

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue d'Obtention  
Du Diplôme de Master en Biodiversité et Fonctionnement des écosystèmes  
Option : Restauration des Milieux Aquatiques Continentaux

**Thème**

**Caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux de  
l'oued de Mazafran et étude de l'antibiorésistance des bactéries  
productrices de bêtalactamases**

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> KOUBA Raihana

**Date de soutenance**

Le 16/09/2015.

**Devant le jury :**

M <sup>r</sup> LARBI DOUKARA K.	Maitre de Conférences B	Univ. Blida 1	Président
M <sup>me</sup> KHETTAR S.	Maitre Assistant A	Univ. Blida 1	Examinatrice
M <sup>me</sup> HAMAIDI F.	Maitre de Conférences A	Univ. Blida 1	Promotrice
M <sup>me</sup> BENOAKLIL F.	Doctorante	Univ. Blida 1	Co-promotrice

**Année Universitaire 2014-2015**

## ***Remerciement***

Au terme de ce travail, je tiens à remercier en premier lieu Dieu le tout puissant, de m'avoir donné la santé, le Courage, la volonté et la patience d'étudier et pour mener à la bien ce travail dans les meilleures conditions.

### **A ma promotrice Mme HAMAIDI. F**

Qu'a encadré mon étude et m'a fait l'honneur de juger mon travail.

Je vous remercie infiniment pour tout, ce que vous m'avez appris, pour vos conseils, votre aide, pour votre correction, pour votre disponibilité de tous les instants avec une forte patience et gentillesse. Veuillez agréer, Madame, l'expression de ma sincère reconnaissance et à ma profonde gratitude.

### **A ma co-promotrice Mme BENOUAKLIL. F**

Pour son implication dans ce travail

Je vous remercie pour vos remarques utiles et pour votre aide dans la correction et votre soutien qui m'a donné le courage d'avancé dans mon travail.

Je vous prie d'agréer, Madame, l'expression de ma haute considération.

### **A Mr LARBI DOUKARA. K**

Qui ma fait l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury.

Sincère remerciement.

### **A Mme KHETTAR. S**

De bien vouloir accepter d'examiner ce modeste travail.

Hommage respectueux.

Je remercie également l'ensemble du personnel du SEAAL de Mazafran et de Kouba et de laboratoire de microbiologie de l'Etablissement Public Hospitalier de Boufarik et aux personnels de ANRH de Soumaa sur tout à Mr LAGHLOUGH.S. Merci pour votre accueil et votre aide.

Aux personnels de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida spécialement à TEFAHI. Dj (Amo Djamel) pour son aide précieuse et sa gentillesse.

A l'ensemble des enseignants de Biologie qui ont contribué à notre formation durant les années d'étude, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

**KOUBA Raihana.**





# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance :*

*À mes très chers parents* lui ont été toujours à mes coté, qu'ont encouragé, qui peuvent être fier et trouver ici le fruit de longues années de sacrifices.

*Maman lumière de ma vie* pour son amour, sa compréhension pour tous mes cas.

*Mon amour papa* qui sans lui je ne serais pas arrivé jusqu'ici, Pour m'avoir accompagné tout moments et spécialement cette année avec les déplacements des prélèvements pour cette étude.

*À mes chères sœurs* « Zineb et sarah »

*À mon cher frère* « Abdellah »

*À mes tantes, mes oncles*, spécialement « Rachid H, Rabah. Y, Mustapha. L »

*À mes cousins et mes cousines*, spécialement « Boualem, Amine, Walid, Houria, Soumia »

*À tous mes chers(e) amis(e)* depuis mon enfance spécialement « Amina, Nabila, Sihem, Sarah.H», ma chérie « Asma » et son père « Amo Moukhtar »

*Mes voisins* «Karima, Nadjet, Nessrine »

À Toutes les personnes qui m'ont aidé et participé dans ce travail spécialement « M<sup>f</sup> MECHTAOUI.H, M<sup>f</sup> GUAOIAOUI. A.E.K, M<sup>lle</sup> Fifi. R, M<sup>me</sup> Lilya. S, M<sup>me</sup> Issma. H »

À tout mes enseignants depuis le primaire jusqu'au l'université.

## RESUMÉ

Dans le but d'évaluer l'état de pollution de l'oued Mazafran, une étude physico-chimique et microbiologique a été menée sur des échantillons d'eau prélevés au niveau de trois stations, avec un intérêt particulier pour l'étude du profil de résistance d'*Escherichia coli* sur une période s'étalant du mois de Janvier jusqu'au mois de Juin 2015.

Les résultats des analyses physico-chimiques pour certains paramètres montrent une conformité aux normes nationales et internationales (JORA et l'OMS) des eaux de surface. Par contre, les autres valeurs ne sont pas conformes aux normes, c'est le cas de l'oxygène dissous 2,16 mg d'O<sub>2</sub>/l, de l'azote ammoniacal 4,52 mg/l, des nitrites 1,06 mg/l ± 0,39 mg/l et des orthophosphates 0,87 mg/l dans la 2<sup>ème</sup> station. Dans la 1<sup>ère</sup> station, les valeurs de la DCO avec une moyenne 44,7mg/l et la DBO avec une moyenne de 9,91 mg/l ont été enregistrées. La 3<sup>ème</sup> station a été marquée par la présence de la matière organique avec une moyenne de 25,08 mg/l et le fer 1,01 mg/l.

La recherche bactériologique montre la prédominance de germes indicateurs de contamination fécale comme les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux. Cependant, les valeurs restent inférieures aux normes. En revanche, dans la 3<sup>ème</sup> station, on note une moyenne importante (445 spores/20 ml) en spores anaérobies sulfite-réducteurs dépassant les normes. L'absence de germes pathogènes comme les salmonelles et les vibrions cholériques a été signalée.

Les résultats de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* (n=18) montrent l'absence totale de souches résistantes productrices de béta-lactamases.

**Mots clés :** Oued Mazafran, analyses physico-chimiques, analyses bactériologiques, *Escherichia coli*, antibiorésistance, béta-lactamases.

## ABSTRACT

In order to assess the state of pollution of Oued Mazafran, physico-chemical and microbiological study was conducted on water samples taken at three stations, with particular interest for the study of *Escherichia coli* resistance profile over a period extending from January until 'in the month of June 2015.

The results of physicochemical analyzes for certain parameters show compliance with national and international standards (JORA and WHO) surface water. On the other hand, other values do not comply with standards, as is the case with dissolved oxygen 2.16 mg d'O<sub>2</sub>/l, ammoniacal nitrogen 4.52 mg/l, nitrite 1.06 mg/l and orthophosphates 0.87 mg/l in the 2<sup>nd</sup> station. In the 1st station, the values of COD with an average of 44.7 mg/l and BOD with an average of 9.91 mg/l were registered. The 3<sup>rd</sup> station was marked by the presence of organic matter with an average of 25.08 mg/l and iron 1.01 mg/l.

Bacteriological research shows the predominance of germs indicating fecal contamination such as total coliforms, fecal coliforms and fecal streptococci. However, the values remain below standard. In contrast, in the 3rd station, we noted an important average of (445 spores/20 ml) in anaerobic sulfite-reducing spore which exceeds standards. The absence of pathogens such as salmonella and cholera inducing vibrios was reported.

The results of antibiotic resistance of *Escherichia coli* (n = 18) show the total absence of resistant beta-lactamase producing strains.

**Keywords :** Oued Mazafran, physico-chemical analyses, bacteriological analyses, *Escherichia coli*, antibiotic resistance, betalactamases.

## الملخص

من أجل معاينة وضعية التلوث في واد مزفران، تم إعداد دراسة فيزيوكيميائية و ميكروبيولوجية لعينات الماء المأخوذة على مستوى ثلاث محطات، مع التركيز على دراسة مقاومة *Escherichia coli* في المدة الممتدة من شهر يناير إلى شهر جوان 2015.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية لبعض الخصائص بينت توافق العينات مع المعايير الوطنية و العالمية (JORA، OMS) للمساحات المائية. من جهة أخرى، القيم الأخرى ليست متوافقة مع هذه المعايير، حيث نجد الاكسجين المنحل 2.16 مغ O<sub>2</sub>/ل، أزوت أمونياكي 4.52 مغ/ل، نيتريت 1.06 مغ/ل و أرثوفوسفات 0.87 مغ/ل في المحطة الثانية.

في المحطة الأولى، تم تسجيل قيم الطلب الكيميائي للاكسجين بمعدل 44.7 مغ/ل و الطلب البيولوجي للاكسجين بمعدل 9.91 مغ/ل، كما تم تسجيل وجود المادة العضوية بمعدل 25.08 مغ/ل و الحديد 1.01 مغ/ل في المحطة الثالثة.

التحاليل البكتيرية أظهرت هيمنة البكتيريا الدالة على التلوث البرازي، كالبكتيريا coliformes totaux و coliformes fécaux و Streptocoques fécaux. و لكن، تبقى القيم أدنى من المعايير المعمول بها. من جهة أخرى، في المحطة الثالثة، لاحظنا وجود هام ل spores anaérobies sulfito-réducteurs بمعدل 445 بكتيريا/20 مل، كم لاحظنا عدم وجود البكتيريا الممرضة salmonelles و vibriions المسبب للكوليرا.

نتائج مقاومة *Escherichia coli* للمضادات الحيوية (رقم 18) أظهر عدم وجود السلالات ذات المقاومة و التي تنتج إنزيم béta-lactamases.

**كلمات مفتاحية:** واد مزفران، تحليل فيزيوكيميائية، تحاليل ميكروبيولوجية، *Escherichia coli*، مقاومة المضادات الحيوية، béta-lactamases.

## **LISTE DES ABREVIATION**

- ASR** : Anaérobies Sulfito-Réducteurs.
- ATB** : Antibiotiques
- CF** : Coliformes Fécaux.
- CT** : Coliformes Totaux.
- D/C** : Double Concentration
- EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétique.
- EPA** : Eau peptonée alcaline.
- GNAB** : Gélose nutritive alcaline biliée.
- NTU** : Néphlomertic Turbidity Unit.
- OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- PE** : Prise d'essai.
- S1** : Station 1
- S2** : Station 2
- S3** : Station 3
- SF** : Streptocoques Fécaux.
- SFB** : Bouillon au sélénite de sodium cystéine.
- UFC** : Unité Formant Colonie.
- UV** : Ultra Violet
- VF** : Viande foie.

## LISTE DES FIGURES

Figures	Pages
<b>Figure 1</b> : Présentation des différents types de résistance bactérienne.	14
<b>Figure 2</b> : Situation géographique de la zone d'étude.	18
<b>Figure 3</b> : Oued Mazafran.	19
<b>Figure 4</b> : Situation géographique des sites de prélèvements au niveau de l'Oued Mazafran.	20
<b>Figure 5</b> : Colonies des coliformes après incubation à 37°C.	33
<b>Figure 6</b> : Colonies de coliformes fécaux après incubation 44°C.	33
<b>Figure 7</b> : Colilert avant incubation.	34
<b>Figure 8</b> : Colilert pour E.coli après incubation sous la lampe UV.	35
<b>Figure 9</b> : Entérolert-E avant incubation.	36
<b>Figure 10</b> : Entérolert-E après incubation sous la lampe UV.	36
<b>Figure 11</b> : Colonies des ASR.	37
<b>Figure 12</b> : Colonies d' <i>E.coli</i> pur.	40
<b>Figure 13</b> : Milieu Urée Indole avant et après incubation.	41
<b>Figure 14</b> : Milieu TSI avant et après incubation.	42
<b>Figure 16</b> : Variation mensuelle de la température	45
<b>Figure 17</b> : Variations mensuelles du pH.	46
<b>Figure 18</b> : Variations mensuelles de la conductivité électrique.	47
<b>Figure 19</b> : Variations mensuelles de la turbidité.	48
<b>Figure 20</b> : Variations mensuelles de l'OD.	49
<b>Figure 21</b> : Variation mensuelle des sulfates	50
<b>Figure 22</b> : Variation mensuelle du calcium.	51
<b>Figure 23</b> : Variation mensuelle du magnésium.	51
<b>Figure 24</b> : Rejets domestiques et urbains dans la deuxième Station (Koléa).	52
<b>Figure 25</b> : Variation mensuelle de l'azote ammoniacal.	52
<b>Figure 26</b> : Variation mensuelle des Orthophosphates.	54
<b>Figure 27</b> : Variation mensuelle des coliformes totaux.	59
<b>Figure 28</b> : Variation mensuelle des coliformes fécaux	60
<b>Figure 29</b> : Origine de la pollution organique de l'Oued Mazafran.	60
<b>Figure 30</b> : Variation mensuelle des Streptocoques fécaux	61



<b>Figure N° 31:</b> Variation mensuelle des ASR	<b>62</b>
<b>Figure N° 32:</b> Répartition <i>d'E.coli</i> avec d'autres souches.	<b>63</b>
<b>Figure N°33 :</b> Pourcentage de la sensibilité et la résistance d' <i>E. coli</i>	<b>64</b>
<b>Figure N°34 :</b> Antibiogrammes des souches d' <i>E.coli</i>	<b>65</b>
<b>Figure N° 35 :</b> Colimétrie par filtration.	<b>Annexe VI</b>
<b>Figure N°36 :</b> méthode de Colilert.	<b>Annexe VI</b>
<b>Figure N°37 :</b> méthode d'Entérofert	<b>Annexe VI</b>
<b>Figure N°38 :</b> dénombrement des ASR.	<b>Annexe VI</b>
<b>Figure N°39 :</b> Recherche des salmonelles.	<b>Annexe VI</b>
<b>Figure N°40 :</b> Recherche des Vibrions cholérique.	<b>Annexe VI</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau N°I</b> : Dates et les heures des prélèvements	<b>20</b>
<b>Tableau II</b> : Résultats des analyses des nitrates et nitrites (mg/l) pour les trois stations.	<b>54</b>
<b>Tableau III</b> : Résultats des analyses de la DCO et DBO <sub>5</sub> (mg d'O <sub>2</sub> /l) pour les trois stations.	<b>55</b>
<b>Tableau IV</b> : Résultats obtenus pour le rapport DCO/DBO <sub>5</sub> .	<b>56</b>
<b>Tableau V</b> : Résultats obtenus pour la matière organique	<b>56</b>
<b>Tableau VI</b> : Résultats obtenus pour le Fer.	<b>57</b>
<b>Tableau VII</b> : Résultats des analyses physico-chimiques	<b>Annexe I</b>
<b>Tableau VIII</b> : Résultats des analyses microbiologiques	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau IX</b> : Résultats de mesure des zones d'inhibition pour E.coli	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau X</b> : Tableau lecture près de standardisation de l'antibiogramme	<b>Annexe III</b>

# SOMMAIRE

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Listes des figures.

INTRODUCTION .....01

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.GENERALITES SUR LES EAUX DE SURFACE.....03

I.1.Différents types des eaux de surface.....03

I.2.Pollution eaux de surface .....03

I.2.1.Origine de la pollution.....04

▪ Pollution domestique .....04

▪ Pollution industrielle .....04

▪ Pollution agricole.....04

II.2.2.Principaux types des polluants.....04

I.2.2.1. Polluants chimiques .....04

II.2.2.3.Polluants biologiques.....06

III. PARAMETRES DE LA QUALITE DES EAUX SUPERFICIELLES.....07

II.1. Paramètres physico-chimiques.....07

II.2. Paramètres microbiologiques ..... 11

II.2.1. Germes indicateurs de contamination fécale.....11

II.2.2. Germes pathogènes.....12

III. CONTAMINATION DES EAUX PAR LES BACTÉRIES FÉCALES ANTIBIO-  
RÉSISTANTES.....13

III.1. Antibiorésistance des bactéries.....13

III.2. Mécanismes de l'antibio-résistance.....14

III.3.Antibiorésistance des souches productrices de de bêta- lactamase .....15

<b>III.4. <i>Escherichia coli</i></b> .....	<b>16</b>
---	-----------

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

<b>I. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>18</b>
<b>I.1. Présentation de la zone d'étude</b> .....	<b>18</b>
<b>I.2. Choix des stations des prélèvements</b> .....	<b>19</b>
<b>I.3. Matériel</b> .....	<b>21</b>
<b>I.4. Méthodes</b> .....	<b>21</b>
I.4.1. Méthodes d'échantillonnage .....	<b>21</b>
I.4.2. Analyses physico-chimiques .....	<b>21</b>
I.4.2. Analyses microbiologiques .....	<b>32</b>
I.4.3. Examen bactériologique pour l'antibiorésistance d' <i>Escherichia coli</i> .....	<b>39</b>
<b>I.5. Analyse statistique</b> .....	<b>44</b>
<b>II. RESULTATS ET DISCUSSION</b> .....	<b>45</b>
<b>II.1. Résultats des analyses physico-chimiques</b> .....	<b>45</b>
<b>II.2. Résultats des analyses microbiologiques</b> .....	<b>58</b>
<b>II.3. Résultats de l'antibiorésistance</b> .....	<b>63</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>67</b>

### **Références bibliographiques**



L'eau est le composé le plus abondant sur la surface du globe (**EISEMBERG, 1969**). Elle mérite une attention toute particulière, vu qu'elle est très altérée et sérieusement menacée par les activités humaines (**MC KINNEY, 2002**).

La problématique de l'eau est un problème de quantité et de qualité, c'est -à-dire de ressource et de pollution (**LOUNNES, 2009**). Au cours du temps, la demande en eau, est devenue plus importante à cause des besoins liés aux activités domestiques, industrielles et agricoles (**DROUCHE, 2006**). En effet, la croissance démographique accompagnée d'une urbanisation rapide cause de nombreuses perturbations pour les milieux aquatiques naturels (**MC KINNEY, 2002**). Ainsi, ces milieux reçoivent quotidiennement des rejets domestiques et industriels et se sont par conséquent transformés en des sites de concentration de la pollution aussi bien chimique que biologique.

Par leur composition physico-chimique, ces milieux complexes exercent une pression de sélection importante sur la population microbienne (**MC ARTHUR et TUCKEFIELD, 2000 ; SAAVEDRA et al., 2003 ; CARDONHA et al., 2004**).

D'ailleurs, les indicateurs microbiologiques sont considérés parmi les paramètres les plus importants pour les eaux à usage domestique. Ils correspondent à des germes pathogènes qui proviennent du rejet des eaux usées domestiques ou industrielles directement dans les cours d'eau et/ou des lessivages des sols (**WHEAL, 1991**). Or, la contamination des eaux de surface par ces agents pathogènes est un problème de pollution qui remonte très loin dans le temps (**GEORGE et SERVAIS, 2002**). En outre, l'utilisation massive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire et en agriculture pour améliorer la production a contribué de manière significative à l'émergence de bactéries résistantes dans l'environnement (**RHODES et al, 2004**).

Le cours d'eau Mazafran, est un oued appartenant au réseau hydrographique de la plaine de la Mitidja. Cet écosystème aquatique est sérieusement menacé dans son existence. En effet il reçoit de multiples rejets de polluants de toutes sortes (industriels, urbains et agricoles) provenant des agglomérations urbaines : Chiffa, Attatba, Berbessa, Oued El-Alloug et Koléa.

La présente étude, prend comme terrain trois stations situées sur le lit de cet oued, et son objectif est d'étudier et de déterminer d'une part la qualité physico-chimique, microbiologique des eaux et d'autre part, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques chez *Escherichia coli*.

## II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### II.1. Résultats des analyses physico-chimiques

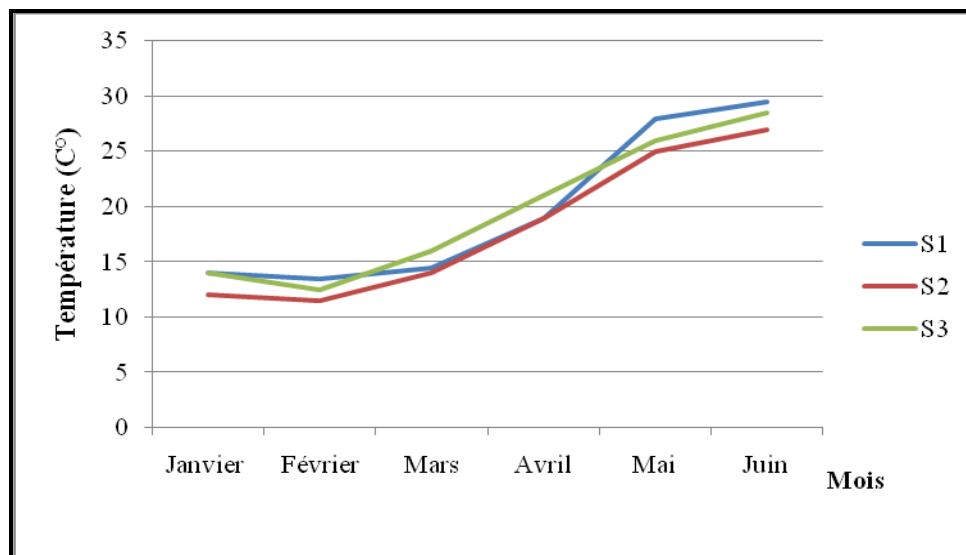
Les résultats obtenus pour les seize paramètres physico-chimiques réalisés sur les eaux de l'Oued Mazafran sont consignés dans le Tableau VII en annexe I. Ces résultats seront comparés aux normes du **JORA** et celle de l'**OMS**.

#### II.1.1. Paramètres physiques

##### ❖ Température

Les températures relevées dans les stations d'étude sont très voisines et varient en fonction d'un rythme saisonnier, avec des valeurs comprises entre 13,5°C et 29,5°C et une moyenne de  $19,75 \pm 7,25^\circ\text{C}$  dans la station 1. Elle est entre 11,5°C et 25°C avec une moyenne de  $18,08 \pm 6,71^\circ\text{C}$  pour la station 2. Dans la station 3 les valeurs sont comprises entre 12,5°C et 28,5°C avec une moyenne de  $19,66 \pm 6,58^\circ\text{C}$  (Figure N°16).

Les valeurs de la température mesurées dans les eaux de l'oued Mazafran sont acceptables car elles restent en dessous de la norme fixée par l'**OMS (2004)** qui est 30°C.



**Figure 16 :** Variation mensuelle de la température

Selon **LAIDANI et al. (2009)**, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profonde. Sa variation dépend essentiellement des phénomènes climatiques (**AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983**).

L'élévation de la température s'accompagne toujours d'une modification des propriétés de l'eau, car elle agit sur la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, la dissociation des sels dissous, le pH, de même que sur les réactions chimiques et biochimiques ainsi que sur le développement et la croissance des organismes vivant dans l'eau et particulièrement les microorganismes (WHO, 1987).

❖ Potentiel d'Hydrogène

Habituellement, les valeurs du pH se situent entre 6 et 8,5 dans les eaux naturelles (CHAPMAN et KIMSTACH, 1996).

D'après la Figure 17, les valeurs observées dans toutes les stations d'étude de l'oued Mazafran révèlent que le pH est faiblement alcalin et varie entre 7,4 et 8,05 avec une moyenne de  $7,82 \pm 0,23$  dans la station 1, entre 7,5 et 8,02 avec une moyenne de  $7,77 \pm 0,18$  dans la station 2 et entre 7,5 et 7,7 avec une moyenne de  $7,62 \pm 0,096$  dans la station 3.

Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne préconisée par le JORA (2011) qui est  $6,5 \leq \text{pH} \leq 9$ . Les valeurs sont généralement comprises entre les limites adéquates pour l'eau et pour la vie aquatique.

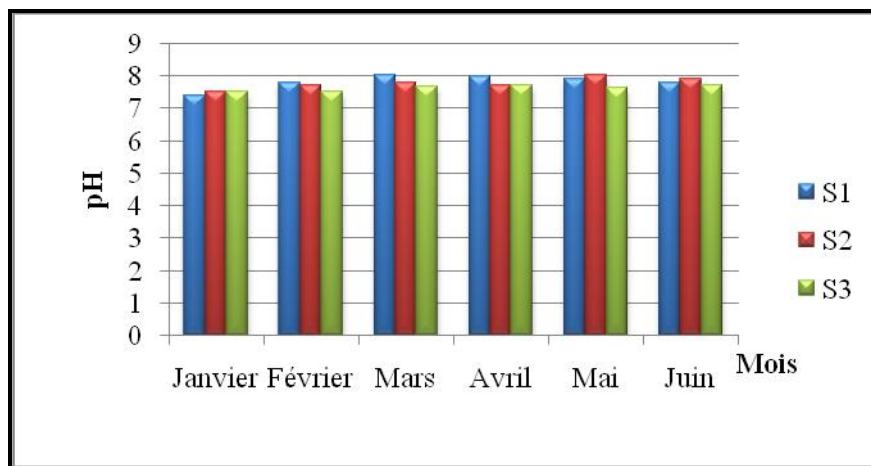


Figure 17 : Variations mensuelles du pH.

Ce paramètre conditionne l'équilibre physico-chimique, et dépend de facteurs multiples, dont la température et l'origine de l'eau (CHAPMAND et KIMSTACH, 1996). La diminution du pH résulte de l'activité bactérienne et de la décomposition de la matière organique (ANSA-ASAREET et al., 1999; NEAL et al., 2000).



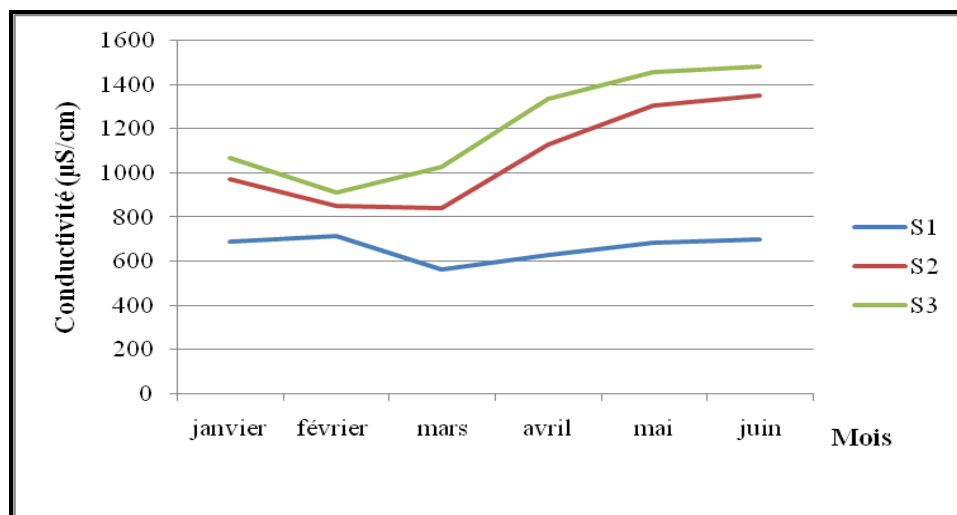
❖ Conductivité électrique

Les eaux dans notre zone d'étude ont une conductivité qui varie selon les stations. Les valeurs sont comprises entre 561  $\mu\text{S}/\text{cm}$  et 702 $\mu\text{S}/\text{cm}$  pour les eaux de la station 1 avec une moyenne de  $663,25 \pm 59,88 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Concernant la station 2, les valeurs sont comprises entre 841,5  $\mu\text{S}/\text{cm}$  et 1351 $\mu\text{S}/\text{cm}$  avec une valeur moyenne de  $1076,58 \pm 228,34 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Les eaux échantillonnées dans la station 3, présentent des valeurs entre 910  $\mu\text{S}/\text{cm}$  et 1485  $\mu\text{S}/\text{cm}$  et une valeur moyenne de  $1214,83 \pm 278,34 \mu\text{S}/\text{cm}$ .

D'après **RODIER et al., (2009)**, une conductivité supérieure à 666  $\mu\text{S}/\text{cm}$  implique une minéralisation importante des eaux et c'est le cas de la majorité des sites échantillonnés. Il est à noter que les valeurs de la conductivité dans cette étude sont plus importantes en période de sécheresse (correspondant à une minéralisation élevée) qu'après les fortes précipitations (Figure N° 18).

L'augmentation de la conductivité durant la période chaude peut être liée d'une part au faible débit de l'oued. Par contre, les valeurs minimales enregistrées durant la période d'hiver pourraient être attribuées aux précipitations qui ont entraîné un phénomène de dilution des eaux.

Ces valeurs restent en dessous de la norme fixée par le **JORA (2011)** qui est de 2800  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .



**Figure 18:** Variations mensuelles de la conductivité électrique.

La mesure de la conductivité permet d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau. Elle change en fonction de la température de l'eau ainsi elle est plus importante quand celle-ci est élevée (**PESCOD, 1985 ; RODIER et al., 1984**). C'est le cas de nos résultats.

❖ Turbidité

Les eaux de l’oued échantillonné possèdent une turbidité qui varie selon les stations. Des valeurs comprises entre 14,7 NTU et 49,5NTU sont notées dans la station 1 avec une moyenne de  $31,28 \pm 14,07$ , la station 2 présente des valeurs entre 15,5NTU et 40,25 et une valeur moyenne de  $27,61 \pm 9,87$ . Concernant la station 3, les valeurs sont comprises entre et 12,5 NTU et 23,5 NTU avec une valeur moyenne de  $19 \pm 4,11$  NTU (Figure N°19).

Les mois de Mars et Avril ont été caractérisés par une forte pluviosité où la turbidité a atteint 49,5 NTU. Ce qui nous laisse supposer qu’en saison sèche, la turbidité est plus faible que durant la saison pluvieuse où l’apport des eaux de ruissellement augmente la turbidité de l’eau. D’après **BEHAR (1997)**, c’est un indicateur important d’érosion, en général, la turbidité augmente fortement pendant et après une pluie.

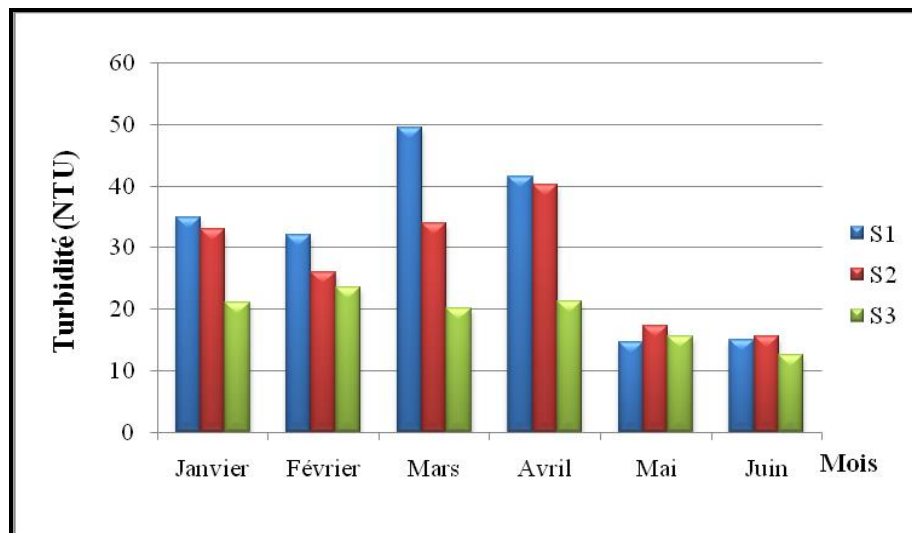


Figure 19 : Variations mensuelles de la turbidité.

❖ Oxygène dissous

L’oxygène présent dans l’eau est le résultat des échanges entre l’atmosphère et la surface de l’eau ainsi que de l’activité photosynthétique (**ALZIEU, 1989**).

La teneur de l’oxygène dissous des eaux de l’oued varie entre 1,46 mg d’O<sub>2</sub>/l et 6,02mg d’O<sub>2</sub>/l avec une moyenne de  $2,78 \pm 1,82$ mg d’O<sub>2</sub>/l dans la station 1, entre 2,28mg d’O<sub>2</sub>/l et 6,4mg d’O<sub>2</sub>/l avec une valeur moyenne de  $3,67 \pm 1,54$ mg d’O<sub>2</sub>/l dans la station 2 et entre 0,75mg d’O<sub>2</sub>/l et 5,63mg d’O<sub>2</sub>/l avec une moyenne de  $2,16 \pm 1,88$ mg d’O<sub>2</sub>/l dans la station 3 (Figure N°20).

Les valeurs de l’OD des trois stations ne sont pas conformes avec la norme fixée par l’OMS (2004) qui est > 5 mg d’O<sub>2</sub>/l.

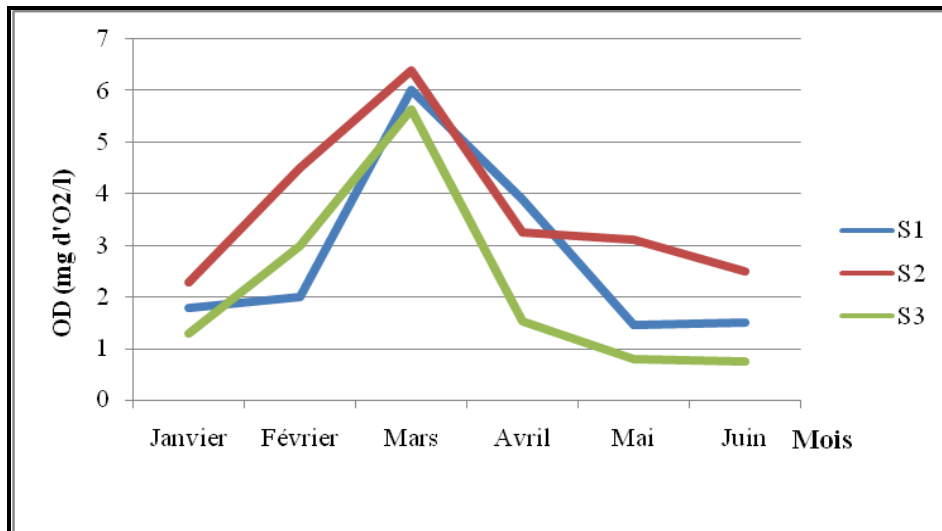


Figure 20 : Variations mensuelles de l'OD.

La teneur en oxygène dissous peut subir des variations importantes. Elle dépend de la température et de la salinité de l'eau, de la pression et de la température de l'air (BURNS et SLIOT, 1986). Une eau froide contient une plus grande quantité d'oxygène dissous qu'une eau chaude (HÉBERT et LÉGARÉ, 2000).

### II.1.2. Paramètres de minéralisation globale

#### ❖ Sulfates

Les valeurs des sulfates enregistrées sont très importantes pendant la période hivernale (Février et Mars) dans les eaux de l'oued Mazafran,. Ces dernières varient entre 9,8mg/l et 410,3mg/l avec une moyenne de  $122,35 \pm 172,72$ mg/l dans la station 1. Elles fluctuent entre 15,5mg/let 462,125mg/l avec une moyenne de  $174,69 \pm 181,52$ mg/l dans la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 13,02mg/let 451,35mg/l avec une moyenne de  $159,03 \pm 186,82$ mg/l (Figure N°21).

Ces fortes teneurs en sulfates dans la zone d'étude peuvent être expliquées par la nature des roches du lit de l'oued et l'apport pluviométrique qui augmente en hiver le phénomène de l'érosion de l'amont vers l'aval de l'oued.

Globalement, les valeurs sont en conformités à la norme fixée par le JORA (2011) qui est <400 mg/l.

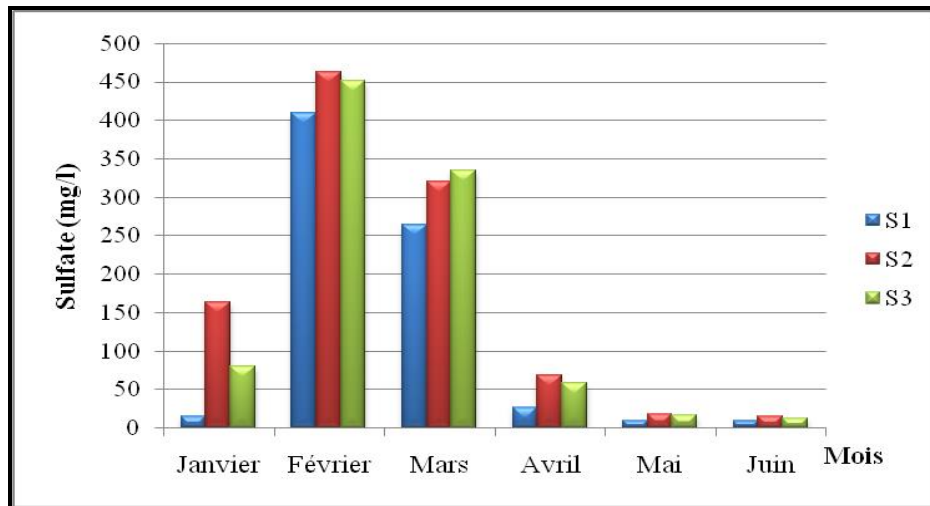


Figure 21 : Variation mensuelle des sulfates

Les origines naturelles des sulfates sont l'eau de pluie et la mise en solution de roches sédimentaires évaporitiques, notamment le gypse du sulfate de calcium ( $\text{CaSO}_4$ ), mais également de la pyrite du disulfure de fer ( $\text{FeS}_2$ ) et plus rarement de roches magmatiques (galène, blende, pyrite).

Les origines anthropiques sont la combustion de charbon et de pétrole qui entraîne une production importante de sulfures (qu'on retrouve dans les pluies), et l'utilisation d'engrais chimiques et de lessive (BARRY, 1989).

#### ❖ Calcium et Magnésium

Le calcium et le magnésium sont des éléments indispensables à la vie, ils nous renseignent sur la productivité de l'eau, et jouent un rôle dans la respiration et la photosynthèse. Ils peuvent être d'origine naturelle (dissolution des roches), ou industrielle (GAUJOUS, 1995).

Les valeurs de calcium varient entre 74,09mg/l et 90mg/l avec une moyenne de 82,09 ± 7mg/l dans la station 1, entre 76,69mg/let 128,16mg/l avec une moyenne de 102,27 ± 23,06mg/l dans la station 2 et entre 92,18mg/let 140,28mg/l avec une moyenne de 115,53 ± 21,43mg/l dans la station 3.

C'est dans la station S3 que nous avons enregistré les teneurs les plus élevées (Figure N°22). Mais, elles restent toujours inférieures aux normes fixées par le JORA (1993) qui est <200 mg/l.



D’après la figure N°23, les valeurs de magnésium des eaux de l’oued Mazafran varient entre 8,64mg/l et 30mg/l avec une moyenne de  $22,14 \pm 7,5$ mg/l dans la station 1, entre 20,16mg/let 49,2mg/l avec une moyenne de  $38,16 \pm 11,91$ mg/l dans la station 2 et entre 25,92mg/let 68,4mg/l avec une moyenne de  $47,72 \pm 16,56$ mg/l dans la station 3. Globalement, les valeurs des trois stations, sont en conformité avec les normes d’OMS (2004) (50 mg/l).

Les concentrations en calcium et magnésium mesurées augmentent de l’amont vers l’aval dans l’oued Mazafran (S1 vers S3).

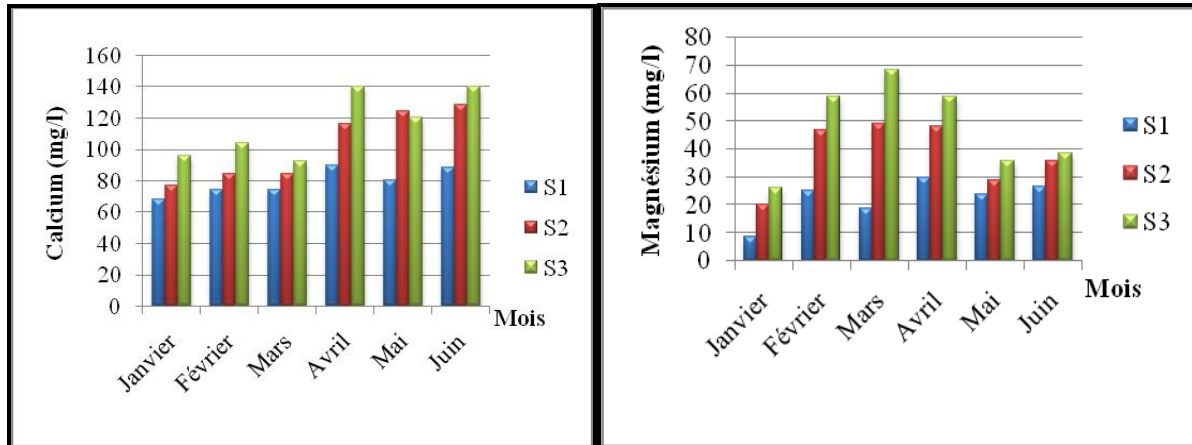


Figure 22 : Variation mensuelle du calcium. Figure 23: Variation mensuelle du magnésium.

### II.1.3.Paramètres de pollution

#### ❖ Azote ammoniacal

L’azote ammoniacal constitue un des maillons du cycle complexe de l’azote dans son état primitif. C’est un gaz soluble dans l’eau (CHAPMAN *et al*, 1996).

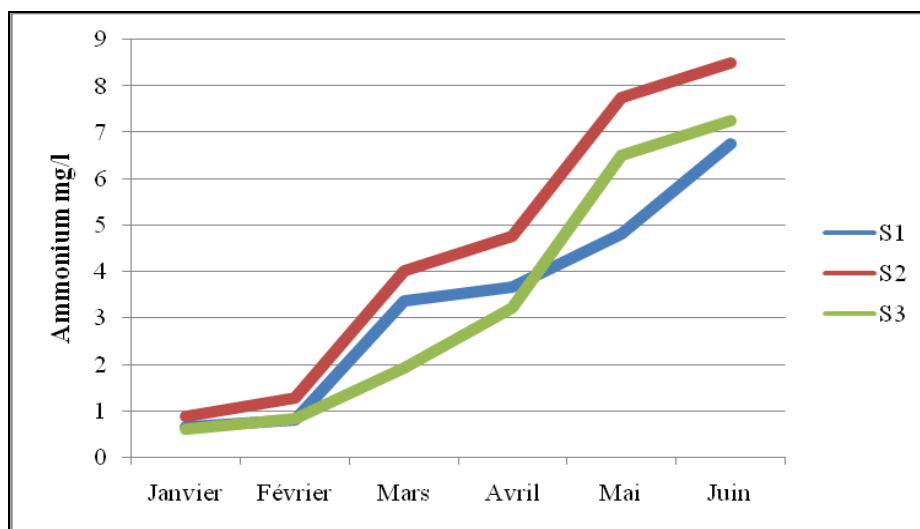
Les teneurs de l'azote ammoniacal enregistrées pendant la saison sèche sont plus importantes que celles trouvées pendant la saison des pluies. Elles varient entre 0,65 mg/l et 6,75 mg/l avec une moyenne de  $3,34 \text{ mg / l} \pm 2,34 \text{ mg / l}$  pour la station 1 et entre 0,61mg / l et 7,25 mg / l avec une moyenne de  $3,38 \text{ mg / l} \pm 2,86 \text{ mg / l}$  pour la station 3.

Concernant la station 2, les valeurs sont comprises entre et 0,87 mg / l et 8,5 mg / l avec une valeur moyenne de  $4,52 \pm 3,17 \text{ mg / l}$ . Cette augmentation peut être expliquée par l’existence des contacts entre les déchets ou les affluents des rejets domestiques (urée) et les ruissellements des rejets urbains qui sont rejetés directement dans cette station (Figure N° 24).

Les résultats obtenus sont supérieurs à la norme fixée par le **JORA (2011)** qui est de 4mg/l (Figure N° 25).



**Figure 24 :** Rejets domestiques et urbains dans la deuxième Station (Koléa).



**Figure 25:** Variation mensuelle de l’azote ammoniacal

L’azote ammoniacal constitue un bon indicateur de la pollution des cours d’eau par les effluents urbains (**CHAPMAN, 1996**). Il peut avoir pour origine : la matière végétale des cours d’eau, la matière organique animale ou humaine, les rejets industriels et les engrais (**RODIER et al., 2005**).

❖ **Nitrites et Nitrates**

Les nitrites sont considérés comme étant des ions intermédiaires entre les nitrates et l’azote ammoniacal (**RODIER et al., 1984**).

Les valeurs des nitrites sont très variables dans l'espace et dans le temps et sont parfois élevées. La saison sèche a enregistré des teneurs plus importantes que la saison pluviale.

Pour la station 1, elles varient entre un minimum de 0,48 mg/l et maximum de 0,95 mg/l avec une moyenne de  $0,73 \pm 0,15$  mg /l. Dans la station 3, les valeurs oscillent entre 0,027 mg /l et 0,81 mg /l avec une moyenne de  $0,314 \pm 0,31$ mg/l.

Concernant la station 2, les valeurs sont comprises entre 0,51 mg /l et 1,45 mg /l avec une valeur moyenne de  $1,06 \pm 0,39$  mg/l (voir Tableau II). Ceci peut être lié aux rejets des eaux usées domestiques dans l'oued. Ainsi, la présence des nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ). peut être expliquée, par une oxydation partielle de l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), ou par une réduction des ions nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ). Ces deux polluants pourraient provenir initialement de la présence d'engrais chimiques et naturels, ou d'une forte activité bactérienne (Voir Tableau I). Les valeurs des nitrites sont supérieures à la norme fixée par **OMS (2004)** qui est 0,1 ml/l.

Selon **RODIER et al., (2009)**, Une eau qui renferme des nitrites est considérée comme suspecte car il lui est souvent associé une détérioration de la qualité microbiologique. Cependant, Les eaux en contact avec certains terrains ou conduites peuvent contenir des nitrites indépendamment de toute souillure (**CEBRON, 2004**).

Les nitrates résultent de l'oxydation des nitrites par des bactéries (nitrobacter) lors de la réaction de nitratisation (**AMINOT et CHAUSSE-PIED, 1983**). Les eaux de l'oued Mazafran présentent des teneurs faibles en nitrates dans les eaux échantillonnées des trois stations. Les valeurs enregistrées sont comprises entre un minimum de 0,5 mg/l dans la 3<sup>ème</sup> station et un maximum de 2,49 mg/l dans la 2<sup>ème</sup> station (voir Tableau I).

Les teneurs en nitrates enregistrées sont inférieures à la teneur préconisée (50 mg/l) par l'**OMS (2004)** et le **JORA (2011)**.

Les sources de nitrates dans l'eau comprennent les matières animales et végétales en décomposition, les engrais agricoles, le fumier, les eaux usées domestiques et les formations géologiques contenant des composés azotés solubles (**ADAM, 1980 ; EGBOKA, 1984**).

Tableau N°II : Résultats des analyses des nitrates et nitrites (mg/l) pour les trois stations.

	Nitrates				Nitrites					
	Min	Max	Moy	Ecart-type	Min	Max	Moy	Ecart-type	Norme (mg/l)	
Station 1	1	2,04	1,42	0,36	0,48	0,95	0,73	0,15	50	0,1
Station 2	0,65	2,49	1,64	0,63	0,51	1,45	1,06	0,39	(1)	(2)
Station 3	0,5	1,93	1,28	0,5	0,16	0,81	0,40	0,24		

JORA(2011)<sup>(1)</sup> et OMS (2004)<sup>(2)</sup>.

❖ Orthophosphates

D’après la figure 26, les valeurs des orthophosphates des eaux de l’oued Mazafran suivent une variation spatiale marquée relativement par une tendance à l’augmentation en période sèche. Elles varient entre 0,1mg/l et 1,3mg/l avec une moyenne de  $0,58 \pm 0,51$ mg/l dans la station 1 et fluctuent entre 0,15mg/l et 1,51mg/l avec une moyenne de  $0,79 \pm 0,58$ mg/l dans la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 0,19mg/l et 1,35mg/l avec une moyenne de  $0,87 \pm 0,42$  mg/l.

Ces résultats sont supérieurs aux normes fixées par l’OMS (2004) et le JORA (1993) qui est 0,2 mg/l et 0,5 mg/l.

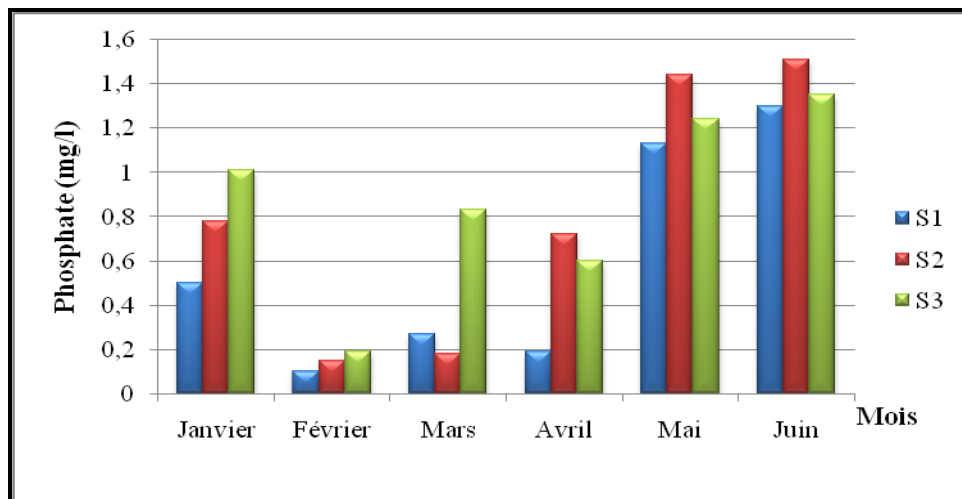


Figure N° 26: Variation mensuelle des Orthophosphates.

Ces résultats sont semblables à ceux de MAKHOUKH *et al.*, (2011) dans son étude sur les eaux de l’oued Moulouya au Maroc. Dans notre étude, cette disponibilité en

orthophosphates a été expliquée par les rejets urbains des agglomérations avoisinantes et le relargage du phosphore piégé en grande quantité dans les sédiments.

Le phosphore représente un élément biogène indispensable à la croissance des algues. Les teneurs élevées de cet élément dans les eaux de surface peuvent entraîner leur eutrophisation (VILAIN, 1989). Leurs variations saisonnières seraient due d'une part aux sources agricoles et domestiques (NEAL *et al.*, 2000 ; JONNALAGADDA *et* MHERE, 2001; PETRY *et al.*, 2002) et d'autre part à la libération du phosphore stocké dans les sédiments suite aux interactions entre l'eau et les sédiments (NEAL *et al.*, 2000 ; BOWES *et* HOUSE, 2001).

❖ **Demande Chimique en Oxygène (DCO) et Demande Biologique en Oxygène (DBO)**

Pour la DCO, les valeurs enregistrées varient entre 14,5mg d'O<sub>2</sub>/l et 92,89 mg d'O<sub>2</sub>/l avec une moyenne de 44,7 mg d'O<sub>2</sub>/l ± 32,95 mg d'O<sub>2</sub>/l dans la station 1 et entre 14,8 mg d'O<sub>2</sub>/l et 75,17 mg d'O<sub>2</sub>/l avec une moyenne de 40,06 mg d'O<sub>2</sub>/l ± 18 mg d'O<sub>2</sub>/l dans la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 6,5 mg d'O<sub>2</sub>/l et 14,1 mg d'O<sub>2</sub>/l avec une moyenne de 29,5 mg d'O<sub>2</sub>/l ± 29 mg d'O<sub>2</sub>/l (Voir Tableau n° III). Ces résultats sont supérieurs aux normes fixées par JORA (2011) qui est <30 mg d'O<sub>2</sub>/l.

Pour la DBO, les valeurs enregistrées sont comprises entre un minimum de 1,5 mg d'O<sub>2</sub>/l dans la station 3 et un maximum de 26,29 mg d'O<sub>2</sub>/l dans la 1<sup>ère</sup> station, avec une moyenne de 8,02± 1,94 mg d'O<sub>2</sub>/l mg/l pour les trois stations (Voire Tableau N°III).

La détermination de la DBO a pour but d'évaluer la nuisance due à la consommation de l'oxygène provoqué par le rejet des matières organiques biodégradables dans le milieu naturel (REJSEK, 2002).

**Tableau N°III:** Résultats des analyses de la DCO et DBO<sub>5</sub> (mg d'O<sub>2</sub>/l) pour les trois stations.

	DCO				DBO <sub>5</sub>					
	Min	Max	Moy	Ecart-type	Min	Max	Moy	Ecart-type	Norme (mg/l)	
<b>Station 1</b>	14,5	92,89	44,7	32,95	2,5	26,29	9,91	9,25	30	7
<b>Station 2</b>	14,8	75,17	40,06	18	1,95	21,31	8,12	7,28	(1)	(1)
<b>Station 3</b>	6,5	82,05	29,5	29	1,5	17,1	6,03	6		

JORA (2011)<sup>(1)</sup>.

Les valeurs élevées de la DCO et la DBO est un signe d'une pollution chimique et organique qui peut être dû aux rejets domestiques et aux affluents des industries qui sont riches en matières organiques et en substances nutritives provenant des agglomérations urbaines : Attatba, Berbessa, Oued El-Alleug et Koléa .Ce qui provoque un accroissement considérable de la charge organique des eaux superficielles dans un espace restreint.

❖ **Rapport DCO/DBO<sub>5</sub>**

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n° IV. Toutes les valeurs obtenues en calculant le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> sont entre 3 à 5, ce qui confirme que les eaux usées reçues au niveau de l'oued Mazafran sont moyennement biodégradables.

**Tableau N°IV : Résultats obtenus pour le rapport DCO/DBO<sub>5</sub>**

<b>DCO/DBO<sub>5</sub> (mg d'O<sub>2</sub>/l)</b>			
	Moy DCO	Moy DBO	DCO/DBO <sub>5</sub>
<b>S1</b>	44,7	9,91	4.51
<b>S2</b>	40,06	8,12	4,93
<b>S3</b>	29,5	6,03	4,89

❖ **Matière organique (M.O)**

D'après **DUSSAR (1966)**, les matières organiques dans les eaux représentent elles même une source essentielle de substances nutritives directement utilisables par la plupart des organismes.

Les valeurs de la matière organique enregistrées oscillent entre 13,05mg/l et 29,5mg/l avec une moyenne de  $21,27 \pm 7,14$ mg/l dans la station 1 et entre 11,11mg/l et 39,6mg/l avec une moyenne de  $23,83 \pm 11,73$ mg/l pour la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 11,92mg/l et 42,66mg/l avec une moyenne de  $25,08 \pm 13,56$  mg/l. (Voir Tableau N°V). Ces résultats sont supérieurs aux normes fixées par le **JORA (2011)** et l'**OMS (2004)** qui est <5 mg/l.

Selon les saisons, nous avons enregistré une augmentation des teneurs durant la saison sèche par rapport à la saison pluviale. L'augmentation des teneurs en M.O peut être expliquée par l'existence des rejets domestiques, de même que les activités agricoles et industrielles, qui

constituent une source importante de matière organique. Ainsi, l’Oued Mazafran se caractérise par la présence des espèces végétales et une faune riche et diversifiée.

Selon **NKAMBULE et al.(2008)**, dans les eaux naturelles, les matières organiques proviennent naturellement de la décomposition de la flore et de la faune aquatique.

**Tableau N°V:** Résultats obtenus pour la matière organique

M.O mg/l					
	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	Norme
<b>Station 1</b>	13,05	29,5	21,27	7,14	5
<b>Station 2</b>	11,11	39 ,6	23,83	11,73	
<b>Station 3</b>	11,92	42,66	25,08	13,56	

OMS (2004).

**II.1.4.Paramètres indésirables**

❖ **Fer**

Les valeurs du fer pour la station 1 varient entre 0,37 mg/l et 1 mg/l avec une moyenne de  $0,62 \pm 0,78$  mg/l et entre 0,5 mg/l et 1,2 mg/l avec une moyenne de  $0,72 \pm 0,28$ mg/l dans la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 0,25 mg/l et 1,5 mg/l avec une moyenne de  $1,01 \pm 0,5$  mg/l (Voir Tableau N°VI).

Les valeurs de fer sont légèrement supérieures aux normes fixées par le **JORA (2011)** et l’**OMS (2004)** qui est de 1 mg/l.

**Tableau N°VI:** Résultats obtenus pour le Fer

Fer (mg/l)					
	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	Norme
<b>Station 1</b>	0,37	1	0,62	0,78	1
<b>Station 2</b>	0, 5	1,2	0,72	0,28	
<b>Station 3</b>	0,25	1,5	1,01	0,5	

JORA (2011) et OMS (2004).



L'évolution spatiale des teneurs du fer suit un gradient croissant de l'amont S1 vers l'aval S3. Sa présence peut être expliquée par l'existence des effluents d'égouts et de la corrosion des canalisations métallique ainsi qu'aux rejets des secteurs industriels qui traitent le fer dans la zone industrielle de Mazafran « usine Robinetterie industrielle Maktaa Kheira Koléa".

## **II.2. Résultats des analyses microbiologiques**

Les résultats des analyses microbiologiques des eaux de surface échantillonnées dans les trois stations de l'oued Mazafran sont consignés dans le Tableau VIII en annexe II.

### **II.2.1. Germes indicateurs de contamination fécale**

#### **❖ Coliformes totaux (CT)**

Les coliformes totaux constituent un groupe hétérogène de bactéries d'origine fécale et environnementale. D'après la figure n° 27, les eaux de l'Oued Mazafran sont caractérisées par une présence importante en coliformes totaux comprise entre 5500 et 45500 UFC/100 ml avec une moyenne de  $23487,5 \pm 15313,63$  UFC/100 ml dans la station 1 et entre 4200 et 38000 UFC/100 ml avec une moyenne de  $18434,83 \pm 12890,95$  UFC/100 ml pour la station 2. Dans la station 3, leur nombre est compris entre 5000 et 47000 UFC/100 avec une moyenne de  $23605,83 \pm 16263,70$  UFC/100 ml.

Ces concentrations élevées en coliformes totaux, avec une augmentation importante observée dans la période sèche peuvent être due à la présence des matières organiques et l'élévation de la température qui accélère la multiplication et le développement des bactéries. Selon **SEVRINRE YSSAC et al ., (1995)**, la charge bactérienne est due à l'enrichissement des eaux par la matière organique, à l'abondance de l'oxygène dissout et à la température modérée qui rend le milieu favorable au développement bactérien.

Par contre, leur présence est faible au cours de la période froide (hiver) et cette diminution réside dans la dilution des eaux par l'apport des eaux pluviales.

En plus dans la station S3, on assiste à une légère élévation de la charge en CT qui résulte de l'accumulation de la pollution microbienne de l'amont vers l'aval (embouchure).

Ces teneurs élevées restent inférieurs aux normes fixées par l'**OMS (2004)** et le **JORA (1992)** qui est  $< 50000$  UFC/100ml.

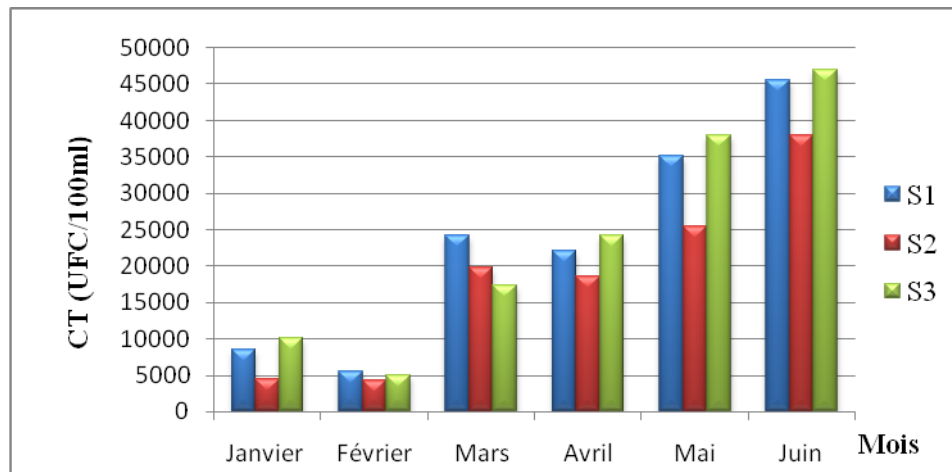


Figure 27: Variation mensuelle des coliformes totaux.

❖ **Coliformes fécaux CF**

Les concentrations en CF des eaux de l’oued Mazafran sont importantes. Elles oscillent entre 900 et 7500 UFC/100 ml avec une moyenne de  $4003,33 \pm 2529,96$  UFC/100 ml dans la station 1 et entre 1100 et 8500 UFC/100 ml avec une moyenne de  $4608,33 \pm 2828,48$  UFC/100 ml dans la station 2. Dans la station 3, leur nombre est compris entre 1500 et 9500 UFC/100 avec une moyenne de  $5250 \pm 3007,07$  UFC/100 (figure N° 28).

La concentration observée de ces indicateurs fécaux est due d’une part aux déjections d’origine animale ou humaine et la présence des mammifères (mouton, caprins, chiens etc...) et d’autre part aux rejets d’eaux usées domestiques non traitées dans l’oued ainsi que les débordements des réseaux d’égouts par temps de pluie (figure N° 29). Selon l’OMS (1997), les coliformes fécaux sont des indicateurs de contamination fécale des eaux. On les retrouve dans les eaux d’égouts ainsi que dans toutes les eaux naturelles et les sols ayant subi une contamination fécale récente.

Ces valeurs restent conforme aux normes des eaux de surface fixées par l’OMS (2004) et le JORA (1992) qui est  $< 20000$  UFC/100ml.

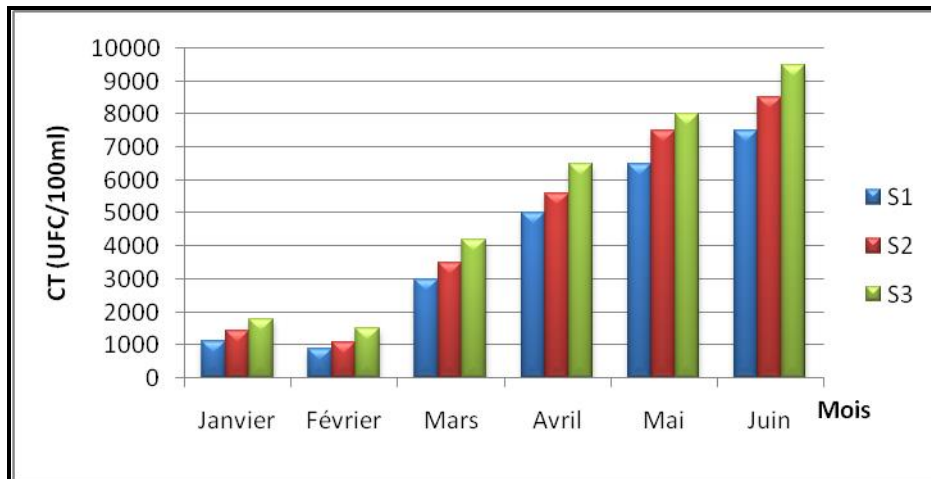


Figure 28: Variation mensuelle des coliformes fécaux.



Figure 29 : Origine de la pollution organique de l'Oued Mazafran.

La présence de ces indicateurs fécaux s'expliquera par le fait que ces germes ont trouvé les conditions du milieu favorables pour se multiplier (richesse en matières organiques biodégradables, température...) comme l'ont déjà signalé de nombreux auteurs dans leurs travaux citons ceux de **LARPENT** et **LARPENT-GOURGANT (1997)**; **RODIER(1996)** et **HASLAY et LECLERC (1993)**.

❖ **Streptocoques Fécaux (SF)**

Selon **GAUJOUS, (1995)**, ce sont des témoins de contamination fécale assez résistants, même dans les milieux salés. Ils peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9.6, on peut par conséquent les utiliser comme indicateurs d'organismes pathogènes qui ont une résistance similaire à un pH élevé (**PNUE/OMS, 1977**).

La concentration élevée en Streptocoques fécaux est due à la dessiccation et leur capacité à persister plus long temps dans l'eau (GLEESOW et GRAY, 1997).

D'après la figure n°30, les concentrations des Streptocoques fécaux sont moins importantes que celles notées pour les coliformes totaux et fécaux et les valeurs varient entre 1010 et 7215 UFC/100 ml avec une moyenne de  $3265,16 \pm 2512,13$  UFC/100 ml dans la station 1, entre 775 et 6585 UFC/100 ml avec une moyenne de  $2918,16 \pm 2377,40$  UFC/100 ml pour la station 2 et entre 1210 et 8297 UFC/100 avec une moyenne de  $4193,5 \pm 3245,21$  UFC/100 dans la station 3. Ces bactéries sont communément utilisées pour identifier une pollution d'origine fécale. Leur prolifération est due au déversement des matières organiques et des substances nutritives azotées (RODIER et al., 1984).

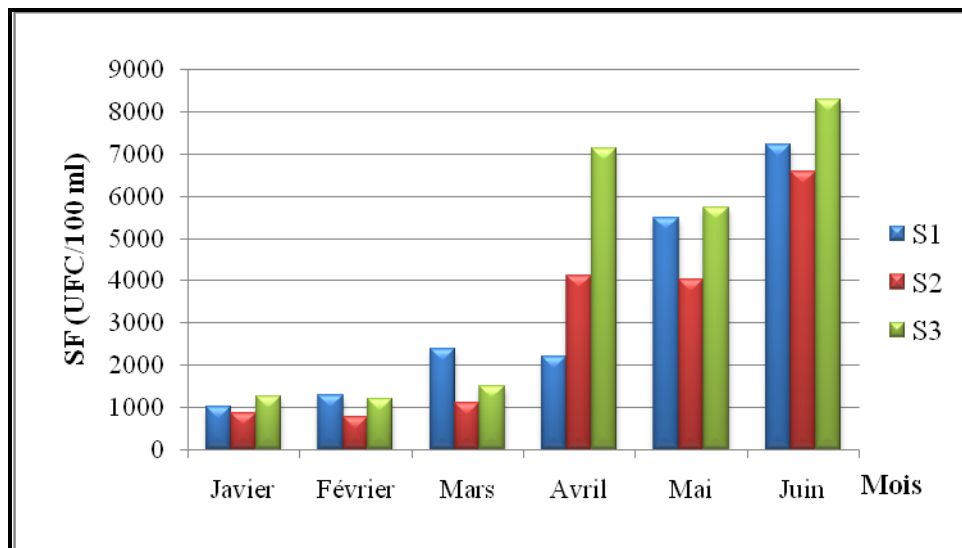


Figure 30: Variation mensuelle des Streptocoques fécaux

Les stations présentent des concentrations plus importantes pendant les derniers mois où une diminution du débit d'eau a été constatée au cours de nos sorties sur terrain. Selon EL-ADDOULI et al., (2009), les concentrations des streptocoques fécaux les plus élevées sont enregistrées en été et en automne par contre la diminution du nombre des Streptocoques fécaux est observée au printemps et en hiver .

Ces valeurs restent conforme aux normes des eaux de surface fixées par l'OMS (2004) et le JORA (1992) qui est <10000 UFC/100ml.

❖ Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Les spores d’anaérobie sulfito-réducteurs sont extrêmement persistantes dans l’environnement et résistantes aux processus de désinfection de l’eau. Par conséquent, leur valeur comme indicateur de contamination fécale a été mise en doute car les spores pourraient se trouver naturellement dans l’environnement ou représenter une source ancienne de contamination fécale (PITKANEN, 2010).

Les résultats de la recherche et du dénombrement des ASR ont montré que le nombre de spores dans les eaux de l’oued oscillent entre 20 et 560 spores/20 ml avec une moyenne de  $261,66 \pm 225,69$  spores/20 ml dans la station 1 et entre 30 et 620 spores/20 ml avec une moyenne de  $298,33 \pm 250,55$  spores/20 ml pour la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 60 et 850 spores/20 ml avec une moyenne de  $445 \pm 334,94$  spores/20 ml (Voir figure N°31).

Ces valeurs sont nettement supérieures aux normes des eaux de surface fixées par l’OMS (2004) et JORA (1992) qui est 00 Spores/20ml.

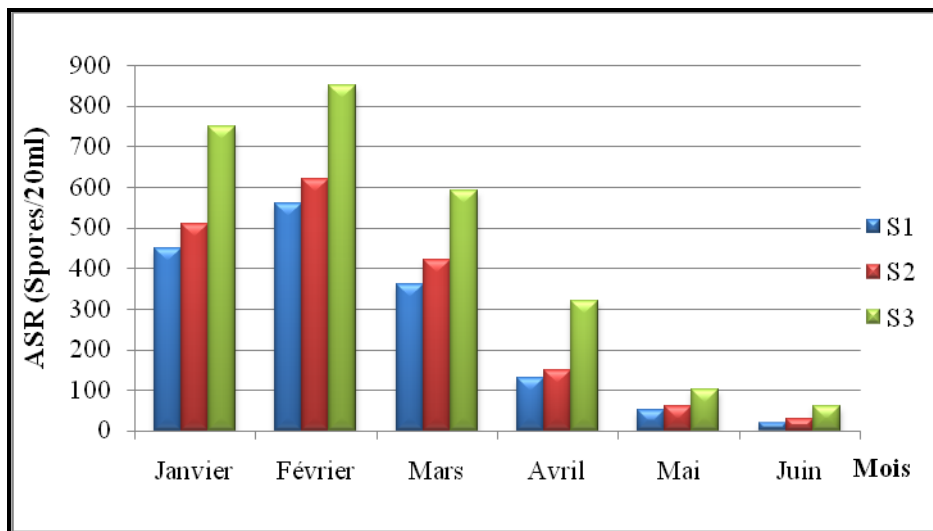


Figure N° 31: Variation mensuelle des ASR

Les concentrations élevées en ASR durant la période pluviale et leur chute en période sèche sont dues aux eaux de ruissellement qui mobilisent les dépôts sur les sols et peuvent aussi être à l’origine d’un phénomène de lessivage. Selon RODIER et al., (1996), les bactéries d’origine environnementale se développent principalement à des températures basses.

II.2.2.Germes pathogènes

❖ Salmonelles et vibrions

Durant cette étude, ce qui retient notre attention est l’absence totale des germes pathogènes. Aucun prélèvement ne s’est révélé positif ni pour les bactéries du genre *Salmonella* ni pour l’espèce *Vibrio cholerae* (Tableau VII en annexe II). Cette absence a été déjà mentionnée dans d’autres études similaires citons celles d’**ABOULKACEM et al., (2007)** et d’**EL ADDOULI et al.,(2011)**.

Selon **ABOULKACEM et al., (2007)**, ceci peut être expliqué soit par l’absence des porteurs asymptomatiques dans la population habitante dans cette région, soit par la difficulté de recherche de ces germes du fait que leur nombre est très faible par rapport aux germes banals.

II.3.Résultats de l’antibiorésistance

La recherche sur l’antibiorésistance d’*Escherichia coli* obtenus au cours de cette étude a permis de donner un aperçu sur le profil de l’antibiogramme d’*E. coli* présentes dans l’oued.

II.3.1.Isolement et identification d’*E. coli*

Sur les 25 isolats recueillis à partir des cultures des coliformes fécaux, après isolement et identification biochimique, 18 isolats se sont révélés des *E. coli* (72%) et 2 autres genres appartiennent aux coliformes fécaux, il s’agit d’*Enterobacter* et de *Klebsiella* (28%) (Figure N° 32).

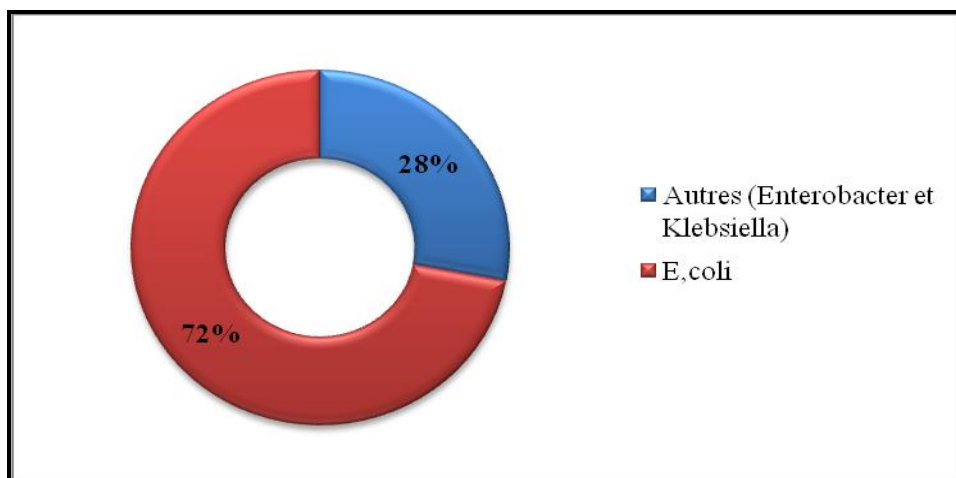


Figure N° 32: Répartition d’*E.coli* avec d’autres souches.

II.3.1.Résultats de l’antibiogramme

Nous avons effectué durant cette étude des antibiogrammes correspondant à dix huit souches d’*E. coli*, afin de déterminer sa sensibilité vis-à-vis de dix antibiotiques réparties entre les bêta-lactamines ( $\beta$ -lactamines) et d’autres familles d’ATB, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau N° IX en annexe II.

Nous avons noté que les souches d’*E. coli* isolées sont très sensibles (100%) vis-à-vis des antibiotiques suivants : Amikacine (AK 30), Céfotaxime (CTX 30), Céfoxitine (FOX 30), et Imipénème (IMP 10). Un faible taux de résistance de 5,55 % a été observé vis-à-vis de la Céfalotine (CZN 30) et de 11,11 % vis à vis de la Ciprofloxacine (CIP 5) et du Chloramphénicol (CHL 30).

D’après la figure 33, un pourcentage de résistance plus au moins élevée est obtenu vis à vis de la Colistine (CL 25) (44,44 %), Amoxicilline + Acide Clavulanique (AMC 20/10) et Ampicilline /Amoxiciline (AMP 10) (39,88 %) par rapport aux autres antibiotiques.

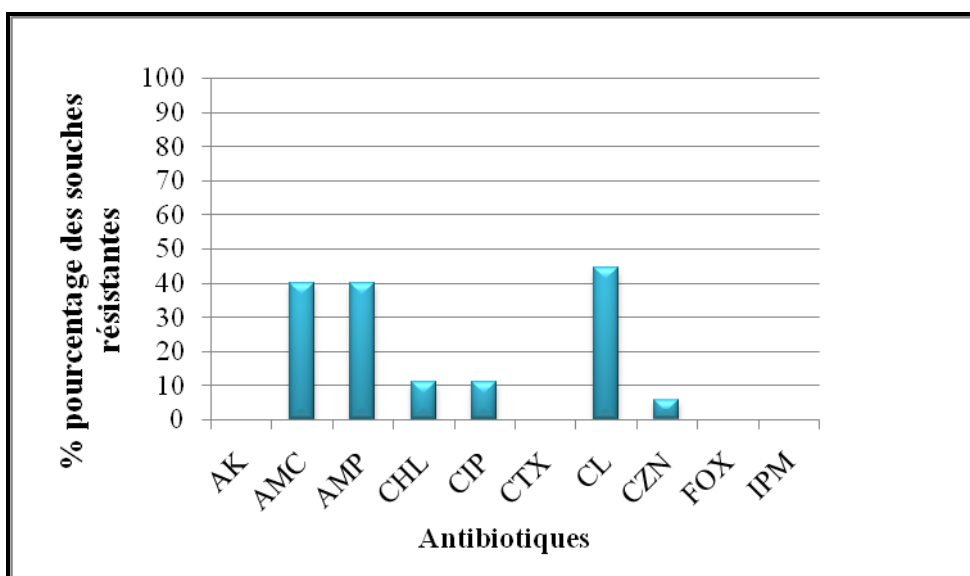
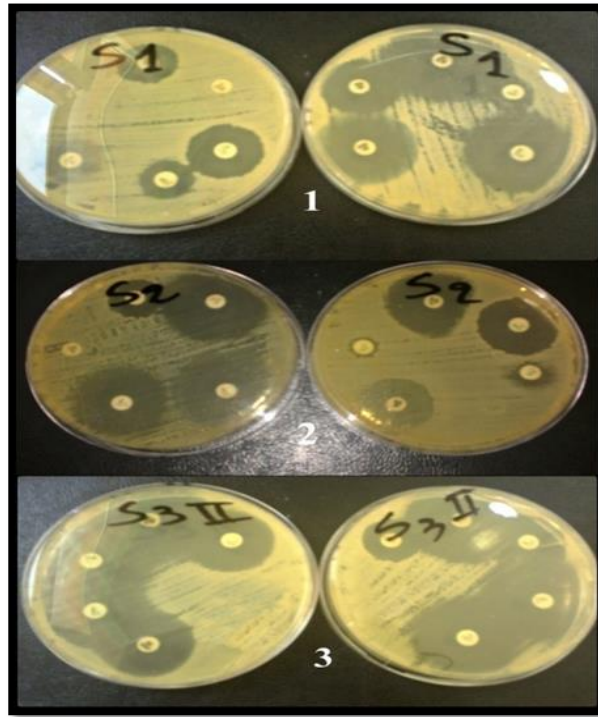


Figure N°33 : Pourcentage de la sensibilité et la résistance d’*E. coli* vis-à-vis des antibiotiques testés (n=18)

Nous avons noté qu’aucune souche n’a montré une image de synergie entre les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et l’acide Clavulanique traduisant ainsi une BLSE négative (BLSE<sup>-</sup>) (Voir photos N°: Figure 34).





**Figure N°34 :** Antibiogrammes des souches d'*E.coli*

L'absence de souches résistantes dans cette d'étude peut être expliquée par l'absence totale de rejets d'effluents des eaux usées hospitaliers dans l'oued qui sont l'une des sources de contamination en antibiotiques et en bactéries fécales résistantes. La zone est également pauvre en industries pharmaceutiques responsables de rejets de nombreux antibiotiques dans les cours d'eau récepteur. En effet, selon **DOLEJSKA et al., (2011)** et **LARSSON et al., (2007)**, les sources d'antibiotiques et autres agents antimicrobiens dans l'environnement sont les eaux usées humaines (principalement les effluents hospitaliers), l'élevage intensif, et les déchets de la fabrication de produits pharmaceutiques.

En se référant aux travaux de **PASSERAT et SERVAIS (2009)** sur les rivières du bassin de la Seine en France, les eaux usées hospitalières seraient principalement à l'origine de la présence de souches d'*E. coli* antibiorésistantes dans les rivières. Lorsqu'on s'intéresse au nombre d'antibiotiques auxquels les isolats résistent, on observe également une plus forte multirésistance de souches d'origine hospitalière. Celle-ci se manifeste d'une part au niveau de la fréquence des souches multirésistantes : 64 % des isolats d'effluents hospitaliers résistent à au moins deux antibiotiques contre 34 % dans les eaux usées municipales.

Le pourcentage d'isolats d'*E. coli* résistants à divers antibiotiques dans les effluents hospitaliers, domestiques et les rivières montrent que les *E. coli* isolées des rivières sont en majorité plus sensibles ou plus résistantes mais avec de très faibles pourcentages.

Car selon **HAENN et al., (2007)**, les souches des effluents hospitaliers résistent à des concentrations en antibiotiques plus élevées encore que celles des eaux usées municipales.

Dans l'environnement aquatique, de nombreuses études réalisées partout dans le monde dont les plus récentes ont montré que les entérobactéries notamment *Escherichia coli*, *Enterobacter* et *Salmonella* sont souvent isolées des eaux de rivières, des eaux usées et même d'eau potable, et présentent généralement un taux de résistance aux antibiotiques de plus en plus inquiétant (**NIEMI et al.,1983 ; BOON et CATTANACH, 1999 ; LAZAR et al., 2002**).

Il a été remarqué que les bactéries isolées des eaux les plus polluées présentaient des taux de résistance les plus élevés, comparés à ceux des souches d'origine hospitalière (**BELL, 1978 ; GOYAL et al., 1979 ; HAACK,2003 ; CARDONHA et al.,2004**).

Il est difficile d'établir de comparaisons directes avec nos résultats, en raison de différences dans les conditions de milieu d'étude ainsi que dans les antibiotiques étudiés.

## I.MATERIEL ET METHODES

Cette étude expérimentale réalisée sur une période de six mois de Janvier 2015 à Juin 2015 à raison d'un prélèvement par mois, a porté sur la caractérisation de la qualité physico-chimique et microbiologique des échantillons d'eau provenant de trois stations situées tout le long de l'Oued Mazafran (Wilayas de Blida et de Tipaza).

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été effectuées au niveau des laboratoires suivants : le laboratoire de la Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger (SEAA) et le laboratoire de microbiologie de l'Etablissement Public Hospitalier de Boufarik.

### I.1.Présentation de la zone d'étude

L'oued Mazafran prend naissance à la confluence des oueds Chiffa, Djer et Bou Roumi, traverse le massif du Sahel et de la plaine de la Mitidja avant de se jeter dans la Méditerranée, au Nord-Est de Koléa, Douaouda (ANRH , 2007) (Figures 2 ; 3 ; 4).

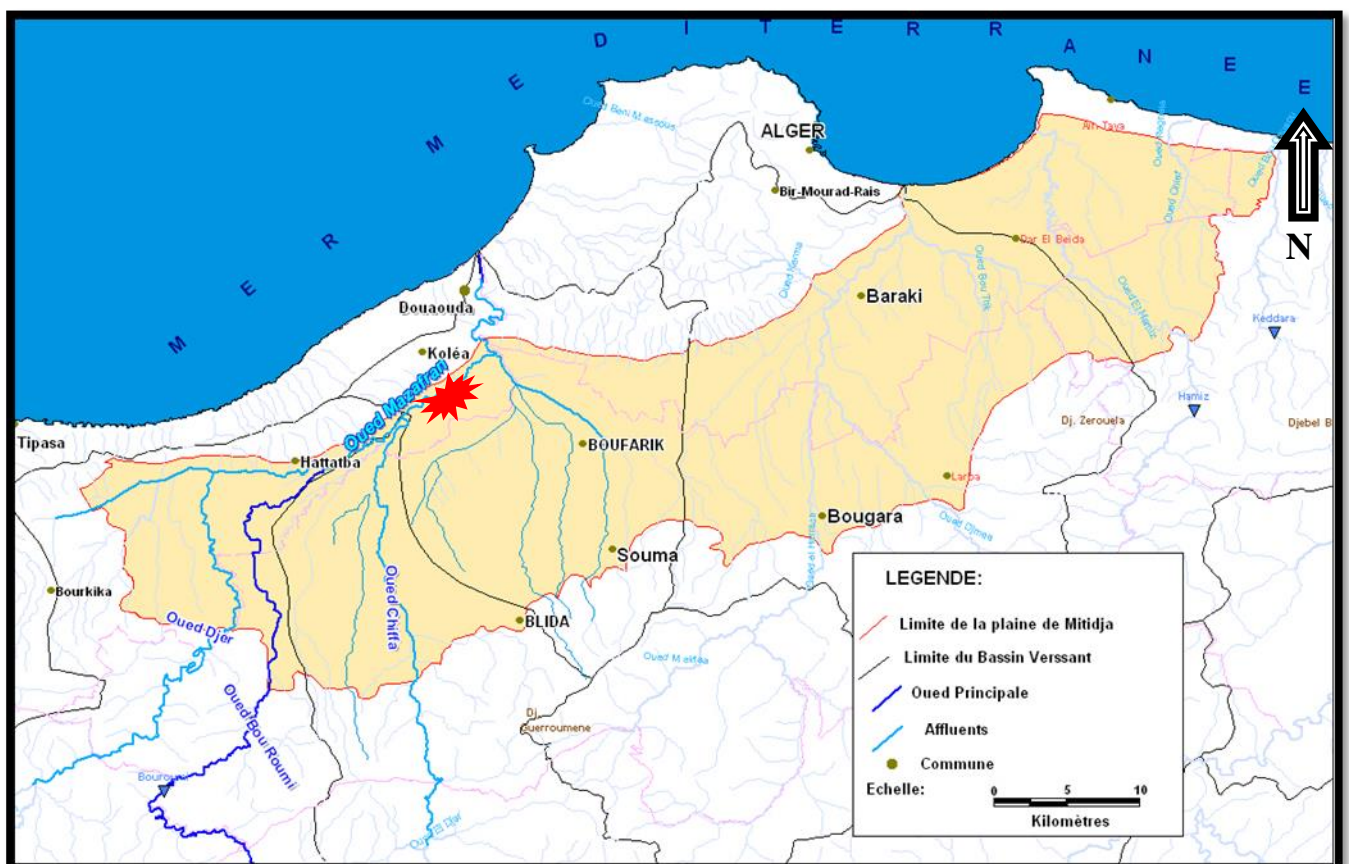


Figure N° 2 : Situation géographique de la zone d'étude (ANRH, 2015).

### **I.1.1. Contexte géologique**

Le secteur d'étude est subdivisé en deux grands ensembles identifiés par des caractéristiques morphologiques et géologiques spécifiques, on distingue :

- **Le sahel**

Il correspond à un ensemble de collines, formant la limite Nord de la plaine de la Mitidja où l'altitude moyenne est de 200 m (l'embouchure de l'Oued Mazafran à Douaouda).

Constitué un faciès gréseux et sableux.

- **La plaine de la Mitidja**

Au Sud du Sahel, elle s'étend sur une grande superficie. Elle est limitée par l'Atlas Blidéen au sud. Son altitude moyenne varie de 50 à 100 m. La pente au niveau de la plaine tend vers zéro ce qui favorise l'infiltration des eaux, là où les conditions géologiques le permettent. Nous rencontrons les oueds : Chiffa, Bouroumi et oued Djer et la grande partie de l'Oued Mazafran.

La formation de la plaine de Mitidja comprend des matériaux grossiers, graviers et galets avec des limons ou des argiles. On rencontre que les terrains bas de la plaine, sont constituées de limons gris et d'argiles limoneuses.

### **I.2. Choix des stations de prélèvement**

Le choix des stations de prélèvement a été effectué en fonction de la localisation et de l'accessibilité de ces dernières (en amont **S1** «Chiffa», au milieu **S2** «Koléa» et en aval **S3** «Douaouda»). Elles sont illustrées par la figure n°3.







Figure N°3 : Oued Mazafran

(a: Station 1 (S1), b: Station 2 (S2) et c: Station 3 (S3) )

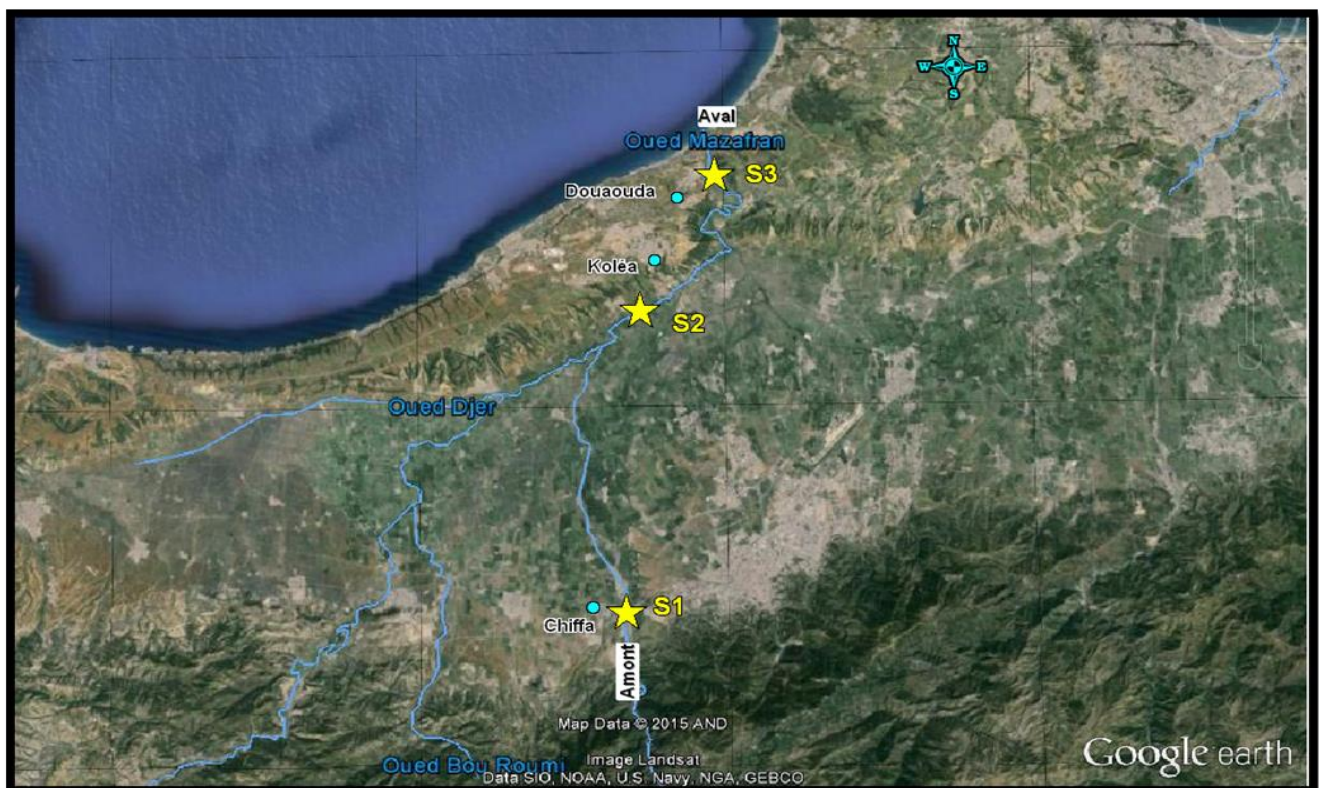
Figure 4 : Situation géographique des sites de prélèvements au niveau de l'Oued Mazafran  
(Google Earth, modifié)

Tableau N°I : Dates et les heures des prélèvements

Date des prélèvements	Heures		
	Station 1	Station 2	Station 3
10/01/2015	09 :30	10 :30	11 :00
14/02/2015	09 :30	10 :30	11 :00
14/03/2015	09 :00	10 :00	10 :30
14/04/2015	09 :15	10 :15	10 :45
10/05/2015	09 :30	10 :30	11 :00
10/06/2015	09 :30	10 :30	11 :00

### **I.3.Matériel**

Le matériel non biologique (appareillage, verrerie, solutions, réactifs et milieux de culture) est mentionné en annexe IV.

### **I.4.Méthodes**

#### **I.4.1. Méthodes d'échantillonnage**

L'étape d'échantillonnage influence directement la qualité des résultats obtenus. Il faut s'assurer de la méthode du prélèvement, de la conservation et du transport adéquat des échantillons.

##### **I.4.1.1.Prélèvement**

Des prélèvements destinés aux analyses ont été effectués à partir des trois stations d'étude :

- Dans des flacons en plastique, un volume de 1,5 litre est destiné aux analyses physico-chimiques.
- Dans des flacons en verre stérilisés, un volume de 500 ml et 250 ml sont destinés aux analyses microbiologiques.

Les échantillons sont transportés dans une glacière car il est conseillé de garder les échantillons à une température de 4°C et cela pour ralentir l'activité bactérienne (**AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983**).

#### **I.4.2. Analyses physico-chimiques**

La température a été mesurée in situ à l'aide d'un thermomètre. L'analyse de certains paramètres a été effectuée par dosage, comme celle de l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), les phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), les sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), le fer, la DCO et la demande biologique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ ) ainsi que le titrage de calcium et magnésium.

##### **✚ Paramètres physiques**

###### **○ Potentiel d'Hydrogène (pH)**

Nous avons suivi le mode opératoire suivant : (**Norme ISO 10523**)

- Environ 100ml d'eau à analyser a été prise.

- L'électrode est trempée dans un bûcher, préalablement rincé avec l'eau distillée et avec l'échantillon à analyser.
- La valeur de pH est notée après la stabilisation.

○ **Conductivité électrique**

La détermination est directe à l'aide d'un instrument approprié à la mesure de la conductivité électrique des solutions aqueuses.

Le mode opératoire est le suivant: (**Norme ISO 7888 / NA749**)

- Un bûcher est rempli avec une quantité d'eau suffisante pour l'immersion de l'électrode du conductimètre puis ce dernier est trempé dans le bûcher.
- La valeur de la conductivité est notée avec une unité de micro siemens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

○ **Turbidité (Norme Française : T90 - 033)**

La détermination de la turbidité est basée sur la comparaison de la lumière diffusée et la lumière transmise par l'échantillon d'eau à l'aide d'un turbidimètre (HACH 210N).

Pour tout échantillon d'eau, la mesure de la lumière diffusée et de la lumière transmise permet la détection de matières non dissoutes, absorbant mais diffusant mal, qui passeraient inaperçues par la seule mesure de la lumière diffusée.

Une cuvette est remplie avec l'échantillon à analyser bien homogénéisé. La valeur de turbidité est ensuite notée. La mesure est obtenue directement en Nephelometric Turbidity Unit (NTU).

○ **Oxygène dissous (ISO 5814)**

La détermination est directe à l'aide d'un instrument approprié. L'oxygène dissous a été quantifié par l'immersion d'une sonde métallique dans l'eau à analyser.

Le résultat est donné en concentration (milligramme d'Oxygène par litre) ou en taux de saturation (% d'Oxygène dissous).



### ✚ Paramètres de minéralisation globale

#### ○ Dosage du calcium par la méthode titrimétrique à l'EDTA

Le titrage des ions calcium se fait avec une solution aqueuse de l'Éthylène Diamine Tétracétique(EDTA) à un pH compris entre 12 et 13. L'indicateur utilisé est le murexide, qui forme un complexe rose avec le calcium. Lors du titrage, l'EDTA réagit avec les ions calcium, l'indicateur vire alors de la couleur rose à la couleur violet. Le mode opératoire est le suivant : **(Norme ISO 6058 NA 1655)**

- une quantité de 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 2N est ajoutée à 50 ml d'eau à analyser.
- une pincée d'indicateur coloré murexide est ajoutée en mélangeant le tout.
- le mélange a été titré avec la solution d'EDTA et le virage est atteint lorsque la couleur devient nettement violette.

#### Expression des résultats (calcul)

La teneur en calcium, est exprimée en mg/l, est donnée par l'équation suivante :

$$Ca = \frac{C_1 \cdot V_1 \cdot A}{V_0} * f_c * 1000 * F$$

**C<sub>1</sub>** : concentration de la solution EDTA exprimée en mole par litre (0.01M/l).

**V<sub>0</sub>** : volume de la prise d'essai en millilitre (50 ml).

**V<sub>1</sub>** : volume de la solution d'EDTA utilisé pour le dosage en millilitre.

**A** : masse atomique du calcium (40.08).

**f<sub>c</sub>** : facteur de correction du titre.

**F** : facteur de dilution.

#### ○ Somme du calcium et du magnésium par la méthode titrimétrique à l'EDTA

Le titrage molaire des ions calcium et magnésium se fait avec une solution aqueuse de l'EDTA à pH 10. L'indicateur utilisé est le noir érichrome, qui donne une couleur rose en présence des ions calcium et magnésium. Lors du titrage avec l'EDTA, la solution vire au bleu et s'exprime par le TH (titre hydrotimétrique) ou la dureté. Nous avons procédé selon les étapes suivantes : **(Norme ISO 6059 NA 752)**

- Une quantité de 4 ml de la solution tampon pH 10 est ajoutée à 50 ml d'eau à analyser.

- une pincée d'indicateur coloré noir érichrome est ajoutée, en remuant le mélange.
- le mélange a été titré immédiatement avec la solution d'EDTA et le virage est atteint lorsque la couleur devient nettement bleu.

**Expression des résultats (Calcul)**

La concentration totale en ions calcium et magnésium ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ), est exprimée en °F. Elle est calculée par la formule suivante :

$$\text{TH} = V_2 * 2 * f_c * F$$

**TH**: dureté exprimée en °F.

**V<sub>2</sub>** : volume d'échantillon dosé en millimètre.

**F<sub>c</sub>** : facteur de correction.

**F** : facteur de dilution.

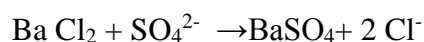
- **Détermination de la dureté magnésienne [TH (Mg)]**

On détermine la dureté calcique par différence :

$$\text{TH (Mg)} = (V_{\text{TH}} - V_{\text{Ca}}) \times 4,8 = \text{mg/l.}$$

- **Détermination des Sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ )**

Les ions sulfates se précipitent et passent à l'état de sulfate de baryum en présence de  $\text{BaCl}_2$ .



Le mode opératoire est le suivant : (**Rodier et al., 2005**)

- Une quantité de 20 ml d'eau à analyser est prise puis complétée à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Une quantité de 5 ml de la solution stabilisante et 2 ml de chlorure de baryum sont ajoutées sous agitation pendant 1 mn.
- La lecture s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 420 \text{ nm}$ .

**Expression des résultats**

La concentration des sulfates est exprimée en milligramme par litre.

**✚ Paramètres de pollution**○ **Azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )**

La mesure est spectrométrique (655 nm) du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium.

Le mode opératoire est le suivant : **(ISO N°7150)**

- Une quantité de 4 ml du réactif coloré (I) est ajoutée à 40 ml d'eau à analyser.
- Une quantité de 4 ml du réactif de dichloroisocyanurate de sodium (II) est rajoutée et ajusté à 50 ml avec  $\text{H}_2\text{O}$  distillée.
- Après 1h, l'apparition de la coloration verdâtre indique la présence de :  $\text{NH}_4^+$
- La lecture a été effectuée au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 655 \text{ nm}$ .

**Expression des résultats**

Le résultat est donné directement en mg/l.

○ **Dosage des nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) par la méthode colorimétrique**

Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N1 Naphthyl Éthylène Diamine Dichloride donne naissance à une coloration rose dont l'absorbance est mesurée à 543nm.

Le mode opératoire est le suivant : **(ISO 5667)**

- Une quantité de 1 ml de la solution de sulfanilamide a été ajoutée à 50 ml d'eau à analyser.
- Une agitation a eu lieu, avec un repos de 5min.
- Une quantité de 1 ml de la solution d'EDTA dichlorhydrate N – (1-Naphtyl)-éthylènediamine est rajoutée avec une faible agitation, avec un repos de 10min.
- L'apparition de la coloration rose indique la présence des nitrites  $\text{NO}_2^-$ .
- La lecture a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 543 nm.

**Expression des résultats**

Le résultat est donné directement en mg/l.

**○ Dosage des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) par la méthode de salicylate de sodium**

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosionate de sodium coloré en jaune et susceptible à un dosage colorimétrique. Les étapes du mode opératoire sont : **(NF T90-012)**

- Deux à trois gouttes de NaOH à 30 % sont ajoutés à 10 ml de l'échantillon à analyser.
- Une quantité de 1 ml de salicylate de sodium à 0,5 % a été rajoutée.
- Le mélange a été évaporé à sec au bain marie ou à l'étuve 75 - 88° C et laissé refroidir.
- Le résidu est repris avec l'ajout de 2 ml d'acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , tout en laissant reposer 10 min.
- Une quantité de 15 ml d'eau distillée est ajoutée puis une quantité de 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium a été rajoutée.
- La lecture est effectuée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 415 nm.

**Expression des résultats**

Le résultat est donné directement en mg/l.

**○ Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )**

Il y a formation d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium en milieu acide. Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption l'une vers 700 nm et l'autre plus importante à 880 nm. Nous avons procédé selon les étapes suivantes : **(ISO N° 6878)**

- Une quantité de 1 ml acide ascorbique et 2 ml du heptamolybdate d'ammonium sont ajoutés à 40 ml d'eau à analyser.
- Une agitation de quelques secondes a eu lieu, en attendant 10 min pour le virement de couleur.
  - Si aucune couleur n'est apparue, il n'y a pas de phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) et le résultat est inférieur à 0.09mg/l de phosphate.
  - Si une coloration bleue est apparue, une mesure au spectrophotomètre sera effectuée à une longueur d'onde de 880 nm.

**Expression des résultats**

Le résultat est donné directement en mg/l.

### ✚ Détermination de la Demande Chimique en Oxygène (DCO)

A des conditions définies, certaines matières contenues dans l'eau sont oxydées par un excès de dichromate de potassium, en milieu fortement acidifié par de l'acide sulfurique et en présence d'un catalyseur (sulfate d'argent) et de sulfate de mercure. L'excès de dichromate de potassium est dosé par le sulfate de fer et d'ammonium.

Le mode opératoire est le suivant : **(ISO 6060)**

- Une quantité de 10ml de l'échantillon est transférée dans le tube de l'appareil à reflux.
- Une quantité de 5ml de la solution de dichromate de potassium de concentration 0.04 mole/L est ajoutée.
- Une quantité de 15ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent est ajoutée, lentement et avec précaution en agitant soigneusement le contenu.
- Les réfrigérants ont été reliés aux tubes de l'appareil à reflux.
- Les tubes sont placés dans l'appareil à reflux pendant 2heures, la température du mélange réactionnel était de 150 C.
- Le réfrigérant a été rincé, avec un petit volume d'eau distillée.
- Le réfrigérant est enlevé, et le contenu est transversé dans un erlenmeyer et complété à 75ml avec de l'eau distillée.
- Deux à trois gouttes de l'indicateur coloré (ferroïne) sont rajoutées.
- L'excès de dichromate de ce contenu est titré avec le sulfate de fer et d'ammonium de concentration 0.12 mole/L.
- Le changement brusque de couleur bleu-vert au rouge-brun a été noté comme point de virage.

En parallèle, les deux essais suivants ont été effectués:

- Essai à blanc : le même protocole est suivi, mais en remplaçant l'échantillon de 10 ml par l'eau distillée.
- Essai témoin : pour chaque série d'essai, la technique a été vérifiée, de même que la pureté des réactifs par analyse de 10 ml de la solution étalon de référence (hydrogénophthalate de potassium référence KC8 H5 O4 de concentration 2.0824 mmole/L) en suivant le même protocole que pour la prise d'essai.

**Expression des résultats (Calcul)**

La DCO se calcule comme suit :

$$DCO = \frac{8000 \times C \times (V2 - V1)}{V0}$$

**C** : concentration de sulfate de fer et d'ammonium exprimée en mole/l (environ 0.12 mole/l).

**V0** : volume en ml de la prise d'essai avant dilution éventuelle.

**V2** : volume en ml de la solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisée pour l'essai à blanc.

**V1** : volume de la solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisée pour la détermination de l'échantillon en ml.

**8000** :  $\frac{1}{2}$  masse molaire de l'oxygène par l.

**✚ Demande biologique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)**

Le principe consiste au prétraitement de l'échantillon d'eau à analyser et à la dilution avec différentes quantités d'eau enrichie en oxygène dissous, et contenant un ensemencement de microorganismes aérobies, avec suppression de la nitrification l'Allyl Thio Urée (ATU).

Vu la difficulté pour choisir le degré de dilution exact pour la mesure de la DBO<sub>5</sub>, il est recommandé de conserver l'échantillon dans le congélateur à -18°C jusqu'à obtention des valeurs de la DCO servant à déterminer des intervalles caractéristiques pour le rapport R en fonction du type d'échantillon et cela à fin de calculer la valeur de la DBO<sub>5</sub> présumée.

Il est recommandé de choisir une valeur appropriée de R à partir du tableau pour calculer la valeur de DBO<sub>5</sub> attendue:

$$DBO_5 = R \cdot DCO$$

Nous avons procédé par le mode opératoire suivant : **(ISO 5813)**

- L'échantillon est porté à une température de 200°C.
- Une agitation a eu lieu afin d'éliminer une éventuelle saturation en oxygène.
- Un volume connu de l'échantillon est versé dans un flacon,
- Le DBO mètre SKALAR sr 50 a été programmé
- Le rinçage des tuyaux et de la sonde est effectué automatiquement par l'appareil.

- Une quantité de 2ml d'ATU est ajoutée dans chaque flacon et complétée avec l'eau de dilution en laissant déborder légèrement.
- Le contenu des flacons est agité afin d'éliminer les bulles d'air adhérentes aux parois.
- La concentration en oxygène dissous est mesurée dans chacun des flacons au temps zéro.
- Les flacons sont bouchés en prenant soin de ne pas piéger des bulles d'air.
- Les flacons sont placés dans l'incubateur à 20°C et laissés à l'obscurité pendant 5 jours ± 4 heures.
- Après incubation, la concentration en oxygène dissous est mesurée dans chacun des flacons à l'aide de la sonde de l'oxymètre HQ 40d.

En parallèle:

- L'essai à blanc : un essai à blanc a été réalisé parallèlement à l'analyse de l'échantillon en utilisant l'eau de dilutionensemencée et 2 mg de solution d'ATU.
- Le contrôle : un contrôle de l'eau de dilutionensemencée, de l'eau d'ensemencement et de la technique de l'analyse, a été effectué pour chaque série d'échantillon en versant 20 ml de la solution de contrôle d'acide glutamique glucose dans le flacon de dilution en ajoutant 2 ml de solution d'ATU et en complétant à 1000 ml avec l'eau de dilutionensemencée.

### Expression des résultats

La DBO est calculée pour les solutions d'essai l'orsque la condition suivante est satisfaite :

$$\frac{P1}{3} \leq (P1 - P2) \leq \frac{2P1}{3}$$

Où :

**P1** : concentration d'oxygène dissous dans une des solutions d'essai zéro en mg/l

**P2** : concentration d'oxygène dissous de la même solution d'essai après n jours, en utilisant l'équation :

$$DBO_n = [(P1 - P2) - \frac{Vt - Ve}{Vt} * (P3 - P4)] * \frac{Vt}{Vech}$$

Où :

**P1** : concentration d'oxygène dissous dans une des solutions d'essai (le zéro) en mg/l.



**P2** : concentration d'oxygène dissous de la même solution d'essai après n jours en mg/l.

**P3** : concentration d'oxygène dissous de la solution du blanc au temps zéro en mg/l.

**P4** : concentration d'oxygène dissous de la solution du blanc après n jours en mg/l.

**Vech** : volume de l'échantillon utilisé pour la préparation de la solution d'essai concernée en ml.

**Vt** : volume total de cette solution d'essai en ml.

### **Matière organique**

On chauffe un échantillon en présence d'une quantité connue de permanganate de potassium et de l'acide sulfurique pendant une période donnée (10 min). Il y a réduction d'une partie du permanganate par les matières oxydables présentes dans l'échantillon.

La détermination de l'excès de permanganate est réalisée par addition d'une solution d'oxalate, suivi par un titrage de l'oxalate en excès par le permanganate.

Le protocole expérimental est le suivant : **(ISO8467)**

- À l'aide d'une pipette, 100 ml d'échantillon sont transférés dans un bécher de 250 ml.
- Une quantité de 20 ml d'acide sulfurique (2 mol/l) est ajoutée en mélangeant avec des billes en verre et en agitant doucement.
- Le bécher est placé sur une plaque chauffante et porté à ébullition.
- Après 5min, 20ml de solution étalon de permanganate de potassium (2 millimoles/l) est ajoutée.
- Après 10 min, 20 ml de solution étalon d'oxalate de sodium (5 millimoles/l) sont rajoutés en attendant la décoloration de la solution.
- Le bécher est retiré de la plaque puis titré à chaud avec la solution de permanganate de potassium (2 millimoles/l) jusqu'à obtention d'une coloration rose pâle persistante, à environ 30 s, le volume  $V_1$  de permanganate consommé est noté.
- Parallèlement, un essai à blanc est réalisé en utilisant le même mode opératoire, mais en remplaçant la prise d'essai par 100 ml d'eau distillée.
- Le volume  $V_0$  de la solution de permanganate consommé est noté.

#### **Expression des résultats :**

L'indice de permanganate (X) exprimé en milligrammes d'oxygène par litre de l'échantillon est donné par l'expression suivante:

$$X = \frac{V_1 - V_2}{V_3} * \frac{C}{V_s} * V_4 * f * 16$$

Où :

$V_1$  : Volume de  $KMnO_4$  à 2mmol/l (échantillon).

$V_2$ : Volume  $KMnO_4$  à 2mmol/l (blanc :  $H_2O$  distillée).

$V_3$ : Volume de la solution de permanganate de potassium utilisée pour le titrage de la solution de permanganate de potassium.

$V_4$ : Volume de la solution d'oxalate de sodium utilisée pour le titrage de la solution de permanganate de potassium.

$C$  : Concentration de la solution d'oxalate de sodium à 5mmol/l

$V_s$  : Volume de la prise d'essai de l'échantillon.

$f$  : Facteur de dilution éventuel de l'échantillon avant analyse.

Ainsi:  $V_4 = 20ml$  ;  $V_s = 100ml$  ;  $C = 5 \text{ mmol/l}$

L'expression devient :

$$x = \frac{V_1 - V_2}{V_3} * f * 16$$

#### Paramètres indésirables

##### ○ Dosage du fer par la méthode d'orthophénanthroline

Les ions  $Fe^{3+}$  se réduisent en  $Fe^{2+}$  en présence du chlorhydrate d'hydroxylamine. Ces ions ferreux sont dosés colorimétriquement par la phénanthroline. Le complexe obtenu est de couleur rouge- orange, stable à  $2.5 < pH < 9$ . La détection est limitée à  $0.01 < c < 5 \text{ mg/l}$ .

Le procédé opératoire est le suivant : **(ISO 6332)**

- Une quantité de 1 ml de la solution d'acide chlorhydrique 1N (HCl) et 5 ml de solution persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) sont ajoutées à 50 ml de l'échantillon à analyser.
- La solution est Chauffée jusqu'à ébullition pendant 20min.
- Une quantité de 1 ml de Chlorhydrate d'hydroxylamine et de 2 ml de solution tampon Acétate ( $CH_3COONH_4$ ) ainsi que 2 ml de Phénanthroline( $C_{20}H_{14}O_4$ ) ont été rajoutées à la solution. Cette dernière a été laissée à l'abri de la lumière 15 mn.
- La lecture s'effectue au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda = 510 \text{ nm}$ .

#### Expressions des résultats

Le résultat est donné en mg/l.

**I.4.2.2. Analyses microbiologiques**

L'objectif de ce type d'analyse n'est pas de faire un inventaire de toutes les espèces présentes dans les eaux mais le but est de:

- Rechercher et dénombrer les bactéries indicatrices de contamination fécale,
- Rechercher certaines bactéries pathogènes,
- Apprécier la qualité bactériologique des eaux.

**✚ Choix de dilution (Dilutions décimales)**

Le choix du degré de dilution est basé essentiellement sur la charge microbienne de l'eau à analyser. A l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, on prend 1 ml de l'échantillon d'eau à analyser puis on introduit aseptiquement dans un flacon et on complète à 10 ml par de l'eau distillée stérile. Le flacon est fermé et agité, cette dilution est alors de 1/10 ou  $10^{-1}$ , de la même façon prendre par la suite 1 ml et le transférer dans un deuxième flacon afin d'obtenir une dilution de  $10^{-2}$ . Ces étapes sont répétées jusqu'à obtention de la dilution adéquate.

**A. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale****○ Recherche et dénombrement des coliformes par filtration sur membrane**

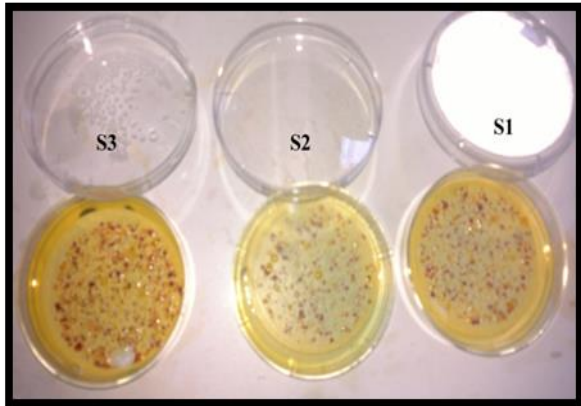
Nous avons procédé selon les étapes suivantes :

- La surface supérieure de la rampe de filtration et la plaque poreuse, ont été stérilisées puis refroidies.
- Une membrane de porosité de  $0,45 \mu\text{m}$  est posée sur la plaque poreuse de la rampe de filtration à l'aide d'une pince stérile.
- Le flacon d'eau à analyser (100ml) est agité soigneusement et verser stérilement.
- Le robinet de la rampe est ouvert pour laisser l'eau s'écouler.
- Dès que la quantité d'eau est filtrée, la membrane est prélevée et déposée sur le milieu Gélose Tergitol, avec une pince stérile, en prêtant attention à ne pas piéger des bulles d'air (Voir figure N°35, annexe VI).
- L'incubation est à :
  - $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures pour les boîtes de pétri qui serviront à la recherche des coliformes totaux.

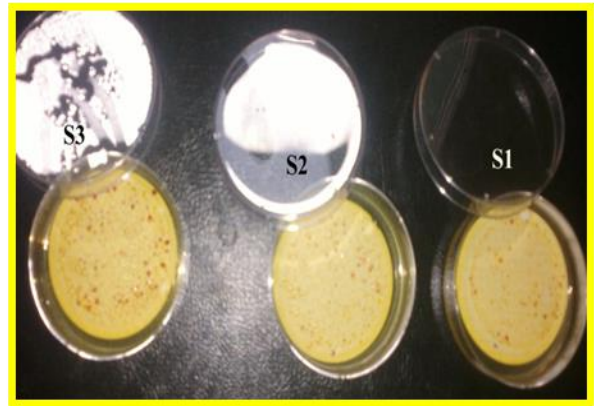
- 44°C pendant 24 heures pour les boîtes qui serviront à la recherche des coliformes fécaux.

**Lecture**

Après incubation, les colonies des coliformes totaux et fécaux sont dénombrées. Elles apparaissent sous forme de petites colonies rouge pour les totaux et sous forme de petites colonies jaune orangé, lisses, légèrement bombées pour les fécaux (Voir figure N°5 et N° 6).



**Figure N°5 :** Colonies des coliformes après incubation à 37°C.



**Figure N°6 :** Colonies de coliformes fécaux après incubation 44°C.

**Expression des résultats**

- ✚ Le résultat est donné en nombre de germes par 100ml.

(Norme ISO 9308-1)

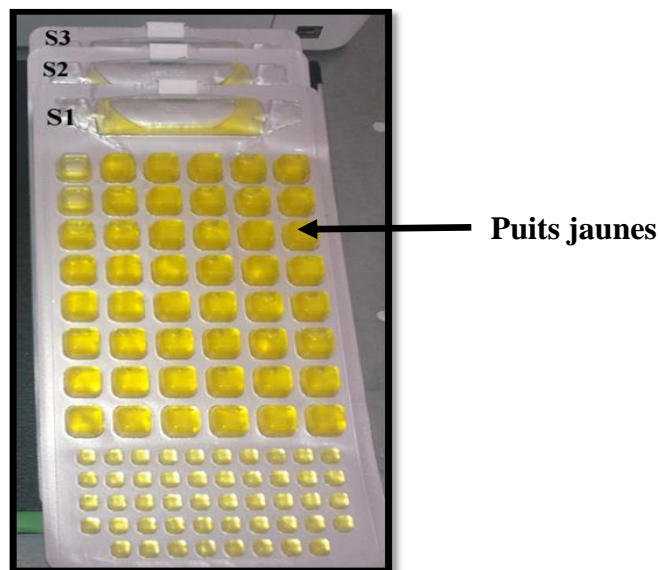
**❖ Dénombrement d'*Escherichia coli* par la méthode Colilert-18**

Ce test est basé sur la combinaison de substrats chromogénique et fluorogénique qui permet la détection de la quantité totale de coliformes et la présence de la bactérie *E. coli*.

- ❖ Les coliformes utilisent leur enzyme qui est la  $\beta$  galactosidase pour métaboliser l'ONPG (ortho-nitrophényl  $\beta$ -D-galactopyranoside) qui vire alors de l'incolore au jaune Voir figure N°36, annexe VI)

La bactérie *E. coli* utilise la  $\beta$ -glucuronidase pour métaboliser le MUG (4-méthyl-umbelliferyl  $\beta$ -D-glucuronide) et produire une fluorescence bleue dans le milieu lorsque ce dernier est éclairé avec un éclairage fluorescent. Les étapes sont :

- L'échantillon ramené à température ambiante est homogénéisé.
- Un contenu d'une dosette du réactif Colilert18 est ajouté à 100 ml d'eau à analyser.
- Une homogénéisation a eu lieu afin d'éviter la production de mousse et la dissolution complète du réactif.
- Une quantité de 100 ml du mélange réactif / échantillon est versée dans le plateau Quanti-Try en prenant soin d'éviter tout contact des mains ou du flacon avec l'intérieur de la pochette.
- Les plateaux sont scellés dans le Quanti-TraySealer, puis Incubés (les puits vers le haut) à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2$  pendant  $18 \text{ h} \pm 4$  (Voir figure N°7).

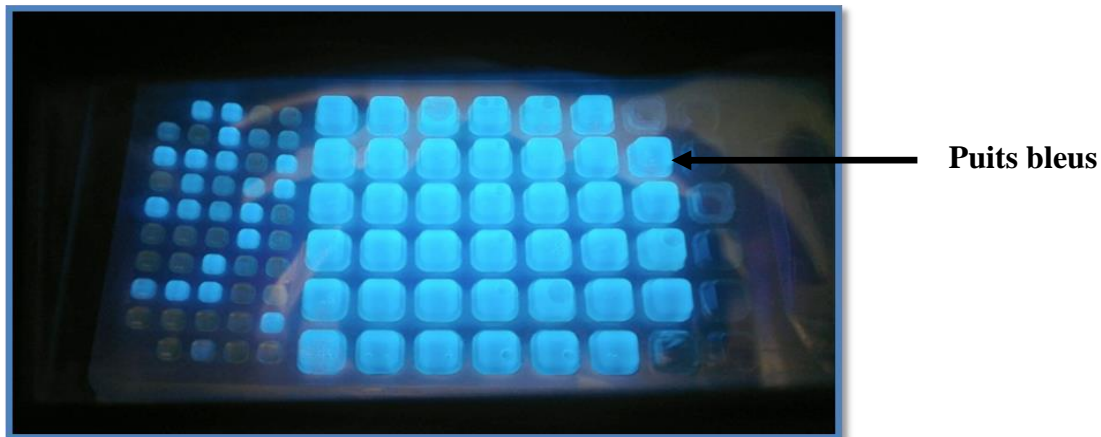


**Figure N°7 : Colilert avant incubation.**

#### **✚ Lecture et interprétation**

Les puits positifs sont dénombrés selon l'interprétation ci-dessous :

- Les puits présentant une couleur jaune indiquent la présence des coliformes totaux dans l'échantillon.
- Les puits présentant une couleur jaune/fluorescence bleue sous la lampe UV indiquent la présence d'*E.coli* dans l'échantillon (Voir figure N°8).



**Figure N°8** : Colilert pour E.coli après incubation sous la lampe UV.

#### ❖ **Dénombrement des Entérocoques (Méthode Alternative IDEXX / Entérofert-E)**

Ce test est basé sur l'utilisation de substrat fluorogénique qui permet la détection de la quantité total d'entérocoque.

Les entérocoques utilisent leur enzyme qui est la  $\beta$ -glucosidase pour métaboliser le MUD (4-méthyl-umbelliferyl  $\beta$ -D-glucoside) et produire une fluorescence. Les étapes du protocole sont : (**Norme ISO 9308-1**)

- L'échantillon ramené à température ambiante est homogénéisé.
- Un contenu d'une dosette du réactif Enterofert1-E est ajouté à 100 ml d'eau à analyser.
- Une homogénéisation a eu lieu afin d'éviter la production de mousse et la dissolution complète du réactif.
- Une quantité de 100 ml du mélange réactif / échantillon est versée dans le plateau Quanti-Try.
- Les plateaux sont scellés dans le Quanti-Tray Sealer, puis incubés les puits vers le haut à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2$  pendant  $18 \text{ h} \pm 4$  (Voir figure N°37, annexe VI).

#### ✚ **Lecture et interprétation**

Les puits positifs sont dénombrés selon l'interprétation suivante :

Les puits bleus (fluorescence bleue) sous la lampe UV sont considérés comme positifs indiquant la présence d'Entérocoques dans l'échantillon (Voir figure N°9 et N°10).



**Figure N°9 :** Entérolert-E avant incubation



**Figure N°10 :** Entérolert-E après incubation sous la lampe UV

#### ❖ Recherche et dénombrement des spores d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs Sur milieu liquide

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram +, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne le sulfure de fer ( $\text{Fe}_s$ ) qui est de couleur noire. Le mode opératoire est le suivant :

- Environ 25 ml d'eau à analyser est prise dans un tube stérile, qui est par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de  $80^\circ\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage et refroidissement immédiat du tube en question sous l'eau de robinet, le contenu de ce dernier est partagé dans 4 tubes stériles à raison de 5 ml par tube.
- Environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium sont ajoutées.
- Le milieu a été doucement mélangé en évitant la formation des bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.



- Les tubes sont laissés sur paillasse pour se solidifier pendant 30 minutes environ, puis incubés à 37°C, pendant 24 à 48 heures (Voir figure N°38, annexe VI).

#### ✚ Lecture

- La première lecture est faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes, la deuxième lecture sera faite après 24 heures et la troisième après 48 heures.
- Toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse a été dénombrée (Voir figure N°11).



Figure N° 11 : Colonies des ASR

#### ✚ Expression des résultats

Il est donc impératif de repérer et de dénombrer toutes les colonies noires poussant en masse et de rapporter le total des colonies à 20 ml d'eau à analyser. (RODIER *et al.*, 2005)

### B. Recherche des germes pathogènes

#### ❖ Recherche des Salmonelles

La recherche des salmonelles se fait en quatre étapes (Voir figure N°39, annexe VI).

#### Jour 1 : Premier enrichissement

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu de Sélénite – Cystéiné SFBD/C réparti à raison de 100 ml par flacon. Ce dernier seraensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, la solution obtenue est appelée SFB<sub>1</sub>.

L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures.

**Jour 2** :Deuxième enrichissement et isolement.

La solution SFB<sub>I</sub> a fait l'objet :

- D'une part, un deuxième enrichissement (SFB<sub>II</sub>) est ensemencé à raison de 1 ml SFB<sub>I</sub> dans un tube Sélénite – Cystéiné SFB. La solution obtenue est appelée SFB<sub>II</sub>.
- D'autre part, un isolement sur gélose Hektoen (H<sub>1</sub>) sera réalisé.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

**Jour 3** :Troisième enrichissement et isolement.

La solution SFB<sub>II</sub> a fait l'objet :

- D'une part, d'un troisième enrichissement (SFB<sub>III</sub>) qui a été ensemencé à raison de 1 ml SFB<sub>II</sub> dans un tube Sélénite – Cystéiné SFB. La solution obtenue est appelée SFB<sub>III</sub>.
- D'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoen (H<sub>2</sub>), avec une incubation qui se fait à 37°C pendant 24 h.
- La gélose (H<sub>1</sub>) a subi une lecture.

**Jour 4** : Lecture des boites

La boite de gélose Hektoen a subi une lecture en tenant compte du fait que les Salmonelles se présentent le plus souvent sous forme de colonies grises bleues à centre noir ou vertes bleues avec ou sans centre noire d'une taille très petite.

**❖ Recherche des Vibrions cholérique**

Le mode opératoire est le suivant (Voir figure N°40, annexe VI):

**Jour 1.**Le premier enrichissement a été effectué sur le milieu Eau Peptonée Alcaline 10 fois concentré réparti à raison de 50 ml par flacon auquel sont ajouté aseptiquement 200 ml d'eau à analyser. Ce dernier (EPA<sub>I</sub>) sera par la suite incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

**Jour 2.**Deuxième enrichissement et isolement.

Ce flacon a fait l'objet :

- D'une part, un deuxième enrichissement sur milieu EPA est ensemencé à raison de 1 ml EPA<sub>I</sub> dans un tube Sélénite – Cystéiné EPA. La solution obtenue est appelée EPA<sub>II</sub>.
- D'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB 1.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

**Jour 3.**Isolement et lecture des boites

- Le tube d'EPA<sub>II</sub> a fait l'objet d'un isolement sur GNAB 2
- La boite de gélose GNAB 1 subira une lecture.

**Jour 4.** Lecture des boites

La boite de gélose GNAB 2 a subi une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques.

**I.4.3.Examen bactériologique pour l'antibiorésistance d'*Escherichia coli***

L'examen bactériologique de quelques souches d'*Escherichia coli* isolées des eaux de l'Oued Mazafran a permis l'isolement, la purification et l'identification de cette bactérie.

** Isolement et identification**

Quelques isolats obtenus après la culture des coliformes fécaux sont pris et ensemencés sur milieu Hektoen. Cet ensemencement est réalisé par étalement en surface à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.

L'incubation se fait à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

**Lecture**

La présence de colonies jaune saumon rondes, lisses, à contours réguliers ayant parfois un aspect muqueux, de 2 à 3 mm de diamètre non pigmentées a été observée.

Après une lecture morphologique, Les colonies sont repiquées plusieurs fois sur le même milieu (Hektoen), jusqu'à purification.



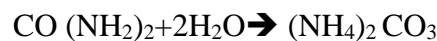
**Figure N°12 :** Colonies d'*E.coli* pur.

#### **✚ Identification biochimique par la mini-galerie classique**

Deux tests biochimiques ont été faits dans des milieux stériles contenus dans des tubes à vis prêts à l'emploi, de type gélose inclinée ou liquide.

##### ○ **Milieu Urée-Indole**

C'est un milieu synthétique, utilisé pour la recherche de l'uréase, le tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole. En présence de cette enzyme, l'urée est transformée en carbonate d'ammonium selon la réaction suivante :



##### ○ **Production de l'uréase**

Pour la mise en évidence d'une uréase, on ensemence une colonie dans le milieu Urée-Indole. On incube à 37°C pendant 18 à 24h.

#### **Lecture**

- La présence d'une uréase est indiquée par le virage du rouge de phénol d'un jaune orange à rose ou rouge vif.
- Uréase négative : pas de virage.

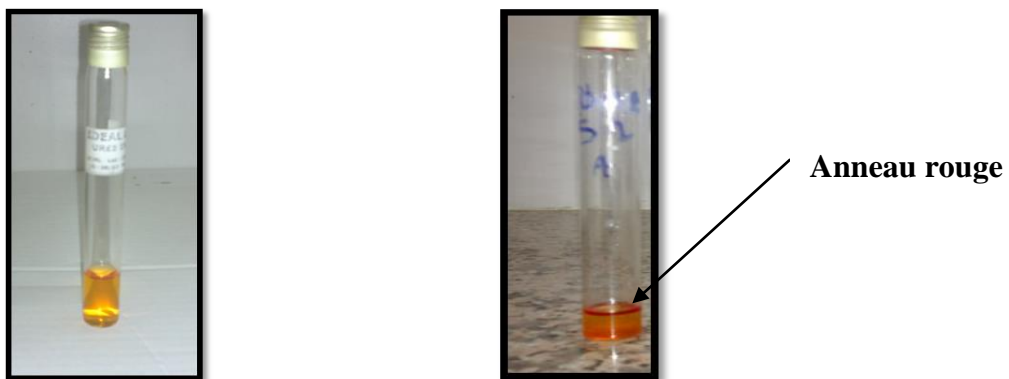
**○ Production d'indole**

L'indole est obtenu de la dégradation du tryptophane, grâce à une enzyme bactérienne « la tryptophanase ».

Pour la recherche de l'indole, après 24h d'incubation urée –indole à 37°C, quelques gouttes du réactif de Kovacs ont été rajoutées.

**Lecture**

Indole positif : formation d'un anneau rouge en surface.



**Figure N° 13 :** Milieu Urée Indole avant et après incubation.

**○ Milieu Triple-Suger-Iron (TSI)**

C'est un milieu de culture différentiel qui permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

Une colonie prélevée d'un milieu d'isolement sélectif, a été ensemencée sur le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.

Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, si non les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser.

Incubation à 37°C pendant 24 heures

**Lecture**

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

- Fermentation de glucose

Culot rouge : glucose non fermenté

Culot jaune : glucose fermenté

- Fermentation du lactose et/ou du saccharose

Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés

Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

- Production de gaz

Apparition de gaz dans le culot.

- Formation d'H<sub>2</sub>S

Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.



**Figure N° 14:** Milieu TSI avant et après incubation.

### **Antibiogramme**

La méthode la plus employée est celle de la diffusion en gélose qui peut se faire simultanément avec plusieurs disques contenant des antibiotiques différents. Le résultat de l'antibiogramme indique si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis des antibiotiques testés. Nous avons utilisé la souche de référence (*E.coli* ATCC 25922).

Le milieu utilisé est :

- ✓ Gélose Mueller-Hinton coulée en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm ;
- ✓ Les géloses sont prés séchées avant l'emploi.
- **Inoculum**
- ✓ A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, quelques colonies ont été raclées bien isolées et parfaitement identiques ;
- ✓ L'anse a été déchargé dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à 0,5 MC Farland ou à une D .O de (0,08 à 0 ; 10) à 625 nm ;

- ✓ L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- ✓ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suit la préparation de l'inoculum.

- **Ensemencement :**

- ✓ Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne ;
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;
- ✓ L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées ;
- ✓ L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois ;
- ✓ Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- **Application des disques d'antibiotiques :**

Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.

Pour la liste des disques d'antibiotiques à tester, selon la bactérie isolée (voir Tableau IX en annexe III)

**Incubation :**

- 18 heures à 35° C

**Lecture :**

Mesurer avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique ; puis Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture en annexe; Classifier la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire, ou résistante.

(RAHAL *et al.*, 2001).

- **Recherche de la  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les *E.coli***

La BLSE peut être synthétisée par la plus part des entérobactéries et se traduit le plus souvent par une image de synergie (bouchon de champagne) entre un disque de céphalosporine de troisième génération, et un disque d'amoxicilline + ac.clavulanique.



Mais cette image peut être discrète ou atypique. La sécrétion de BLSE sera suspectée devant toute diminution de diamètre d'inhibition autour des céphalosporines C3G : CTX < ou = 27mm, CAZ < ou = 22mm, CRO < ou = 25mm, AMC < ou = 27mm.

La présence d'une BLSE implique que la souche est résistante à toutes les  $\beta$ -lactamines sauf à l'imipénème et céphamycines.

### **I.5. Analyse statistique**

Dans cette étude, nous avons utilisé Excel 2007 pour calculer la moyenne et l'écart-type ( $M \pm EC$ ).

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique ainsi que l'étude du profil de résistance d'*Escherichia coli* des eaux échantillonnées à partir de l'oued Mazafran. Ce dernier reçoit des rejets d'origine domestique et industrielle via les différents affluents.

Les résultats obtenus de cette étude nous permettent de conclure que :

Les eaux de l'Oued Mazafran sont fortement minéralisées, légèrement alcalines avec un pH ne dépassent pas 8,1 pour l'ensemble des prélèvements. De faibles teneurs en oxygène dissous ( $2,16 \text{ mg d'O}_2/\text{l} \pm 1,88 \text{ mg d'O}_2/\text{l}$ ) sont enregistrées dans la 2<sup>ème</sup> station. La température de l'eau suit un rythme saisonnier. Les paramètres de pollution reflètent un degré de pollution important marqué par une augmentation des teneurs en azote ammoniacal ( $4,52 \text{ mg/l} \pm 3,17 \text{ mg/l}$ ), en nitrites ( $1,06 \text{ mg/l} \pm 0,39 \text{ mg/l}$ ) et en orthophosphates ( $0,87 \text{ mg/l} \pm 0,42$ ) dans la 2<sup>ème</sup> station. Les nitrates montrent des valeurs acceptables et conformes aux normes de l'OMS et du JORA des eaux de surface.

Nous avons noté également des valeurs élevées de la DCO avec une moyenne de  $44,7 \text{ mg/l} \pm 32,95$ , de la DBO ( $9,91 \text{ mg/l} \pm 9,25$ ) dans la 1<sup>ère</sup> station.

Une moyenne élevée en fer ( $1,01 \text{ mg/l} \pm 0,5 \text{ mg/l}$ ) et de la matière organique ( $25,08 \text{ mg/l} \pm 13,56 \text{ mg/l}$ ) est enregistrée dans la 3<sup>ème</sup> station suite aux rejets des secteurs industriels qui traitent le fer dans la zone de Mazafran.

La recherche des germes indicateurs de contamination fécale montre la prédominance des coliformes totaux et fécaux et une présence moins importante des streptocoques fécaux.

Nous avons enregistré aussi la présence d'un nombre élevé de spores de *Clostridium* sulfite-réducteurs ( $445 \pm 334,94 \text{ spores}/20 \text{ ml}$ ) dans la 3<sup>ème</sup> station due au phénomène de lessivage provoqué par les eaux de ruissellement et les affluents rejoignant cet oued. Ces valeurs ont nettement dépassé les normes.

La recherche de certains germes pathogènes comme les Salmonella et les Vibron, a abouti à des résultats négatifs.

L'étude de l'antibiorésistance de 18 souches d'*E. coli* a permis de conclure l'existence d'une très faible résistance vis-à-vis des antibiotiques. Ainsi, cet oued n'est pas un réservoir de bactéries résistantes portant des gènes de résistance.

A la lumière de ces résultats physico-chimiques et microbiologiques obtenus dans cette étude qui a été marquée par des teneurs élevées des paramètres de pollution ainsi que la présence d'une forte communauté bactérienne et en se référant aux normes des eaux superficielles, nous déduisons que les eaux de l'oued Mazafran présentent des signes de dégradation dues notamment aux agglomérations urbaines qui génèrent des quantités importantes d'eaux usées rejetées sans aucun traitement préalable et des déchets solides qui sont éparpillés sur les rives de l'oued.

De ce fait, la préservation des ressources hydriques devient donc impérative devant la dégradation de ces écosystèmes aquatiques.

## Références Bibliographiques :

### A

- 📖 **AMINOT, A., CHAUSSEPIED .M (1983)** Manuel des analyses chimiques en milieu marin, édition C.N.E.X.O France, 395p.
- 📖 **ALZIEU C, 1989.** L'eau : milieu de culture. In Aquaculture. 2<sup>ème</sup>. Ed. Tec et Doc, Tome 1 : p 16- 43
- 📖 **APFELBAUM, M. ROMRN, M. et DUBUS, M. 2009.** Diététique et nutrition. 7<sup>ème</sup> édition. Paris : Elsevier Masson. 516p.
- 📖 **ANSA-ASARE, O.D.MARR I,L. CRESSER ,M.T. 1999.** Evaluation of cycling patterns of dissolved oxygen in a tropical lake as an indicator of biodegradable organic pollution. Sci. Total Environ. 231: p 145-158.
- 📖 **ADAM J.W.H. (1980).**Health aspects of nitrate in drinking-water and possible means of denitrification (literature review), Water SA, 6, 79 p.
- 📖 **ABOULKACEM, A. CHAHLAOU, A. SOULAYMANI, A. RHAZI-FILALI , F. BENALI, D. 2007.** Etude comparative de la qualité bactériologique des eaux des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès (Maroc), *REMISE*, v1(1): 10-22.

### B

- 📖 **BEAUDRY J. P. 1984.** Traitement des eaux, Edition le griffon d'argile, Québec, 231p.
- 📖 **BRIERE, F. 2000.** Distribution et collecte des eaux, 2<sup>ème</sup> édition, Edition Presses internationales polytechniques, pp 01-06.
- 📖 **BAUMONT, S. CAMARD, J-P. LEFRANC, A. FRANCONI, A. 2004.** Réutilisation des eaux usées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Rapport ORS, 220p.
- 📖 **BRISOU J F et DENIS F., 1980.** Techniques de surveillance de l'environnement maritime. Edit. Masson. p206.
- 📖 **BANTON, O. BANGOY, L.M. 1997.** Hydrogéologie, Multiscience environnementale des eaux souterraines. Presses de l'Université du Québec. 460 p
- 📖 **BONTOUX J.1993.** Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux de boisson. Qualité et santé, CEBEDOC, SPRL, Liège. 2<sup>ème</sup> édition.167p.

- 📖 **BOURGEOIS C M et LEVEAU J Y. 1991.** Le contrôle microbiologique, Dans: Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Volume 3. Lavoisier et Apria, édit, Paris.454p
- 📖 **BENNEFOY, C. GUILLET, F. LEYRAL, G .VERNE-BOURDAIS, E. 2002.** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Paris : collection : biosciences et techniques, Série : Science des aliments. 248p.
- 📖 **BELL, J.B. (1978).** Antibiotic resistance patterns of faecal coliforms isolated from domestic sewage before and after treatment in an aerobix lagoon, Can Jornal of Microbiology, 24: 886-888.
- 📖 **BOON, P.I., CATTANACH, M. (1999).** Antiotic resistance of native and faecal bacteria isolated from rivers, reservoirs and sewage treatment facilities in Victoria, south –eastern –Australia, Letters in Applied Microbiology. 28: 164-168.
- 📖 **BARRY, G.S. (1989).** Sodium sulphate. Canadian minerals yearbook –1988. Mineral Resport, n° 37. Division des ressources minérales, énergie, Mines et Ressources Canada3. Ottawa.
- 📖 **BURNS, K.A., SALIOT, A. 1986.** Petroleum hydrocarbons in the Mediterranean sea: A mass Balance. *Marine Chemistry*, 20, *Elsevier Science Publishers B.V*, pp.141-157.
- 📖 **BEHAR, S. (1997).** Definition of Water Quality Parameters. Testing the Water: Chemical and physical Vital Signs of a River », Montpellier.VT:River Watch Network, p1.
- 📖 **BOWES, M.J., HOUSE, W. A. 2001.** Phosphorus and dissolved silicon dynamics in the river Swale catchment, UK: a mass-balance approach. *Hydrol. Process.* 15: 261-280.

## C

- 📖 **CAIRNS, T., SHERMA, J. 1996.** Emerging Strategies for Pesticide Analysis CRC Press, Boca Raton. Florida. USA vol 754:125-135.
- 📖 **CASTANY, G. 1982.** Principes et méthodes de l'hydrologie.Dunod.Paris édition.236p
- 📖 **CHAPMAN, D .KIMSTACH, V.1996.** Selection of water quality variables. Water quality assessments: a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring, Chapman edition, 2<sup>nd</sup> ed. E and FN Span, London, pp 59-126.
- 📖 **CARDONHA, A.M.S., VIEIRA, R.H.S.F., RODRIGUES, D.P., MACRAE, A., PEIRANO, G et TEOPHILO, G.N.D.2004.** Fecal pollution in water from storm

sewers and adjacent seashores in, Natal, Rio Grande de Norte, Brazil. *International Microbiology*. 7: 213-218.

- 📖 **CHAPMAN, D., KIMSTACH, V. 1996.** Selection of water quality variables. Water quality assessments: a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring , Chapman edition, 2nd ed. E and FN Spon, London, pp : 59-126.
- 📖 **CÉBRON, A. 2004.** Nitrification, Bactéries nitrifiantes et émissions de N<sub>2</sub>O, La Seine en aval de Paris. 289p.

## D

- 📖 **DEGREMONT. (1989),** Mémento technique de l'eau, 9ème Ed. Lavoisier, Paris, Tome 1&2collection degremont.1459p.
- 📖 **DUSSART, B. 1966.** Limnologie : l'étude des eaux continentales, Edition géologique écologique aménagement, 2émetrimestre. 252p.
- 📖 **DERONZIER G., S. SCHETRITE, Y. RACAULT, J.P. CANLER, A. HEDUIT et P .DUCHENE (2001).** Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités, Document technique FNDAE n°25, 79 p.
- 📖 **DELARRAS, C. 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, Lavoisier. 269p
- 📖 **DELLARAS, C.2007.** La microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire : aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques .Médicales internationales .Tec et Doc – Lavoisier édit.1-476
- 📖 **DESJARDINS, R. 1997.** Le traitement des eaux. 2<sup>ème</sup> édition, presses internationales, polytechnique de Montréal. 304p.
- 📖 **DAVIS, S.L., PERRI, MB., DONABEDIAN, S.M., MANIERSKI, C., SINGH,A., VAGER, D. 2007.** Epidemiology and outcomes of community-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 1705-1711.

## E

- 📖 **EGBOKA, B.C.E. 1984.** Nitrate contamination of shallow groundwaters in Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.*, 35: 53.
- 📖 **EL-ADDOULI, J., CHAHLAOUI, A., CHAFI, A ., ENNABI, A., KARROUCH, L. 2009.** Influence des eaux usées utilisées en irrigation sur la qualité des eaux de

l'Oued Bouishak région de Meknès (centre-sud du Maroc), Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 3, pp 57-75.

- 📖 **EL-ADDOULI, J. CHAHLAOUI, A. BERRAHOU, A. CHAFI, A. ENNABILI, A. . 2011.** Approche de la qualité biologique de l'oued Ouislane au voisinage des effluents bruts De la région de Meknes, Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n° 09, Décembre, pp. 21-33.

## F

- 📖 **FRERE, J-M. 2008.** Antibiotiques contre Bactéries.
- [http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c\\_12956/fr/antibiotiques-contre-bacteries?part=3](http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/fr/antibiotiques-contre-bacteries?part=3)
- 📖 **FOURNIER V. 2003.** La résistance bactérienne aux antibiotiques. Pisters Université Laval.

## G

- 📖 **GAUTHIER M., PIETRI C., 1989.** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Edit. Masson. 447p.
- 📖 **GOYAL, S.M., GERBA, C.P., MELNIDK, J.L. (1979).** Transferable drug resistance in bacteria of coastal canal water and sediment. Water Res. 13: 349-356.
- 📖 **GAUJOUS D., 1995 :** « la pollution des milieux aquatiques : Aide-mémoire » ; 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 220 p.
- 📖 **GLEESON, C. GRAY, N. A. 1997.** the coliforms index and waterborne disease, E & FN spoon, 194p.

## H

- 📖 **HUAURD-OUTYC, I., LEFRANC, S., MAGA, Y-I. 2006.** Thèmes sanitaires et sociaux, 2<sup>ème</sup> édition. P318.
- 📖 **HUGO V. , 2007** modélisation et commande floues de type takagi- sugeno appliquée à un bioprocédé de traitement des eaux usées. Thèse Doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, France. 201p
- 📖 **HADE. A. 2003.** Nos lacs : les connaître pour mieux les protéger. Canada : FIDES .359p



- 📖 **HÉBERT S. et LÉGARÉ S., 2000** : « Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau », Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, Québec, envirodoq N° ENV-2001-0141, rapport N° QE-123, 24 p.
- 📖 **HOUSE W.A., LEACH D.V., ARMITAGE P.D. (2001)**. Study of dissolved silicon and nitrate dynamics in a freshwater stream. *Water Res.* 35(11): 2749-2757.
- 📖 **HASLEY,C . LECLERC, H. 1993**. Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier Tec & Doc édit, 1- 495.

## J

- 📖 **JACOBY, G.A.2009**. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 22:161–182.
- 📖 **JORA (Journal Officiel de la République Algérienne). 1993**. Journal officiel de la République Algérienne n°46 du 10 Juillet 1993 7-12.
- 📖 **JORA (Journal Officiel de la République Algérienne). 2011**. Décret exécutif n° 11-219 du 10 Rajab 1432 correspondant au 12 juin 2011 fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations. pp 5-6.
- 📖 **JONNALAGADDA, S.B. MHERE ,G. 2001**.Water quality of the odzi river in the eastern highlands of Zimbabwe, *Water Res.* 35 (10): 2371-2376.

## K

- 📖 **KAISER GARY.E. (1998)**. Escherichia coli entérobactériaceae : les bacilles fermentatifs, gramnégatifs, entériques microbiologie De Doc. Kaiser copyright septembre 23, 1998.
- 📖 **KOURRADI, R. 2007**. Evaluation de degré de pollution anthropique de l'estuaire de Bou Regreg et impact sur la biologie et dynamique de scrobicularia plana (Linné, 1758) et selon marginatus (Linné, 1767).thèse de doctorat d'état en biologie, spécialité Ecologie animale. Université Mohamed V-AGDAL Faculté des sciences Rabat, Maroc. 300p.
- 📖 **KECK.G., VERNUS.E. 2000**. « Déchets et risques pour la santé », Techniques de l'Ingénieur, Paris, 2450p.

# L

- 📖 **LEROY, J. B., 1999.** La pollution des eaux. 4<sup>e</sup> édition. Paris : Presses Universitaires de France.
- 📖 **LEFEVRE J-C., 1993.** Les zones humides : espaces en voie de disparition » In Actes du colloques sur les zones humides du littoral aquitain, édition DRAE d'aquitaine, Paris, p27.
- 📖 **LECLERC H., GAILARD J.L., SIMONET M, 1995.** Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit. Doin. 535p.
- 📖 **LAZAR, V., CERNAT, R., BALOTESCU, C., COTAR, A., COIPAN, E., et COJOCARU, C.2002.** Beta-lactama resistance in aquatic Enterobacter cloacae strains using phenotypic and genotypic criteria. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol.*47: 185-191.
- 📖 **LAVIGNE J-P.2007.**Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance .Faculté de Médecine. 3p.
- 📖 **LAVIGNE, M. 1987.** *Escherichia coli* that cause diarrhea. enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases.*155: 377-389.
- 📖 **LE MINOR. L., VERON. M, 1989** : bactériologie médicale. Paris : Flammarion ,1<sup>er</sup> édition. 1<sup>ère</sup> édition. 1107p.
- 📖 **LAIDANI, Y. HENINI, G.KHATMI, B. DELLAL, A. 2009.** Evaluation de la pollution des eaux du sous bassin versant de l'oued Mina. 2<sup>ème</sup> colloque international de chimie.12p.
- 📖 **LARPENT, J.P. LARPENT GOURGANT, M. 1997.** Mémento technique de microbiologie. 3<sup>ème</sup> édition .Paris. Lavoisier Tech et Do. 1093p.

# M

- 📖 **MARTIN, G. 1987.** Le point sur l'épuration et le traitement des effluents, vol 3 : le phosphore. Tech & Doc Lavoisier, Paris, 298p.
- 📖 **MAIGA, A.S. 2005.** Qualité organoleptiques de l'eau de consommation produit et distribuée par l'EDM.SA dans la ville de Bamako : évaluation saisonnière. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de BAMAKO. 77p.

📖 **MARTINEAU, G. P. 1997.** Maladies d'élevage des porcs. 1<sup>ère</sup> édition. Ed. France agricole. 316p.

📖 **MAKHOUKH, M. SBAA, M. BERRAHOU, A. CLOOSTER, A-VAN. 2011.** Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (Maroc Oriental). Larhyss Journal. 9 : 149-169.

## N

📖 **NIEMI, M., SIBAKOV, M., NIEMELA, S.1983.** Antibiotic resistance among different species of faecal coliforms isolated from water samples. Applied and Environmental Microbiology. 45: 79-83.

📖 **NEAL, C.JARVIE, H.P. HOWARTH, S.M. WHITEHEAD, P.G. WILLIAMS, R. J. NEAL, M. HARROW, M.WICKHAM, H. 2000.**The water quality of the River Kennet: initial observations on a lowland chalk stream impacted by sewage inputs and phosphorus remediation. Sci. Total Environ. 251-252: 477-495.

📖 **NKAMBULE, T.I., KRAUSE, R.W.M., MAMBA, B.B. et HAARHOFF, J., 2008.** Characterization of natural organic matter and its removal using cyclodextrin polyurethanes. Water South Africa. p 200.

## O

📖 **OMS, 2004.** World health organisation .Directives de qualité pour l'eau de boisson. 3<sup>ème</sup> édition ,volume 1Recommandations. Genève,Suisse . 110p.

📖 **OMS, 2008 (organisation mondiale de la santé) :** Standardisations de l'antibiogramme en médecine humaine.

## P

📖 **POTELON.J-L 1998.**Le guide des analyses de l'eau potable. Editions de la Lettre du cadre territorial, .120p.

📖 **POTELON, J-L. ZYSMAN, K. 1998.** Le guide des analyses de l'eau potable. Editeur : Lettre du cadre territorial. Paris, 253p.

📖 **PNUE / OMS., 1977.** Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague : 168p.

📖 **PHILIPPON A. (2004).** Relation hôte pathogène faculté de médecine Cochin-Port-Royal, Université PARIS V.

- 📖 **PITKANEN, T. 2010.** Studies on the detection methods of campylobacter and fecal indicator bacteria in drinking water. National Institute for Health and Welfare. Finland. 118p.
- 📖 **PETRY, J. SOULSBY, C. MALCOLM, I.A. YOUNGSON, A.F. 2002.** Hydrological controls on nutrient concentrations and fluxes in agricultural catchments. *Sci. Total Environ*, 294 (1-3) : 95-110.
- 📖 **PESCOD, M.B., 1985.** Design, operation and maintenance of wastewater stabilization ponds in treatment and use of sewage effluent for irrigation. Ed Pescod and Arar, 93-114.

## R

- 📖 **RAMADE, F. 1998.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Edition science internationale, Paris. 786p.
- 📖 **RADOUX, M., CADELLI D., NEMCAVA. M., KEMP. D., KLAESSEN. D., 1991.** Qualité et traitement des eaux. Belgique.
- 📖 **RAUZY. S., 1980.** Contribution à l'amélioration de la qualité des eaux destinées à l'alimentation humaine par l'utilisation d'argile au cours des traitements de floculation-décantation. Etude de l'élimination des métaux toxiques et des micropolluants organiques, Thèse de Docteur de 3ème cycle, Université de Paris. France.
- 📖 **RODIER, J. 1984.** L'analyse de l'eau, Eaux naturelles, Eaux résiduaires et Eaux de mer, 7ème édition, DULOD, Paris.
- 📖 **RODIER, J. BAZIN C. BOUTIN, J-P. CHAMBON, P. CHAMPSAUR, H. RODI, L. 1996.** L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 8<sup>ème</sup> édition Dunod, Paris, France. 879 p.
- 📖 **RODIER, J. BAZIN, C. CHAMBON, P. BROUTIN, G-P. CHAMPSAUR, H. RODI, L. 2005.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8<sup>ème</sup> édition. Paris : DUNOD technique. 1383.
- 📖 **RODIER, J. LEGUBE, B. MERLET, N. COLL. 2009.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 9<sup>ème</sup> édition. Paris : DUNOD technique. 1579p.
- 📖 **RAHAL, K., AMMARI, H., BEKHOUCHA, S., BELOUNI, R., BENSLIMANI, A., BOUDOUANE, M., CHABANI, M., KORICHI, M.N., MERAD, A.S., MISSOUM, M.F.K., RAMDANI-BOUGUessa, N., SMATI, F., TALI-**

**MAAMAR, H. 2001.** Standardisation de l'Antibiogramme a l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS.2<sup>ème</sup> édition.56p

📖 **REJESK, F. 2002.** les analyses des eaux. Tome II. France : aspects réglementaires et technique. 360p.

## S

📖 **SHARMA, N. P., DAMBAUG T., HUNT E. GREY D., OKARU V., ROTHBERG D., 1996.** African water resources: challenges and opportunities for sustainable development. World Bank technical paper n° 331. Washington (USA): World Bank

📖 **SEVRIN-REYSSAC,G. DELANOUE, J. PROULX, D. 1995.** Le recyclage de lisier de porc par lagunage. Edition Technique et Documentation Lavoisier. 118p.

📖 **SAYAH, R.S., KANEENE, J.B., JOHNSON, Y., MILLER, R.A. 2005.** Patterns of antimicrobial resistance observed in Escherichia coli isolated obtained from domestic and wild animal faecal samples, human septage, and surface water. Applied and Environmental Microbiology. 71: 1394-1440.

## T

📖 **TARDAT, H., BEAUDRY J.P. 1984.** Chimie des Eaux. Editeur, Le Griffon d'argile.340p

📖 **TOSE, S., 2006.** Reuse of effluent water-benefits and risks, AGRICULTURAL WATER MANAGERMENTS.157p.

## V

📖 **VILLAGINES, R. 2003.** L'eau : environnement et santé publique, 2<sup>ème</sup> édition . 97p.


📖 **VALLET, G. 2008** Mécanismes de résistances des microorganismes aux antibiotiques  
16èmes Journées Régionales d' Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales. centre hospitalier de VERDUN.

📖 **VILAIN, M. 1989.** La production végétale. Vol 2: la maîtrise de technique de la production. ED. Lavoisier (ed.J. Bailliére).Paris- France.

## W

📖 **WILLAGINES, R.2003.** L'eau : environnement et santé publique, 2<sup>ème</sup> édition.97p.

📖 **W.H.O. 1987.** Global pollution and health results of related environmental.

 **WALRER.2008** Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les enfants en Suisse. Patronage : Société suisse de pédiatrie (SSP) et Office fédéral de la santé publique (OFSP).

## ANNEXE I

Tableau VII: Résultats des analyses physico-chimiques

Paramètres	Date de prélèvement	S1	S2	S3	Norme
Température (C°)	10/01/2015	14	12	14	30°C <sup>(3)</sup>
	14/02/2015	13,5	11,5	12,5	
	14/03/2015	14,5	14	16	
	14/04/2015	19	19	21	
	10/05/2015	28	25	26	
	10/06/2015	29,5	27	28,5	
pH	10/01/2015	7,4	7,5	7,5	6,5 – 9 <sup>(1)</sup>
	14/02/2015	7,8	7,7	7,5	
	14/03/2015	8,05	7,8	7,68	
	14/04/2015	8	7,7	7,7	
	10/05/2015	7,9	8,02	7,65	
	10/06/2015	7,8	7,9	7,7	
Conductivité électrique (µS/cm)	10/01/2015	691	974	1070	2800 <sup>(1)</sup>
	14/02/2015	715	854	910	
	14/03/2015	561	841,5	1025	
	14/04/2015	627,5	1130	1337	
	10/05/2015	683	1308	1462	
	10/06/2015	702	1352	1485	
Turbidité (UTN)	10/01/2015	35	33	21	Non disponible
	14/02/2015	32	26	23,5	
	14/03/2015	49,5	34,01	20,1	
	14/04/2015	41,5	40,25	21,35	
	10/05/2015	14,7	17,2	15,6	
	10/06/2015	15	15,5	12,5	
Oxygène dissout (O <sub>2</sub> /l)	10/01/2015	1,8	2,28	1,3	5 <sup>(3)</sup>
	14/02/2015	2	4,5	3	
	14/03/2015	6,02	6,4	5,63	
	14/04/2015	3,9	3,25	1,53	
	10/05/2015	1,46	3,1	0,8	
	10/06/2015	1,5	2,5	0,75	
Sulfates (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )(mg/l)	10/01/2015	15	163,75	80	400 <sup>(1)</sup>
	14/02/2015	410,30	462,125	451,35	
	14/03/2015	263,75	319,725	335,15	
	14/04/2015	26,25	68,5	58,15	
	10/05/2015	9,95	18,6	16,55	
	10/06/2015	8,9	15,5	13,02	



<b>Calcium</b> (Ca <sup>2+</sup> )(mg/l)	<b>10/01/2015</b>	68,08	76,09	96,12	200 <sup>(2)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	74,09	84,1	104,12	
	<b>14/03/2015</b>	74,14	84,2	92,18	
	<b>14/04/2015</b>	90,18	116,23	140,28	
	<b>10/05/2015</b>	80,16	124,24	120,24	
	<b>10/06/2015</b>	88,11	128,16	140,28	
<b>Magnésium</b> (Mg <sup>2+</sup> )(mg/l)	<b>10/01/2015</b>	8,64	20,16	25,92	50 <sup>(3)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	25,2	46,8	58,8	
	<b>14/03/2015</b>	18,6	49,2	68,4	
	<b>14/04/2015</b>	30	48	58,8	
	<b>10/05/2015</b>	24	28,8	36	
	<b>10/06/2015</b>	26,4	36	38,4	
<b>Azote ammoniacal</b> (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) (mg/l)	<b>10/01/2015</b>	0,65	0,47	0,61	4 <sup>(1)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	0,8	0,77	0,83	
	<b>14/03/2015</b>	3,36	3,5	1,93	
	<b>14/04/2015</b>	3,16	3,25	2,21	
	<b>10/05/2015</b>	4,02	5,7	3,1	
	<b>10/06/2015</b>	4,5	6,01	4,21	
<b>Nitrites</b> (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) (mg/l)	<b>10/01/2015</b>	0,78	0,51	0,162	0,1 <sup>(3)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	0,65	0,82	0,24	
	<b>14/03/2015</b>	0,48	0,85	0,27	
	<b>14/04/2015</b>	0,75	1,43	0,39	
	<b>10/05/2015</b>	0,82	1,35	0,58	
	<b>10/06/2015</b>	0,95	1,45	0,81	
<b>Nitrates</b> (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) (mg/l)	<b>10/01/2015</b>	1,4	1,26	1,3	50 <sup>(1)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	2,04	1,9	1,75	
	<b>14/03/2015</b>	1	0,65	0,95	
	<b>14/04/2015</b>	1,15	2,49	0,5	
	<b>10/05/2015</b>	1,55	1,93	1,93	
	<b>10/06/2015</b>	1,4	1,66	1,25	
<b>Orthophosphates</b> (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) (mg/l)	<b>10/01/2015</b>	0,5	0,78	1,01	0,5 <sup>(2)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	0,1	0,15	0,19	
	<b>14/03/2015</b>	0,27	0,18	0,83	
	<b>14/04/2015</b>	0,195	0,72	0,6	
	<b>10/05/2015</b>	1,13	1,44	1,24	
	<b>10/06/2015</b>	1,3	1,51	1,35	
<b>Fer</b> (mg/l)	<b>10/01/2015</b>	1	0,5	0,25	1 <sup>(1)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	0,37	0,52	0,55	
	<b>14/03/2015</b>	0,92	1,2	1,45	
	<b>14/04/2015</b>	0,56	0,95	1,06	
	<b>10/05/2015</b>	0,42	0,54	1,5	
	<b>10/06/2015</b>	0,5	0,65	1,25	
<b>DCO</b> (mg d'O <sub>2</sub> /l)	<b>10/01/2015</b>	92,89	75,17	82,05	30 <sup>(1)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	77,8	42,3	36,78	
	<b>14/03/2015</b>	32,27	30,7	34,22	
	<b>14/04/2015</b>	36,12	26,8	6,5	
	<b>10/05/2015</b>	15,17	30,35	9,48	
	<b>10/06/2015</b>	14,5	35,05	8,5	

<b>DBO (mg d'O<sub>2</sub>/l)</b>	<b>10/01/2015</b>	26,29	21,31	17,1	7 <sup>(1)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	15,3	11,21	8,67	
	<b>14/03/2015</b>	7,25	6,62	3,96	
	<b>14/04/2015</b>	4,74	5,28	3,23	
	<b>10/05/2015</b>	3,43	2,35	1,75	
	<b>10/06/2015</b>	2,5	1,95	1,5	
<b>Matière organique(M.O) (mg/l)</b>	<b>10/01/2015</b>	13,2	23,43	24,24	5 <sup>(3)</sup>
	<b>14/02/2015</b>	24,9	19,5	19,18	
	<b>14/03/2015</b>	13,05	13,33	12,12	
	<b>14/04/2015</b>	19,5	11,11	11,92	
	<b>10/05/2015</b>	27,5	36,36	40,40	
	<b>10/06/2015</b>	29,5	39,6	42,66	

<sup>(1)</sup>(JORA, 2011) <sup>(2)</sup>(JORA ,1993) <sup>(3)</sup>(OMS, 2004).

## ANNEXE II

Tableau VIII : Résultats des analyses microbiologiques

Paramètres	Date de prélèvement	S1	S2	S3	Norme
Coliformes totaux (UFC/100ml)	10/01/2015	8500	4500	10110	50000
	14/02/2015	5500	4200	5000	
	14/03/2015	24196	19863	17329	
	14/04/2015	22029	18596	24196	
	10/05/2015	35200	25450	38000	
	10/06/2015	45500	38000	47000	
Coliformes fécaux (UFC/100ml)	10/01/2015	1120	1450	1800	20000
	14/02/2015	900	1100	1500	
	14/03/2015	3000	3500	4200	
	14/04/2015	5000	5600	6500	
	10/05/2015	6500	7500	8000	
	10/06/2015	7500	8500	9500	
Streptocoques fécaux (UFC/100ml)	10/01/2015	1010	875	1256	10000
	14/02/2015	1280	775	1210	
	14/03/2015	2380	1100	1511	
	14/04/2015	2202	4130	7139	
	10/05/2015	5504	4043	5748	
	10/06/2015	7215	6586	8297	
Spores d'anaérobie sulfito-réducteurs (Spores/20ml)	10/01/2015	450	510	750	00
	14/02/2015	560	620	850	
	14/03/2015	360	420	590	
	14/04/2015	130	150	320	
	10/05/2015	50	60	100	
	10/06/2015	20	30	60	
Salmonelles (UFC/100ml)	Tous les prélèvements	0	0	0	Absence
Vibron (UFC/100ml)	Tous les prélèvements	0	0	0	Absence

(JORA ,1992), (OMS, 2004).

**Tableau IX** : Résultats de mesure des zones d'inhibition pour E.coli détectées exprimé en millimètre.

		AK	AMC	AMP	CHL	CIP	CTX	CL	CZN	FOX	IPM
<b>Janvier</b>	S1	25	11	0	10	30	27	12	20	22	35
		S	R	R	R	S	S	R	S	S	S
	S2	25	10	10	30	30	28	14	15	25	32
		S	R	R	S	S	S	R	I	S	S
	S3	28	8	0	28	25	30	16	22	16	30
		S	R	R	S	S	S	S	S	I	S
<b>Février</b>	S1	25	12	0	11	12	33	18	22	28	33
		S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
	S2	22	8	11	28	30	28	18	10	18	25
		S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
	S3	25	25	30	30	32	32	18	25	25	35
		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Mars</b>	S1	23	19	20	28	30	28	14	25	25	32
		S	I	S	S	S	S	R	S	S	S
	S2	22	10	8	26	10	30	15	20	15	30
		S	R	R	S	R	S	R	S	I	S
	S3	22	23	23	30	28	30	17	25	28	35
		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Avril</b>	S1	25	25	20	28	32	30	15	25	25	35
		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	S2	28	20	30	30	35	36	16	30	25	33
		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	S3	22	22	25	30	30	37	14	25	20	35
		S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
<b>Mai</b>	S1	16	25	20	30	30	34	14	27	20	30
		I	S	S	S	S	S	R	S	S	S
	S2	20	28	20	30	32	30	12	25	22	30
		S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
	S3	15	20	16	25	30	30	13	25	25	30
		I	S	I	S	S	S	R	S	S	S
<b>Juin</b>	S1	25	12	20	30	35	33	16	25	22	33
		S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	S2	22	28	12	28	30	35	18	22	28	28
		S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
	S3	25	25	22	30	33	30	12	25	25	25
		S	S	S	S	S	S	R	S	S	S

## ANNEXE III

**Tableau X** : tableau lecture près de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, 2011. Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et CMI pour Entérobactéries

**Condition du test :**

Milieu : Muller-Hinton

contrôle de qualité :

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

*Escherichia coli* ATCC 25922

Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire ; 18 heures.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>β-lactamines :</u>						
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline+Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Cefazoline	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftriaxone	30µg	≤ 13	14 – 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipeneme	10µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
<u>Aminosides</u>						
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones</u>						
Ofloxacine	5µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 8	≤ 2
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
<u>Autres</u>						
Chloramphenicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38

---

## ANNEXE IV

### Matériel utilisé pour les analyses physico-chimiques

#### ❖ Appareillage

- Agitateur magnétique.
- Balance analytique.
- Conductimètre.
- pH mètre.
- Etuve.
- Plaque chauffante.
- Spectrophotomètre UV-Visible.
- Haute à flux laminaire.
- DBO mètre.

#### ❖ Verrerie

- Béchers
- Erlen Meyer.
- Fioles jaugées.
- Pipettes.
- Portoir.
- Tube à essai.
- Spatule.
- Eprouvettes graduées.
- flux laminaire.

#### ❖ Réactifs et colorants

- Nitrate d'argent.
- Dichromate de potassium.
- Chlorure de baryum.
- Hydroxyde d'ammonium.
- Hydroxyde de sodium.
- Heptamolybdate d'ammonium.
- Salicylate de sodium.
- Tartrate double de sodium et de potassiums.
- Nessler.
- Acide chlorhydrique.
- Acide sulfurique.
- E D T A.
- Murexide.
- Noir ériochrome.

❖ **Composition des différents réactifs et solutions.**✚ **Sulfates**• **Solution stabilisante**

- \* Acide chlorhydrique ..... 60ml.
- \* Ethanol.....200ml.
- \* Chlorure de sodium.....150 mg.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

• **Solution de chlorure de baryum**

- \* Chlorure de baryum.....150 mg.
- \* Acide chlorhydrique.....5 ml.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

✚ **Calcium et Magnésium**• **Solution d'E.D.T.A. N/50 (  $C_{10} H_{14} N_2 Na_2 O_8 2H_2O$ ) (0,02N ou 0,01M)**

- \* EDTA .....3,725g.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

• **Solution d'hydroxyde de sodium (Na OH) à 2N**

- \* NaOH (pastilles).....80g.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

• **Solution d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) pH=10,1**

- \* Chlorure d'ammonium.....67,5g.
- \* NH<sub>4</sub>OH (25 %).....570ml.
- \* E.D.T.A.....5ml.
- \* Eau distillée .....q.s.p 1000 ml.
- \* Conserver la solution dans une bouteille de polyéthylène



---

**+ L'azote ammoniacal****• Solution de tartrate double de sodium potassium**

- \* Tartrate double de sodium potassium .....500g.
- \* Eau distillée .....q.s.p 1000ml.

**• Réactif de Nessler**

- \* Iodure de potassium .....36,5g.
- \* Iodure de mercure .....50 g.
- \* Hydroxyde de potassium .....150g.
- \* Eau distillée .....q.s.p 1000 ml.

**+ Nitrites****• Solution de sulfanilamide**

- \* Sulfanilamide .....1g.
- \* Acide chlorhydrique à 10% .....q.s.p 100 ml.

**• Solution de dichlorhydrate N-1 naphtyléthylénediamine à 0,1%****+ Nitrates****• Solution de salicylate de sodium à 0,5 %**

- \* Salicylate de sodium ..... 0,5 g.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

**• Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 30%**

- \* NaOH.....30g.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

**• Acide sulfurique concentré****• Tartrate double de sodium et de potassium**

- \* Hydroxyde de sodium .....400g.
- \* Tartrate de sodium et de potassium..... .60g.
- \* Eau distillée.....q.s.p 1000 ml.

### ✚ Orthophosphates

- **Solution d'heptamolybdate d'ammonium**

- \* Heptamolybdate d'ammonium.....13g.
- \* Eau distillée.....100 ml.

- **Solution d'acide ascorbique**

- \* Acide ascorbique .....10g.
- \* Eau distillée.....100 ml.

- **Solution d'acide sulfurique**

- \* Acide sulfurique pur.....0,5g.
- \* Eau distillée .....q.s.p 100ml.

### ✚ Dosage de la Matière Organique

- **Solution de permanganate de potassium ( $\text{KMnO}_4$ ) N/80**

- \*  $\text{KMnO}_4$ .....3,1608 g.
- \*  $\text{H}_2\text{O}$  distillée bouillante.....1000 ml.

- **Solution de sulfate ferreux ammoniacal (N/80)  $\text{Fe SO}_4 (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4, 6 \text{H}_2\text{O}$**

- \* Sulfate ferreux ammoniacal.....5 g.
- \*  $\text{H}_2\text{O}$  distillée.....1000 ml.

- **Acide sulfurique**

- \* Acide sulfurique à 1/2 en volume.....5 ml.

### ✚ Détermination de la Demande Chimique en Oxygène (DCO)

- **Sulfate de mercure cristallisé : 0,5 g.**

- **Solution de sulfate de fer et d'ammonium 0.25 N.**

- \* Sulfate de Fer et d' $\text{NH}_4$  .....98 g.
- \* Acide sulfurique (d=1.84) .....20 ml.
- \*  $\text{H}_2\text{O}_d$ .....1000ml.

**Le titre de cette solution doit être vérifié tout les jours.**

- **Solution de dichromate de potassium 0.25 N.**

- \* Dichromate de potassium (séché deux heures à  $110^\circ\text{C}$ ) ..... 12,2588 g
- \*  $\text{H}_2\text{O}_d$  ..... 1000 ml.

- **Solution de Ferroïne**
  - \* 1.10 phénanthroline ..... 1.485 g.
  - \* Sulfate de Fer..... 0.695 g.
  - \* H<sub>2</sub>O<sub>d</sub>..... 100 ml.
- **Etalon à 500 mg/l DCO.**

Hydrogenophthalate de K HC<sub>8</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> séché pendant 2 h.00 à 105°.

Peser 0,4251 g séché → 1000 ml → 0,1062 g/250 ml.

- **Faire une dilution 5 ml/20.**

### **Fer**

Tous les réactifs seront préparés à partir d'eau bidistillée exempte de toute trace de fer.

- **Tampon Acétate**
  - \* Acétate d'ammonium .....40g
  - \* Acide acétique cristallisable.....50ml
  - \* Q.S.P ..... 100 ml d'eau distillée.
- **Chlorhydrate d'hydroxylamine à 10 %**
  - \* Chlorhydrate d'hydroxylamine.....10g
  - \* Q.S.P .....100 ml d'eau distillée.
  - \* Cette solution est stable pendant une semaine.
- **Solution de Phénanthroline -1,10**

Dissoudre 0,42 g de Phénanthroline-1,10 monohydraté(C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O) dans 100ml d'eau distillée contenant 2gouttes d'Acide chlorhydrique.

Cette solution est stable pendant une semaine. Conserver dans un flacon teinté et au réfrigérateur.

- **Solution mère étalon de Fer à 1 g/l**
  - \* Solution fille étalon de fer à 0,01 g/l ( à préparer extemporanément).
  - \* Diluer au 1/100 la solution précédente.

## ANNEXE V

### Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques

#### Appareillage

- Autoclave.
- Bain marie.
- Bec bunsen.
- Etuve (37°C et 44°C).
- Rampe de filtration.
- Balance.
- Conditionneur.
- Agitateur de type vortex.
- Densitomètre.

#### Verrerie et matériel consommables

- Boîtes de pétri.
- Membrane filtrante.
- Fiole à vide.
- Spatule.
- Quanti-Try
- Membrane filtrante (pore 0.45µm).

#### Réactifs et Additifs

- Additif SFB.
- Alun de fer.
- Sulfite de sodium.
- Réactifs de kovacs.
- Additif Hektoen.
- Disques d'antibiogrammes.

#### Matériels du laboratoire d'hôpital

- Boîtes de Pétri stériles.
- Tube à essais à vis.
- Pipettes Pasteur.
- Portoirs.
- Réfrigérateur.
- Pied à coulisse.
- Pince métallique.
- Pince en bois.
- Anse de platine.

- Ecouvillon.

## Milieu de culture

- Gélose viande foie (VF).
- Gélose Hektoen.
- Bouillon au sélénite de sodium cystéine (SFB).
- Eau peptonée alcaline (EPA)
- Gélose nutritive alcaline biliée (GNAB).
- Gélose TSI.
- Milieu Muller-Hinton
- Milieu de Ferguson (Urée-indole)

## Composition des différents milieux de cultures (Denis *et al.*, 2007)

### ❖ **Gélose Lactosée au TTC Tergitol**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande .....10,0 g
- Extrait de viande .....5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....6,0 g
- Lactose .....20,0 g
- Tergitol 7 .....0,1 g
- Bleu de bromothymol .....50,0 mg
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium .....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....10,0 g
- **pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.**

### ❖ **Gélose Viande Foie**

- Glucose.
- Amidon.
- Agar.
- Eau distillée.
- Ajuster le ph à 7, 6-7,8, stérilisé pendant 15minutes à 121°C.

### ❖ **Bouillon au Sélénite de Sodium Cystéine (SFB)**

- Peptone pancréatique de caséine.
- Lactose.
- Monohydrogénosélénite de Na.
- 1-Cystéine.
- Eau distillée.
- Ajuster Ph à 7 ±0,2.

❖ **Gélose Hektoen**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande..... 12,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- Lactose..... 12,0 g
- Saccharose ..... 12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires ..... 9,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium ..... 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 1,5 g
- Bleu de bromothymol ..... 65 mg
- Fuchsine acide ..... 40 mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,5 g
- PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .

❖ **Eau peptonée alcaline (EPA)**

- \* Peptone.
- \* Lactose.
- \* Monohydrogénophosphate de Na.
- \* Dihydrogénophosphate de K.
- \* Eau distillée.
- \* Ajuster le Ph à  $7,2 \pm 0,1$ , autoclaver à  $121 \pm 1^\circ\text{C}/15$  min.

❖ **Gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB)**

- \* Peptone.
- \* Extrait de viande.
- \* Chlorure de sodium.
- \* Agar.
- \* Eau distillée.
- \* Dissoudre, ajuster le pH à 9, stériliser à l'autoclave à  $121^\circ\text{C}/20$  min.

❖ **Milieu Muller-Hinton**

- Infusion de viande de bœuf..... 300,0 ml
- Peptone de caséine ..... 17,5 g
- Amidon de maïs ..... 1,5 g
- Agar agar bactériologique.....  
17,0 g
- PH = 7,4

---

**❖ Gélose TSI**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....14,0 g
- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- Extrait de viande .....3,0 g
- Glucose.....1,0 g
- Lactose .....10,0 g
- Saccharose .....10,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal .....0,3 g
- Rouge de phénol.....24,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g
- PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2..

**❖ Milieu de Ferguson (Urée-indole)**

Pour un litre d'eau purifiée

- L –Tryptophane.....3g
- Phosphate monopotasique.....1g
- Phosphate dipotasique.....1g
- Chlorure de sodium.....5g
- Urée.....20g
- Rouge de phénol à 1%.....2,5ml
- Alcool à 95%.....



## ANNEXE VI

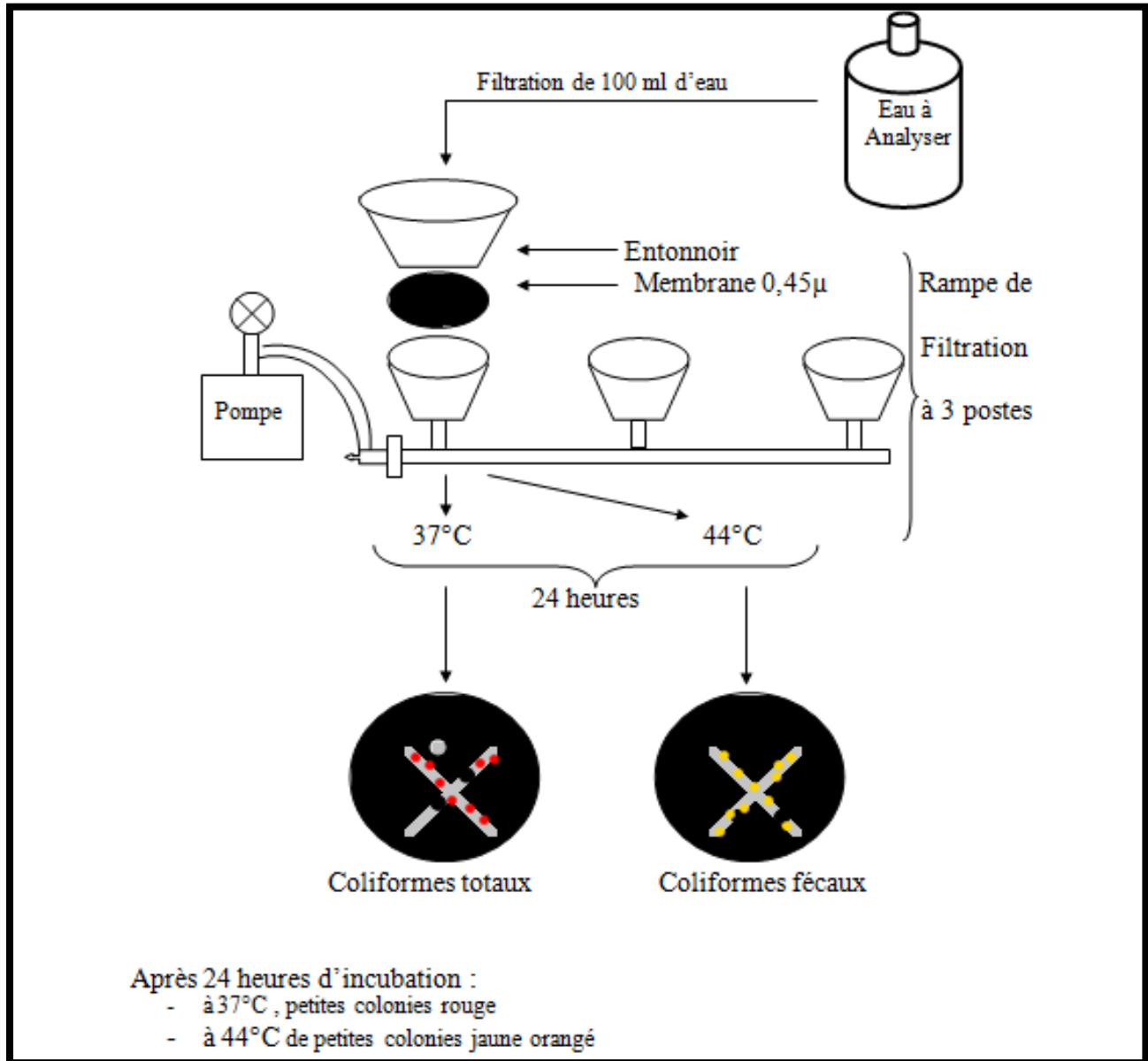


Figure N° 35 : Colimétrie par filtration.

**Colilert18****Etape**

Ajouter le réactif à l'échantillon.

**1.****Etape**

Verser dans Quanti-Try (numération de 1 à 200) ou Quanti-Try / 2000 (numération de 1 à 2 419).

**2.****Etape**

Sceller avec le conditionneur Quanti-Try\_(Sealer) et placer dans une étuve à 36°C pendant 18 heures.

**3.****Etape**

**Quanti-Tray**—Lire les résultats:

- Puits jaunes = coliformes totaux
- Puits jaunes/fluorescents = E. coli

**4.**

**Quanti-Tray / 2000**—Lire les résultats:

- Puits jaunes = coliformes totaux
- Puits jaunes/fluorescents = E. coli



**Figure N°36** : méthode de Colilert.

**Enterolert-E****Etape**

Ajouter le réactif à l'échantillon.

**1.****Etape**

Verser dans Quanti-Tray (numération de 1 à 200) ou Quanti-Tray / 2000 (numération de 1 à 2 419).

**2.****Etape**

Sceller avec le conditionneur Quanti-Tray\_(Sealer) et placer dans une étuve à 36°C pendant 24 heures.

**3.****Etape**

**Quanti-Tray - Quanti-Tray / 2000** —Lire les résultats:

- Puits bleus/fluorescents = Entérocoques intestinaux

**4.**

**Figure N°37** : méthode d'Entérolert

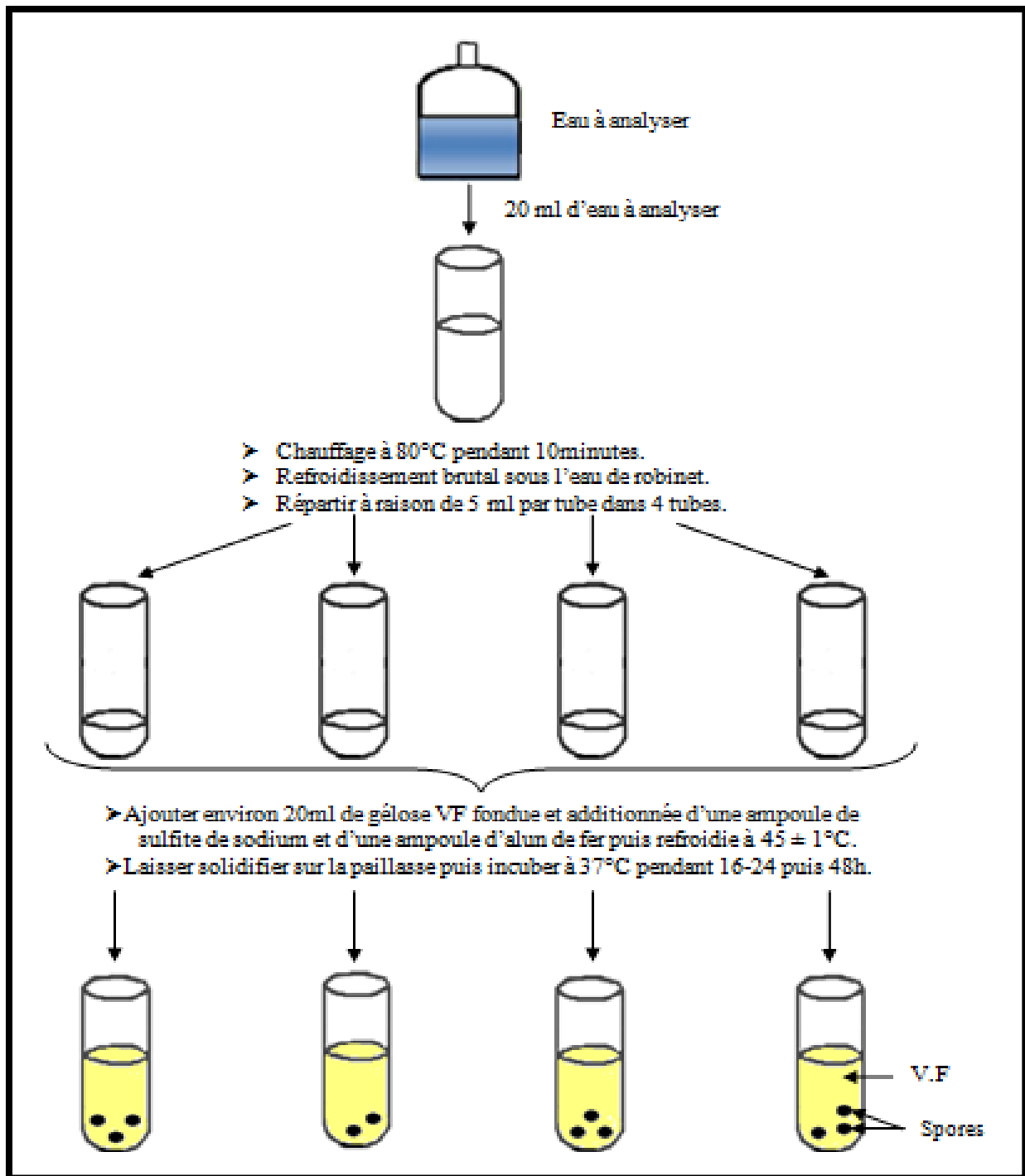


Figure N°38 : dénombrement des ASR.

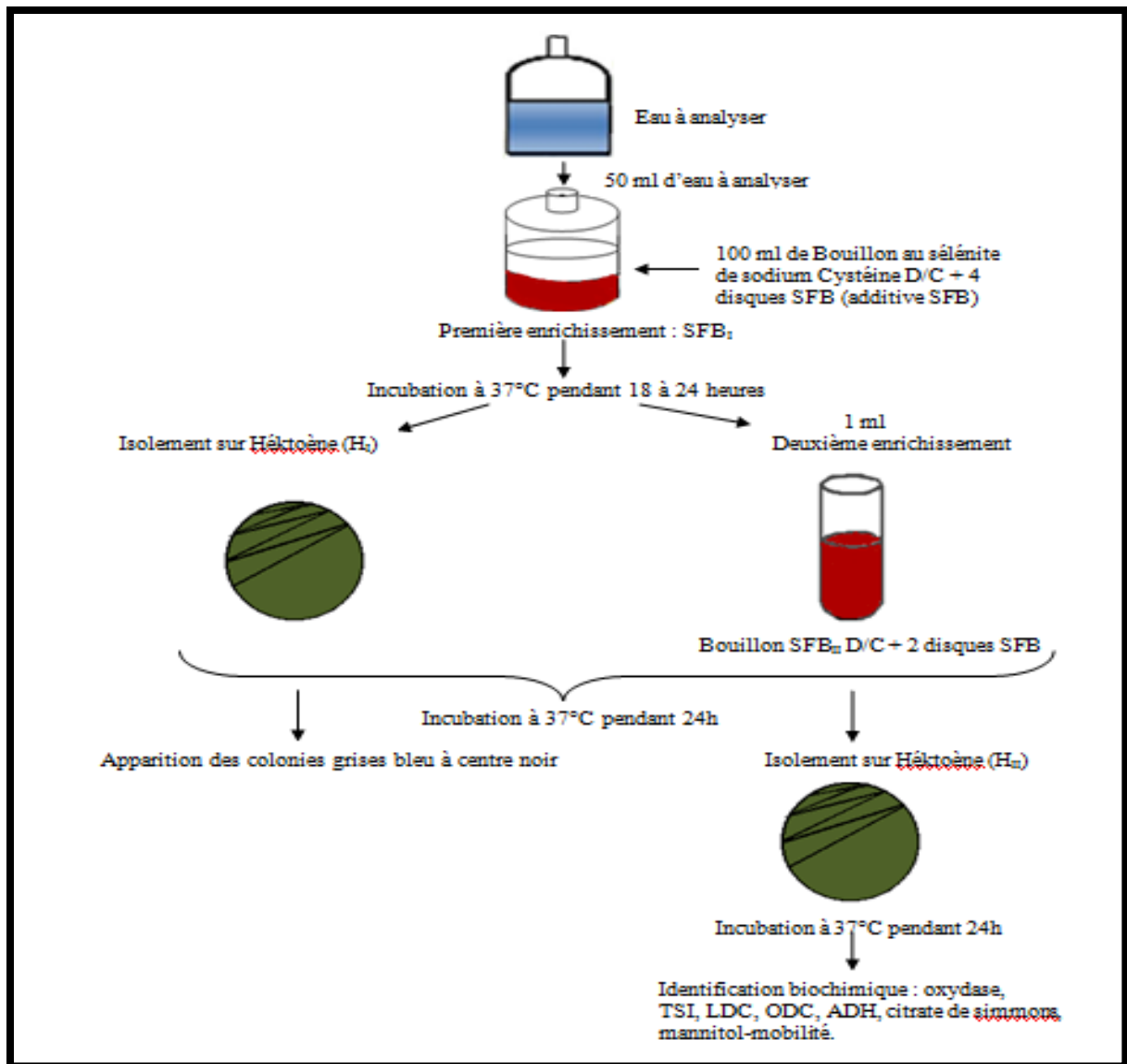


Figure N°39 : Recherche des salmonelles.

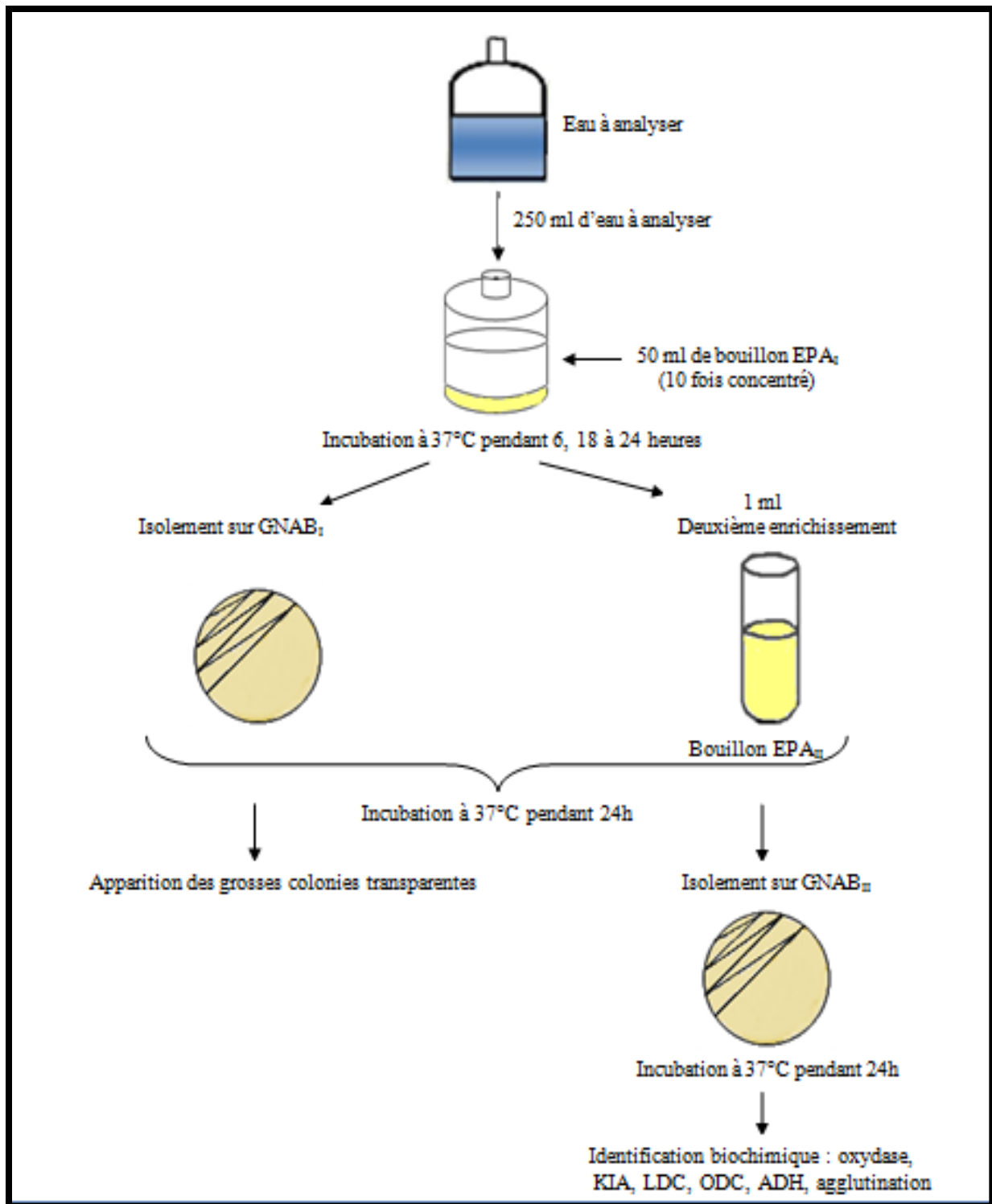


Figure N°40 : Recherche des Vibrions cholérique.

## I.GENERALITES SUR LES EAUX SUPERFICIELLES

Les eaux superficielles englobent toutes les eaux circulantes ou stockées à la surface des continents (**DEGREMONT, 1989**).

Elles ont pour origine, soit des nappes profondes dont l'émergence constitue une source de ruisseau, de rivière, soit les eaux de ruissellement. Ces eaux se rassemblent en cours d'eau, caractérisés par une surface de contact eau-atmosphère toujours en mouvement et une vitesse de circulation appréciable. Elles peuvent se trouver stockées en réserves naturelles (lacs) ou artificielles (retenues, barrages) caractérisées par une surface d'échange eau atmosphère quasiment immobile, une profondeur qui peut être importante et un temps de séjour appréciable (**DEGREMONT, 1989**).

Ces eaux sont susceptibles à l'altération par des polluants naturels, par des matières organiques, ou par des matières chimiques (issues de l'activité de l'Homme) (**BEAUDRY, 1984**).

### I.1. Différents types d'eaux de surface

Les eaux de surface comprennent les eaux des lacs, les oueds, les étangs et les retenues d'eau de pluie (**VILLAGINES, 2003**). Parmi eux on s'intéresse aux oueds.

#### Oueds

Les oueds se caractérisent par l'irrégularité de leur débit au cours de l'année. Ce dernier dépend de multiples facteurs. Les oueds présents en Algérie sont des cours d'eau le plus souvent intermittent des régions sèches. Ils sont toujours caractérisés par des eaux qui sont nettement moins turbulente et à la température plus variable (**DUSSART, 1966**).

### I.2. Pollution des eaux de surface

Selon **RAMADE (1998)**, le problème de pollution des eaux n'est pas un phénomène récent ou accidentel, mais il compte en réalité parmi les plus antiques.

La pollution de l'eau est la dégradation de sa qualité. Elle résulte de l'ajout d'une substance qui en modifie l'équilibre (**HULAUD et al., 2006**). Les eaux de surface sont rarement potables sans aucun traitement. Les eaux de surface sont généralement polluées bactériologiquement (**DEGREMONT, 1989**).

### I.2.1. Origine de la pollution

Les eaux de surface peuvent avoir plusieurs origines de pollution :

- **Origine domestique**

La pollution d'origine domestique provient des activités humaines de tous les jours : bains, excréments, préparation des aliments, lessive et vaisselle. A travers ces activités, l'Homme rejette d'une part des polluants biologiques, urinaires et fécaux (**RADOUX et al., 1991**).

L'Homme introduit également dans les eaux usées des produits chimiques divers : détergents et huiles qui retardent l'auto-épuration des cours d'eau (**LEROY, 1999**).

- **Origine industrielle**

Très différente de la précédente, ces caractéristiques varient d'une industrie à l'autre (**BAUMONT et al., 2004**). Cette pollution est représentée par divers polluants et micropolluants organiques (hydrocarbures, solvants, produits de synthèse, phénols) ou inorganiques (métaux lourds, ammoniacque, produits toxiques) (**DEGREMONT, 1989**).

- **Origine agricole**

Elle est représentée par les engrais, pesticides ou herbicides entraînés par les eaux de pluie et de ruissellement et également par les rejets organiques dus à la présence d'élevages importants (**DEGREMONT, 1989**).

Une mauvaise pratique culturale entraîne des dégradations environnementales dues à la sédimentation dans les cours d'eau ou dans les barrages (**SHARMA et al., 1996**).

### I.2.2. Principaux types de polluants

#### I.2.2.1. Polluants chimiques

- **Matières azotées**

Les formes de l'azote dans les eaux usées sont l'azote total (NTK), les nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et les nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). En plus de la toxicité de la forme ammoniacale et nitrique, l'azote intervient dans le phénomène de l'eutrophisation (**DERONZIER et al., 2001**).



- **Matières phosphatées**

C'est la quantité de phosphore total contenu dans l'eau sous diverses formes : polyphosphates, organophosphates et orthophosphates. Le phosphore est aussi responsable de l'eutrophisation du milieu aquatique (**MARTIN, 1987**).

- **Hydrocarbures**

Ils proviennent essentiellement des rejets de produits pétroliers, des effluents de différentes industries ou des usines à gaz (**DEGREMONT, 1989**).

Ils sont peu biodégradables. Leur présence dans les eaux de surface gêne considérablement le traitement de coagulation-floculation et de décantation (**RAUZY, 1980**).

- **Pesticides**

Appelés aussi « produits phytosanitaires », ce sont des substances chimiques minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures. Ils sont présents dans l'eau à des concentrations comprises entre 1 mg/l et 1 µg/l. (**RODIER et al., 1996**).

- **Métaux lourds**

Ce sont des éléments en traces qui comprennent principalement le mercure (Hg), le cadmium (Cd), le plomb, l'argent (Ag), le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le nickel (Ni) et le zinc (Zn). Ces éléments, bien qu'ils puissent avoir une origine naturelle (roches du sous-sol, minerais), proviennent essentiellement de la contamination des eaux par des rejets d'activités industrielles diverses (**KECK et al., 2000**).

- **Détergents**

Ils inhibent le processus d'autoépuration. Limitent le développement des microorganismes et bloquent l'oxygénation (**CASTANY, 1982**).

- **Herbicides**

Ce sont des substances destinées à éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures (**CAIRNS et SHERMA, 1996**).

### **I.2.2.2. Polluants biologiques**

Ce sont essentiellement des virus et des bactéries. La pollution microbiologique se développe conjointement à la pollution organique, par une prolifération des germes d'origine humaine ou animale dont certains sont éminemment pathogènes (**HUGO, 2007**).

## II. PARAMETRES DE QUALITE DES EAUX SUPERFICIELLES

### II.1. Paramètres physico-chimiques

#### Température

La température est un paramètre qui doit absolument être mesuré sur le terrain, parce qu'elle tend à s'ajuster rapidement à la température ambiante (**HÉBERT et LÉGARÉ, 2000**). Elle joue un rôle important dans la solubilité des gaz, dans la dissociation des sels dissous et dans la détermination du pH (**DUSSART, 1966**). D'une façon générale, la température des eaux est influencée par la source d'où elles proviennent (superficielles ou profondes) (**RODIER et al., 2005**).

#### Dureté

La dureté ou titre hydrotimétrique (TH) correspond à la concentration totale en ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et en ions magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Ils proviennent de la dissolution des roches calcaires. (**TARDAT H et BEAUDRY, 1984**).

#### Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH mesure la concentration en ions hydrogène ( $\text{H}^+$ ) de l'eau. Les valeurs du potentiel d'Hydrogène se situent entre 6 et 8,5 dans les eaux naturelles (**CHAMPMAN et al., 1996**),

Le pH doit être mesuré sur le terrain à l'aide d'un pH-mètre (**AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983**). Il est considéré comme étant l'un des paramètres les plus importants de la qualité des eaux (**BRISOU et DENIS, 1980**).

#### Conductivité

La conductivité est la capacité d'une solution à conduire le courant électrique. Cette capacité dépend de plusieurs facteurs tels que la nature des ions présents et leur concentration totale. Elle donne une idée sur la salinité et permet une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau (**KOURRADI, 2007 ; MAKHOUKH et al., 2011**).

### **Turbidité**

La turbidité est une caractéristique qui exprime le degré du trouble d'un liquide. C'est l'inverse de la transparence (**HADE, 2003**).

Cette transparence peut être perturbée par la présence de particules en suspension et de matière colloïdales dans l'eau (**APFELBAUM et al., 2009**).

### **Oxygène dissous**

Parmi les gaz dissous, l'oxygène est celui qui joue le rôle le plus important dans la qualité biotique des eaux. Indispensable à la respiration des organismes, il facilite la dégradation des matières organiques détritiques et l'accomplissement des cycles biochimiques.

L'oxygène présent dans les eaux est le résultat des échanges entre l'atmosphère et la surface de l'eau ainsi que de l'activité photosynthétique du phytoplancton (**ALZIEU, 1989**).

### **Alcalinité de l'eau**

C'est la quantité totale de base dans l'eau. Ces bases pouvant être des hydroxydes de carbonates ou des bicarbonates. La quantité totale de carbone organique dépend des concentrations en calcium et magnésium. Elle s'exprime en mg/l de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) (**BANTON et BANGHEY, 1997**).

### **Matières en suspension**

Ce sont les matières non dissoutes dans l'eau. Elles correspondent à la fois des éléments minéraux et organiques. La plus grande part des microorganismes pathogènes contenus dans les eaux s'associent aux matières en suspension (**TOSE, 2006**).

Suivant leur densité et les caractéristiques du milieu récepteur, elles évaluent la répartition de la charge polluante entre la pollution dissoute et la pollution sédimentable (**BONTOUX, 1993**).

### **Demande biochimique en oxygène à 5 jours (DBO5)**

Elle correspond à la quantité d'oxygène qu'il faut fournir à un échantillon d'eau pour minéraliser la matière organique par voie biologique.

La durée d'incubation de l'échantillon est de 5 jours à une température de 20°C. La mesure de cette DBO permet d'évaluer la contenance d'une eau en matières organiques biodégradables (**TARDAT et BEAUDRY, 1984**).

### **Demande chimique en oxygène (DCO)**

La DCO est une mesure de toutes les matières organiques (ou presque) contenues dans les eaux naturelles ou usées, qu'elles soient ou non biodégradables.

Elle correspond à la quantité d'oxygène nécessaire pour dégrader la totalité de la matière organique par voie chimique. Elle se fait sous l'action d'un oxydant puissant (bichromate de potassium) en milieu acide fort (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (**RODIER et al., 2005**).

### **Rapport DCO/DBO<sub>5</sub>**

Selon **RODIER et al., (2009)**, le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> donne une estimation de la biodégradabilité de la matière organique d'un effluent donné.

DCO/DBO<sub>5</sub> < 3 effluent facilement biodégradable.

3 > DCO/DBO<sub>5</sub> < 5 effluent moyennement biodégradable.

DCO/DBO<sub>5</sub> > 5 effluent difficilement biodégradable, voir non dégradé.

Plus la valeur du rapport est petite, plus la matière organique présente dans les rejets sera facilement dégradée par les bactéries (**WINKLER, 2009**).

### **Sulfates**

Les eaux naturelles contiennent toujours des sulfates, en proportions variables. Leur présence résulte de la légère solubilité de sulfate de calcium des roches gypseuses et de l'oxydation des sulfures répandus dans les roches (**TARDAT et BEAUDRY, 1984**).

### **Chlorures**

L'eau contient presque toujours des chlorures mais en proportions très variables. La teneur en chlorures augmente généralement avec le degré de minéralisation d'une eau (**TARDAT et BEAUDRY, 1984**). La présence des chlorures dans l'eau est liée principalement à la nature des terrains traversés. Ainsi elle peut être attribuée à des sources naturelles, aux eaux usées ou à des intrusions salines (**MAIGA, 2005**).

### Matière organique

Les matières organiques dissoutes dans l'eau proviennent souvent de l'attaque et de la décomposition des cadavres d'animaux et de végétaux par les bactéries ou les champignons inférieurs. Mais elles peuvent également provenir du métabolisme des êtres vivants supérieurs : excréments racinaires des plantes et déjections des animaux (**LEFEVRE, 1993**).

### Substances azotées

Les substances azotées sont toxiques sous la forme ammoniacale ( $\text{NH}_4^+$ ) et nitrique ( $\text{NO}_2^-$ ). L'ion nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) n'est utilisé par les organismes qu'après transformation sous l'action de la nitrate réductase (**RODIER et al., 2005**).

#### ➤ Azote ammoniacal

Il est présent sous deux formes en solution, l'ammoniaque ( $\text{NH}_3^+$ ) et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dont les proportions dépendent du pH et de la température. L'azote ammoniacal provient des excréments animaux et de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés (**AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983**).

#### ➤ Nitrates

Les nitrates sont présents à l'état naturel dans l'eau suite à l'oxydation de la matière organique par les microorganismes. Mais ils sont aussi apportés de manière synthétique par les engrais (**CHAPMAN et al., 1996**).

#### ➤ Nitrites

Dans le cycle de l'azote, les nitrites sont considérés comme étant des ions intermédiaires entre les nitrates et l'azote ammoniacal, ce qui explique les faibles concentrations rencontrées en milieu aquatique qui sont de l'ordre de quelques micromoles par litre (**AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983**).

### Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Les ions phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) contenus dans les eaux de surface peuvent être d'origine naturelle (produit de la décomposition de la matière organique phosphatée, ou lessivage des minéraux).

Mais actuellement, leur présence dans les eaux est essentiellement due aux rejets industriels, domestiques ou agricoles (**POTELON et ZYSMAN, 1998**).

### II.2. Paramètres microbiologiques

Quel que soit son origine, la mauvaise qualité microbiologique de l'eau est un facteur de risque pour l'environnement (**MARTINEAU, 1997**), ce qui rend indispensable d'effectuer les analyses microbiologique afin d'apprécier les risques sanitaires.

Les bactéries les plus couramment recherchées dans l'eau sont principalement des témoins de contamination fécale (**DELARRAS, 2007**).

#### II.2.1. Germes indicateurs de contamination fécale

Le degré de pollution des eaux douces est en général évalué par le dénombrement des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux (groupe D), qui sont en grande partie dénués de pathogénicité pour l'Homme, et qui sont très abondants dans les eaux usées (**GAUTHIER et PIETRI, 1989**).

##### Coliformes totaux

Les coliformes totaux sont des bâtonnets, anaérobie facultatif, Gram (-), non sporulant (**PNUE/OMS, 1977**). Ils sont capables de croître en présence de sels biliaires et fermentent le lactose en produisant de l'acide et du gaz en 48 heures à des températures de 35 à 37 °C (**RODIER et al., 1996**). Les coliformes totaux sont présents dans la nature, dans les eaux riches en éléments nutritifs, dans les sols, sur la végétation et sur les animaux (**HADE, 2003**).

##### Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, ils constituent des indicateurs fécaux de la première importance (**DESJARDINS, 1997**).

*Escherichia coli* est l'espèce la plus importante de ce groupe. Le détail concernant cette espèce sera très traité dans le chapitre III (Contamination des eaux par les bactéries fécales antibio-résistantes).

##### Streptocoques fécaux

Ce sont des streptocoques du groupe D de LANCEFIELD, cocci à Gram positif, de forme sphérique ou ovoïde, en chaînettes plus au moins longues, non sporulés, aéro-

anaérobies facultatifs, catalase négatif, oxydase négative, homo fermentaires (**BOURGEOIS et LEVEAU, 1991**).

Dans les eaux, ils sont témoins de contamination fécale car ils ont tous un habitat fécal (**BONNEFOY et al., 2002**).

### *Clostridium sulfito-réducteurs*

Ils peuvent être considérés comme des germes fécaux. Ce sont aussi des germes telluriques (**RODIER et al., 1996**). Les *Clostridium perfringens* sont des bâtonnets anaérobies, Gram (+), sporulant et qui réduisent les sulfites en sulfures en 24 à 48 heures. Ils sont employés comme indicateurs dans l'étude des pollutions littorales pour un certain nombre de raisons (**PNUE/OMS, 1977**) :

- Ils se trouvent en abondance dans les eaux usées qui sont principalement d'origine humaine.
- Ils ne se multiplient pas dans les sédiments.
- Ils survivent dans les sédiments, ce qui permet de détecter une pollution ancienne ou intermittente (**RODIER et al., 1996**).

## II.2.2. Germes pathogènes

### *Salmonelles*

Les *Salmonelles* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, bacilles, Gram négatif, aéro anaérobies facultatives, avec un métabolisme oxydatif et fermentaire. La température optimale de croissance est entre 35 à 37 ° C (**RODIER et al., 1984**).

Elles sont responsables d'une multitude de syndromes (fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, salmonelloses...). Fréquemment responsables de toxi-infections alimentaires. Elles sont présentes dans les eaux (**POTELON, 1998**).

### *Vibrio cholerae*

Ce sont des bâtonnets incurvés en virgule ou droits, mobiles et aérophiles, Gram- et Oxydase(+). Les vibriens cholériques des eaux sont des halotolérants et peuvent se développer en présence de chlorure de sodium. Ils engendrent le choléra (**DELARRAS, 2003**).



### III. CONTAMINATION DES EAUX PAR LES BACTERIES FECALES ANTIBIO-RESISTANTES

La présence de micro-organismes pathogènes entériques dans les milieux aquatiques peut être une source de maladie lorsque l'eau est utilisée pour boire, ou pour des activités récréatives ou pour l'irrigation. Le risque sanitaire est augmenté si les bactéries entériques pathogènes présentes dans les eaux sont résistantes aux antibiotiques car les infections humaines causées par ces bactéries pourraient être difficiles à traiter avec des médicaments (WENZEL et EDMOND, 2009).

En outre, les bactéries fécales pourraient être en mesure de transmettre la résistance aux antimicrobiens des bactéries autochtones par le biais de transfert latéral, lorsque les gènes de résistance sont effectués par des éléments génétiques transférables et mobiles tels que les plasmides contribuant ainsi à la propagation de la résistance aux antimicrobiens (SAYAH *et al.*, 2005).

#### III. 1. Antibiorésistance des bactéries

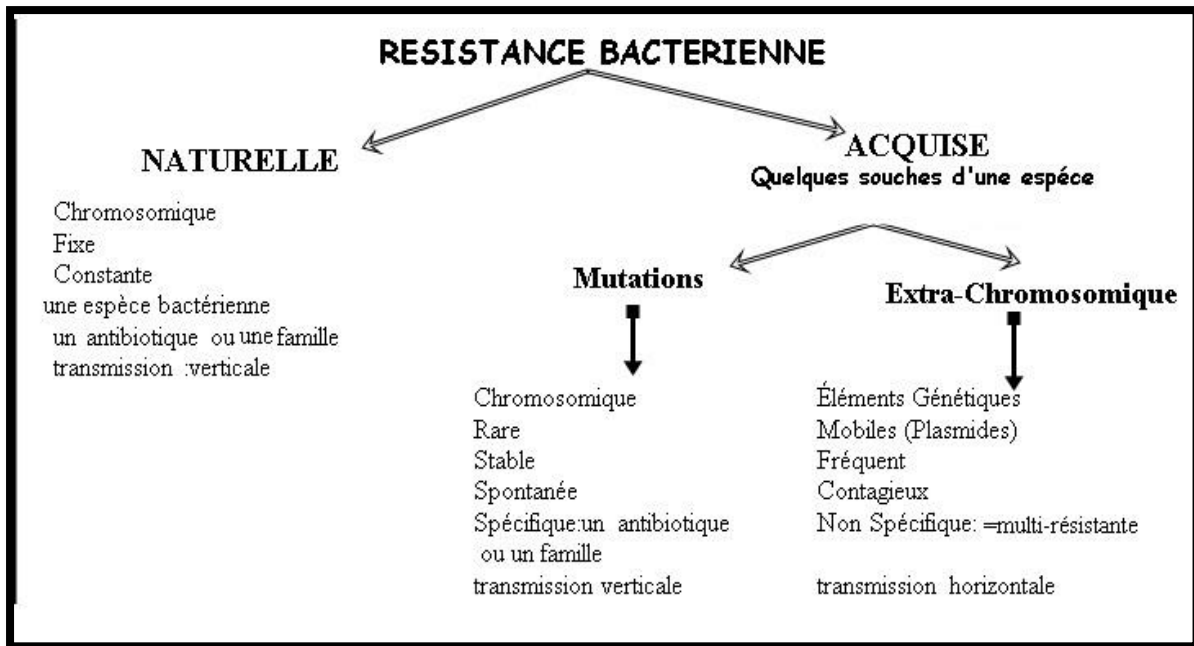
La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un phénomène en constante augmentation dans le monde entier (WALTER, 2008). Elle peut être soit naturelle ou acquise (Voir la Figure N° 1).

##### III.1.1. Résistance naturelle ou intrinsèque

Elle correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un antibiotique. Elle est due soit à une absence de cible ou à une imperméabilité de la paroi à un antibiotique (DAVIS *et al.*, 2007).

##### III.1.2. Résistance acquise

Due à des modifications génétiques, chromosomiques ou plasmatiques. Elles ne concernent que quelques souches, d'une même espèce, normalement sensibles à un antibiotique donné (DAVIS *et al.*, 2007).



**Figure N°1** : Présentation des différents types de résistance bactérienne (LAVIGNE, 2007)

### III.2. Mécanismes de l'antibio-résistance

Pour se défendre contre les antibiotiques, les bactéries ont recours à quatre grands mécanismes selon l'antibiotique en question :

#### III.2.1. Réduction de la perméabilité membranaire

Modification des barrières de perméabilité : l'antibiotique utilise les canaux empruntés par d'autres molécules pour pénétrer dans la bactérie. La bactérie modifie alors sa perméabilité de telle sorte que l'antibiotique pénètre beaucoup plus lentement, contrairement aux substances nutritives par exemple (FRERE ,2008).

Les pores sont constitués par des protéines qui forment des canaux (porines). Les bactéries résistantes réduisent aussi la synthèse de porine (VALLET, 2008). Mais cette technique a des limites car la bactérie ne peut pas s'isoler complètement (FRERE ,2008).

#### III.2.2. Développement d'une voie métabolique alternative

Dans ce cas, l'antibiotique atteint sa cible. Cependant, la bactérie utilise d'autres voies métaboliques pour exécuter le même travail. Ces activités inhibées pas l'antibiotiques vont être remplacées (FOURNIES, 2003).

### III.2.3. Modification de la cible

Chaque antibiotique agit en se fixant sur une cible précise dans la cellule (paroi, ribosome). Une modification consécutive à une mutation modifie le site de fixation et empêche ainsi la liaison de l'antibiotique (VALLE ,2008). La bactérie parvient à modifier une partie d'elle-même où intervient l'antibiotique de telle sorte qu'elle continue à fonctionner et à vivre sans qu'elle soit reconnue par l'antibiotique. (FRERE, 2008).

### III.2.4. Excrétion des antibiotiques par un mécanisme d'efflux

Le dernier mécanisme est celui des pompes de rejet. Les molécules externes à la bactérie y entrent spontanément parce que les bactéries constituent un lieu de concentration moindre que le milieu dans lequel elles baignent. Certaines bactéries ont alors développé un système de pompe qui rejette les molécules d'antibiotique qui entrent. C'est le phénomène qui est à l'œuvre avec les antibiotiques de la famille des quinolones,  $\beta$ -lactamines (FRERE ,2008).

### III.3. Antibiorésistance des souches productrices de bêta- lactamase

Ces dernières années, l'émergence des bactéries multirésistantes, principalement liée à la prescription non sélective d'antibiotique et à l'hygiène, préoccupe le monde médical. L'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes.

Les bêta-lactamines constituent une famille d'antibiotiques qui comprend les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de la bêta-lactamase. Très largement prescrit en clinique, les bêta-lactamines agissent en inhibant la biosynthèse du peptidoglycane, principal constituant de la paroi bactérienne par fixation préférentielle à diverses protéines.

Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), trois types de mécanismes de résistance, principalement acquis, ont été identifiés : la faible affinité pour les protéines de liaison à la pénicilline (PLP), les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par des protéines, dénommées les bêta-lactamases en raison de leur affinité pour le noyau bêta-lactame (PHILIPPON, 2013).

Les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta- lactamases, enzyme qui inactive les antibiotique bêta- lactamines par ouverture du cycle bêta- lactame. Les gènes de la

résistance aux bêta- lactamines se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomique (OMS, 2008).

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) constituent un vaste groupe de bêta-lactamases. Les BLSE confèrent habituellement aux bactéries un phénotype de résistance aux pénicillines, aux céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi qu'au céfépime et à l'aztréonam. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique. À l'inverse, elles ne confèrent pas de résistance vis-à-vis des céphamycines ou des carbapénèmes (JACOBY, 2009).

Dans le cadre de cette étude, l'espèce sélectionnée est *Escherichia coli*.

### III.4. *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (LEVINE, 1987). C'est un bacille Gram-, Anaérobie facultative, mobile, asporulé, de 2,5 µ de longueur et de 0,6µ de largeur, possédant des flagelles péritriches (PHILIPON, 2004).

#### ❖ Habitat

C'est une bactérie commensale du tube digestif des animaux et de l'Homme (PHILIPON, 2004). L'espèce *E. coli* est excrétée dans la nature surtout dans les eaux usées qui deviennent à leur tour une source de contamination. C'est une espèce indicatrice de contamination fécale et sa présence dans l'eau et le sol n'est pas considérée comme normale (LE MINOR et VERON, 1989; KAISER, 1998).

#### ❖ Caractères biochimiques

Les souches d'*E.coli* fermentent le glucose avec production de gaz, dégradent le lactose et sont β-galactosidase positive. De même elles sont indole et lysine décarboxylase positives. Elles n'utilisent pas le citrate comme source de carbone et sont uréase tryptophane désaminase et H<sub>2</sub>S négatifs (DELARRAS, 2003).

#### ❖ Caractères cultureux

En 24 heures d'incubation à 37°C, sur milieux gélosés, les colonies sont rondes, lisses, à contours réguliers ayant parfois un aspect muqueux, non pigmentées.

Elles sont de 2 à 3 mm de diamètre. Sur milieux lactosés, la culture fait varier l'indicateur de pH vers l'acidification (**DELARRAS, 2003**).