

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE  
LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



## Mémoire de Master

Domaine: Microbiologie-ecologie

Filière: Biologie

Option: Santé, eau et environnement; microbiologie de l'environnement

---

THÈME: CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE LA QUALITÉ  
BACTÉRIOLOGIQUE DE L'EAU DE LA RETENUE COLLINAIRE DE  
OURKIS, WILAYÁ D'OUM EL BOUAGHI

---

Présenté par : Boukhalifa Zahra

Guebli Mabrouka

Touafchia Meriem

Devant le jury composé de :

Président: Mr. Houhamdi Moussa (Pr.)

Examineur: Mr. Guetaf Mouhamed (M.A.A)

Examineur: Mr. Rouabhia Kamel (M.A.B)

Encadreur: Mr. Rouibi Abdelhakim (M.A.A)

Juin 2012

## Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à présenter nos vifs remerciements et exprimer nos gratitude à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à sa réalisation. Nos Remerciements particuliers vont à :

Monsieur **Houhamdi M.**, Professeur au département de biologie à l'université de Guelma, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour son enseignement et sa gentillesse.

Monsieur **Guetaf M.**, Maître assistant au département de biologie à l'Université de Guelma, d'avoir accepté de participer à ce jury.

Monsieur **Rouabhia K.**, Maître assistant au département de biologie à l'Université de Guelma, d'avoir accepté aussi participé à ce jury.

Nous remercierons notre encadreur **Mr. ROUIBI ABDELHAKIM** Maître assistant au département de biologie à l'Université de Guelma, qui ne nous a pas privés de ces précieux conseils.

Nous tenons à remercier aussi notre co-encadreur **Mr. ATOUSSI SADEK** maître assistant au Département de biologie pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail, son soutien chaleureux et ses conseils avisés tout au long de ce travail.

Nous tenons à remercier monsieur **MERZOUG A.G** maître assistant au Département de biologie pour ses précieux conseils.

Nos remerciements vont également à :  
Melle **Kafi Fadhila**, Melle **Haddad Soumia**, Mr. **Guergueb .L** pour ces aides précieuses.

Finalement, un remerciement spécial à nos familles, puisque sans eux on n'aurait jamais pu atteindre nos buts.

# Dédicace

*Louange à Dieu le miséricordieux qui m'a éclairé la voie de la science et de la connaissance et par sa grâce j'ai réussi à achever ce modeste travail que je dédie à :*

*Ma famille qui m'a soutenue le long de ces belles expériences que j'ai vécues, les meilleures et les pires, surtout à mon très cher père LAKHDAR, que dieu l'accueille dans son vaste paradis, et ma chère mère LAKRI, que dieu la garde :*

*Qui m'on appris tout ce que je sais,*

*Qui mon guidé vers le tunnel éclairé du savoir,*

*Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort.*

*Mon cher frère : Allaoua que dieu le garde.*

*Ma très chère sœur Samira et son époux Saïd et ses petits : le prince Mohamed et les belles princesses Hadoula et Fareh.*

*Mes très chères et belles sœurs : Warda (Sonia), Hana, Khawla.*

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

*Mes dédicaces particulières s'adressent à Mr. Bouguetaia M., ma tante, son fils Malek, et toute la famille qui m'a soutenue le long de cette belle expérience*

*A mes amies : Meriem T, Manel G, Wafa, Manel A, Meriem A, Rahma, Hada, Asma, Louiza, Amina, Sana, Sead, Marwa, Chayma, Sara, Razika Selaimia et toute sa famille.*

*Aux amies de la post graduation : promotion 2012*

*A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui mon éclairé la voie du savoir et spécialement pour Mr. Atoussi et Mr. Merzoug.*

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

*Sabouha (M)*



# Dédicace

Louange à Dieu le miséricordieux qui m'a éclairé la voie de la science et de la connaissance et par sa grâce j'ai réussi à achever ce modeste travail que je dédie à :

Mes parents : mon très cher papa Kadouret ma tendre maman Warda

Qui m'on appris tout ce que je sais

Qui mon guidé vers le tunnel éclairé du savoir

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort

Mes chers frères : Mohamed, Khalil que dieu les garde

Mon couteux frère AbdElhalim et sa femme Nessrine pour leurs soutiens.

Mes très chères et belles sœurs :

Farida et son époux Naçar et ses petits Fadi & Feriel

Nadia et son époux hamid et ses petits Loubna & Youcef

Mes dédicaces particulières s'adressent à mon fiancé Abdou et sa famille

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

A mes très chère amis : Sabah, Manel, Wafa, Meriem (chouchou), Rafima, Hada (Douda), Souad, Wahiba, Saida, Mima, Marwa, Souad Z., Sana.

Chaima, Sara.

Aux amies de la post graduation : promotion 2012

A tous mes professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui mon éclairé la voie du savoir et spécialement pour Mr. Atoussi et Mr. Merzoug.

Spécialement pour les petites princesses :

MALEK



FERIEL



MERIEEM



# Dédicace

Louange à 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 modeste travail que je dédie à :

Mes chers parents qui m'ont toujours donné le courage et l'esprit pour continuer mes études ;  
mon très cher père **Boudjema** et ma chère et belle-mère **Massouda**.

Mes dédicaces particulières s'adressent à mon époux **Yacine** et sa famille et à ma petite jolie **Yara** que dieu la garde.

Ma très chère sœur **Abla** et son époux **Hamoudi** et ses petits : **Mohamed** et **Achoik**,

Ma très chère sœur **Rosa** et son époux **Zebir** et ses petits : **Roua**, **Youssef** et **Zakaria**.

Ma petite sœur **Sara** que dieu la garde.

Mes chers frères : **Soufiane** et **Issame**.

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

A mes très chères amies : **Meriem T**, **Manel**, **Wafa**, **Meriem A (chouchou)**, **Sabouha**,  
**Hada (Douda)**, **Bouchra**, **Chaima**, **Hiba**

Aux amis de la post graduation : promotion 2012

A tous mes professeurs au département de biologie et spécialement pour **Mr. Atoussi** et

**Mr. Merzoug**

*Spécialement pour toi ma petite fleur **Yana***

**RAHMA**

## ***LISTE DES TABLEAUX***

<b>Tableau</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	les Données climatique de la station d'Oum El-Bouaghi (1990-2010)	<b>13</b>
<b>02</b>	Caractéristique des points de prélèvement	<b>19</b>
<b>03</b>	Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i> .	<b>33</b>
<b>04</b>	Différences majeures entre les <i>Vibrio</i> , <i>Peisiomoas</i> et <i>Aeromonas</i> .	<b>34</b>
<b>05</b>	Evolution du nombre des germes totaux	<b>44</b>
<b>06</b>	Evolution du nombre des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR)	<b>48</b>
<b>07</b>	Aspects macroscopique et microscopique des colonies.	<b>49</b>
<b>08</b>	Résultat et identification biochimique par la galerie classique	<b>50</b>
<b>09</b>	Tableau de lecture de la galerie Api 20 E	<b>Annexe 02</b>
<b>10</b>	Table de NPP	<b>Annexe 04</b>
<b>11</b>	Table de Mac-Grady	<b>Annexe 04</b>
<b>12</b>	les caractères biochimiques des Entérobactéries	<b>Annexe 05</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
01	Localisation des zones humides des hauts plateaux	04
02	Photo de GaraetGuellif	04
03	Photo de Garaet Ank Djemel	05
04	Photo du ChottTinsilt	06
05	Photo de Garaet El Marhssel	06
06	Photo de Garaet El-Tarf	07
07	Photo du SebketDjendli	09
08	Photo de GaraetTimerganine	09
09	Carte de la situation géographique de la retenue collinaire Ourkis	11
10	Photo de la retenue collinaire d'Ourkis	11
11	la situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climagramme d'Emberger(Long 1974 in De Belair, 1990).	15
12	Diagramme pluvio-thermique de la région d'Oum El Bouaghi(1990-2010)	16
13	Quelques oiseaux d'eau de la retenue collinaire Ourkis	17
14	la flore de la retenue collinaire Ourkis	17
15	Localisation des points de prélèvement	20
16	Recherche et dénombrement des germes revivifiables	23
17	Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux en milieu liquide (NPP).	26
18	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux en milieu liquide	28



## LISTE DES FIGURES

19	Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfit-réducteurs (ASR)	30
20	Test d'Oxydase	36
21	Test du rouge de methyl et Vogesproskawer	38
22	Test d'indole	38
23	Aspect du test du catalase positif	42
24	Estimation du nombre des coliformes totaux	45
25	Estimation du nombre des coliformes fécaux	46
26	Estimation du nombre des streptocoques fécaux	47
27	Photos représentant les résultats de la recherche des <i>anaérobies sulfito-réducteurs</i> (ASR).	48
28	Photos représentant les résultats de la galerie biochimique classique d' <i>Escherichia. Coli</i>	51
29	Photo du Profil biochimique d' <i>Aéromonashydrophilap</i> par la galerie API20E	
30	Variations des températures de l'eau de la retenue collinaire	51
31	Variations de PH de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
32	Variations de la conductivité de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
33	Variations de TDS de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
34	Variations de la salinité de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
35	Taux d'EH de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
36	Variations des chlorures de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
37	Variations des nitrates de l'eau de la retenue collinaire	Annexe 01
38	Variations de l'oxygène dissous dans la retenue collinaire	Annexe 01
39	Variations des ortho phosphates dans la retenue collinaire	Annexe 01
40	Teneurs en nitrite dans la retenue collinaire d'Ourkis	Annexe 01

## ***LISTE DES ABRÉVIATIONS***

---

**-** : caractère négatif

**%** : pour cent

**+** : caractère positif

**°** : degré

**3D** : 3 dimensions

**ANRH** : Agence Nationale des Ressources Hydriques

**ASR** : Anaérobies sulfitoréducteurs

**BCPL** : Bouillon lactose au pourpre de bromocrésol.

**°C** : Degré Celsius

**CE** : Conductivité électrique

**CF** : Coliformes fécaux

**CT** : Coliformes totaux

**D/C** : Double concentration.

**DCF** : Direction de conservation des forêts

**DGS** : Direction Générale de la santé

**DDS** : Direction de la santé

**ETP** : Evapotranspiration

**Fig** : Figure.

**g/l** : Gramme par litre

**h** : Heure

**IND** : Indole.

**ISO** : Organisation Internationale de Standardisation

**LDC** : Lysine déshydrogénase.

**MedWet** : Initiative Méditerranéenne de la Convention Ramsar pour les Zones Humides

**MES** : Matières en suspension

**mg/l** : Milligramme par litre

**NPP** : Nombre le plus probable.

## ***LISTE DES ABRÉVIATIONS***

---

**OMS** : Organisation mondiale de santé.

**ONM** : Office national de la météo

**ONPG**: Ortho-Nitrophényle-B-D –Galactosidase.

**P** : Précipitations moyennes annuelles

**pH**: Potentielle Hydrogène.

**P<sub>1</sub>** : poids.

**P<sub>2</sub>** : prélèvement.

**Q<sub>2</sub>** : quotient pluviométrique.

**RM** : Rouge de méthyle.

**RMC** : Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et de Corse

**S/C** : Simple concentration.

**SF** : Streptocoque fécaux

**SIG** : Système d'information géographique

**T** : Température

**Tab** : Tableau

**TAC** : Titre Alcalimétrique Complet.

**TDA** : Tryptophane décarboxylase.

**TGEA** : Gélose numération : Gélostryptone-glucose-Extrait de levure.

**TH** : Titre hydrotimétrique

**TSI** : Triple Sagar Iron.

**UFC** : Unité formant colonie

**VF** : Viande Foie.

**VP** : VogesProskawer.



# *Sommaire*

Produced with ScanTOPDF

## Sommaire

Introduction	1
<b>Chapitre I description de site</b>	
I.1. Généralités sur les zones humides des hautes plaines de l'Est algérien	3
I.2. Les principales zones humides de la Wilaya d'Oum El Bouaghi	4
I.2.1. Garaet Guellif	4
I.2.2. Garaet Ank Djemel	5
I.2.3. Le Chott Tinsilt	5
I.2.4. Garaet El Marhssel	6
I.2.5. Garaet El-Tarf	7
I.2.6. Sebkhet Gémot	7
I.2.7. Chott El Maleh	7
I.2.8. Sebkhet Ezzémoul	8
I.2.9. Garaet boucif ou Ougla Touila	8
I.2.10. Sebkhet Djendli	8
I.2.11. Garaet Timerganine	9
I.3. Présentation et description du site d'étude : la retenue collinaire d'Ourkis	10
I.3.1. Historique	10
I.3.2. Situation géographique	10
I.3.3. Caractéristiques hydrologiques	10
I.3.4. Caractéristiques géologiques et géotechniques	10
I.3.5. Caractéristiques hydrotechniques	12
I.3.5.1. Digue	12
I.3.5.2. Prise d'eau et vidange de fond	12
I.3.5.3. Evacuation des Crues	12
I.3.6. Etude climatique	12
I.3.7. Synthèse climatique	14
I.3.8. Cadre biotique	16
I.3.8.1. La faune	16
I.3.8.2. la flore	17

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. L'objectif de l'analyse bactériologique	18
II.2. Mode de prélèvement	18
II.3. Transport et conservation des échantillons	19
II.4. Caractéristique des points de prélèvement	19
II.5. Examen bactériologique des eaux	20
II.5.2. Les coliformes	20
II.5.2.1. Les coliformes totaux	21
II.5.2.2. Les coliformes fécaux	21
II.6. Méthodes d'analyse bactériologique des eaux	21
II.6.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables	22
II.6.2. Recherche et dénombrement des coliformes	24
II.6.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	27
II.6.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries <i>Anaérobies Sulfito-Réductrices</i> (ASR)	29
II.6.5. Recherche des germes pathogènes	30
II.6.5.1. Recherche des <i>Staphylocoques</i>	31
II.6.5.2. Recherche de <i>Pseudomonasaeruginosa</i>	31
II.6.5.3. Recherche des <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>	32
II.6.5.3.1. Recherche de <i>Salmonella</i>	32
II.6.5.3.2. Recherche des <i>Shigella</i>	33
II.6.5.4. Recherche de <i>vibrio cholérique</i>	34
II.6.5.5. Tests complémentaires	34
II.6.5.5.1. Caractères morphologiques	35
II.6.5.5.2. Caractères enzymatique	36
II.6.5.5.3. Caractères biochimiques	36

## CHAPITRE III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats de la recherche des micro-organismes et de leur dénombrement	44
III.1.1. Les germes totaux	44
III.1.2. Les coliformes totaux	45
III.1.3. Les coliformes fécaux	45
III.1.4. Streptocoques fécaux	46



III.1.5. Les Anaérobies Sulfito-Réducteurs(ASR)	47
III.2.Recherche des germes pathogènes	48
III.2.1. Identification des souches bactériennes	48
III.2.1.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	48
III.2.1.2. Résultats de l'identification par la galerie biochimique classique	50
III.2.1.3.Résultats de l'identification par la galerie API 20E	51

Conclusion

Résumé

Références bibliographiques

Annexes

Produced with ScanTOPDF

## ***INTRODUCTION***

---

hydrologique et risque sur les biens et usages à l'aval, impact paysager, problèmes piscicoles, etc. Il est donc important de faire le point sur les connaissances actuelles concernant le fonctionnement, les impacts et les évolutions futures de ces nombreuses petites retenues dans la région des hautes plaines de l'est algérien.

En milieu semi-aride, l'étude de ces écosystèmes est souvent difficile en raison du manque d'informations suffisantes et la grande variabilité des situations. Cette variabilité est causée par le jeu complexe de paramètres géographiques, climatiques, hydrologiques, géochimiques et autres (Boukrouma, 2008).

Le but de ce travail est de déterminer la qualité bactériologique de l'eau de surface de l'un des écosystèmes aquatiques artificiels (la retenue collinaire d'Ain Fakroun-Wilaya d'Oum-El-Bouaghi) ainsi que leur impact sur l'environnement. Notre mémoire est structuré en trois Chapitres interdépendants.

**Le chapitre I :** réservé à la description de la zone d'étude (la retenue collinaire d'ourkis). Il rassemble une synthèse bibliographique concernant le site (la géologie, l'hydrologie, la climatologie et le cadre biotique).

**Le chapitre II :** Décrit la méthodologie utilisée pour la détermination de la qualité bactériologique de l'eau de cette retenue.

**Le chapitre III :** qui est sous forme de graphes et d'histogrammes expose les résultats obtenus au cours de la période de l'étude.



# *Chapitre I*

*Description de site*



### **I.1. Généralités sur les zones humides des hautes plaines de l'Est algérien :**

Le complexe de zones humides des hautes plaines de l'Est algérien, par sa diversité de plans d'eau, couvre une superficie très importante, qui dépasse 160 000 ha en crue, qui s'étale de Sétif (1 200 m) à Ain El-Beida (plus de 1000 m) sur à peu près 300 km et il est composé d'une vingtaine de milieux humides plus ou moins grands et plus ou moins salés. La plupart de ces milieux s'assèchent en été et d'autres ne se remplissent d'eau que durant les années de grandes pluviosités. (Boukrouma, 2011).

Les milieux humides les plus spacieux de ces hautes plaines se trouvent encerclés dans la région des Sebkhass enclavée entre les wilayas d'Oum El-Bouaghi (fig.01), de Khenchela et de Batna. Ces milieux sont dans leur majorité très salés, difficilement accessibles et très peu de littératures scientifiques les décrivent (Saheb, 2003). Certaines de ces zones humides de la wilaya d'Oum El-Bouaghi, Garaet Tarf, Garaet Guellif, Garaet Anka Djemel et El-Maghassel ainsi que Chott Tinsilt sont classées comme sites Ramsar et ce depuis 2004. Deux autres zones humides, Garaet Ezzemmoul et le lac de Timerganine viennent d'être classés récemment en 2008.

Ces milieux fragiles n'échappent pas à une dynamique de destruction sans pareille qui remet en cause l'existence d'un nombre très important d'espèces floristiques et faunistiques. En Algérie, il reste encore et beaucoup à sensibiliser tous les utilisateurs de l'eau et des zones humides à engager une profonde réflexion sur la gestion des écosystèmes aquatiques, car leur devenir à long terme dépend de leur gestion. De ces zones humides, l'homme en tire des profits inestimables entre autres la maîtrise des crues, la recharge des eaux souterraines, la rétention et l'exportation des sédiments et nutriments, l'épuration des eaux, la diversité biologique, les produits des zones humides, loisirs et tourisme et une valeur culturelle sure.. (Boukrouma, 2011).

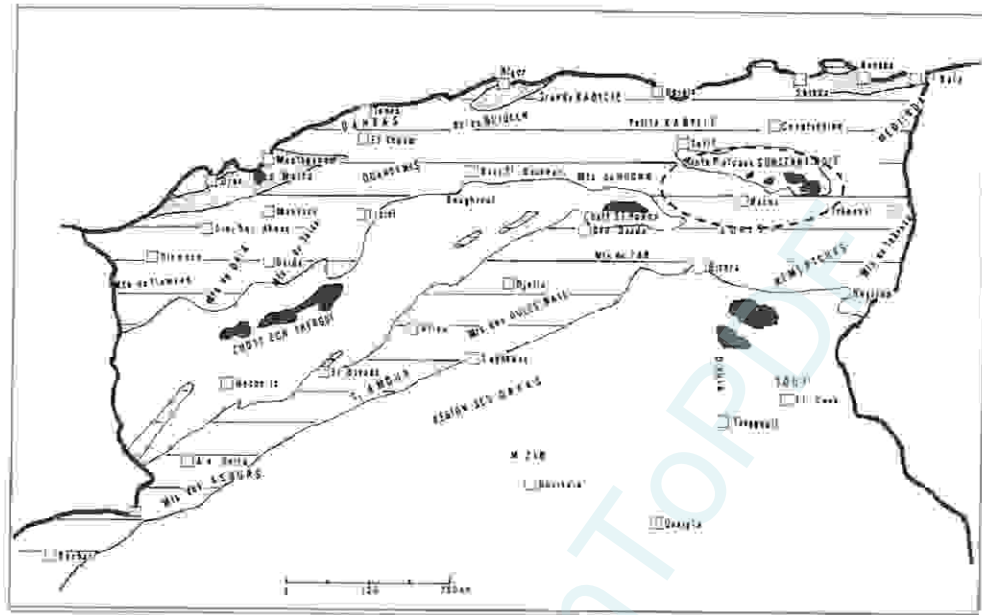


Figure.01. Localisation des zones humides des hauts plateaux.(Saheb, 2003).

## I.2. Les principales zones humides de la Wilaya d'Oum El Bouaghi:

### I.2.1.Garaet Guellif (35°45'34.75"N - 6°55'51.39"E):

Du point de vue administratif, Garaet Guellif dépend de la wilaya d'Oum El Bouaghi, de la Daira de cette dernière et de la commune d'Aïn Zitoun. Le site est situé à 12 Km au sud D'Oum El-Bouaghi et accessible à partir de la route reliant Oum El Bouaghi à Khenchela. Il est alimenté principalement par Oued Tallizerdane, Oued el Houassi et Oued Ourleiss le niveau d'eau est bas même au cours de la saison humide et l'évaporation très intense au point où la zone humide est mise à sec en quelques jours. Son eau est saturée en sel. (Boukrouma, 2011).



Figure.02. Photo de Garaet Guellif. (Boukrouma, 2011).

### I.2.2. Garaet Ank Djemel: (35° 46.298' N, 6° 52.00' E):

Administrativement, le site dépend de la wilaya d'Oum El Bouaghi, de la daïra de Ain fakroune et de la commune de Boughrara Saoudi, il avoisine Garaet el Gellif. Ce plan d'eau représente le deuxième plan d'eau de la région du point de vue superficie, il est temporaire, caractérisé par une eau salée, sa mise à eau se fait en automne et en hiver hormis ces deux saisons le plan d'eau est généralement sec. Cette zone humide est caractérisée par un réseau hydrographique très important dont ses principaux affluents sont Oued Tallizerdine et Oued Berrou. (Boukrouma; 2011).

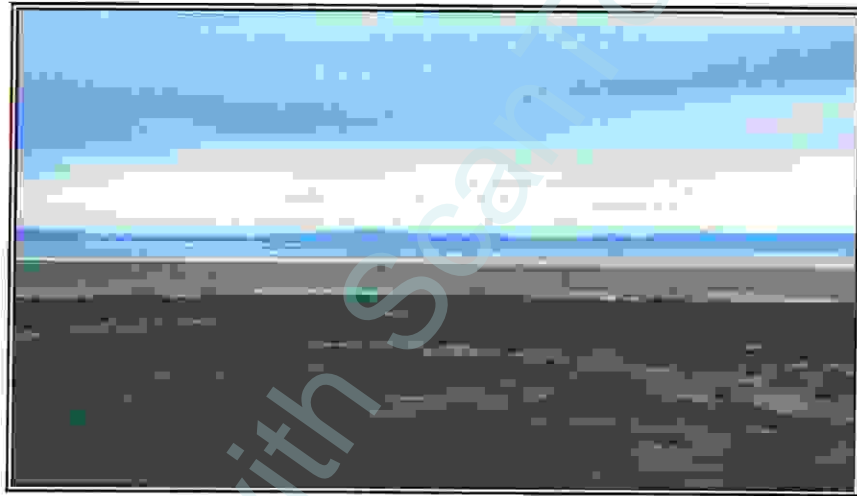


Figure.03. Photo de Garaet Ank Djemel (Boukrouma; 2011).

### I.2.3. Le Chott Tinsilt:

Le chott est situé sur le territoire de la Wilaya d'Oum El Bouaghi, daïra de Souk Naâmae commune d'Ouled Zouai. Il est distant de 17 km au Sud de Ain M'lila et longe la route nationale n° 3 reliant Constantine et Batna. La superficie inondable est de l'ordre d'environ 1000 ha, alors que la totalité du site y compris ses abords s'étend sur 3600 ha. (LAJEL, 1995). Le Chott est alimenté essentiellement par les eaux pluviales provenant de Oued Zerhaib, son eau est saumâtre avec une salinité moyenne, un pH alcalin et une profondeur qui varie assez régulièrement sans jamais dépasser 0,5 mètre. (D.G.F, 2004).

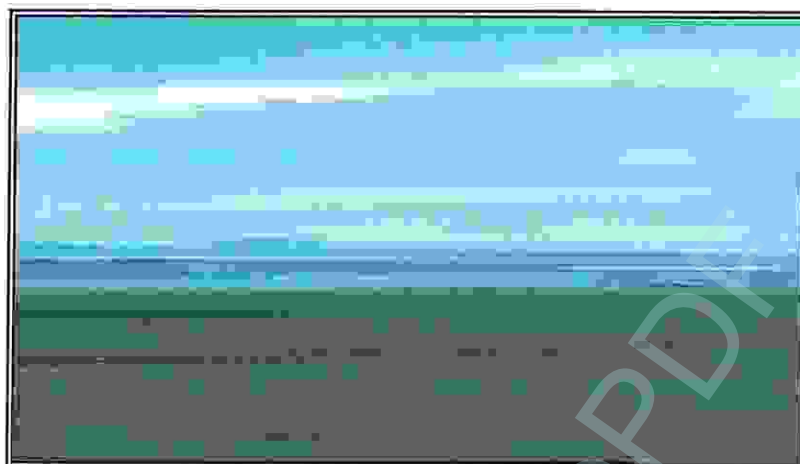


Figure.04. Photo du Chott Tinsilt. (Boukrouma; 2011).

#### I.2.4. Garaet El Marhssel (35° 48.528' N, 6° 44 437' E):

Au même titre que Garaet Ank Djemel, Garaet El Marhssel d'une superficie de 110 ha dépend de la wilaya d'Oum El Bouaghi, de la daïra d'Ain Fakroune et de la commune de Boughrara Saoudi. Le site en question est une dépression endoréique constituée de sols salés colonisés par une végétation halophile, enclavé entre une série de chaîne de montagnes constituée de Djebel El Marhssel à l'Ouest, la chaîne montagneuse d'Oum Kechrid au Nord et du Djebel Ank Djemel à l'Est et au Sud Est. (SAHEB, 2003). Le site est classé par la convention de Ramsar, comme site d'importance internationale le 15/12/2004.



Figure.05. Photo de Garaet El Marhssel.(Boukrouma; 2011).



**I.2.5. Garaet El-Tarf(35° 42'N, 7° 08'E):**

Garaet El-Tarf est la plus grande étendue d'eau de la région. Elle est classée site Ramsar depuis 2004. Elle s'étale sur une superficie totale de 25 500 ha. Elle est située aux piedmonts du Djebel El-Tarf (1 180 m) et elle est alimentée principalement par Oued Boulefreiss, Oued Maarouf, Oued Remila et Oued Gueiss qui prennent naissance dans les Aurès. Elle est entourée de plusieurs petits chotts satellites dont les plus importants sont le Chott El-Melah (875 ha), le Chott El-Oussera (135 ha), le Lac de Timerganine (570 ha) (35°34.655' N, 6° 58.275' E) et Garaet Biar Es-Sebaa (200 ha). (Boukrouma; 2011).



**Figure.06. Photo de Garaet El-Tarf.**(Boukrouma; 2011).

**I.2.6. Sebket Gémot (35° 38.708' N, 7° 00.825' E):**

Ce plan d'eau de 57 ha, constitué en réalité une Sebkhia satellite de Garaet El-Tarf. Il est actuellement coupé en deux par la route nationale 83 reliant Oum El-Bouaghi à Khenchela. (Boukrouma; 2011).

**I.2.7. Chott El Maleh:**

Ce plan d'eau situé au Sud de Garaet El-Tarf. Il occupe une superficie maximale de 875 ha, il se trouve dans le Henchir de Gorai et d'après les habitants de la région, ce Chott se remplit d'eau très rarement. (SAHEB, 2003).

Ces deux petits plans d'eau (340 ha et 950 ha) sont situés au Nord de la route wilaya le N°38 reliant Khenchela à Zoui, sont alimentés continuellement par Oued Ourhal et Oued

Gueuntis qui déversent dans Oued Meskiana via Oued El-Melah. Ils sont encerclés par Djebel Chettaïa à l'Ouest, Djebel Tafrennt au Nord, Djebel Tadelist et Djebel Tadinart au Sud, alors qu'à l'Est ils s'ouvrent sur la plaine de Dhalaa. Aucune route n'y mène directement. IL se trouve entouré par une série de montagnes constituée principalement de Djebel El-Marhsel à l'Ouest, la chaîne montagneuse d'Oum Kechrid au Nord et du Djebel Annk Djemel à l'Est et au Sud-Est, alors qu'au Sud la Garaet s'ouvre sur Sebket Annk Djemel. Le pourtour de la Garaet et les flancs des chaînes montagneuses renferment une végétation très diversifiée et peu connue. Elle est dominée par la famille des Crucifères. (SAHEB, 2003).

#### **I.2.8. Sebket Ezzemoul(35° 53.137'N, 6° 30.200'E):**

La Sebket Ezzemoul se trouve à l'Est du chott Tinsilt, elle est séparée de ce dernier par la RN n° 3 reliant Constantine à Batna, elle fait l'objet d'une exploitation de sel. C'est une zone humide temporaire, qui ne se remplit que durant la saison hivernale. (Boukrouma, 2011).

#### **I.2.9. Garaet boucif ou Ougla Touila (35° 47.211' N, 7° 04.991' E):**

Cette étendue d'eau de petite superficie (170 ha) constitue la Sebka la plus proche de la ville d'Oum El-Bouaghi. Elle se trouve dans la plaine de Medfoun, aux pieds de Kef Boucif (Djebel El-Tarf) qui la délimite dans sa partie méridionale. Ougla Touila appelée aussi Ouglet Boucif, présente une forme étirée qui lui confère d'ailleurs son appellation. La partie Sud-occidentale, sous Kef Boucif est dominée par des habitations dispersées dont le nombre augmente continuellement. Les riverains utilisent les sols entourant la Sebka pour la culture du Blé dur, mais dans les endroits difficiles au labour nous observons une végétation très diversifiée (Boukrouma; 2011)

#### **I.2.10. Sebket Djendli(35° 42.000'N, 6° 31.554'E):**

Sebka de Djendli (3 700 ha) est enclavée entre trois chaînes montagneuses, Djebel Bou Arif au Sud, Djebel Toumbaït et Djebel Tafraout au Nord et à l'Ouest. Par contre à l'Est, elle s'ouvre sur les plaines de Boulhilet et de Chemora. Un grand nombre de constructions paysannes sont à noter dans tout le secteur méridional du plan d'eau. Ils'agit principalement de fermes agricoles et de petites habitations dispersées.

Ce plan d'eau est alimenté principalement par Oued Farerh qui prend naissance dans les chaînes montagneuses de Bou Arif. (Boukrouma; 2011).

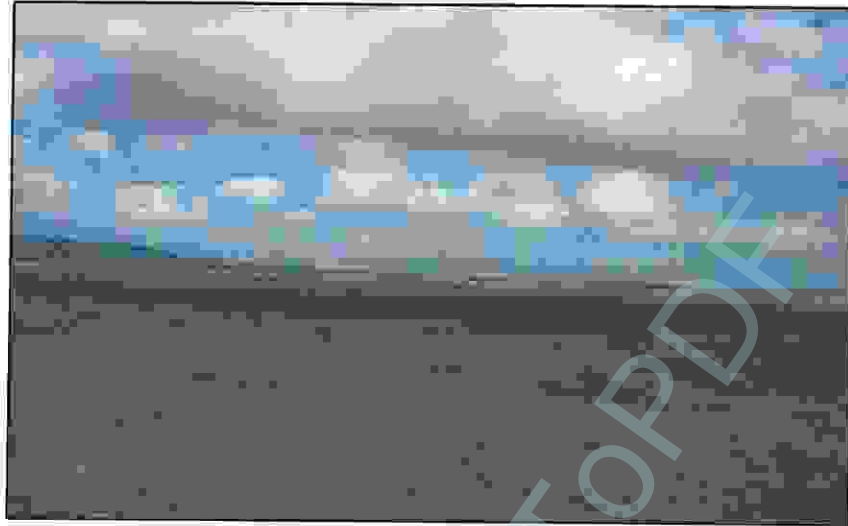


Figure.07. Photo du Sebket Djendli (Boukrouma; 2011).

**L2.11. Garaet Timerganine (35°39.241' N 06°57.468' E):**

La région de Timerganine est marquée essentiellement par l'endoréisme qui se traduit par l'existence d'une multitude de cuvettes, soit des cuvettes de décantation inondées occasionnellement, soit des cuvettes d'inondation fréquemment inondées lors des crues de l'Oued Boulafrass. (BENAZZOUC, 1986). En effet, Garaet Timerganine d'une superficie de 250 ha, perchée à une altitude de 840 à 860 m.

**Garaet**

Timerganine est situé à 26 km au sud de la ville d'Oum El Bouaghi, elle est limitée au Nord par la route reliant la commune d'Ain Zitoune à celle de Chemora (Wilaya de Batna), au Sud par la plaine de Remila, à l'Ouest la commune d'Ain zitoune et à l'Est la route reliant la Wilaya d'Oum El Bouaghi à Khenchela. (Guergueb; 2012).



Figure.08. Photo du Garaet Timerganine (Guergueb; 2012):



### I.3. Présentation et description du site d'étude : la retenue collinaire d'Ourkis :

#### I.3.1. Historique :

L'étude du projet de la retenue collinaire sur l'Oued Ourkis (Fig 09), située dans la wilaya d'Oum El- Bouaghi a été effectuée par le bureau d'études Hydro Projets Est, en 1998. L'ouvrage a été construit par l'entreprise NAFT Construction a duré du 14 mars 2002 au 09 mars 2004. (Boukrouma, 2008).

#### I.3.2. Situation géographique :

La retenue collinaire d'Ourkis (35°56'N, 006°56'E) occupe une superficie totale de 55 hectares. Elle est alimentée principalement par oued ourkis, les eaux pluviales et les ruisseaux et elle est destinée à irriguer les terres agricoles en aval. La retenue située juste après la commune de Touzline est facilement accessible à partir de la R.N 10 qui relie Oum El-Bouaghi et Constantine.

#### I.3.3. Caractéristiques hydrologiques :

-Surface du bassin versant.....	11,85Km <sup>2</sup>
-Crue centennale.....	55cm <sup>3</sup> /s
-Apport annuel moyen.....	0, 68Hm <sup>3</sup> /an
-Capacité de la retenue.....	0, 179Hm <sup>3</sup>

#### I.3.4. Caractéristiques géologiques et géotechniques :

Le projet d'exécution a été élaboré à partir de l'étude de faisabilité géologique et géotechnique. Le site et la cuvette sont géologiquement favorables, ils sont composés d'imperméables. Au niveau de la cuvette, existent des matériaux d'emprunt argileux convenables pour la projection d'une digue en terre homogène. Les matériaux d'enrochement ; les filtres et les drames sont exploités à partir de la carrière de Ain Zitoune, Située à 60 Km du site. Les essais de laboratoire ont permis d'interpréter les caractéristiques physiques des sols alluvionnaires dans la base de la digue et des essais physico mécaniques sur des sols argileux dans la base de la digue et dans la zone d'emprunt, à l'état naturel et à l'état compacte ( Boukrouma 2008).

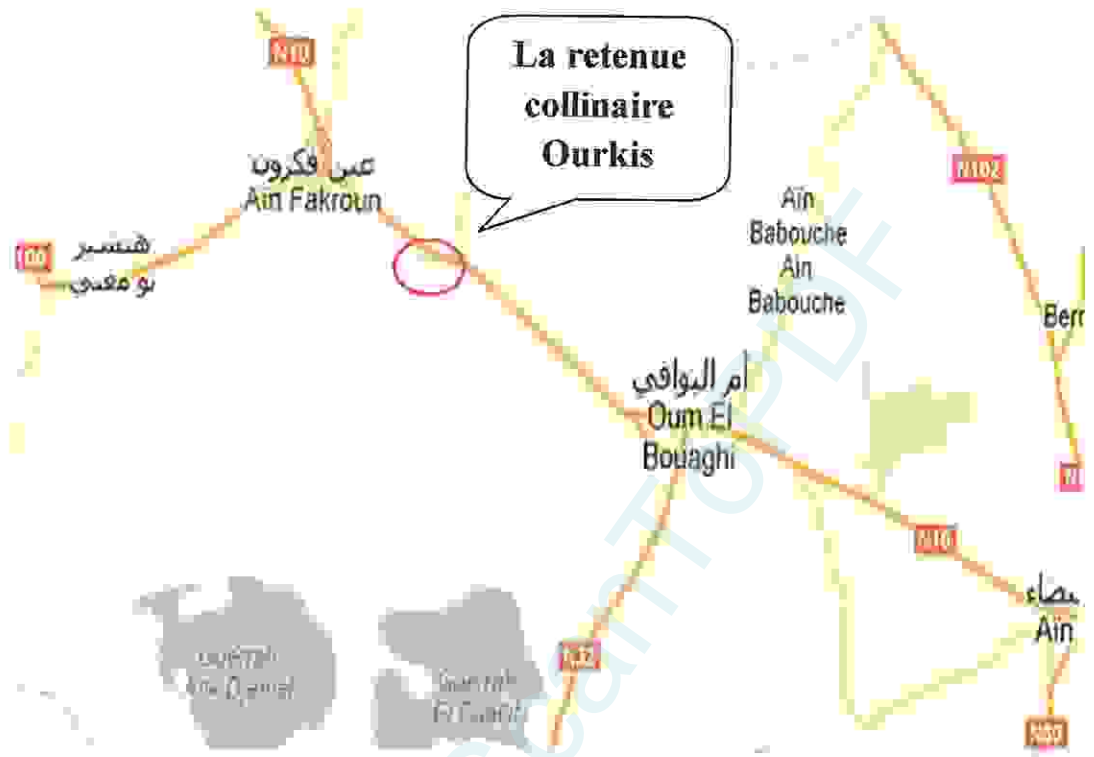


Figure.09. Carte de la situation géographique de la retenue collinaire de Ourkis (Oum El Bouaghi) (Google Earth 2012).



Figure.10. Photo de la retenue collinaire d'Ourkis



**I.3.5. Caractéristiques hydrotechniques :****I.3.5.1. Digue :**

Dans le projet, le choix a été arrêté sur une digue homogène, les principaux paramètres de la digue sont :

Hauteur.....	11,40m
Longueur en crête.....	291, m

**I.3.5.2. Prise d'eau et vidange de fond :**

Les conduites sont en acier enrobées de béton armé de 80 m de longueur. L'évacuation s'effectue par des vannes de vidange rapide dans l'Oued.

L'ouvrage est composé de :

Un canal d'amenée, une conduite, une chambre de vannes, un bassin de dissipation, un canal de sortie.

**I.3.5.3. Evacuation des Crues :**

Elle est de type « frontal » et située sur la rive gauche avec un déversoir de type trapézoïdal. La largeur du seuil est égale à 8 m avec une charge de 1,36 m et un débit maximal de 24,2 m<sup>3</sup>/s. L'ouvrage est composé de :

Une Canal d'amenée convergent et pente inverse, un Déversoir, un Pied prismatique du déversoir, une Transition, un coursier, un Bassin de dissipation avec trajectoire, une canal de sortie.

**I.3.6. Etude climatique :**

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, notamment les précipitations qui constituent le facteur essentiel intervenant par leurs répartitions mensuelles et journalières.

Ces différents aspects des précipitations plus ou moins modifiés par l'effet combiné des autres paramètres physiques (altitude et exposition), et climatique (température et évapotranspiration), permettent d'expliquer quantitativement les variations des composantes du régime hydrologique de la région d'étude (Solter, 1999).

Tableau. 01: les Données climatique de la station d'Oum El-Bouaghi (1990-2010)

Paramètres	Température	Précipitation	Moyenne	Moyenne
Mois	moyenne mensuelle (°C)	moyenne mensuelle (mm)	mensuelle des températures maximales (°C)	mensuelle des températures minimales (°C)
Janvier	6.55	43.47	11.0	8.31
Février	7.43	26.8	11.9	6.17
Mars	10.7	37.06	15.61	7.94
Avril	14.55	34.95	19.71	9.99
Mai	19.55	47.43	24.95	14.45
Juin	24.71	22.17	30.94	19.23
Juillet	28.08	12.2	34.33	21.81
Août	26.73	21.48	32.34	21.21
Septembre	22.03	47.87	27.42	16.82
Octobre	18.66	39.1	22.99	15.54
Novembre	16.11	41.21	20.25	12.53
Décembre	6.78	56.82	9.57	4.8

**Moyenne annuelle des précipitations 35.88**

Les données climatiques récoltes sur une période de trentesans, nous font ressortir les caractéristiques suivantes :

\* La température maximale du mois le plus chaud est enregistrée pendant le mois de juillet (soit 34.7°C).

\* La température minimale du mois le plus froid est enregistrée pendant le mois de janvier et février est 1.4°C.

\* Les précipitations annuelles enregistrées équivalent à 415.2 mm

### 1.3.7.Synthèse climatique :

Selon Emberger (1963), la région méditerranéenne est subdivisée en cinq étages bioclimatiques. Pour déterminer l'étage de la zone d'étude, nous avons procédé au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger ( $Q_2$ ) sur une même période allant de 1974 à 2004 d'après la formule suivante

$$Q_2 = \frac{100 \cdot P}{\left[ \frac{M+m}{2} \right] \cdot (M - m)}$$

D'où

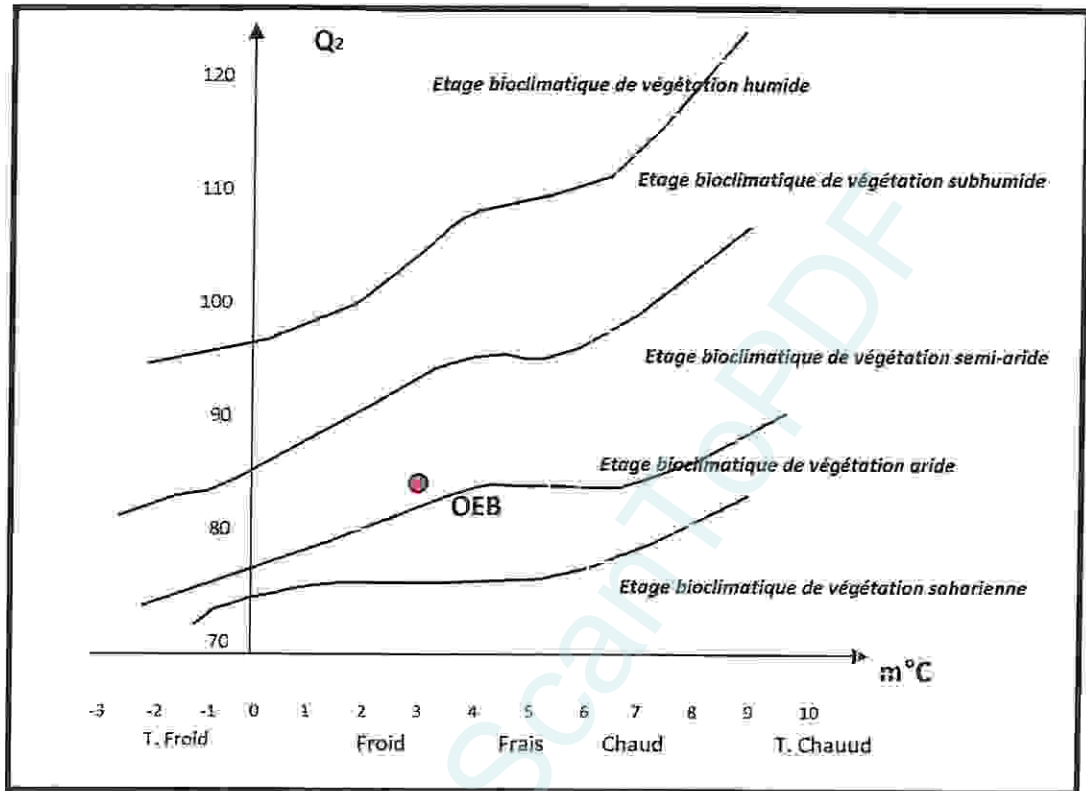
**M** : moyenne du maxima du mois le plus chaud ( $M=34.7=305.9K$ )

**m** : moyenne du minimum du mois le plus froid ( $m=1.4c^{\circ}=273.8K$ ).

**P** : précipitations moyennes annuelles.

D'où :  $Q_2$  de la station d'étude est égale à 31.05.

Cette valeur rapportée sur le climagramme d'Emberger permet de classer la région d'Oum El Bouaghi dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais (Fig11).



**Figure.11. la situation de la région d'Oum El-Bouaghi dans le climogramme d'Emberger (Long 1974 in De Belair, 1990).**

L'expression graphique du diagramme de Bagnouls et Gaussen (1933) sert à mettre en évidence une éventuelle période de sécheresse. Elle fait intervenir deux facteurs : la température et les précipitations. La Figure 12 permet de mettre en évidence une période sèche qui s'étale entre les mois de juin et d'octobre (Angot, 1981, Emberger, 1971).

Les données météorologiques fournies par la station d'Oum El Bouaghi 1995-2005. le tracé du graphique (lediagramme Pluvio-thermique) (fig. 12) selon la méthode de Bagnouls et Gaussen qui nous permet de calculer la durée de la saison sèche en portant la pluviométrie moyenne annuelle et la température sur des axes où le premier est pris à une échelle double du second.

La saison sèche apparaît lorsque la courbe des précipitations rencontre et passe sous celle des températures (Bagnouls et Gaussen, 1957). Ceci fait ressortir une période sèche qui s'étale sur six mois allant du mois de mai jusqu'au mois de novembre.

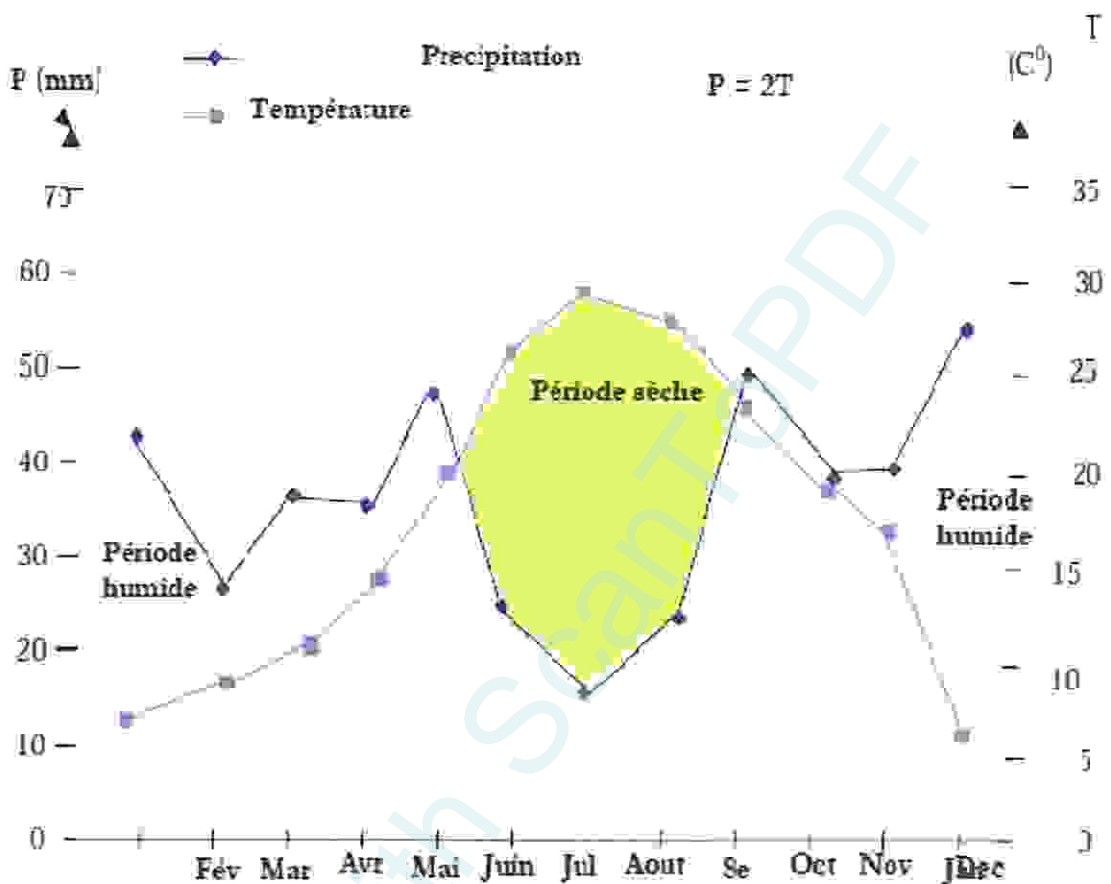


Figure.12.diagramme pluvio-thermique de la région d'Oum El Bouaghi(1990-2010).

**I.3.8. Cadre biotique :**

**I.3.8.1.La faune :**

Les populations avienne ont été estimée à une vingtaine d'espèces d'oiseaux d'eau dont les principaux sont : le Canard souchet (*Anas clypeata*), le Canard siffleur (*Anas penelope*), le Canard Colvert (*Anas platyrhynchos*), le Fuligule Miloin (*Aythyaferina*), le Fuligule Morillon (*Aythyafuligula*), la Foulque Macroule (*Fulicaatra*) , le Héron Cendré (*Ardea cenerea*), le Grèbe Castagneux (*Podicepsruficollis*). Le plan d'eau est aussi fréquenté par de nombreux Amphibiens et reptiles ( lézard, couleuvres d'eau).Cependant dans le site la direction des forets de la Wilaya d'MOum El-Bouaghi a introduit en 2004 pour un but de commercialisation la carte chinoise.(Boukrouma.2008).





Figure.13. quelques oiseaux d'eau de la retenue collinaire Ourkis

**I.2.7.2. la flore :**

La retenue collinaire d'Ourkis est entourée par une végétation représentée essentiellement par des crucifères, des composées, des liliacées.etc.

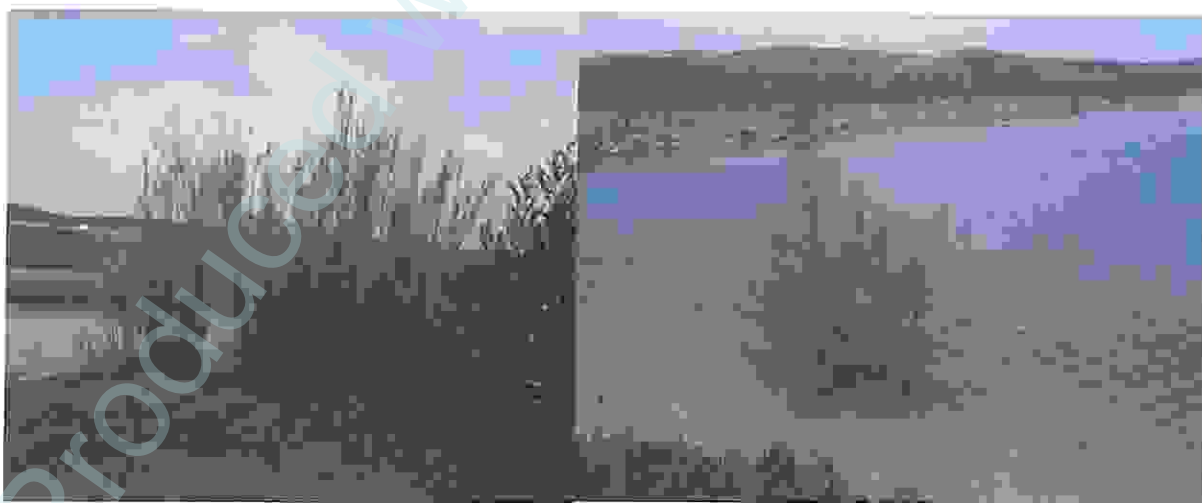


Figure.14. la flore de la retenue collinaire Ourkis



# *Chapitre II*

*Matériel et méthodes*

### II.1. L'objectif de l'analyse bactériologique des eaux:

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les 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 souvent présentes dans l'intestin des mammifères et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale et donc des maladies associées à la contamination fécale. On peut noter que l'absence de contamination fécale ne laisse en rien présager l'absence d'espèce potentiellement pathogène (Exemple : *Legionella*, *Pseudomonas*...). (Rodier et al, 2009). La chaîne prélèvement - Conservation-analyse doit être cohérente afin de maintenir l'intégrité de l'eau à étudier (Alain et Roger, 2004).

### II.2. Mode de prélèvement :

Le prélèvement correspondant à la prise d'un certain volume représentatif du milieu, et l'échantillonnage qui consiste à soutirer des fractions du prélèvement (échantillons) sont des étapes importantes dans l'acquisition des résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée. (Rodier et al, 2009). Le prélèvement d'échantillons d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. L'échantillon homogène et représentatif il ne doit pas modifier les caractéristiques de l'eau.

Les prélèvements destinés à l'analyse microbiologiques ont été réalisés dans des flacons en verre de 250ml munis d'un bouchon à vis métallique. Avant l'usage, ces flacons avec les bouchons doivent être soigneusement lavés, puis rincés avec une eau déminéralisée car il ne doit rester aucune trace d'un éventuel détergent ou antiseptique. Les flacons d'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement une fois l'échantillon prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse. (Rodier et al, 2009).

L'échantillon destiné à l'analyse est prélevé de façon à être le plus exactement possible représentatif du milieu d'où il provient (Rodier et al. 2009). Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont prolongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels.

Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'au bord, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport. (Rodier et al, 2005).

Les flacons doivent être soigneusement et clairement étiquetés après les prélèvements et accompagnés de renseignements descriptifs précis ; le nom du site, la date, l'heure et l'ordre de prélèvement, pour éviter toute confusion.

**II.3. Transport et conservation des échantillons :**

Pour les analyses qui seront faites au laboratoire, il faut que les échantillons d'eau soient acheminés dans les meilleurs délais. Si la durée du transport dépasse 1 heure, et si la température extérieure est supérieure à 10°C, les prélèvements seront transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 1 à 4°C. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon. (Rodier et al, 2009).

**II.4. Caractéristique des points de prélèvement :**

Dans le cas d'un lac ou d'une retenue d'eau, il y a lieu de choisir plusieurs points de prélèvements (Rodier et al. 2009). Ainsi, deux points de prélèvement (P1, P2) ont été sélectionnés pour la recherche bactériologique (Tab.01), les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau de laboratoire de la DDS de Guelma.

Tableau.02. Caractéristique des points de prélèvement.

Sites	Prélèvement	Date de prélèvement	X	y	Caractéristique des points de prélèvement.	Nature de prélèvement et type d'analyses effectuées
S <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	17/03/2012	N	E	Près de la route Nationale et présence de la végétation	Eau bactériologique
	P <sub>2</sub>		35°56'292"	006°56'275"		
S <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> <sup>^</sup>	22/04/2012	N	E	Absence de la végétation	
	P <sub>2</sub> <sup>^</sup>		35°56'099"	006°56'266"		



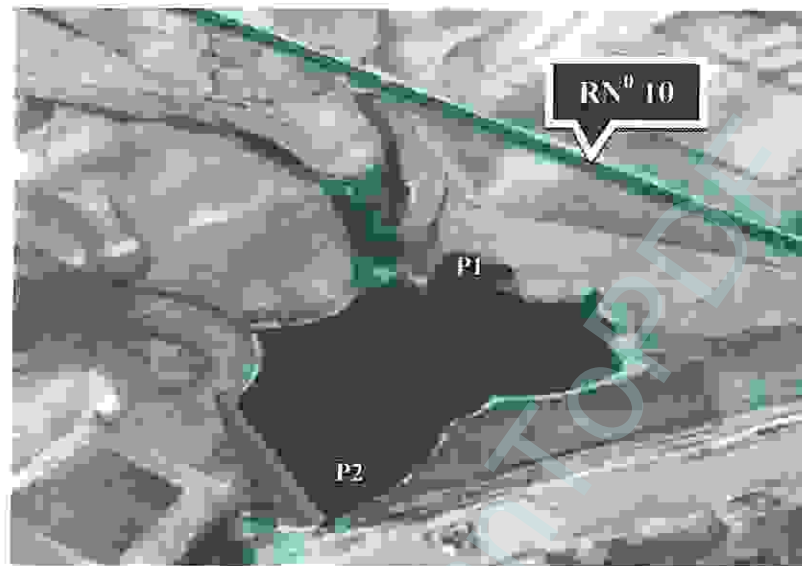


Figure.15. Localisation des points de prélèvement. (Google Earth, 2012)

## II.5. Examen bactériologique des eaux:

L'étude de la variation de la population bactérienne globale, la recherche des bactéries d'origine fécale et des bactéries pathogènes sont les trois grandes lignes des analyses bactériologiques des eaux.

### II.5.1. Les bactéries revivifiables :

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C et 72h à 22°C)(Bourgeois et Leveau, 1980). Bien que la présence en grande quantité de bactéries revivifiables où 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). Certes, il n'y a pas toujours des relations étroites entre une valeur élevée de la microflore totale aérobie mésophile et la présence de microorganismes pathogènes, mais on considère qu'il n'y a pas de risque pour la santé si cette microflore totale est importante (Rodier et al. 2009).



### II.5.2. Les coliformes :

La définition suivante a été adoptée par l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO). Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C".

#### II.5.2.1. Les coliformes totaux :

Les coliformes totaux (CT) appartiennent à la famille des Entérobactéries ; ce sont des microorganismes en forme de bâtonnets, non sporogènes, à Gram négatif, ne possédant pas d'oxydase, aérobies ou anaérobies facultatifs, capable de croître en présence de sels biliaires, autres agents de surface ayant des propriétés inhibitrices de croissance analogues et capables de fermenter le lactose avec production d'acide (ou d'aldéhyde) et de gaz en 24 heures à la température de 37°C.

Les principaux genres inclus dans ce groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*, ainsi la presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représente pas de risque directe pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*E. coli* et de rares bactéries pathogènes opportunistes.

#### II.5.2.2. Les coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux (CF), ou coliformes thermo-tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capable de fermenter le lactose à une température de 44°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*), dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90% des coliformes fécaux détectés bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale. 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 ± 2°C.

### II.6. Méthodes d'analyse bactériologique des eaux :

"Un jugement sur la qualité bactériologique d'une eau ne peut être porté une fois pour toutes, à la suite d'une analyse initiale ; il doit, au contraire, dépendre d'une surveillance analytique". (Rodier et al. 2009).

### II.6.1. Recherche et dénombrement des germes revivifiables :

La recherche et le dénombrement des germes revivifiables se réalisent à deux températures différentes afin de cibler à la fois les microorganismes à tendance psychrophiles soit à 22°C et ceux mésophiles soit 37°C(Rejsek, 2002).

#### Principe

Il s'agit d'une technique de numération des microorganismes après incorporation de volumes déterminés d'échantillon ou de ces dilution dans un milieu gélosé(Rejsek, 2002).

#### A) Mode Opératoire

A partir de l'eau à analyser (solution mère), porter aseptiquement 1 ml en double dans le fond de deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage comme l'indique la fig. 17, puis compléter en suite avec environ 15 à 20 ml de gélose TGEA fondue, maintenue à 45°C. Agiter doucement par un mouvement circulaire et de va-et-vient en forme "8" pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire de bulles d'air et sans mouiller les bords de la boîte. Le milieu doit être coulé 10 minutes au plus tard après reproduction de l'eau à analyser, on laisse solidifier sur la paillasse, puis on rajoute une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose.

On fait retourner les boîtes et on incube le premier lot à 37°C pendant 48 heures et le second à 22°C pendant 72 heures avec:

- ✓ Une première lecture à 24 heures
- ✓ Une deuxième lecture à 48 heures,
- ✓ Et une troisième lecture à 72 heure(Rejsek, 2002).

#### B) 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. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer ensuite la valeur du nombre N<sub>22</sub> de microorganismes revivifiables à 22 ± 2°C à part et celle du nombre N<sub>36</sub> de microorganismes revivifiables à 36 ± 2°C à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

Où :

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

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

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final des microorganismes revivifiables dénombrés à 22°C et à 37°C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10<sup>x</sup> où x est la puissance appropriée de 10. (Labres et al, 2008).

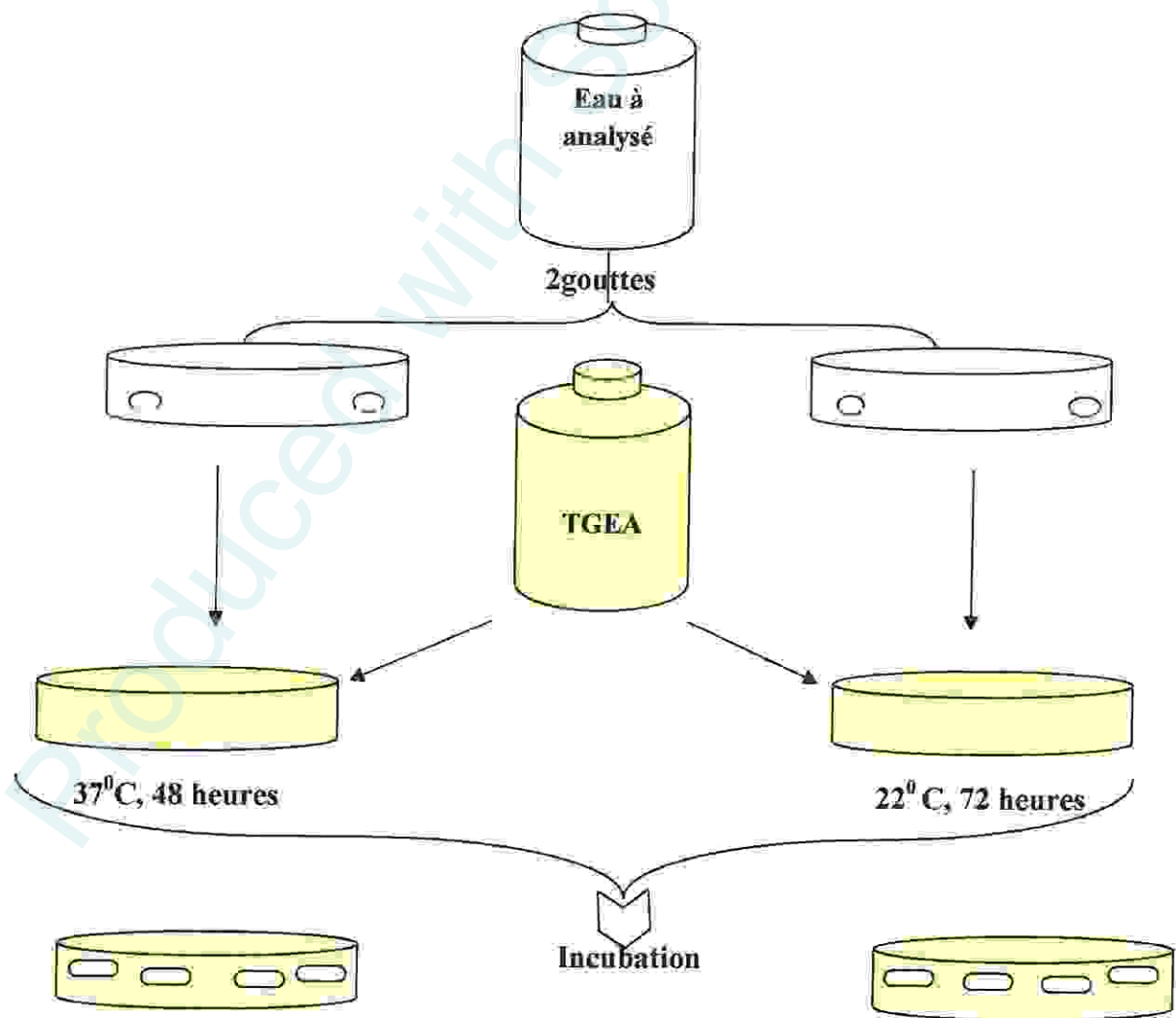


Figure.16. recherche et dénombrement des germes revivifiables.



### II.6.2. Recherche et dénombrement des coliformes :

La recherche et le dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo-tolérants et des *Escherichia coli* dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives :

- \_ La recherche présomptive des coliformes.
- \_ La recherche confirmative des coliformes et coliformes fécaux.

#### A) Test présomptif

On dispose des tubes à essai contenant du BCPL (+cloches). Dans le portoir, les tubes sont séparés en séries de trois alignés en deux rangées selon les échantillons.

On verse alors 10ml de notre échantillon d'eau prélevée à partir d'une pipette graduée dans les 3 premiers tubes contenant le BCPL D/C (double concentration), 1ml de l'échantillon dans la deuxième série S/C (simple concentration) et 0,1 ml de l'échantillon dans la dernière série S/C. On répète la même opération pour le deuxième site.

Après avoir versé l'échantillon dans les milieux, on vérifie la présence de gaz qui indique l'existence de germes se manifestant par la présence de bulles de gaz dans le milieu (la cloche). Les tubes sont soumis à l'incubation pendant 24 heures.

#### \*Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- 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).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

**B) Test de confirmation**

Le test de confirmation est basé sur la recherche de Coliformes thermo-tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*. Les Coliformes thermo-tolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C. Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans tube contenant le milieu Schubert (milieu indole mannitol) muni d'une cloche de Durham.

-Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

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

- **Lecture**

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

-Un dégagement gazeux.

-Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole (anneau rouge en surface) par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes de réactif de kowacs.

-Par la suite, on note le nombre des tubes positifs et on exprime le résultat selon la table de Mac Grady. Annexes 4) pour déterminer le nombre le plus probable (N.P.P) de coliformes fécaux par 100 ml d'échantillon. (Bourgeois et Leveau, 1980).



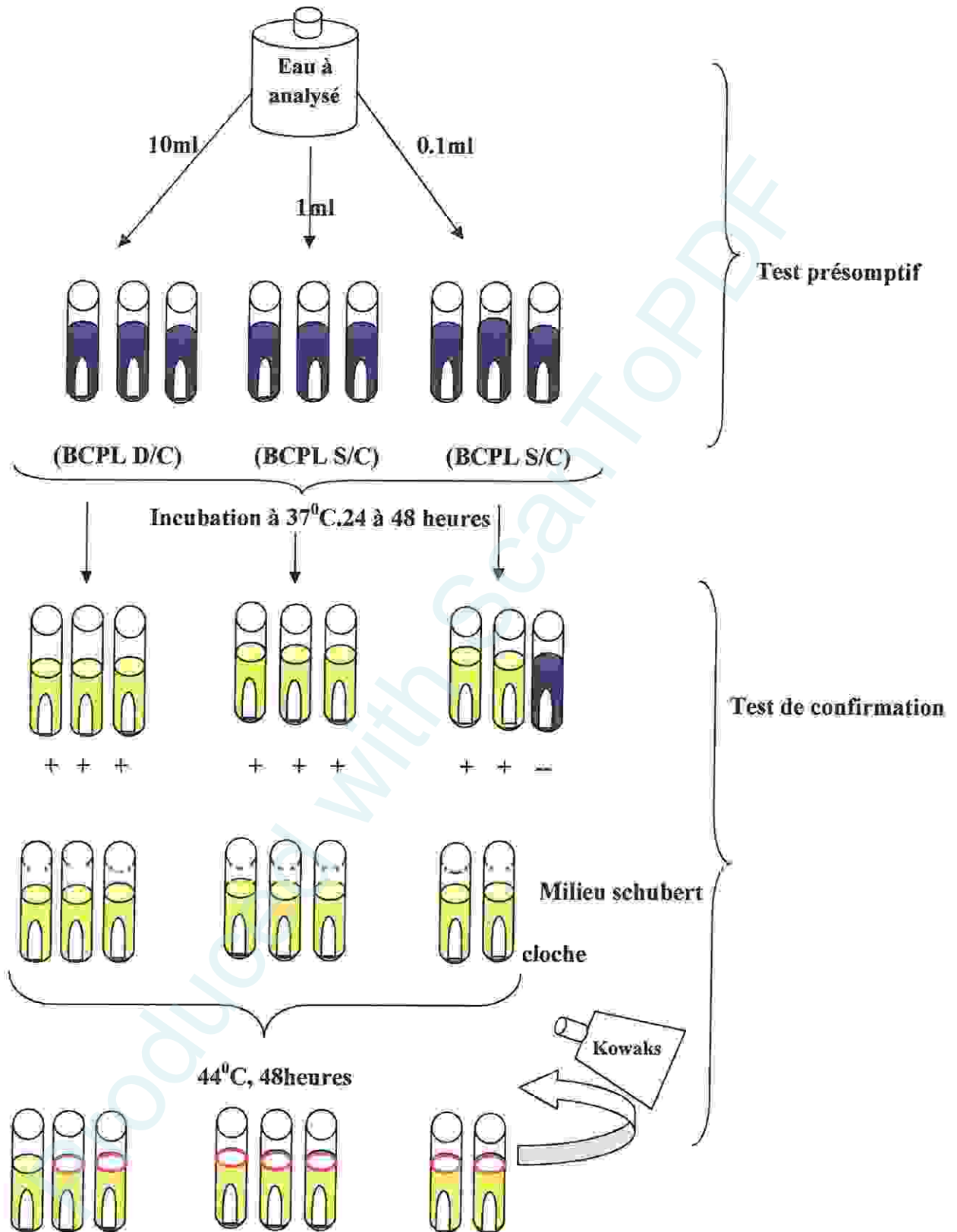


Figure. 17. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, en milieu liquide (NPP).

### II.6.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :

Anciennement la législation parlait de « streptocoques fécaux ». (Rodier et *al.*, 2009), ou streptocoques du groupe «D» de la classification de Lancefield, ou encore les entérocoques intestinaux, sont des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes, (Bourgeois et Leveau, 1980) 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'azote de sodium en donnant des colonies caractéristiques réduisant le TTC et qui de plus hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C.

Les Streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide à l'aide de deux bouillons de culture (milieu de Rothe et le milieu Eva Litsky). Cette méthode fait appel à deux tests consécutifs à savoir: test de présomption suivi du test de confirmation.

#### ➤ Mode opératoire

##### A. Test présomptif

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

Les tubes présentant un trouble microbien Seront considérés comme positifs. (Rejsek, 2002; Délarras, 2008).

##### B. Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption. La présence de streptocoques se traduit par un trouble plus ou moins important et la formation d'une pastille violette au fond du tube (Roux, 2003). Les tubes de Rothe trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage dans tube contenant le milieu Eva Litsky (bouillon à l'éthyle violet et aide de sodium), l'incubation se fait cette fois-ci à 37°C, pendant 24 heures.

##### • Lecture

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

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.
- La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (Annexes 4).(Roux, 2003).



#### II.6.4. Recherche et dénombrement des spores de bactéries Anaérobies Sulfite - Réductrices (ASR) :

- **Mode opératoire**

A partir de l'eau à analyser :

- Transférer environ 25ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 75°C pendant 15 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfite-réductrices éventuellement présentes. Un autre flacon rempli d'une autre eau servira de témoin de température.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
- Repartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à  $47 \pm 1^\circ\text{C}$ , additionnée de leurs additifs spécifiques.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ , pendant  $44 \pm 4$  heures. (Labres et al., 2008).

- **Lecture et interprétation**

La première lecture doit être absolument faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries Anaérobies Sulfite-Réductrices sont envahissantes sinon on se trouvera en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales de  $10^{-1}$  voire  $10^{-2}$ . La deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième dernière à 48 heures. Dénombrer toutes colonies noires de 0,5 mm de diamètre ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml d'eau à analyser. (Labres et al., 2008).



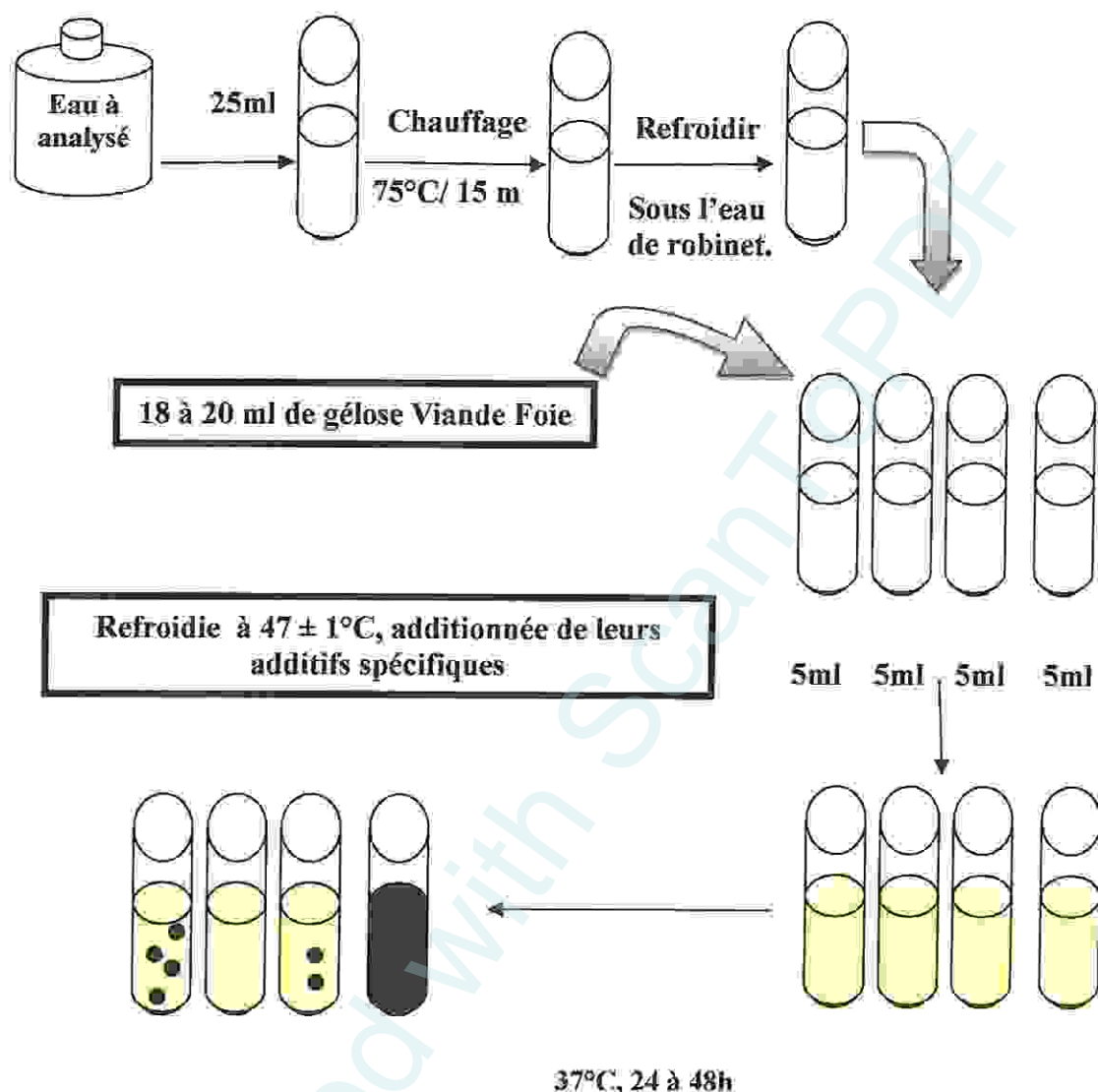


Figure.19. Recherche et dénombrement des Spores d'Anaérobies Sulfite-Réducteurs (ASR)

#### II.6.5. Recherche des germes pathogènes :

Nous avons utilisé cinq milieux sélectifs présentant des caractéristiques différentes et un milieu non sélectif qui nous permettra l'observation macroscopique de toutes les colonies.

- ✓ La gélose Nutritive Ordinaire (GN) qui est un milieu non sélectif est utilisée pour l'observation macroscopique des différentes colonies de la semence.

- ✓ Milieu Chapman est sélectif pour les bactéries Gram(+) halophilles autrement dit les Staphylocoques ou les microcoques.
- ✓ Les autres milieux, Gélose Mac Conkey, Gélose Héctoén, Gélose SS (*Salmonella-Shigella*) sont utilisés pour l'isolement des bactéries Gram(-)(les entérobactéries).

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.

**Remarque :** toutes les colonies se développant hors des stries d'isolements seraient une contamination possible.

#### II.6.5.1. Recherche des Staphylocoques :

- **Mode opératoire**

On prépare les boîtes pétrie avec le milieu Chapman (Rodier, 1996). A partir de la solution mère, on porte aseptiquement 0,1 ml (2 gouttes) dans les boîtes de Pétri qu'on étale à l'aide d'une anse de platine stérile. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures.

- **Lecture et interprétation**

Après la période d'incubation spécifiée, les Staphylocoques à coagulase positifs ou plus particulièrement staphylococcus aureus, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc.(Rodier, 2009)

#### II.6.5.2. Recherche de *Pseudomonas Aeruginosa* :

- **Isolement**

L'isolement se fait par ensemencement d'un volume d'eau à analyser sur milieu sélectif kingA et king B. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Confirmation**

Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle et la coloration de gram.

**Recherche de la pyocyanine :** pigment bleu caractéristique de *pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue des milieux de culture :sa production est favorisée sur milieu de king A.

**Recherche de la pyoverdine :** présente une teinte vert fluorescent est souvent masqué pour la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de kig B. (labres et al ; 2008).

### II.6.5.3. Recherche des *salmonella* et *shigella* :

#### II.6.5.3.1. Recherche de *salmonella* :

##### ➤ Culture

#### Étape 01 :

Il est destiné à revivifier les cellules de façon à faciliter la culture dans les bouillons d'enrichissement il est réalisé à l'aide de plusieurs milieux, dans notre cas on a utilisé l'eau peptonée tamponnée (EPT), on peut l'utiliser en double concentration pour faciliter l'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

#### Étape 02 :

En vue de l'isolement et de l'identification, l'enrichissement s'effectue sur des milieux sélectifs soit directement à partir de la solution mère ou de ses dilutions soit le plus souvent à partir du milieu de pré-enrichissement, dans notre cas on a utilisé le milieu bouillon au sélénite de Leifson (SFB ; S/C) on a prélevé 2 ml du milieu ETP (Solution pré-enrichie) et l'introduire dans le milieu SFB, (Azizi, 2006). On incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

#### Étape 03 :

Le bouillon sélénite cystéine incubé la veille fera l'objet :

- D'une part, d'un enrichissement secondaire sur bouillon sélénite-cystéine en tubes à raison de 0,1 ml par tube,
- D'autre part, d'un isolement sur gélose Héctoën ou bien gélose SS. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. (Lebres et al. 2002).

#### Étape 04 :

D'une part, le tube de sélénite fera l'objet d'un isolement, d'autre part, la boîte de gélose Hectoën subira une lecture en tenant compte du fait que les *salmonelles* présentent le plus souvent sous forme des colonies de couleur gris bleu à centre noir. (Lebres, 2004).

II.6.5.3.2. Recherche des *Shigella* :

## ➤ Caractères biochimiques

Ils se déterminent sur une galerie classique ou miniaturisée pour *entérobactériacées* avec laquelle elle se différencie par un ensemble de caractères négatifs :

- Absence d'uréase, de désaminase et de lysine décarboxylase
- Absence de production de H<sub>2</sub>S et d'acétoïne
- Pas d'utilisation du citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate de simmons.
- Le caractère ONPG, manitol, indole et ODC varient selon les biotypes.

**NB :** l'identification de ces deux bactéries (*salmonella* et *shigella*) se fait parfaitement par le système API20E. (sayad, 2008 ; labre et al,2008).tab.3

Tableau.03.caractères d'identification biochimique de *shigella*.

Milieu	Tests	<i>Shigella</i>
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	Saccharose	-
	H <sub>2</sub> S	-
	Gaz	-
Manitol_mobilité	Mobilité	-
Urée_indole	Uréase	-
	TDA	-
Citrate de simmons	Citrate	-



**II.6.5.4. Recherche de Vibrio Cholérique :****➤ Culture****Etape 01 :**

L'enrichissement primaire s'effectue sur le milieu eau peptonée alcaline (EPA) 10 fois contenant au préalable 50 ml de milieu, auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser au moment du prélèvement. Ce dernier sera par la suite incubé à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant  $20 \pm 4$  heures.

**Etape 02 :**

Après incubation, le flacon constituant l'enrichissement primaire fera l'objet : d'un isolement sur gélose GNAB, l'incubation se fait à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant  $20 \pm 4$  heures.

**Etape 03 :**

D'autre part, la boîte de gélose GNAB subira une lecture en tenant compte du fait que les vibrios se présentent le plus souvent sous forme de gosse colonies lisses.

**\*Identification morphologique et biochimique**

Les colonies sont très fines sur la gélose nutritive, jaunâtre sur la gélose hyperalcaline. (patrick et al ; 1988).

**Tab.04. Différences majeures entre les Vibrio, Pleisiomonas et Aeromonas.**

<i>Espèces</i>	<b>LDC</b>	<b>ODC</b>	<b>ADH</b>
<i>Vibrio</i>	+	+	-
<i>Aéromonas</i>	-	-	+
<i>Pleisiomonas</i>	+	+	+

**II.6.5.5 .Tests complémentaires :**

Identification permettent au cours de l'isolement ou non de mettre en évidence une ou plusieurs propriétés biochimique d'une bactérie pour commencer à l'identifier. Elle repose sur la morphologie, les caractères enzymatiques et biochimiques.

**II.6.5.5.1. Caractères morphologiques :**✓ **Examen macroscopique des caractères culturaux :**

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées ; la description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille
- La forme : bombée, plat, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparente.
- La consistance : grassé, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation.

✓ **Examen microscopique après une coloration de gram :**

Au départ une préparation d'un frotté, une colonie bien isolée d'une culture en milieu solide sera prélevée et mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile. L'observation se fait au l'objectif fois 100.

❖ **Principe**

**La coloration de Gram** ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

\*Préparation d'un frottis bactérien.

\*Coloration par le violet : laisser agir la solution de cristal violet pendant 1mn et laver à l'eau.

\*Mordançage : laisser agir le Lugol pendant 1mn et laver à l'eau.

\*Décoloration : laisser agir l'alcool pendant 30 secondes et laver à l'eau.

\*Recoloration : laisser agir la solution de Fuschine pendant 30 à 40 secondes, laver à l'eau et sécher. (Rejsek, 2002)

**Résultats :** après ce traitement, les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose.

### II.6.5.5.2. Caractères enzymatique :

#### ✓ Test d'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence l'existence du cytochrome oxydase, enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire. (Rodier et *al.*, 2009). La présence de cette enzyme est réalisée par le disque oxydase qui se constitue de l'oxalate de diméthyle puruphénylène diamine et qui est incolore à l'état réduit et colore en rouge à l'état oxydé.

#### Technique

Sur une lame propre, nous avons déposé un disque oxydase que nous avons imbibé d'eau distillée stérile et ajouté la colonie de bactérie à étudier puis étalé à l'aide d'une anse de platine. Les bactéries oxydases positives donnent une coloration violette au disque en quelques minutes. (Rodier et *al.*, 2009). (fig ; 20).

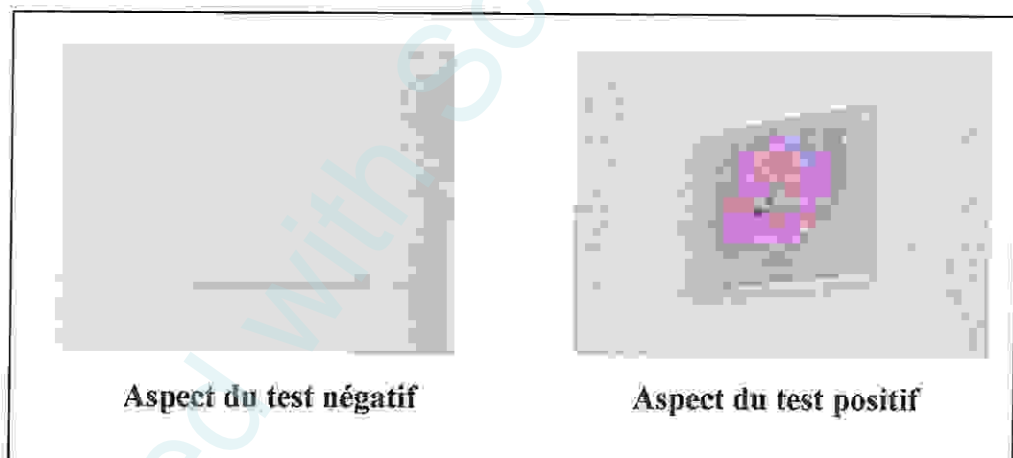


Figure. 20. Test d'Oxydase

### II.6.5.5.3. Caractères biochimiques :

#### ➤ La galerie classique

#### 📌 Test de citrate de simons :

#### Principe

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie qui possède l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilisé. Le milieu citrate de Simmons permet de mettre en évidence ce caractère, ainsi qu'il

possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin). (Rejsek, 2002).

### Technique

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

#### ⚡ *Le mannitol-mobilité :*

### Technique

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

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

- Si le germe est très mobile, il se développe le long de la piqûre la masse microbienne envahit tout le tube.
- S'il est peu mobile, il se développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette.

#### ⚡ *Test au rouge de méthyle (RM) :*

### Principe:

Il permet de mettre en évidence les grandes quantités d'acides produites par les bactéries qui n'empruntent pas la voie Butylène-Glycol. L'acidification importante du milieu est révélée par l'addition d'un indicateur de pH, le rouge de méthyle au milieu où auront poussé les bactéries. Le milieu utilisé est celui de Clark et Lubs qui permet de mettre en évidence 2 voies de dégradation de l'Acide pyruvique :

- La formation d'Acétoïne = Acetyl-Methyl-Carbinol par décarboxylation réaction de VogesProskrover.



- La formation d'acides acétiques et formiques en aérobiose et en anaérobiose : réaction au rouge méthyle. (Rodier et *al*, 2009).

### Technique

On ajoute quelques gouttes du réactif RM, à 1 ml de milieu de culture ensemencé et incubé.

### Lecture

- Si le milieu prend une coloration rouge, son pH est  $<4,4$  : la réaction est RM +.
- Si le milieu reste jaune, son pH est  $\geq 6$  : la réaction est RM-.

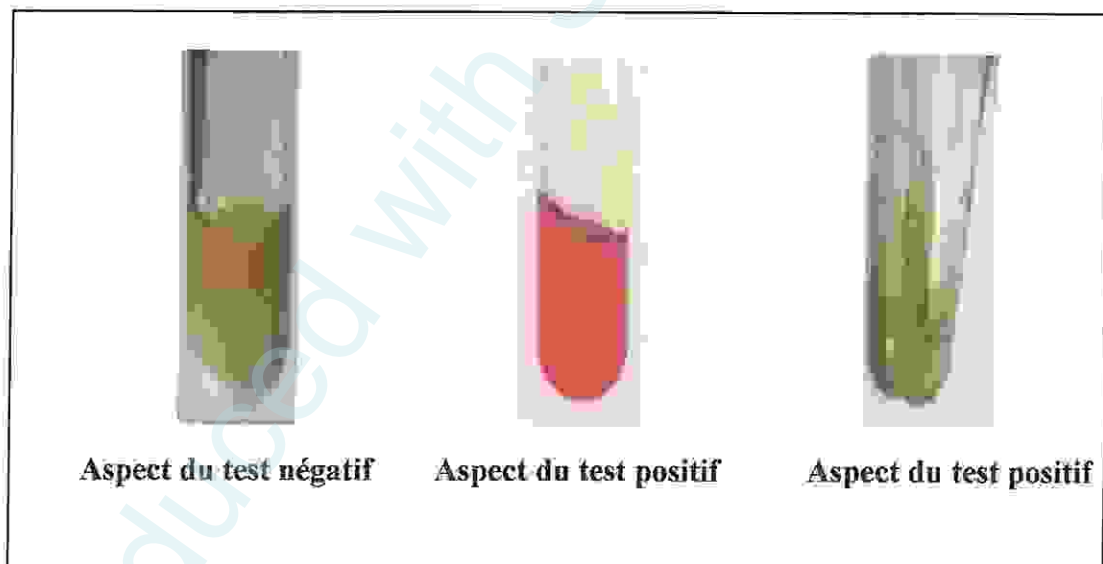


Figure .21. Test du rouge de methyl et Vogesproskawer

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

#### **Principe**

Le milieu TSI est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries et qui permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz (CO<sub>2</sub>). (Bugnicourt, 1983).

Ce milieu est composé d'un culot et une pente, et contient le rouge de méthyle comme un indicateur de pH. Si les bactéries utilisent le glucose, le culot se colore en jaune, alors que si elles utilisent le saccharose et le lactose c'est la pente qui se colore en jaune. La production du gaz se traduit par la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose alors que la production d'H<sub>2</sub>S se traduit par un noircissement du milieu. (Rodier et al, 2009)

#### **Technique**

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

### 📌 *Le test de l'uréase :*

La recherche de l'uréase est un élément important des germes qui utilisent l'urée comme source d'azote.

#### **Principe**

L'urée est hydrolysée par une urée – hydrolase ou Uréase qui libère de l'ammoniac selon la réaction suivante :  $\text{CO}(\text{NH}_2) + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$



Cette réaction se traduit par un indicateur de pH qui vire au rouge violacé. L'identification est réalisée indirectement par la recherche des produits de l'hydrolyse de l'urée.

#### **Technique**

La recherche de l'uréase s'effectue par culture sur milieu FERGUSON (milieu Urée-Indole) qui contient, en plus du tryptophane, de l'urée et indicateur de pH : le rouge de phénol (rouge à pH alcalin et jaune à pH acide).

- Ensemencer une anse de platine de germes dans le milieu FERGUSON.
- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

### Lecture

Si la bactérie possède une uréase et hydrolyse l'urée contenue dans le milieu, la production de  $\text{NH}_3$  alcalinise le milieu et fait virer l'indicateur au rouge violacé. (Rejsek, 2002).

**NB :** Sur le milieu FERGUSON, on fait d'abord la réaction de l'urée puis nous réalisons les réactions de l'Indole et TDA.

### ✚ Le test de l'indole :

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kovacs (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (Nitrose indole).

### Technique

Nous avonsensemencé 2 ml du milieu urée -indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif Kovacs en assurant une légère agitation des tubes. (Rejsek, 2002).

### ✚ Test de réduction du nitrate :

### Technique

Nous avonsensemencé le bouillon nitraté et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase 1 et 2.

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

\*Si le milieu reste incolore, dans ce cas on a deux évènements :

-Ou bien les nitrates ont été d'abord réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

-Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant la poudre de Zinc, et la couleur apparaîtra, la bactérie est dite nitrate réductase négative.

### ✚ Recherche de l'acétone :

Le milieu clark et lubs permet l'étude de la voie de fermentation du glucose. L'ensemencement se fait largement et l'incubation se fait à une température optimale pendant 24 heures.

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

#### Principe

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

#### Technique

Nous avons ensemencé 2ml du milieu urée –indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer). (Rodier et al. 2009).

### ✚ La recherche de l'enzyme B –galactosidase :

#### Principe

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

La présence de la galactosidase est mise en évidence à l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (Orthonitrophényl B-D-galactoside) qui diffuse librement à l'intérieur des bactéries où il est alors dégradé par B -galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive) (Rodier et al, 2009).

#### Technique

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

### ✚ Recherche de la catalase :

Elle a pour but la classification des bactéries aérobies et plus spécialement la différenciation: chez les cocciiformes : les staphylocoques et les streptocoques.



Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives. (Rodier et *al.*, 2009).

### Principe

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé), à la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.



La réaction est directe et n'exige pas des donateurs d'hydrogène comme dans les réactions de type préoxydasiques. (Rodier et *al.*, 2009).

### Technique

On dépose sur une lame une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et on y ajoute directement un peu de culture à étudier prélevée sur milieu Chapman. Si la souche examinée possède une catalase, nous observons un dégagement immédiat de bulles gazeuses.

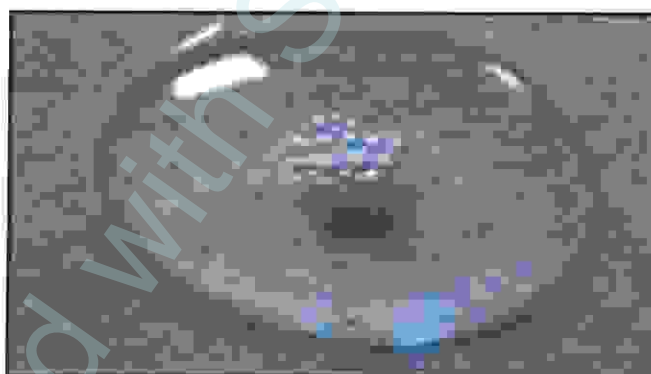


Figure .23.Aspect du test du catalase positif

### ❖ La galerie API 20E :

#### ➤ Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Remplir les tubes et les cupules des tests : [CIT], [VP], [GEL], avec la suspension bactérienne.
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LCD, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 18-24heures.

(Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat).

### **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture. On note sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées. Si nécessaire, on réalise les tests nécessitant l'addition de réactifs:

**Test VP** : On ajoute une goutte de réactifs VP1 et VP2. On attend au minimum 10 minutes. Si une couleur rose franche ou rouge apparaît, elle indique une réaction positive.

**Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Si une couleur marron foncée apparaît, elle indique une réaction positive.

**Test IND** : On ajoute une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

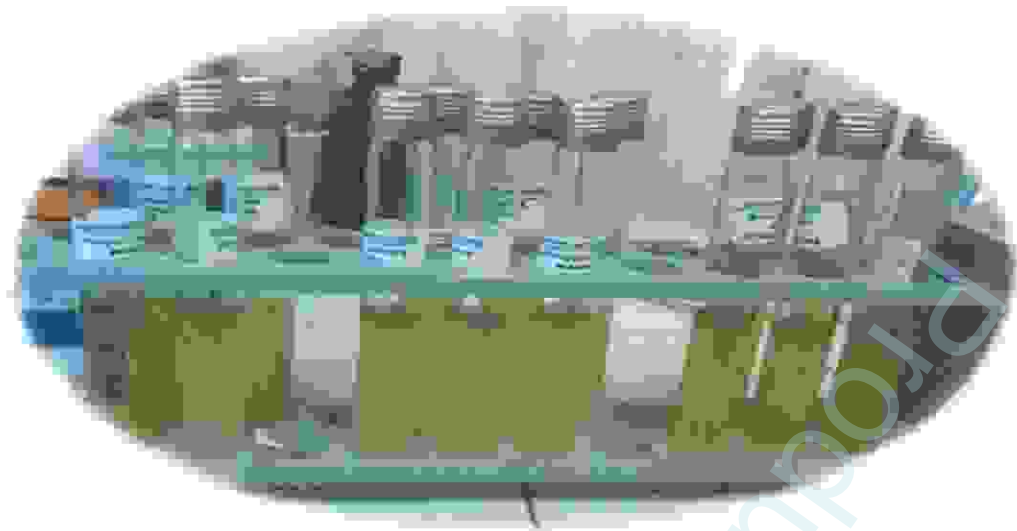
### **Identification**

**Avec le tableau d'identification :**

On compare les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau. (Annexe 1)

**Avec le catalogue analytique :**

- ✓ Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- ✓ On additionne à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.
- ✓ On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification.



# *Chapitre III*

## *Résultats et discussion*

### III.1. Résultats de la recherche des micro-organismes et de leur dénombrement :

Nous avons effectué pendant notre travail un dénombrement et une recherche systématique des germes indicateurs de pollution qui sont :

- Les micro-organismes coliformes (coliformes totaux).
- Les coliformes fécaux (thermo-tolérant).
- Les Streptocoques fécaux.
- Les bactéries Anaérobies Sulfito-Séducteurs.

Les résultats des analyses bactériologique des échantillons d'eau prélevés et que nous avons obtenues sont présenté sous forme des tableaux et des diagrammes.

#### III.1.1. Les germes totaux :

Dans notre étude, le dénombrement microbien a révélé des nombres très supérieurs à 300 colonies dans les boîtes de Pétris, pour les deux prélèvements effectués. (Tab.05) Ceci s'est traduit par la présence d'un effectif très élevé de germes banals et saprophytes vivant alors dans l'eau de l'écosystème étudié.

Tableaux.05. Evolution du nombre des germes totaux.

Température	point 01	point 02
37 <sup>0</sup> C, 48 heures	+ 300 UFC/100ml	+ 300 UFC/100 ml
22 <sup>0</sup> C, 72 heures	+ 300 UFC/100ml	+ 300 UFC/100 ml

#### III.1.2. Les coliformes totaux :

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance (Duffour, 1977).

La variation du nombre des bactéries dans les points de prélèvement sont illustrés dans la figure ci-dessous. (Fig. 24).



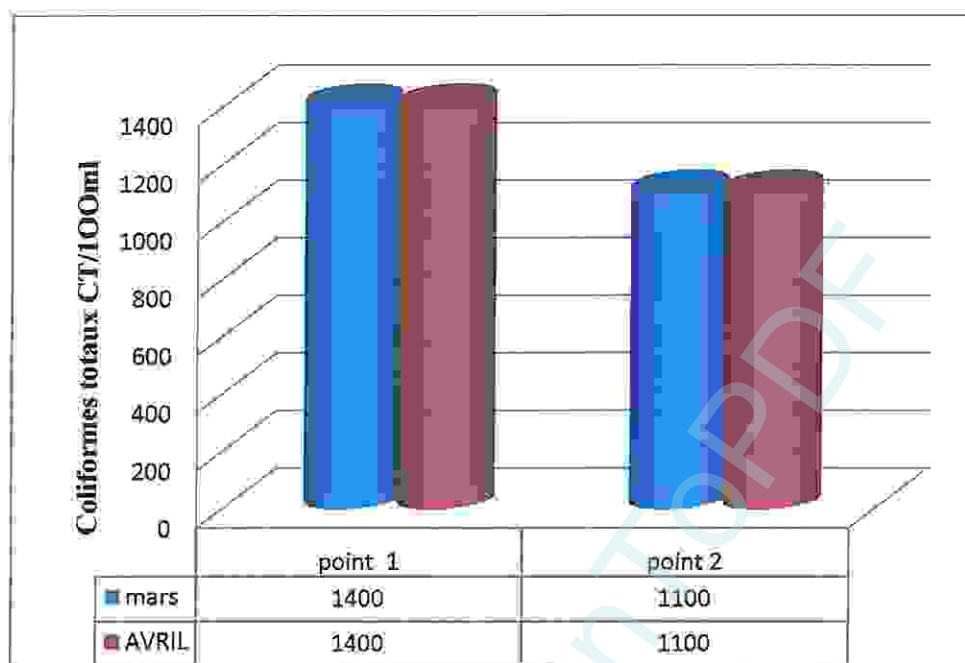
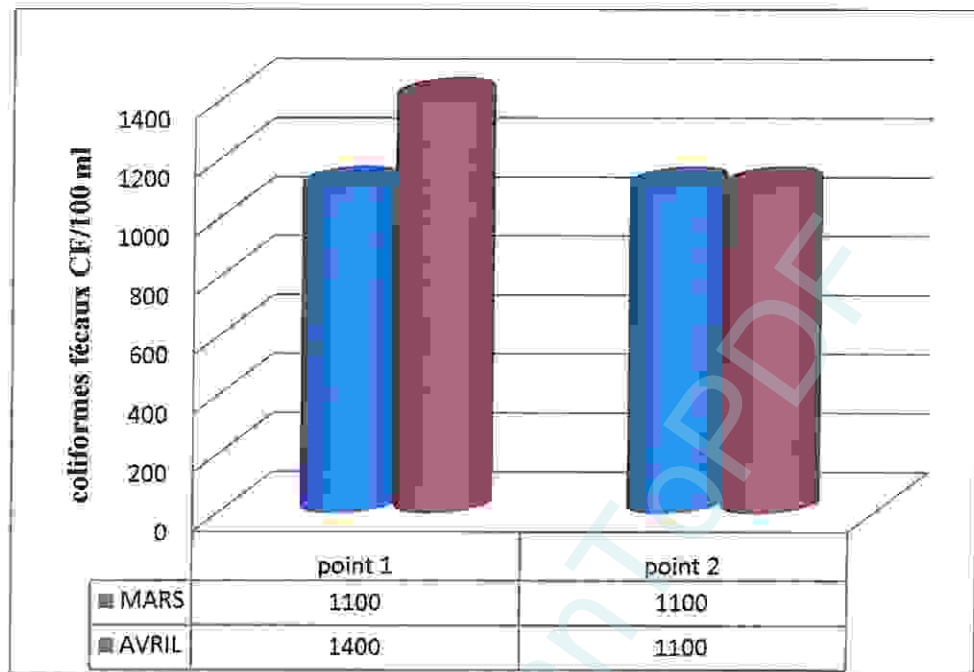


Figure 24 : Estimation du nombre des coliformes totaux

Les valeurs enregistrées durant les deux mois Avril et Mars ont été en nombre égale avec un maximum de 1400 germes pour le point 1 et de 1100 germes pour le point 2. Cette différence est expliquée par le fait que le point 1 a été beaucoup plus fréquenté par le bétail qui vient s'abreuver par rapport au point 2 qui est clôturé.

### III.1.3. Les coliformes fécaux :

L'évolution du nombre de coliformes fécaux dans l'eau des points de prélèvement est présentée dans la figure 25.



**Figure.25. Estimation du nombre des Coliformes fécaux**

Le nombre de coliformes fécaux dénombré est plus élevé dans le point 1 avec un maximum de 1400 germes par 100ml et 1100 germes par 100ml respectivement durant les mois de Mars et Avril. Ces valeurs peuvent être attribuées à la fréquentation de ce point par l'avifaune aquatique et aussi par les ruminants qui viennent paître à proximité de ce point.

#### III.1.4. Streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux ou les entérocoques, sont des germes très sensibles aux variations physicochimiques du milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils s'adaptent difficilement en dehors de son milieu habituel qui est l'intestin). Leur présence est étroitement liée à la quantité et la concentration de la matière fécale dans l'eau. (Cuiraud, 1998). Les résultats de Ces bactéries sont présentés dans la figure ci-dessous (Fig.26).

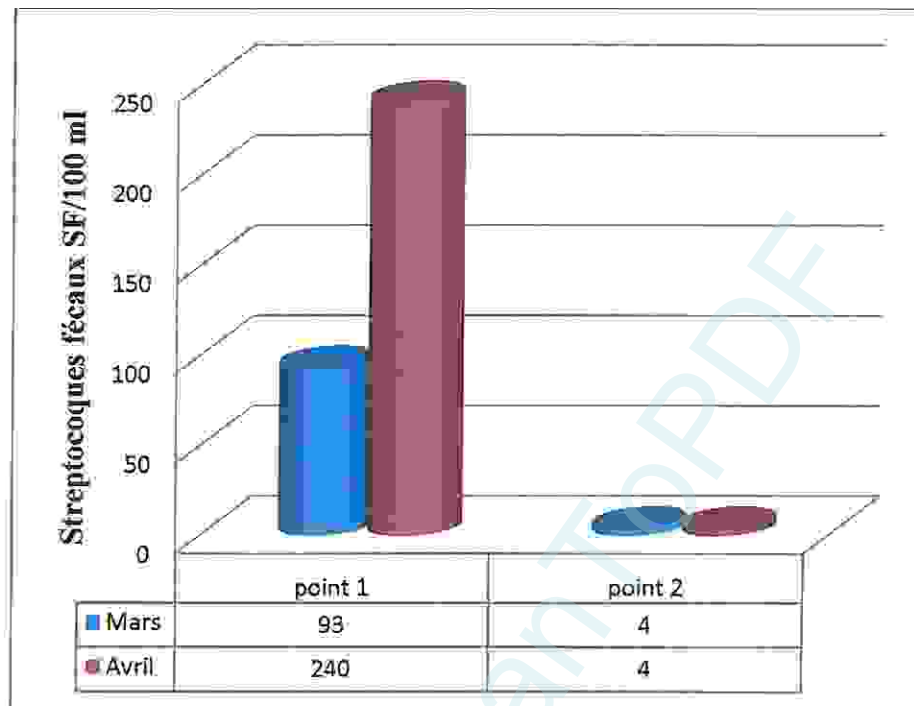


Figure.26. Estimation du nombre des Streptocoques fécaux

Les résultats obtenus pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux confirme ceux trouvés pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux, où en effet le nombre de ces germes est plus élevé au niveau du premier point et ceci pendant les deux mois Mars et Avril avec une dominance dans ce dernier par 240 SF/100ml. Le minimum de germes est enregistré dans le deuxième point et dans les deux mois avec 4 SF/100ml.

#### III.1.5. Les Anaérobies Sulfite-Réducteurs(ASR) :

La présence des spores des bactéries ASR dans les eaux, constitue généralement un véritable indice de contamination ancienne. Les résultats positifs retiennent la présence de genres sulfite-réducteurs *Clostridium sp* responsables de botulisme et de tétanos, surtout dans le premier endroit qui est le plus pollué durant le mois d'avril (Fig.27).

Pour le premier prélèvement la recherche des ASR n'est pas effectuée à cause de manque de moyens.

Tableau.06. Evolution du nombre des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR).

	Point 1	Point 2
Mars	-	-
Avril	+++	+

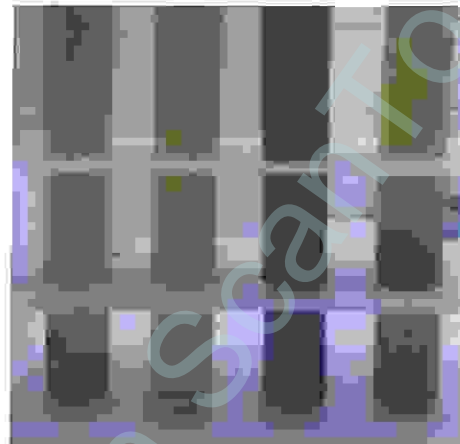


Figure.27. Photos représentant les résultats de la recherche des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR).

### III.2. Recherche des germes pathogènes :

La recherche de germes pathogènes a été effectuée sur plusieurs milieux de culture pour la recherche de certain germe tel que les bactéries *Anaérobies*, les *Salmonelles*, les *Shigelles*, les *Vibrion Cholériques*, les *Pseudomonas* et les *Staphylocoques*

#### III.2.1. Identification des souches bactériennes :

##### III.2.1.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram :

Le repiquage successif utilisé dans le but de purifier les souches, nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement. Les observations constatées sont regroupées dans le tableau 07.



Tableau.07. Aspects macroscopique et microscopique des colonies.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
<b>Mac-Conkey</b>	- Rose claire, bombée, lisse, brillante circulaire, 1 mm de diamètre.	-Bacilles isolés ou en chainettes, Gram négatif.
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	-Irrégulière, lisse, plate, jaune, 1 mm de diamètre. -Bombée, lisse, brillante, à contour régulier, transparente, 1 mm de diamètre. -Irrégulière, bombée, opaque, jaune, 2 mm de diamètre.	-Bacilles isolés, Gram négatif.
<b>Hektoène</b>	- Petites colonies à contour régulier, soit: -Vertes ou bleuâtres pour les germes lactose négatif. -jaunâtres quand le lactose est positif (milieu jaune)	-bacilles isolés, gram négatif
<b>GNAB</b>	-Petite régulier, blanchâtre, 1-2 mm de diamètre. -irrégulier, creux, opaque, 1_2mm de diamètre. - Bombé, opaque, à contour régulier	-Cocci en tétrade ou diplocoque, Gram négatif.
<b>Chapman</b>	- Culture négative	
<b>SS</b>	- Culture négative	

## III.2.1.2. Résultats de l'identification par la galerie biochimique classique :

L'utilisation d'une galerie biochimique classique par un prélèvement effectué sur le milieu gélose nutritive a permis l'identification d'*E. Coli*. (Tableau 8, figure 28).

Tableau.08. Résultat et identification biochimique par la galerie classique.

Milieu	Souche 1
<b>TSI</b>	
Glucose	+
Saccharose	+
Lactose	+
H <sub>2</sub> S	-
CO <sub>2</sub>	+
<b>Simouns</b>	-
<b>ONPG</b>	+
<b>OXYDASE</b>	+
<b>LDC</b>	+
<b>ODC</b>	+
<b>ADH</b>	-
<b>Manitol Mobilité</b>	
Manitol	+
Mobilité	+
<b>Clarek et Lubs</b>	
VP	-
RM	-
<b>Urée indol</b>	
UREE	-
IND	+
TDA	-
<b>Bactérie <i>E. coli</i></b>	



Figure.28. Photos représentant les résultats de la galerie biochimique classique d'*Escherichia. Coli*

### III.2.1.3. Résultats de l'identification par la galerie API 20E :

Les colonies isolées sur le milieu Hektoène était identifié en utilisant sur une galerie API 20E.

Les résultats sont illustrés dans la figure suivante qui présente le profil biochimique du genre: *Aéromonashydrophila*

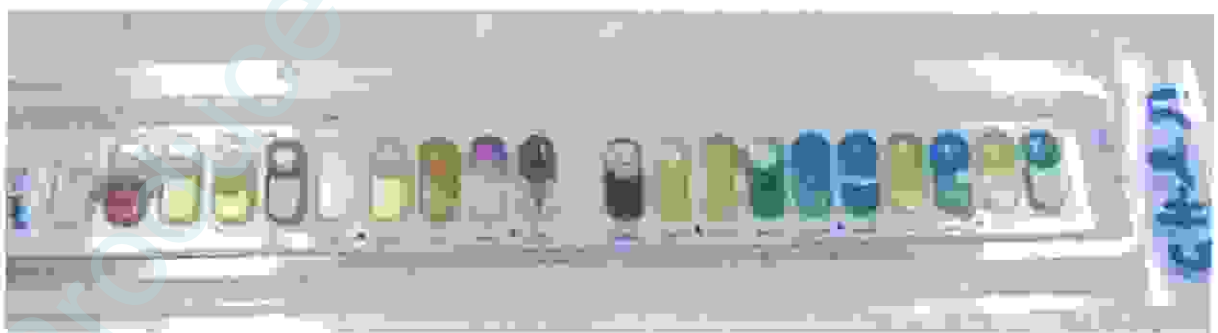


Figure.29: Photo du Profil biochimique d'*Aéromonashydrophila* par la galerie API20E

# *Conclusion*

Produced with ScanTOPDF



## ***Conclusion***

Par son emplacement en plaines terres agricoles, la retenue collinaire Ourkis d'Oum Elbouaghi, qui a fait l'objet de notre étude, peut jouer un rôle très important dans l'irrigation et partant, dans des spéculations aussi importantes et utiles que les cultures maraichères et même l'arboriculture fruitière. D'autant que, même en période estivale, il se rétrécit sans se dessécher, gardant encore des quantités appréciables d'eau. Cependant, l'utilisation de son eau dans l'irrigation est exposée aux risques de contamination et de pollution microbienne. Il nous sera donc légitime d'appréhender voire de craindre la transmission de germes pathogènes issus de cette eau par le biais des produits maraichers consommés crus sans traitement préalable approprié ou même de fruits tombés au sol après irrigation et consommés telles quelles, en l'état.

Des analyses et tests de dépistage bactériologiques sont souvent utilisés pour étudier et vérifier l'état de santé des écosystèmes afin d'éviter leur propre perte et les risques sanitaires encourus par l'être humain en consommant ou en manipulant, par exemple, des légumes insalubres du fait d'une irrigation par des eaux de mauvaise qualité microbiologique. Notre étude, bien que courte (étalée sur seulement deux mois de l'année) et assez peu détaillée à cause du manque de moyens de laboratoire appropriés, a cependant abouti à des résultats utiles. Ils nous ont révélé la présence de germes indicateurs de contamination fécale (coliformes fécaux, streptocoques D et des ASR). Leur nombre semble quelque peu dépendre du site de prélèvement des échantillons, ce qui dénote une hétérogénéité de la contamination de la retenue.

En perspectives, en raison du choix de la période (printanière, donc encore froide et peu favorable au développement des espèces microbiologiques recherchées) et trop courte (seulement deux mois consécutifs), nous jugeons utile de continuer l'étude dans des conditions meilleurs c'est-à-dire avec des moyens suffisants et mieux adaptés avec davantage de sites de prélèvement et de dates réparties de préférence sur toute l'année (chaque mois ou, mieux encore, chaque quinzaine pendant plusieurs années consécutives. Ceci afin de tenir compte des effets très probables du site du mois, de la saison et de l'année). Des prétraitements appropriés devraient être appliqués à l'eau de la retenue Ourkis afin d'éviter la contamination des cultures irrigables à fin de protéger la santé des êtres humains qui en consomment les produits.

## *RÉSUMÉ*

Les hautes plaines de l'Est algérien, par sa diversité de plans d'eau; zones humides naturelles (lacs, rivières...) et artificiels (barrages, retenues plus ou moins salées) couvre une superficie très importante, qui dépasse 160 000 ha en crue. Parmi ces plans d'eau on trouve la retenue collinaire d'Ourkis (35°56N, 006°56'E) occupe une superficie totale de 55 hectares. Elle est alimentée principalement par les eaux pluviales et les ruisseaux et elle est destinée à irriguer les terres agricoles en aval.

Afin de déterminer la qualité bactériologique des eaux superficielles de ce hydrosystème, des analyses ont été réalisées sur une période de deux mois (mars et avril 2012), les résultats des analyses nous exposent une contamination fécale des eaux de la région non alarmante; signalées par la présence de coliformes fécaux, streptocoques fécaux en faibles quantités.

Mots clés : Qualité bactériologique, coliformes, streptocoques, hautes plaines de l'Est algérien, retenue d'Ourkis.

Produced by

## **ABSTRACT**

The high plains of eastern Algeria, with its diversity of water bodies, natural wetlands (lakes, rivers ...) and artificial (dams, reservoirs more or less salty) covers an area very important, which exceeds 160 000 ha in flood. These water bodies are found in the hill reservoir Ourkis (35°56'N, 006 °56 'E) covers a total area of 55 hectares. It is fed primarily by rainwater and streams and is intended to irrigate farmland downstream.

In order to determine the bacteriological quality of surface waters of the hydrosystem, analyzes were conducted over a period of two months (March and April 2012), the test results we expose fecal contamination of waters in the region not alarming; reported by the presence of fecal coliforms, fecal streptococci in small quantities.

**Keywords:** bacteriological quality, Coliforms, Streptococci, high plains of eastern Algeria, the hill reservoir Ourkis.

Produced with Scantopdf

## المخلص

تتربعالسهول العليا للشرق الجزائري على مساحة واسعة تتجاوز 160 000 هكتار، وهي بتنوع في الاوساط المائية والمناطق الرطبة: بحيرات و أنهار، والاصطناعية : سدود وحواجز مائية، من بين تلك المسطحات المائية نجد الحاجز المائي الاصطناعي اوركيس( $35^{\circ}56'N$ ,  $006^{\circ}56'E$ )الذي يشغل مساحة إجماليةقدرها 55 هكتار، تغذيه خاصة مياه الأمطار و الجداول ويستعمل لسقي الأراضي الزراعية.

لتحديد النوعية البكتريولوجية للمياه السطحية لهذا الموقع، أجريت تحاليل على مدى شهرين مارس وافريل 2012 وظهرت النتائج أنه هناك تلوث جرثومي لمياه المنطقة لا يصل إلى درجة الخطر يتجلى في التلوث بالقولونيات البرازية والعقديات البرازية بكميات صغيرة.

الكلماتالمفتاحية: النوعية البكتريولوجية، القولونيات، العقديات، الحاجز المائي اوركيس الهضاب العليا للشرق الجزائري

Produced with Scantopdf



# ***Références***

# ***Bibliographiques***

Processed with  
Scantopdf

Références bibliographiques

- **Alain A. et Roger K. (2004).** Hydrologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses Quae, 33
- **Alban L. (1998).** Afflux de Bécasseaux minutes *Calidris minuta* en France à l'automne 1996. *Ornithos* 5(2): 49-53.
- **Ankney C.D., Afton A.D. et ALISAUSKAS R.T. (1991).** The role of nutrient reserves in limiting waterfowl reproduction. *The Condor* 9: 1029-1032.
- **Anonyme. (2005).** Qualité physico-chimique et chimique des eaux de surface: cadre général. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement / Observatoire des Données de l'Environnement. 16p
- **Anonyme. (2001).** SDAGE-Bassin Rhône-Méditerranée-Corse : Guide technique n° 6 . agir pour les zones humides. Boîte à outils d'inventaire. Fascicule 1 : du tronc commun à la cartographie. Ateliers Six Arts Graphiques. Saint-Clément de Rivière. 107 p.
- **Anrh. (2002).** Atlas des températures et des évapotranspirations du Nord de l'Algérie. Ministère des Ressources en Eau, 28 p.
- **Azizi D, (2006).** Cours national de microbiologie des eaux et des aliments. Institut pasteur d'Algérie.
- **Bagnouls et Gaussen H. (1957).** Les climats biologiques et leurs classifications. *Ann. Géogr. Fr.* 355: 193-220.
- **Benazzouz M-T. (1986).** Recherche géomorphologique dans les hautes plaines de l'est Algérien la Sebkhia Tarf (Algérie). Thèse de doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en géomorphologie. Université Paris 1, la Sorbonne. 262p.
- **Boukrouma (2011)** Nadhra Eco-éthologie du Canard Pilet *Anas acuta* dans l'éco-complexe de zones humides des hauts plateaux de l'Est algérien. P 3.
- **Boukrouma. (2008)** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain fakroume (W.d'Oum El-bouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma P 2, 3, 6.
- **Boulkoune H ; (2008).** Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-kennar. Mémoire de Magister. Université de Jijel. 119P.

- **Bourgeois C.M., et Leveau J.Y. (1980).** Techniques d'Analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. *APRIA*. 331p.
- **Bourdon T.L. et Marchal N. (1973).** Techniques Bactériologiques. *Dion*. 335p.
- **Bugnicourt M. (1983).** Dictionnaire de microbiologie générale, la vie racontée par les bactéries. *Edition Ellipses*. 699p
- **Chaouch R ; (2007).** *Identification et quantification des déchets solides encombrant les plages d'Annaba : aspect physico-chimique et bactériologique des eaux. Mémoire Magister. Université Badji-Mokhtar Annaba.* 105Pp.
- **Camille D. (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses. *Tec et Doc* 156 p.
- **Carbonnelle D & Kouyoumdjian S. (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
- **Chenchouni H. (2010).** *Diagnostic écologique et évaluation du patrimoine biologique du Lac Ayata (Vallée de l'Oued Righ : Sahara septentrional algérien).* Mémoire de Magister. Université d'Ouergla. 132p.
- **Chevalier P. et les membres du groupe scientifique sur l'eau de l'Institut national de santé de Québec. (2003).** Coliformes fécaux. Fiches synthèse sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé de Québec. 1-4
- **Délaras C. (2008)** surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux. Réglementation -Prélèvements-Analyses. *TEC & DOC*. 269p.
- **Delarras C., et Trebaol B. (2003).** Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux: Réglementation - Prélèvements - Analyses. *TEC & DOC*.
- **DGF. (2004).** atlas des zones humides algériennes d'importance internationale. 4e édition, ed. direction générale des forêts, alger, 107p
- **Duffour A.P. (1977).** *E.coli: The Faecal Coliform.* 4 8-58. In Hoadely A.W. and B.J.Dukta(eds).
- **Durand J.H. (1954).** Les sols du bassin versant du Lac Tonga (carte au 1/50000) *S.E.S.Alger*. 12p.
- **El-Beldi S., Fekhaoui M., Serghini A., et El-Abidi A. (2006).** Rizières de plaine du Gharb (Maroc) : Qualité des eaux superficielles et profondes. *Builetin de l'Institut Scientifique.* (28). 55-60

- **EMBERGER L. (1955)** Une classification biogéographique des climats. Rev. Trac. Bot. Géol. Zool. Fase. Sci. Montpellier, série botanique: 343p.
- **Farinha J.C., P.R. Araújo., E.P. Silva., S. Carvalho., E. Fonseca., C. Lavinias. (2005).** Sistema de classificação de habitats Medwet = MedWet habitat description system. Instituto da Conservação da Natureza. *Centro de Zonas Humidas Lisboa (PRT)* 104p
- **Faurie C ; Ce fera ; Déveaux J ; (1998)** .ecologie approche scientifique et pratique.
- **Gehu et Gehu-Franck. (1986).** Données synsystématiques et synchorologiques sur la végétation du littoral tunisien de Bizerte à Gabes. 1. La végétation psammophile. *Doc.Phytosoc., N.S. X (II):* 127-155.
- **Gérard S. (1999).** BACTOLAB: Simulation de laboratoire bactériologique, Version 1.13.Belgique.
- **Guergueb el-yaminediversité microbiologique et étude physico-chimique de l'eau de la zone humide garaettimerganine (wilaya d'oum el bouaghi, hauts plateaux du constantinois).**P 04, 28.
- **Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. DUNOD. France. 652p.
- **Houhamdi M., Maazi M-C., Seddik S., Bouaguel L., Bougoudjil S. & Saheb M. 2009.** Statut et écologie de l'Eristature à tête blanche *Oxyura leucocephala* dans les hauts plateaux de l'Est de l'Algérie. *Aves*, 46, 1, 129-148.
- **HOUHAMDI M., HAFID H., SEDDIK S., BOUZEGAG A., NOUIDJEM Y., BENSACI T., MAAZI M-C. et SAHEB M. (2008b).** Hivernage des Grues cendrées (*Grus grus*) dans le complexe de zones humides des hautes plaines de l'Est de l'Algérie.
- **Institut Pasteur. (1978).** Les milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. *Publifab.* 575p.
- **Kent D.M. (2000).** Applied wetlands science and technology. C.RC Press, BocaRaton Florida. 1 9781566703598, 472p.
- **Kowalski K., et B Rzebik-Kowalska. (1991).** Mammals of Algeria. Ed. Zakład narodowy imienia Ossolińskich (Polish Academy of Sciences ), *Wroclaw, Pologne*, 370 p.
- **Labres E., Azizi D., et Boudjellab B. (2006).** Cours d'Hygiène et de Microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons, *Institut Pasteur d'Algérie.*



- **Labres et Mouffok F. (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie.* 53p.
- **Lebres E. (2004a).** Entérocoques et streptocoques. Institut pasteur d'Algérie.
- **Lebres E. (2004b).** Les salmonella. Institut pasteur d'Algérie.
- **Lebres E. (2004c).** identification biochimique des micro-organismes. Institut pasteur d'Algérie.
- **Maazi M.C. (2005)** Eco-éthologie des Anatidés hivernants dans la garaa de Timerganine (Oum El-Bouaghi). Thèse de Magister, *C.U. Oum El-Bouaghi.* 70p
- **Maazi. M.C., (2009).** Eco éthologie des anatisés hivernant au niveau de Garaet Timerganine Wilaya d'Oum el bouaghi, Thèse de doctorat, Université d'Annaba.106p
- **Marniche. F., S. Doumandji., L. Boukernous et H. Khetabi., (2008).** Entomofaune, of Timerguènineregion in East-Algiers (Oum El Bouaghi). Premières Journées nationales sur la Biologie des Ecosystèmes aquatiques, 24 – 25 mai 2008, Dép. Biol., Fac. Sci. Ing., Univ. 20 août 1955, Skikda, p. 6
- **Mayat S ;(1994).** Techniques de traitement : aliments et eaux, 1<sup>ère</sup> édition, *Edisem,* 195).
- **Merzoug S.E. (2009).** Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de l'écosystème lacustre Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, wilaya de Skikda).Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945 Guelma, 119p.
- **Mitsch W.J. & Gosselink J.G. (2007).** Wetlands. 4th ed. John Wiley & Sons, 600p.
- **Mitsch W.J., Gosselink J.G., Anderson C.J., & Zhang L. (2009)** Wetland Ecosystems, Ed. John Wiley & Sons, 304p.
- **Nisbet M. et Verneaux J., (1970).** Composantes chimiques des eaux courantes, discussion et proposition de classe en tant que base d'interprétation des analyses chimiques. *Ann de limnologie.* Tome 6, 161-190.
- **Ounis Y., et Zemouchi. N. (2004).** Cartographie de la végétation et étude du dynamisme végétale de la mare Timerganine (Oum El-Bouaghi). (E.E., C.U. Oum El-Bouaghi). 51 p.
- **Patrick P., Env M., Monique H. (1998).** Qualité de l'eau souterraine dans la MRC de Coaticook. Régie régionale de la santé et des services sociaux de l'Estrie. Québec. Canada. 70p.

- **Pechère. J. C., Acar. J., Grenier. B., et Nihoul. E. (1982).** Reconnaître, comprendre et traiter les infections. 4<sup>ème</sup> édition. Edisem ST-Hyacinthe. Québec. 509p.
- **Ramade F. (2002).** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. 2<sup>ème</sup> édition. Dunod. 1076p.
- **Ramade F. (1982).** Eléments D'écologie, Ecologie Appliquée, L'action De L'homme Sur La Biosphère. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Paris. 422 p.
- **Rejsek. F., (2002).** Analyse des eaux : techniques et aspects réglementaires. Scérén CRDP Aquitaine. 358p.
- **Rodier J ;(2005).** L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Résiduaires. Eau de mer. 8<sup>ème</sup> édition. DUNOD. Paris, 1383p.
- **Rodier. J., Ligebe. B., Merlet. N., et coll. (2009).** L'Analyse de l'eau, 9<sup>ème</sup> Edition. Dunod, 1525p.
- **Rouaiguia M, (2010).** Qualité microbiologique de l'eau d'Oued Messida. Mémoire de master 2. Université 8 mai 1945 Guelma. 78p.
- **Roux. M. (2003).** TP de microbiologie : Analyses de l'eau. *Novello Célia.* (3). 1-9
- **Saheb M, (2003).** *Cartographie de la végétation des Sebkhias de Guelif (Oum el Bouaghi) et écologie de l'avifaune aquatique.* Mémoire de magistère. Centre Universitaire d'Oum el Bouaghi. 86p.
- **Saheb M. (2009).** *Ecologie de la reproduction de l'Avocette élégante *Recurvirostra avosetta* et de l'Echasse blanche *Himantopus himantopus* les hautes plaines de l'Est-algérien.* Thèse de doctorat, université d'Annaba.
- **Sayad L. (2008).** *Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf).* Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 125p.
- **Seddik S. (2011).** Inventaire et écologie des peuplements Laro-limicoles et Echassiers dans les zones humides des hautes plaines de l'Est algérien. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 73p
- **Seddik. S., Mazzi. M-C., Hafid. H., Saheb. M., Mayache. B., Metallaoui. S., & Houhamdi. M. (2010).** Statut et écologie des peuplements de Laro-limicoles et Echassiers dans le Lac de Timerganine (Oum El-Bouaghi, Algérie), Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 2010, n°32 (2), 111-118.

- **Singleton P. (1999).** Bactériologie. 4<sup>ème</sup> édition. Dunod. 542p.
- **Tandia C.T;(2007).** Contrôle et suivi de la qualité des eaux usées. Protocole de détermination des paramètres physico-chimiques et bactériologique. **CREPA. 1-52.**
- **TITEL R. (2004).** Contribution de la géophysique à l'étude de la plaine de Remila (Khenchla). Mémoire d'Ingénieur en hydrogéologie. Université d'Annaba. 77p.
- **Tecult. (2010).** Étude du cadastre des zones humides : Rapport 3 : Caractérisation environnementale (Composante 3) : Chott Timerganine, Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Environnement et du Tourisme. Direction de la Conservation de la Biodiversité, du Milieu naturel, des Sites et des Paysages, Algérie. 50 p.
- **Turner R.K., Georgiou S. & Fisher B. (2008).** Valuing Ecosystem Services: The case of multi-functional Wetlands. Earthscan, London, UK.

# *Annexes*

Produced with ScantOPDF



### Analyses physico-chimiques de la retenue collinaire :(Boukrouma ; 2008)

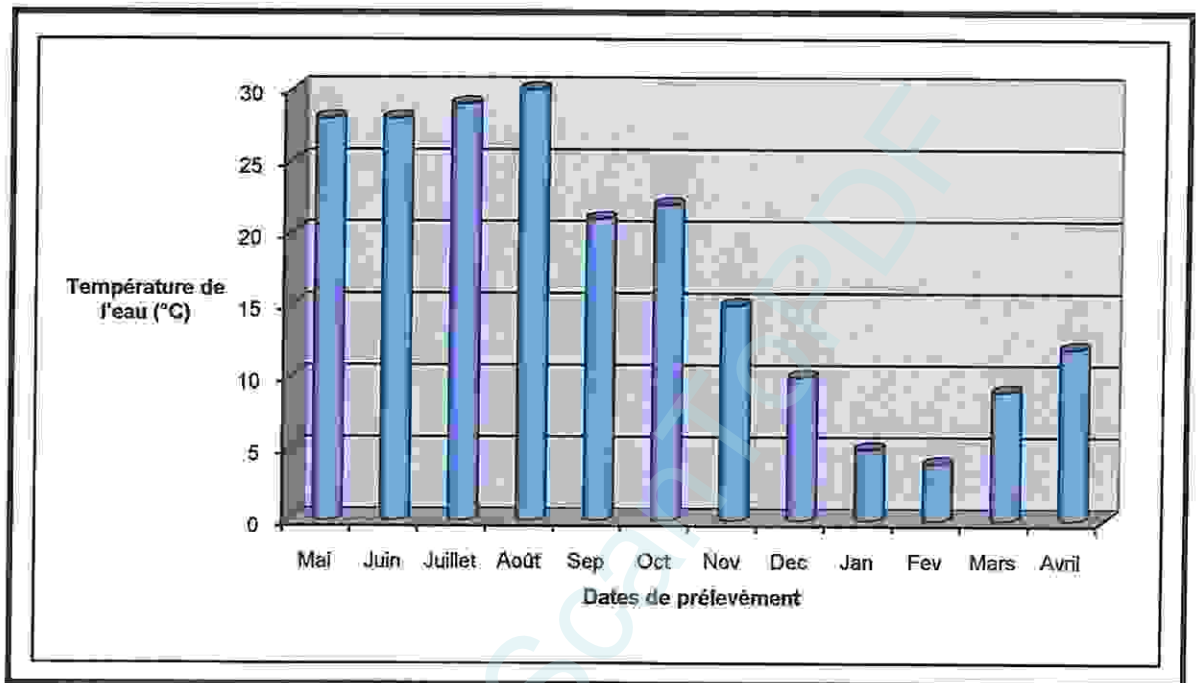


Figure.30. Variations des températures de l'eau de la retenue collinaire

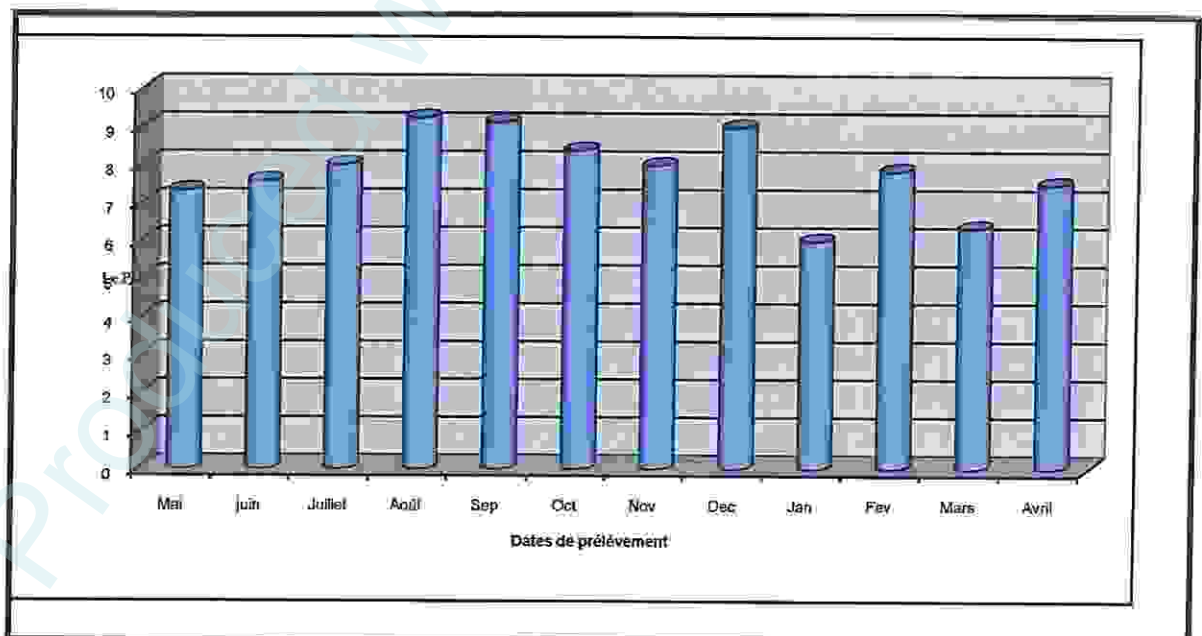
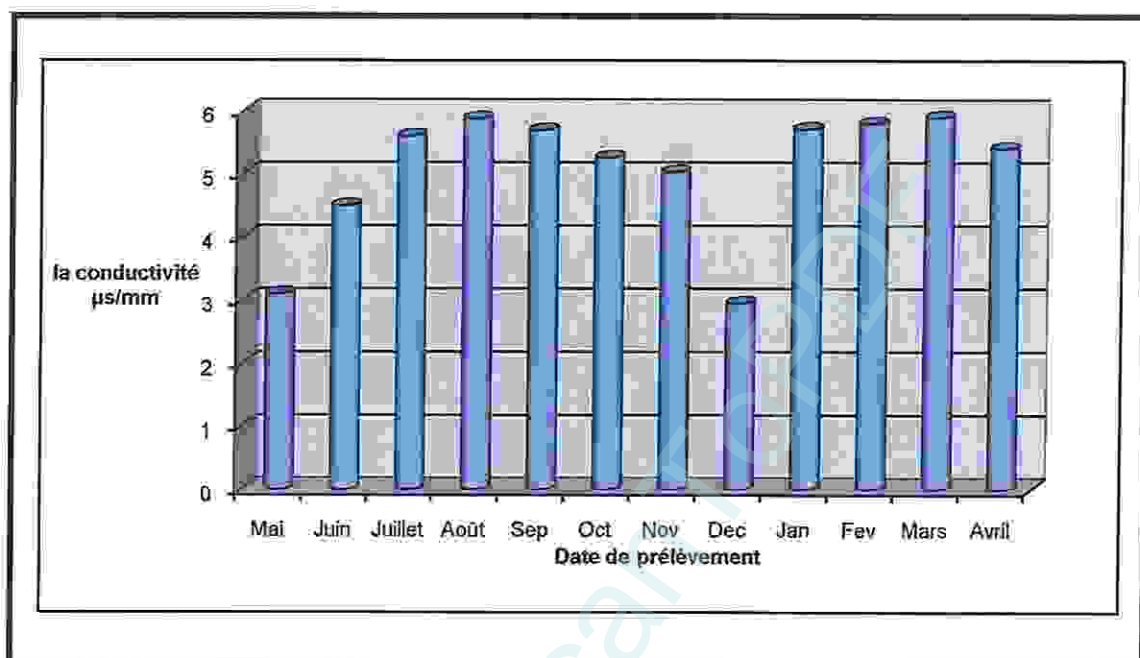
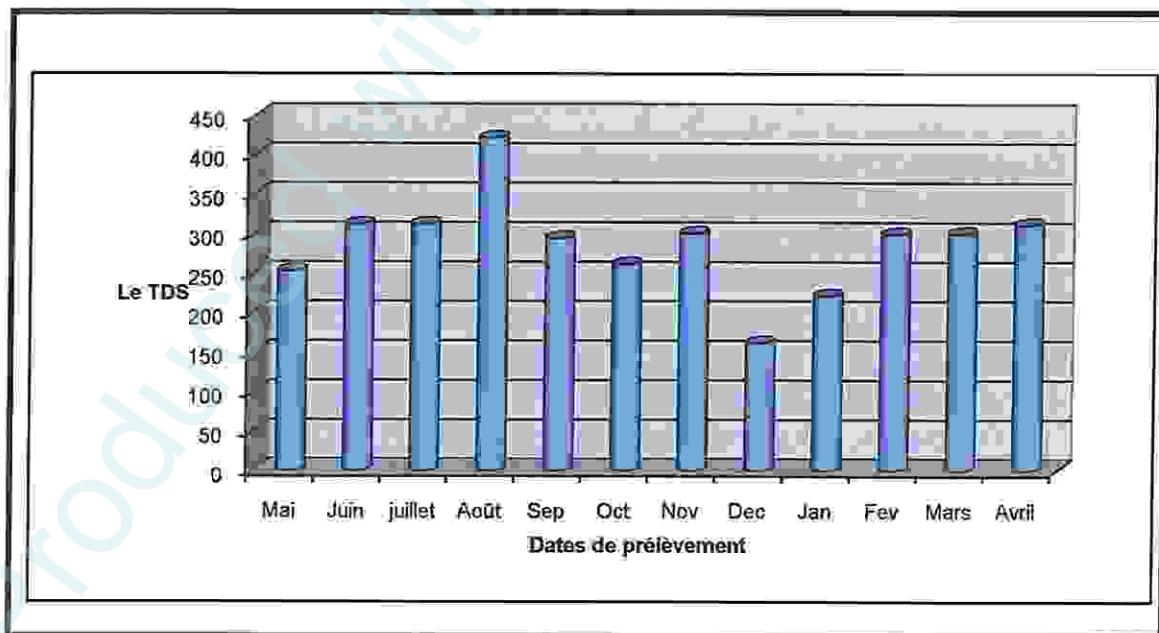


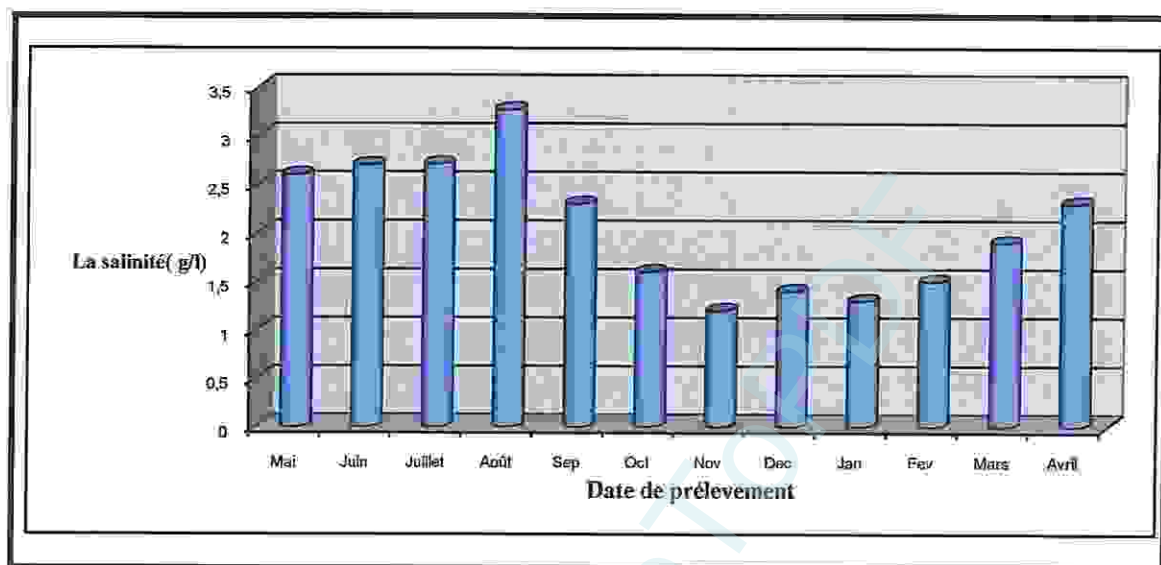
Figure.31. Variations de PH de l'eau de la retenue collinaire



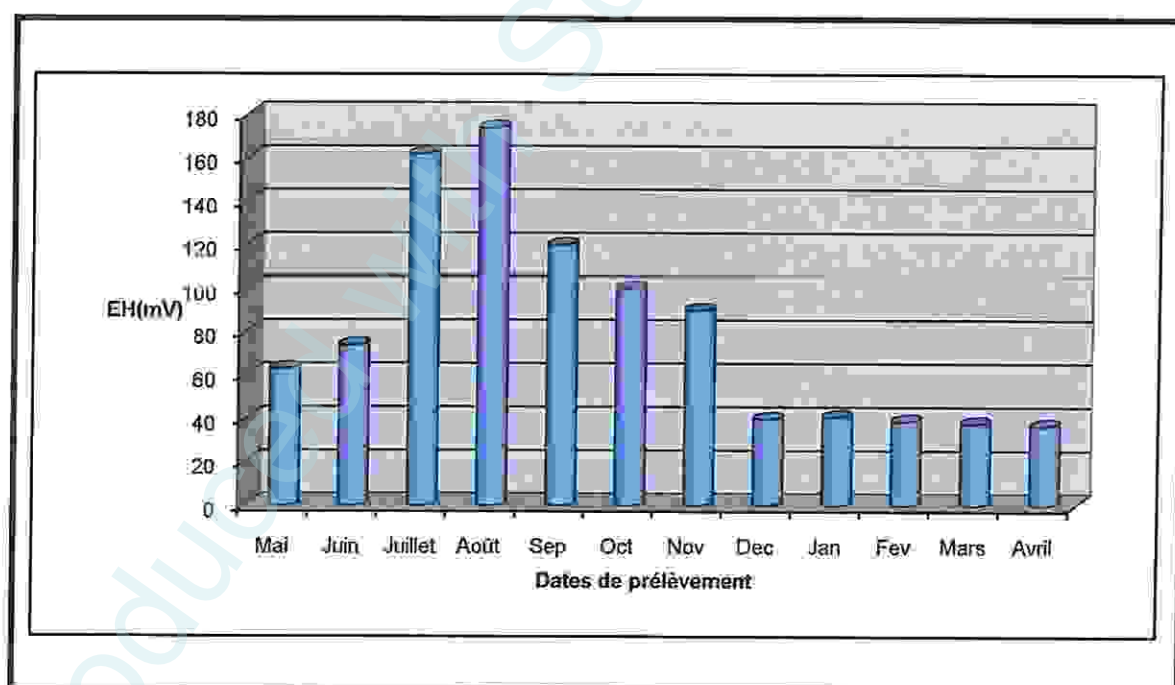
**Figure. 32. Variations de la conductivité de l'eau de la retenue collinaire**



**Figure. 33. Variations de TDS de l'eau de la retenue collinaire**



**Figure .34. Variations de la salinité de l'eau de la retenue collinaire**



**Figure .35. Taux de cologarithme de la pression d'équilibre d'hydrogène de l'eau de la retenue collinaire**

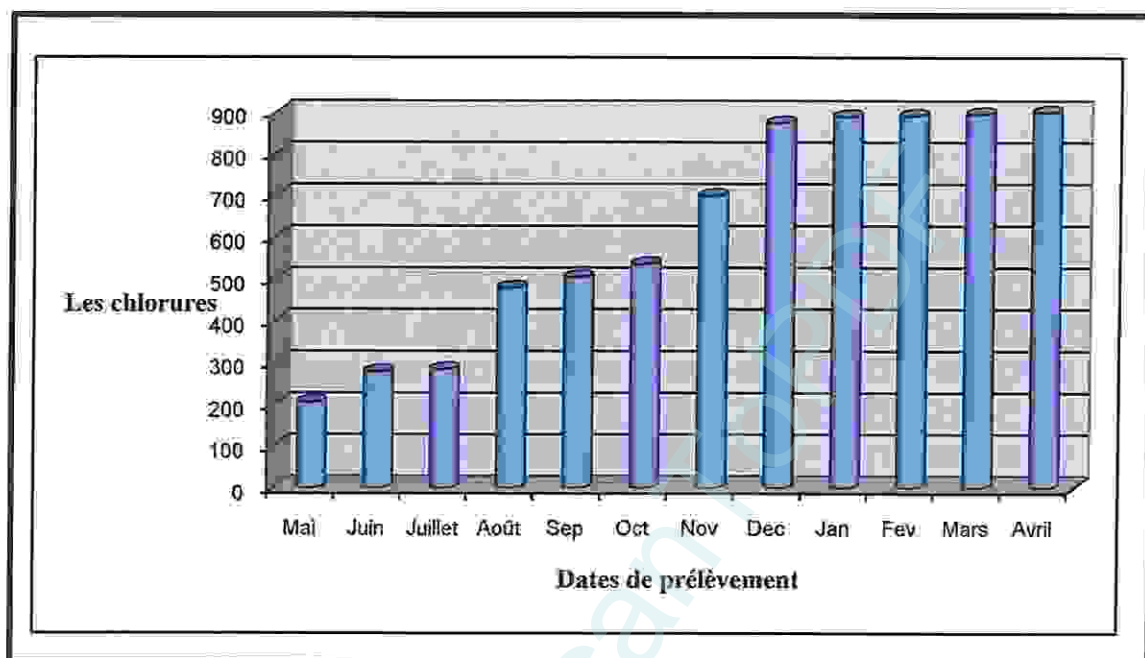


Figure .36 . Variations des chlorures de l'eau de la retenue collinaire

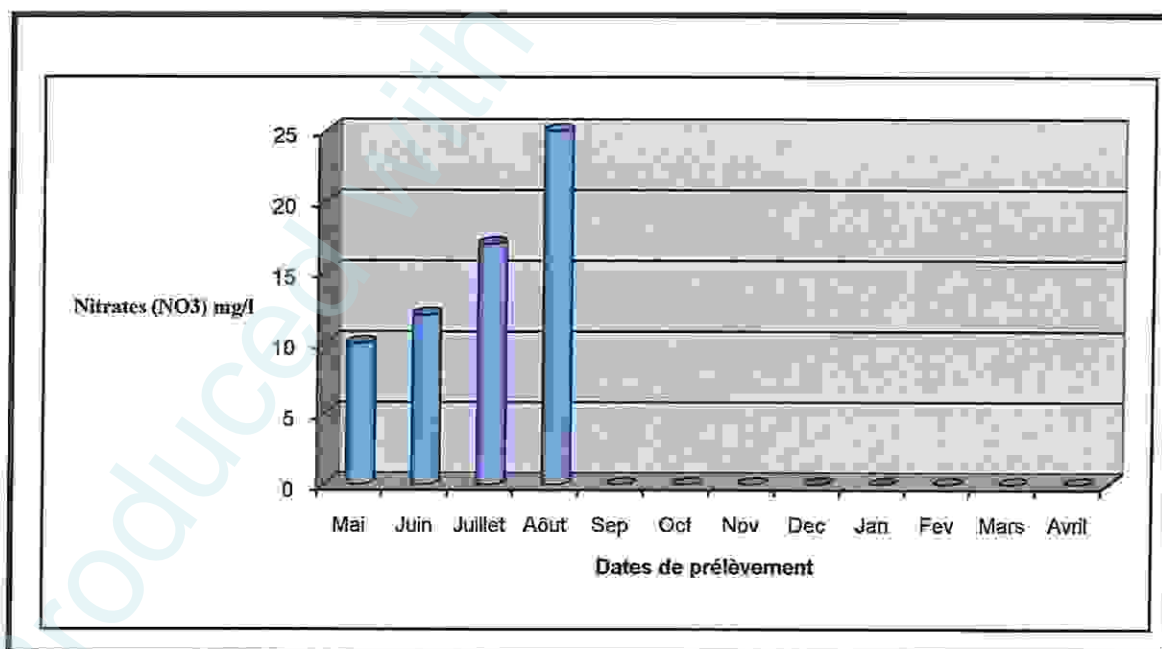
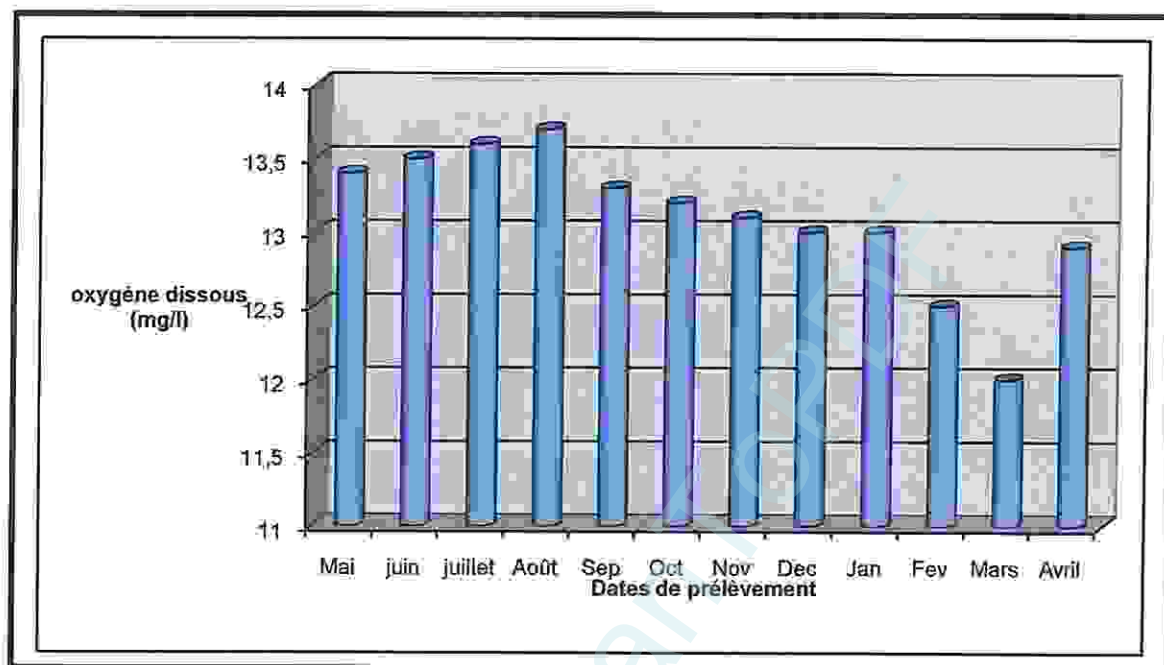
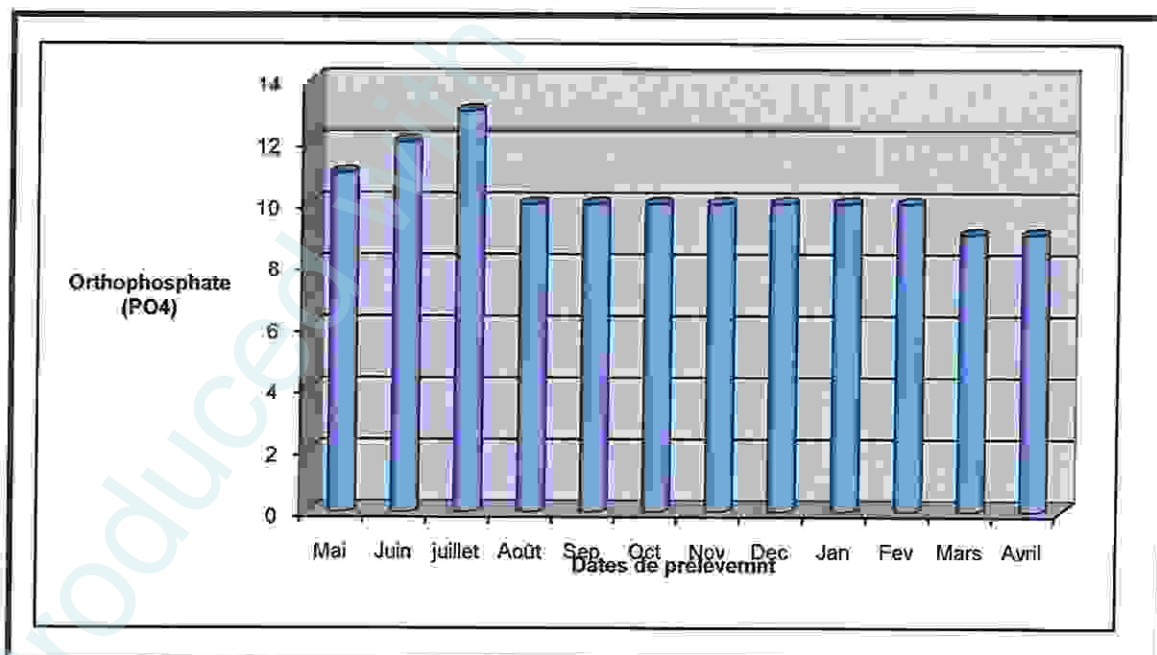


Figure .37. Variations des nitrates de l'eau de la retenue collinaire

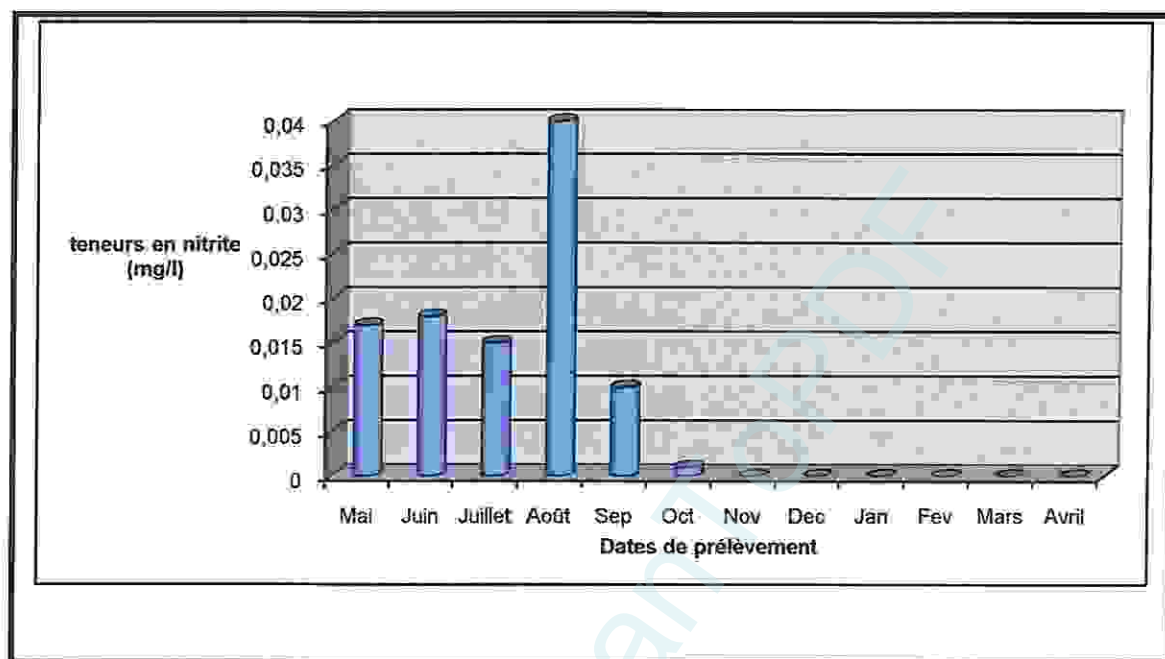




**Figure.38. Variations de l'oxygène dissous dans la retenue collinaire**



**Figure.39. variations des ortho phosphates dans la retenue collinaire**



**Figure.40. Teneurs en nitrite dans la retenue collinaire d'Ourkis**

Tableau.09. Tableau de lecture de la galerie Api 20 E

Test	substrats	Réactions/Enzymes	Résultats	
			négatif	positif
ONPG	Ortho-nit-ro-galactoside	B-galactosidase	incolore	jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	jaune	Rouge /orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	jaune	orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	jaune	Rouge ou orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du Citrate	Vert pâle/jaune	Bleu vert/vert
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d' H <sub>2</sub> S	Incolore grisâtre	Dépôtsnoire/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA /Immédiat</b>	
			Jaune	Marron foncé
IND	Indole	Production d'indole	<b>IND / 2 mn, maxi</b>	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	<b>Vp1+vp2/10mn</b>	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	jaune
INO	Inositol	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	jaune

<b>SOR</b>	Sorbitol	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	jaune
<b>SAC</b>	Saccharose	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose	Fermentation/ oxydation	Bleu/ bleu vert	Jaune
<b>Ox</b>	Sur papier filtre	Cytochrome- oxydase	<b>Ox / 5-10 mn</b>	
			Incolore	Anneau violet
<b>NO3- NO2</b>	Tube GLU	Production de NO2 Réduction au stade N2	<b>NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn</b>	
			Jaune	Rouge
			<b>Zn</b>	
			Rouge	Jaune
<b>MOB</b>	Microscope	Mobilité	Immobile	Mobile
<b>MAC</b>	Milieu de MacConkey	Culture sur	Absence	Présence
<b>OF</b>	Glucose	Fermentation : sous huile Oxydation : à l'air	Vert Vert	Jaune Jaune
<b>CAT</b>		Possession d'une catalase	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / 1-2 mn</b>	
			Pas de bulles	Bulles

## Milieux de cultures

**[M1]- Gélose nutritives (GN) : pH = 7.6 à 7.8**

Macération de viande (Eau distillée + extrait de viande)	1000ml
Peptone trypsine	15g
NaCl ou KCl	5g
Agar	15 à 20 g

**[M2]- Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol (BCPL) : pH = 6.7**

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Lactose	10g
Cristal violet	0.005g
Pourpre de Bromocrésol	0.025g
Eau distillée	1000ml

**[M3]- Gélose Hecktoène : pH = 7.5**

Protéose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaires	9g
Citrate de fer ammoniacal	1.5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuchsine acide	0.1g
Bleu de bromothymol	0.065g
Agar	14g
Eau distillée	1000ml



**[M4]-Gélose viande foie (VF) : pH = 7.2**Gélose de base :

Base viande foie	30g
Glucose	2g
Amidon	2g
Agar	11g
Eau distillée	1000ml

Gélose complète :

Même formule que le milieu de base auquel sont ajoutés :

Sulfite de sodium à 5%	50ml
Alun de fer ammoniacal à 5%	10ml

**[M5]- Gélose Salmonella-Shigella (SS) : pH = 7.0**

Extrait de viande de boeuf	5g
Polypeptone	5g
Lactose	10g
Sels biliaires	8.5g
Citrate de sodium	10g
Thiosulfate de sodium	8.5g
Citrate ferrique	1g
Gélose	13.5g
Vert brillant	0.00033g
Rouge neutre	0.025g
Eau distillée	1000ml

**[M6]- Milieu de Chapman mannité : pH = 7.4**

Peptone bactériologique	10g
Extrait de viande de bœuf	1g
Chlorure de sodium	75g

Mannitol 10g

Rouge de phénol 0.025g

Agar 15g

Eau distillée 1000ml

**[M7]- Milieu de Sabouraud : pH = 6 à 6.3**

Peptone Chapoteaut 10g

Glucose massé 20g

Agar 15g

Eau distillée 1000ml

**[M8]- Milieu de Roth : pH = 6.8 à 7**

Milieu simple concentration :

Peptone 20g

Glucose 5g

Chlorure de sodium 5g

Phosphate bipotassique 2.7g

Phosphate monopotassique 2.7g

Azohydrate de sodium 0.2g

Milieu double concentration :

Peptone 40g

Glucose 10g

Chlorure de sodium 10g

Phosphate bipotassique 5.4g

Phosphate monopotassique 5.4g

Azohydrate de sodium 0.4g

**[M9]- Milieu de Litsky : pH = 6.8 à 7**

Peptone 20g

Glucose 5g

Chlorure de sodium 5g  
Phosphate bipotassique 2.7g  
Phosphate monopotassique 2.7g  
Azothydrate de sodium 0.3g  
Ethyl-violet 0.0005g

**[M10]- Gélose de Mac Conkey : pH = 7.1**

Peptone bactériologique 20g  
Sels biliaire 1.5g  
Chlorure de sodium 5g  
Lactose 10g  
Rouge de 0.03  
Cristal violet 0.001  
Agar 15g

Eau distillée 1000ml

**[M11]- Milieu Clark et Lubs : pH = 7.5**

Peptone 5g  
Phosphate dipotassique 5g  
Glucose 5g  
Eau distillée 1000ml

**[M12]- Eau peptonée exempte d'indole : pH = 7.2**

Peptone exempte d'indole 10g  
Chlorure de sodium 5g  
Eau distillée 1000ml

**[M13]- Milieu mannitol mobilité : pH = 7.6 à 7.8**

Peptone tryptique de viande 20g  
Agar 4g  
Mannitol 2g

Rouge de phénol à 1% 4g

Nitrate de potassium (KNO<sub>3</sub>) 1g

Eau distillée 1000ml

**[M14]- Milieu de TSI (gélose glucose-lactose-saccharose-H<sub>2</sub>S) : pH = 7.4**

Peptone 20g

Extrait de levure 3g

Extrait de viande 3g

Chlorure de sodium 5g

Thiosulfate de sodium 0.5g

Lactose 10g

Saccharose 10g

Glucose 1g

Rouge de phénol q.s

Agar 12g

Eau distillée 1000ml

**[M15]- Milieu de simmons : pH = 6.8**

Sulfate de magnésium 0.2g

Phosphate mono ammoniacal 1g

Phosphate dipotassium 1g

Citrate de sodium 2g

Chlorure de sodium 5g

Bleu de bromothymol 0.08g

Agar 15g

Eau distillée 1000g

**[M16]-Urée indole : pH = 7.2**

L- tryptophane 3g

Phosphate bipotassium 1g

Phosphate monopotassium 1g

Chlorure de sodium 5g

Urée 20g

Alcool à 95° 10ml

Rouge de phénol 28mg

Eau distillée 1000ml

**[M17]- Eau peptonée alcaline (EPA) : pH = 8.6**

Peptone tryptique 30g

NaCl 30g

Eau distillée 1000ml

**Réactifs utilisés**

**[R1]- Réactif rouge de méthyle (RM) :**

Rouge de méthyle 0.5g

Alcool à 60° 100ml

**[R2]- Réactif de Vosges Proskauer (VP):** pour la recherche de l'acétoïne:

**VP1:**

Hydroxyde de potassium 40g

Eau distillée 100ml

**VP2:**

Alpha naphthol 6g

Ethanol 100ml

**[R3]- Réactif de Kowacks :** la mise en évidence de la production d'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde 5g

Alcool amylique 75ml

HCL pur 25ml

**[R4]- Réactif de TDA :** pour la recherche du tryptophane désaminase.

Peptone de fer 3,4g

Eau distillée 100ml



Tableau.10. : Table de NPP

Falcon 1x50ml	Tube D/C 5x10ml	Tube S/C 5x1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0.5	
0	0	2	2	<0.5	4
0	1	0	1	<0.5	6
0	1	1	2	<0.5	4
0	1	2	3	<0.5	6
0	2	0	2	<0.5	8
0	2	1	3	<0.5	6
0	2	2	4	<0.5	8
0	2	0	3	<0.5	11
0	3	1	5	<0.5	8
0	3	0	5	<0.5	13
0	4	0	1	<0.5	13
1	0	1	3	<0.5	4
1	0	2	4	<0.5	8
1	0	3	6	<0.5	11
1	0	0	3	<0.5	15
1	1	1	5	<0.5	8
1	1	2	7	1	13
1	1	3	9	2	17
1	1	0	5	<0.5	21
1	1	1	7	1	13
1	2	2	10	3	17
1	2	3	12	3	23
1	2	0	8	2	28
1	2	1	11	3	19
1	3	2	14	4	26
1	3	3	18	5	34
1	3	4	21	6	53
1	3	0	13	4	66
1	3	1	17	5	31
1	3	2	22	7	47
1	4	3	28	9	59
1	4	4	35	12	85
1	4	5	43	15	100
1	4	0	24	8	120
1	4	1	35	12	75
1	4	2	54	18	100
1	4	3	92	27	140
1	5	4	160	39	220
1	5	5	>240		450

Tableau.11. 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

Tableau.12. : les caractères biochimiques des Entérobactéries

	Salmonella	Citrobacter	Shigella	Klebsiella	Enterobacter	Serratia	Proteus	Yersinia
Mobilité	+	+	-	-	+	+	+	D
Gaz en glucose	+	+	-	+	+	D	D	-
Galactose	-	+/-	-	+	+/-	+/-	-	-
ONPG	-	+	D	+	+	+	-	(+)
H <sub>2</sub> S	+	+	-	-	-	-	-	-
Urease	-	(+)	-	(+)	-	-	-	+
pH. Alcaline et TDA	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	D	-	-	-	+	-
LDC	+	-	-	D	D	+	-	-
ODC	D	-	D	-	+	+	-	D
Citrate	+	+	-	+	+	+	+	+/-
Gélatine	-	+	-	-	D	+	-	-
Culture en GN	-	+/-	-	+	+	+	+	-
Mannitol	-		D	+	+	+	D	+
Mobilité	+	+	+	+	+	-	+	+
Saccharose	-	D	-	+	+	+	D	D
VP	-	-	-	+/-	+	+	-	D