

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1965 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 : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : Santé Eau Environnement.

Thème

Contrôle de la qualité des eaux du lac Oubeira, et son impact sur la santé humaine.

Présenté par :

Mme : BAALIA KARIMA.
Mlle : MELLOULI RADHIA.

Devant le jury composé de :

Président : Mlle. KHENAKA.K
Examineur : Mr. MERZOUG.A
Encadreur : Mme. BADIOULS

Université de Guelma.
Université de Guelma.
Université de Guelma.

Juin 2013

REMERCIEMENT

Nos remerciements les plus sincères vont être adressés à tous les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'évaluer notre travail:

Mme KHEENAKA K pour avoir accepté de présider ce travail.

Mr: MARZOUKA pour avoir accepté d'examiner ce travail.

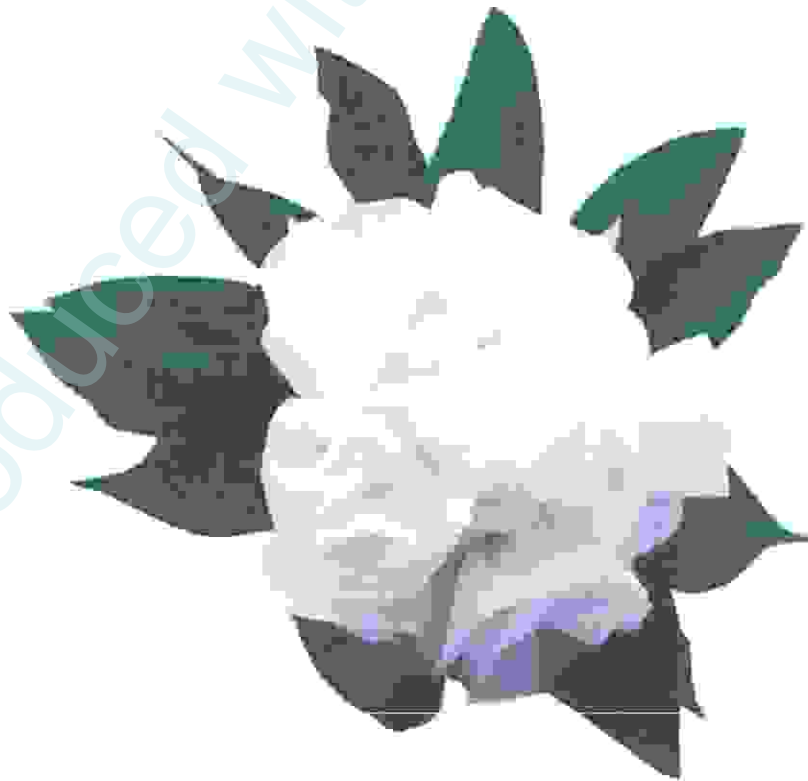
Nous remercions Dieu tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre encadreure : Mme BIDIUIS.S.

Pour sa compréhension, son aide, son soutien, ses conseils et ses encouragements.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à mon père RABIE BAALIA. Du nous avoir fait bénéficier de sa précieuse aide, ses encouragements, ses conseils et ses bonnes humeurs.

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



Sommaire

Partie I : Etude bibliographique

Introduction

Chapitre I : Description de site d'étude

1. Description de la région d'étude (PNEK).....	3
1.1. Description du site d'étude	3
2. Situation géographique de lac.....	3
2.2. caractéristique du lac Oubeira	3
2.3. Diversité biologique du lac Oubeira.....	4
2.4. les problèmes du lac Oubéira	5

Chapitre II : les paramètres physiques chimiques.

1. Paramètres physiques	6
1.1. La couleur	6
1.2. Odeur-saveur	6
1.3. La turbidité	6
1.4. La température.....	6
1.5. La conductivité.....	6
1.6. Les matières en suspensions (MES)	7
2. Paramètres chimiques	7
2.1. Le pH.....	7
2.2. Le chlorure Cl	7
2.3. L'alcalinité (TA-TAC).....	7
2.4. La dureté ou l'hydrotimétrie (TH)	8

2.5. Le phosphore	8
2.6. Le potassium	8
2.7. Le magnésium	8
2.8. La demande chimique en oxygène	8
2.9. La demande biochimique en oxygène	9

Chapitre III : l'identification fongique.

1. Généralités	10
2. La classification des champignons	10
3. L'appareil végétatif ou thalle	13
4. La reproduction	13
5. Identification fongique de deux espèces <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	14
6. Critères d'identification des moisissures	14
7. Le rôle et effets des champignons	15

Chapitre II : Pollution des eaux.

1. Etude de la pollution des eaux	16
1.1. Généralité	16
2. Les différents types de pollution	16
2.1. La pollution physique	16
2.2. La pollution chimique	16
2.3. La pollution organique	16
2.4. La pollution inorganique	16
2.4.1. La pollution par les métaux lourds	16
2.4.1.1. La toxicité des métaux lourds	17

2.5. La pollution microbiologique.....	17
2.5.1.. Les indicateurs biologiques de la pollution	17
2.5.2. Les maladies hydriques	18
2.5.2.1. Maladies d'origine bactérienne	19
2.5.2.2. Maladies d'origine virale	20
2.5.2.3. Maladies d'origine parasitaire	21

Partie II : Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Matériel	23
2. Méthodes	23
2.1. Echantillonnage	23
2.2. Présentation des points de prélèvement.....	23
2.3. Mode de prélèvement	24
2.4. Moyen et préparation des échantillons.....	24
2.5. Méthodes d'analyse	24
3. Identification fongique	24
3.1. les milieux de culture.....	24
3.2. L'ensemencement	25
3.3. L'incubation.....	26
3.4. Observation des souches.....	29
3.4.1. Observation macroscopique.....	29
3.4.2. Observation microscopique.....	29

4. Analyse bactériologique.....	30
4.1. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination	30
4.1.a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants.....	30
4.1.b. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	31
4.2. Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes	36
4.3. Recherche des Staphylocoques pathogènes	40
4.4. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	42
5. Analyse physiques chimiques.....	43
5.1. La matière en suspension.....	43
5.2. La turbidité.....	44
5.3. Les chlorures.....	44
5.4. Les matières organiques.....	44
5.5. Résidu sec.....	45
5.6. Le Magnésium.....	45
5.7. Le calcium	46
5.8. La dureté totale.....	46
5.9. Titre alcalimétrique simple et complet (TA et TAC).....	47
5.10. Dosage des métaux lourds.....	47
 <i>Chapitre IV : Résultats et Discussion</i>	
Résultats et discussions.....	48
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Les principaux caractères du lac Oubeira.	3/4
Tableau 2	caractéristiques des principaux groupes des mycètes.	10/11
Tableau 3	Identification d' <i>aspergillus</i> et <i>pinicillium</i> .	14
Tableau 4	les principaux critères d'identification fongique.	15
Tableau 5	la toxicité des métaux lourds.	17
Tableau 6	Principale maladies hydriques d'origine bactériennes.	18/19
Tableau 7	Principales maladies hydriques d'origine virales.	20 /21
Tableau 8	Principale maladies hydriques d'origines parasitaires.	21/22
Tableau 9	la préparation et la stérilisation des milieux de culture.	25
Tableau 10	la dilution et les principales méthodes d'ensemencement.	25
Tableau 11	les méthodes d'observation microscopique des souches.	29
Tableau 12	les méthodes d'observation microscopiques des bactéries.	35/36
Tableau 13	La Galerie Classique.	36/37
Tableau 14	la technique de la recherche de l'enzyme bêta-galactosidase.	38/39
Tableau 15	la technique de la recherche du tryptophane désaminase.	39
Tableau 16	la technique de la recherche de la staphylocoagulase.	41
Tableau 17	l'aspect macroscopique dans les milieux de culture.	47/48
Tableau 18	Résultat de l'isolement des Entérobactéries.	57/60
Tableau 19	Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolées.	60/61

Liste des schémas

Numéro	Titre	Page
Schéma 1	la classification des champignons.	12
Schéma 2	la méthode de La dilution pour le site N°6 et le site N°1	27
Schéma 3	l'Exemple de protocole d'ensemencement a partir de site N°.	28
Schéma 4	Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.	31
Schéma 5	Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination.	32
Schéma 6	Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes.	34

Produced with Scantopdf

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Carte géographique du Lac Oubeira.	3
Figure 2	les bords du lac Oubeira.	5
Figure 3	les sites de prélèvement à partir du lac Oubeira.	23
Figure 4	Multi-paramètres utilisé pour la détermination de : température, pH, et conductivité électrique.	43
Figure 5	l'aspect macroscopique de la colonie de <i>Microsporium</i> .	49
Figure 6	L'aspect microscopique de <i>Microsporium Persicolo</i> .	50
Figure 7	l'aspect macroscopique de la colonie de <i>Penicillium glabrum</i> .	50
Figure 8	l'aspect microscopique de <i>Penicillium glabrum</i> .	50
Figure 9	l'aspect macroscopique d' <i>Aspergillus terreurs</i> .	51
Figure 10	l'aspect microscopique d' <i>Aspergillus terreurs</i> .	51
Figure 11	L'aspect macroscopique de la colonie de <i>Penicillium chysogenuae</i> .	51
Figure 12	l'aspect microscopique de <i>Penicillium chysogenum</i> .	52
Figure 13	l'aspect macroscopique de la colonie d' <i>Aspergillus fimigatuse</i> .	52
Figure 14	l'aspect microscopique d' <i>Aspergillus fimigatuse</i> .	52
Figure 15	l'aspect macroscopique de la colonie d' <i>Aspergillus niger</i> .	53
Figure 16	l'aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .	53
Figure 17	l'aspect macroscopique de la colonie d' <i>Aspergillus glaucus</i> .	53
Figure 18	l'aspect microscopique d' <i>Aspergillus glaucus</i> .	54
Figure 19	l'aspect macroscopique de <i>saccharomyces cerevisiae</i> .	54
Figure 20	l'aspect microscopique <i>saccharomyces cerevisiae</i> .	54
Figure 21	l'aspect macroscopique de la colonie des <i>Rhodotorula rubra</i> .	54

Figure 22	l'aspect microscopique des <i>Rhodotorula rubra</i> .	55
Figure 23	variation du nombre des coliformes totaux en fonction des sites.	55
Figure 24	variation des nombres des Streptocoques fécaux en fonction des sites.	56
Figure 25	Colonie verte sur la gélose Hektoen.	57
Figure 26	Colonie noir sur la gélose SS	57
Figure 27	Bacilles Gram négatif.	57
Figure 28	Bacilles Gram négatif.	57
Figure 29	Résultat de la galerie classique <i>E. coli</i> .	57
Figure 30	Résultat de la galerie classique <i>Citrobacter intermedius</i> .	57
Figure 31	les tests complémentaires.	58
Figure 32	les tests complémentaires	58
Figure 33	Colonie noire sur la gélose Mac konkey.	58
Figure 34	Colonie noire sur la gélose SS.	58
Figure 35	Bacilles Gram négatif.	59
Figure 36	Bacilles Gram négatif.	59
Figure 37	Résultat de la galerie classique <i>Enterobacter aerogenes</i> .	59
Figure 38	Profil biochimique d' <i>Aeromonas hydrophyla</i> .	59
Figure 39	les testes complémentaires.	60
Figure 40	les testes complémentaires.	60
Figure 41	Colonies jaunes sur gélose chapman.	60
Figure 42	Colonies jaunes sur gélose chapman.	60
Figure 43	Cocci Gram positif.	60
Figure 44	Cocci Gram positif.	60

Figure 45	Profil biochimique de <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	61
Figure 46	Profil biochimique de <i>Staphylococcus lentus</i> .	61
Figure 47	Profil biochimique de <i>Staphylococcus saprophytus</i> .	62
Figure 48	variation du Ph en fonction des sites de prélèvement.	62
Figure 49	variation de la température en fonction des sites de prélèvement.	63
Figure 50	variation de la conductivité en fonction des sites de prélèvement.	64
Figure 51	variation de la turbidité en fonction des sites de prélèvement.	64
Figure 52	variation de la matière organique en fonction des sites de prélèvement.	65
Figure 53	variation de la matière en suspension en fonction des sites de prélèvement.	66
Figure 54	variation des résidus secs en fonction des sites de prélèvement.	66
Figure 55	variation du calcium en fonction des sites de prélèvement.	67
Figure 56	variation du magnésium en fonction des sites de prélèvement.	67
Figure 57	variation du chlorure en fonction des sites de prélèvement.	68
Figure 58	variation de titre alcalimétrique en fonction des sites de prélèvement.	68
Figure 59	variation de titre alcalimétrique complet en fonction des sites de prélèvement.	69
Figure 60	variation de la valeur hydrique en fonction des sites de prélèvement.	69
Figure 61	variation du zinc en fonction des sites de prélèvement.	70
Figure 62	variation du plomb en fonction des sites de prélèvement.	70

Liste des abréviations

AAS : la spectrophotométrie d'absorption atomique.

ADN : Acide désoxyribonucléique

API : Analytique Prophylactic Index

BCPL : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre

°C : Degré Celsius

CL : chlorure

CT : Coliformes totaux

DBO : demande biochimique en oxygène

DCO : demande chimique en oxygène

D/C : Double concentration

E. coli : Escherichia coli

Fig : Figure

g : Gramme

GN : Gelose Nutritive

H : Heure

He : hectare

H₂O₂ : eau oxygénée

IND : Indole

L : Litre

LDC : Lysine déshydrogénase

M : mètre

Min : minute

ml : millilitre

Mes : matière en suspension

Nb : Nombre

NIT : Nitrate

NPP : Nombre le plus probable

NTU : Unité de Turbidité Néphélométrique

ODC : Omithine décarboxylase

OMS : organisation mondiale sanitaire.

ONPG : Ortho-Nitrophényle-B-D-Galactosidase

Pb : plomb

PH : Potentielle Hydrogène

PNEK: Park National d'El Kala

RM: Rouge de méthyle

S : site

SF : Streptocoque fécaux

SS : Salmonella-Shegilla

T : Température

TDA : Tryptophane décarboxylase

TGEA : gélose tryptone glucose à l'xtrait de levure

TSI : Triple Sugar Iron

UFC : Unité formant colonie.

Us /cm : micro-Siemens par centimètre

VP : Voges Proskawer

Zn : zinc

F° : Un degré français

Produced with ScanTOPDF



Introduction

Produced with ScantPDF

Introduction :

Le lac Oubeira fait partie du complexe des zones humides, avec une importance géochimique nommée selon l'existence de plusieurs espèces rares telles que (Les hélophytes, scribe incliné, Les sédentaires, flamant rose). [3]

A partir de la richesse écologique cette elle est enregistrée comme zone humide réservée dans la convention de Ramsart santé.

Malheureusement Ces eaux douces sont touchées par double pollution :

Pollution organique tel que ; la présence d'une grand quantité d'une matière organique au niveau de ces eaux qui favorise la multiplication de plusieurs microorganismes capable de provoquer des maladies hydriques.

La pollution oxydante causée par la présence des métaux lourds dans l'eau du lac qui provoque des anomalies sanitaire, comme les cancers, ulcération du foie...etc.

La présente étude vise à déterminer la qualité d'eau naturelle «Lac oubaira» qui se situe dans le Park National d'El Kala (wilaya d'El Tarf).

Elle est regroupée en deux parties :

I. Une théorique subdivisée en quatre chapitres :

- Généralités sur le site d'étude.
- paramètres physico-chimiques
- Identification fongique
- La pollution des eaux.

II. Une partie Expérimentale :

- La recherche et dénombrement des germes fongiques à partir de lac.
- La recherche et dénombrement des germes indicateurs de pollution fécale qui regroupent : les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux.



- La recherche des bactéries pathogènes telle que : les entérobactéries pathogènes, *Pseudomonas* et staphylocoques pathogènes.
- Les paramètres physico-chimiques, et dosage des métaux lourds.
- Résultat et discussion :

Mentionne les différents résultats obtenus au cours de notre étude. Avec une discussion et conclusion.

Produced with ScanTOPDF



Chapitre : I

Produced with ScantPDF

1. Description de la région d'étude (PNEK)

1.1. Situation générale de la région

Le Parc National d'EL-Kala est un ensemble de plans d'eau répartis entre lacs et marais dont les principaux sont le lac Tonga, le lac Oubeira, le lac Mellah, le lac Bleu, le marais de Bourdim et beaucoup d'autres d'importances écologiques égales. Il a été créé en 1983, et classé réserve de Biosphère en 1990, regroupe neuf communes. [47]

2. Description du site d'étude : lac oubeira

2.1. Situation géographique de lac

Lac Oubeira est un plan d'eau douce, de 2257ha de superficie et d'une profondeur moyenne de 2,15m. [27]

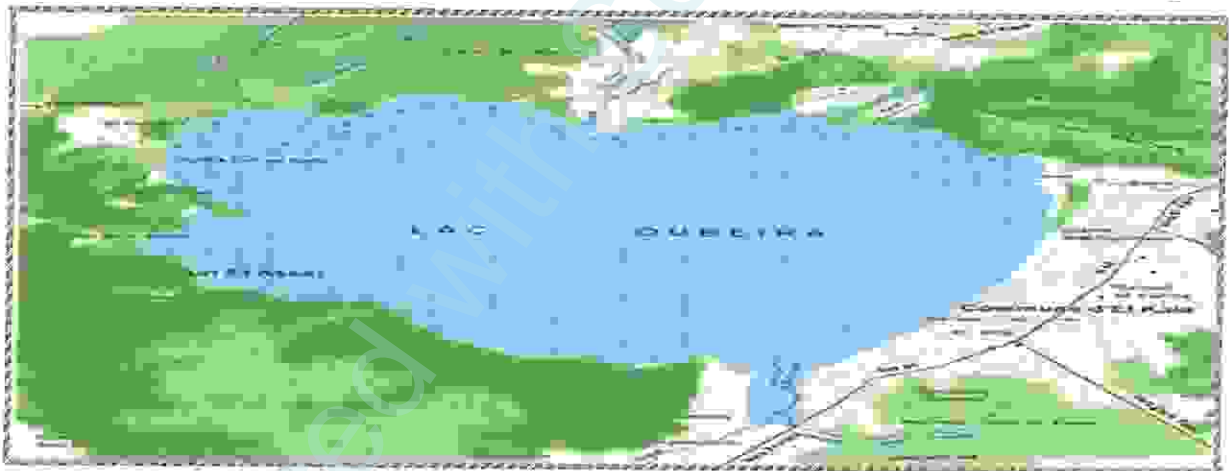


Figure.01 : Carte géographique du Lac Oubeira. [55]

2.2. Caractéristiques de lac Oubeira

Les caractéristiques du Lac Oubeira sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : les principaux caractéristiques de lac Oubeira.

Cours d'eau	Lac oubeira
type	Lac endoréique
L'origine	Naturelle

Profondeur maximal(m)	4
Profondeur minimal(m)	1,24
Type du terrain	<ul style="list-style-type: none"> • Argile
Les oueds alimentés le lac	<ul style="list-style-type: none"> • Oued Messida au Sud-est • Oued El Kbire au Nord d'El Tarf • Oued Demnet Errihane au Nord • Oued Boumerchène au Nord d'Est
Valeur hydrologique	Lac oubaira est un lac endoréique jouant un rôle de réservoir permettant la matrice des crues parfois spectaculaire, de l'oued El kbir. le lac constitué un réservoir de dépôt des sédiments provenant du bassin versant et chainés par les eaux de crues.

2.3. Diversité biologique de lac oubeira

De par sa localisation, lac Oubeira héberge une faune et une flore bien diversifiée.

- **La flore remarquable**

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

- Les hélrophytes indispensable à la nidification des oiseaux d'eau.
- le polygomum (polygonum senegalens).
- le scripe incliné (scirpu inclinatus).
- l'ultriculaire (ultracularia exoleta)

- **La faune remarquable**

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

- Les sédentaires sont représentés par le Blongois nain (*Ixobrychus minutus*).
- Talève sultane (*Porphyrio porphyrio*).
- plusieurs espèces de limicoles telle que l'Avocette (*Recurvirostra avossetta*).
- Les oiseaux d'eau observé tout au long de l'année mais de façon irrégulier sont l'Ibis facinelle (*Plegadis falcinellus*).
- le flamant rose (*phoenicopteurs rubes*).
- Les insectes d'anisoptères (odonates), parmi elles nous citons (*Anax inperator*, *Ana affinis*... etc).
- Les herbivores. [3].

2.4.les problèmes du lac oubéira

- **l'introduction d'une carpe exotique.**
- **en 1986, mais durant l'été 1990 :** le lac s'est asséché complètement, du fait des pompages et de la sécheresse, ce qui a eu pour effet de tuer les intruses. Mais cette disparition de l'eau a eu un impact sévère sur la végétation aquatique.
- **Extension de l'agriculture spéculative autour du Lac :** Il s'agit de la culture des arachides, pastèque et melon, nécessitant un pompage pendant la saison d'été.
- **Déversement des eaux usées :** Ces eaux usées Proviennent de l'agglomération du village El Frine, d'une partie d'El Kala et de la cité Djeflal Torki. [35]
- **La pollution par les déchets jetée sur les bords du lac.**

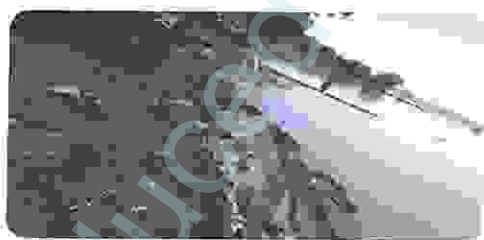


Figure 02 : les bords du lac Oubeira.

Chapitre : II

Produced with ScantPDF

1. Paramètres physico chimique

2. Paramètres physiques

2.1. La couleur

La coloration d'une eau dite vraie ou réelle lorsqu'elle est due aux seules substances en solution. Elle est dite apparente quand les substances en suspension y ajoutent leur propre coloration. [25]

2.2. Odeur-saveur

L'odeur et la saveur anormales sont dues à des molécules organiques contenues en très faible quantités dans les eaux. Ces molécules peuvent être soit des molécules d'origines naturelles : métabolites d'algues, d'actinomycètes...etc. soit d'origines de pollutions domestiques ou industrielles. [26]

2.3. La turbidité

La turbidité est due à la présence dans l'eau de particules en suspension minérales ou organiques, vivantes ou détritiques. Ainsi, plus une eau est chargée en biomasse phytoplanctonique ou en particules sédimentaires, plus elle est turbide. [28]

2.4. La température

La température de l'eau joue un rôle important par exemple en ce qui concerne la solubilité des sels et des gaz.

L'oxygène nécessaire à l'équilibre de la vie aquatique. la température accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques.

L'activité métabolique des organismes aquatiques est donc également accélérée lorsque la T° de l'eau s'accroît. [4]

2.5. La conductivité

La conductivité électrique est une expression numérique de la capacité d'une solution à conduire le courant électrique. La plupart des sels minéraux en solution des bons conducteurs. [4]



2.6. Les matières en suspensions (MES)

Les particules fines en suspension dans une eau sont soit d'origine naturelle, en liaison avec les précipitations, soit produites par les rejets urbains et industriels. Leur effet néfaste est mécanique, par formation de sédiments et d'un écran empêchant la bonne pénétration de la lumière d'une part (réduction de la photosynthèse), ainsi que par colmatage des branchies des poissons d'autre part. Leur effet est par ailleurs chimique par constitution d'une réserve de pollution potentielle dans les sédiments. [28]

3. Paramètres chimiques

3.1. Le pH

Le pH mesure la concentration d'une solution aqueuse en protons (H^+) et le degré d'acidité ou de basicité d'une solution. [29]

3.2. Le chlorure Cl

C'est un atome de chlore chargé d'un électron supplémentaire, une atome de chlore ayant gagné un électron.

Des chlorures peuvent être localement impliqués dans les pluies acides et phénomènes d'acidification d'eaux superficielles ou souterraines. [39]

3.3. L'alcalinité (TA-TAC)

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence d'hydrogencarbonates (HCO_3), de carbonate (CO_3^{2-}), d'ions hydroxydes (OH^-), elle est mesurée par 2 paramètres :

- Le titre alcalimétrique ou (TA) : mesure la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalis caustiques.
- Le titre alcalimétrique complet ou (TAC) : correspond à la teneur de l'eau en alcalis libre, carbonates et hydrogencarbonates, c'est la somme des ions OH^- et CO_3 .

Dans les eaux naturelles l'alcalinité exprimée en HCO_3 varie de 10 à 350mg /L.



3.4. La dureté ou l'hydrotimétrie (TH)

La dureté ou (titre hydrotimétrique) d'une eau correspond à la somme des concentrations en cation métalliques à l'exception de ceux des métaux alcalis et de l'ion hydrogène, dans la plupart des cas la dureté est surtout due aux ions calcium et magnésium auxquels s'ajoutent quelquefois les ions de fer, aluminium, manganèse, strontium.

En reconnaissant la valeur du TH, on peut classer les eaux douces, eaux moins dures et eaux dures. [25]

3.5. Le phosphore

Le phosphate est la forme sous laquelle le phosphore peut être assimilé par les êtres vivants, en particulier les algues. Chimiquement, le phosphate est une combinaison d'atomes de phosphore et d'oxygène. [32]

3.6. Le potassium

C'est un métal alcalin mou, d'aspect blanc métallique (légèrement bleuté) que l'on trouve naturellement lié à d'autres éléments dans l'eau de mer et dans de nombreux minéraux. Il s'oxyde rapidement au contact de l'air et réagit violemment avec l'eau. Il ressemble chimiquement au sodium. [41]

3.7. Le magnésium

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

3.8. La demande chimique en oxygène

La demande chimique en oxygène, ou (DCO), est l'un des paramètres de la qualité d'une eau. Elle représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder toute la matière organique contenue dans une eau. [44]



3.9. La demande biochimique en oxygène

La DBO est généralement exprimé en milligrammes d'oxygène dissous par litre d'eau pendant un nombre de jours précis à température donné. La DBO d'une eau polluée par des rejets d'égouts est élevée, ce qui signifie qu'il ne reste presque plus d'oxygène dissous dans l'eau [23]

Produced with ScanTOPDF



Chapitre : III

Produced with ScantPDF

1. Généralités

Ce sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques et d'autres microscopiques, avec un aspect filamenteux ou levuriforme. Ils sont des thallophytes dépourvus de feuilles, tiges et racines. Cosmopolites, retrouvés partout dans la nature.

Les champignons, présents, avec les espèces animales ou végétales des interactions saprophytisme (*Aspergillus*) au parasitisme (moisissure noire du pain), et symbiotiques (lichens, mycorhize) traduisent vraisemblablement leur coévolution avec les végétaux d'une part, et les animaux d'autre part. [2]

2. La classification des champignons

Les caractéristiques des principaux groupes des mycètes sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : caractéristiques des principaux groupes des mycètes.

Champignons	définition
<i>Les chytridiomycètes</i>	Sont surtout aquatiques, certains sont saprophytes, d'autres parasitent des protistes, des végétaux et des animaux, il semble que les chytridiomycètes parasites soient responsables du déclin de la population d'amphibiens.
<i>Les zygomycètes :</i>	Ce sont des champignons microscopiques. Ils sont très importants car ils forment, en associations avec de nombreux arbres, des mycorhizes particulières. Ils sont aussi des agents de décomposition de denrées alimentaires ; la moisissure noire du pain est un exemple connu de zygomycètes
<i>Les basidiomycètes :</i>	Comprend environ 25000 espèces, dont les polypores, les vesses de – loup, certaines rouilles et les champignons à carpophore volumineux. Leur nom vient de la structure en forme de massue qui apparaît pendant le stade diploïde transitoire de leur cycle de développement : la baside. Les basidiomycètes sont importants décomposeurs du bois et d'autres matières végétales.



Les ascomycètes :	Les ascomycètes constituent un groupe immense de champignons (plusieurs milliers d'espèces). Ils se définissent par la production de spores à l'intérieur de cellules particulières appelées asques . (Les autres champignons supérieurs fabriquent leur spores à l'extérieur de cellules appelées basides : ce sont des basidiomycètes).
Les deutéromycètes :	Ils rassemblent artificiellement sous le terme de fungi imperfectif tous les micromycètes pathogènes pour l'homme et uniquement connus sous l'aspect de leur souche ana morphe (reproduction asexuée). [1]

Produced with Scantopdf

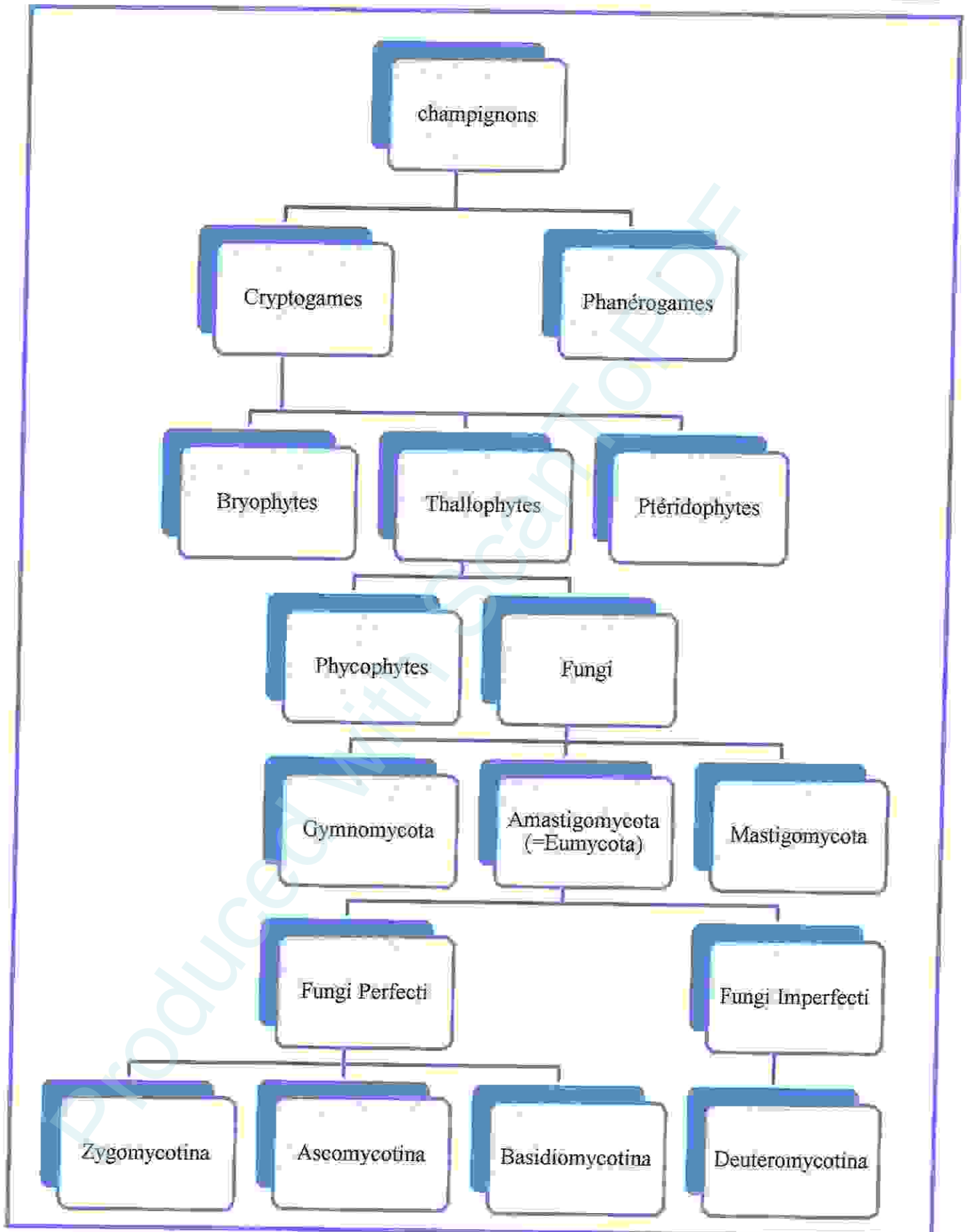


Schéma 1: la classification des champignons.

3. L'appareil végétatif ou thalle

Le thalle peut être unicellulaire : constituant l'appareil végétatif, il se transforme à maturité en un ou plusieurs organes reproducteurs (champignons holocarpiques) ou bien il donne naissance à une partie reproductrice (champignons eucarpiques). Les cellules peuvent être associées en colonies (ex : les levures). [8]

Il peut être aussi pluricellulaire : on distingue alors différents types de thalles :

Thalle plasmodial : plasmode.

Thalle filamenteux. Un thalle constitué de filaments ramifiés latéralement ou par dichotomie appelés hyphes. L'ensemble des hyphes constitue le mycélium. On distingue :

Le thalle cloisonnés et Coenocytique (ou siphonné). [8]

4. La reproduction

La reproduction chez les champignons est asexuée ou sexuée.

4.1. La reproduction asexuée

Se réalise de différentes façons :

Une cellule parentale se divise en deux cellules filles par constriction centrale et formation d'une nouvelle paroi cellulaire.

Les cellules végétatives bourgeonnent et peuvent subir simultanément une mitose. C'est très un phénomène fréquent chez les levures.

Le mode le plus commun de reproduction asexuée est la production de spores. Les spores asexuées sont produites chez un champignon par une mitose suivie d'une division cellulaire. Il existe plusieurs types de spore asexuée, chacun portant un nom : (arthroconidies ou arthrospores, chlamydospores, sporangiospores, conidiospores, blastospores). [24]

4.2. La reproduction sexuée

Les organes de reproduction sexuée sont les gamétocystes à l'intérieur desquels se différencient les gamètes. Les gamétocystes mâles (spermatocystes) et femelles (oogones) peuvent être morphologiquement identiques ou différents. [24]



5. Identification fongique de deux espèces *Aspergillus* et *Penicillium*

L'identification d'*aspergillus* et *pinicillium* est présentées dans le tableau 3 :

Tableau 3: Identification d'*aspergillus* et *pinicillium*.

Le Genre <i>Aspergillus</i>	Le Genre <i>Penicillium</i>
<p>sont des champignons saprophytes, très répandus dans la nature et inhalés quotidiennement par la plupart des humains.</p> <p>Ils sont présents dans les cavités naturelles accessibles aux poussières (arbre broncho-pulmonaire en premier, conduits auditifs externes parfois), sans exprimer de pouvoir néfaste.</p> <p>Ils peuvent acquérir un pouvoir pathogène pour déterminer des affections (aspergilloses) assez rares mais bien individualisées.</p> <p>L'aspergillose est une infection opportuniste.</p> <p>les agents responsables d'aspergilloses : <i>l'Aspergillus fumigatus</i>, <i>l'Aspergillus flavus</i>, <i>l'Aspergillus nidulans</i>, <i>l'Aspergillus versicolor</i>, <i>l'Aspergillus niger</i> et <i>l'Aspergillus terreus</i>. [36]</p>	<p>Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des <i>Ascomycètes</i>.</p> <p>Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores.</p> <p>Les <i>Penicillium</i> sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations.</p> <p>Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.</p> <p>Les espèces du genre <i>Penicillium</i> se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des <i>Aspergillus</i>, à des températures plus basses, Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées. [38]</p>

6. Critères d'identification des moisissures

L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie, rarement à des propriétés biochimiques. Elle nécessite souvent l'utilisation de milieux standards favorisant la croissance ou la reproduction et permettant ainsi une expression correcte des caractères à étudier [8]



Les principaux critères d'identification fongique sont présentés dans le tableau 4 :

Tableau 4: les principaux critères d'identification fongique.

Les Caractères culturaux	Vitesse de croissance, Texture et couleur du thalle, Couleur du reverse de la culture et présence d'un pigment diffusé, Exsudat, Odeur. [8]
Les Caractères morphologique	<p>Etude microscopique du mycélium : absence ou présence de cloisons, couleur, ornementation des thallospores.</p> <p>Natures des organes différenciés : zygosporés, apothécies, cléistothèques, périthèces, sporocystes, acervules, pycnides, sporodochies, corémies, conidiophores, sclérotés.</p> <p>Etude microscopique des organes différenciés et de leurs contenus : forme, couleur, dimension, texture des parois, ornementation.</p> <p>Etude biométrique, en notant les valeurs extrêmes mesurées et les moyennes, tout particulièrement pour les cellules sporogènes et les spores [8].</p>

7. Le rôle et effets des champignons

Ce sont des déstructures de la matière organique mortes.

Ils jouent un rôle dans la dégradation des déchets humains en transformant un produit inutilisable et en synthétisant à la place, de l'acide, de l'alcool et de l'aldéhyde. les enzymes de ces champignons sont utilisés industriellement.

Ce sont des producteurs utiles d'antibiotiques, de protéines, d'alcaloïdes ou stéroïdes.

Ils participent à la valorisation des denrées alimentaires (fermentation pain et bière, vin, fromages).

Ils provoquent la bio détérioration des appareils optiques, radio, glace, verre, peintures, livres. [38]

Chapitre : IV

Produced with ScantOPDF

1. Etude de la pollution des eaux

1.1. Généralité

La pollution de l'eau présente un grand problème subdivisé en plusieurs types cause des maladies après accumulation dans la chaîne trophique. [23]

2. Les différents types de pollution

Il existe plusieurs modes de pollution :

2.1. La pollution physique

La pollution physique est modifiée par plusieurs facteurs tels que les rejets réchauffés par les centrales thermiques. [6]

2.2. La pollution chimique

2.3. La pollution organique

La pollution organique est provoquée par les polluants carbonés, comme la matière Organique (lisier, boues d'épuration, etc.)

Dans le cas de la matière organique, les polluants peuvent augmenter la turbidité des eaux et créer un phénomène d'eutrophisation avec une diminution de la quantité d'oxygène dissous. [42]

2.4. La pollution inorganique

Les produits chimiques inorganiques sont des polluants qui contiennent des éléments autres que le carbone ; (acides, les sels et les métaux lourds).ils ne se dégradent pas facilement.

Certains polluants inorganiques sont toxiques pour les organismes aquatiques. Leur présence peut rendre l'eau impropre à la consommation. [6]

2.4.1. La pollution par les métaux lourds

Dans les écosystèmes aquatiques naturels, les métaux se trouvent à de faibles concentrations, généralement de l'ordre du nano gramme ou du microgramme par litre.

2.4.1.1. La toxicité des métaux lourds

La toxicité des métaux lourds présente une gravité même avec une faible dose.

Les cellules ciblées se caractérisent par une accumulation importante provoquant une destruction totale avec formation des réactions inflammatoires. [16]

Le Tableau 05 présente la toxicité des métaux lourds.

Tableau 05 : la toxicité des métaux lourds. [16]

particules	Toxicité
plomb	Trouble du système nerveux, affection du foie et des reins.
cadmium	Affection respiratoire, trouble rénaux.
mercure	Trouble du système nerveux (Mémoire, fonctions sensorielles de coordination).
Nickel	Maladies respiratoires asthme, malformation congénitales, cancers.
chrome	Cancers, troubles, dermatologique, anémie.

2.5. La pollution microbiologique

La pollution microbiologique des eaux est le terme utilisé pour désigner la présence des microorganismes qui sont à l'origine de contamination des eaux littorales, proviennent d'homme ou d'animaux qui hébergent dans leur appareil digestif, une quantité considérable de bactéries, voir de virus. [31]

2.5.1. Les indicateurs biologiques de la pollution

Les organismes et micro-organismes vivant dans les milieux aquatiques sont des indicateurs dans le but d'une suivre d'évolution de la qualité de l'eau. [19]

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

L'indicateur le plus utile pour estimer la pollution fécale est la bactérie *Escherichia coli*, abondant dans les fèces humaines. [43]

Les *streptocoques fécaux* sont en grande partie d'origine humaine. Cependant,

Certaines bactéries classées dans ce groupe peuvent être trouvées également dans les fèces animales. [13].

2.5.2. Les maladies hydriques

Une maladie hydrique est une maladie ou un trouble important causé chez l'homme ou l'animal par l'ingestion (eau de boisson) et/ou le contact avec une eau insalubre (baignade, etc...). Indispensable à la vie, l'eau devient dangereuse lorsqu'elle véhicule des micro-organismes (bactéries, virus, parasites) ou des substances toxiques (pesticides, toxines, nitrates, plomb, arsenic, mercure...). [45]

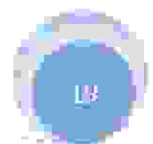
2.5.2.1. Les maladies d'origine bactérienne

Les principales maladies hydriques d'origine bactériennes sont représentées dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Principales maladies hydriques d'origine bactériennes.

La maladie	Bactéries responsables	Les symptômes
Fièvre typhoïde et paratyphoïde	<i>salmonella typhi</i> et <i>salmonella paratyphi A, B</i>	la fièvre, céphalées, diarrhée, douleurs abdominales, accompagnées d'un abattement extrême (le typhos) et peuvent avoir des complications graves, parfois mortelles : hémorragies intestinales, atteinte hépatique, respiratoires, neurologique. [43]
Choléra		Vomissements, douleurs épigastriques, avec anurie et crampes musculaires. Son évolution est mortelle en absence des traitements. Diarrhée (8 à 10 l/Jour). [26]
Légionnaire Pneumopathie	<i>Legionella pneumophila</i>	Une fièvre (40°C), les toux sèches, sang dans le crachat, respiration insuffisants. [26]

<p>Gastroentérites aigues et diarrhées</p>	<p><i>Escherichia coli :</i></p>	<p>Les symptômes associés à l'infection chez l'homme par STEC (Shiga toxine E.coli) varient d'une simple diarrhée sanglante souvent accompagnées de crampes abdominales. [26]</p>
<p>Gastro-entérite</p>	<p><i>Campylobacter jejuni</i></p> <p><i>Yersinia enterocolitica</i></p> <p><i>Salmonella sp :</i></p> <p><i>Shigella dysenteriae.</i></p>	<p>Les manifestations de l'infection vont de la forme asymptomatique à l'atteinte sévère avec fièvre, crampes abdominales, diarrhées plus ou moins sanglantes.</p> <p>Cette affection peut parfois prendre l'allure d'une appendicite aigue ayant conduit, dans certains cas, à une chirurgie.</p> <p>Elle provoque une diarrhée souvent sanglante, qui régresse au bout d'une semaine. Des complications abdominales peuvent néanmoins laissant penser parfois à une crise d'appendicite. [26]</p> <p>Leur début est brutal, avec élévation brutale de température accompagnée de douleurs abdominales, et émission d'importantes selles aqueuses suivies, 1 à 2 jours plus tard, par des volumes moindres de matières fécales contenant beaucoup de sang et de mucus. [26]</p> <p>diarrhée aqueuse, très semblable</p>



2.5.2.2. Maladies d'origine virale

Les principales maladies hydriques d'origine virales sont représentées dans le tableau 7 :

Tableau 7 : Principales maladies hydriques d'origine virales.

La maladie	Espèces responsables	Les symptômes
<i>La poliomyélite</i>	Virus de la poliomyélite.	<p>Le virus provoque dans un premier temps une légère fièvre, souvent accompagnée de systèmes de rhume banal.</p> <p>quelques jours, chez 1 à 2 % des sujets infectés, le virus atteint les neurones moteurs de la corne antérieure de la moelle épinière dont la destruction est responsable de formes de paralysies. [49]</p>
<i>L'hépatite A</i>	Virus de l'hépatite A	un ictère avec jaunissement de la peau mais ne conduit que rarement à un dysfonctionnement hépatique chronique. [26]
<i>L'hépatite E</i>	virus de l'hépatite E	<p>L'hépatite E peut également se manifester par un syndrome gastrique fébrile.</p> <p>elle n'évolue jamais vers la chronicité. [26]</p>
<i>Gastroentérites virales</i>	<p><i>Rotavirus</i></p> <p><i>Virus de Norwalk</i></p>	<p>diarrhée sévère, accompagnée de fièvre, et de vomissements, et quelquefois de déshydratation, nécessitant une hospitalisation.</p> <p>des diarrhées, des vomissements, des crampes abdominales, des nausées, des maux de tête, et une fièvre peu élevée</p> <p>diarrhée sévère, accompagnée de fièvre et de</p>

	<i>Adénovirus</i>	vomissements.
	<i>Astrovirus</i>	vomissements, diarrhée et fièvre supérieure à 39,5°C. [26]

2.5.2.3. Les maladies d'origine parasitaires

➤ Les protozoaires

Organismes unicellulaires eucaryotes dont plusieurs sont des agents d'épidémies hydriques. Ces dernières années, des épidémies de ce type ont fait leur apparition dans les pays industrialisés, ce qui a bouleversé complètement non seulement la notion même des transmissions par voie hydrique mais aussi le traitement de potabilisation nécessaire pour leur élimination. [15]

Les principales maladies hydriques d'origine parasitaires sont représentées dans le tableau 8 :

Tableau 8 : Principale maladies hydriques d'origines parasitaires.

La maladie	L'espèce responsable	Les symptômes
Amibiase.	<i>Amibe</i>	les symptômes classiques des entérocolites, avec crampes, et diarrhée muco-sanglante dans les cas sévères. Elle peut diffuser dans tous l'organisme à travers le système porte et engendrer des abcès du foie, du poumon et du cerveau. [21]
Giardiase	<i>Giardia lamblia, intestinalis</i>	Les symptômes incluent des crampes abdominales, nausées et diarrhée aqueuse. A la phase aiguë de l'infection peut succéder un état chronique qui reproduit à un degré moindre les symptômes de la phase aiguë. [22]

criptosporidiose	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Diarrhée 3 à 10 fois par jours, douleurs abdominales, fièvre. [22] Chez les immunodéprimés : diarrhée chronique.
-------------------------	-------------------------------	---

Produced with ScanTOPDF



*Matériel et
Méthode*

Produced with ScantopDF

Introduction

L'identification fongique et l'analyse bactériologique ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de Département de biologie à l'Université de Guelma.

1. Matériels

L'identification fongique et l'analyse bactériologique nécessite un matériel spécifique, telle que : L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages..., etc.

2. Méthodes

2.1. Echantillonnage

2.2. Présentation des points de prélèvement

L'étude a été faite au niveau du lac Oubeira (6 sites) :

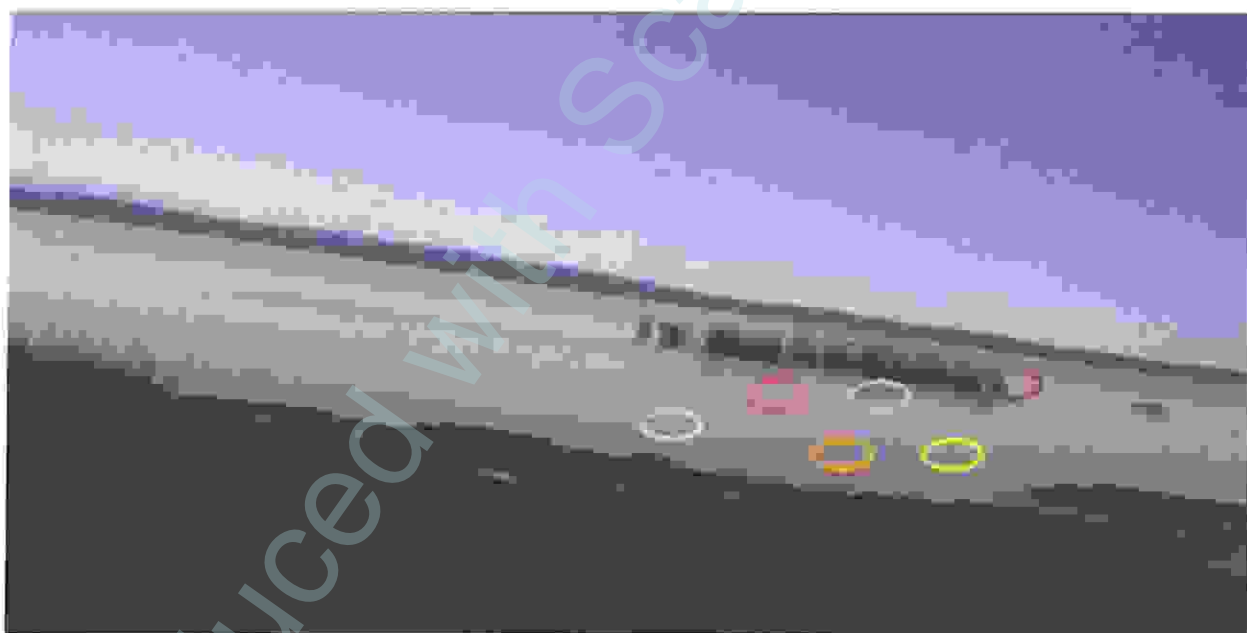


Figure 03. les sites de prélèvement à partir du lac Oubeira.

2.3. Mode de prélèvement

L'analyse bactériologique a été réalisée dans des flacons en verre de 250 ml stérilisé à l'autoclave.

Le flacon est débouché et immergé complètement en position verticale renversé en le tenant par le fond, retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigé dans le sens contraire du courant [18].

2.4. Moyen et préparation des échantillons

Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant : (Point du prélèvement, lieu et la nature, date et heure, conditions météorologique).

Les prélèvements sont transportés dans des glacières dont la température est comprise entre 4 à 6 °C, et les analyses bactériologiques ont été débutées dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon [14].

2.5. Méthodes d'analyse

L'objectif des techniques des analyses microbiologiques des eaux consiste à ensemercer une quantité connue d'eau à analyser sur milieu de culture, solide ou liquide. On suppose que, pendant l'incubation, chaque microorganisme présent se développe une culture sous forme d'une colonie ou trouble.

3. Identification fongique

3.1. Les milieux de culture

Pour l'identification des champignons on utilise plusieurs milieux de culture :

Les méthodes de la préparation et la stérilisation des milieux de culture sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 9 : la préparation et la stérilisation des milieux de culture.

Les milieux de culture	Préparation des milieux	Stérilisation des milieux
Milieu czapek simple Milieu czapek concentré Milieu sabouraud Milieu TGEA	<p>Les différents constituants des milieux sont pesés à l'aide d'une balance de précision et mis dans un bécher gradué tout en complétant le volume jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée.</p> <p>Ensuite on chauffe le tout pendant 5 min à une température supérieure ou égale à 100°C tout en exerçant une agitation pendant 20 min à l'aide d'un agitateur magnétique pour l'homogénéisation, enfin on verse le milieu liquide dans des flacons stériles en verre</p>	<p>La stérilisation est destinée à détruire tous les germes présents au départ dans le milieu, elle est réalisée dans un autoclave par la vapeur sous haute pression, à haute température (120°C) pendant 20 minutes.</p>

3.2. L'ensemencement

La méthode d'ensemencement et la dilution sont présentées dans le tableau 10 :

Tableau 10 : la dilution et les principales méthodes d'ensemencement.

La dilution	Technique d'ensemencement
<p>A partir de l'échantillon mère nous réalisons une série de dilution décimale en reportant 1 ml de chaque échantillon dans 9 ml d'eau distillés stérile jusqu'à la dilution 10^{-6}. Dans notre cas, nous avons utilisé pour chaque site une dilution équivalente au site.</p>	<p>La méthode consiste à :</p> <ul style="list-style-type: none"> Ensemencement dans la masse. Ensemencement en surface : dans cette technique, le volume de dilution étalé en surface d'un milieu gélosé et refroidi. <p>les boîtes de pétri peuvent être ensemencés par :</p> <ul style="list-style-type: none"> Stries ou striation : A partir de chaque dilution, on prélève 1 ml qu'on divise en deux gouttes sur les deux côtés de la boîte de pétri. Étalement sur boîte : un étalement sur boîte consiste à étaler 0,1 ml de chaque dilution à la surface du milieu solide par

une tige de verre stérile en forme de

3.3. L'incubation

Après l'ensemencement, les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à deux températures :

- les boîtes contenant les milieux czapek simple, TGEA, à 37°C.
- Les boîtes contenant le milieu czapek concentré et le milieu sabouraud, à 30°C.

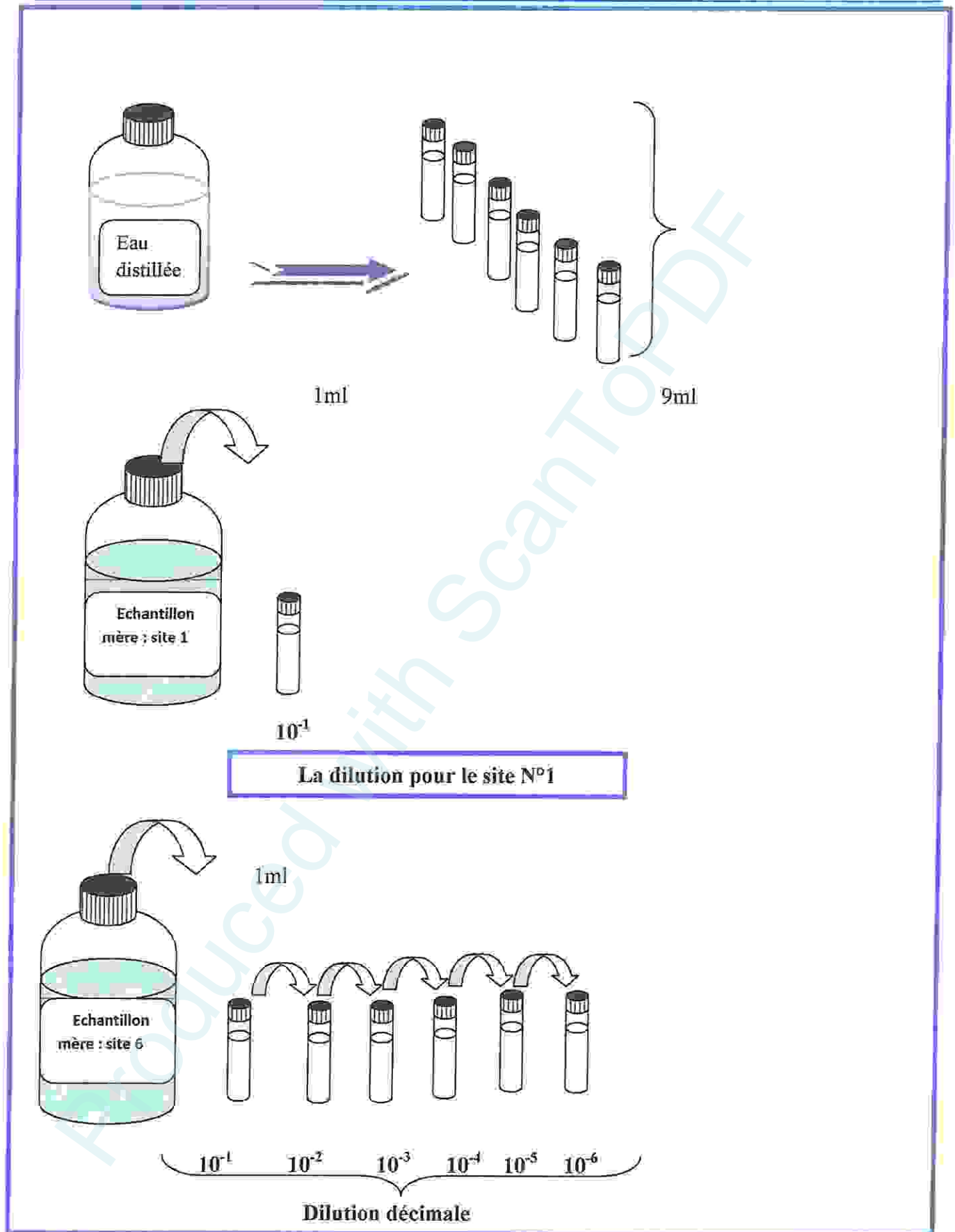


Schéma 2 : la méthode de La dilution pour le site N°6 et le site N°1

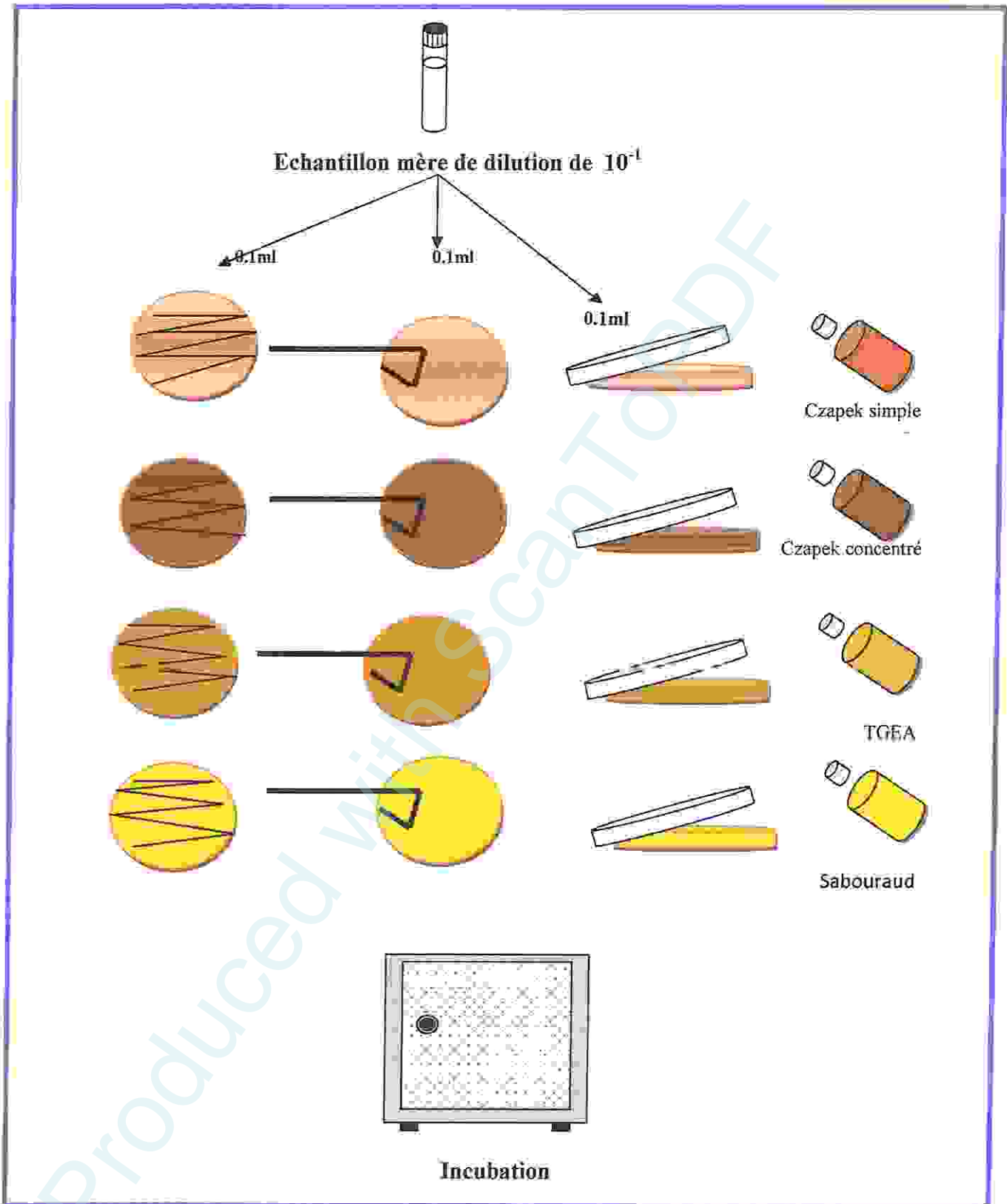


Schéma 3: Exemple de protocole d'ensemencement à partir d'eau du lac.

3.4. Observation des souches

3.4.1. Observation macroscopique

Permet de connaître la taille, la forme, la couleur, la consistance, des colonies.

3.4.2. Observation microscopique

Les méthodes d'observation microscopique des souches fongique est présentées dans le tableau suivant :

Tableau 11 : les méthodes d'observation microscopique des souches.

Examen direct		
	à l'état frais	après coloration
Le but d'examen	Permet d'observer les champignons vivants : la forme d'hyphes, la taille, la mobilité, et l'abondance des filaments ou des levures. [1]	Les colorants peuvent améliorer la qualité du contraste ou mettre en relief certains détails de la structure (ornementation des spores, cloisonnement des hyphes, etc.). Les colorants les plus utilisés sont : le bleu de méthylène. [1]
La méthode	<p>Prélever à l'aide d'un petit fragment du ruban test une colonie à partir de la plaque gélosé, couler le ruban sur la lame.</p> <p>Déposer aseptiquement sur une lame porte-objet (propre) une goutte d'eau physiologie.</p> <p>Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air. [7]</p> <p>Faire l'observation microscopique(X40)</p>	<p>touts coloration nécessite un frottis:</p> <p>Prélever à l'aide d'un petite fragment du ruban une colonie à partir du plaque gélosé, couler le scotche sur la lame.</p> <p>Déposer sur la lame une goutte d'eau distillée.</p> <p>Mélanger pour obtenir une suspension homogène.</p> <p>Sécher et fixer le frottis au dessus de la flamme du bec Bunsen.</p> <p>Réaliser une coloration simple au bleu de méthylène. [7]</p> <p>Observer au microscope à immersion après avoir déposer une goutte de l'huile de cèdre au centre de la lame(X100).</p>

4. Analyse bactériologique

4.1. Recherche et dénombrement des bactéries tests de contamination fécale

4.1. a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants

La recherche et le dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du NPP :

Technique :

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

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

Dénombrement :

On note le nombre de tubes positifs dans chaque série, avec lustrations de la table de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes présents dans 1 ml ensuite dans 100 ml d'eau.

[11]

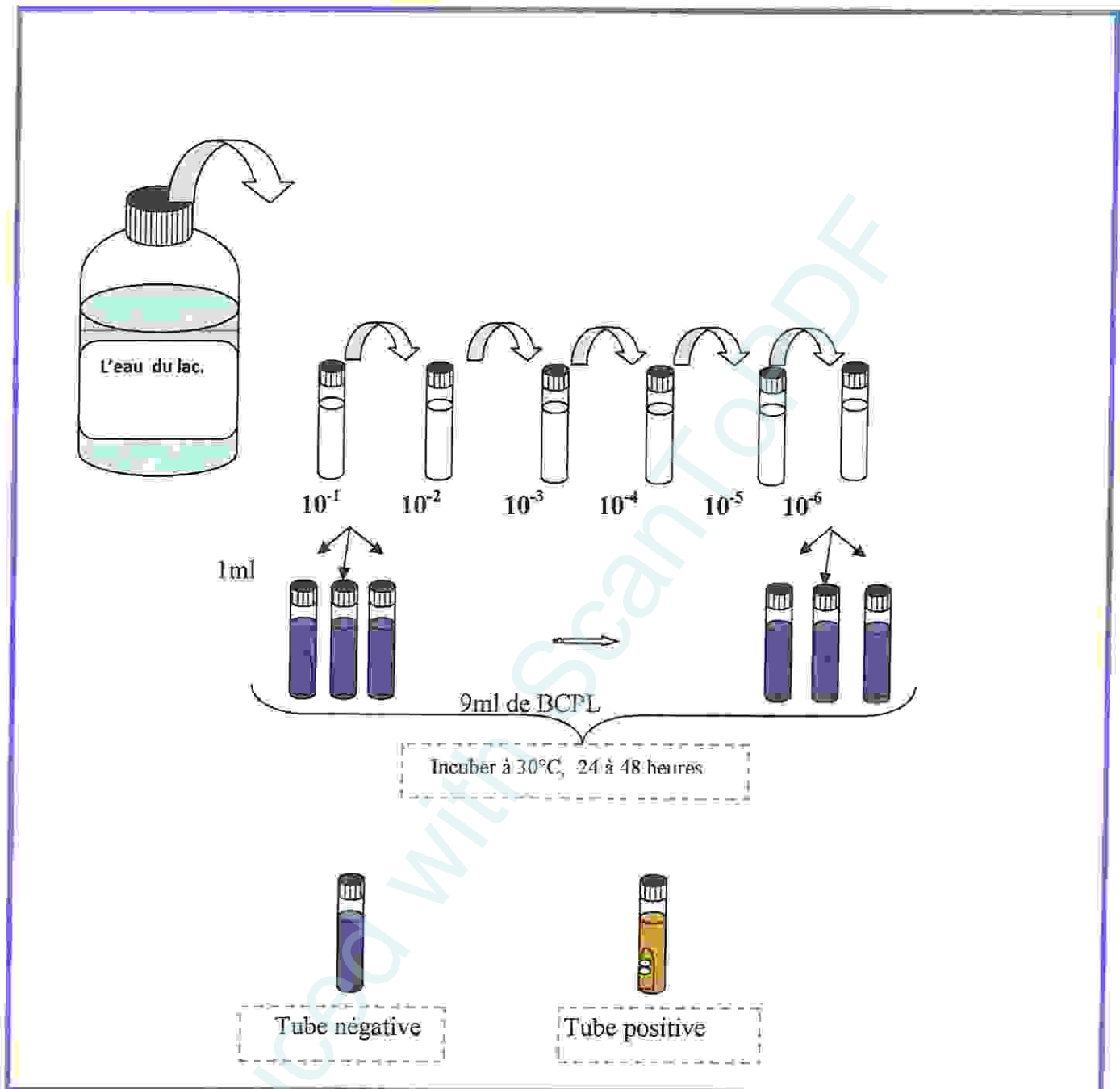


Schéma 4 : Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.

4. 1. b. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

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

Technique

- Préparer une série de tubes contenant le milieu ROTHE.
- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 ml, dans chaque un des 3 tubes de ROTHE à partir de la même dilution.

- Incuber à 37° C pendant 24 à 48 h [19].

Lecture

Les tubes présentant un trouble microbien considérez positive.

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

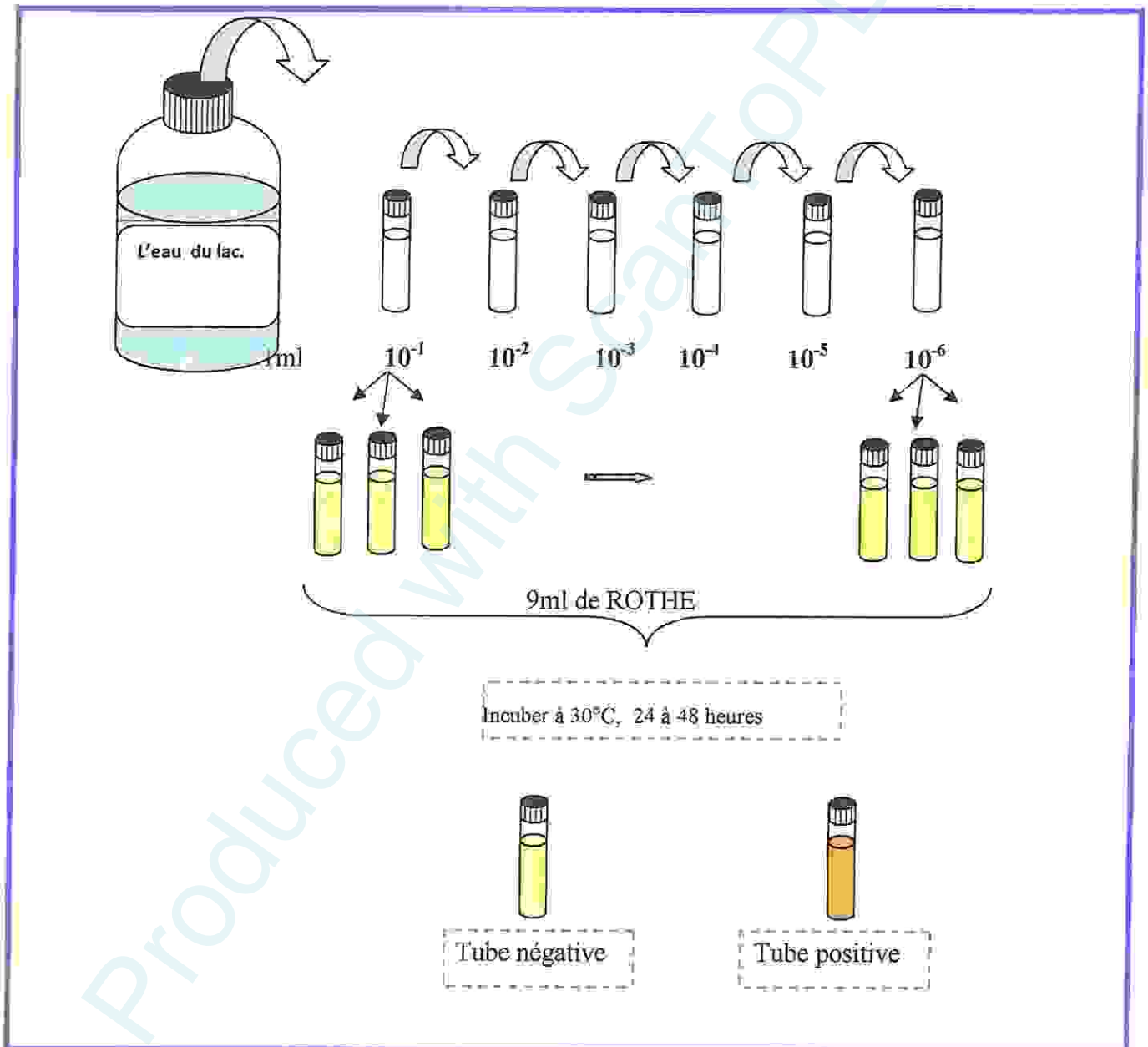


Schéma 5 : Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination

4.2. Isolement et identification des entérobactéries pathogènes

Pour la recherche des entérobactéries ont utilisé trois milieux : (La gélose Mac Conkey , La gélose Hektoen , La gélose *Salmonella-Shigella*).

- Les géloses SS et Hektoen et mac Conkey ont été ensemencés avec 0.1 ml d'eau de chaque site.
- Toutes les boîtes sont incubées à 37° C pendant 18 à 24 h [19].

Produced with ScanTOPDF



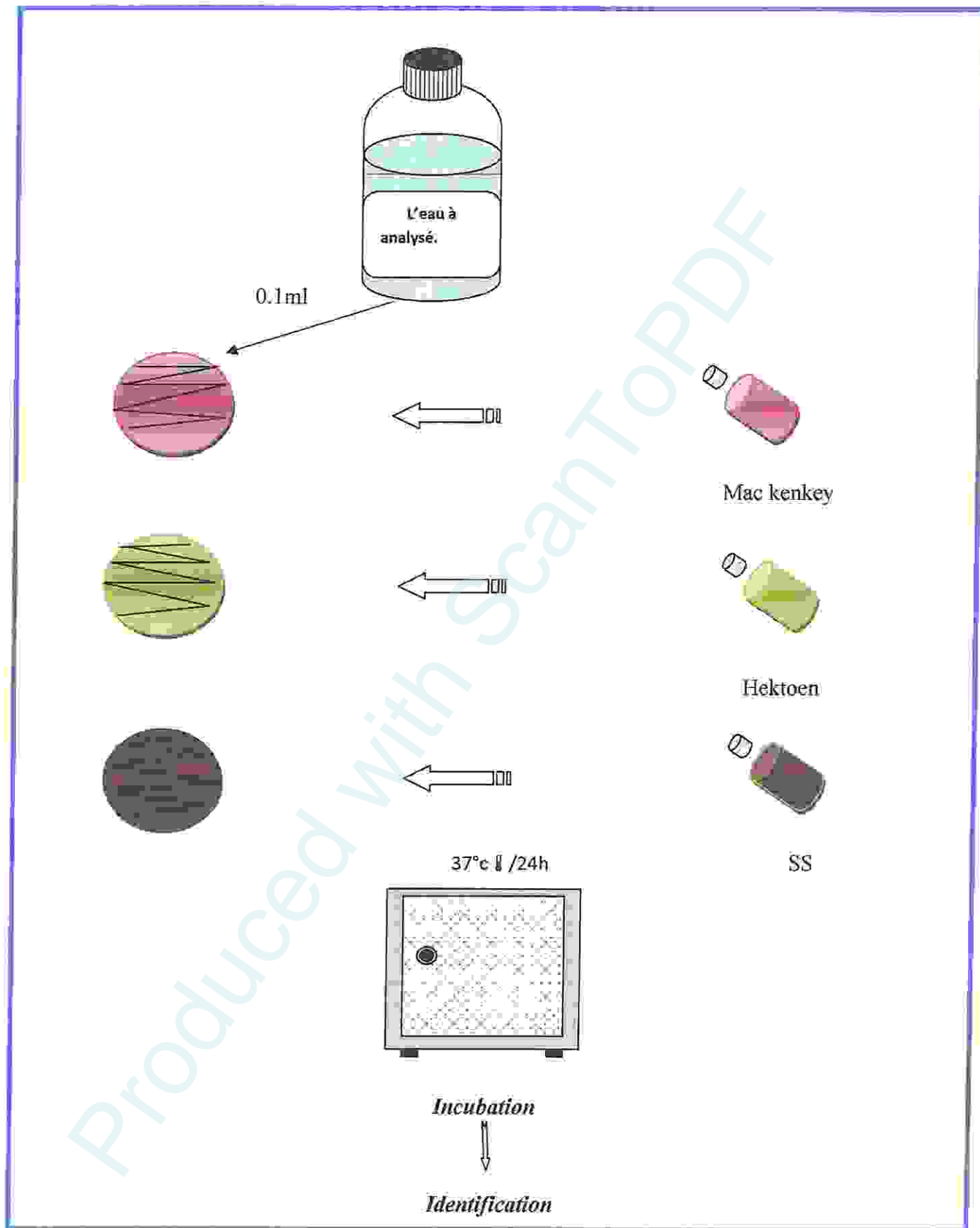


Schéma 6 : Isolement et identification des Entérobactéries pathogènes.

4.2.1. Observation macroscopique

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie : La forme du relief, La taille, La couleur, L'aspect (collant, filamenteux...), L'odeur, La transparence, L'allure des contours [20].

4.2.2. Observation microscopique

Les méthodes d'observation microscopique des souches bactériennes sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 12 : les méthodes d'observation microscopiques des bactéries.

Examen direct		
	à l'état frais	après coloration
Le but d'examen	L'examen microscopique à l'Etat frais permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées [20].	Coloration de Gram : est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de structure membranaire (paroi).
La méthode	<p>Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.</p> <p>Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie poussée sur le milieu gélosé.</p> <p>Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique en incorporant l'inoculum.</p> <p>Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulle d'air.</p> <p>L'observation s'effectue à faible luminosité à l'objectif X10 puis X40 [20].</p>	<p>Réaliser sur une lame propre un frottis puis le fixer.</p> <p>Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute.</p> <p>Recouvrir la lame d'une solution de lugol durant 30 secondes.</p> <p>Laver la lame à l'éthanol jusqu'à ce que la dernière goutte soit transparente.</p> <p>Rincer à l'aide d'une eau de robinet la lame de fuschine pendant 1 minute.</p> <p>Laver abondamment à l'eau.</p> <p>Sécher la lame à l'aide d'un papier buvard.</p> <p>L'observation s'effectue à immersion</p>

		(objectif X100) après avoir déposé une goutte d'huile de cèdre sur la lame [20]. Lecture : Les bactéries Gram négatif apparaissent en rose tandis que les bactéries Gram positives sont colorées en violet [20].
--	--	--

4.2.3. Etude des caractères biochimiques des entérobactéries

4.2.3.1. La galerie biochimique classique

Le tableau 13 présente les milieux et les techniques et les résultats pour la galerie classique.

Tableau 13 : La Galerie Classique.

Milieu	ensemencement	Caractères recherches	résultat
TSI	ensemencer par des stries et une simple pique. Mettre à l'étuve 24h à 37°C	utilisation du glucose, du saccharose, du lactose. -production d' H ₂ S -Production du gaz	virage de la couleur vers le jaune : glucose, lactose, saccharose, positif formation des zones noire (H ₂ S+) bulles de gaz dans le culot : gaz(+). [12].
Citrate de simmons	l'ensemencement par stries, au fil droit, à partir d'une suspension bactérienne. Mettre à l'étuve 24h à 37°C.[12]	Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie.[12]	Virage de couleur vers le bleu : (citrate+)(12)
Clark et lubs	Ensemencer par	production de l'acétone.	1. Teste VP ₂

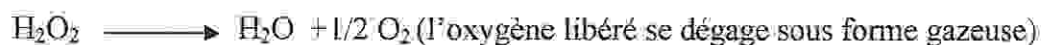


	<p>incorporation et incubé à 37°C pendant 24h.</p> <p>1. Teste VP :</p> <p>Ajouter quelque 2 à 3 gouttes de (VP1 et VP2).</p> <p>-Attendre quelque min à 1 heure.</p> <p>2. Teste RM :</p> <p>-Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. (13)</p>	<p>la réaction de voges proskauer(vp) consiste à mettre en évidence , par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne.</p> <p>Misse en évidence de la voie des fermentation acides mixtes par le test RM (au rouge de méthyle).(13)</p>	<p>Virage de couleur vers le rose (VP+).</p> <p>2. Teste RM :</p> <p>Virage de couleur vers le rouge (RM+). [13]</p>
Manitol mobilité	<p>Ensemencer par piqure centrale à laide d'un fil droite.</p> <p>Mettre à l'étuve 24h à 37°C(18)</p>	<p>-Mannitol</p> <p>-Mobilité(18)</p>	<p>Virage de couleur vers le rouge (mannitol +)</p> <p>Formation d'un voile autour de la piqure (mobilité).(18)</p>
Urée indole	<p>Ensemencer largement.</p> <p>Mettre à l'étuve 24h à 37°C.(13)</p>	<p>l'uréase,enzyme hydrolysant l'urée.</p> <p>Formation d'indole : (13)</p>	<p>Virage de couleur vers le rose uréase(+).</p> <p>Apparition d'un anneau rouge à la surface (indole+)</p>

4.2.3.2. Teste complémentaires :

➤ **Test catalase :**

Cette enzyme empêche en effet l'accumulation d'H₂O₂ et le dégrade selon la Réaction suivante :



[50].

Techniques :

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

Lecture :

- Dégagement immédiat de bulles gazeuses: positif.
- Absence d'une bulle gazeuse: négatif [20].

➤ Teste oxydase

Technique

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

Lecture

- L'apparition d'une teinte (rose-violette). Le germe possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif [20].

➤ Recherche de l'enzyme Béta-galactosidase (ONPG)

La technique de la recherche de l'enzyme bêta-galactosidase est présentée dans le tableau 14 :

Tableau 14 : la technique de la recherche de l'enzyme bêta-galactosidase.

Technique	Métabolite finale	Résultats
Réaliser une suspension bactérienne. Ajouter un disque imprégné d'ONPG dans la suspension.	Une B-galactosidase.	Virage de couleur vers le jaune ONPG(+) Absence de couleur ONPG(-)

Incuber 30 min à 37°C. [13]

➤ **Teste TDA**

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

Tableau 15 : la technique de la recherche du tryptophane désaminase.

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

4.2.3.3. La galerie API 20E

➤ **Technique**

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

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

Remplir uniquement les tubes des autres tests.

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

Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures. [9]

➤ Lecture

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

- Test VP : VPI + VPII
- TDA et IND : Réactif de Kovacs
- Test NO₂: NIT I + NIT II [51].

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

- Au tableau de lecture.
- Soit avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui sert le code d'identification [18].
- Soit Avec un logiciel d'identification ; Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (voir l'Annexe II).

4.3. La recherche et l'identification des staphylocoques

L'isolement sélectif des Staphylocoques a été réalisé sur la gélose Chapman qui contient un inhibiteur.

La gélose Chapman : contient un inhibiteur de beaucoup de germes : Na Cl à concentration élevée (75g /L) [12].

4.3.1. L'observation macroscopique

- Les colonies mannitol (+) sont entourées d'une auréole jaune.
- Des colonies pigmentées en jaunes et mannitol (+) : *Staphylococcus aureus*.
- Les autres espèces de Staphylocoques donnent généralement des colonies plus petites, rosées et n'entraîne pas de virage du milieu [14].

4.3.2. L'observation microscopique

À l'examen microscopique sont des cocci à gram positive en amas.

4.3.3. L'identification biochimique des staphylocoques

En utilise l'Api staph. [5]



4.3.4. Teste catalase

Touts les espèces des staphylococcus sont catalase positive.

4.3.5. Recherche de la Staphylocoagulase

La méthode de la recherche de l'enzyme de la staphylocoagulase est présentée dans le tableau 16 :

Tableau 16 : la technique de la recherche de la staphylocoagulase.

Technique	Caractère recherchés	Résultats
<p>Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur cervelle de la souche à étudier.</p> <p>Placer le mélange à 37°C.</p> <p>Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures [14]</p>	<p>La recherche de la Staphylocoagulase in vitro est mise en évidence par la capacité de cette enzyme à coaguler le plasma de lapin dans un délai de 24 h [16].</p> <p>Cette recherche constitue un critère taxonomique important pour l'identification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> [14].</p>	<p>Coagulation du plasma : test Coagulase est positif : la souche est <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Absence de coagulation du plasma : test Coagulase est négatif. Où le résultat est ininterprétable il faut faire d'autres tests (ADNase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène) [14].</p>

4.4. la recherche des *pseudomonas aeruginosa*

- Lorsque le germe *Pseudomonas* a la capacité de se cultiver très facilement sur un milieu ordinaire à cause de leur faible exigence nutritive, son isolement a été réalisé sur GN ordinaire.
- L'incubation se fait à 37° C pendant 24 h [12].

4.4.1. L'observation macroscopique :

- Sur GN, les colonies de *Pseudomonas* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3 mm), à bord irréguliers, lisses régulières et bombées.
- Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent pigmentées en vert du fait de la production de deux pigments : la pyocyanine et la pyoverdine [12].

4.4.2. L'observation microscopique

Les *pseudomonas* apparaissent à l'examen microscopique : bacille à Gram (+).

4.4.3. L'identification biochimique des *pseudomonas*

L'identification biochimique des *pseudomonas* a été réalisé comme ceux déjà effectué pour l'identification des entérobactéries.

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

- A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée stérile), ensemencer deux milieux gélosés : King A et King B.
- Les milieux sont inoculés par une strie médiane.
 - L'incubation se fait à 37° C pendant 1 à 4 jours [12].

Lecture

Couleur bleue sur le milieu King A : présence de pyocyanine.

Couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B sous UV : présence de pyoverdine

5. Analyse physique et chimique

Certains paramètres physico-chimiques comme la température, pH, conductivité électrique.

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

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



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

5.1. Les matières en suspension (MES) :

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

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

Mode opératoire :

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

Expression des résultats :

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

M₀ = masse du disque filtrant avant utilisation

M₁ = masse du disque filtrant après utilisation

V = volume d'eau utilisé

5.2. La turbidité

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

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

5.3. Les chlorures

Principe :

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

Mode opératoire :

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

Expression des résultats :

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

La teneur en Cl⁻ (mg/l) = V (ml) x 142

5.4. Les matières organiques

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

➤ **Mode opératoire :**

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

➤ **Expression des résultats :**

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

5.6. Résidu sec

Principe

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

Mode opératoire

- Tarer une capsule préalablement lavée, rincer avec de l'eau distillée et dessécher
- Prélever 200 ml d'eau à analyser
- Porter à l'étuve à 105°C pendant 2 heures.
- Laisser refroidir pendant 15 minutes dans un dessiccateur
- Peser immédiatement et rapidement

Expression des résultats

$$\text{R.S (mg/l)} = (P_b - P_n) \times 5 \times 1000$$

P_b : poids plein de la capsule.

P_n : poids vide de la capsule.

5.7. Le Magnésium

Mode opératoire

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

Expression des résultats

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



V2: volume titré de calcium et de magnésium

VI: volume titré de calcium

Facteur

- 50 ml de solution mère de CaCl_2
- 2 ml de NaOH (2N)
- Une pincée de murexide
- Titrer par l'EDTA N/50 jusqu'au virage de couleur violet

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

5.8. La dureté totale

Principe:

Les alcalino-terreux présents dans l'eau sont anionés à former un complexe du type chélation par le sel disodique de l'acide ethylene-diaminetétracétique à pH 10, la disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est decellé par le virage d'un indicateur spécifique

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la précipitation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions calcium et magnésium.

Mode opératoire:

- Prélever 100 ml d'eau à analyser, ajouter 2 ml de solution tampon (pH = 9,5-10) et quelques grains d'indicateur coloré.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage rouge au bleu.

Expression des résultats:

Soit V le volume de la solution d'EDTA versée.

$$\text{TH } (^\circ\text{F}) = V \text{ (ml)} \times 10$$

5.8. Le calcium

Principe

Le principe est identique à celui de la méthode complexo-métrique décrite pour la dureté totale, comme le dosage se fait à un pH élevé, le magnésium est précipité sous forme d'hydroxyde et n'intervient pas.

Par ailleurs, l'indicateur choisi ne se combine qu'avec le calcium.

Mode opératoire

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



Expression du résultat

Soit V le volume de solution d'EDTA verser

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

5.9. Titre alcalimétrique simple et complet (TA et TAC)**Principe**

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

Mode opératoire**a) T.A:**

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

Expression des résultats

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

b) TAC

- 100 ml d'eau à analyser
- 2 à 3 gouttes de méthyle orange à 0,5%
- Titrer par l'H₂SO₄ N/50 jusqu'au virage rouge orange

Expression des résultats:

$$\text{TAC (°F)} = V (\text{titré}) - 0.5$$

5.10. Dosage des métaux lourds :

La méthode de loin la plus couramment utilisée pour le dosage des métaux lourds est celle de la spectrophotométrie d'absorption atomique (AAS). Elle a pour avantage d'être rapide, sensible, simple et de pouvoir analyser des mélanges complexes sans séparation préalable. Pour la plupart des métaux lourds, la technique de base comporte l'atomisation à la torche, tandis que pour certains métaux très faiblement concentrés, on utilise la technique du fourneau à graphite qui procède par atomisation électrothermique. [6]

A decorative border resembling a scroll, with a dashed line on the left side and solid lines on the top, bottom, and right. The scroll is unrolled at the top and bottom corners.

Résultat et Discussion

Produced with SCANTOPDF

Résultats

1. Identification fongique

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

Tableau 16 : l'aspect macroscopique des espèces fongiques dans les milieux de culture:

	<i>Czapek simple</i> A 37°C	<i>Czapek cosentré</i> A 30°C	<i>Sabouraud</i> A 30°C	<i>TGEA</i> A 37°C
Site N°1	Absence de colonie.	une colonie blanchâtre de 1 à 2 cm de diamètre.	Absence de colonie.	Absence de colonie.
Site N°2	une colonie blanche de 3 cm de diamètre.	une colonie verdâtre à grise 4 à 5 de diamètre.	Absence de colonie.	Absence de colonie.
Site N°3	Absence de colonie.	Absence de colonie.	Absence de colonie.	Absence de colonie.
Site N°4	Absence de colonie.	Absence de colonie.	colonie Marron plate de 1cm de diamètre, 80 colonies de 2mm de diamètre de couleur jaune, >100 colonies rouge de 1à2 mm de diamètre.	colonies blanc puis vert-gris puis vert foncée à gris noirâtre de 2.5cm de diamètre.
Site N°5	Absence de colonie.	3 colonies gris-noirâtres de 2 à4 cm de diamètre.	colonie noir de 1cm de diamètre.	25 colonies jaunâtres de 2mm de

			3 colonies verdâtres de 4cm de diamètre avec extrémité.	diamètres.
Site N°6	Absence de colonie.	3 colonies verdâtres de 3cm de diamètre avec des extrémités noires colonie blanchâtre de 2cm de diamètre.	10 colonies jaunâtres de 1mm de diamètre -colonie jaunâtre de 1cm de diamètre - 4 colonies grisâtres de 4 cm de diamètre avec extrémités blanc.	- colonies grisâtres de 4 cm de diamètre avec extrémités blanc. -colonie blanchâtre de 1cm de diamètre.

1.2. L'aspect microscopique et macroscopique

1.2.1. La colonie blanche : (czapec concentré à 30°C)

• L'aspect macroscopique

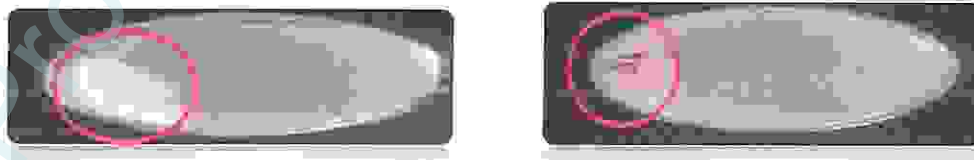


Figure 5 : l'aspect macroscopique de la colonie de *Microsporium*.

Recto : surface cotonneuse,

Verso : Incolore, croissance lente après 7 jour

Blanc, de 1 à 2cm de diamètre.

Jours.



- L'aspect microscopique



Figure 6 : L'aspect microscopique de *Microsporium Persicolo*.

-Filaments non segmentés, articulés à angle droit

- L'aspect macroscopique

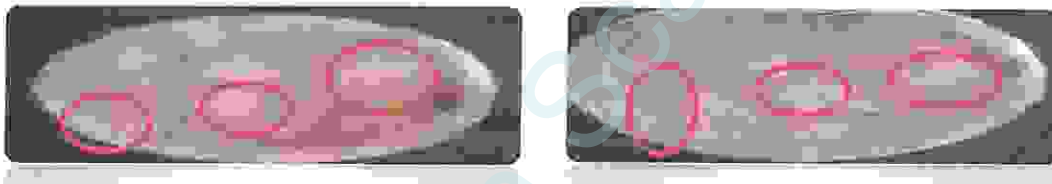


Figure 7 : l'aspect macroscopique de la colonie de *Penicillium glabrum*.

Recto : Surface poudreuse,
Blanche à bleu-vert de 2 cm de diamètre.

Verso : incolore à jaunâtre, croissance lente
Après 7 jours.

- L'aspect microscopique



Figure 8 : l'aspect microscopique de *Penicillium glabrum*. [54]

Des filaments très longs de taille variable, creux avec paroi mince, lisse termine par des têtes s'attachent vésicules allongé.

1.2.2. La colonie marron

- L'aspect macroscopique



Figure 9 : l'aspect macroscopique d'*Aspergillus terreus*

Recto : colonie marron plate, Granuleuse, de 1 cm de diamètre,
Verso : marron, croissance rapide (2 à 3 jours).

- L'aspect microscopique



Figure 10 : l'aspect microscopique d'*Aspergillus terreus*. [53]

Les filaments longue, non segmentés, de paroi mince, la tête cnidienne, bisériées.

1.2.3. La colonie verte

- L'aspect macroscopique



Figure 11 : L'aspect macroscopique de la colonie de *Penicillium chrysogenum*

Recto : la colonie d'aspect velouté, vert-bleu ou vert-jaune,
Verso : forme d'étoile de couleur vert.
 De 4.5 à 5 cm de diamètre devenant gris.
 Il possède une forte odeur aromatique.

- L'aspect microscopique



Figure 12 : l'aspect microscopique de *Penicillium chrysogenum*. [53]

Les filaments très longues, non segmentés, composées de nombreuses conidiospores unique.

I.2.4. La colonie blanc puis vert-gris

- L'aspect macroscopique



Figure 13 : l'aspect macroscopique de la colonie d'*Aspergillus fumigatus*.

Recto : Colonie blanche, puis bleu-vert, virant ensuite au vert-foncé à gris

Verso : vert, de 2.5 cm de diamètre.

- L'aspect microscopique

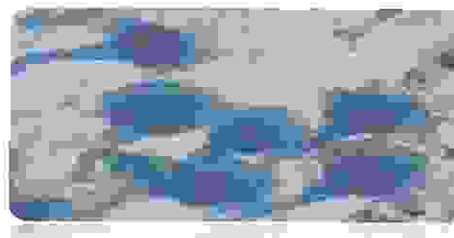


Figure 14 : l'aspect microscopique d'*Aspergillus fumigatus*. [36]

Filament septé, la tête aspergillaire unisériée.

1.2.5. La colonie noire

- L'aspect macroscopique

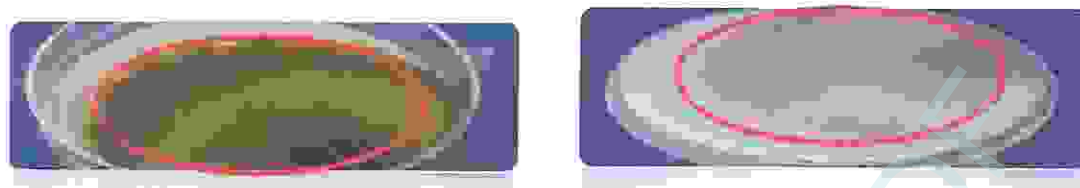


Figure 15 : l'aspect macroscopique de la colonie d'*Aspergillus niger*

Recto : la colonie blanche au début
Puis verts puis deviennent noires,
De 2 à 3cm de diamètre.

Verso : la colonie est verte claire. L'*Aspergillus*
est poussé rapidement (2 à 3 jours).

- L'aspect microscopique



Figure 16 : l'aspect microscopique d'*Aspergillus niger*.

Les filaments septés, la tête bisériées, radiées.

1.2.6. La colonie jaune

- L'aspect macroscopique

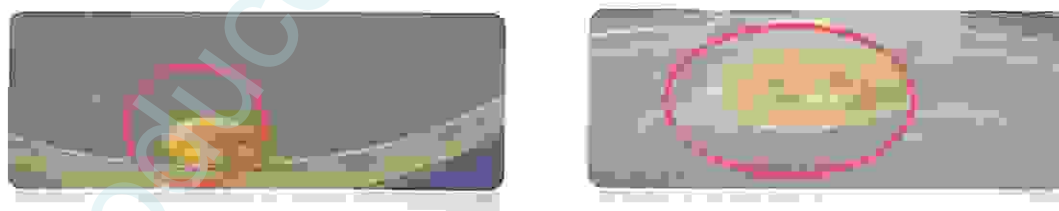


Figure 17 : l'aspect macroscopique de la colonie d'*Aspergillus glaucus*

Recto : jaune, se caractérise par
La présence de petite boule jaune visible.

Verso : jaune, de 1cm de diamètre. Pousse sur
La gélose sabouraud après 3 jours

- L'aspect microscopique

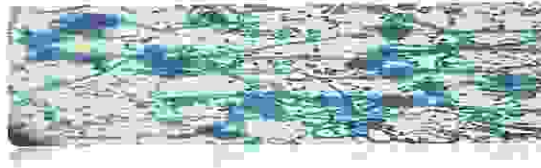


Figure 18: l'aspect microscopique d'*Aspergillus glaucus*. [54]

1.2.7. Les levures

- L'aspect macroscopique



Recto : taches jaune, de 1mm de diamètres.

Verso : jaune, la croissance est rapide.

Figure 19 : l'aspect macroscopique de *saccharomyces cerevisiae*.

- L'aspect microscopique



Figure 20 : l'aspect microscopique *saccharomyces cerevisiae*

Levures rondes à bourgeonnement multipolaire, capsulées, Absence de mycélium.

- L'aspect microscopique



Figure 21: l'aspect macroscopique de la colonie des *Rhodotorula rubra*.

Recto : la colonie crémeuse de couleur rouge. Verso : rouge, de 1 à 2mm de diamètre.

- L'aspect microscopique



Figure 22: l'aspect microscopique des *Rhodotorula rubra*. [38]

Levures rondes ou ovales à bourgeonnement multipolaire, Absence de mycélium et capsule, Production de pigments caroténoïdes qui donnent aux colonies une couleur rose à rouge.

2. Résultats de l'analyse bactériologique

2.1. Résultat des coliformes totaux

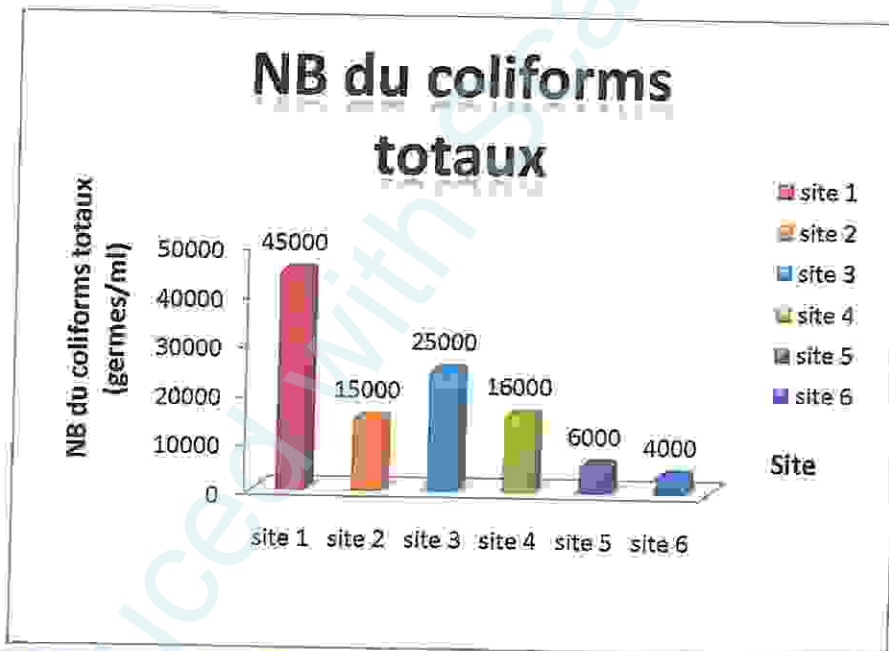


Figure 23 : variation du nombre des coliformes totaux en fonction des sites

Le résultat de dénombrement des germes totaux à 37°C est compris entre 4000 et de 45000 germes/ 100 ml d'eau. Il est important de signaler que le nombre élevé des coliformes totaux est enregistré dans les trois premiers sites (S1, S2, S3) ; après se diminue dans les trois sites successive.

En remarque que le site 1 présente un taux élevée (45000 germes/ml), et présente une perturbation à partir du site 3 jusqu'à site 6.

Cette diminution du nombre s'explique, soit par la présence de prédateurs bactériens tels que les protozoaires, champignons, ou bien liée par les rejets des produits toxiques.

Le nombre élevé des coliformes dans les sites (S1, S2, S3), indique la présence d'une forte pollution causée par les déchets fécaux, et rejet domestique dans les bordures des lacs.

A partir de notre résultat : le site 2 présente une augmentation à partir de 6000 germes/ml, avec une moyenne de (18500 germes/mL) elle dépasse les normes (1 à 10 germes/ml) selon (OMS).

2.2. Résultat des streptocoques fécaux

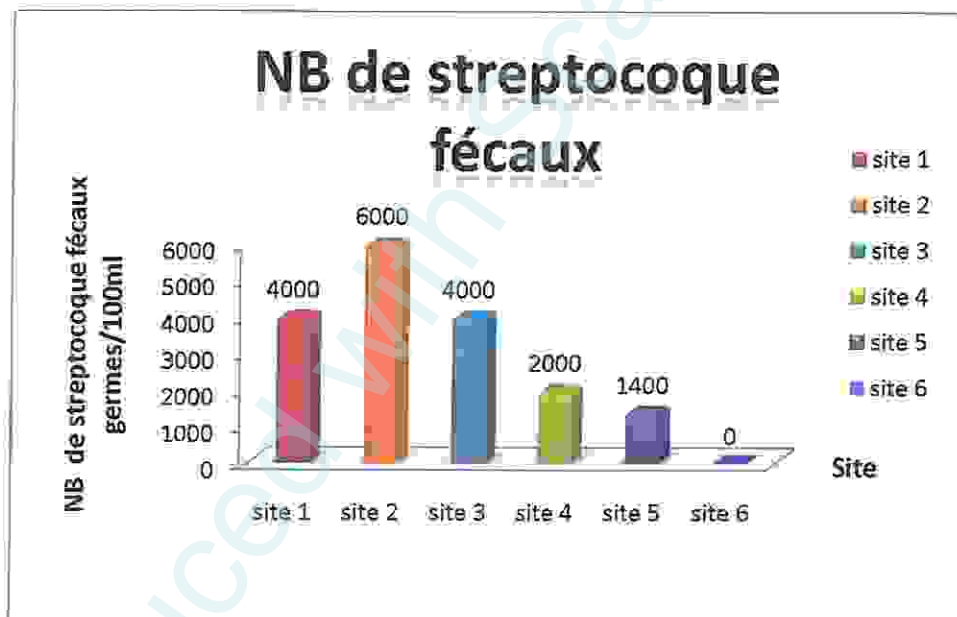








Figure 24: variation des nombres des Streptocoques fécaux en fonction des sites.



Le nombre des streptocoques est élevé avec un taux (4000 à 6000 germes/ml) dans les trois premiers sites car sont proches des bordures du lac qui contiennent des animaux herbivores et domestiques qui expliquent une pollution d'origine fécale. La moyenne de nombre des streptocoques est dépassée les normes (1 germe/ml) selon l'OMS.

2.3. Résultats de recherche des Entérobactéries

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

Tableau 17 : Résultat de l'isolement des Entérobactéries :

<p>L'aspect macroscopique</p>	 <p>Figure 25 : Colonie verte sur la gélose Hektoen. Colonies petite de taille, lisses, à contour régulier, pigmentées en vert ou en bleu vert.</p>	 <p>Figure 26 : Colonie noir sur la gélose SS Colonies petites et moyennes, lisses, à contour régulier, bombées, brillantes et pigmentées en ; de couleur marron.</p>
<p>L'aspect microscopique</p>	 <p>Figure 27 : Bacilles Gram négatif. Bacilles isolés, Gram négatif</p>	 <p>Figure 28 : Bacilles Gram négatif. Bacilles isolés à Gram négatif.</p>
<p>La galerie classique/Api20E</p>	 <p>Figure 29 : Résultat de la galerie classique <i>E. coli</i>. Manitol mobilité :virage de couleur vers le jaune avec formation des voile(mobolité+et manitol+). TSI : coloration en jaune et bformation des bulle de gaz,absence des zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H₂S-)</p>	 <p>Figure 30 : Résultat de la galerie classique <i>Citrobacter intermedium</i>. Manitol mobilité :virage de couleur vers le jaune avec formation des voile(mobolité+et manitol+). TSI : coloration en jaune et bformation des bulle de gaz,absence des zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H₂S-)</p>

	<p>Urée indole :absence de couleur rose,formation d'aneau rouge ala surface(uréase-, et indole+)</p> <p>Clark et lubs :absence de couleur rouge après l'adition de vp et lapparition de couleur rouge après l'adition de RM(VP-et RM+)</p> <p>Citrate de simmons : le milieu reste bleu_vert(citrate-)</p>	<p>Urée indole :absence de couleur rose,formation d'aneau rouge ala surface(uréase-, et indole+)</p> <p>Clark et lubs :absence de couleur rouge après l'adition de vp et lapparition de couleur rouge après l'adition de RM(VP-et RM+)</p> <p>Citrate de simmons : virage de couleur vers le bleu(citrate+).</p>
<p>Les tests complémentaires</p>	 <p>Figure 31 :les tests complimentaires.</p> <p>ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+).</p> <p>Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase+).</p> <p>Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+).</p>	 <p>Figure 32 :les tests complimentaires</p> <p>ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+).</p> <p>Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase+).</p> <p>Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+).</p>
<p>La bactérie</p>	<p><i>E.coli.</i></p>	<p><i>Citrobacter intermedius.</i></p>

L'aspect macroscopique



Figure 33 : Colonie noire sur la

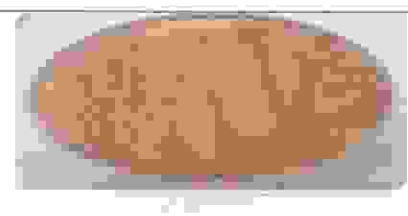




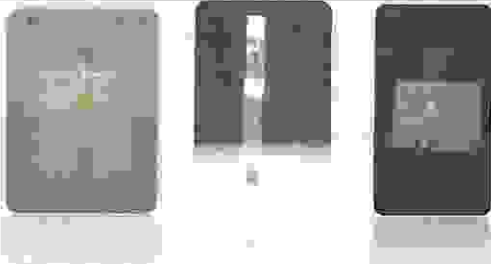



Figure 34 : Colonie noire sur la gélose SS. Colonies petites et moyennes, lisses, à

	<p>gélose Mac konkey.</p> <p>colonies de taille moyenne, lisses, à contour régulier, transparentes légèrement blanchâtre.</p>	<p>contour régulier, bombées, brillantes et pigmentées en : de couleur marron.</p>
L'aspect microscopique	 <p>Figure 35 : Bacilles Gram négatif. Bacilles isolés, Gram négatif.</p>	 <p>Figure 36 : Bacilles Gram négatif. Bacilles isolés à Gram négatif.</p>
La galerie classique/Api20E	 <p>Figure 37 : Résultat de la galerie classique <i>Enterobacter aerogenes</i>.</p> <p>Mannitol mobilité : virage de couleur vers le jaune et formation du voile (mannitol +mobilité+)</p> <p>TSI : coloration en jaune et bformation des bulle de gaz,absence des zone noire(lactose,saccharose+ et gaz+ et H₂S-)</p> <p>Urée indole :absence de couleur rose,absence d'anneau rouge a la surface(uréase-, et indole-)</p> <p>Clark et lubs :apparition de couleur rouge après l'addition de vp et absence de couleur rouge après l'addition de RM(VP+et RM-)</p> <p>Citrate de simmons : virage de couleur vers le bleu(citrate+).</p>	 <p>Figure 38 : Profil biochimique d'<i>Aeromonas hydrophyla</i>.</p> <p>ADH(+):virage de couleur vers le rouge.</p> <p>LDC(+):virage de couleur vers l'orangé.</p> <p>ODC(-):la couleur reste jaune</p> <p>Citrate(+):la couleur est Bleu-vert</p> <p>H₂S(-): incolore.</p> <p>Uréase(-):la couleur reste jaune</p> <p>TDA(-):la couleur jaune.</p> <p>Indole(+):formation d'anneau rouge.</p> <p>Glucose(+):la couleur jaune.</p> <p>Manitole(+):la couleur jaune.</p>



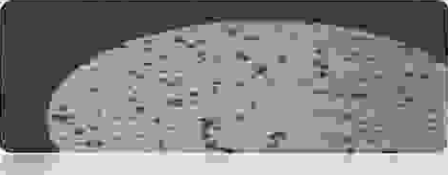



<p>Les testes complémentaires</p>	 <p>Figure 39 :les testes complimentaires ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+). Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase+). Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+)</p>	 <p>Figure 40:les testes complimentaires. ONPG :apparition de couleur jaune(ONPG+). Oxidase :apparition de couleur rose-violet(oxidase+). Catalase :apparition des bulle du gaz(catalase+)</p>
<p>La bactérie</p>	<p><i>Enterobacter aerogenes.</i></p>	<p><i>Aeromonas hydrophyla.</i></p>

2.4. Résultat de la recherche des staphylocoques pathogènes

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

Tableau 18 : Résultats d'identification des souches de staphylocoques isolées.

<p>L'aspect macroscopique</p>	 <p>Figure 41: Colonies jaunes sur gélose chapman. Colonies jaunes crémeuse,</p>	 <p>Figure 42: Colonies jaunes sur gélose chapman. Colonies jaunes.</p>
<p>L'aspect microscopique</p>	 <p>Figure 43: Cocci Gram positif Cocci Gram positif en amas.</p>	 <p>Figure 44: Cocci Gram positif Cocci Gram positif en amas</p>



Api Staph



Staphylococcus epidermidis.

Figure 45: Profil biochimique de *Staphylococcus epidermidis.*

GLU : la couleur reste rouge(-)

FRU : virage de couleur vers le jaune(+)

MNE : la couleur reste rouge (-)

MAL : virage de couleur vers le jaune(+)

LAC, TRE, MAN, XLT, MEL : la couleur reste rouge (-)

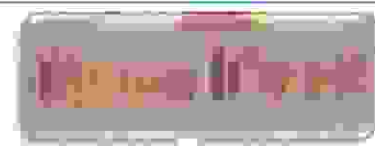
La réduction de nitrate en nitrites est négative.

PAL : après l'ajout ment de ZIM A et ZIM B la couleur est changée vers le violet.

RAF, XYL, SAC, MDG, NAG : la couleur reste rouge(-)

ADH : virage de couleur vers le orange (+)

URE : la couleur reste jaune (-).



Staphylococcus lentus.

Figure 46: Profil biochimique de *Staphylococcus lentus.*

GLU, FRU, MNE, MAL, LAC, TRE : virage de couleur vers le jaune(+).

MAN : la couleur reste rouge(-).

NIT : apparition d'un couleur rouge (+)

PAL : après l'ajoutment de ZIM A et ZIM B la couleur est changé vers le violet.

RAF, XYL, MDG : la couleur reste rouge(-).

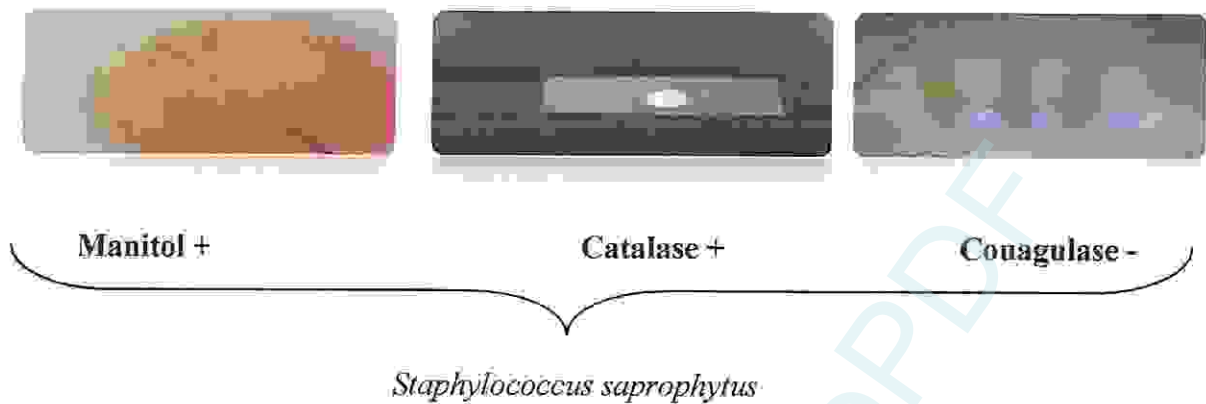
SAC : virage de couleur vers le jauné (+).

NAG : virage de couleur vers le jaune (+).

ADH : la couleur reste rouge (-).

URE : la couleur reste jaune (-).

L'identification de la colonie N°3

Figure 47 : Profil biochimique de *Staphylococcus saprophytu*.

2.5. Résultat de la recherche des pseudomonas.

Les résultats de la recherche des *Pseudomonas aeruginosa* sont négatifs dans tous les sites.

3. Résultat des Examens physico-chimiques

3.1. La Couleur et l'Odeur :

Les eaux du lac Oubeira ont une couleur qui tend à la couleur verte à cause de la végétation aquatique.

L'eau du lac Oubeira présente une odeur nauséabonde due probablement à la décomposition des matières organiques (algues, feuilles d'arbres, végétation aquatique).

3.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)

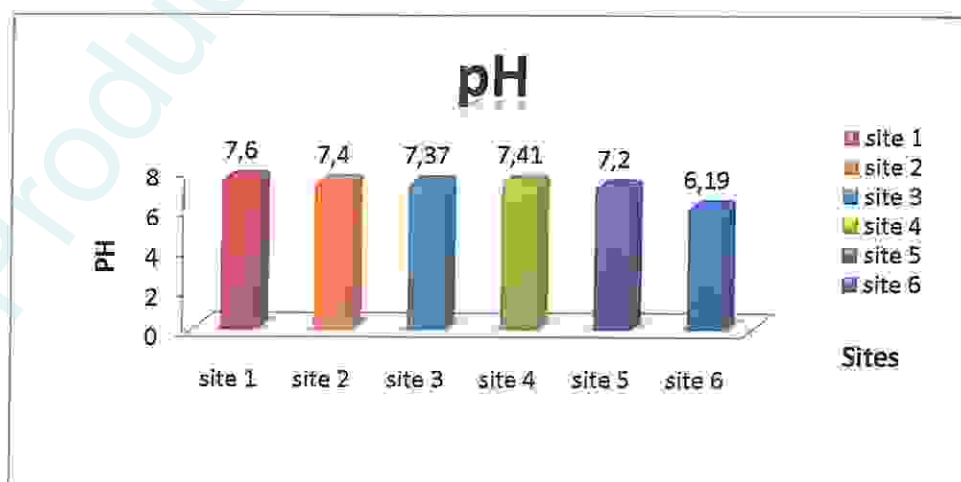


Figure 48 : variation du Ph en fonction des sites de prélèvement.

Le pH de l'eau du lac Oubeira ne présente pas une grande variation entre différents sites prélevés.

La moyenne du pH dans les sites du lac Oubeira est de (7.34), donc on constate quelle tend vers la neutralité selon l'OMS.

3.3. la Température

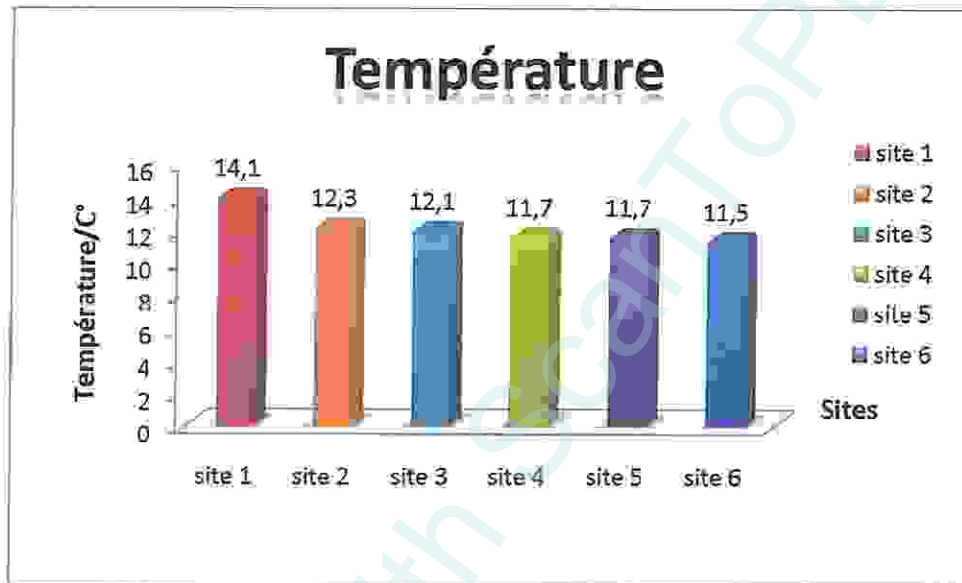


Figure 49 : variation de la température en fonction des sites de prélèvement.

La température des l'eau du lac se diffère d'une région à l'autre.

La température maximal est enregistré dans le site N°1, la température est liée directement avec les conditions climatique.

Nous ne pouvons pas dire que la qualité des eaux du lac Oubeira est mauvaise en fonction de T°.

La température de l'eau du lac Oubeira est normal puis que $<20^{\circ}\text{C}$. Selon L'OMS.

3.4. la conductivité

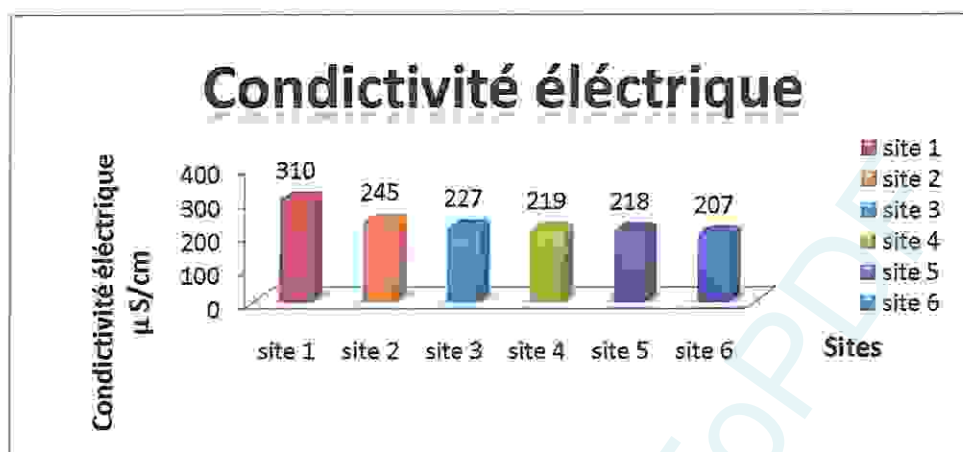


Figure 50 : variation de la conductivité en fonction des sites de prélèvement.

La variation de la conductivité permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau.

La valeur Maximale obtenue est (245us /cm) enregistrée dans le 2^{eme} site, donc le site n° 2 contient plus de sels minéraux que les autres sites.

La moyenne de la conductivité dans les sites du lac est (223us/cm), selon les normes l'eau du lac Oubeira est moyennement minéralisée.

3.5. La Turbidité

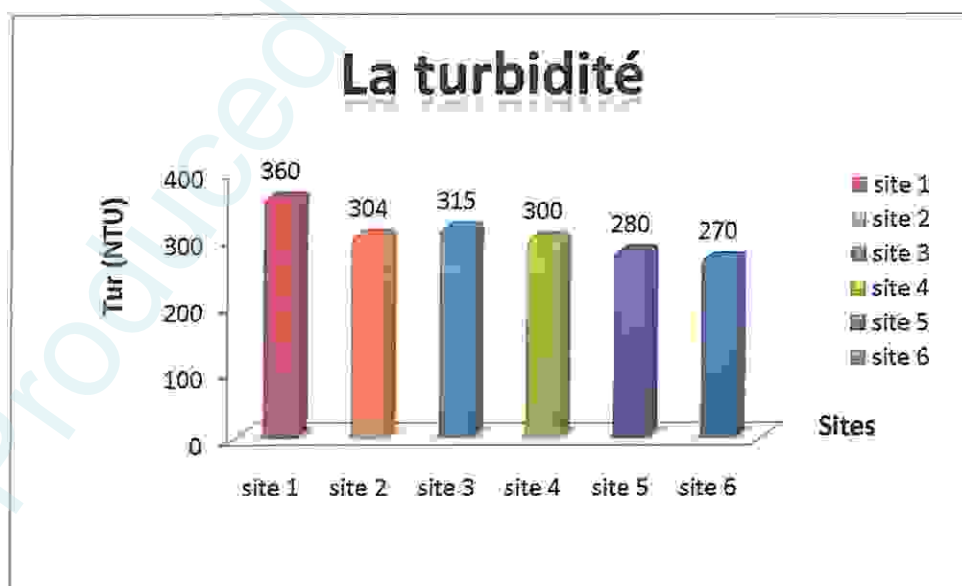


Figure 51 : variation de la turbidité en fonction des sites de prélèvement.

La valeur Maximale obtenue est (360 NTU) enregistrée dans le 1^{er} site, ce qui signifie que le site N°1 plus polluées puisque la turbidité est causée par les particules en suspension dans l'eau.

La valeur minimal obtenue est (270 NTU) enregistrée dans le site N°6, puis que dans les eaux profondes, la turbidité empêche la propagation de la lumière, ce qui a pour conséquence l'élimination de la végétation, cependant, dans la plupart des eaux superficielles la turbidité est très importante et leur consommation direct n'est possible qu'après traitement.

La moyenne des valeurs de la turbidité dans les sites du lac Oubeira est (305.66 NTU), ce qui signifie que l'eau du lac Oubeira est polluée selon les l'OMS.

3.6. Les matières organiques :

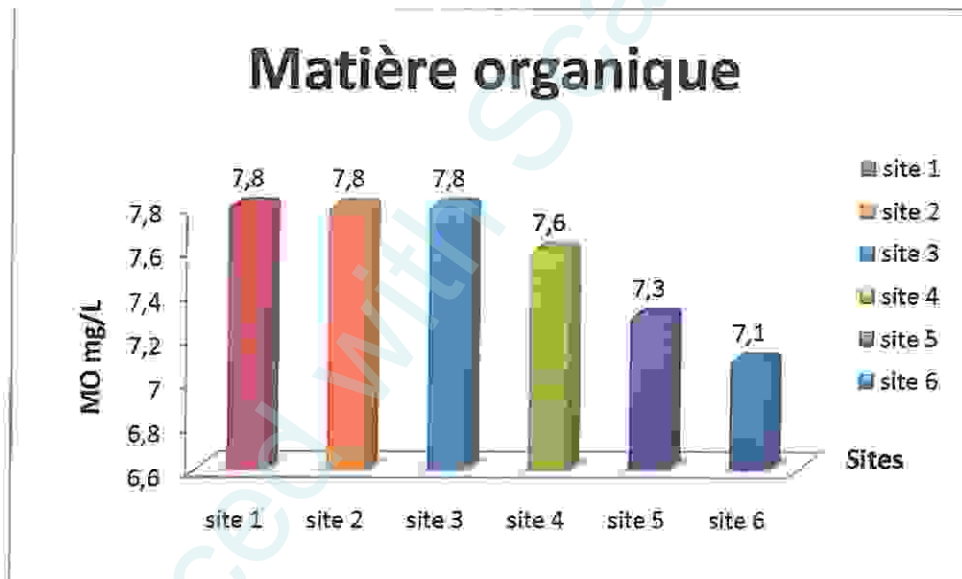


Figure 52 : variation de la matière organique en fonction des sites de prélèvement.

La valeur Maximale obtenue est (7.8mg/l) enregistrée dans le 1^{er} site, ils sont liés à des produits de décomposition d'origine animale ou végétale élaboré par les microorganismes.

Les résultats supérieure à (5 mg/l), donc les valeurs est dépassent les normes selon (OMS).

3.7. Les matières en suspensions :

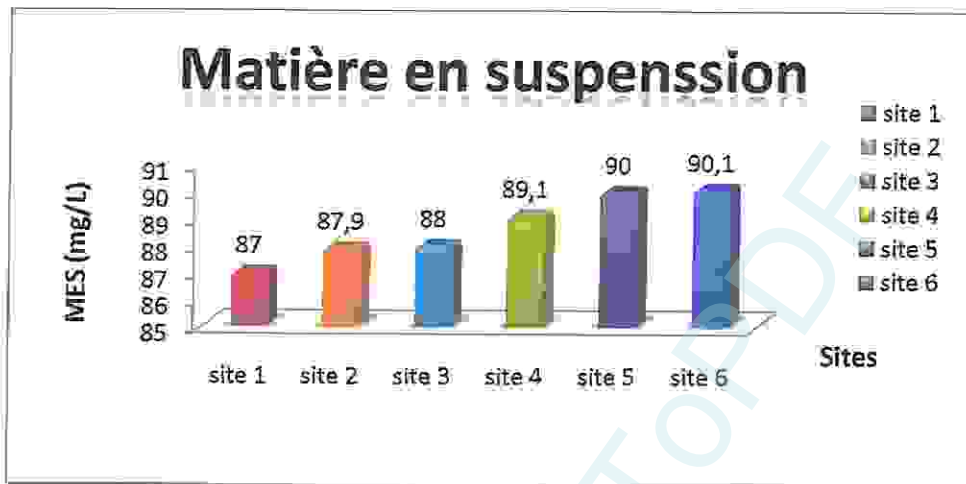


Figure 53: variation de la matière en suspension en fonction des sites de prélèvement.

Les résultats obtenus varient de (87 à 90,1 mg/L), le site N°6 présente un taux élevé en matières en suspension, l'origine peut être due à la pluviométrie.

La moyenne des matières en suspension est (88,68mg/L), et dépassé les normes selon l'OMS.

3.8. Les résidus secs

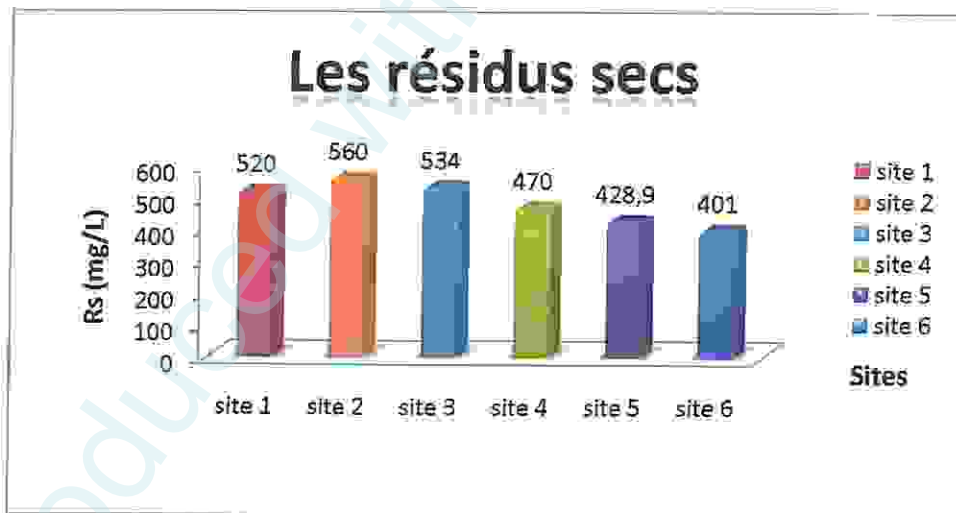


Figure 54 : variation des résidus secs en fonction des sites de prélèvement.

La détermination des résidus secs permet d'évaluer la teneur en matière dissoutes, en suspension non volatile.

La valeur Maximale obtenue est (560mg/L) enregistrée dans le 2^{ème} site, le site 2 présente une teneur élevée, cette eau ne peut être utilisée que pour l'irrigation et non pour la consommation humaine car elle est polluée selon l'OMS.

3.9. Le Calcium

Le calcium est un élément de la dureté de l'eau. Ces teneurs dans les biotopes terrestres présentent une importance écologique majeure.

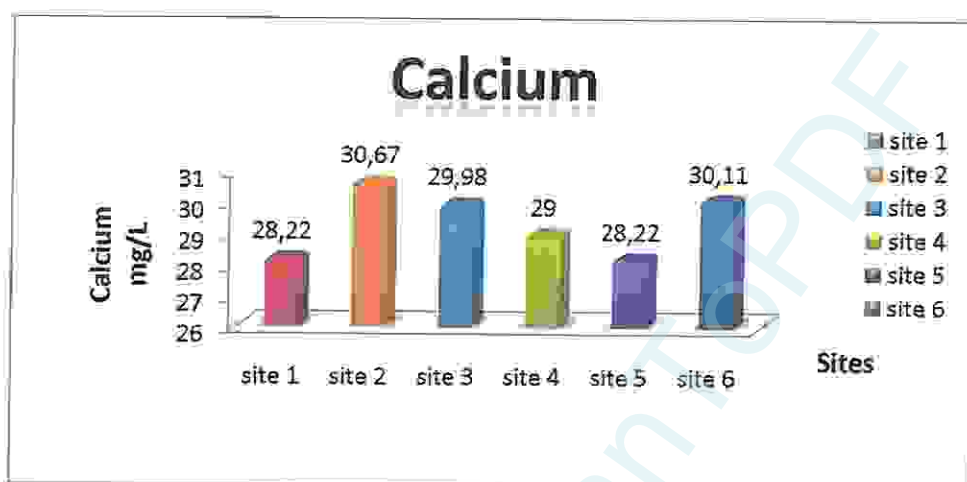


Figure 55 : variation du calcium en fonction des sites de prélèvement.

L'eau de lac présente une valeur maximale de calcium égale à (30,11 mg/l) dans le 6^{ème} site, et une valeur minimale égale à (28,22mg/l) dans les deux S1et S5. Ce qui traduit la nature géologique des terrains traversés par l'eau.

3.10. Le magnésium

Le magnésium constitue un élément majeur dans la dureté de l'eau, se présente sous forme de carbonates ou de bicarbonates.

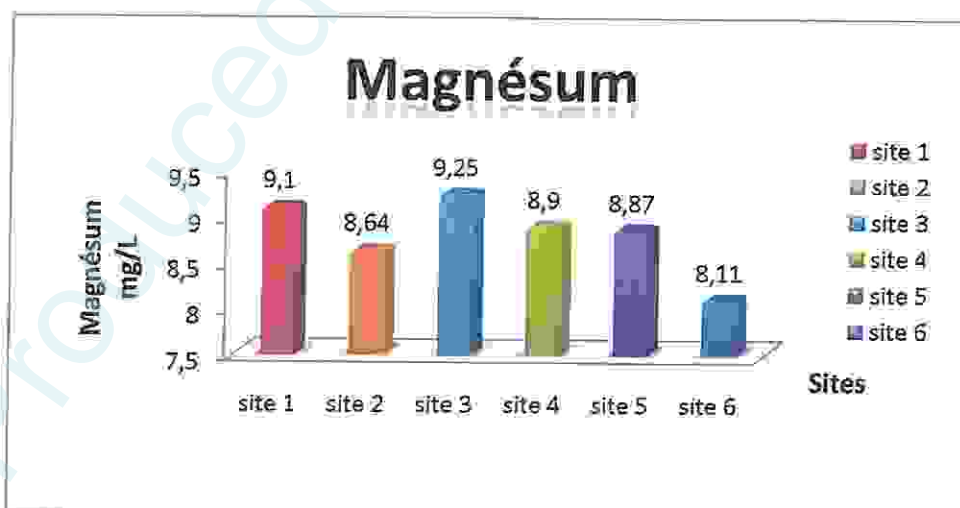


Figure 56 : variation du magnésium en fonction des sites de prélèvement.

Les teneurs du magnésium sont assez proches les unes des autres. La valeur maximale (9,25 mg/l) a été enregistrée au niveau de 3^{ème} site, et la valeur minimale (8,11 mg/l) sont

observée au niveau de 6^{ème} site. La présence du magnésium dans l'eau du lac Oubeira se qui confirme la présence d'une pollution d'origine industrielle. [16]

3.11. La Chlorure

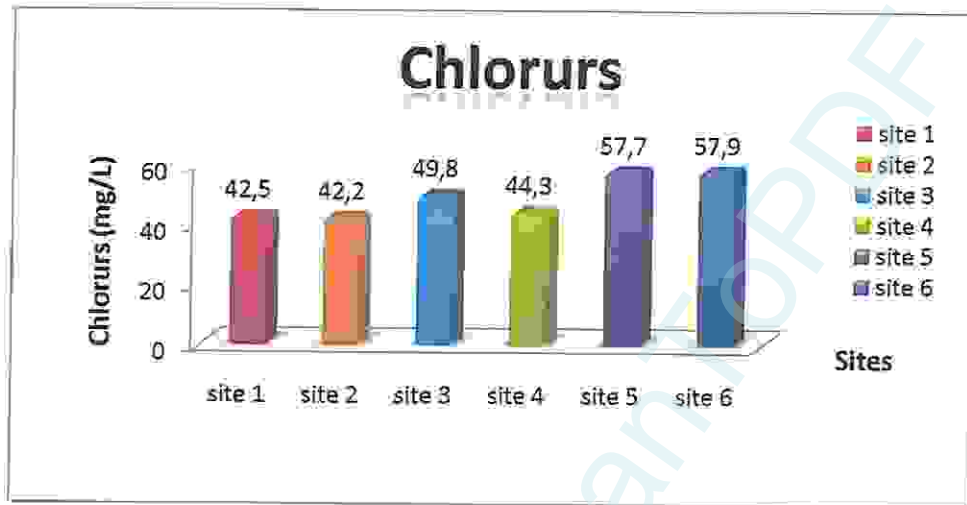


Figure 57 : variation du chlorure en fonction des sites de prélèvement.

L'eau contient des quantités faibles de chlorures, les teneur en chlorure des eaux liées principalement à la nature des terrains traversés. [4]

Les teneur en chlorure est variable entre les 6 sites, la teneur maximal est enregistrée au niveau de 6^{ème} site et égale (57,9mg/l), cette valeur elle dépasse les normes (250mg/l) selon les normes OMS.

3.12. Le titre alcalimétrique (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC)

3.12.1. Le titre alcalimétrique (TA) :

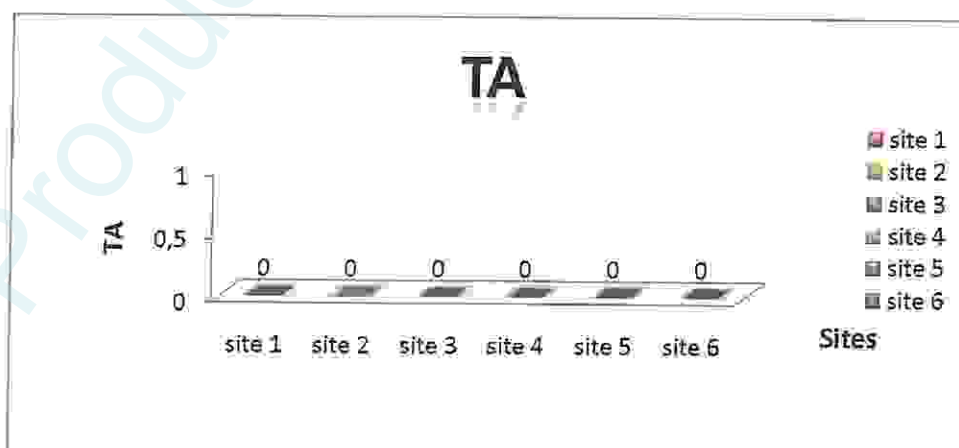


Figure 58 : variation de titre alcalimétrique en fonction des sites de prélèvement.

Les valeurs de (TA) est égal à 0.

3.12.2. Le titre alcalimétrique complet (TAC)

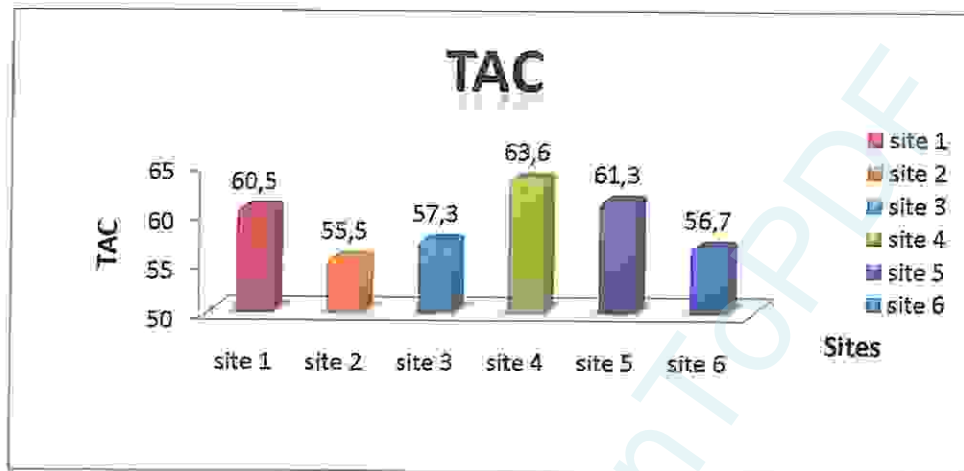


Figure 59 : variation de titre alcalimétrique complet en fonction des sites de

Les valeurs de (TAC) est augmentent d'un site à l'autre, la valeur Maximal est enregistrée au niveaux du 4^{ème} site (63,6mg/l), cet évolution est en fonction des conditions naturelles (conditions météorologiques, caractéristiques de l'eau d'appoint, etc.).

3.13. La valeur hydrique (TH)

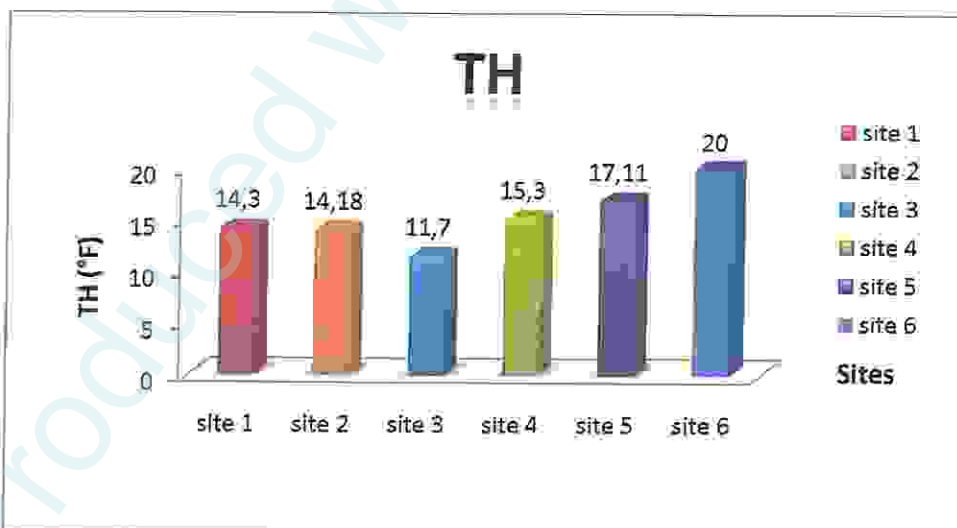


Figure 60 : variation de la valeur hydrique en fonction des sites de prélèvement.

La dureté d'une eau est due principalement à la présence de sels de calcium sous forme de bicarbonates, de sulfate, et de chlorures.



La dureté enregistrée du lac est comprise entre (20°F) et (11,7°F), et selon le classement français l'eau de lac est peu dure.

3.14. Dosage des métaux lourds :

Les métaux lourds sont présents naturellement dans l'eau, mais en général en quantité très faible (élément trace). [16]

3.14.1. Zinc :

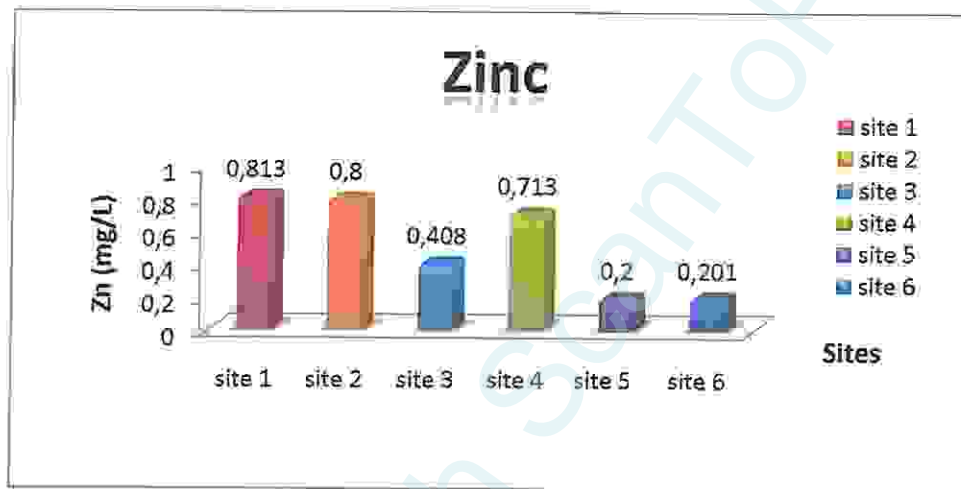


Figure 61 : variation du zinc en fonction des sites de prélèvement.

Le dosage du Zinc permet de déterminer de valeur variant entre (0.81 et 0.20mg/l) qui dépasse les normes selon l'OMS, la présence de ce type d'élément confirme la décharge industrielle se forme d'un déché métalliques libérer dans les eaux du lac Oubeira. [6]

3.14.2. Plomb :

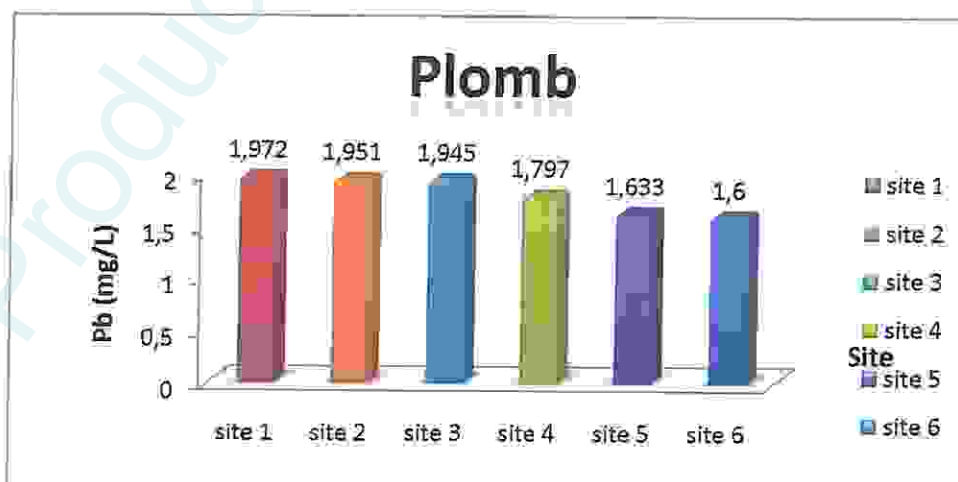


Figure 62 : variation du plomb en fonction des sites de prélèvement.

Les valeurs du plomb dans les différents sites sont comprises entre 1.972 et 1.6mg/L. La valeur du plomb maximal obtenue est enregistrée dans le site N°1, et la moyenne du plomb dans ces eaux dépasse les normes, cette pollution est due à l'existence des sites industrielles désaffectés. [4]

Produced with ScanTOPDF

Conclusion

Produced with ScantOPDF

Conclusion :

Le bute de notre travail consiste à étudier la qualité des eaux du lac Oubeira et son impact sur la santé humaine.

L'analyse des résultats obtenus laisse apparaitre que :

Les eaux du lac Oubeira présente une contamination microbiologique par des germes bactériens tels que : *Escherichia coli*, *Entérobacter aerogenes*, *Citrobacter intermedius*, *Aeromona hydrophyla*. Et *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophytus*, *staphylococcus lentus*, et autre fongique tels que : *Penicillium glabrum*, *p.chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A terreus*, *A glaucus*, *Rodhotorula rubra*, *saccharomyces cerevisiae*.

Nos résultats des paramètres physiques-chimiques indique que les eaux du lac Oubeira contient une grand quantité des matières organique, et des résidus sec.

Les eaux du lac Oubeira présente une pollution oxydante grâce à la présence des métaux lourds Zn (0.8), et Pb (1.792).

Après ce résultats obtenus on peut conclure que l'eau du lac Oubeira est très polluées donc la consommation du ces eaux capable de provoqué des grands problèmes sanitaires.

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





***Références
Bibliographiques.***

Produced with ScantOPDF

Références bibliographiques

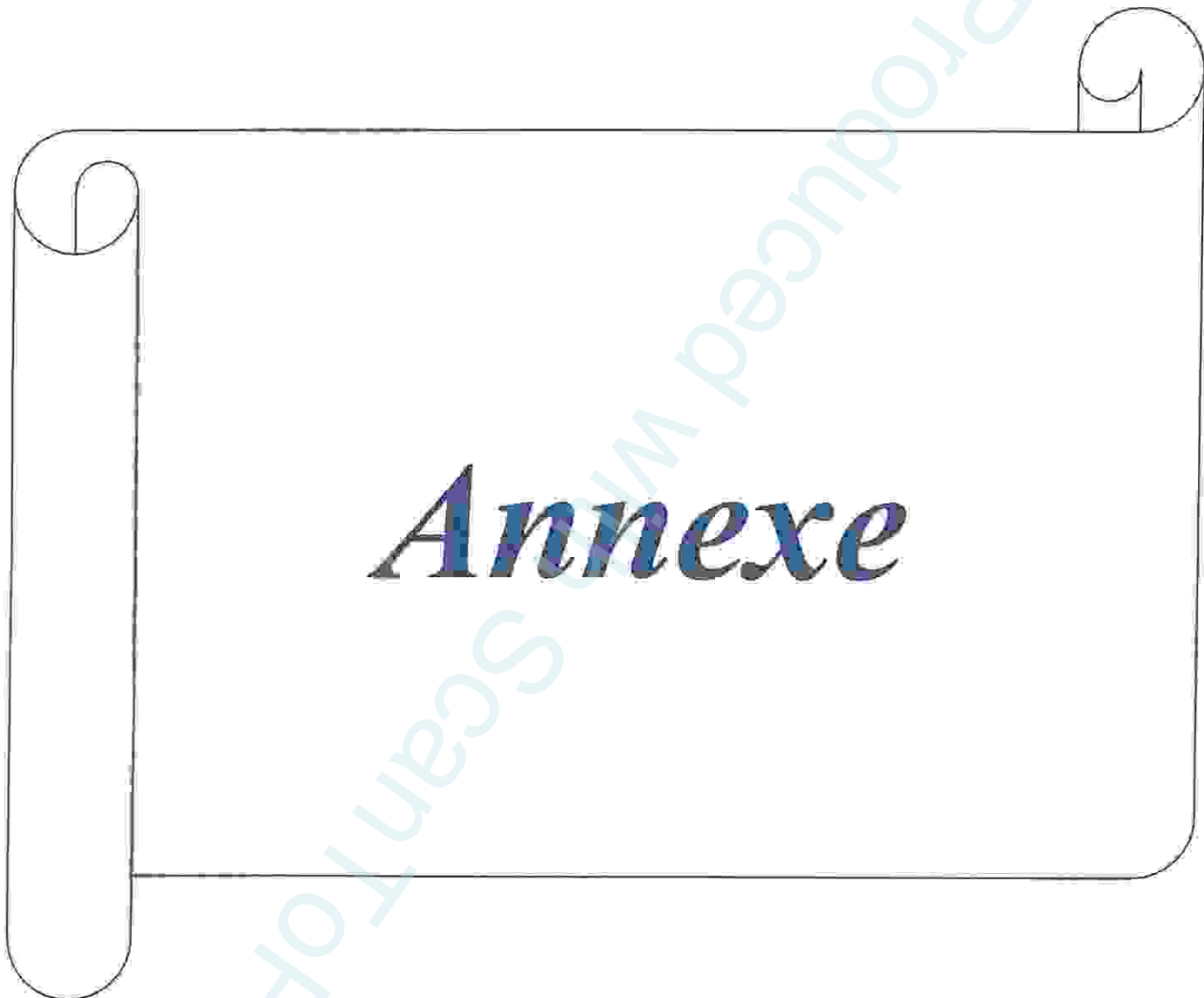
1. A. Benslimani, R. Belouni, N. Ramdani, M. Seghier. Manuel de Microbiologie. 2^{ème} édition. Edition office des publications universitaires.
2. Amirouche N, bouguedoura N, hadj – arab H. botanique (licence sciences de la nature et de la vie).
3. Anonyme, fiche descriptive sur les zones humide Ramsar (mai 2003).
4. Anonyme, Qualité physico-chimique et chimique d'eau de surface cadre générale (novembre 2005).
5. Arnaud Delahyr, Api Staph, www.arnobio2.com.
6. Biney C, Amuzu A.T, Calamari D. (1996). revue de la pollution dans l'environnement aquatique Africain : (Etude des métaux lourds). Archive de documentation la FAO disponible sur le site internet : www.fao.org
7. B.kahlouche, N. Guezlane-Tbibel, S. Athmani-Guemouri, Microbiologie travaux pratiques, 3^{ème} édition, édition office des publication universitaire.
8. B. Botton, p. Veau, 1990. moisissures (utiles et nuisibles importance industrielle), Edition Masson.
9. C. Ganet, G. Fessy, O. Rode, Api la référence mondial en identification , Edition Biomérieux, www.biomérieux.com.
10. C. Haslay. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Tec et Doc. P : 153-192.
11. Degremont. (2005). Memento technique de l'eau. Dixième édition. Edition Tec et Doc. P : 144-173.
12. Delarras. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique, Gaëtan moriu éditeur. P : 117-136.

13. Delarras, Camille. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, prélèvement, analyses. Editions Tec et Doc, Edition médicales nationales P : 65-102.
14. Jean Rodier et coll. (2005). L'analyse de l'eau eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, 8eme édition. Dunod. P : 749-847.
15. Haslay.C. (1993).Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Tec et Doc. P : 153-192.
16. Halim Hami, la pollution d'eau par les métaux lourds, les IIIèmes olympiades tunisiennes de chimie 2010.
17. Guiraud J. Pierre, (1998). Microbiologie alimentaire. RIA Dunod. P : 186-378.
18. Guiraud J. Pierre. (2003). Microbiologie alimentaire. RIA Dunod. P : 359-722.
19. Larpent JP. (1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire : Technique de labo. Edition Tec et Doc. p :294-718.
20. Light foot Nigel Francis. (2002). Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité. Edition Tec et Doc. P : 87-134.
21. M.Belkaid, N.Zenaidi,O.Tabet derraz,B.Hamrioui, Cours de parasitologie tome 1 protozooses réimpression 1992 inessm-alger departement de medecine ,page 15,et 44.
22. M.Larivière,B.Beauvais,F.Derouin, F.Traoré parasitologie médicale.edition :ellipses. 117 et 138.
23. P.h.raven ,L.r.berg ,D.m.hassenzahl. Environnement, traduction de la 6 ème edition américaine par marie-pascale colace,anne hancock, guy lempriere ,chappitre 22 la pollution d'eau,page :551
24. Prescott, Harley, Klein, microbiologie, 2^{ème} edition française, edition boeck.
25. Rodier J. (1996). L'analyse d'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eau mer. 8eme édition. Dunod. P : 749-847.
26. Roland vilaginès. (2003).2eme édition. Eau, environnement et santé publique. Edition médicales internationales. P : 43-138.

27. Zehaira boudjadi et nawel djebbari, Mourad Bensouilah, l'infection de l'anguille *Anguilla anguilla* L., 1758 par le parasite *Anguillicola crassus* kuwahara, niimi et itagaki dans les zones humides de El Kala. université Badji Mokhtar annaba.
28. http://www.actuenvironnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/matiere_en_suspension_mes.php4
29. http://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/ph.php4
Dernière mise à jour : 16/02/2012
30. <http://www.blog.saeed.com/2011/03/zone-humide-definition-problemes-convention-de-ramsar/>
31. http://www.citesciences.fr/francais/ala_cite/expositions/eau_pour_tous/maladies_hydriques.php?rub=maitrise_eau&ss_rub=20 (26/04/2011)
32. <http://www.cipel.org/sp/article46.html> Date : 17. 07. 2006
33. http://www.citesciences.fr/francais/ala_cite/expositions/eau_pour_tous/maladies_hydriques.php?rub=maitrise_eau&ss_rub=20 (26/04/2011)
34. http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/cours/rakot_01.htm
35. <http://www.elmoudjahid.com/fr/actualites/30989> 29-07-2012 | 0:00
36. http://esmisab.univ-brest.fr/scientifique/Mycologie/Principaux_groupes/Les+Aspergillus
37. <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000577/01/tabuc.pdf>
38. http://esmisab.univ-brest.fr/scientifique/Mycologie/Principaux_groupes/Les+Penicillium
39. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chlorure> Dernière modification de cette page le 8 décembre 2012 à 22:16
40. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chlorure> Dernière modification de cette page le 8 décembre 2012 à 22:16
41. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Potassium> le 19 janvier 2013 à 12:18.
42. http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/pollution-organique_6709/2001-2013
43. <http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/medecine-2/d/rievre-typhoide-3377/>
(26/04/2011)

44. http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/demande-chimique-en-oxygene_6372/ -2013
45. <http://fr.answers.yahoo.com/question/index?qid=20090907111218AA6KjB7>
46. <http://www.microbiologie-medicale.fr/mycologie/identificationchampignons.htm>
47. http://www.ornithomedia.com/pratique/voyages/voyage_art65_1.htm (16/03/2011)
48. [http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/riches-sur-les-maladies-infectieuses\(fievre-typhoide\)](http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/riches-sur-les-maladies-infectieuses(fievre-typhoide)) (26/04/2011)
49. <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/poliomyelite-5294.html> (05/05/2011)
50. http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm (22/05/2011)
51. <http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf> (24/05/2011)
52. <http://www.lenntech.fr/data-perio/mg.htm#ixzz2UUqFeRwc>.
53. <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/specie.php?idE=107> (2007).
54. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032575412012000200011 (23.4.2011).
55. http://cfwet.byethost24.com/lac_oubeira/lac_oubeira.html (07.05.2010).

Produced with ScanTopdf



Annexe

Produced with Scantopdf

Annexes

Annexe I : Milieux de culture et Réactifs:

• Czapek simple

NaOH ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
KCl.....	0,5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,5g
FeSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,01g
ZnSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,005g
CuSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,01g
Saccharose.....	30g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

• Czapek concentré

NaOH ₃	30g
KH ₂ PO ₄	20g
KCl.....	10g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	10g
FeSO ₄ , 7H ₂ O.....	0,2g
Saccharose.....	30g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

• **Bouillon nitrate réductase :**

Infusion cœur-cerveau.....	25,0 g
Nitrate de sodium.....	10,0 g
Eau distillée.....	1L

• **Milieu TSI :**

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

Produced with Scantopdf

Annexe II :

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

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

• Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API Staph .

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

• Tables de Mac Grady .

<i>2 tubes par dilution</i>				<i>3 tubes par dilution</i>			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						
<i>5 tubes par dilution</i>							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Annexe III :

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

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

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

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

I. Matériels et réactifs des paramètres physicochimiques :

1.1. Matériels

- Dispositif de filtration (pompe à vide ou sous pression)
- Disques filtrants en fibre de verre (filtres de *Wattman*)
- Etuve réglable à 105-110°C et 175-185°C
- Dessiccateur
- Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml
- Enceinte thermostatée (étuve) à 20°C, plus ou moins 1°C
- Matériel nécessaire pour le dosage de l'oxygène (oxymètre)
- Barboteur

- Appareil à reflux composé d'un ballon à fond plat de 250 ml à col rodé et d'un réfrigérant adaptable réservé exclusivement à la détermination de la DCO
- Spectrophotomètre
- Bêchers
- Papier filtre
- Pipetes graduées
- Fiole jaugée 200 ml
- Appareil à distiller par entraînement de la vapeur
- Verrerie
- Autoclave

1.2. Réactifs

- Solution de chromate de potassium à 10%
- Solution de nitrate d'argent N/10
- Solution d'acide sulfurique à 50%
- Solution de permanganate de potassium N/80 (1 ml de la solution N/80 correspond à 0,1 g d'oxygène)
- Solution d'acide oxalique N/80 à préparer à partir d'une solution de N/10 récemment titrée
- Solution d'EDTA N/50
- Noir urochrome T
- Indicateur coloré d'urochrome T
- Solution tampon : Ammoniacale à 34%
- Indicateur coloré : murexide
- Solution d'hydroxyde de sodium à 2N
- Solution de phénolphtaléine dans l'alcool à 0,5%
- Eau permutée exempte d'anhydrique carbonique libre (par ébullition de 15 min)
- L'eau distillée
- Eau de dilution
- Eau d'ensemencement
- Solution de sulfate d'argent AgSO_4
- Solution de ferroïne
 - Solution de fer 0,7 g

- Eau permutée q.s.p 100 ml
- 1,10-phénanthroline 1,5 g
- Sel de mohr (sulfate de fer et d'ammonium)
- Sulfate mercurique cristallisé
- Solution de salicylate de sodium
- Solution tartrate
- Solution Zambelli
- Anti-mousse (silicone)
- Réactif nessler
- Acide ascorbique à 5%
- Chlorure de potassium
- Solution de molybdate d'ammonium
- Réactif de phosphate
- Solution de minéralisation
- Persulfate de potassium 3 g

Produced with ScanTOPDF

Résumé :

Le lac Oubeira est une zone humide, Abrite une faune et flore diversifiée parmi les quelles plusieurs sont rares.

cette dernière est touché par une double pollution une organique par la présence des matières organique (les paramètres physique chimique) et autre oxydant par l'existence des métaux lourds tels que (pb,zn).

D'après notre études qui est basé sur le contrôle microbiologique confirme la présence des plusieurs types des germes bactériennes et fongique pathogènes ou saprophytes.

Mots clés:

Oubeira, Identification fongique, Métaux lourds, Paramètres physique chimiques.

Summary:

Oubeira the lake is a wetland, Houses a diverse fauna and flora among which many are rare.

It is hit by a double organic pollution by the presence of organic materials (chemical physical parameters) and other oxidizing by the existence of heavy metals (pb, zn). According to our studies is based on the microbiological control confirms the presence of several types of bacterial and fungal pathogens or saprophytes.

Keywords:

Oubeira, fungal identification, heavy metals. Physical chemical parameters.

ملخص

تعد بحيرة اوبيرة من الأراضي الرطبة، وتضم العديد من الحيوانات والنباتات المتنوعة و الشجرة. لكن مياه هذه البحيرة أصيبت بالتلوث مزدوج وذلك لاحتوائها على مواد عضوية (معايير فيزيائية و كيميائية) وأخرى المؤكسدة كالمعادن الثقيلة (الرصاص، الزنك).

أكدت دراسائنا التي تقوم على الرقابة الميكروبيولوجية وجود عدة أنواع من البكتيرية والفطريات المسببة للأمراض

كلمات السر:

اوبيرة ، وتحديد الفطريات والمعادن الثقيلة، المعايير الفيزيائية والكيميائية