43,4 Hm <sup>3</sup>
Envasement annuel	0,24 Hm <sup>3</sup>
Type de barrage	terre
déversoir	Seille libre
AEP Skikda+ Azzaba et zones environnantes	14 Hm <sup>3</sup> /an
IRR	Terre adjacentes au barrage : 9 Hm <sup>3</sup>

## 6. Etude climatique:

Par défaut de l'absence d'une station météorologique dans le site de notre étude, nos données ont été récoltées auprès de la station météorologique de la ville de Skikda le tableau ci-dessus rassemble des données de 12 ans (1997-2008).

**Tab 7 :** Données climatiques de la station météorologique de Skikda. (1984 à 2007).  
(Merzoug, 2009).

	T° moyenne (c°)	Précipitation (mm)	Humidité relative (%)	Vent	
				Vitesse moyenne (m/sec)	Vitesse max (m/sec)
Janvier	13,00	112	77	3,53	19,1
Février	13,15	95	73	3,44	18,9
Mars	15,07	64	72	3,13	18,7
Avril	17,46	48	72	3,14	18,4
Mai	20,28	46	69	2,80	15,3
Juin	23,43	15	70	2,73	14,9
Juillet	25,43	08	73	2,83	14,8
Août	26,08	11	71	2,77	15,4
Septembre	23,46	56	74	2,78	15,2
Octobre	21,48	52	71	2,93	15,2
Novembre	16,41	113	73	3,58	18,5
Décembre	12,47	144	75	4,10	20,1

## 6.1. Données climatiques de la station météorologique de Skikda.

### 6.1.1. La température:

Les données récoltées dans le tableau 7, nous montrons que le mois d'Aout est le plus chaud avec une température moyenne mensuelle de 26,08°C et que le mois de Décembre est le mois le plus froid avec une température moyenne mensuelle de 12,47°C.

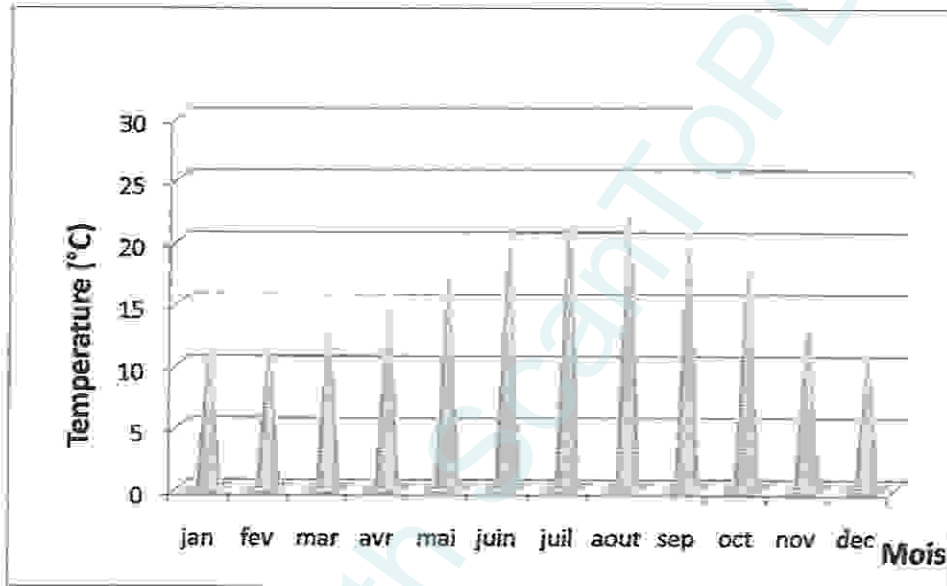


Fig. 6. Evolution des températures moyennes (°C) (1997-2008).

### 6.1.2. la précipitation :

Les précipitations enregistrées à la station de Skikda sur une période de 12 années hydrologiques font ressortir des variations saisonnières avec un minimum au mois de juillet (8mm) et un maximum au mois de décembre (144 mm); cette correspondance s'étend également à la précipitation mensuelle (tableau7). Le tableau donne la distribution de la précipitation mensuelle.

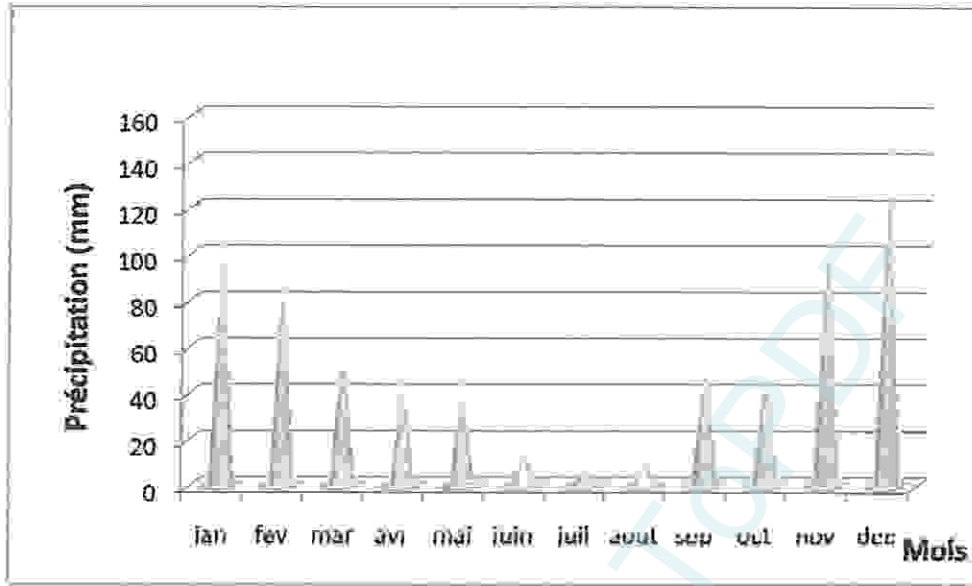


Fig. 7. Evolution des précipitations moyennes mensuelles (mm) (1997-2008).

### 6.1.3. Les vents:

La région de Skikda est très exposée aux vents. La vitesse maximale des vents qui soufflent sur cette dernière est enregistrée durant le moi de décembre avec une valeur de 20,1m/s. La valeur moyenne minimale est enregistrée en mois de juillet avec 2,83 m/s.

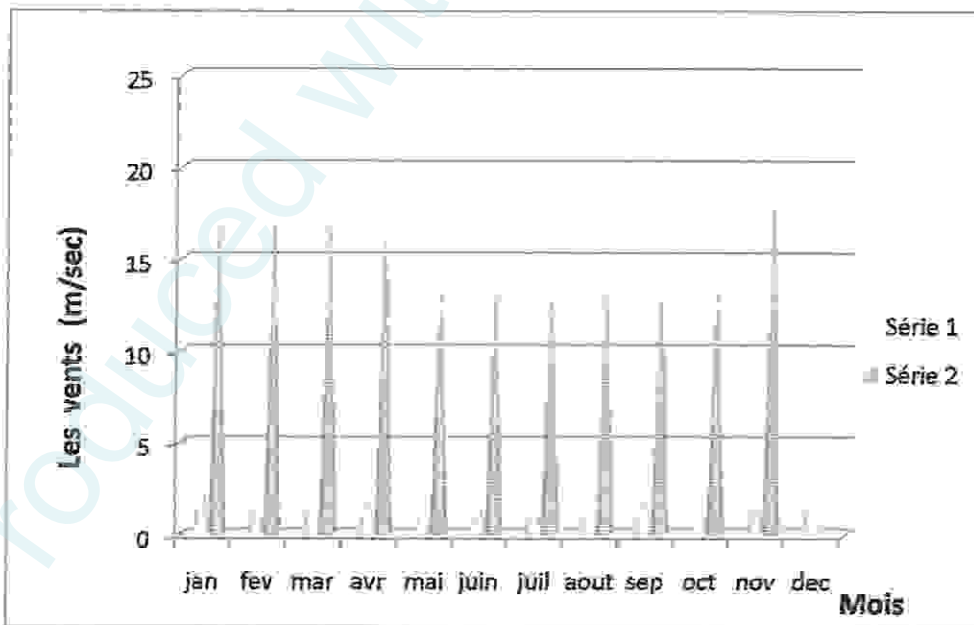


Fig. 8. Evolution des vents mensuels (m/sec) (1997-2008).

## 6.2. Synthèse climatique:

- **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен:**

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен nous permet de mettre en évidence la période sèche de notre zone d'étude. Il est tracé avec deux axes d'ordonnées où les valeurs de la pluviométrie sont portées à une échelle double de celle des températures. (Bagnouls et Gausсен, 1957). Nous observons une saison sèche qui s'étale sur cinq mois, allant de mois de mai jusqu'à le mois de septembre (Fig.9).

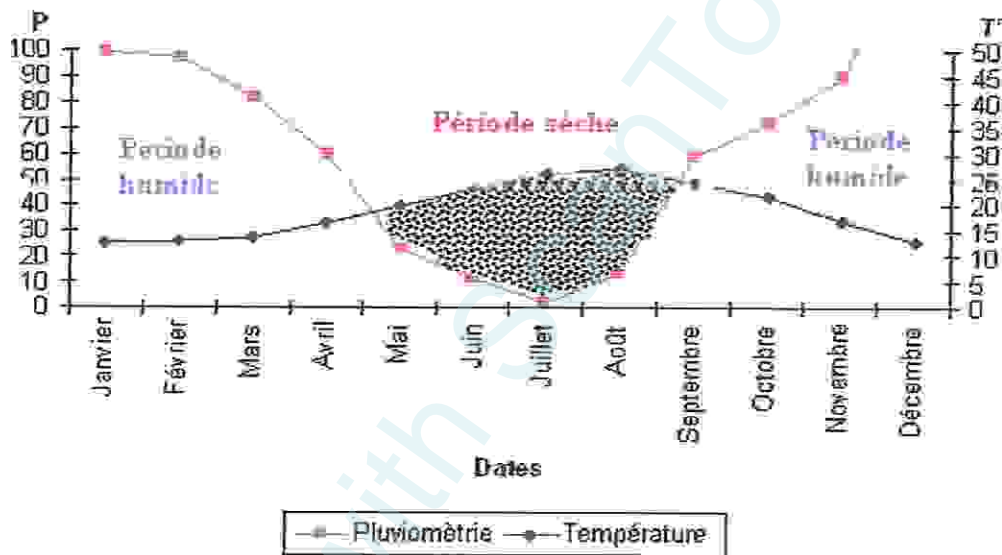


Fig. 9. Diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN. (Merzoug, 2009).

- **L'indice pluviométrique d'EMBERGER:**

La combinaison des deux principaux facteurs climatiques : la température et la précipitation permettent de localiser notre zone d'étude dans un étage bioclimatique bien définie à l'aide du coefficient  $Q_2$ .

Le coefficient pluviométrique d'Emberger  $Q_2$  est calculé par la formule suivante :

$$Q_2 = \frac{1000 \cdot P}{\left[ \frac{M + m}{2} \right] (M - m)}$$

$Q_2$  = quotient pluviométrique d'EMBERGER.

$P$  = précipitation annuelle moyenne (mm).

$M$  = Température des maxima du mois le plus chaud ( $^{\circ}K$ ).

$m$  = Température des minima du mois le plus froid ( $^{\circ}K$ ).

Le quotient pluviométrique d'EMBERGER indique que la Numidie occidentale appartient à l'étage bioclimatique de végétation subhumide à hiver chaud (Fig.10).

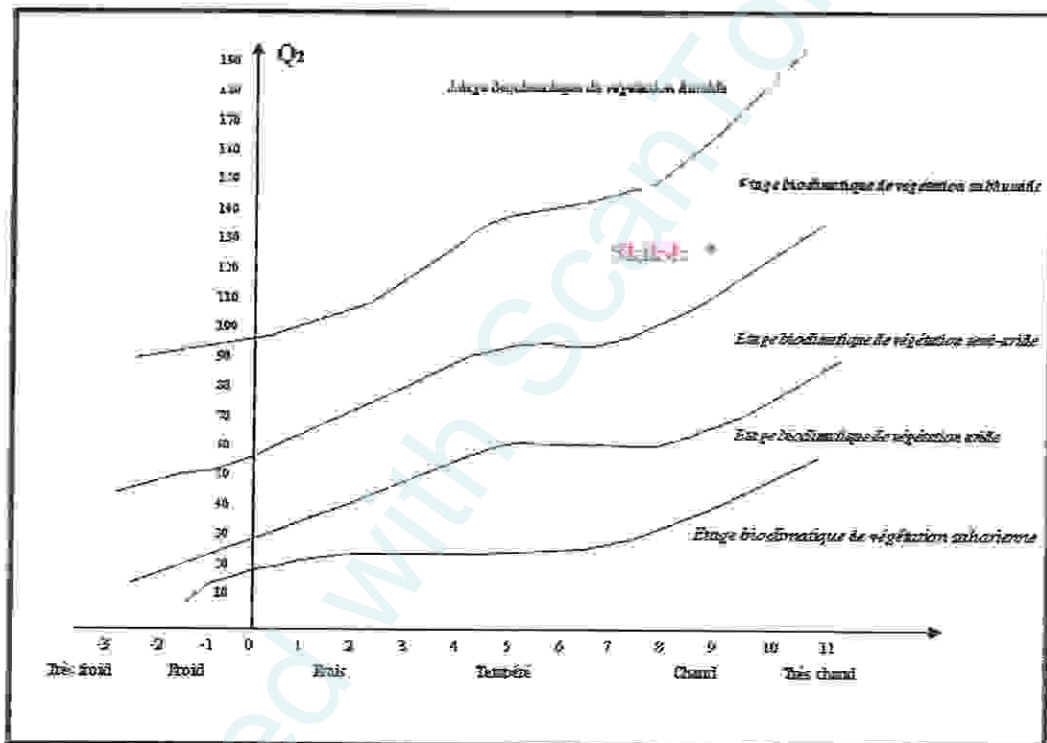


Fig. 10. Situation de la station météorologique de la wilaya

De Skikda dans le climagramme d'EMBERGER. (Merzoug, 2009).

## 7. Exploitation de site :

Le barrage de Zit-Emba est destiné à :

- L'eau du barrage est souvent utilisée pour irriguer les terres qui entourent et la plaine de Ben azzouz.
- Régularisation de l'écoulement sur plusieurs années.
- Sécurisation de la ville de Skikda.

*Chapitre III : matériels et  
méthodes*



## 1. Choix des sites :

Pour contribuer à l'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau du barrage Zit-Emba on a choisi trois points de prélèvement (Fig 11), ce travail est réalisé sur une période allant du mois de Mars 2010 au mois de Mai 2010.

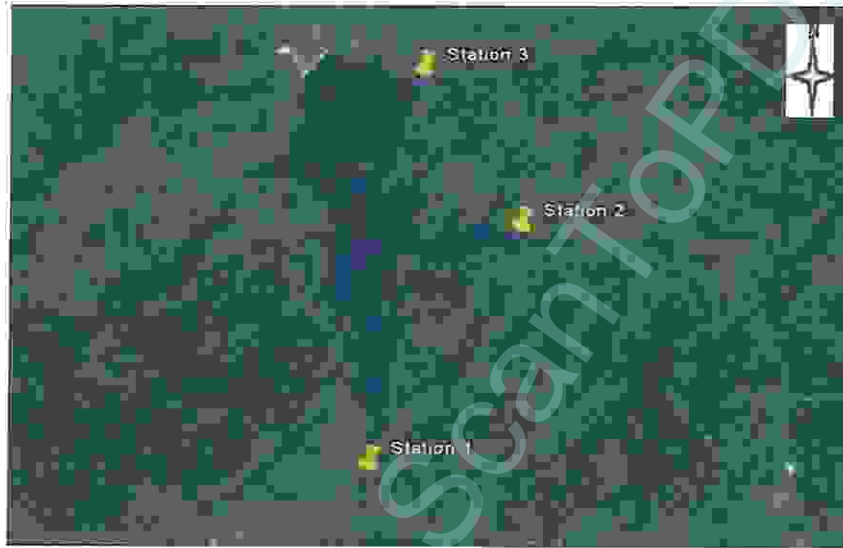


Fig. 11. Photo satellite des trois stations de prélèvements.

### 1.1. Oued el hammam (Site 01) :

En raison de la multiplicité et de la diversité des rejets déversés dans ce dernier, on a choisi le site d'Oued el hammam (Fig 12).



Fig. 12. Photo de Point de prélèvement dans l'Oued el hammam (site 01).



### 1.2. Barrage Zit-Emba (Site 02) :

Ce point de prélèvement a été choisi directement au niveau du barrage, qui est situé entre l'Oued El hammam et le troisième site (Fig 13).

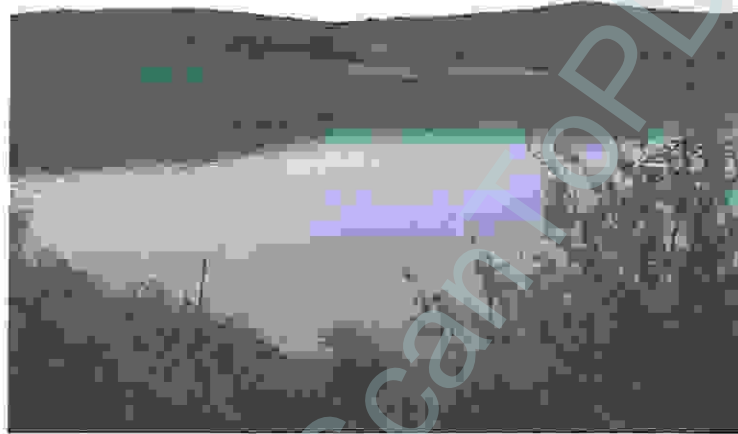


Fig. 13. Point de prélèvement dans le barrage Zit-Emba (site 02).

### 1.3. Barrage Zit-Emba (Site 03) :

On a choisi ce site car il est accessible et le plus proche à la digue, il se trouve à quelques centaines de mètres de la digue (Fig 14).

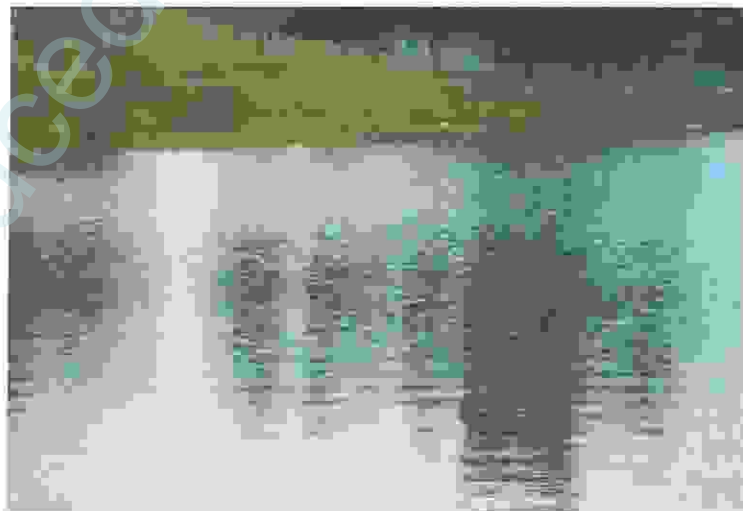


Fig. 14. Point de prélèvement dans le barrage Zit-Emba (site 03).

## 2. Caractéristiques des points de prélèvement :

Tab 8 : Caractéristiques des points de prélèvement.

Point de prélèvement	Nord	Est	Elévation ou altitude
Station 1	36°, 40' et 829''	007°, 18' et 780''	84 m
Station 2	36°, 40' et 560''	007°, 18' et 881''	86,2 m
Station 3	36°, 38' et 695''	007°, 19' et 747''	80 m

## 3. Matériel d'échantillonnage :

Pour l'analyse physico-chimique, L'usage de flacons jetable en verre ou en matière plastique s'est généralement répandu, en raison de facilité qu'il présente pour le transport et de la possibilité de leur usage unique. (Rodier, 2005).

Pour l'analyse microbiologique, L'usage de flacon stérile en verre ou polypropylène à large ouverture, de capacité d'environ 250 ml, en laissant un espace d'air d'au moins 2,5 cm. [1].

Les flacons en verre sont stérilisés par la chaleur, soit à l'autoclave à 120° pendant 1 heure, soit au four pasteur à 180°C pendant 1h30. (Rodier, 2005).

## 4. Mode de prélèvement de l'eau :

Les échantillons ont été prélevés avec toutes les conditions d'asepsies prescrites dans la littérature.

### 4.1. Pour l'analyse physico-chimique:

Le mode de prélèvement varie suivant l'origine d'eau. Dans lit d'une rivière, d'une nappe ouverte, la bouteille est plongée à une certaine distance du fond (50 cm) de la surface, assez loin des rives ou des bords ainsi que des obstacles naturels ou artificiels. (Rodier, 2005).

#### **4.2. Pour l'analyse microbiologique :**

Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour un haut stagnant comme c'est le cas, le flacon débouché dans l'eau est émergé complètement en position verticale inversée en le tenant par le fond et dirigée dans le sens contraire du courant. Après le prélèvement, les flacons ont été soigneusement rebouchés. De toutes façons, on a évité de heurter les rives, le fond, la proximité de la surface (au moins 30 cm). (Guiraud, 1998).

#### **5. Enregistrement et étiquetage des échantillons:**

Il est essentiel que les échantillons soient clairement étiquetés immédiatement après les prélèvements et que les étiquettes soient lisibles. Dans ces derniers, on a noté avec précision; la date, l'heure, les conditions météorologiques, un numéro et toutes circonstances anormales. (Lightfoot, 2002).

#### **6. Conditionnement et transport des échantillons :**

##### **6.1. Pour l'analyse bactériologique :**

La teneur en germes des eaux risque de subir des modifications dans les flacons, après le prélèvement. C'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est à 10° C. les prélèvements sont transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. (Rodier, 2005).

##### **6.2. Pour l'analyse physico-chimique :**

La température du transport ne doit pas dépasser celle de l'eau au moment de son prélèvement. Le conditionnement doit se faire à l'abri de la lumière.

Un délai d'acheminement n'excédant pas 6 heures doit être respecté s'il n'y a pas de contrôle de la température en présence d'un réfrigérant. En milieu réfrigéré permanent, ce délai peut être apporté à 18 heures, (Camille, 2008) .en cas d'impossibilité, ajouter une goutte de chloroforme à l'échantillon.

## Partie 01 : Analyse physico-chimique :

### 1. Mesure *in situ* :

Certains paramètres physicochimiques ont été mesurés directement sur site au niveau de la veine principale du cours d'eau pour chaque point de prélèvement.

Ces paramètres sont :

- La température de l'eau (°C).
- L'oxygène dissous (en mg/l)
- Le taux de saturation de l'eau en oxygène exprimé en pourcentage.
- La conductivité ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

#### 1.1. La température :

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique et dans la détermination de pH. (Rodier, 2005)

La détermination de la température est faite à l'aide d'un thermomètre incorporé à la conductimètre étalonné préalablement, on a Plongé la sonde dans l'échantillon pendant cinq (5) minutes et on a liée directement la température exprimée **fern higt (F)**.

#### 1.2. La conductivité électrique :

La conductivité est la propriété que possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend à la nature de ces ions dissous et de leurs concentrations. La température et la viscosité influent également sur la conductivité car la mobilité des ions augmente avec l'augmentation de la température et diminue avec celle de la viscosité. (Rejsek, 2002).

Le tableau 09 établit une relation entre le degré de la minéralisation et la conductivité selon la réglementation française.

**Tab 9** : Rapport entre la conductivité et la minéralisation. (Rejsek, 2002).

Conductivité	Minéralisation
0-100 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation très faible
100-200 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation faible
200-333 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation moyenne accentuée
333-666 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation accentuée
666-1000 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation importante
>1000 $\mu\text{s/cm}$	Minéralisation élevée

Pour cette mesure on a utilisé un conductimètre électrique du type Eco Scan 6 et L'unité principale s'exprime en Siemens par mètre.

### 1.3. Oxygène dissous :

L'oxygène est un constituant de nombreux composant organiques et minéraux, il forme des composés appelé oxydes avec presque tous les éléments; la qualité d'oxygène en solution dans une eau régit les réactions d'oxydoréductions. (Rejsek, 2002).

La méthode consiste à plonger la sonde dans l'eau à analyser (s'assurer que l'écoulement est de façon continue sur la membrane de la sonde).

La concentration de l'oxygène dissous est exprimée en mg/l. Après stabilisation de l'affichage sur le cadran de l'oxymètre du type YSI 550A on notant la lecture.

On a également exprimé la concentration de l'oxygène dissous en taux de saturation (%) en utilisant le même appareil (mesure automatique).

## 2. Mesure au laboratoire :

### 2.1. Le pH :

Le pH sert à quantifier la concentration en ions  $\text{H}^+$  de l'eau qui lui confère son caractère acide ou basique, (Rejsek, 2002), il est un paramètre qui doit se mesurer le plus rapidement possible après le prélèvement (2h max).

Ce paramètre caractérise un grand nombre d'équilibre physico-chimique et dépend de facteurs multiples, dont l'origine de l'eau. (Tab10).

Tab 10 : Classification des eaux d'après leur pH (Agrigon, 2000).

$\text{pH} < 5$	Acidité forte: présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles
$\text{pH} = 7$	pH neutre
$7 < \text{pH} < 8$	Neutralité approchée: majorité des eaux de surface
$5,5 < \text{pH} < 8$	Majorité des eaux souterraines
$\text{pH} > 8$	Alcalinité forte, évaporation intense

- **Mode opératoire :**

Un pH mètre du type MP 201 muni d'une électrode préalablement étalonné avec des solutions tampon  $\text{pH} = 4$  puis  $\text{pH} = 7$ . La méthode a consistée à plonger l'électrode dans l'échantillon contenu dans un bêcher dans lequel le barreau d'un agitateur magnétique homogénéise l'échantillon. Après stabilisation de l'affichage sur le cadran du pH mètre, noter le pH.

## 2.2. Turbidité :

La turbidité représente l'opacité d'un milieu trouble. C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence d'une matière non dissoutes. Elle est causée dans les eaux, par la présence de matière en suspension fine, comme les argiles, les limons, les graines de silices et les micro-organismes. (Rejsek, 2002).

L'appareillage utilisé est un turbidimètre du type H.A.C.H 2100. Cependant, la mesure de la turbidité permet de préciser les informations visuelles sur l'eau. (tab11).

Tab 11: Classes de turbidité usuelles (NTU, nephelometric turbidity unit). (Agrigon, 2000).

$\text{NTU} < 5$	Eau claire
$5 < \text{NTU} < 30$	Eau légèrement trouble
$\text{NTU} > 50$	Eau trouble

### 2.3. Nitrate :

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

- **Mode opératoire :**

- prendre 10 ml de l'échantillon à analyser.  
Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30 %.
- Ajouter 1 ml de Salicylate de sodium.
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve 75 - 88° C (ne pas surcharger ni surchauffer très longtemps) laisser refroidir.
- reprendre le résidu avec 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> laissé reposer 10 min.
- ajouter 15 ml d'eau distillée.
- ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium puis passer au spectrophotomètre au 415 nm.
- le résultat est donné directement en mg/l. (Rodier, 2005).

### 2.4. Nitrites :

Les ions nitrites réagissent en milieu acide (PH=1,9) avec la sulfamilade en formant sel de diazonium (diazotation) qui forme avec le N-(1-naphyl)-éthylènediamine-dichlorohydraté un colorant azoïque rouge.

- **Mode opératoire :**

- Prendre 25 ml d'eau à analyser.
- ajouter 0,5 ml du réactif I: solution de sulfanilamide.
- Laisser reposer 2 à 8 min.
- ajouter 0,5 ml du réactif II: solution de N-naphtyl-ethylenediamine.
- attendre 10 min.
- l'apparition de la coloration rose indique la présence des No<sub>2</sub>.
- Mesurer l'absorbance en cuve de 10 cm de trajet optique à la longueur d'onde de 543nm .le résultat est donné directement en mg/l. (Aminot & Chausspied, 1983)

## 2.5. L'ammonium :

Mesurage spectrométrique du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et Hypochlorite en présence de nitropentacyanoferrate (III) de sodium.

### • Mode opératoire :

- Prendre 40 ml d'eau à analyser.
- Ajouter 4 ml du réactif I (Dichloroisocyanurate de sodium).
- Ajouter 4 ml du réactif II (réactif coloré) et ajuster à 50 ml avec H<sub>2</sub>O distillé et attendre 1h.30min.
- L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>
- Effectuer la lecture à 655 nm, le résultat est donné directement en mg/l. (Aminot & Chaussied, 1983).

## 2.6. Détermination des matières en suspension : (M.E.S)

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

### • Mode opératoire :

- Mettre les membranes filtrantes dans une étuve à 105°C pendant 20 min.
- Laisser refroidir dans le dessiccateur.
- Ensuite les peser soit p<sub>1</sub> : poids de membrane avant filtration.
- Passer les membranes dans la rampe à filtration et faire passer 25 ml d'eau à analyser à travers.
- Rendre les membranes à l'étuve (à 105°C) afin de les sécher pendant 20 min.
- Les laisser refroidir au dessiccateur puis les peser une deuxième fois soit p<sub>2</sub> : poids des membranes après filtration.
- Les résultats sont exprimés en : M.E.S (mg /L)= (p<sub>2</sub>-p<sub>1</sub>) x40. (Moussa Moumouni Djermakoye, 2005).



## 2.7. Matière organique (M.O) :

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

### • Mode opératoire :

Introduire dans un erlenmeyer de 500ml d'eau à analyser et 10 ml d'acide sulfurique à 50%, ajouter 10 ml de solution de permanganate de potassium N/80 , porter l'échantillon à l'ébullition ménagée pendant 10 minutes à partir du moment où les bulles en formation au fond du ballon viennent avec la surface du liquide, ajouter ensuite 10 ml d'acide oxalique N/80 pour décolorer, prévenir immédiatement à la teinte rose faible mais persistante à l'aide d'une burette graduée, la solution de permanganate de potassium N/80 faire un essai à blanc en opérant les mêmes conditions. (Aminot & Chaussied, 1983).

## 2.8. Résidu sec :

Le résidu sec correspond au poids de la totalité des matières dissoutes par litre d'eau. Une certaine quantité d'eau bien mélangée est évaporée dans une capsule tarée de résidu desséché et ensuite pesé.

### • Mode opératoire :

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher.
- Prélever 200ml d'eau à analyser.
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.
- Laisser refroidir pendant ¼ heures au dessiccateur.
- Peser immédiatement et rapidement. (Aminot & Chaussied, 1983).

## Partie 02 : Analyse microbiologique :

L'analyse microbiologique a pour but de déterminer la présence ou non des bactéries susceptibles de modifier l'aptitude d'une eau à une utilisation donnée, ceci pour éviter la propagation de maladies dangereuses, la méthode d'analyse doit donc être praticable en grandes séries, et avoir le plus bas prix de revient.

Dans la plupart des examens usuels, l'analyse bactériologique n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative, ces déterminations qualitatives et quantitatives sont établies à partir :

- Soit d'un dénombrement direct des colonies après concentration par filtration ou inoculation d'un volume donné de l'échantillon en milieu solide.
- Soit d'une évaluation par calcul statistique du nombre le plus probable (NPP).

Le choix de méthode dépendra de la nature de l'échantillon mais aussi de la sensibilité et de la précision souhaitées. (Rodier, 2005).

### 1. Recherche et dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 et à 37°C dans les eaux :

Le dénombrement des germes revivifiables nommés également mésophiles aérobies en fonction de leurs conditions de développement, est utilisé comme indicateur de pollution. (Rejsek, 2002).

Ils sont recherchés dans l'eau à 22°C et à 37°C, car ils peuvent exprimer un risque de contamination microbienne. (Camille, 2008).

#### 1.1. Définition :

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 48h à 37°C et 72h à 22°C). Bien que la présence en grande quantité de bactéries revivifiables ou la microflore totale aérobie mésophile n'est, *a priori*, aucune valeur indicative, leur dénombrement dans les conditions doit être régulièrement effectué car une évolution importante, peut être représentative d'un apport contaminant (matières organiques par exemple). (Kéléké & al., 2004).

### 1.2. Mode Opératoire :

A partir de l'eau à analyser (Solution mère = 1) et/ou des dilutions décimales  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ , porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique le schéma ci-après. (Fig15).

Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose GN fondue puis refroidie à  $45 \pm 2^\circ\text{C}$ . Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.

Laisser solidifier les boîtes sur la pailleasse.

Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

- La première série sera incubée à  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant  $68 \pm 4$  heures,
- La seconde série sera incubée à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ , pendant  $44 \pm 4^\circ\text{C}$  heures. (Labres & al., 2008).

### 1.3. Lecture et interprétation :

Les colonies de microorganismes revivifiables apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer ensuite la valeur du nombre  $\underline{N}$ , de microorganismes revivifiables à  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  à part et celle du nombre  $\underline{N}$  de microorganismes revivifiables à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

$\Sigma c$  : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

$d$  : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

Le résultat final de microorganismes est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où  $x$  est la puissance appropriée de 10. (Labres et al., 2008).

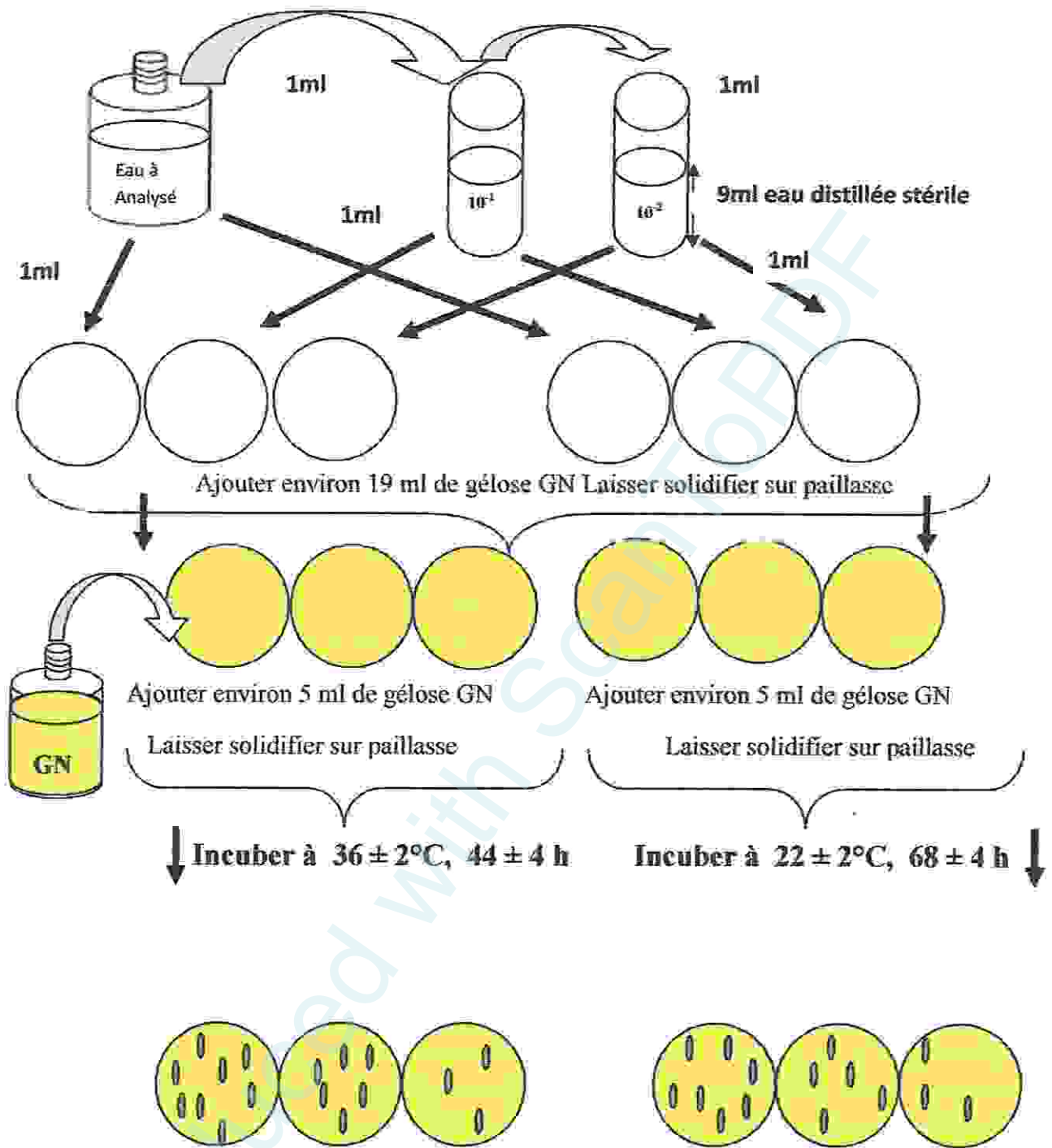


Fig. 15. Dénombrement des germes révivifiabiles (Bouchaala L., 2010).

## 2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux avec identification d'*Escherichia coli* en milieu liquide:

Sous le terme de coliformes, sont regroupées certaines espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. (Rejssek, 2002).

La recherche et le dénombrement des coliformes et l'identification d'*E coli* ont été effectués par la méthode de nombre le plus probable (NPP). (Labres & al., 2008).

### 2.1. Définition :

Les coliformes sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatif, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C.

Les coliformes thermo-tolérants ou coliformes fécaux ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à  $42 \pm 2^\circ\text{C}$ . (Labres & al., 2008). Le groupe des coliformes fécaux comprend les espèces suivantes : *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* (sous genre III arizona), *Yersinia enterocolitica*. (Rodier, 2005)

Les *Escherichia coli* sont des coliformes thermo-tolérants ayant la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à une température comprise entre  $42 \pm 2^\circ\text{C}$ . (Labres & al., 2008).

### 2.2. Mode Opérateur :

Le principe consiste à ensemencer de nombreuses prises d'essai d'un même échantillon et/ou de dilutions de celui-ci dans des tubes de milieu de culture liquide.

Les prises d'essai de l'échantillon ou des dilutions, sont donc incorporées dans des séries de tubes (3 série), 3 à 5 tubes par série, de milieu non véritablement sélectif : c'est le test de présomption.

On ensemence une deuxième série de tubes de milieu plus sélectif en repiquant les tubes ayant donné un résultat positif dans les premières séries : c'est le **test de confirmation** (Tandia, 2007).

#### Le test de présomption :

- Prendre 5 tubes de Bouillon Lactosé au Bromocrésol Pourpre (BCPL), simple concentration, munis d'une cloche de Durham.
- Homogénéiser soigneusement, prélever 1 ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur et la porter dans le premier tube de la série de dilution ( $10^{-1}$ ). La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette Pasteur, homogénéiser par aspiration et soufflage le contenu de ce tube ( $10^{-1}$ ), prélever 1 ml et ensemencer le tube ( $10^{-2}$ ), et ainsi de suite jusqu'au tube ( $10^{-5}$ ) (Fig16). (Bourgeois & Leveau, 1980).
- Incuber les tubes à  $37^{\circ}\text{C}$  et les examiner après 24 à 48 heures.

**Remarque :** Après l'ensemencement des tubes, il faut vérifier qu'il n'y a pas de bulles d'air sous la cloche, pour éviter de fausser les résultats.

#### Lecture :

- Observer d'abord le changement de couleur ou non dans les tubes.
- Observer ensuite le trouble dans le milieu, dû à la croissance des bactéries présentes.
- Observer enfin la production de gaz traduite par le soulèvement de la cloche de Durham introduit dans le milieu (au moins 1/10 de la cloche devra être vide) (Tandia, 2007). (Fig16).
- Calcul du NNP :
  - Les tables statistiques permettent de déterminer le nombre le plus probable (NPP) dans un intervalle de confiance de 95%.
  - Dans le cas où plus de trois dilutions ont été ensemencées, on retiendra un nombre caractéristique (NC), à 3 chiffres, finissant si possible par un 0. (Rodier, 2005).
  - La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP. (Annexe)

**Le test de confirmation :**

- Chacun des milieux positifs de la première étape repique avec une pipette pasteur dans un tube d'eau peptonée.
- Incubation à 44°C (Rodier, 2005).

**Lecture :**

- L'addition de 1ml de réactif de kovacs donne naissance à un anneau rouge. (Rodier, 2005).
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP. (Annexe).

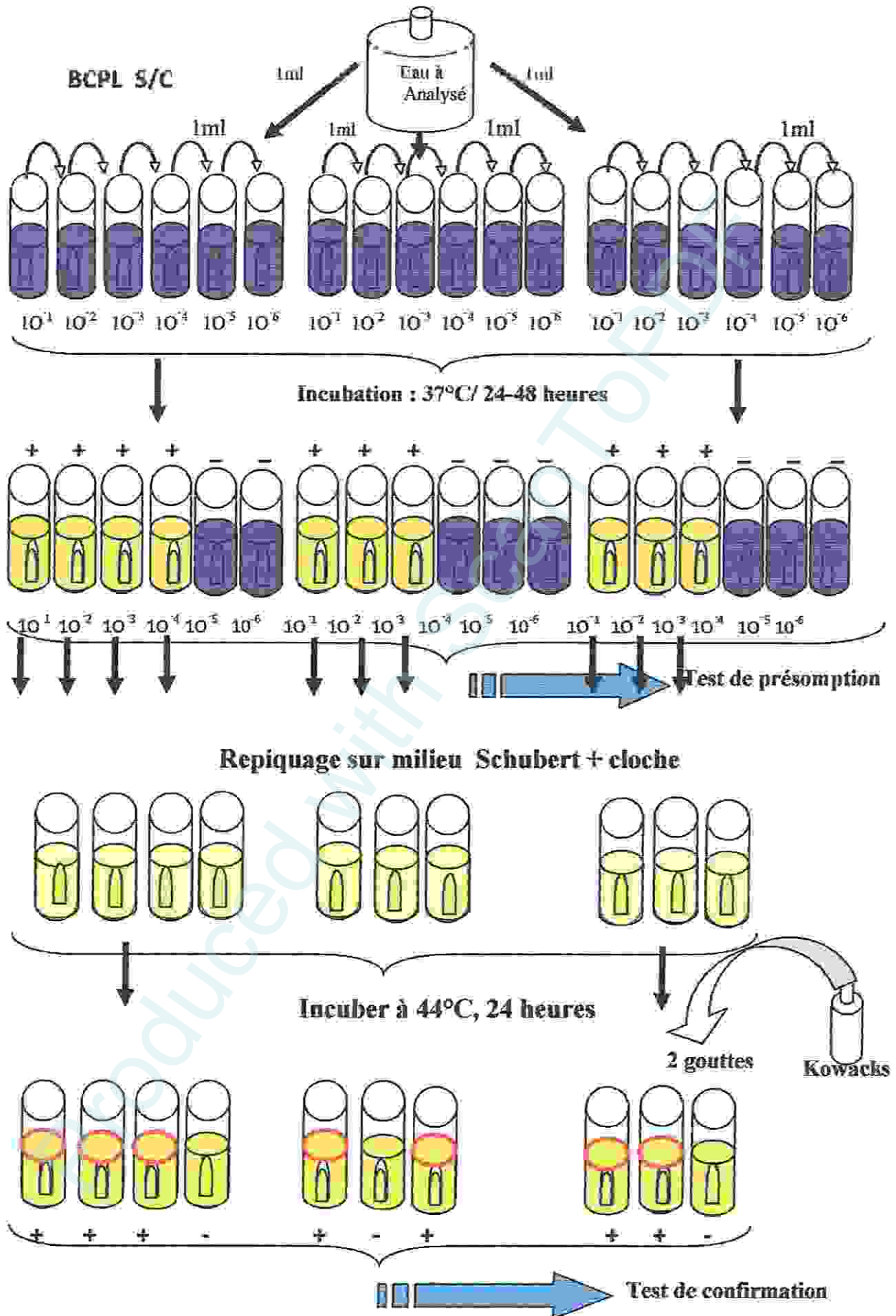


Fig. 16. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux



### 3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les dénombrements des streptocoques fécaux présumés sont rarement effectués indépendamment des dénombrements de coliformes et coliformes fécaux présumés, les méthodes sont analogues pour ces deux types d'indicateurs et seuls les milieux différents. (Rodier, 2005).

#### 3.1. Définition :

Les streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe «D» sont des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium. (Labres & al., 2008).

#### 3.2. Mode Opératoire :

##### Le test de présomption :

- Ensemencer de 3 à 5 tubes de milieu de Rothe (constituant les tubes primaires) milieu à simple concentration (pour les ensemencements de 1 ml d'eau).
- Homogénéiser soigneusement, par agitation, le contenu des tubes ; s'assurer, une fois celle-ci terminée, que la teinte du bouillon est uniforme en haut et en bas du tube, de façon à ce que la concentration en inhibiteur soit identique en tous points.
- Incuber les tubes à 37°C et les examiner après 24 à 48 heures. (Fig17). (Rodier , 2005).

##### **Lecture :**

- Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif. (Rodier et, 2005).
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP. (Annexe).

**Le test de confirmation:**

- Après agitation des tubes positifs, prélever sur chacun d'eux successivement quelques gouttes de pipette pasteur, et les reporter dans des tubes du milieu Eva – litsky.
- Incuber à 37°C pendant 24-48 heures.

**Lecture :**

- L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence d'un streptocoque fécal. Parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble.
- Eventuellement contrôler le diagnostic bactériologique par un simple examen microscopique (direct ou après coloration de gram) qui doit faire apparaître la présence de cocci à gram positif. (Rodier, 2005).
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP. (Annexe).

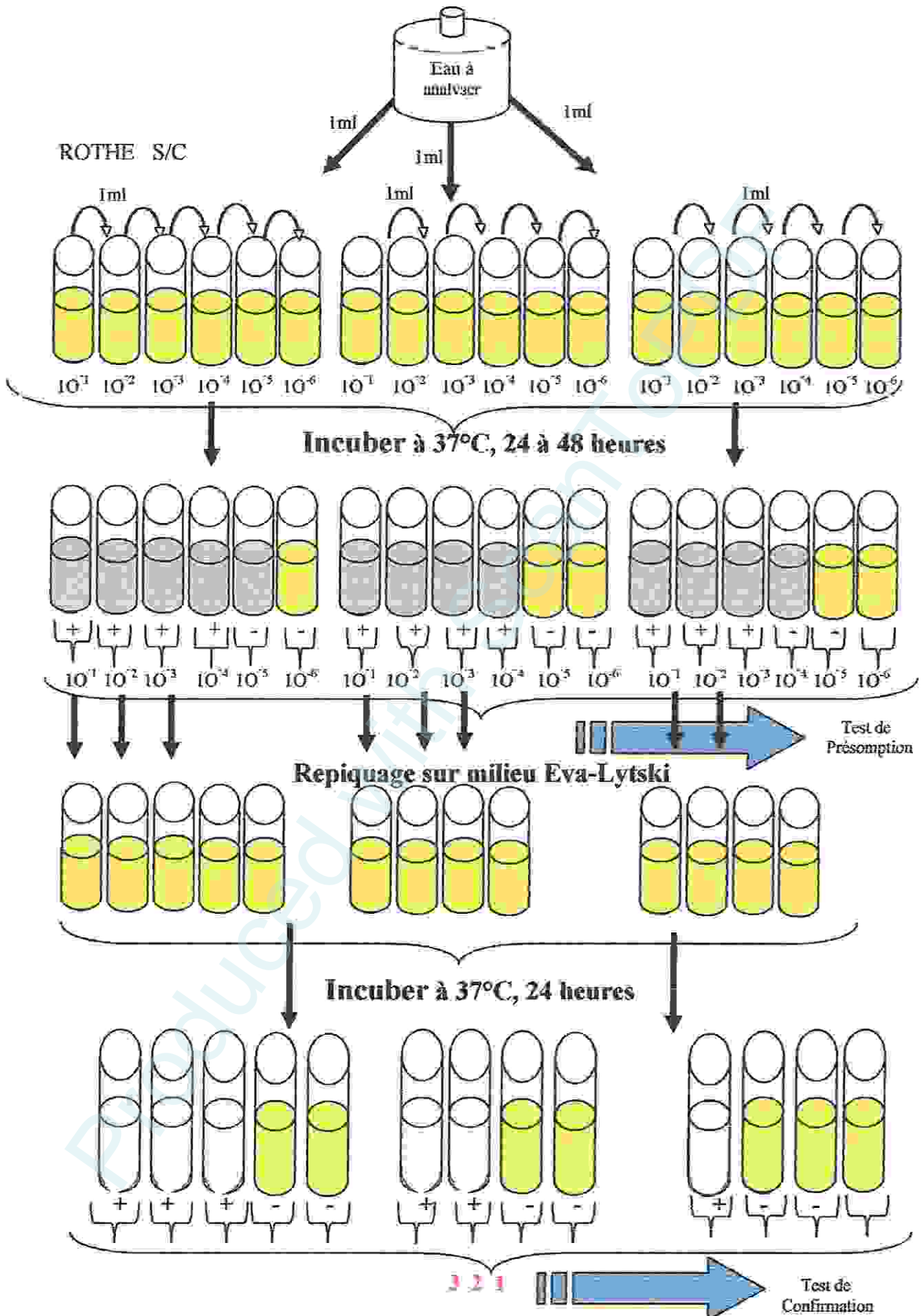


Fig. 17. Dénombrement des streptocoques fécaux

#### 4. Recherche microbiologique :

##### 4.1. Recherche bactériologique :

Pour chercher et identifier les bactéries de la solution mère (l'échantillon) nous avons utilisés la technique d'isolement par strie sur géloses coulées dans des boîtes de Pétri.

L'inoculum est prélevé directement à partir de l'eau à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24 - 48 heures. (Fig 18). (Bouchaala, 2010).

Les géloses employées sont : Gélose Chapman, Gélose Mac Conkey, Gélose Hektoen, et Gélose SS (*Salmonella-Shigella*).

- Milieu de Chapman : est sélectif pour les bactéries Gram (+) halophiles autrement dit les staphylocoques ou les microcoques.
- Les autres milieux, Gélose Mac Conkey, Gélose Hektoen, Gélose SS (*Salmonella-Shigella*) sont utilisés pour l'isolement des bactéries Gram - (les Entérobactéries).

##### • Coloration de Gram :

La coloration de Gram permet une observation grossière des cellules. Elle est irremplaçable pour différencier les bactéries Gram positif et Gram négatif, elle se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consiste à :

1. Fixer le frottis.
2. Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet. Laisser agir 1 minute.
3. Rejeter le colorant. Laver à l'eau.
4. Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1 minute.
5. Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.
6. Décolorer à l'alcool 95°. La durée de décoloration doit être adaptée à l'épaisseur du frottis.
7. Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir quelques secondes.
8. Rejeter la Fuchsine. Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres. (Dégrément, 1998).

Les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose.

#### 4.2. Recherche des levures et moisissures :

Par la méthode d'ensemencement sur gélose, nous avons utilisés la technique d'isolement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de pétri contenant de la gélose Sabouraud, (Fig18). (Bouchaala, 2010).

##### • Coloration de bleu de méthylène :

- Déposer une goutte d'eau sur une lame de verre.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.
- Dissocier soigneusement l'inoculum dans la goutte d'eau et laisser sécher.
- La lame est recouverte de bleu de méthylène pendant 10 minutes, puis lavée doucement à l'eau.
- Observation microscopique à immersion.

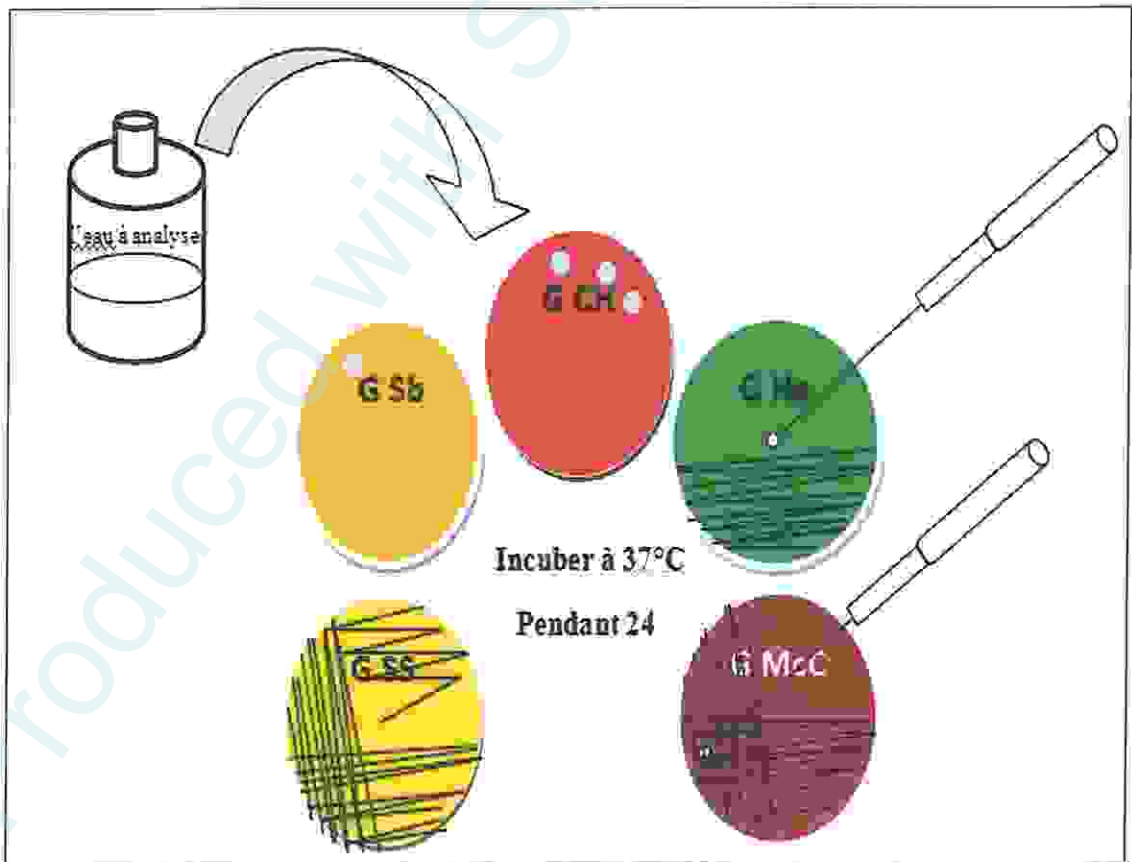


Fig. 18. Recherche microbologique

## 5. Tests complémentaires :

### 5.1. Identification des Enterobacteriaceae :

Les *Enterobacteriaceae* sont des bacilles à Gram négatif, aérobies anaérobies facultatifs, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche, se développant aisément sur milieu ordinaire ; fermentant le glucose ; ne possédant pas d'oxydase ; possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae* ; réduisant les nitrates en nitrites.

L'identification de ces bactéries bénéficie depuis de nombreuses années déjà de l'existence de plusieurs méthodes :

- galerie classique avec un nombre limité de caractères ;
- galeries API qui sont très performantes. (Richard & Keredjian, 1995).

#### 5.1.1. Galerie biochimique classiques :

La galerie est composée de trois milieux solides et quatre liquides.

##### A. Les milieux solides :

#### 1. Utilisation de citrate :

Pour ce test, nous utilisons le milieu citrate de Simmons, celui-ci contient qu'une seule source de carbone : le citrate.

Seules les bactéries possédant une perméase sont capables de se développer sur ce milieu. Il contient également du phosphore mono-ammoniac servant à la fois source d'azote et de phosphore. (Carbonnelle, 1988).

#### Technique:

- La pente du milieu estensemencée à partir d'une suspension bactérienne, ou une colonie bien isolée.
- Incuber à 37°C pendant 24h.
  - Bactérie citrate positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
  - Bactérie citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée). (Sayad, 2008).

## 2. Estimation de la mobilité :

Cette étude est faite sur un milieu mannitol-mobilité qui permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.

### Technique:

- Nous ensemençons par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur, chargé de culture en milieu solide.
- Incuber à 24h à 37°C.

La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu :

- Si le germe est mobile, elle se développe le long de la piqûre la masse microbienne envahit tout le tube.
- s'il est immobile, il se développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette. (Sayad, 2008; Carbone, 1988).

## 3. Utilisation des hydrates de carbone (TSI) :

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

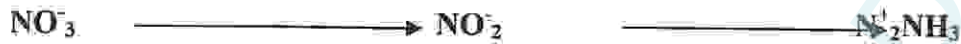
- la fermentation de saccharose, de glucose (avec ou sans production de gaz) et plus précisément du lactose.
- La production d'Hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ) à partir de la cystéine.

### Technique :

- L'ensemencement de milieu s'effectue par stries à la surface tout le long de la pente, puis par pique centrale au niveau de culot.
- Incuber à 37°C pendant 24h. [3].

**B. Les milieux liquides :****1. Recherche de la nitrate- réductase :**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ).

**Technique:**

- Cultiver la bactérie dans un bouillon nitraté (1 p. mille de nitrate de potassium).
- Incuber à 37 °C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante.
- Ajouter une ou deux gouttes d'acide parasulfanilique en milieu acétique (réactif NIT 1) puis une à deux gouttes d'alpha-naphtylamine en milieu acétique (réactif NIT 2).
- Apparition en quelques secondes d'une coloration rose ou rouge : réaction positive, la bactérie réduit les nitrates en nitrites. [2].

**2. Production d'indole :**

L'indole provient de la dégradation du tryptophane sous l'action de la tryptophanase. Certaines bactéries sont capables d'amputer le tryptophane de sa chaîne latérale.

**Technique :**

Ensemencer un tube d'eau peptonée avec la bactérie à étudier. Après 24 heures de culture à 37°C. Ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs ; l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu est le fait d'une réaction positive. Si l'anneau reste jaune-brun, la réaction est négative. [3].

**3. Hydrolyse de l'urée (uréase) :**

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu.



**Technique :**

Ensemencer un milieu synthétique contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge de phénol (milieu urée indole).

Recouvrir la surface du milieu d'huile de paraffine pour éviter la libération d'ammoniac. Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.

- Urécase positive : le milieu présente une coloration rouge violacée ou orange foncée.
- Urécase négative : le milieu a une teinte jaune. [2]

**4. Recherche des VP – RM :**

L'hydrolyse de glucose peut aboutir à un grand nombre de métabolites, et selon la nature du métabolite final, on distingue plusieurs types fermentaires.

Ces produits sont recherchés en pratique courante à partir du milieu Clark et Lubs, par deux propriétés fermentaires qui vont être testées : La réaction de Voges-Proskauer (VP) et la réaction du rouge de méthyle.

La réaction de Voges-Proskauer (VP) permet l'étude des dérivés de l'acide pyruvique et la réaction du rouge de méthyle vise à mettre en évidence la présence d'acides organiques.

**Technique :**

- Ensemencer un milieu de Clark et Lubs (peptone, phosphate bipotassique, glucose, pH 7,5).
- Incuber 48 heures à 37 °C.
- Prélever 1 ml de milieu et ajouter 0,5 ml d'Alpha-naphtol (VPI) et 0,5 ml Hydroxyde de potassium (VPII). L'apparition d'une coloration violette signe la réaction positive. Cette réaction nécessite au moins 10 minute pour se manifester.
- Prélever ainsi 1 à 2 ml de culture en milieu Clark et Lubs dans un autre tube stérile et ajouter le réactif de RM. Une coloration rouge indique que la réaction de rouge de méthyle est positive. [2].

### 5.1.2. La Galerie APi 20E :

La galerie APi 20 E est système pour l'identification des Enterobactereaceae et d'autre bacilles Gram (-), utilisant 20 tests biochimiques standardises et miniaturises, et 8 tests conventionnels et 12 d'assimilation.

#### 1. Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles de la boîte pour créer une atmosphère humide, puis déposé stérilement la galerie dans la boîte d'incubation (Fig 19). (Aouissi *et al.*, 2007).



Fig.19. Photo de la Galerie APi20E.

#### 2. Inoculum de la galerie :

- A partir d'une culture de 18 à 24 heures, faire une suspension bactérienne dans un tube distillée stérile, bien mélanger la suspension bactérienne.
- Déposer soigneusement 150 µl de la suspension bactérienne dans chaque capsule de la galerie.
- Ajouter de nouveau 150 µl de la suspension aux capsules CIT, VP et GEL (total=300 µl).
- Après l'inoculation, remplir les capsules ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE d'huile minérale.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures. (Lacroix, 2005).

#### 3. Lecture des galeries :

Sortir la boîte de l'étuve et noter les résultats obtenus pour les tests à lecture spontanée. (Tab 10).

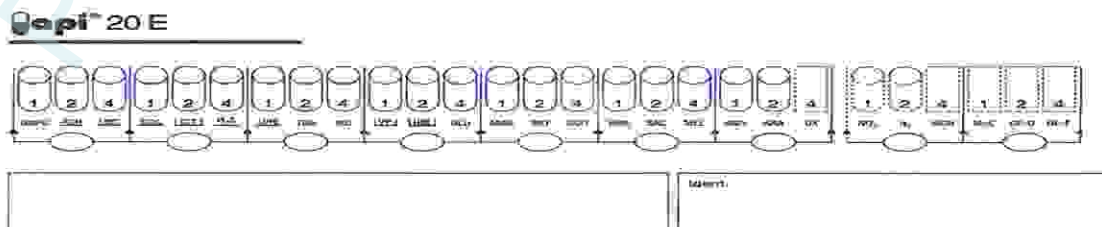


Fig. 20. Fiche de résultat de l'APi 20E. (Lacroix, 2005).

Tab 12 : Lecture d'une galerie API 20 E. [2]

Tests	Réactions	Composants	Ajout de réactifs	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	Bêta-galactosidase	2-nitrophényl-bêta-Dgalactopyranoside	Non	Incolore	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	L-arginine	Non	Jaune	Orange ou rouge
LDC	Lysine décarboxylase	L-lysine	Non	Jaune	Orange ou rouge
ODC	Ornithine décarboxylase	L-ornithine	Non	Jaune	Orange ou rouge
CIT	Assimilation du citrate	Citrate trisodique	Non	Vert pâle ou jaune	Bleu-vert ou bleu
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de sodium	Non	Incolore ou grisâtre	Dépôt noir
URE	Uréase	Urée	Non	Jaune	Orange ou rouge violacé
TDA	Tryptophane désaminase	L-tryptophane	TDA	Jaune	marron ou brun foncé
IND	Production d'indole	L-tryptophane	Kowacks	Incolore ou jaune	Rose ou rouge
VP	Production d'acétone	Pyruvate de sodium	VP1.VP2	Incolore	Rose ou rouge
GEL	Gélatinase	Gélatine de boeuf	Non	Non diffusion du charbon	Diffusion du charbon
GLU	Glucose	D-glucose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	D-mannitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune

### 5.1.3. Test d'oxydase :

Les micro-organismes produisent l'enzyme oxydase en présence d'oxygène atmosphérique, de cytochrome C et d'une réactive oxydase phénylènediamine. Il oxyde ce réactif pour former un composé violet, l'indophénol. (Camille, 2008). La réaction est schématiquement la suivante : cyt c oxydé + réactif réduit ---> réactif coloré. [2]

- **Utilité du test :**

Le test de l'oxydase est surtout utile dans la différenciation des bacilles à Gram négatif de la famille des Pseudomonadaceae oxydase<sup>+</sup> et de la famille des Enterobacteriaceae oxydase<sup>-</sup>.

- **Technique rapide :**

Déposer sur une lame porte-objet propre un disque commercialisé et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.

Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une coloration violer foncé, puis noire, apparaît immédiatement ou en quelques secondes : test oxydase. (Camille, 2008).

## 5.2. Identification des *Staphylococcus* :

Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif, aérobies facultatifs, immobiles, en générale groupés en amas plans irréguliers, mais on les rencontre également sous forme de diplocoques, en tétrades, ou en courtes chaînettes, elles possèdent l'enzyme catalase (catalase positifs).

### 5.2.1. Test catalase :

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes est anaérobies facultatives. (Camille, 2008)

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène. [2]

- **Intérêt du test :**

Ce test sert notamment à différencier les bactéries de la famille des ex-Micrococcaceae (*Staphylococcus*, *Micrococcus* ...) catalase positive, de celle des ex-Streptococcaceae (*Streptococcus*, *Enterococcus*...) catalase négative.

- **Technique rapide :**

Sur une lame porte-objet, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, puis émulsionner une anse de bactéries prélevées sur la culture en milieu gélose de la souche. Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît, le test est dit positif. (Camille, 2008).

### 5.2.2. Test Coagulase :

- **Intérêt du test :**

Ce test est utilisé en bactériologie médicale ou des eaux pour caractériser des souches de *Staphylococcus aureus* isolées sur le milieu de Chapman. Une souche de Staphylocoque, qui aura fermenté le mannitol de ce milieu en moins de 48 heures, et qui provoque la coagulation du plasma en moins de 24 heures, doit être considérée comme une souche de *Staphylococcus aureus*. (Camille, 2008).

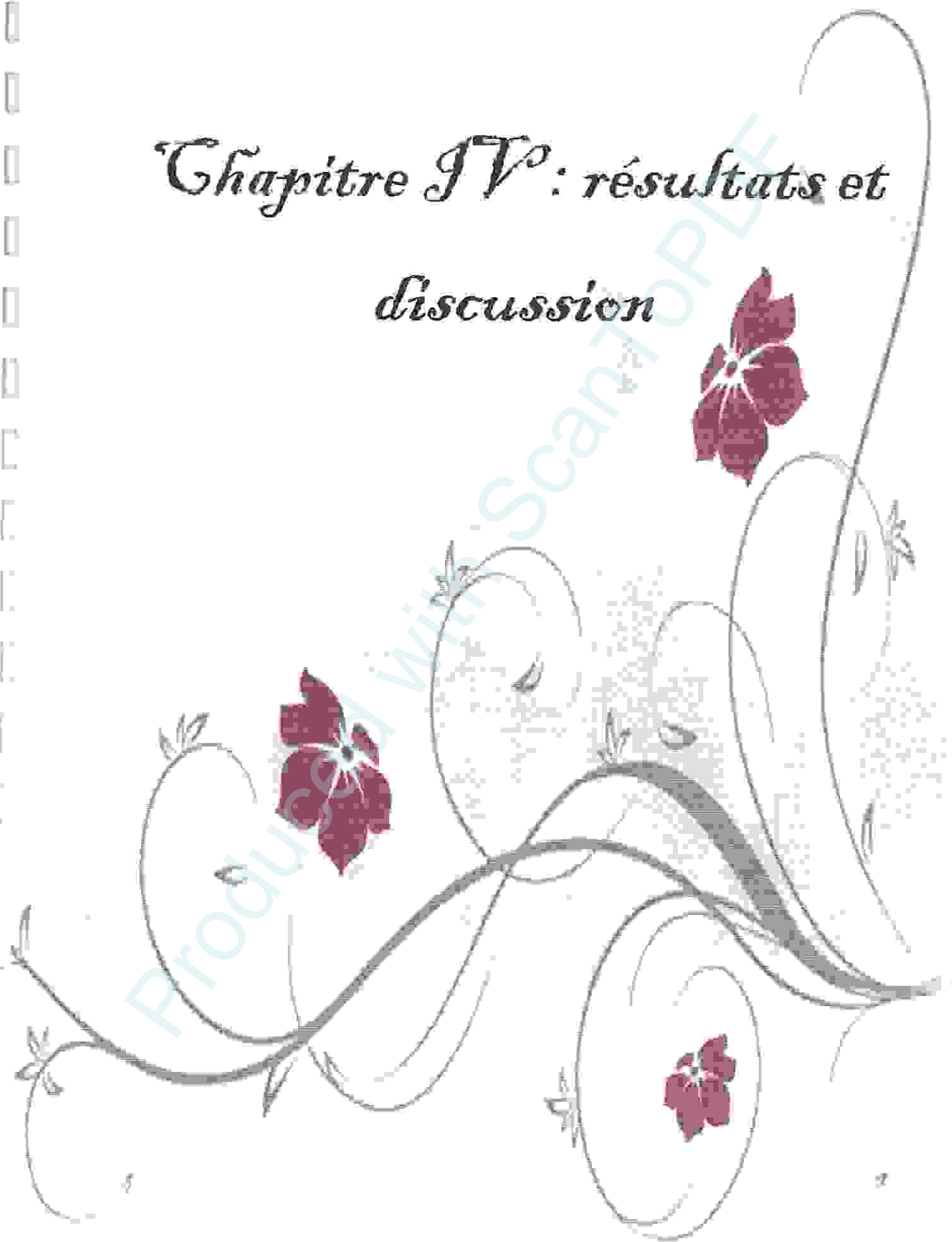
- **Technique rapide :**

Prendre aseptiquement une demi-colonie dans un tube stérile à hémolyse contenu 0,3 ml de plasma de lapin (ou de l'homme), et incuber de nouveau à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 2 à 6 h.

Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber et examiner de nouveau à  $20 \pm 4$  heures.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. (Pechère & al., 1982).

Chapitre IV<sup>o</sup>: résultats et  
discussion



## 1. Paramètres physico-chimiques :

### 1.1. La température :

La température joue un rôle important dans l'augmentation de l'activité chimique, bactérienne et de l'évaporation des eaux. Elle varie en fonction de la température atmosphérique.

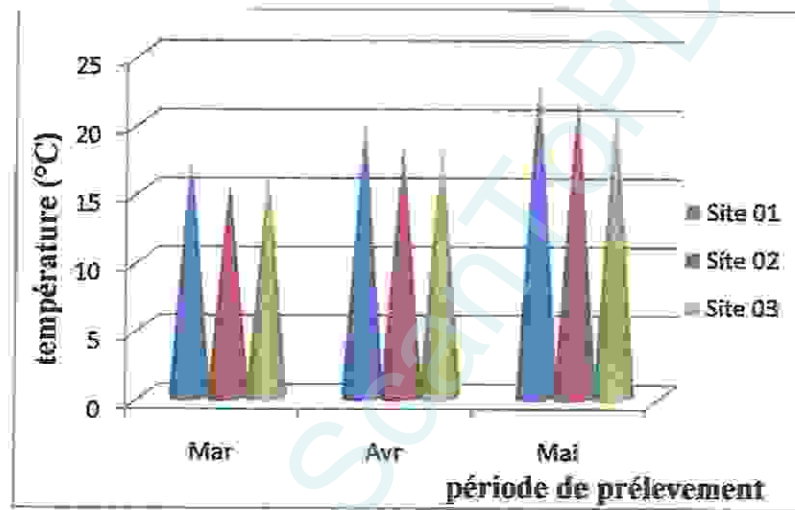


Fig. 21. Variations spatio-temporelles de la température de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Le graphique de la température, nous montre que pour l'ensemble des stations, la température a tendance à augmenter avec l'évolution de la saison qui est remarquée par des valeurs habituelles à cette période de l'année.

### 1.2. La conductivité :

La mesure de la conductivité permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau, c'est-à-dire la concentration en sels dissous. La conductivité est également influée par la température car la dissolution des sels minéraux dépend de celle-ci.

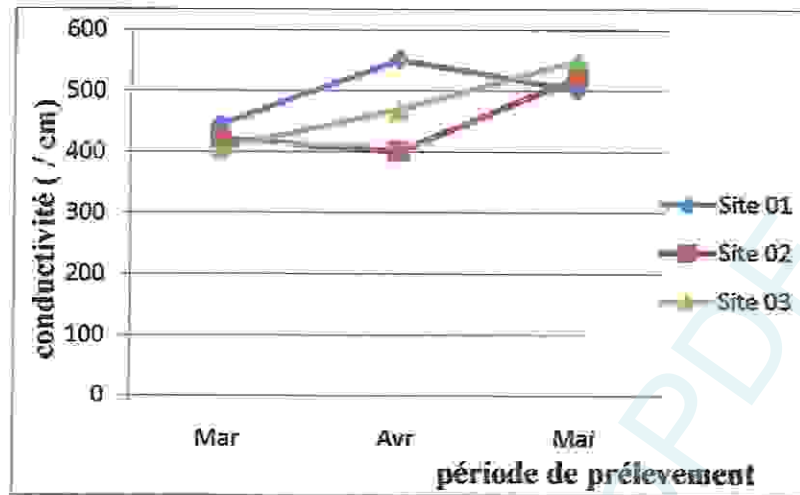


Fig. 22. Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Selon le graphique en haut on note que les valeurs enregistrées pour la conductivité en Mai sont plus élevées que celles enregistrées pour les autres mois.

D'une manière générale, l'eau de cette retenue peut être classée comme eau à minéralisation importante selon le tableau 09 cité ci-avant.

### 1.3. L'oxygène dissous :

L'oxygène est un facteur essentiel à la vie aquatique, en particulier aux organismes assurant l'autoépuration des rivières. De ce fait cet élément est un bon indicateur de pollution d'un cours d'eau.

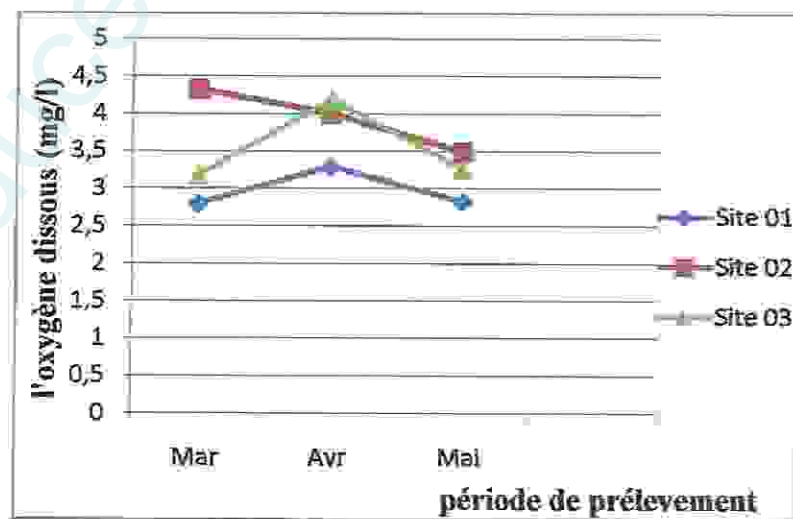


Fig. 23. Variations spatio-temporelles des valeurs de l'oxygène dissous dans l'eau



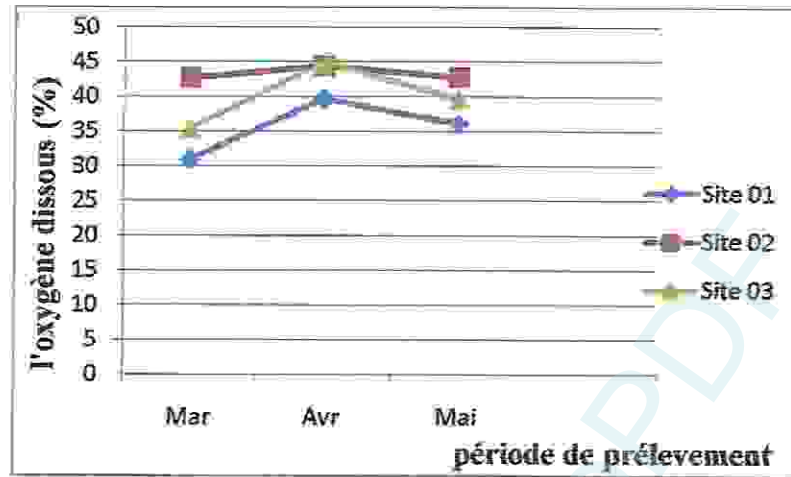


Fig. 24. Variations spatio-temporelles du % de saturation en l'oxygène dissous dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Les taux d'oxygènes dissous (fig24), varient d'une station à l'autre et d'une période à l'autre, la valeur minimale est enregistrée au niveau du site 01 pendant le mois de Mars et la valeur maximale était remarquée au niveau du site 02 pendant le mois avril.

Cette diminution des taux d' $O_2$  dissous est en relation avec le métabolisme bactérien qui utilise cet élément pour dégrader les matières organiques.

Tab 13 : Grille de qualité des eaux naturelles agréée par l'agence nationale des ressources hydriques (ANRH, 2001).

Classe de qualité paramètre	Unité	Excellente	Bonne	Passable	Médiocre	Pollution excessive
$O_2$ dissous	mg/l	> 7	5 à 7	3 à 5	< 3	0
Saturation	%	>90	70 à 90	50 à 70	<50	0
$NH_5$	mg/	<0,1	0,1 à 0,5	0,5 à 2	2 à 8	>8
$NO_3$	mg/l	<5	5 à 25	25 à 50	50 à 80	>80
$NO_4$	mg/l	<0,1	0,1 à 0,3	0,3 à 1	1 à 2	>2

Tant que les valeurs d' $O_2$  s'échelonnent entre 3 mg/l et 5 mg/l ce qui nous laisse dire que la qualité de l'eau est qualifiée d'une qualité passable selon la grille de qualité des eaux agréée par ANRH.

#### 1.4. Le pH :

Le pH est aussi un facteur important qui influence directement la prolifération des micro-organismes dans l'eau.

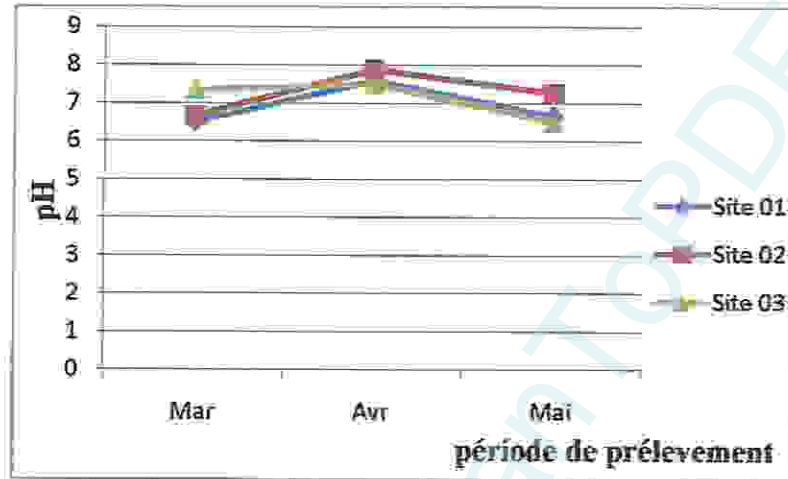


Fig. 25. Variations spatio-temporelles des valeurs de pH dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Pour ce paramètre on n'a pas remarqué une grande variation entre les stations de prélèvements. Les valeurs oscillent entre 6,5 et 7,8 peuvent être considérées comme un pH neutre favorisant un meilleur développement de la vie aquatique.

#### 1.5. La turbidité :

C'est une mesure non spécifique de la concentration de matière en suspension.

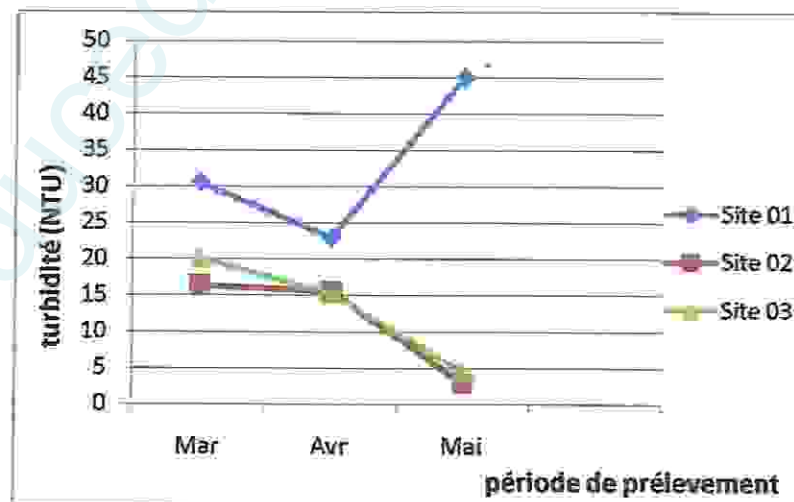


Fig. 26. Variations spatio-temporelles de la turbidité de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Les valeurs des turbidités trouvées sont présentées dans la (fig.26). Les valeurs enregistrées au niveau du premier site pendant les trois mois indiquent que les eaux sont turbides avec des valeurs comprises entre 30 et 45 NTU. Par contre, les valeurs enregistrées au niveau du site 02 et 03 selon le tableau 11 sont bonnes.

### 1.6. Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) :

Les nitrates se trouvant naturellement dans les eaux proviennent en grande partie de l'action de l'écoulement des eaux sur le sol constituant le bassin versant. Leurs concentrations naturelles ne dépassent pas 3 mg/l dans les eaux superficielles. (Rejesk. 2002).

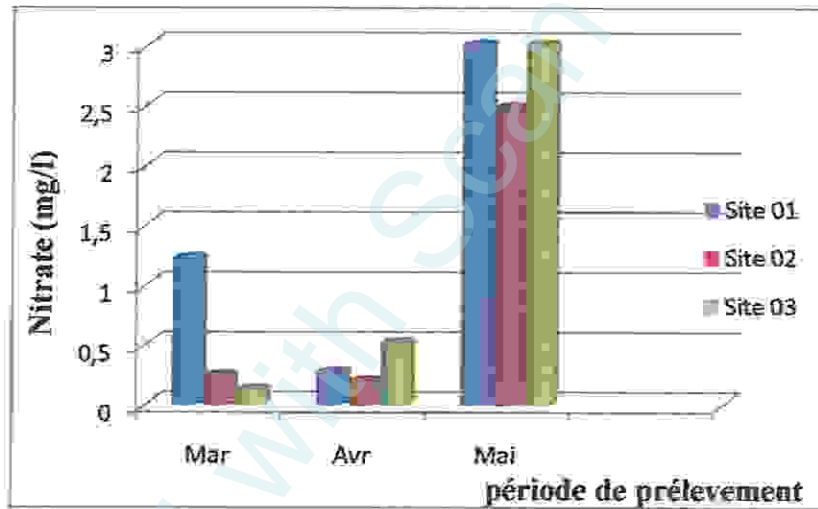


Fig.27. Variations spatio-temporelles des teneurs des nitrates dans l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

La valeur minimale est enregistrée au niveau du site 03 pendant le mois de Mars tandis que les valeurs les plus élevées sont obtenues durant le mois de Mai, mais ces valeurs ne dépassent pas les normes.

Selon la grille de la qualité des eaux naturelles appliquée par l'agence nationale des ressources hydriques (Tab13) (ANRH, 2001) l'eau est excellente.

### 1.7. Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) :

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammoniaque et les nitrates, leur présence est due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniaque, soit à la réduction des

nitrites, ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates, leur présence dans l'eau est donc rare et en faible quantité.

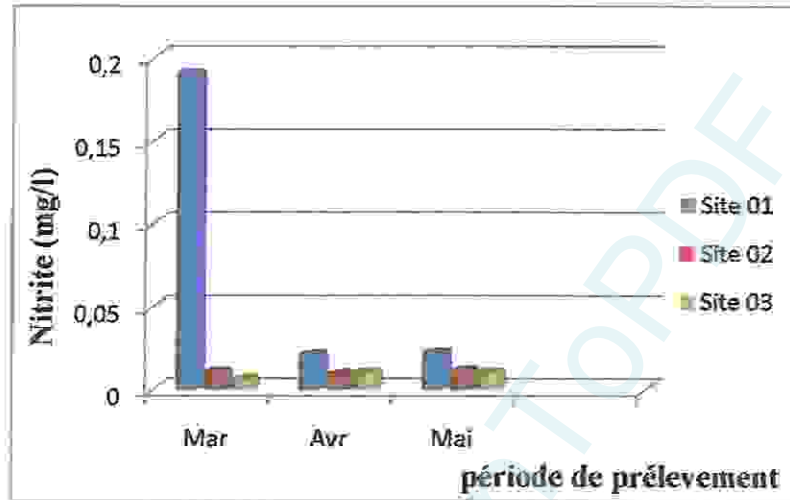


Fig. 28. Variations spatio-temporelles des teneurs des nitrites dans l'eau (Mar-2010-Mai 2010).

La valeur maximale est enregistrée au niveau du site 01 (0,190 mg/l) en mois de Mars tandis que la valeur minimale est obtenue au niveau du site 03 (0,006 mg/l) pendant le même mois.

Selon la grille de la qualité des eaux naturelles appliquée par l'agence nationale des ressources hydriques (Tab13) (ANRH, 2001) l'eau est excellente.

### 1.8. Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ):

Les ions ammonium des eaux superficielles peuvent avoir une origine naturelle par décomposition des déchets végétaux et animaux.

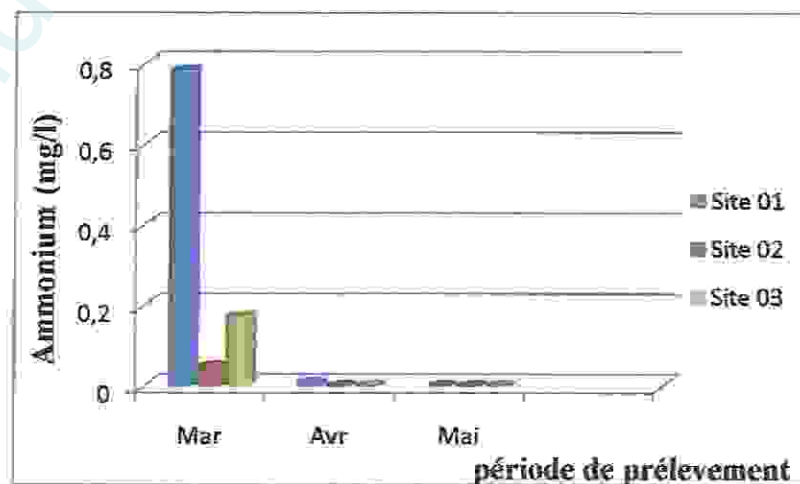


Fig. 29. Variations spatio-temporelles des teneurs de l'ammonium dans l'eau

Selon la figure 29, les valeurs élevées sont enregistrées dans le premier prélèvement avec une valeur au niveau du site 01 qui dépasse les normes par contre les faibles valeurs sont remarquées pendant le mois de Avril et Mai dans deuxième et troisième prélèvements.

Selon la grille de la qualité des eaux naturelles appliquée par l'agence nationale des ressources hydriques (Tab13) (ANRH, 2001) l'eau est excellente.

### 1.9. Matières en suspension (MES) :

Les eaux superficielles contiennent des matières en suspension et des teneurs de quelques mg/l ne posent pas de problème majeur.

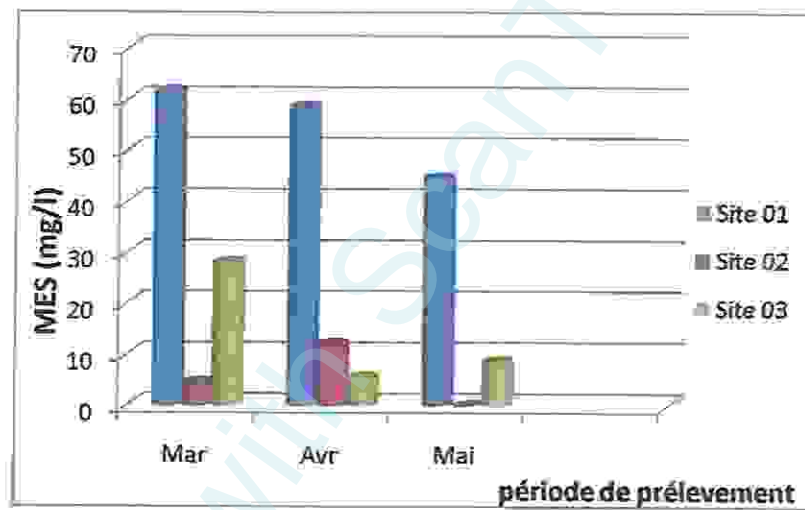


Fig. 30. Variations spatio-temporelles des teneurs en matière en suspension de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Le graphique en haut montre que le taux de la matière en suspension le plus élevé est enregistré au niveau de l'Oued El Hammam (site 01) durant la période d'étude, par contre les deux autres sites étaient remarquées par des faibles valeurs comprise entre 4,5 et 28 mg/l.

### 1.10. La matière organique :

Les composés organiques représentent la principale forme de pollution de l'environnement aquatique, en particulier à cause de la consommation en oxygène qu'entraîne leur dégradation par les micro-organismes.

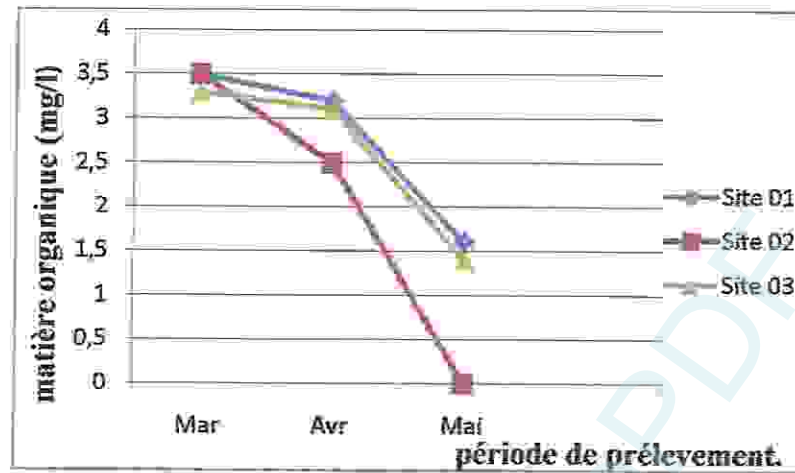


Fig. 31. Variations spatio-temporelles des teneurs en matière organique de l'eau (Mar 2010-Mai 2010).

Les variations des teneurs des matières organiques pour les trois sites de prélèvements sont semblables durant les deux mois Mars et Avril présentent la même allure alors que les faibles valeurs sont enregistrées pendant le mois de Mai qui peuvent être s'expliquées par le phénomène de biodégradation des substances organiques.

#### 1.11. Résidus sec (R.S) :

La détermination des résidus secs permet d'estimer la teneur en matières dissoutes et en suspension d'une eau.

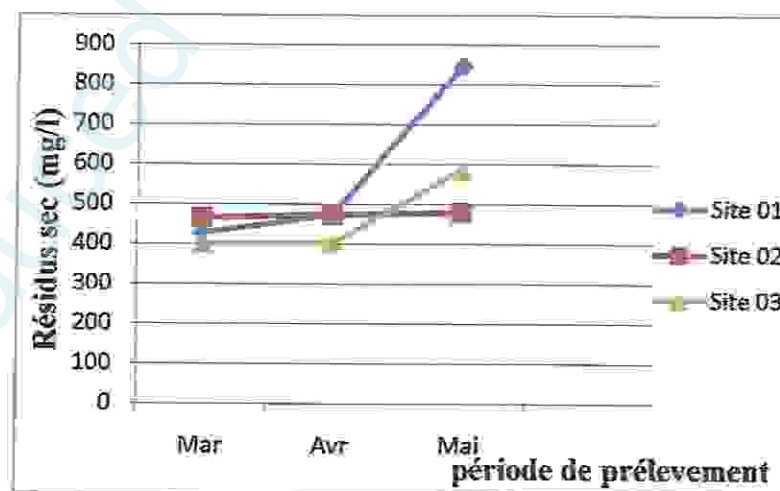


Fig. 32. Variations spatio-temporelles des teneurs en résidus sec de l'eau (Mar -Mai 2010).

Les variations enregistrées de ce paramètre semblent être moins importantes selon l'OMS qui recommande une valeur limitée moins de 1000 mg/l.

## 2. Paramètres microbiologiques :

L'objectif de l'analyse microbiologique d'une eau n'est pas effectuer un inventaire de toutes espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes, soit ce qui est souvent plus aisé, celles qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre.

Dans les milieux aquatiques, les micro-organismes tel que les bactéries, les moisissures jouent un rôle important dans l'évolution de la qualité des eaux.

Cette analyse est importante car la qualité microbiologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents et représentant la cause la plus fréquente de non potabilité de l'eau.

Dans notre travail, nous avons effectué au niveau de trois sites pendant les mois Mars, Avril et Mai un dénombrement et une recherche systématiques des germes indicateurs d'une pollution qui sont :

- Les germes totaux.
- Les coliformes totaux et fécaux.
- Les streptocoques fécaux.

### 2.1. Les germes revivifiables :

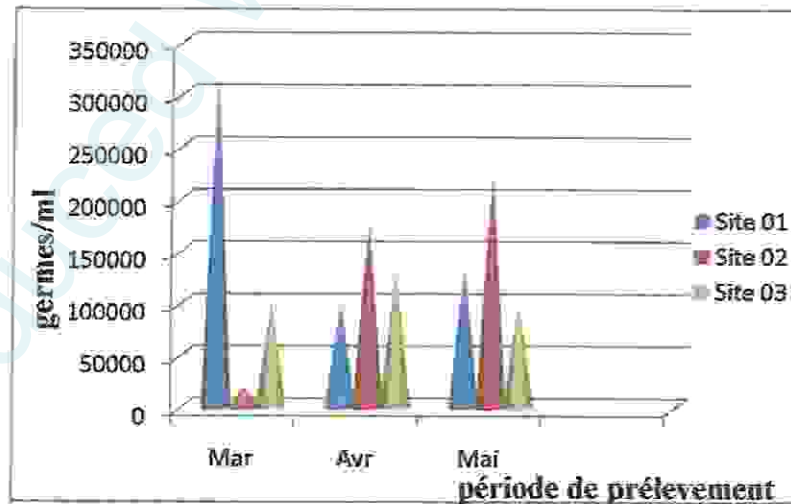


Fig. 33. Evolution des taux des germes revivifiables à 37°C (Mar 2010-Mai 2010).

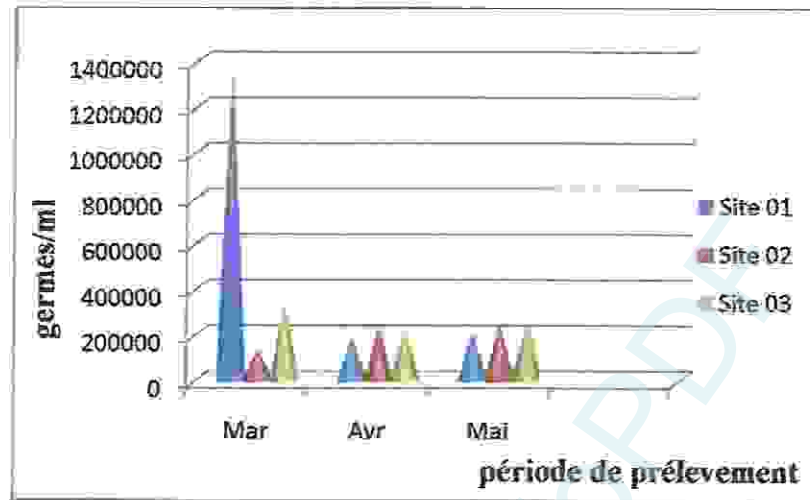


Fig. 34. Evolution des taux des germes revivifiables à 22°C (Mar 2010-Mai 2010).

Le résultat final des micro-organismes revivifiables dénombrés à 22°C et 37°C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 194 et 13654 germes /ml.

## 2.2. Les coliformes totaux :

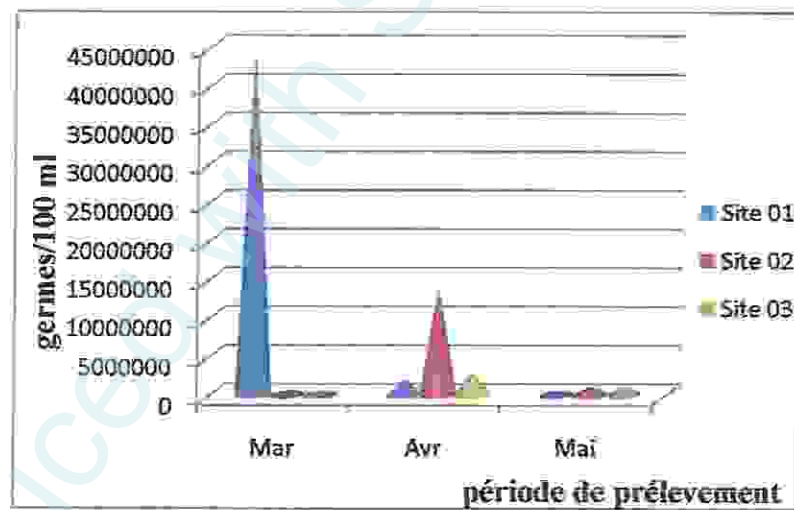
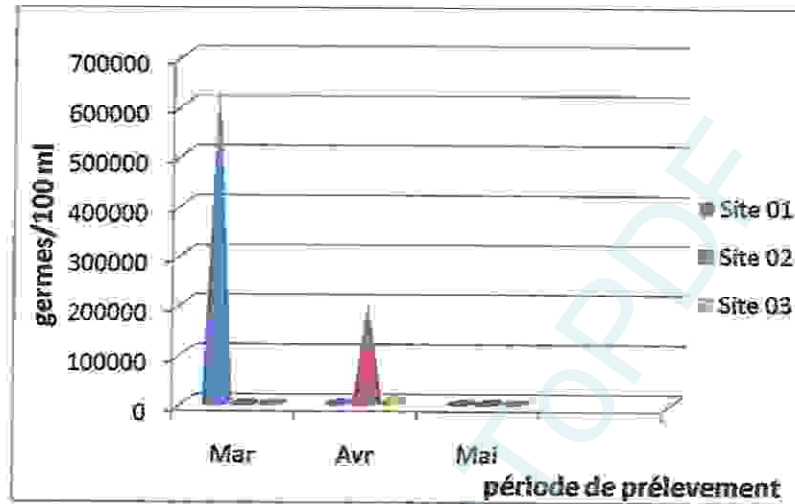


Fig. 35. Evolution des taux des coliformes totaux (Mar 2010-Mai 2010).

Pour les coliformes totaux, le taux maximal est enregistré au niveau du site 01 (Oued El hammam) durant le mois du Mars tandis que le taux minimal est obtenu au niveau du site 02 durant le même mois.



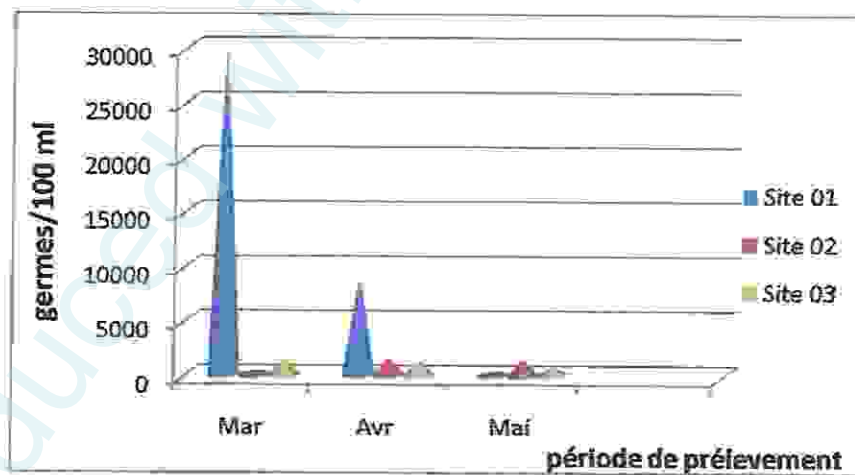
**2.3. Les coliformes fécaux :**



**Fig. 36.** Evolution des taux des coliformes fécaux (Mar 2010-Mai 2010).

Pour les coliformes fécaux, le taux maximal est enregistré au niveau du site 01 (Oued El hammam) durant le mois du Mars tandis que le taux minimal est obtenu au niveau du site 02 durant le même mois.

**2.4. Les streptocoques fécaux :**



**Fig. 37.** Evolution des taux des Streptocoques fécaux (Mar 2010-Mai 2010).

Le graphique de Streptocoques D, nous montre que le site 01 renferme le nombre le plus élevé pendant le mois de Mars par contre la valeur minimale est enregistrée au niveau du site 02 durant le même mois.

2.5. Recherche microbiologique :

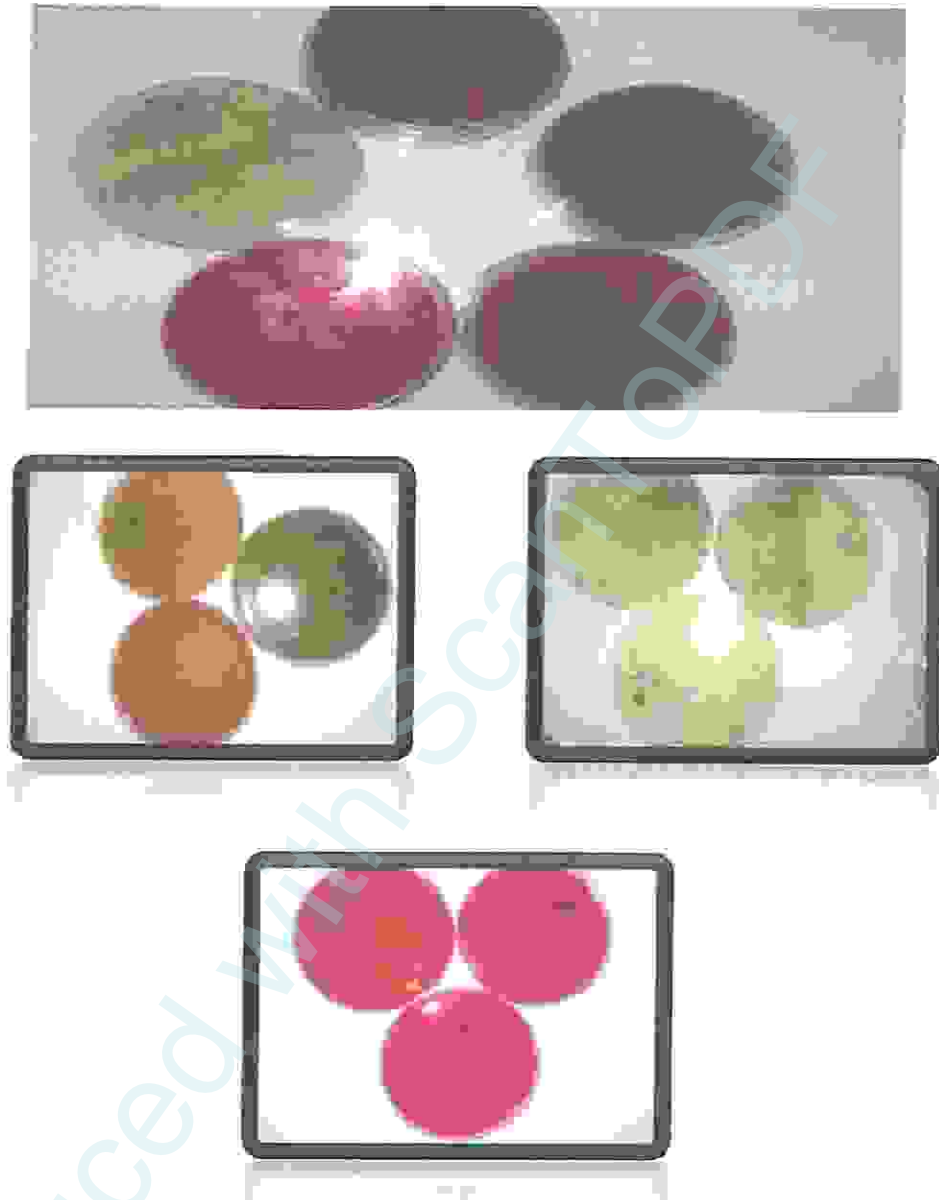


Fig.38. Photo des résultats d'ensemencement sur gélose.

Durant nos prélèvements et dans les trois sites de prélèvement, nous avons isolé sur toutes les géloses utilisées plusieurs types des bactéries. Les dernières présentant des formes, des contours et des couleurs très différentes. Il est aussi à noter que sur la gélose SS nous avons rien obtenu.

Tab.14. Résultats de l'ensemencement des milieux de cultures utilisés

Milieu de culture/ prélèvements	Gélose Chapman	Gélose Mac-conkey	Gélose Hectoen	Gélose SS	Sabouraud	
Site 01	Mars	-	Quelques petites colonies, lisses, à contours régulier, de couleur beige.	Petites colonies à contours régulier, pigmenté en : -vert ou bleu vert. -ou jaune.	-	Des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.
	Avr	Quelques petites colonies, lisses, bombées, de couleur blanche.	Quelques petites colonies, lisses, à contours régulier, de couleur beige.	Petites colonies à contours régulier, pigmenté en vert ou bleu vert.	-	Des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.
	Mai	Quelques petites colonies, lisses, bombées, de couleur jaune.	Quelques petites colonies, lisses, à contours régulier, de couleur beige.	Deux types colonies à contours régulier, pigmenté en vert ou bleu vert, et d'autre jaune.	-	Colonies conteuses filamenteuse et des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.
Site 02	Mars	-	-	-	-	-
	Avr	Quelques petites colonies, lisses, bombées, de couleur jaune.	-	-	-	-
	Mai	Quelques petites colonies, lisses, bombées, de couleur blanche.	-	Deux types colonies à contours régulier, pigmenté en vert ou bleu vert.	-	Colonies conteuses filamenteuse et des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.
Site 03	Mars	-	Quelques petites colonies, lisses, à contours régulier, de couleur beige.	-	-	-
	Avr	-	-	-	-	Des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.
	mai	-	-	Petites colonies à contours régulier, pigmenté en Jaune.	-	Colonies conteuses filamenteuse et des colonies muqueuses, bombées, blanchâtre.

• Coloration de Gram et de bleu de méthylène :


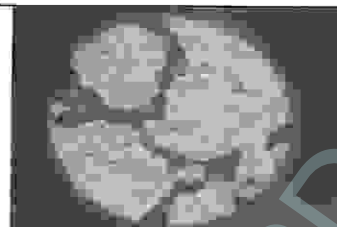
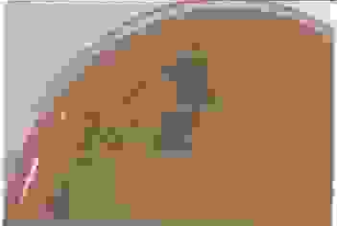
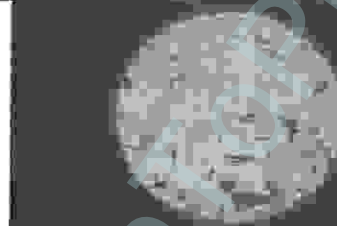

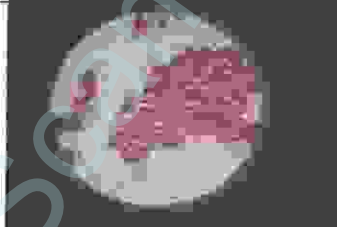



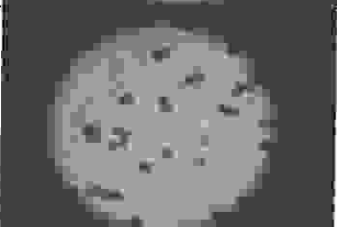
Milieux	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Observation microscopique
Gélose Chapman			Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.
Gélose Macconkey			Bacilles isolés, Gram négatif.
Gélose Hectoén			Bacilles isolés, Gram négatif.
Sabouraud			Des longues hyphes bleu.
			Des cocci ovoïdes plus volumineuses que les bactéries.

Fig. 39. Résultats des colorations de Gram et du bleu de méthylène.

5.2.1. Identification des *Enterobacteriaceae* :

Tab 15 : Résultats d'identification des germes par Api20E.

Milieux	Sites	Numéraux de code	Nom des bactéries
Hectoen	Site 01	7357573	<i>Salmonella arizonae</i>
Hectoen	Site 01	7047577	<i>Aeromonas</i>
Mac-conkey	Site 01	0044123	<i>Pasterrelle multivida</i>
Mac-conkey	Site 03	6747777	<i>Salmonelle spp</i>
Hectoen	Site 01	3046333	<i>E.coli</i>
Mac-conkey	Site 01	7046123	<i>E.coli</i>
Hectoen	Site 02	3304723	<i>Cedecea devisae</i>

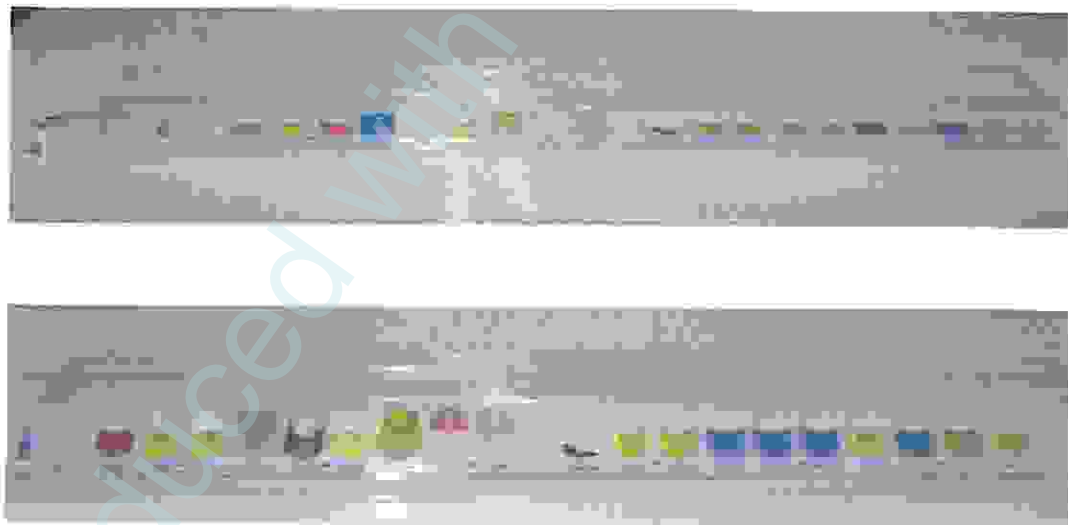


Fig.40. Photos des résultats l'API 20E

Cinq espèces bactériennes appartenant à la famille des *Enterobacteriacés* ont pu être identifiées : *Salmonelles arizonae*, *Aeromonas*, *Pasterrelle multivida*, *E.coli* et *Cedecea devisae* les derniers ne sont pas pathogène pour l'homme mais participe à dégradation de la matière organique dans le sol.

Tab 16 : Résultats de la galerie classique.

		Hectoene S1	Hectoene S1	Hectoene S2	Hectoene S2	Mac-conkey S1
<b>TSI</b>	Glucose	+	+	+	+	+
	Saccharose	+	-	+	+	+
	Lactose	+	+	+	+	+
	H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
	CO <sub>2</sub>	+	-	+	+	-
<b>Citrate de Simmons</b>	Citrate	-	-	+	-	-
<b>Mannitol mobilité</b>	Mannitol	+	+	+	+	+
	Mobilité	+	-	+	+	+
<b>Eau peptonée</b>	Indole	+	+	+	-	+
<b>Clark et lubs</b>	RM	-	+	-	-	+
	VP	+	-	+	+	-
<b>Urée indole</b>	TDA	-	-	-	-	-
	Indole	+	+	+	-	+
<b>Bouillon nitraté</b>	Nitrate	+	+	+	+	+
	<b>Bactéries</b>	<i>Klebseilla oxytoca</i>	<i>E.coli</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterobacter aerogineus</i>	<i>E.coli</i>



Fig. 41. Photos des galeries biochimiques classiques.

Par l'utilisation de la galerie biochimique classique qui donne des résultats très dépendant de l'expérience dans laboratoires, trois sites brutes ont été isolé en plus d'E.coli, il s'agit de *Klebsellaoxydaca*, *Citrobacter freundii* et *Enterobacter aerogineus*.

### 5.2.2. Identification des *Staphylococcus* :

Tab 17 : Résultats d'identification des Staphylocoques.

	Chapman	
	Mannitol	+
Test Coagulase	+	+
Test catalase	-	+
<b>Bactéries</b>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. aureus</i>



Fig.42. Catalase positive.



Fig. 43. Coagulase positive.

Par contre où le milieu sélectif de Chapman deux bactéries extrêmement pathogènes pour l'homme et l'animal ont été isolés. Il s'agit de *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus aureus* ce dernier provoquant souvent des septicémies très graves qui peuvent engendrer la mort si aucun traitement n'est utilisé.

Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces variations microbiologiques des eaux étudiées :

- La mauvaise évacuation des eaux usées qui reste la cause principale de cette pollution.
- La défécation dans la nature des matières organiques (déchets humain ou animal).
- Il semble aussi le facteur température est un facteur influençant de développement et la croissance de ces germes.

# Conclusion



Produced with Scantopdf



La région d'étude est située au nord-est de l'Algérie orientale. Cette région qui constitue le bassin sud du Kébir-oust, il s'agit des oueds Mouguer et Hammam.

Au terme de cette étude, nous mesurons combien la qualité des eaux de l'Oued El hammam et du barrage de Zit-Emba est menacée puisqu'elle affectée par une pollution urbaine et industriels liée à l'absence de toute surveillance.

L'étude microbiologique a montrée que les eaux de l'Oued El hammam et du barrage de Zit-Emba sont affectées par une pollution fécale a révélé l'abondance du la flore mésophile totale, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoque fécaux avec la présence de certains germes pathogènes tel que les streptocoques et salmonelles qui peuvent provoquer les maladies a transmission hydrique.

D'après nos résultats physico-chimiques obtenus, nous avons pu constater que l'eau présente une minéralisation importante. A l'exception de l'Oued El hammam qui montre des concentrations en nitrate et ammonium qui dépasse les normes et qui peuvent être expliquées les riverains en agriculture.

Il est cependant important de signaler que les résultats microbiologiques et physico-chimiques bien qu'essentiels, ne représentent que des données ponctuels autrement dit caractérisent une période bien déterminée et un lieu bien précis.

En recommandation et pour maintenir l'équilibre de cet écosystème il faut veiller à certains points dont les principaux sont :

- Pour la bonne gestion des eaux du barrage de Zit-Emba et la prise en charge complète du problème de la pollution a ce niveau, on doit éviter tout conflit administratif entre la Wilaya de Skikda et la Wilaya de Guelma, concernant les déférents problèmes lies aux rejets des eaux résiduaires,
- La protection du bassin versant contre tout types de pollution peut contribuer a la réduction des dépenses pour le traitement spécifique a l'aval du barrage et de facto préserver la sante publique qui reste l'objectif primordial.
- Pour l'agriculture, il est conseillé de ne plus utiliser l'eau de l'oued en irrigation et limiter l'utilisation intensive des engrais chimiques synthétiques.

- L'installation de stations d'épuration artificielles ou naturelles en amont du barrage s'avère indispensable, et ce, afin d'éviter sinon limiter toute pollution d'origine thermique, urbaine ou industrielle.
- Les responsables de la station de traitement doivent veiller scrupuleusement au contrôle de la qualité des eaux en amont et en aval surtout en ce qui concerne les éléments toxiques

## Résumé

Notre travail a pour but d'évaluer la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de Oued El hammam et du barrage de Zit-Emba dans la Wilaya de SKIKDA.

Au cours de notre étude sur l'eau du barrage durant une période de trois mois de Mars à Avril avec un échantillonnage de 09 prélèvements nous sommes parvenus à avoir un aperçu sur la qualité de l'eau :

Concernant les analyses physico-chimiques, les résultats obtenus montrent une concentration importante en matière de l'ammonium au niveau de Oued El Hammam, sinon les autres valeurs prises en leur ensemble pour les autres sites ne dépassent pas les normes prescrites dans la littérature.

Pour les analyses microbiologiques une forte charge en bactéries indicatrices de contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) est toujours enregistrée au niveau d'Oued El hammam et du barrage avec une forte concentration en flore mésophile durant toute la période d'étude.

Donc pour une bonne gestion des eaux du barrage de Zit-Emba et la prise en charge complète du problème de la pollution à ce niveau, il est nécessaire un strict respect de l'application des règlements ayant trait aux rejets industriels et thermales.

### Mots clés :

Eau, pollution, barrage, paramètres physico-chimiques et paramètres microbiologiques

## summary

Our work aims to evaluate the physico-chemical and bacteriological water Oued El Hammam and dam Zit -Emba in Skikda.

During our study on dam water for a period of three months from March to April with a sampling of 09 samples we managed to get a glimpse sue the quality of water:

Regarding the physico-chemical, the results show a significant concentration in the ammonium if the other values taken as a whole to other sites do not exceed the standards prescribed in the literature.

For microbiological testing a large load of bacteria indicating fecal contamination (total coliforms, fecal coliforms and fecal streptococci) is still registered at Wadi El Hammam and artificia lac of Zit-Emba with a high concentration of mesophilic flora throughout the study period.

So for a good management of water dam-Zit Emba and the full support of the pollution problem at this level, we need a strict application of regulations relating to industrial discharges and thermal.

### **Key words:**

Water, pollution, dam, physico-chemical and microbiological parameters

Produced with Scantopdf

[4] **Wikipedia- Eau potable. (2007)**

<http://www.rinoceros.org/spip>. Consultation le: 23/04/2010.

[5] **Youness Abchir. (2008).** Pollution Biologique des Eaux : Infections d origine hydrique.

Faculté des Sciences d'EL Jadida. *Webmaster: Dr. A. EL Rhalami.*

mailto : [arhalami@hotmail.com](mailto:arhalami@hotmail.com). Consultationle: 07/03/2010.

Produced with ScanTOPDF

# Annexes



## Composition des milieux de culture et des réactifs :

### 1. Milieux de culture :

#### • 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

#### Préparation :

Mettre 12g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à dissolution complète. Ajuster, si nécessaire, le pH à 6,9. Répartir en tubes, avec cloche de Durham, à raison de 10 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 115 ° C pendant 20 minutes.

#### • Rothe : simple concentration

Peptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate bipotassique.....	2,7 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Azothydrate de sodium.....	0,2 g

#### • Bouillon de LITSKY :

Polypeptone.....	20,0 g
Glucose.....	5,0 g
Chlorure de sodium .....	5,0 g
Phosphate monopotassique .....	2,7 g
Phosphate dipotassique .....	2,7 g
Azide de sodium .....	0,3 g
Ethyl-violet .....	0,5 mg
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :	6,8 ± 0,2.

#### • Schubert :

Tryptone.....	10.00g
Tryptophan.....	0.20g
Glutamicacid.....	0.20g
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 a 25°C :	7.6 ±0.2.

#### • Milieu Clark et Lubs

Peptonethropsine de caséine :	5g
Glucose :	5g
Phosphate bipotassique :	5g
Eau distillée.	

#### • Eau physiologique

Chlorure de sodium :	9g
----------------------	----

- Eau distillée : ..... 1000 ml
- **Bouillon Nitrate réductase**
    - Infusion cœur-cervelle.....25,0 g
    - Nitrate de sodium..... 10,0 g
    - Eau distillée..... 1 l
  
  - **Gélose nutritive**
    - Peptone ..... 5 g / l
    - Extrait de viande ..... 1g/l
    - Extrait de levure ..... 2g/l
    - Chlorure de sodium ..... 5g / l
    - Agar ..... 15g
    - pH ..... 7,4 (environ)
  
  - **Milieu de 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 ..... 7,5 (environ)
  
  - **Milieu de Mac Conckey**
    - Peptone bactériologique ..... 20 g / l
    - Sels biliaires ..... 1,5 g / l
    - Chlorure de sodium ..... 5 g / l
    - Lactose..... 10 g / l
    - Rouge neuter..... 0,03 g / l
    - Cristal violet..... 0,001 g / l
    - Agar ..... 15 g / l
    - pH ..... 7,1 (environ)
  
  - ***Salmonella-Shegilla (SS)***
    - Peptone .....5g
    - Extrait de viande.....5g
    - Lactase .....10g
    - Citrate de sodium.....10g
    - Citrate de fer III.....1g
    - Sels biliaires.....8,5g
    - Vert brillant.....3,3g
    - Rouge neutre.....25mg
    - Thiosulfate de sodium.....8,5
    - Agar ..... 12g
    - pH.....7.3
  
  - **Milieu TSI**
    - Agar ..... 12g
    - Extrait de bœuf ..... 3g
    - Extrait de levure ..... 3g
    - Peptone ..... 20g
    - Lactose ..... 10g



Saccharose .....	10g
NaCl .....	5g
Glucose .....	1g
Citrate ferrique .....	3g
Thiosulfate de sodium .....	3g
Rouge de phénol .....	0,025g
Eau distillée .....	1000ml
<b>• Citrate de simmons</b>	
Chlorure de sodium .....	5g
Sulfate de magnésium 7420 .....	0.2 g
Phosphate d'ammonium $PO_2H_2$ .....	1g
Phosphate dipotassique $PO_4HK_2$ .....	2g
Citrate trisodique .....	2 tg
Solution de bleu bromothymol .....	8g
Agar .....	15 g
Eau distillée .....	1000 ml
<b>• Milieu manitol – mobilité</b>	
Peptone pancréatique de viande .....	20g
Agar – Agar .....	4g
Manitol .....	2g
Nitrate de potassium .....	1g
Rouge de phénol en solution à 1% .....	4ml
Eau distillée .....	1000 ml
<b>• Gélose Hektoen</b>	
Protéose peptone .....	12 g
Extrait de levure .....	3 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Thiosulfate de sodium .....	5 g
Sels biliaires .....	9 g
Citrate de fer ammoniacal .....	1,5 g
Salicine .....	2 g
Lactose .....	12 g
Saccharose .....	12 g
Fuchsine acide .....	0,1 g
Bleu de bromothymol .....	0,065 g
Agar .....	14 g
Eau distillée .....	1000 ml
pH .....	7,1 (environ)
<b>• Gélose Sabouraud</b>	
Peptone .....	10 g
Glucose massé .....	20 g
Agar-agar .....	15 g
Eau distillée (qsp) .....	1 000 ml
vitamines et facteurs de croissance.	

## 2. Les réactifs

- **Réactif Kovacs** : la mise en évidence de la production d'indole :
  - Paradiméthylamino-benzaldéhyde ..... 5g
  - Alcool amylique ..... 75ml
  - HCl pur ..... 25ml
- **Réactif TDA** : Pour la recherche de la 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
- **Réactifs 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 ..... 0,1g
  - Alcool éthylique à ..... 95%: 300ml
  - Eau distillée ..... 500ml
- **Réactif de Griess pour les nitrites**
  - NIT1**
    - Acide sulfanilique ..... 0,8g
    - Acide acétique 5 N ..... 100 ml
  - NIT2**
    - N-N- diméthyl- 1- naphtylamine ..... 0,6 g
    - Acide acétique 5 N ..... 100ml
- **Colorant**
  - ✓ **Violet de Gentiane**
    - Violet de Gentiane ..... 1g
    - Ethanol à 90% ..... 10 ml
    - Phénol ..... 2g
    - Eau distillée ..... 100 ml
  - ✓ **Lugol**
    - Iode ..... 1g
    - Iodure de potassium ..... 2g
    - Eau distillée ..... 300ml
  - ✓ **Fuchine**
    - Fuchine basique ..... 1g
    - Alcool éthylique ..... 100 ml
    - Phénol ..... 5g
    - Eau distillée ..... 100ml

Tab.: Illustrations des règles pour le choix des dilutions pour déterminer le NPP

Dilution	10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>	Résultats	Cas cités
Nombre de tubes positifs	3	3	2	1	0	0	321	Premier point du cas 1
	-	3	3	3	3	0	330	
	-	3	0	1	0	0	301	Deuxième point du cas 1
	2	0	0	0	0	0	200	
	2	2	2	2	2	0	222	Cas 2
	-	3	3	2	1	2	323	Premier point du cas 3
	-	-	0	1	0	0	010	Deuxième point du cas 3

Tab.: Table de Mac - Grady

Nombre caractéristique	Nombre de micro-organisme
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

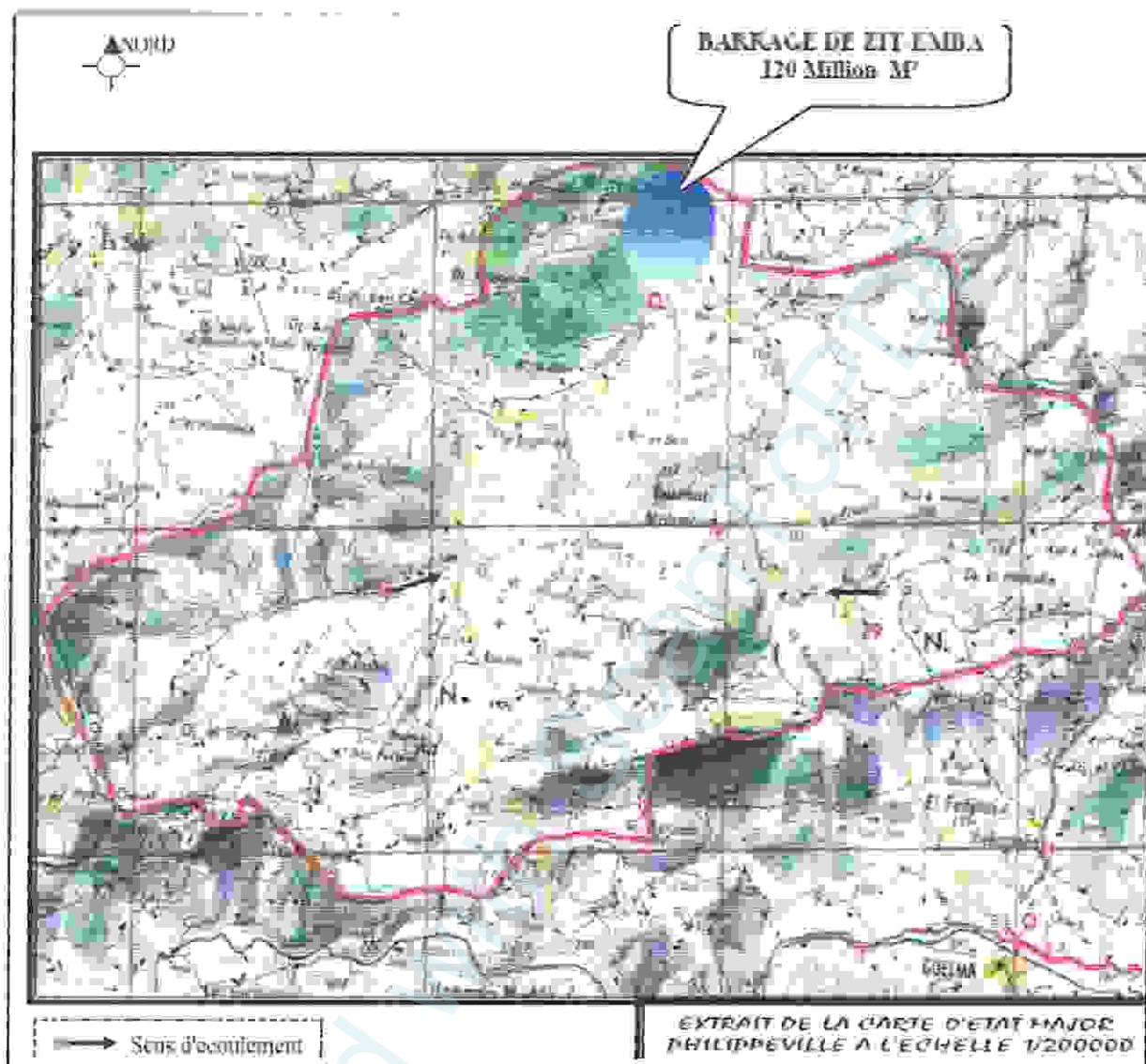


Fig. 44. Délimite du bassin versant du barrage du Zit-Emba.

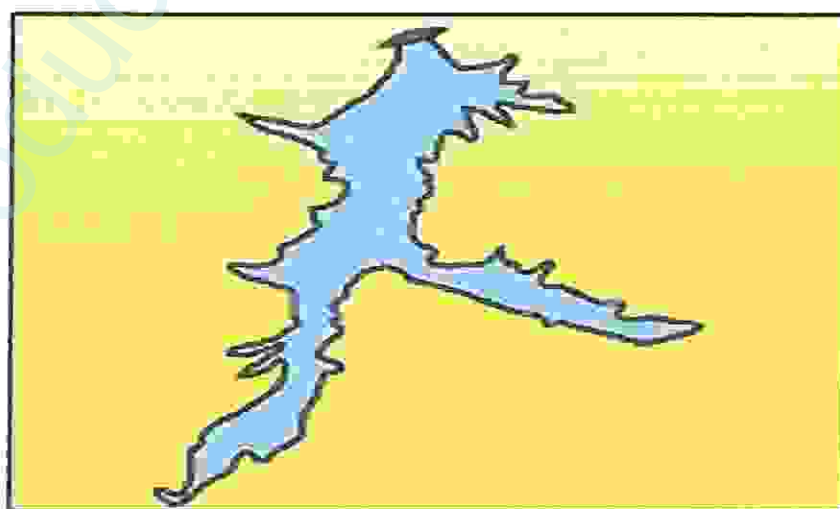


Fig. 45. Dessin à main levée du barrage.