

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 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

Spécialité/Option : Microbiologie de l'environnement: Santé, Eau et Environnement

**Thème : CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA QUALITE PHYSICO-
CHIMIQUE ET BACTERIOLOGIQUE D'UN ECOSYSTEME
AQUATIQUE PERIURBAIN (MARAIS BOUSSEDRA)**

Présenté par : ARIFI Nawat

YAHIAOUI Warda

Devant le jury composé de :

Président : ROUIBI Abdelhakim

M.A.A

Université de Guelma

Examineur : GUETTAF Mohamed

M.A.A

Université de Guelma

Encadreur : HOUHAMDI Moussa

Pr.

Université de Guelma

Juin 2013

Résumé

Notre travail a pour but d'évaluer la qualité physicochimique et bactériologique de l'eau du marais Boussedra dans la wilaya d'Annaba.

Les résultats des analyses physicochimiques obtenus montrent des valeurs normales.

Pour les analyses bactériologiques, une forte charge en bactéries indicatrices de contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux, et streptocoques fécaux) avec une forte concentration en flore mésophiles.

Cette pollution affecte l'environnement et constitue une menace majeure sur la santé de ces habitats biologiques.

Mots clés:

Eau, pollution, marais Boussedra, paramètres physicochimiques et bactériologiques.

المخلص

يهدف عملنا الى تقييم الحالة الفيزيائية والكيميائية والبكتريولوجية لمياه مستنقع بوسدره

الذي يقع بمنطقة البوني في ولاية عنابة.

اظهرت نتائج التحاليل الفيزيائية و الكيميائية المتحصل عليها قيما عادية تقريبا .

بينت الدراسة البكتريولوجية، وجود حمولة كبيرة من البكتيريا المؤشرة للتلوث البرازي

(القولونيات، القولونيات البرازية والعقديات البرازية) مع تركيز عال للميكروبات الكلية

يؤثر هذا التلوث على البيئة وتشكل تهديدا كبيرا على صحة المواطن البيولوجية.

الكلمات المفتاحية:

مياه، تلوث، مستنقع بوسدره، معايير فيزيائية وكيميائية وبكتريولوجية.

Sommaire

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE I : Généralités sur l'eau | |
| I.1. Définition de l'écosystème aquatique..... | 2 |
| I.2. Les différents écosystème aquatique..... | 2 |
| I.2.1. Les eaux stagnantes..... | 2 |
| I.2.2. Les eaux courantes..... | 3 |
| I.2.3. Les eaux souterraines..... | 3 |
| I.3. Altération de l'écosystème aquatique par les activités anthropiques..... | 3 |
| I.3.1. types de pollution..... | 4 |
| I.3.1.1. La pollution domestique..... | 4 |
| I.3.1.2. La pollution industrielle..... | 4 |
| I.3.1.3. La pollution agricole..... | 4 |
| I.4. Impacts de la pollution sur la vie aquatique..... | 4 |
| I.4.1. Une diminution de la teneur en oxygène dissous (O ₂)..... | 4 |
| I.4.2. La présence de produits toxiques..... | 4 |
| I.4.3. Une prolifération d'algues..... | 5 |
| I.4.4. Une modification physique du milieu récepteur..... | 5 |
| I.4.5. La présence de bactéries ou virus dangereux..... | 5 |
| I.5. Les infections d'origine hydrique..... | 5 |
| CHAPITRE II : Description de site | |
| II.1. Situation géographique..... | 7 |
| II.2. Faune et flore | 8 |
| II.3. Climatologie | 8 |
| II.3.1. La température | 8 |
| II.3.2. Les précipitations..... | 9 |
| II.3.3. L'humidité | 12 |
| II.3.4. Les vents | 12 |
| CHAPITRE III : Matériel et méthodes | |
| III.1. Choix de site..... | 13 |
| III.2. Caractéristiques de point de prélèvement..... | 13 |
| III.3. Analyse physico-chimique des eaux..... | 13 |
| III.3.1. Couleur apparente (examen visuel) | 14 |
| III.3.2. Mesure de la Température, l'Oxygène dissous, la Conductivité, le PH, de l'eau..... | 14 |
| III.4. Analyse microbiologique des eaux..... | 14 |

| | |
|--|-------|
| III.4.1. Prélèvement de l'eau | 14 |
| III.4.2. Transport et conservation des échantillons | 14 |
| III.4.3. Méthodes d'analyse bactériologique des eaux..... | 15 |
| III.4.3.1. Détermination des germes revivifiables à 37°C..... | 15 |
| III.4.3.2. Recherche et dénombrement des germes témoignant d'une pollution fécale..... | 18 |
| III.4.3.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux | 21 |
| III.4.3.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs..... | 23 |
| III.4.3.5. Recherche bactérien et isolement des germes pathogènes | 25 |
| III.4.4. Tests d'identifications complémentaires | 32 |
| III.4.4.1. Examen macroscopique des caractères culturaux..... | 32 |
| III.4.4.2. Examen microscopique après coloration de Gram | 32 |
| III.4.4.3. Examen liés aux caractères biochimiques | 33 |
| Chapitre IV : Résultats et discussion | |
| IV.1. Résultats des analyses physico-chimiques | 34 |
| IV.1.1. La couleur apparente..... | 34 |
| IV.1.2. La température (T°C)..... | 34 |
| IV.1.3. La conductivité électrique (CE)..... | 35 |
| IV.1.4. Le potentiel d'hydrogène (pH)..... | 36 |
| IV.1.5. O ₂ dissous..... | 37 |
| IV.2. Résultats des analyses bactériologiques..... | 38 |
| IV.2.1. Evaluation de la flore mésophile totale | 38 |
| IV.2.2. Evaluation du nombre des coliformes totaux | 38 |
| IV.2.3. Evaluation du nombre de coliformes thermo-tolérants | 39 |
| IV.2.4. Evaluation du nombre de streptocoques fécaux | 40 |
| IV.2.5. Les Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR)..... | 41 |
| IV.2.6. Identification des souches bactériennes..... | 41 |
| IV.2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram..... | 41 |
| IV.2.6.2. Identification des Enterobacteriaceae | 44 |
| IV.2.6.3. Identification des staphylococcus | 45 |
| CONCLUSION | 47-48 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | |
| RESUME | |
| ANNEXES | |

Remerciement

*Nous vifs remerciements s'adresse au monsieur **HOUHAMDI Moussa** Professeur en biologie au département de biologie de l'université de Guelma qui nous ont fait l'honneur de nous guider et nous diriger tout le long de notre travail.*

Nos remerciements vont également à la commission d'examen :

*monsieur **GUETTAF Mohamed**, Maitre Assistant A, monsieur **ROUIBI A/Hakim** Maitre Assistant B, tout deux enseignants au département de biologie de l'université de Guelma, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce modeste travail ; qu'ils soient assurés de nos profonde gratitude.*

*Nous remercions aussi profondément les deux personnes qui nous ont été d'un grand secours pendant la réalisation de ce travail : monsieur **BARA Mouslim** doctorant en écologie, département de biologie à l'université de Guelma et **MERZOUG Seyf Eddine** Attaché de recherche CRBt Constantine. **GUERGUEB Elyamine** Attaché de recherche CRBt Sidi Belabbas*

*Nos remerciements vont également à m^{elle} **Soumia ABDI** et m^{elle} **Zahra RAZKALLAH**, étudiantes à université de Guelma. et **KANNAT Aziza** étudiante à l'université de Taref*

Nous nous saurons finir sans remercier tous les enseignants du département de biologie de l'université de Guelma et les responsables de laboratoire du département.



Liste des tableaux

| N° de tableau | Titre du tableau | N de page |
|----------------------|--|------------------|
| 01 | Les principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique | 06 |
| 02 | Températures moyennes mensuelles (°C) de 1977à 2009 (la station des Salines) | 09 |
| 03 | Précipitations moyennes mensuelles (mm) à la station des Salines (1975-2009) | 10 |
| 04 | Précipitations annuelles dans la station des Salines et la station Pont Bouchet | 11 |
| 05 | Moyenne mensuelle de l'humidité relative à la station des Salines en % (1984-2005) | 12 |
| 06 | Moyenne mensuelle de la vitesse des vents en m/s à la station des Salines | 12 |
| 07 | Relation entre la conductivité et la minéralisation | 35 |
| 08 | La qualité des eaux d'après la grille de l'Agence du Bassin Adour Garonne. | 38 |
| 09 | Evaluation du nombre des spores des ASR dans le site de prélèvement. | 41 |
| 10 | Résultats de l'ensemencement des milieux de cultures utilisés | 42 |
| 11 | Résultats d'identification des germes par Api20E | 44 |
| 12 | Résultats d'identification des Staphylocoques | 46 |

Liste des figures

| N° de figure | Titre de figure | N° de page |
|-----------------|---|---------------|
| 01 | Situation géographique de la région d'étude (Elbouni) | 07 |
| 02 | Photo satellite de marais Boussedra | 08 |
| 03 | Evolution des températures moyennes à la station les salines (1977- 2009) | 09 |
| 04 | Évolution des Précipitations moyennes mensuelles (mm) aux stations des Salines (1975-2009) | 10 |
| 05 | Présentation du point de prélèvement | 13 |
| 06 | le flacon de prélèvement | 15 |
| 07 | Recherche et dénombrement des germes | 17 |
| 08 | Recherche et dénombrement du coliforme thermo-tolérant | 20 |
| 09 | Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux | 22 |
| 10 | Recherche et dénombrement des ASR | 24 |
| 11 | Recherche des <i>Salmonella</i> | 27 |
| 12 | Recherche des <i>Vibrio</i> | 29 |
| 13 | Recherche et identification des Staphylocoques pathogènes (<i>S. aureus</i>) | 31 |
| 14 | Evolution de la température dans le site de prélèvement | 34 |
| 15 | Evolution de la CE dans le site de prélèvement | 36 |
| 16 | Evolution du pH dans le site de prélèvement | 36 |
| 17 | Evolution de l'O ₂ dissous dans le site de prélèvement | 37 |
| 18 | Evolution du % de saturation en O ₂ dissous dans le site de prélèvement | 37 |
| 19 | Evolution du nombre de coliformes totaux | 39 |
| 20 | Résultat de la recherche des streptocoques fécaux | 39 |
| 21 | Evolution du nombre de coliformes fécaux | 40 |
| 22 | Résultat de la recherche des streptocoques fécaux | 40 |
| 23 | Evolution du nombre de streptocoques fécaux | 41 |
| 24 | Résultats de coloration de gram | 44 |
| 25 | Profil biochimique des espèces des Enterobacteriaceae | 45 |
| 26 | Tests d'identification des Staphylocoques | 46 |

L'eau est essentielle à l'homme, aux animaux, aux plantes. Sans eau, il n'y aurait pas de vie sur terre. Au tout début de la civilisation, les hommes s'installaient près des points d'eau, au bord des rivières, des lacs et au voisinage des sources naturelles. En fait, là où vivent les hommes, c'est qu'il y a un peu d'eau disponible pour leur consommation, leurs animaux et les plantes.

Elle joue un rôle important dans tous les cycles biogéochimiques des éléments. Son importance pour l'économie ne cesse de croître, sa demande et son approvisionnement deviennent de plus en plus difficile à acquérir dans les pays en voie de développement en général, et l'Algérie en particulier dont l'eau est un facteur limitant du développement et source de tensions sociales. La rareté est appréhendée en termes de stress hydrique et d'irrégularité de la ressource, deux facteurs susceptibles de s'accroître avec le changement climatique. [1].

Outre la pollution par les eaux usées issues de différentes activités humaines que ce soit domestiques, agricoles ou industrielles. Ce qui rend l'eau un élément vecteur exposé à tous les genres de pollution, elle est aussi considérée comme un transporteur potentiel de nombreuses maladies.

Le contrôle de la qualité de l'eau est cependant devenu impératif, il joue un rôle important dans la santé publique car celle-ci est susceptible d'engendrer des altérations catastrophiques sur le sol, sur l'organisme humain et même de toucher à la santé de toute une population (Roux, 1987).

Vue cette importance majeure, nous avons essayé d'étudier et de déterminer la qualité physico-chimiques et bactériologiques de l'eau de marais Boussedra de la région de Elbouni wilaya d'Annaba (Nord-Est de l'Algérie), et ceci dans le but d'apprécier l'évolution de sa qualité et son impact sur l'environnement et sur la santé publique.

Le présent travail, dans sa majeure partie est réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université de Guelma.

Nous avons structurés notre démarche en quatre chapitres interdépendants :

Le premier et le second purement théoriques rassemblent d'une part des généralités sur l'écosystème aquatique, la pollution et leur impact, et d'autre part une description du site d'étude. Le troisième chapitre est consacré aux méthodes employées pour la réalisation de ce travail : Analyses bactériologique (recherche et dénombrement des bactéries) et physico-chimiques de l'eau du marais. Le quatrième, mentionne sous formes des graphes les

différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique. IL est esquissé par une conclusion finale.

I.1. Définition de l'écosystème aquatique:

De manière générale, un écosystème aquatique est la donnée d'un biotope (un habitat et des conditions environnementales) et d'une biocénose (ensemble des êtres vivant dans ce biotope).

Un écosystème aquatique a pour particularité que son biotope est un milieu aquatique issu du cycle des eaux. Ainsi l'évaporation de l'eau des océans et des continents (et même issue de la transpiration des êtres vivants) se retrouve ensuite en précipitations, la précipitation ont autant lieu dans les océans que sur les continents.

Dans le cas de ces derniers, l'apport d'eau est soit piégé (constituant mares, lac, étangs ou dans la nappe phréatique par infiltration) soit retourne à l'océan après avoir ruisselé sur le continent. Ce ruissellement constitue fleuves, rivière qui retournent à la mer (Prévest, 2005).

IL existe en fonction de leur dimension, trois types d'écosystèmes;

I.2. Les différents écosystèmes aquatiques:

Les eaux continentales superficielles se répartissent en deux grands ensembles: les eaux stagnantes et les eaux courantes. [2]

I.2.1. Les eaux stagnantes:

Les eaux dans lesquels la majeure partie des plantes touche le fond avec leurs racines.

- **Mare:**

C'est une étendue d'eau, elle est temporaire ou permanente, de faible importance et profondeur. Il n'y a pas de critères précis pour différencier une grande mare d'un petit étang. [2]

- **Etang:**

C'est une étendue d'eaux stagnantes, d'origine naturelle ou anthropique de profondeur réduite, dans lesquels la majeure partie des plantes touchent le fond avec leurs racines. [2]

- **Lac:**

C'est une grande étendue d'eau, généralement douce, entourée par les terres. Elle se caractérise par leur profondeur qui est telle que la végétation ne peut se développer sur le fond. Le plus souvent cependant, le lac s'écoule en direction de la mer par un cours d'eau nommé émissaire. [2]

- **Marais:**

C'est un milieu intermédiaire entre les milieux strictement aquatiques et les milieux terrestres, où le sol est recouvert, en permanence ou par intermittence, d'une couche d'eau stagnante, en général peu profonde, et couvert de végétation. [2]

- **Tourbière:**

Une tourbière est une zone humide caractérisée par l'accumulation progressive de la tourbe, un sol caractérisé par sa très forte teneur organique, peu ou pas décomposée d'origine végétale. [2]

I.2.2. Les eaux courantes:

Les eaux courantes sont les cours d'eau :

- **Fleuve:**

Cours d'eau se jetant directement dans la mer [3]. Le courant est de plus en plus faible, et l'eau peut être très trouble, car beaucoup d'éléments minéraux fins et de micro algues sont en suspension. [3]

- **Estuaire :**

C'est une embouchure d'un cours d'eau (douce) se jetant dans le milieu marin et dans lequel les Organismes qui y vivent sont sujets à des variations de salinité. [3]

- **Torrent :**

Où coule une eau froide (entre 5 et 15°), claire et bien oxygénée, du fait du courant rapide, avec beaucoup de matières minérales (petits cailloux) en suspension ou qui roulent sur le fond de l'eau. [4]

- **Rivière:**

La rivière est un cours d'eau naturel qui coule dans un lit plus ou moins étendu en largeur et en longueur alimenté par les sources, les nappes phréatiques et les eaux de ruissellement. [5]

I.2.3. Les eaux souterraines:

L'eau souterraine provient essentiellement de l'infiltration de l'eau de pluie, qui atteint les nappes aquifères en traversant les couches souterraines. [6]

I.3. Altération de l'écosystème aquatique par les activités anthropiques:

La pollution de l'eau est une dégradation physique, chimique biologique ou bactériologique de ses qualités naturelles, provoquée par l'homme et par ses activités. Elle perturbe les conditions de vie de la flore et de la faune aquatique et elle compromet de l'utilisation de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles et / ou les eaux souterraines. [7]

I.3.1. types de pollution:

Les principales pollutions susceptibles d'altérer la qualité des eaux sont:

I.3.1.1. La pollution domestique:

Toute les déchets que nous laissons pourrir au bord de la route finissent par se décomposer ou tout simplement dans notre système d'écoulement d'égout (par ruissellement des eaux en surface), et finissent par contaminer nos cours d'eau d'une manière ou d'une autre. [8]

I.3.1.2. La pollution industrielle:

Les rejets liquides industriels véhiculent une importante pollution organique et toxique. IL s'agit de différents déchets provenant des industries diverses qui sont principalement installées au niveau du rivage à la fois pour se débarrasser des déchets directement et pour faire refroidir leurs machines (Industrie alimentaire, Industrie agricole, Tannerie et textile, Papeterie, Industrie physique, Industrie chimique, Industrie pétrochimie). Ce type de pollution peut avoir un effet toxique sur les organismes vivants et nuire au pouvoir d'autoépuration de l'eau, ou causer l'accumulation de certains éléments dans la chaîne alimentaire (métaux, radioactivité...). [9]

I.3.1.3. La pollution agricole:

L'agriculture constitue la première cause des pollutions diffuse des ressources en eau. Les activités agricoles sont, en particulier, largement impliquées dans les apports d'azote et, surtout, de ses dérivés, nitrates et nitrites, que l'on trouve en forte concentration dans les engrais, mais aussi dans les lisiers et purins d'élevage. [7]

I.4. Impacts de la pollution sur la vie aquatique:

Elle se manifeste principalement, dans les eaux de surface, par:

I.4.1. Une diminution de la teneur en oxygène dissous (O₂):

Les matières organiques, essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture, peuvent devenir un élément perturbateur quand leur quantité est trop importante. En effet, elles vont être dégradées par des bactéries et consommer naturellement de l'O₂ dissous, privant ainsi les organismes aquatiques. Cette diminution de l'O₂ dissous peut provoquer dans certains cas des mortalités importantes de poissons. [10]

I.4.2. La présence de produits toxiques:

Rejetées sous différentes formes, ces substances provoquent des effets qui peuvent être de deux formes:

- Effet immédiat ou à court terme conduisant à un effet toxique brutal et donc à la mort rapide de différents organismes.

- Effet différé ou à long terme, par accumulation au cours du temps, des substances chez certains organismes. [10]

I.4.3. Une prolifération d'algues:

Bien que la présence d'algues dans les milieux aquatiques soit bénéfique pour la production de l'O₂ dissous, celles-ci peuvent proliférer de manière importante et devenir extrêmement gênantes en démarrant le processus d'eutrophisation. [10]

I.4.4. Une modification physique du milieu récepteur:

Le milieu peut être perturbé par des apports aux effets divers:

- Augmentation de la turbidité de l'eau (ex. lavage de matériaux de sablière ou de carrière),
- Modification de la salinité (ex. eaux d'exhaure des mines de sel),
- Augmentation de la température (ex. eaux de refroidissement des centrales nucléaires). [10]

I.4.5. La présence de bactéries ou virus dangereux:

L'eau est vectrice de nombreux micro-organismes (bactéries, eucaryotes, etc.), de virus et de contaminants chimiques (plomb, pesticides...) qui engendrent des troubles et des pathologies pouvant être mortelles.

I.5. Les infections d'origine hydrique:

Les maladies d'origine hydrique sont nommées comme telles car elles résultent d'une exposition à des microorganismes pathogènes ou à des produits chimiques présents dans l'eau potable ou les eaux utilisées pour les activités récréatives.

L'eau contaminée pénètre le plus souvent dans l'organisme par ingestion; toutefois, les contaminants de l'eau peuvent aussi être inhalés ou adsorbés, ou peuvent pénétrer dans le corps par les plaies ouvertes

Les micro-organismes responsables de ces maladies peuvent être subdivisés en trois types:

- ✓ Bactéries: Salmonelles, Shigelles, Vibrions.
- ✓ Virus: Poliomyélite, Hépatite A et E, Gastroentérites virales
- ✓ Parasites: Helminthes, Protozoaires. [11].

Le tableau 01 présente les principales bactéries pathogènes rencontrées dans les infections bactériennes d'origine hydrique. (Rejsek, 2002).

Tab .01: Les principales bactéries responsables d'infections d'origine hydrique.

| Bactéries | Maladies induites | Indication de la recherche |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Aeromonas | Gastro-entérite syndrome cholérique. | – |
| Clostridium perfringens | Gastro-entérite. | Contamination fécale peu spécifique. |
| Enterococcus | | Contamination fécale. |
| Escherichia coli entérotoxiques et entéroinvasifs | Gastro-entérite et autres maladies. | Contamination fécale. |
| Campylobacter jejuni ou coli | Gastro-entérite. | – |
| Legionella pneumophila | Pneumopathie, fièvre. | – |
| Leptospira | Leptospirose ictéro-hémorragique. | Maladie professionnelle. |
| Pseudomonas aeruginosa | Infection cutanée, pus. | Contamination de proximité. |
| Salmonella typhi et paratyphi A | Fièvres typhoïde et paratyphoïdes. | – |
| Salmonella | Gastro-entérite. | – |

| | | |
|--------------------------------|--|-----------------------------|
| Shigella dysenteriae | Dysenterie bacillaire. | – |
| Shigella | Gastro-entérite. | – |
| Staphylococcus aureus | Infection cutanée. | Contamination de proximité. |
| Vibrio | Cholera, gastro-entérite, infection cutanée. | – |
| Yersinia enterocolitica | Gastro-entérite. | – |

Chapitre II
Description de site

Chapitre IV
Résultats et discussion

*Références
bibliographiques*

Introduction

Annexes

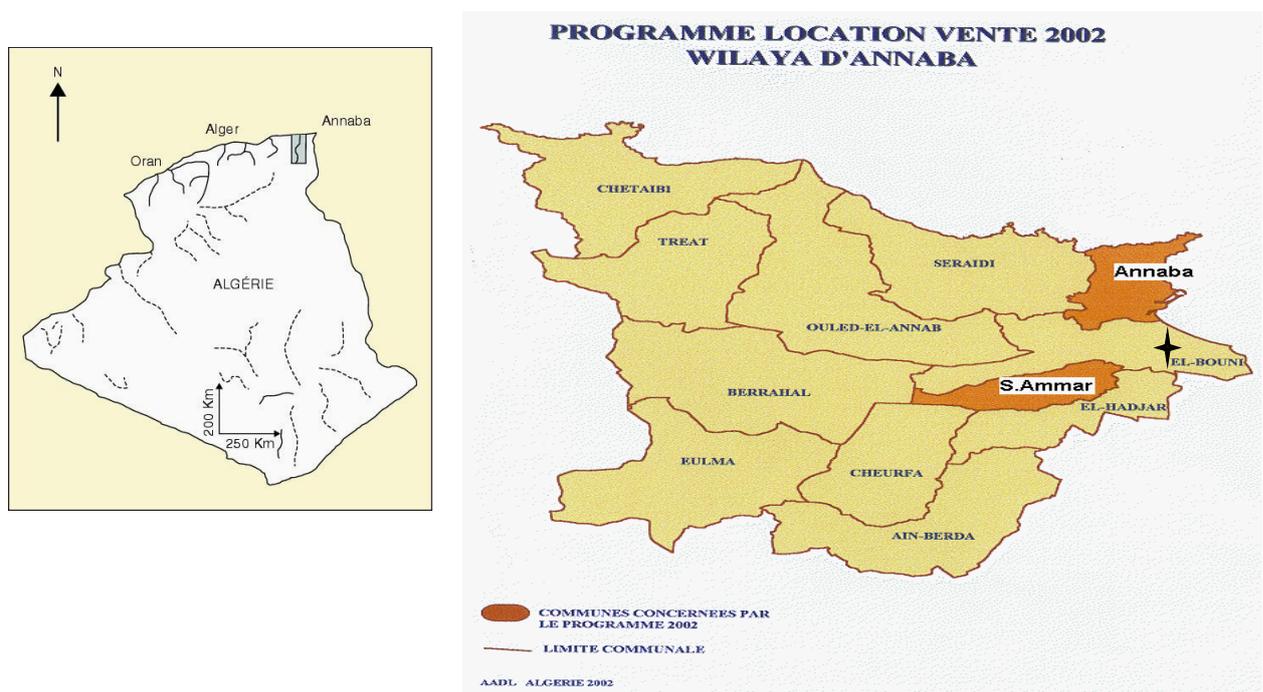
Chapitre I
Généralités sur l'eau

Chapitre III
Matériel et méthodes

II.1. Situation géographique :

Le marais Bousseadra situé au sud-ouest de la commune d'El Bouni, wilaya d'Annaba (fig.01), il est situé entre latitude $36^{\circ}51'259$ N et longitude $7^{\circ}43'819$ E. Il s'étend sur une superficie de 20 hectares avec une profondeur moyenne de 1.5 m (fig.02).

Ce qui a été remarqué durant les dix dernières années, c'est la dégradation considérable de la superficie de marais par les agriculteurs locaux. Près de 30% de l'étang a été ensevelie par des tonnes de terres qui sont devenue par la suite des vergers. Cette artificialisation de l'étang a sans doute eu des répercussions considérables sur la biodiversité locale. (Bouchecker 2002).



★ Le site d'étude

Fig. 01: la situation géographique de la région d'étude (Elbouni) à l'échelle 1/500.000 [12].



Fig. 02 : Photo satellite de marais Boussedra. [13].

II.2.Faune et flore :

Le marais Boussedra héberge une faune et une flore très riches. Sur le plan floristique, elle est constituée essentiellement de *Typha angustifolia*, *Ranunculus baudotii*, *Scirpus lacustris*, *S.maritimus* et *Phragmites communis*.

Du point de vue avifaunistique, le marais Boussedra est considéré comme un site d'hivernage pour de nombreux oiseaux d'eau tels que les Vanneaux huppés, Canards souchets, Canards siffleurs, Canards pilets, Canards chipeaus, Fuligules nyrocas, Fuligules milouins, Grèbe castagneux et Echasse blanche. De plus, on peut noter la présence de quelques espèces d'oiseaux rares comme la Sarcelle marbrée *Marmaronetta angustirostris* et la Sarcelle d'été *Anas querquedula*. (Boucheker, 2010).

II.3. Climatologie :

Comptant parmi les régions les plus arrosées de l'Algérie située en bordure de la mer Méditerranée, elle est donc soumise à un climat méditerranéen caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec et dont le régime dépend principalement de deux paramètres : les précipitations et de la température. (Hamzaoui, 2007 ; Belabed, 2010).

II.3.1. La température :

La température est un facteur climatique très important qui réagit directement, en interaction avec les autres facteurs météorologiques (humidité, précipitation,...etc.), le développement de la végétation, le phénomène de l'évapotranspiration et ainsi que le déficit d'écoulement annuel et saisonnier. (Belabed, 2010).

L'évolution de la température atmosphérique au cours de l'année agit directement sur la température de l'eau superficielle et donc sur sa qualité. La station météorologique de l'aéroport « les Salines » est la seule à enregistrer les températures ; les valeurs moyennes sont présentés dans le tableau 2.

Tab. 2 : Températures moyennes mensuelles (°C) de 1977à 2009 (la station des Salines)

| Mois | Jan | Fév. | Mar | Avr | mai | juin | juil | Aout | Sep | Oct. | Nov. | Déc. |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne de température | 11.18 | 11.20 | 12.54 | 15.18 | 18.94 | 22.21 | 25.33 | 25.76 | 23.11 | 19.52 | 15.11 | 12.57 |

Il ressort du tableau (Tab.2) que la zone d'étude est caractérisée par un climat doux et humide en hiver, chaud et sec en été ; ce qui caractérise le climat Méditerranéen. Les moyennes de températures les plus élevées sont observées essentiellement pendant la période d'été de 22 à 25,76; les moyennes mensuelles des températures les plus basses sont observées pendant la période d'hiver, avec un minimum pendant le mois de janvier 11,18. L'évolution de ces températures au cours de l'année donne une courbe en cloche (Fig.03).

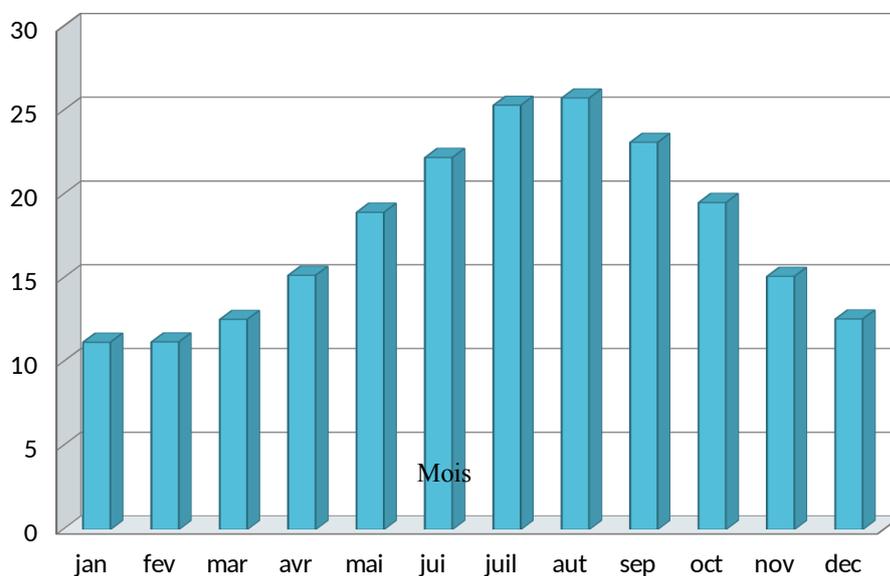


Fig.03 : Evolution des températures moyennes à la station les salines (1977-2009)

II.3.2. Les précipitations:

Constituant un facteur essentiel qui caractérise le climat d'une région, les précipitations jouent un rôle prépondérant dans le comportement hydraulique des cours d'eau et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines.

• **Précipitations moyennes mensuelles:**

Les moyennes mensuelles des précipitations pour la station les salines (1975-2009) présentés dans le tableau suivant (Tab. 3).

Tab. 3 : Précipitations moyennes mensuelles (mm) à la station des Salines (1975-2009).

| mois | Jan. | fév. | Mar. | Avril. | Mai. | Juin. | juil. | Aout | Sep. | oct. | nov. | déc. |
|------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|--------|
| Pmm | 93.96 | 64.08 | 96.14 | 59.62 | 43.29 | 34.39 | 3.37 | 6.85 | 53.05 | 68.46 | 79.54 | 104.75 |

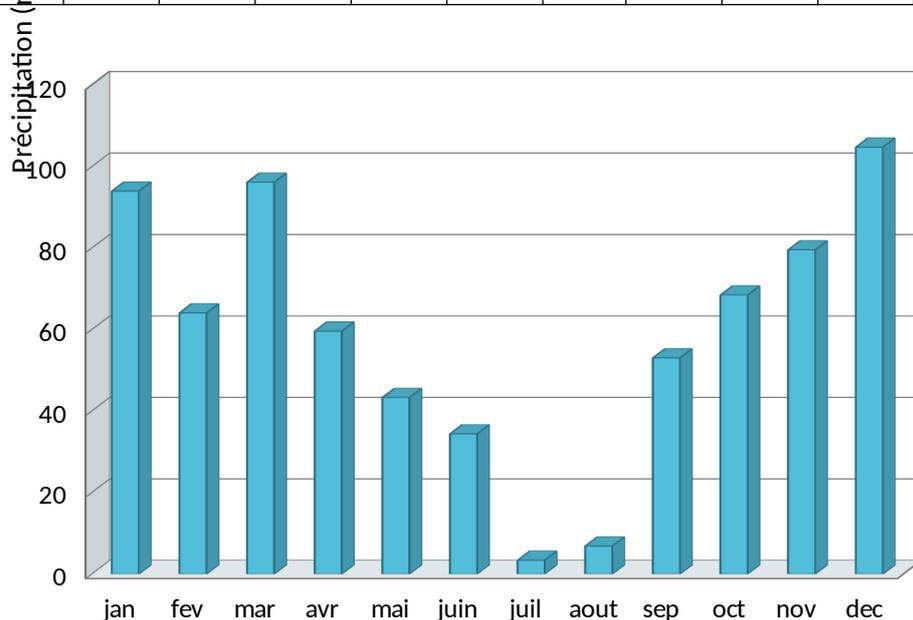


Fig. 04 : Évolution des Précipitations moyennes mensuelles (mm) aux stations des Salines (1975-2009)

Les valeurs moyennes mensuelles des précipitations représentées par l'histogramme montrent que les précipitations varient d'un mois à l'autre. Cette variation traduit une forte irrégularité entre les différents mois de l'année hydrologique.

A ce titre le mois de Décembre reste le plus pluvieux de l'année, en revanche le mois de juillet est le moins pluvieux (Fig.04).

• **Précipitations moyennes annuelles :**

Les valeurs des précipitations annuelles moyennes permettent de caractériser la pluviosité de chaque année (Tab. 4)

L'année la plus pluvieuse est 2004/2005. Les moyennes des précipitations enregistrées sont respectivement de 987.7mm à la station les Salines, et de 940.3mm à la station Pont

Bouchet. En revanche, l'année la plus sèche est 1996/1997 avec 422.8mm, pour les Salines, et 1987/1988 avec 372.4mm pour la station Pont Bouchet.

Tab. 4 : Précipitations annuelles dans la station des Salines et la station Pont Bouchet

| Année | Les Salines | Année | Pont Bouchet |
|-----------|-------------|------------|--------------|
| 1972/1973 | 709.2 | 1977/1978 | 457.5 |
| 1973/1974 | 455 | 1978/1979 | 505.23 |
| 1974/1975 | 459.6 | 1979/1980 | 520.3 |
| 1975/1976 | 496 | 1980/1981 | 468.9 |
| 1976/1977 | 759 | 1981/1982 | 665.4 |
| 1977/1978 | 544 | 1982/1983 | 858.3 |
| 1978/1979 | 679 | 1983/1984 | 843.4 |
| 1979/1980 | 609.2 | 1984/1985 | 659.33 |
| 1980/1981 | 633 | 1985/1986 | 604.7 |
| 1981/1982 | 760.4 | 1986/1987 | 677.6 |
| 1982.1983 | 675.1 | 1987/1988 | 372.4 |
| 1983/1984 | 945.1 | 1988/1989 | 487.8 |
| 1984/1985 | 1311.4 | 1989/1990 | 489.5 |
| 1985/1986 | 534.2 | 1990/ 1991 | 672.4 |
| 1986/1987 | 921.7 | 1991/1992 | 655.1 |
| 1987/1988 | 409.5 | 1992/1993 | 665.4 |
| 1988/1989 | 553.8 | 1993/1994 | 488.6 |
| 1989/1990 | 534.2 | 1994/1995 | 531.8 |
| 1990/1991 | 616.3 | 1995/1996 | 727.5 |
| 1991/1992 | 668.1 | 1996/1997 | 382.7 |
| 1992/1993 | 674.8 | 1997/1998 | 775.1 |
| 1993/1994 | 497.7 | 1998/1999 | 700.4 |
| 1994/1995 | 559.6 | 1999/ 2000 | 470.5 |
| 1995/1996 | 805.7 | 2000/2001 | 518.9 |
| 1996/1997 | 422.7 | 2001/ 2002 | 408.5 |
| 1997/1998 | 926.8 | 2002/2003 | 937.2 |
| 1998/1999 | 847.4 | 2003 2004 | 648.1 |
| 1999/2000 | 558.5 | 2004/2005 | 940.3 |
| 2000/2001 | 543.9 | moyenne | 611.88 |
| 2001.2002 | 471 | | |
| 2002/2003 | 854.3 | | |
| 2003/2004 | 704.4 | | |
| 2004/2005 | 987.7 | | |
| Moyenne | 670.73 | | |

II.3.3. L'humidité :

L'humidité relative de l'air correspond au rapport de la tension de vapeur réelle observée à la tension de vapeur saturante à la même température. Les moyennes mensuelles de l'humidité relative varient de 70.64% en été (juillet) à 79.26% en hiver (janvier) avec une moyenne annuelle étant de 74.69% (Tab.5). (Hamzoui, 2007).

Tab. 5 : Moyenne mensuelle de l'humidité relative à la station des Salines en %

(1984-2005)

| Mois | Jan. | fév. | Mar. | Avril. | Mai. | Juin. | juil. | Aout | Sep. | oct. | nov. | déc. |
|---------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Moyenne | 72.38 | 74.99 | 75.84 | 77.57 | 79.26 | 76.54 | 74.89 | 74.16 | 75.23 | 73.38 | 70.64 | 71.43 |

II.3.4. Les vents :

Les vents ont un effet important sur les phénomènes d'évaporation de précipitation et à un degré moindre sur les températures (tab.6).

Tab. 6: Moyenne mensuelle de la vitesse des vents en m/s à la station des Salines (1984-2005).

| Mois | Jan. | fév. | Mar. | Avril | Mai. | Juin. | juil. | Aout | Sep. | oct. | nov. | déc. |
|-------------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| Moyenn e | 3.79 | 3.9 | 3.8 | 3.89 | 3.65 | 3.75 | 4 | 3.78 | 3.64 | 3.28 | 3.63 | 3.94 |

III.1.Choix de site:

Pour contribuer à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau de marais Bussedra, nous avons choisis un seul point de prélèvement (Fig.05). Les prélèvements sont étalés sur une période de deux moi (avril, mai).

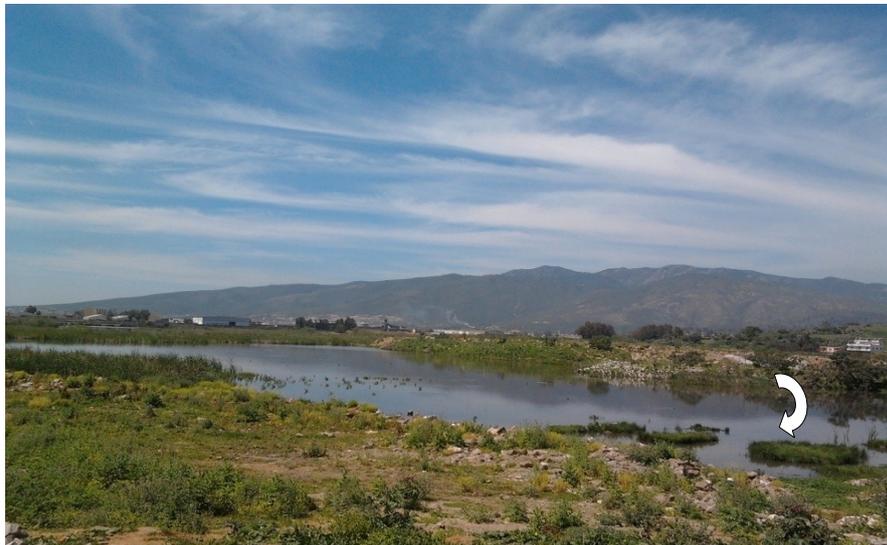


Fig.05 : Présentation du point de prélèvement.

On a choisis ce site de prélèvement car il est sécurisé par apport aux autres sites qui attirent des gens agressives, aussi il est accessible et proche des agglomérations urbaines, donc il est exposé aux pollutions liées à l'activité humaine, et est situé sur la principale axe routier. D'où la nécessité d'un suivi rigoureux de leur qualité bactériologique et physico-chimique, et leur degré de pollution.

III.2.Caractéristiques de point de prélèvement:

Les coordonnées géographiques de notre point de prélèvement sont les suivantes:

- ✓ Longitude : 36°51.20' N.
- ✓ Latitude : 07°43.78' E.

III.3. Analyse physico-chimique des eaux:

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

III.3.1. Couleur apparente (examen visuel) :

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

III.3.2. Mesure de la Température, l'Oxygène dissous, la Conductivité, le PH, de l'eau :

La mesure de ces paramètres est réalisée à l'aide d'un multi- paramètre de type *WTW MULLTI 1970 i* (Le ProfiLine Multi 1970i est robuste, immersible, fiable, idéal pour les mesures en profondeur), munie de trois sondes, sonde de mesure de pH, de conductivité, d'O₂ et température.

L'immersion des sondes de l'appareil dans l'eau était d'une durée suffisante pour que les valeurs affichées soient stabilisées. Ainsi on procédera la lecture en laissant les sondes dans l'eau.

Les sondes du multi-paramètre sont rincées à plusieurs reprises avec de l'eau déminéraliser puis deux fois au moins avec l'eau à examiner avant d'effectuer les mesures.

III.4. Analyse microbiologique des eaux :

Les prélèvements sont étalés sur une période de deux mois (mars, avril) ; le rythme d'échantillonnage était d'un prélèvement par mois.

L'analyse bactériologique permet de mètre en évidence la pollution fécale de l'eau, elle représente également un bon moyen pour contrôler l'efficacité des mesures de protection ou de traitement.

La totalité de nos analyses sont effectué au niveau de laboratoire de Microbiologie, département de Biologie à l'université de 08 Mai 1945 "Guelma".

III.4.1. Prélèvement de l'eau :

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un large col et d'un bouchon à vise métallique. Les techniques de prélèvement sont variables en fonction du but recherché et de la nature de l'eau à analyser. Pour une eau de surface (eau superficielle), les flacons stériles sont prolongés à une distance qui varie de 25 à 30 cm de la surface assez loin des bords, ainsi que des obstacles naturels. Les flacons sont ouverts sous l'eau et sont remplis jusqu'au bord, ensuite le bouchon est également place sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle d'air et qu'il ne soit pas éjecte au cours du transport. (Rodier, 1996).

III.4.2. Transport et conservation des échantillons :

Les flacons doivent être soigneusement étiquetés et transmis sans retard au laboratoire, il importe de procéder à l'analyse dans un délai très court, inférieur à 8 heures. En aucun cas

l'analyse ne doit être effectuée lorsque le délai dépasse 24 heures. Si le transport doit dépasser une heure, il faut utiliser une boîte isotherme munie d'éléments réfrigérants (fig.06). (Guiraud, 1998).



Fig. 06: Le flacon de prélèvement

III.4.3. Méthodes d'analyse bactériologique des eaux :

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

- les germes totaux (la flore totale).
- les coliformes (coliformes totaux).
- les coliformes fécaux thermo-tolérants (*E. coli*)
- les streptocoques fécaux.
- les clostridium sulfito-réducteurs.
- Autres germes pathogènes tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*....

Notre travail repose largement sur la numération des cellules bactériennes selon la méthode d'estimation directe des cellules bactériennes en milieu liquides (méthodes NPP : nombre le plus probable).

III.4.3.1. Détermination des germes revivifiables à 37°C :

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

✓ **Mode opératoire :**

- Dans deux boîtes de Pétri, on ensemence, à un milieu de culture défini (TGEA), un échantillon non dilué (solution mère) et de diverses dilutions de cet échantillon (dilutions décimales, 10^{-1} , 10^{-2} ... 10^{-5}) comme l'indique la figure 07.

- Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

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

- Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (TGEA). Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

- Puis incubée, aussitôt après solidification, dans une étuve à $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durant 24 à 48 heures. (Kéléké et al, 2004).

✓ **Lecture et interprétation :**

Les boîtes contenant des colonies qui apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes et aussi celles qui contenant un nombre des colonies entre 30 et 300, au niveau de deux dilutions successives, sont retenir pour le comptage.

Calculer ensuite la valeur du nombre **N** de microorganismes revivifiables à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ à part et celle du nombre **N** de microorganismes revivifiables à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

Σc : est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

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

Le résultat final de microorganismes est noté par un nombre compris entre 1.0 et 9.9 multiplié par 10^x où X est la puissance appropriée de 10.

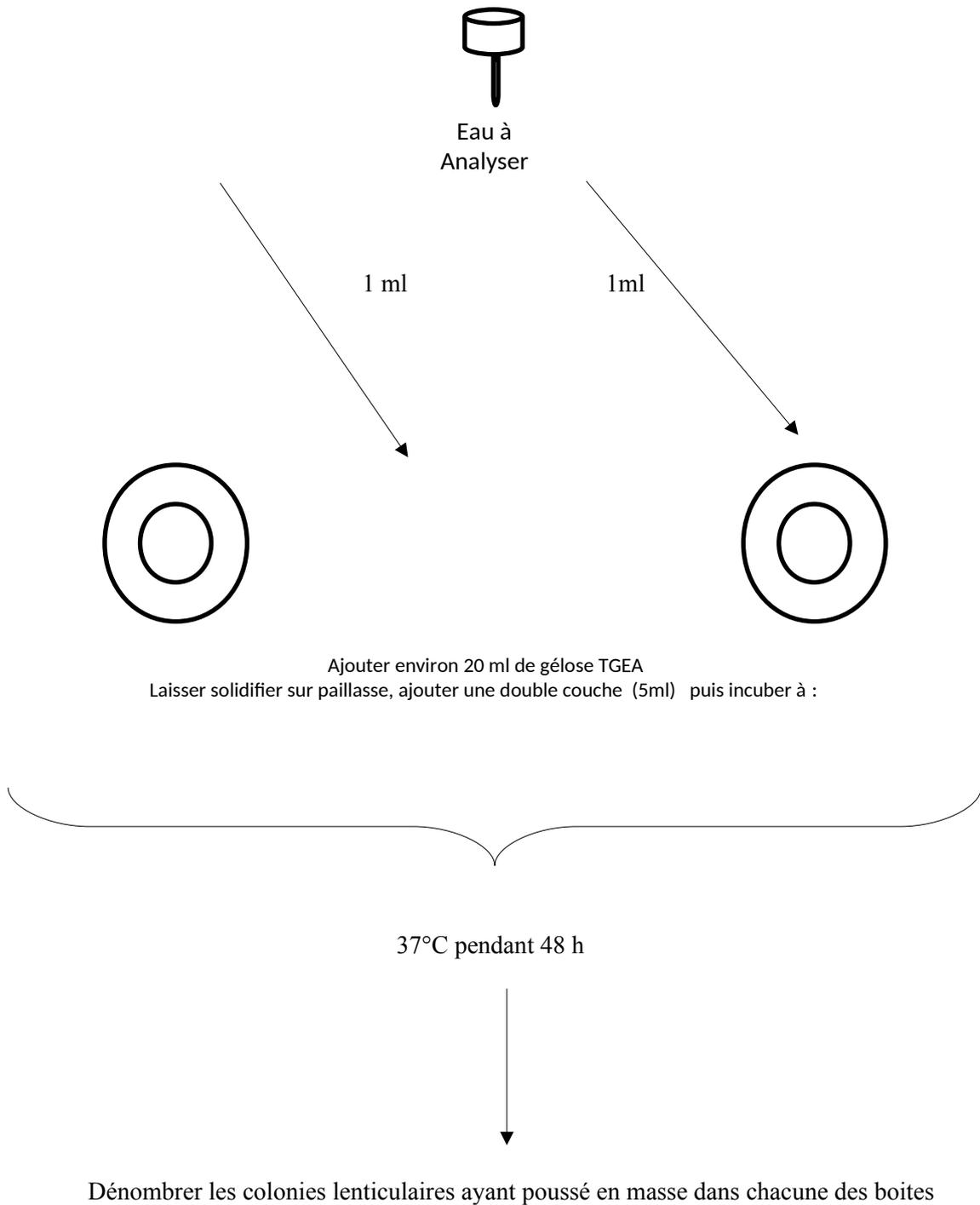


Fig. 07 : Recherche et dénombrement des germes totaux

III.4.3.2. Recherche et dénombrement des bactéries coliformes, coliformes thermo tolérants avec identification d'*Escherichia coli* :

Sous le terme des coliformes sont regroupées certaines espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobactériaceae. (Rejsek, 2002, Coulibaly, 2005).

La recherche et le dénombrement des coliformes et l'identification d'E coli ont été effectuées par la méthode de nombre le plus probable. (Rejsek, 2002)

Définition

Ce sont des bacilles à Gram négatifs, aérobie ou anaérobie facultatif, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence des sels biliaries et capable de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz en 24h à 48h à une température compris entre 36 et 37°C.

Les coliformes thermo-tolérants ou coliformes fécaux ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à une température de $42 \pm 2^\circ\text{C}$ (Labres et al, 2008). Les groupes de coliforme fécaux regroupent les espèces suivantes : *Citrobacter feundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* (sous genre III arizona), *Yersinia enterocolitica*. (Rodier, 2005).

L'*Escherichia coli* sont des coliformes fécaux ont la particularité de produire de l'indole à partir de tryptophane présent dans le milieu à une température comprise entre $42 \pm 2^\circ\text{C}$. (Labres et al. 2008).

➤ Mode opératoire :

a. Test de présomption : (Réservé à la recherche des coliformes)

Après homogénéisation de l'échantillon pour obtenir une répartition homogène des micro-organismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques comme l'indique la figure 08.

- Nous prenons les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple concentration) munis d'une cloche de Durham.
- Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la porte dans le premier tube de la série contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-5} .
- Refera la technique pour deux autres séries pour obtenir trois séries. (Délarras, 2008).

- Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et mélanger bien le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

➤ **Lecture :**

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

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (la fermentation du lactose se manifeste par la production d'acide entraînant le virage du bromocrésol pourpre au jaune).
- Le nombre de tubes positifs dans chaque série seront Noter et se reporter à la table de Mac Grady pour obtenir le nombre de coliformes totaux présents dans 100 ml d'eau à analyser.

b. test confirmatif : (Réservé à la recherche des coliformes thermo tolérants et *E. coli*).

A partir de chaque tube de BCPL positif, ensemercer deux ou trois gouttes dans un tube contenant le milieu Eau Peptonée Exempte d'Indole. L'incubation se fait à 44°C ± 0,5°C pendant 24 - 48 h.

➤ **Lecture :**

L'addition de 1ml de réactif Kovacks donne naissance à un anneau rouge et la lecture se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

III.4.3.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

Les dénombrements des streptocoques fécaux sont rarement effectués indépendamment des dénombrements des coliformes et coliformes fécaux présumés, les méthodes sont identiques seuls les milieux sont différentes. (Rodier, 1996).

Définition:

Les streptocoques fécaux ou de groupe « D » sont des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chainettes (Bourgeois et Leveau, 1980), ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe « D ». Ils sont capables de se développer en 24 à 48h à 37°C sur un milieu sélectif à l'azote de sodium (Labres *et al.*, 2008).

Les Streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide à l'aide de deux bouillons de culture (milieu de Rothe et le milieu Eva Litsky) par la technique du NPP en passant par deux tests consécutifs:

- Le test de présomption : réservé à la recherche des streptocoques.
- Le test de confirmation : réservé à la confirmation réelle des streptocoques du groupe (D).

➤ **Mode opératoire :**

a. Test de présomption :

A partir de l'eau à analyser bien homogénéisé, porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution 10^{-1} (fig.9).

- Prélèvement 1ml de tube précédent 10^{-1} et mettre dans le second tube Rothe pour avoir la dilution 10^{-2} .
- Refaire la technique 5 fois pour avoir 5 tubes de Rothe, et refaire 2 autres séries.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Bricha *et al.* 2007).

➤ **Lecture :**

Les tubes présentant une tourbe microbienne pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test de confirmation. (Rejsek, 2002 ; Délarras, 2008).

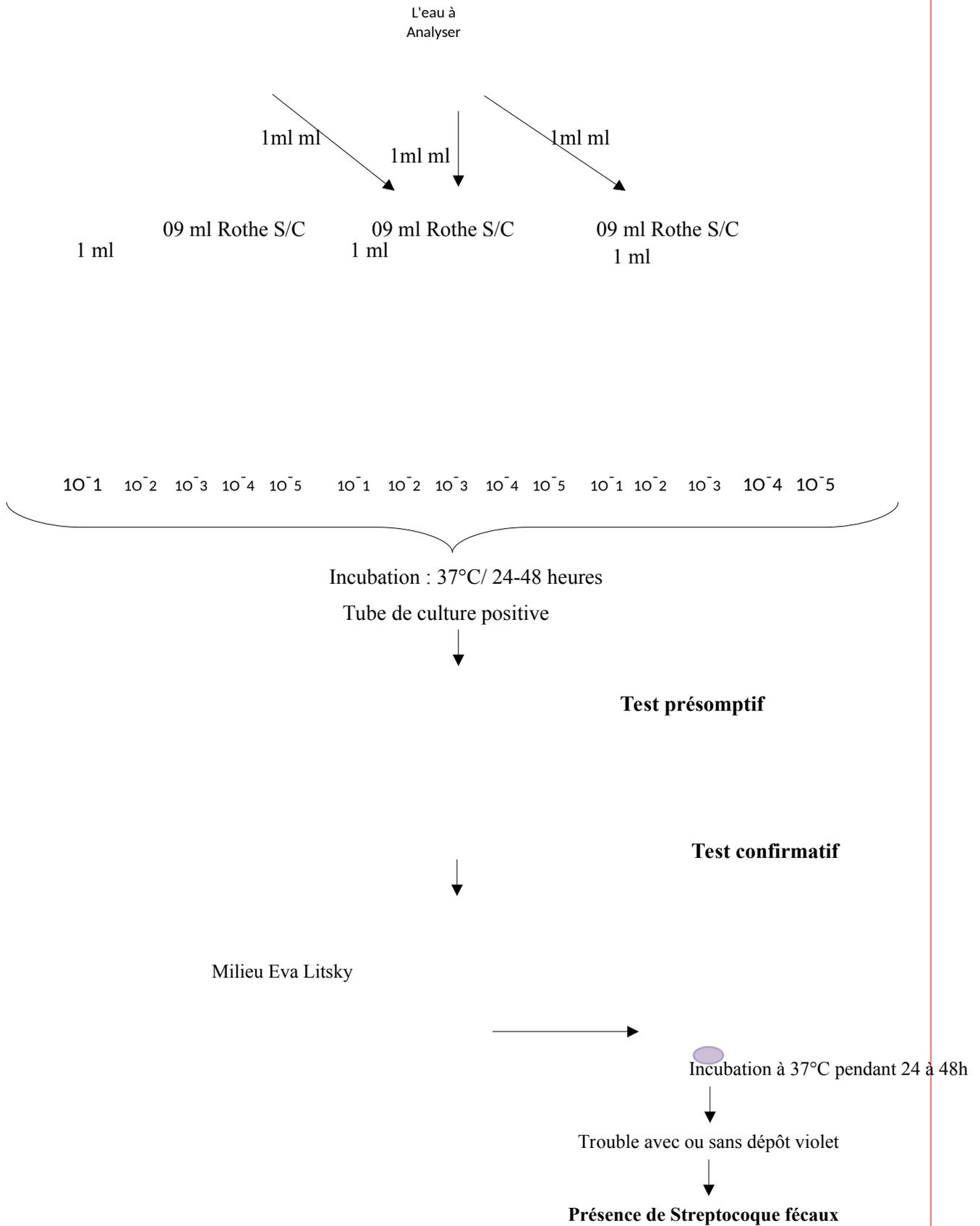


Fig. 09 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

b. Test confirmatif :

Après agitation des tubes positifs, prélever sur chacun d'eux successivement quelques gouttes de pipette pasteur et les reporter dans des tubes contenant le milieu Eva litsky. Incubation pendant 24 à 48h dans une température de 37°C. (Roux, 2003).

➤ Lecture :

L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence d'un streptocoque fécal. Parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble.

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

III.4.3.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs :

Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram +, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose VF en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne. (Labres, 2006).

➤ Mode opératoire :

Après l'avoir homogénéiser soigneusement, introduire 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile et placer celui-ci dans un bain d'eau à 80°C pendant 10 minutes dont le but de détruire toutes les formes végétatives des CSR éventuellement présentes (fig.10).

Puis refroidir rapidement sous l'eau de robinet et répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes stériles, à raison de 5 ml par tube.

Ajouter environ 20 ml de gélose Viande Foie, fondue, puis additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium, a fin de refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

Mélanger doucement sans incorporer de bulles d'air.

Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes environ, puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 h.

➤ Lecture :

Considérer comme résultat d'une spore de bactérie (ASR) toute colonie noire entourée d'un halo noir. Exprimer le résultat en nombre de spore par 20 ml d'eau à analyser. (Labres, 2006).

III.4.3.5. Recherche bactérien et isolement des germes pathogènes :

✓ Méthode d'ensemencement sur gélose :

Les milieux utilisés afin d'isoler les microorganismes sont : La gélose nutritive qui est un milieu ordinaire permettant à la culture de la majorité des bactéries, Mac Conkey, Hektoen, Salmonelles-Schigelles (SS) qui sont utilisés pour l'isolement des bactéries Gram (-) (les Entérobactéries) et le Chapman qui est un milieu sélectif pour les bactéries Gram (+) halophiles autrement dit les staphylocoques ou les microcoques et empêcher la croissance des germes Gram négatif. (Rodier et al, 2009).

➤ Principe :

On stérilement prélevé avec une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis nous avons déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24-48 heures.

La non utilisation des glucides présents dans le milieu nous informe que le milieu contient des entérobactéries pathogènes.

✓ Isolement et purification des souches :

Sur les géloses Mac Conkey, Hektoen, Chapman, gélose Nutritive, qui sont mises en culture, nous avons choisi les colonies suspects ou désirées et les repiqué dans des nouvelles boîtes gélosés afin de vérifier la pureté des souches. Ces milieux gélosés sont ensemencés sur la surface par stries et incubés à 37°C pendant 24 heures. (Rejsek, 2002).

◆ Isolement des germes pathogènes :

a) Recherche des *Salmonella*:

Les *Salmonella* sont des entérobactéries qui se présentent sous forme de bacilles Gram négatif (-), ne fermentant pas le lactose mais du glucose avec production de gaz et de H₂S. (Pechère et al, 1982).

➤ Mode opératoire :

L'isolement des *Salmonella* se réalisent en passant par deux étapes d'enrichissement (fig.11).

• Premier Enrichissement :

Il s'effectue sur le milieu de Sélénite - Cystéine D/C réparti à raison de 100 ml par flacon. Ce dernier sera donc ensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

• Deuxième enrichissement et Isolement :

Ce flacon fera l'objet d'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite en

tubes à raison de 0,1 ml et d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoén. L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h.

➤ **Lecture des boîtes et Identification :**

Le tube de Sélénite fera l'objet d'un isolement, alors que, la boîte de gélose Hektoén subira une lecture en tenant compte que les *Salmonella* se présentent sous forme de colonies de couleur gris bleu à centre noir. (Rejsek, 2002 ; Délarras, 2008).

Ces colonies de *Salmonella* obtenu seront subir une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- Ensemencement d'un tube de Kligler-Hajne ou TSI qui sera incubé à 37°C, 24h (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S).
- Identification biochimique par l'API20E.

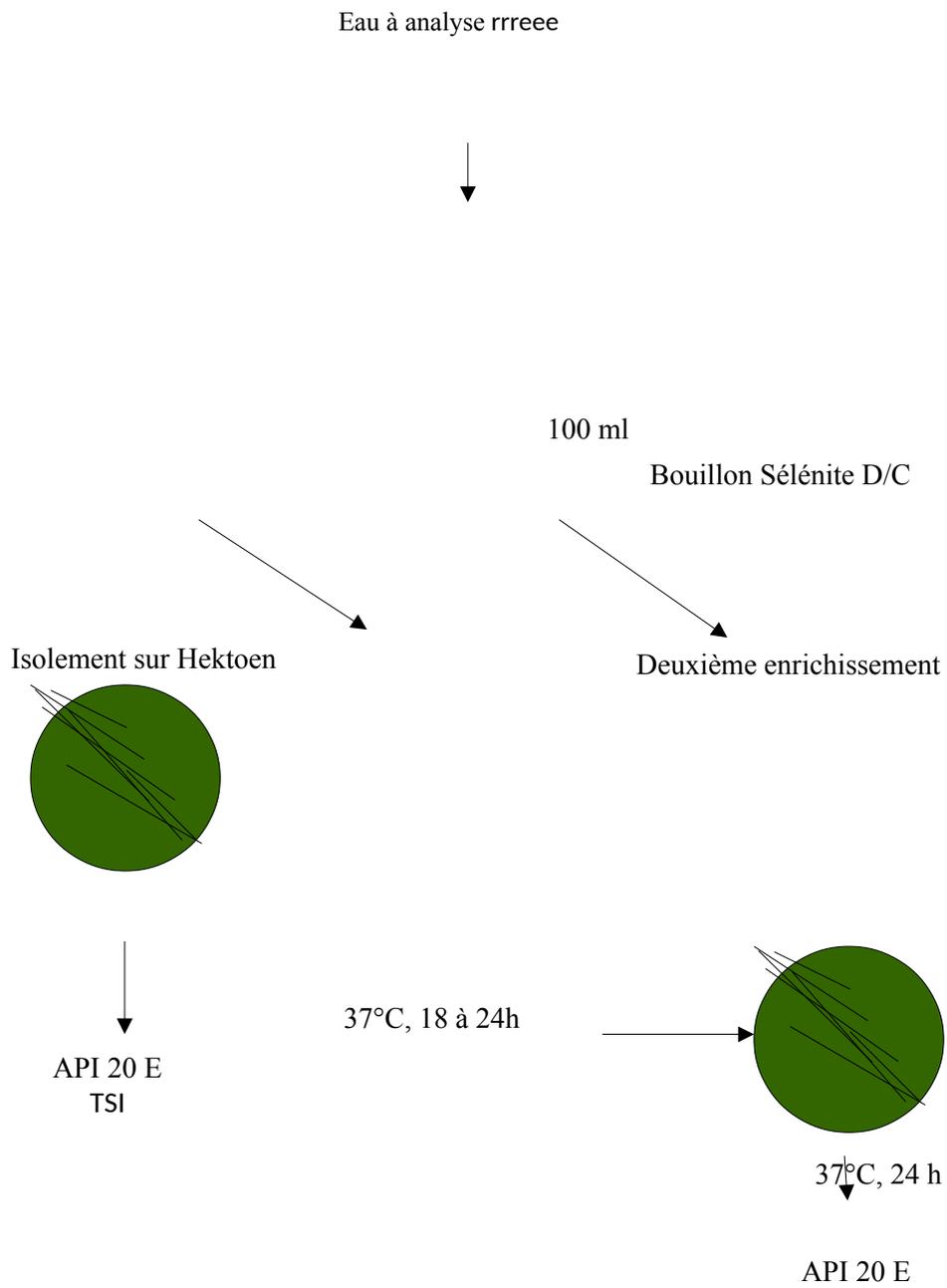


Fig.11 : Recherche des Salmonella

b) Recherche des *Vibrio* :**➤ Mode opératoire :****• Enrichissement**

Ajouté 1ml de l'eau à analyser dans un tube de 10 ml d'E.P.A. Incuber à 37°C pendant 3h. Prélever en surface et ensemercer un nouveau milieu d'enrichissement. Incuber à 37°C pendant 3h (fig.12).

• Isolement

Prélever de la surface du dernier milieu d'enrichissement et ensemercer une boîte de GNAB. Incuber a 37° C pendant 24 h. (Marchal, 1982).

Les colonies de *Vibrio* sont fines, blanches sur gélose GNAB .L'identification est faite comme suit :

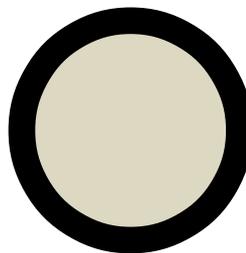
- Etat frais.
- Coloration de Gram.
- Test oxydase.
- Une galerie biochimique API 20 NE.

Eau à
Analyser

1 ml

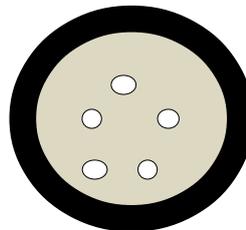
Eau peptone alcaline

37 ° C pendant 6 h



GNAB

37° C pendant 24 h



- Etat frais, coloration de Gram, test oxydase et galerie biochimique API 20 NE,

Fig.12 : Recherche des *Vibrio*.

c) Des

➤ **Mode opératoire :**• **Isolement**

Le milieu Chapman permet l'isolement sélectif de *Staphylococcus* sur la base d'une tolérance à une forte teneur en Na Cl, et la différenciation de l'espèce *Staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment (Marchal, 1982). Ensemencer une boîte de milieu Chapman. Incuber a 37° C pendant 24 h.

• **Identification**▪ **Test catalase**

Une goutte d'eau oxygéné plus une colonie prélevée du milieu Chapman déposer sur une lame et le dégagement immédiat de bulles gazeuses ce traduit par la présence d'une catalase. (Marchal, 1982).

▪ **Test staphylocoagulase**

A partir des colonies suspectes (*Staphylococcus aureus*) sur milieu Chapman ensemencer un bouillon cœur-cerveau et incuber à 37°C pendant 18h. Puis mélanger dans un tube stérile 0,5ml du plasma de lapins oxalatés est incubés à 37° C pendant 24 h. (Fig.13). (Diagnostiques Pasteur, 1987).

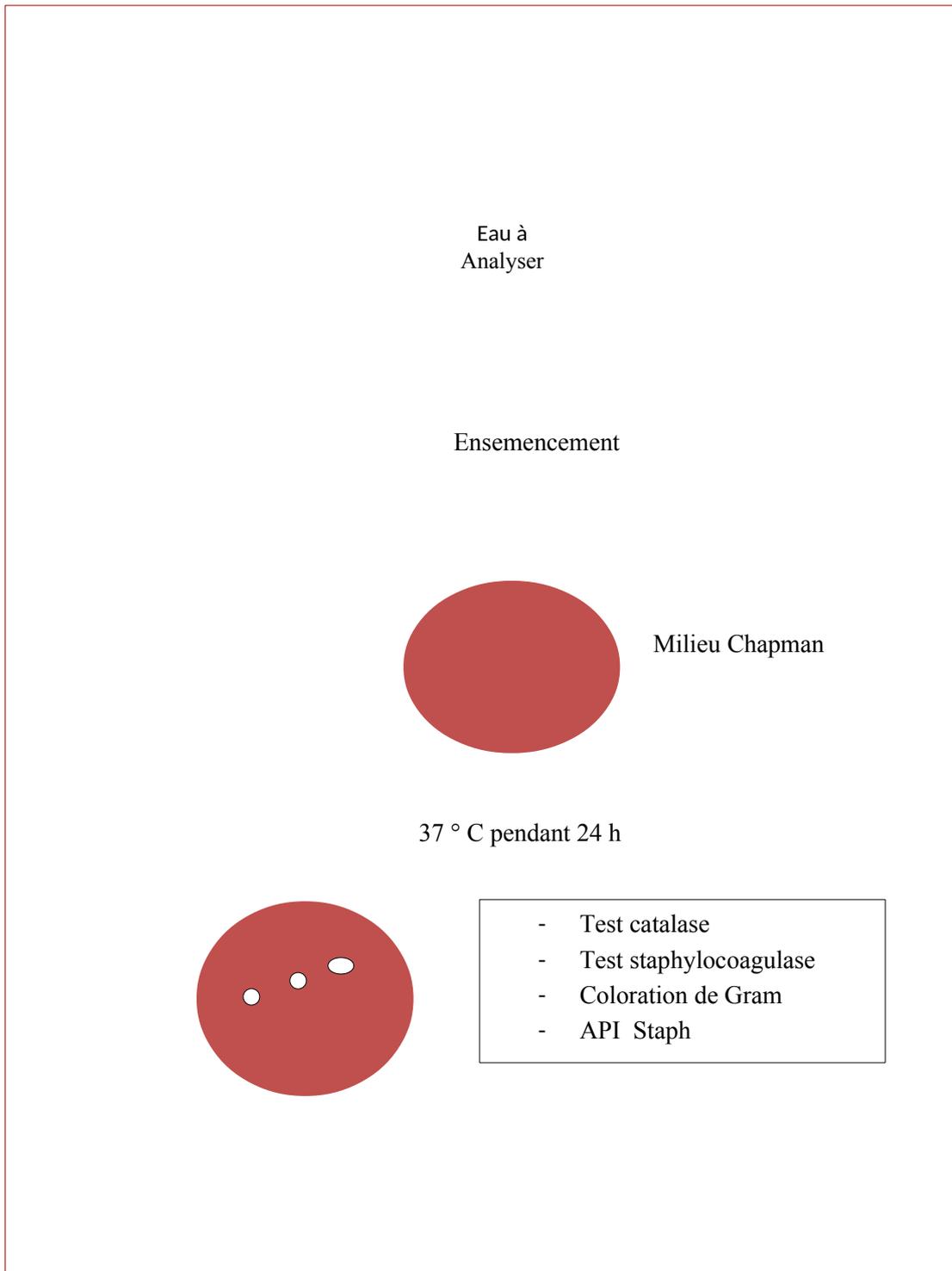


Fig. 13 : Recherche et identification des Staphylocoques pathogènes (*S. aureus*).

d) Recherche des *Pseudomonase* :**➤ Mode opératoire**

A l'aide d'une anse de platine en semence la surface d'un milieu de culture King A ensuite un milieu de culture King B est on incube les milieux a 37° C pendant 24 h.

➤ Lecture

- Deux examens microscopiques sont effectués : l'examen direct entre lame et lamelle (il permet d'observer la mobilité des germes) et la coloration de Gram.
- Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.
- Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent (*P. fluorescence*) est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B. (Pilet et al, 1987).

▪ Teste oxydase**➤ Mode opératoire**

Sur une lame propre et stérile dépose un disque d'oxydase ensuite prépare une suspension bactérienne a partir de la colonie voulue et déposer une goutte de la suspension sur le disque.

➤ Lecture

Considère comme oxydase + toutes colonies qui changent la couleur du disque en violet.

III.4.4. Tests d'identifications complémentaires :**III.4.4.1. Examen macroscopique des caractères cultureux :**

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

- La taille
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface: lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation. (Joffin et al, 2001).

III.4.4.2. Examen microscopique après coloration de Gram :**➤ Les étapes de coloration de Gram :**

- A partir de la culture à étudier préparer un frottis.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes.

➤ **Lecture :**

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram négatif sont roses.
- Les bactéries Gram positif ont de coloration violette. (Bourdon et Marchal, 1981).

III.4.4.3. Examen liés aux caractères biochimiques :

➤ **API 20 E**

Destiné pour la famille des Enterobactériacées la galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification. [14].

➤ **API Staph**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification. [14].

➤ **API 20 NE**

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification. [14].

IV.1. Résultats des analyses physico-chimiques :

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

Les résultats que nous avons obtenus, nous a permis d'obtenir les différents diagrammes qui récapitulent notre étude.

IV.1.1. La couleur apparente :

La couleur peut être d'origine minérale ou organique. Les éléments minéraux susceptibles de colorer l'eau sont le fer (teinte rougeâtre) et le manganèse (teinte noirâtre). Les substances organiques qui donnent une coloration à l'eau sont nombreuses. On peut penser aux algues, à la décomposition de végétaux, aux tannins et aux lignines. [15].

On a constaté que l'eau du marais Bousedra été colorée durant les deux mois de notre étude. Cette couleur a été intensifiée pendant le mois de mars ou cette eau a pris une couleur jaune brun, mais pendant le mois d'avril on a constaté que la couleur est un peu claire

IV.1.2. La température (T°C):

Elle joue un rôle important dans l'augmentation de l'activité chimique des bactéries et dans l'évaporation des eaux. Elle varie en fonction de la température extérieure (l'air), de la nature géologique et de la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sol (fig.14).

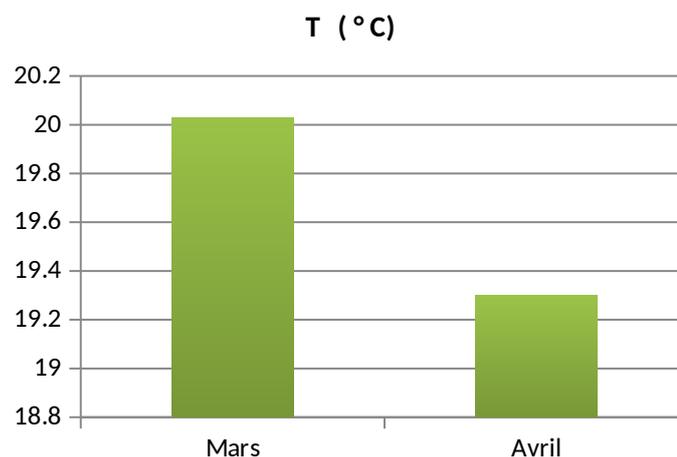


Fig. 14: Evolution de la température dans le site de prélèvement.

Le graphe de la T°C nous montre que ces dernières sont proches de la température ambiante. Elle varie entre une valeur minimale de 19.3° C lors du mois d'avril, et une valeur maximale de 20.03° C en mars. Ces températures sont dues principalement aux conditions

climatiques qui caractérisent la région d'Annaba et sont considérées comme des valeurs normales pour la saison.

IV.1.3. La conductivité électrique (CE):

Elle est proportionnelle à la quantité des sels minéraux dissous dans l'eau donc, la mesure de la CE permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau (Rodier, 1996) comme l'indique le tableau 07.

Une CE élevée est synonyme de pollution de l'eau. Elle permet d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une CE élevée traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée. (Rodier, 2005).

La conductivité est également fonction de la température de l'eau: elle est plus importante lorsque la température augmente. Elle s'exprime en micro siemens par centimètre (Detay, 1993).

La qualité de l'eau en fonction de la conductivité est définie de la manière suivante :

- Conductivité de 50 à 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ Qualité excellente
- Conductivité de 400 à 750 $\mu\text{S}/\text{cm}$ Bonne qualité
- Conductivité de 750 à 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ Qualité médiocre mais eau utilisable.
- Conductivité > de 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ Minéralisation excessive.(Detay, 1993).

Tab. 07 : Relation entre la conductivité et la minéralisation. (Detay, 1993).

| Conductivité en $\mu\text{S}/\text{cm}$, à 20°C | Minéralisation |
|--|---|
| Inférieure à 100 | Eau de minéralisation très faible (terrain granitiques) |
| Comprise entre 100 et 200 | Eau de minéralisation faible |
| Comprise entre 200 et 400 | Eau de minéralisation peu accentuée |
| Comprise entre 400 et 600 | Eau de minéralisation moyenne (terrains calcaires) |
| Comprise entre 600 et 1000 | Eau de minéralisation importante |

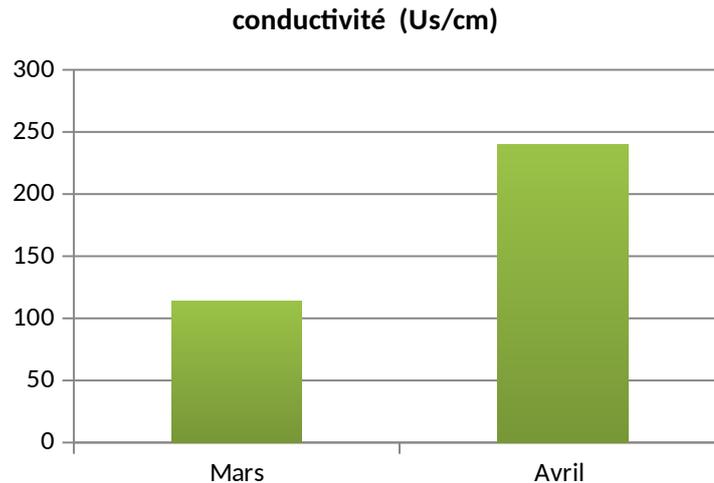


Fig. 15: Evolution de la CE dans le site de prélèvement.

Selon le graphique en haut, on note que la valeur enregistrée en mars est plus élevée que celle enregistrée pendant le mois d'avril.

Ces valeurs vérifient une qualité excellente de l'eau, et une minéralisation peu accentuée dont l'origine principale sont les rejets des eaux usées de la commune qui l'avoisine.

IV.1.4. Le potentiel d'hydrogène (pH):

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

Le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés. Il donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité d'une eau. Du point de vue sanitaire, un pH élevé peut provoquer un problème de corrosion alors qu'un pH faible peut modifier le goût de l'eau. (Aouissi, 2009).

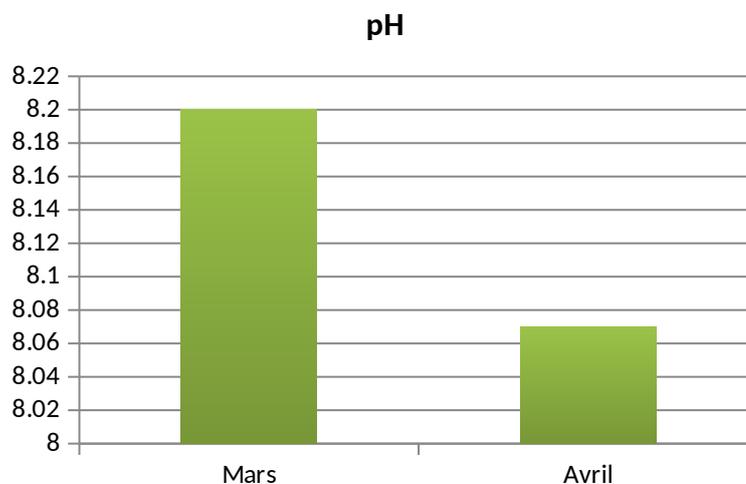


Fig. 16 : Evolution du pH dans le site de prélèvement.

Pour ce paramètre on n'a pas remarqué une grande variation entre les deux mois de prélèvement. Ce pH est assez basique est favorable à la vie aquatique riche et diversifiée (fig.16).

IV.1.5. O₂ dissous:

Le dioxygène est un des facteurs fondamentaux de la vie. La présence d'O₂ dans les eaux joue un rôle primordial dans le maintien de la vie aquatique; donc dans les phénomènes de l'autoépuration (dégradation de la matière organique) et de la photosynthèse.

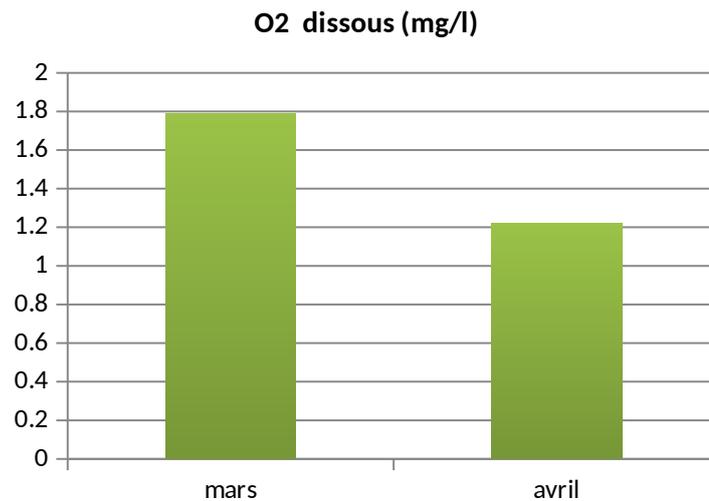


Fig. 17 : Evolution de l'O₂ dissous dans le site de prélèvement.

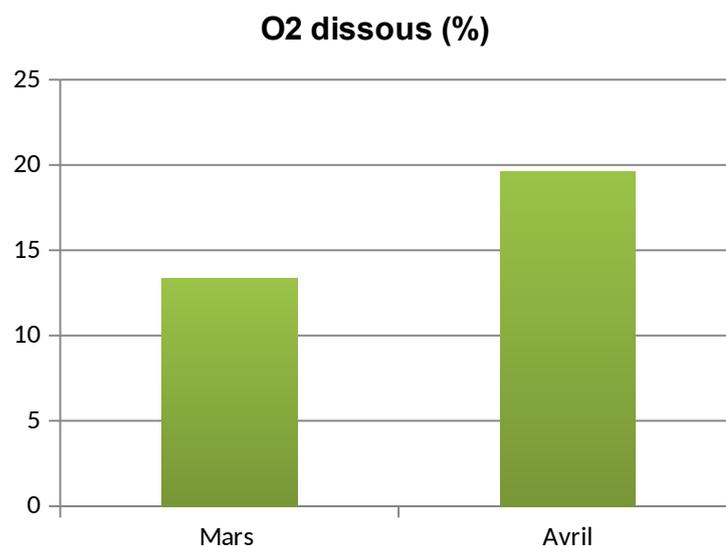


Fig. 18 : Evolution du %de saturation en O₂ dissous dans le site de prélèvement.

En examinant le graphe illustré, nous observons qu'il y'a des variations significatives dans le même site durant la période des études dont le maximum est enregistré pendant le mois d'Avril (19.6%) et le minimum pendant le mois de mars (13.36%).

L'O₂ a la capacité de se dissoudre beaucoup plus facilement dans les eaux froides. Plus la température de l'eau est élevée, plus la concentration d'oxygène dissous dans cette eau aura tendance à diminuer. Les rejets domestiques contribuent à la diminution de la teneur en O₂, ce dernier étant consommé par les microorganismes pour dégrader la matière organique.

Le pourcentage de saturation en O₂ (qui est fonction de la température de l'eau) permet de déterminer la qualité de l'eau. Il est à noter que la situation devient critique entre 50 et 30% de saturation, et elle devient dangereuse entre 30 et 10% et quelle est létale pour la faune aquatique si le pourcentage est inférieur à 10%.(tab 08).

Tab. 08: La qualité des eaux d'après la grille de l'Agence du Bassin Adour Garonne. [16].

| Oxygène dissous (mg/l) Oxygène de saturation (%) | Qualité des eaux |
|---|------------------|
| > 7 mg/l (>90%) | Normale |
| entre 5 et 7mg/l (70% à 90%) | Bonne |
| entre 3 et 5 mg/l (50% à 70%) | Moyenne |
| < 3mg/l (< 50%) | Médiocre |

IV.2. Résultats des analyses bactériologiques:

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

Cette analyse est importante car la qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet de fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents.

IV.2.1. Evaluation de la flore mésophile totale :

A cause de la richesse et la diversité de la microflore aquatique la détermination de la flore mésophile totale, nous a permis de constater un nombre de microorganismes dépassant généralement les 300 UFC/ml et cela à 37° C pendant les mois de mars et avril.

IV.2.2. Evaluation du nombre des coliformes totaux :

Le nombre des microorganismes coliformes totaux est un paramètre très important pour estimer le degré de pollution d'un écosystème aquatique et surtout pour déterminer l'origine de la contamination.

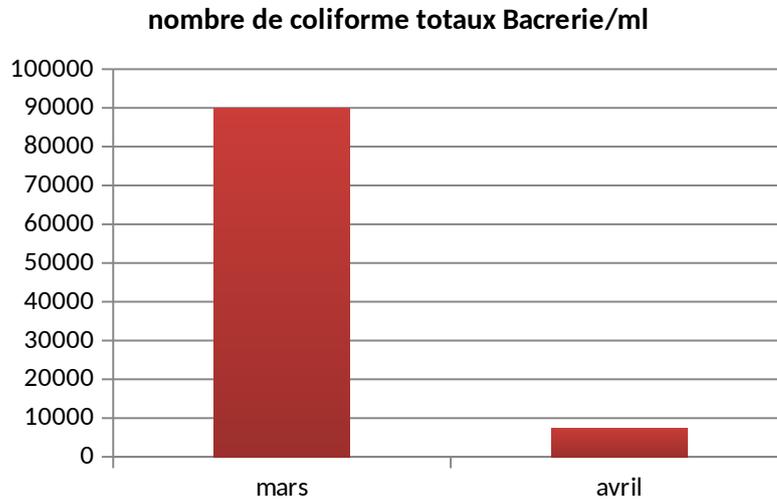


Fig. 19: Evolution du nombre de coliformes totaux.

L'examen du graphique illustré dans la figure (19) nous montre que les concentrations des coliformes totaux extrêmement variées dans le même point de prélèvement. Un taux pendant le mois de mars supérieur à la valeur guide des eaux destinés à l'irrigation (1000 CT/100 ml). Ceci est sans doute du à sa présence près des agglomérations et des activités humaines et son voisinage avec l'égout de la commune.

IV.2.3. Evaluation du nombre de coliformes thermo-tolérants :

Le nombre des germes coliformes fécaux est un indice complémentaire confirmatif de la présence d'*E. Coli* parmi les coliformes dénombrés précédemment (fig.20).



Fig. 20 : Résultat de la recherche des coliformes fécaux.

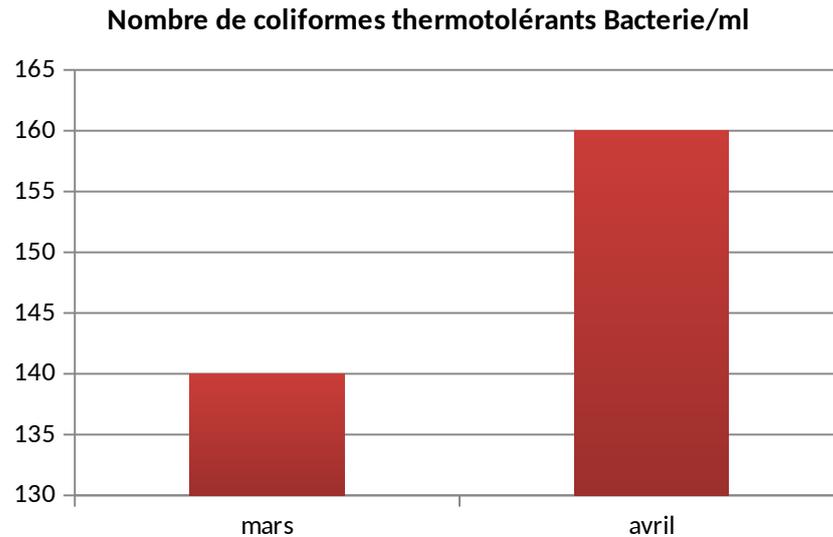


Fig. 21: Evolution du nombre de coliformes fécaux.

Le nombre des coliformes fécaux varie entre 140 bactérie/ml et 160 bactérie/ml et cette valeur maximale a été enregistrée durant le mois d'avril. Cette contamination est due à une pollution d'origine fécale (eau usée, pâturages ...etc).

On constate aussi que le nombre des coliformes fécaux est inférieure à celui des coliformes totaux car les coliformes fécaux préfèrent des températures plus élevées (fig.21).

IV.2.4. Evaluation du nombre de streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux ou les entérocoques, sont des germes très sensibles aux variations physicochimiques du milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils s'adaptent difficilement en dehors de son milieu habituel qui est l'intestin). Mais leur présence est étroitement liée à la concentration de la matière fécale dans l'eau, donc elles sont des excellents indicateurs de contaminations récentes par la matière fécale des animaux. Les résultats de dénombrement de ces derniers sont présentés dans la figure 23.



Fig. 22 : Résultat de la recherche des streptocoques fécaux.

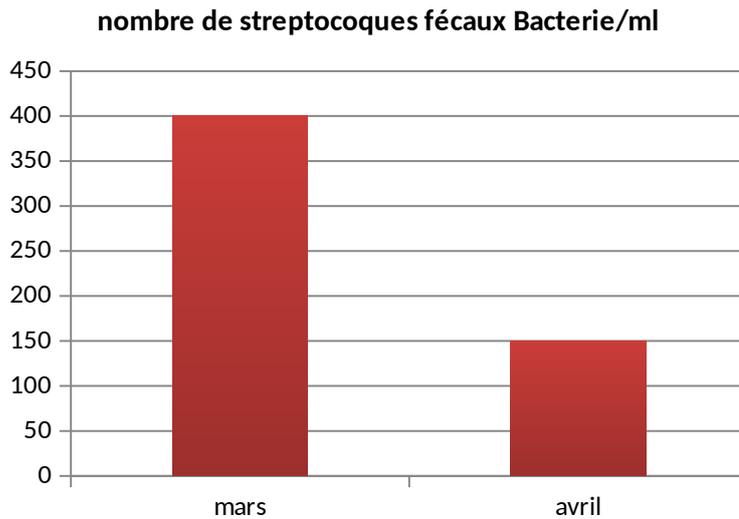


Fig. 23: Evolution du nombre de streptocoques fécaux.

IV.2.5. Les Anaérobies sulfito-réducteurs(ASR):

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme des indices de contaminations anciennes. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes exclusivement végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettrait ainsi de déceler une pollution fécale.

Nos résultats montrent l'absence totale d'un halo noire dans les tubes contenant le milieu viande fois (VF) ce qui explique l'absence de spore des anaérobies sulfito réducteurs dans le site de prélèvement pendant la période d'étude.

Ces résultats confirment l'absence de germes résistants (sporulants) comme les *Clostridium* considérés comme extrêmement pathogènes. (Tab.9)

Tableau.09 : Evaluation du nombre des spores des ASR dans le site de prélèvement.

| | Mars | Avril |
|------|------------------|------------------|
| 24 h | Culture négative | Culture négative |
| 48 h | Culture négative | Culture négative |

IV.2.6. Identification des souches bactériennes:

IV.2.6.1. Caractères morphologiques et coloration de Gram:

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement (tab.10).

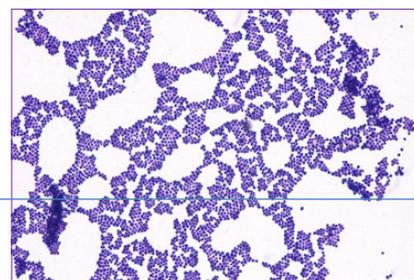
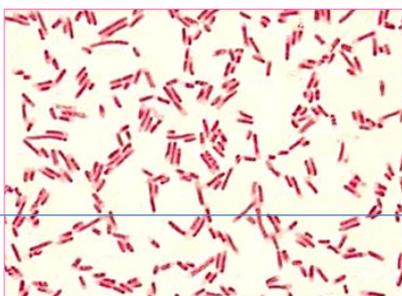
Tableau 10:Résultats de l'ensemencement des milieux de cultures utilisés

| Milieu de culture /mois de prélèvement | Milieu Chapman (G Ch) | Gélose Mac Conkey (MC)* | Gélose Hektoen (GH) | Gélose <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i> . GSS | gélose nutritive alcaline biliée GNAB | Gélose au Cétrimide |
|--|--|--|---|--|--|---------------------|
| mars | - colonies, lisses, plates, de petite taille, crémeuses, pigmentées jaune | Quelque petites colonies, lisses à contours régulier, de couleur beige | Petites colonies à contours régulier, pigmentées en: Vert ou bleu vert Ou jaune | colonies Arrondies, transparentes brillantes et bombées et quelques autres colonies Arrondies, roses à rouges, 1 mm de diamètre. | - plates - Régulière - Couleur crème - Muqueuse >1 mm de diamètre | - Pas de colonies |
| avril | - Quelques petites colonies, Lisse - Bombées - Plate - Régulière - Muqueuse Blanche | Quelque petites colonies, lisses à contours régulier, de couleur beige | Deux types de colonies à contours régulier pigmentées en vert ou bleu vert | colonies Arrondies, roses à rouges, 1 mm de diamètre. | - Plates - Régulière - Couleur crème - Muqueuse >1 mm de diamètre | - Pas de colonies |

➤ Coloration de Gram

| | | |
|---------|----------------------|-------------|
| milieux | Aspect macroscopique | Observation |
|---------|----------------------|-------------|

| | | |
|---------------|---|--|
| | | microscopique |
| (G Ch) |  | <ul style="list-style-type: none"> - Gram + - Cocci - En chênnettes |
| (MC) |  | Bacilles isoles, gram négatif |
| (GH) |  | Bacilles isolés, Gram négative. |
| GSS |  | Cocci en chênnettes gram négatif |
| GNAB |  | <ul style="list-style-type: none"> - Cocci - Gram + En chainette |



Bâtonnets Gram (-)

Cocci Gram (+)

Fig. 24: Résultats de coloration de gram.

IV.2.6.2. Identification des Enterobacteriaceae :

La réalisation d'un test biochimique est une étape très importante pour identifier une bactérie et pour cela on a utilisé l'API20E afin d'identifier les espèces bactériennes isolés au niveau des milieux de culture.

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 8 espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae avec une présence majoritaire de *Serratia odorifera*. (Tab 11).

Tableau. 11: Résultats d'identification des germes par Api20E.

| N ° de prélèvement | Espèces bactériennes |
|--------------------|--|
| Prélèvement 1 | - <i>Serratia odorifera</i> - <i>Citrobacter barakii</i> - <i>Escherichia coli</i> |
| prélèvement 2 | - <i>Mycobacterium phlei</i> - <i>Mycobacterium kansasii</i> - <i>Enterobacter Sakazakii</i> - <i>Serratia odorifera</i> - <i>Serratia marcesceus</i> - <i>Enterobacter cloacae</i> |



Serratia odorifera



Mycobacterium phlei.



Escherichia coli



Mycobacterium kansasii

Fig. 25: Profil biochimique des espèces des Enterobacteriaceae trouvées.

IV.2.6.3. Identification des staphylococcus :

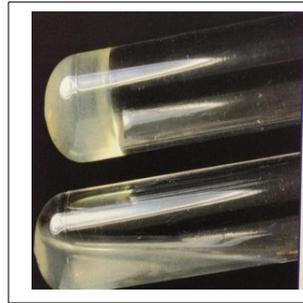
Les résultats des différents tests effectués sur les Staphylocoques sont représentés dans le Tableau12.

Tab. 12 : Résultats d'identification des Staphylocoques.

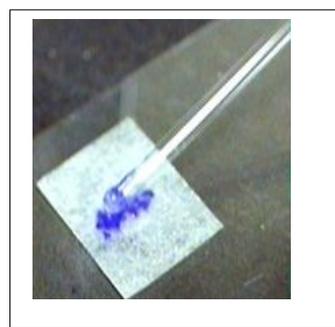
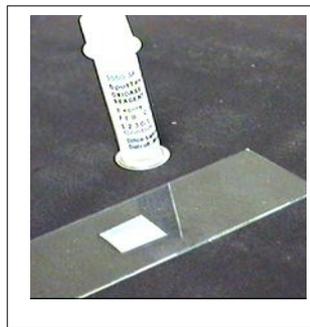
| | Chapman | |
|----------------|-----------|------------------|
| Test coagulase | + | - |
| Test catalase | + | + |
| Test d'oxydase | + | - |
| mannitol | + | - |
| bactérie | S. aureus | S. saprophiticus |



Catalase positif



Coagulase positif



Test d'oxydase positif

Fig. 26: Tests d'identification des Staphylocoques.

Cette étude a été menée dans le but de déterminer la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau de marais Bousedra, situé dans la commune d'El-Bouni, wilaya d'Annaba (Nord-est de l'Algérie).

La région d'étude correspond à une dépression s'étend sur une superficie de 20 hectares avec une profondeur moyenne de 1.5 m. Elle est dominée par un climat méditerranéen, semi aride, caractérisée par deux saisons distinctes, l'une sèche et chaude de mai à septembre et l'autre pluvieuse et froide d'octobre à avril. Les températures moyennes oscillent entre 25.76°C durant le mois d'août et 11.18°C durant le mois de janvier. Elle reçoit une précipitation annuelle moyenne équivalant à 987.7 mm/an.

Du point de vue bactériologique, l'analyse réalisée pendant les mois de mars et d'avril 2013 a porté principalement sur la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les germes totaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs avec la recherche de bactéries pathogènes. Par ailleurs, les tests d'identification des souches isolées ont permis d'identifier huit souches: *Serratia odorifera*, *Citrobacter barakii*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium kansasii*, *Enterobacter sakazakii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*.

Du point de vue physico-chimique, les valeurs obtenues considérées comme normales pour la saison en ce qui concerne la température, et les légères variations du pH peuvent être imputées à l'effet de certains facteurs comme les apports en eaux usées domestiques. Seul l'oxygène présente des valeurs équivalentes à une eau médiocre, l'O₂ étant consommé par les microorganismes pour dégrader la matière organique. La diminution de sa teneur génère un milieu favorable à la fermentation et aux dégagements d'odeurs. Les rejets domestiques et agricoles des eaux usées contribuent à la diminution de la teneur de ce dernier.

À la lumière des résultats obtenus nous recommandons

- ✓ Élargir l'éventail de recherche des germes tests, des bactéries d'intérêt sanitaire, des virus, des levures et des moisissures en instaurant un protocole de suivi continu de cet écosystème pour assurer la santé publique.
- ✓ Compléter par une étude physico-chimique qui révélerait la présence de métaux lourds et de substances toxiques.

Pour lutter contre la pollution nous devons

- Réduire l'impact des rejets industriels
- Réduire les pollutions diffuses agricoles (nitrates, pesticides...)
- Développer des pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement
- Réduire les rejets directs d'eaux usées domestiques et leurs impacts sur les milieux naturels
- Mettre aux normes et améliorer les installations de traitement des eaux usées domestiques (collectives et individuelles)

- **Aouissi A. (2009).** *Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie)*. Mémoire de Magister, Université 08 mai 1945, Guelma.141p.
- **Belabed B. (2010).** *La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba source de contamination des écosystèmes aquatique*. Mémoire de Doctorat, université d'Annaba, pp (42-43, 48-49).
- **Boucheker A. (2010).** *Écologie de l'Ibis falcinelle Plegadis falcinellus en Numidie (Nord-est Algérien)*.Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- **Bourdon J.L et Marchal N. (1981).** Technique bactériologique. *DOIN*.335p.
- **Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. (1980).** Techniques d'Analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. *APRIA*. 331p.
- **Bricha S., Ounene K., Oulkheir S., El Haloui N. et Attarassi B. (2007).** Etude de la qualité physicochimique et bactériologique de la nappe phréatique M'nasra (Maroc). *Afrique Sciences*. (3). 391 – 404.
- **Coulibaly K. (2005).** *Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau des puits de certains quartiers du district de Bamako*. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako. 69p.
- **Délaras C. (2008).** Surveillance sanitaire Et Microbiologique des eaux : Règlementation-Prélèvements-Analyses.*TEC & DOC*.269p.
- **Detay M. (1993).** Le Forage D'eau, Réalisation, Entretien Et Réhabilitation. *Masson*. 379p.
- **Diagnostic Pasteur. (1987).** *milieu et réactifs de laboratoire pasteur* : microbiologie, immunologie. 3ème édition
- **Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. *Dunod*. 615p.
- **Hamzaoui W. (2007).** *Caractérisation de la pollution des eaux en milieu industriel et urbain. Cas de la plaine d'El-Hadjar*, Mémoire de magistère, Univ. Annaba, 102. P.
- **Joffin J J-N et Leyrol G. (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3^{ème} éditions. *CRDP d'Aquitaine*. 320p.
- **Kéléké S., Hanus J., Koléla A.L., Raber W., Tchibida-Pemo G., Sita S., Mabilia P et Diazenza J. B. (2004).** *Evaluation de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de*

Pointe Noire: Etude bactériologique et chimique, recherche de technique d'assainissement. Centre IRD de Pointe Noire. pp 1-25.

- **Labres et Mouffok F. (2008).** *Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson.* Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
- **Labres E., Azizi D. et Boudjellab B. (2006).** *Cours d'Hygiène et de Microbiologie des Eaux : Microbiologie des eaux et des boissons,* Institut Pasteur d'Algérie.
- **Marchal N., Bourdon J-l et Richard C. (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .biologie appliquée. *Editions Douin, Paris* pp 50-364.
- **Pechère. J. C., Acar. J., Grenier. B., et Nihoul. E. (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème} édition. Edisem ST-Hyacinthe. *Québec.* 509p.
- **Prévost G. (2005).** *Modélisation d'écosystème multi-niveau par des approches mixtes.* Thèse de doctorat. Université du Havre, Pp (6-7).
- **Rejsek F. (2002).** *Analyse des eaux ; aspects règlementaires Et techniques.* Sceran. Paris.360p.
- **Rodier J., Leguebe B., Merlet N et col. (2009).** L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Résiduaires. Eau de mer 9^{ème} édition. *Dunod. Paris,* 1511p.
- **Rodier J. et coll. (2005).** L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Résiduaires. Eau de mer. 8^{ème} édition. *Dunod. Paris,* 1383p.
- **Rodier J. (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8^{ème} édition, *Dunod, Paris* 1130p.
- **Roux D. (2003).** TP de microbiologie : Analyses de l'eau. *Editions : Novello Célia.* (3). pp (1-9).
- **Roux D. (1987).** Office International de L'eau : L'analyse biologique de l'eau. *TEC et DOC.* Paris. 229 p.

Sites web :

[1] : <http://www.umc.edu.dz/vf/index.php/actualites-et...de.../980-leau-en-algerie...>

Consultée le 07/03/2013.

[2] : <http://www.eau-poitou-charentes.org/Importance-des-caracteristiques-du.html>.

Consultée le 13/03/2013.

[3] : www.aquaportail.com/definition-4437-ecosysteme-aquatique.htm .

Consultée le 22/03/2013.

[4] : <http://aappma.courcellesch.free.fr>.

Consultée le 03/03/2013.

[5] : <http://www.dicoplus.org/definition/riviere>.

Consultée le 28/02/2013.

[6] : <http://aappma.courcellesch.free.fr>.

Consultée le 20/04/2013.

[7] : <http://vincent.dourdet.free.fr/topic/index.html>.

Consultée le 26/03/2013.

[8] : www.une-eau-pure.com.

Consultée le 02/04/2013.

[9] : <http://www.iav.ma/veto/hidaoa/bouchriti/pollution/generalites/generalites.htm>.

Consultée le 10/04/2013.

[10] : <http://www.eau-rhin-meuse.fr/patrimoine/cyclo05.htm>.

Consulté le 18/04/2013.

[11] : ptaff.ca/blogue/wp.../sante_et_changement_climatique-chapitre_5.pdf.

Consultée le 18/04/2013.

[12] : fr.wikipedia.org/wiki/Annaba.

Consultée le 25/04/2013.

[13] : www.softonic.fr › Sciences & Education › Histoire & Géographie.

Consultée le 25/04/2013.

[14] : www.arnobio2.com/pratique-bacteriologie-galerie-api.htm.

Consultée le 02/04/2013

[15] : Couleur www.hydrologie.org/MISC/gest/ficouleu.htm.

Consultée le 28/04/2013.

[16] : www.eau-adour-garonne.fr › Accueil › Informations -et- données.html

Consultée le 03/05/2013.

1- Composition des milieux de culture :

◆ **Eau peptonée exempte d'indole** : elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

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

➤ **Préparation** :

Mettre 15 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

◆ **B.C.P.L (bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre simple concentration)**: il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

Il y a deux types:

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

◆ **Milieu de Chapman** : le milieu de Chapman mannité est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

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

➤ **Préparation** :

Verser 111g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15minutes.

◆ **Milieu de Mac Conkey** : l'utilisation de ce milieu est recommandée pour isoler et énumérer les entérobactéries dans les eaux, le lait, les matières alimentaires, les urines. Il peut aussi être utilisé pour la recherche, dans les matières fécales, des salmonella, *shigella* et des *E. coli* entéropathogènes pour les nourrissons.

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée)

| | |
|------------------------------|------------|
| Peptone bactériologique..... | 20 g/l. |
| Sels biliaires..... | 1.5 g/l. |
| Chlorure de sodium | 5 g/l |
| Lactose | 10g/l |
| Rouge neutre | 0.03 g/l. |
| Cristal violet..... | 0.001 g/l. |
| Agar | 15 g/l. |
| pH = 7.1 (environ). | |

➤ **Préparation** :

Verser 51.5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Liquéfier au bain-marie bouillant et coller en boîte de pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couvercle entrouvert).

◆ **Milieu de Hektoen** :

➤ **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

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

➤ **Préparation** :

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 15 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7.7±0.1.

◆ **Viande foie (VF):** préparer en deux étapes :

➤ **Milieu de base :**

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

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

| | |
|------------------------------|-----------|
| Sulfate de sodium a 5 %..... | 0.5 ml |
| Alun de fer commonacol..... | 4 gouttes |

➤ **Rothe (bouillon glucose l'acide de sodium simple concentration :**

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

pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C.

◆ **Eva-Litsky :**

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

pH =7

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

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

pH =7

2. Réactifs :

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

| | |
|-------------------------|-------|
| Perchlorure de fer..... | 3.4 g |
|-------------------------|-------|

Eau distillée.....100ml

◆ **Réactif IND** : pour la recherche de l'indole :

Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....5.0g

Alcool isoamylique.....75.0 ml

HCL37%

◆ **Réactif de Voges Proskauer (VP)** : pour la recherche de l'acétone :

➤ **VP 1** :

Hydroxyde de potassium..... 40 g

Eau distillée.....100 ml

➤ **VP 2** :

Alpha naphthol.....6 g

Ethanol 100ml

◆ **Réactif Kowax** : pour la recherche de l'indole.

Coloration de Gram :

- **Lugol** : Elle est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant

-Iode.....1g.

-Iodure de potassium.....2g.

Eau distillée.....3g.

- **Violet de gentiane** : Elle est utilisée pour colorer les bactéries.

-violet de gentiane.....1g.

-Ethanol à 90%.....1ml.

-phénol.....2g.

-Eau distillée.....100ml

3. Tableaux supplémentaires des résultats :

Tab. I: Evaluation de la température dans le site de prélèvement.

| | Température (°c) |
|--------------|------------------|
| Mars | 20.06 |
| Avril | 19.3 |

Tab. II : Evaluation de la conductivité dans le site de prélèvement. En Us/cm

| | Conductivité (µs) |
|--------------|-------------------|
| Mars | 240 |
| Avril | 133.54 |

Tab. III: Evaluation du pH dans le site de prélèvement.

| | Ph |
|--------------|-----------|
| Mars | 8.2 |
| Avril | 8.07 |

Tab. IV : Evaluation du taux d'O₂ dissous dans le site de prélèvement.

| | O2 (mg/l) |
|--------------|------------------|
| Mars | 1.22 |
| Avril | 1.79 |

Tab. V : Evaluation du %de saturation en O₂ dissous dans le site de prélèvement

| | O2 dissous (%) |
|--------------|-----------------------|
| Mars | 13,36 |
| Avril | 19,6 |

Tab. VI : Evaluation du nombre des coliformes totaux dans le site de prélèvement.

| | coliformes totaux (bactérie/ml) |
|--------------|--|
| Mars | 90000 |
| Avril | 7500 |

Tab. VII : Evaluation du nombre des coliformes thermotolérants dans les sites de prélèvement.

| | coliformes thermo-tolérants (bactérie/ml) |
|--------------|--|
| Mars | 140 |
| Avril | 160 |

Tab. VIII : Evaluation du nombre des streptocoques fécaux dans les sites de prélèvement

| | streptocoques fécaux (bactérie/ml) |
|--------------|------------------------------------|
| Mars | 400 |
| Avril | 150 |

Tab. IX: Table de Mac-Grady.

| Nombre caractéristique | Nombre de microorganisme | Nombre caractéristique | Nombre de microorganisme |
|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 000 | 0.0 | 222 | 3.5 |
| 001 | 0.3 | 223 | 4.0 |
| 010 | 0.3 | 230 | 3.0 |
| 011 | 0.6 | 231 | 3.5 |
| 020 | 0.6 | 232 | 4.0 |
| 100 | 0.4 | 300 | 2.5 |
| 101 | 0.7 | 301 | 4.0 |
| 102 | 1.1 | 302 | 6.5 |
| 110 | 0.7 | 310 | 4.5 |
| 111 | 1.1 | 311 | 7.5 |
| 120 | 1.1 | 312 | 11.5 |
| 121 | 1.5 | 313 | 16.0 |
| 130 | 1.6 | 320 | 9.5 |
| 200 | 0.9 | 321 | 15.0 |
| 201 | 1.4 | 322 | 20.0 |
| 202 | 2.0 | 323 | 30.0 |
| 210 | 1.5 | 330 | 25.0 |
| 211 | 2.0 | 331 | 45.0 |
| 212 | 3.0 | 332 | 110.0 |
| 220 | 2.0 | 333 | 140.0 |
| 221 | 3.0 | | |

Tab. X: Lecture est interprétation des résultats de l'API 20 E

| Tests | Substrat | Caractère recherché | Résultats | |
|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--|---------------------------|
| | | | 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 / Immédiat | |
| | | | jaune | Marron foncé |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | IND / 2 mn, maxi | |
| | | | jaune | Anneau rouge |
| VP | Pyruvate de sodium | Production d'acétoïne | VP 1 + VP 2 / 10 mn | |
| | | | 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 mn | |
| | | | incolore | Anneau violet |
| NO ₃ -NO ₂ | Tube GLU | Production de NO ₂ | NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn | |
| | | Réduction au stade N ₂ | Jaune | Rouge |
| | | | Zn | |
| | | | Rouge | Jaune |
| MOB | Microscope | Mobilité | Immobile | Mobile |
| MAC | Milieu de MacConkey | Culture sur | Absence | Présence |
| OF | Glucose | Fermentation : sous huile | Vert | Jaune |
| | | Oxydation : à l'air | Vert | Jaune |
| CAT | | Possession d'une catalase | H₂O₂ / 1-2 mn | |
| | | | Pas de bulles | Bulles |

