

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 II en Hydrobiologie Marines et Continentales
Option : Biodiversité et fonctionnement des Ecosystèmes Restauration des Milieux
Aquatiques Continentaux

Thème

Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de
L'oued Sidi El Kebir et étude de l'antibiorésistance des
souches isolées (Blida)

Présentées par :

Hanniche Fatma Zohra

Hafsi Bounbaou Amina

Soutenu le : Le 22/09/2016

Devant le jury :

Mme Charallah.A

MAA

président

Mme Khettar.S

MAA

Examinatrice

Mme Debib. A

MCB

promotrice

Année Universitaire : 2015/2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah tout puissant qu'il nous a guidé tout au long de nous vie, qu'il nous a donné courage et patience pour passer tous les moments difficiles, qu'il nous a permis d'achever ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de M^{me} DEBIB AICHA, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait M^r HAMAIDI en étant présidente du jury et M^{me} KHATTAR, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

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

Un spécial remerciement va à Mr CHAAOUA.N pour sa qualité humaine et son énorme patience et gentillesse.

A l'ensemble des enseignants de Biologie qui ont contribué à notre formation durant les années d'étude.

Enfin, nous nous serait difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail. Qu'ils trouvent dans ces paroles l'expression de mes sincères remerciements.

Dédicace

Tous d'abord je veux remercier dieu le tout puissant de m'avoir permis de Réaliser ce modeste travail et donner la force et la patience d'accomplir mes études.

A la lumière de ma vie et ma raison de vivre, ma chère mère et mon cher père qui m'ont donné tout l'amour et l'affection dont un enfant a besoin, ils m'ont toujours encouragé, conseillé et guidé vers le droit chemin et accordé une confiance énorme.

A la mémoire de mon cher frère ADEL Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A ceux qui m'ont supportée, encouragée, et surtout qui m'ont aimée ; Mes chers frères LAMIN, BAHAA et YASSINE et ces merveilleuses femmes ZAHRA et MIMI

A l'ambiance de notre petite famille, mes neveux : ABDOU, ARIDJE, ADOULA, ADEL

A toute ma famille, mes grands-parents, mes oncles et tantes maternelles et paternelles, cousins et cousines

A ma chère amie et mon binôme, AMINA qui a partagé avec moi les moments difficiles et les beaux souvenirs de ce travail.

A mes chères copines AMINA et MERIEM, ma plus grande source de bonheur

A mes amis particulièrement ABDOUALLAY, HIZOU, SAMAH, YOUSSEF, HAMIDA, HALIMA et BILLEL merci pour vos conseils et vos encouragements, mais aussi pour les bons moments qui ont contribué à rendre ces années inoubliables. Bonne chance à tous.

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université avec tous mes sincères remerciements et tous mes respects.

A tous qui m'aiment, que j'ai cité ou non ; je leurs dis du fond du cœur merci pour tout

« FATIMA »

Dédicace

Tout d'abord je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la foi, et qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail, et de m'avoir permis d'en arriver là.

A celle qui a veillé à mon chevet et à mon bien être de mon enfance jusqu'à l'instant et m'a entouré de tout son amour et son affection, l'être le plus cher au monde et à mon cœur ma mère "je t'aime très fort maman et plus que vous imaginé.

A mon chère papa "ABED EL KADER", en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'il a fait pour mon éducation ainsi que ma formation que Dieu le protège et le garde à nous.

A celles qui m'ont supportée, encouragée, et surtout qui m'ont aimée ;

Mes Sœur SOUAD, KENZA et FATIMA Ainsi que leurs maris BRAHIM et YACINE.

A mes frères HAMZA et AMINE.

A mon frère que j'adore, SOFIENE et sa merveilleuse femme NASSIMA

A l'ambiance de notre petite famille, mes neveux SAMSOUMA et LOUBNA

A ma plus grande source de bonheur qui a été toujours à mes côtés, qui m'a soutenue et encouragé, et qui sans son amour, son compréhension, son conseil et son tolérance je n'ai jamais pu atteindre mes objectifs BILLEL mille merci pour toi

A mon binôme, Fatima qui a partagé avec moi les moments difficiles et les beaux souvenirs le long des années d'étude

A mes amis HIZIA, KHAWLA et AMIRA

A toute ma famille, mes oncles et tantes, cousins et cousines (AMEL et AMOULA)

A tous mes enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université

AMINA HAFSI



RESUME

RESUMÉ

Dans le but d'évaluer l'état de pollution de l'oued Sidi El Kebir situé dans la région de Bouarfa (Blida), une étude 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*, *klebseilla* et *entérobacter Sakazakii* sur une période s'étalant du mois de Janvier jusqu'au mois de mai 2016.

La recherche bactériologique montre la prédominance de germes indicateurs de contamination fécale comme les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux (les valeurs oscillent entre 10-2400 UFC/100ml). Cependant, ces valeurs restent inférieures aux normes. En revanche, dans la 3ème station, on note une moyenne importante en spores anaérobies sulfite-réducteurs dépassant les normes (1-5spores/20ml). L'absence de germes pathogènes comme les salmonelles et les vibrions cholériques a été signalée.

Les résultats de l'antibiorésistance des souches isolées (n=24) vis-à-vis les 15 antibiotiques testés ont montré l'existence d'une très faible résistance. Ainsi, cet oued n'est pas un réservoir de bactéries résistantes portant des gènes de résistance.

Mots clés : Oued Sidi El Kebir, analyses bactériologiques, *Escherichia coli*, *Klebseilla*, *Entérobacter Sakazakii*, antibiorésistance.

الملخص

من أجل معاينة وضعية التلوث لواد سيدي الكبير الموجود بمدينة بوعرفة (البلدية)، تم إعداد دراسة مكر وبيولوجية لعينات الماء المأخوذة على مستوى ثلاث محطات ، مع التركيز على دراسة مقاومة الاشريكية القولونية الساكازكية الامعائية في المدة الممتدة من شهر يناير إلى شهر ماي 2016 .

التحاليل البكتيرية أظهرت هيمنة البكتيريا الدالة على التلوث البرازي، كالبكتيريا العقدية البرازية وبكتيريا القولون البرازية.

لكن تبقى القيم أدنى من المعايير المعمول بها. من جهة أخرى، في المحطة الثالثة، لاحظنا وجود هام للبكتيريا اللاهوائية، لاحظنا عدم وجود البكتيريا الممرضة المسبب للكوليرا و السالمونيلا.

نتائج المقاومة أظهرت وجود سلالات ذات مقاومة للمضادات الحيوية و اخرى حساسة.

كلمات مفتاحية : واد سيدي الكبير ، تحاليل بكتيرولوجية، البكتيريا العقدية البرازية وبكتيريا القولون البرازية مقاومة المضادات الحيوية.

ABSTRACT

In order to assess the state of pollution of the river Sidi El Kebir located in the Bouarfa region (Blida), microbiological study was conducted on water samples collected at three stations, with particular interest for the study of *Escherichia coli* resistance profile, *Enterobacter Sakazakii* and *klebseilla* over a period spanning January to the month of January to the month of May 2016.

The search bacteriological shows the predominance of faecal indicator organisms such as total confirmed, faecal coliforms and faecal streptococci, but the value remain below the standards. In contrast to the third station there is a large middle in anaerobic sulfite sports, absence exceeding the standards of pathogens such as salmonella and vibrio cholera has been reported.

The results of susceptibility testing of isolates (n=24) show the presence of resistant strains and other sensitive vis-à-vis your antibiotics.

Keywords: Oued Sidi El Kebir, bacteriological analyses, *Escherichia coli*, *klebseilla*, *Enterobacter Sakazakii* antibiotic resistance.

LISTE DES ABREVIATIONS

ASR: Anaérobie Sulfito-Réducteurs.

ATB: Antibiotique.

BCPL : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol.

BGN : Bacilles Gram Négatifs.

CF: Coliformes Fécaux.

CT: Coliformes Totaux.

D/C : Double Concentrations.

E. coli : Escherichia Coli.

Ech : Echantillon.

GNAB: Gélose Nutritif Alcaline Biliée.

IPA : Insitut Pasteur d'Algerie

IPO: Indice de Pollution Organique.

IQM: Indice de Qualité Microbiologique.

ISO: Organisation International de Normalisation.

NPP : Nombre Plus Probable.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

S/C : Simple Concentrations.

S1: Station 1.

S2: Station 2.

S3: Station 3.

SF: Streptocoques Fécaux.

TGEA : Tryptone Glucose Extract Agar.

UFC: Unité Formant Colonie.

VF : Viande Foie.

LES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
I	Principales maladies d'origine hydrique et leurs agents pathogènes	14
II	Les caractères d'identification des genres le plus fréquemment rencontrés	Annexe III
III	Résultats des analyses microbiologiques	Annexe III
IV	Grille de la qualité (IQM)	36
V	Résultats de rapport CF /SF	43
VI	Résultat de l'indice de qualité microbologique(IQM)	44
VII	Résultats de l'antibiogramme	Annexe III
VIII	Nombre le plus probable et intervalle de confiance (NPP)	Annexe III
IX	Normes de qualité microbiologiques des eaux des eaux de surfaces selon L'OMS et JORA	Annexe III

TABLEAU DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
01	La distribution globale de l'eau	03
02	Présentation des différents types de résistance bactérienne	15
03	Voies de propagation de l'antibiorésistance dans l'environnement	17
04	Situation géographique des sites de prélèvements	21
05	Photo de la station 1 (originale)	22
06	Photo de la station 2 (originale)	22
07	Photo de la station 3 (originale)	22
08	Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide	26
09	Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide	27
10	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau brute	29
11	Recherche et dénombrement des ASR	31
12	Recherche de Salmonella	33
13	Variation des coliformes totaux	40
14	Variation des coliformes fécaux	41
15	Variation des streptocoques fécaux	42
16	Répartition d'E.coli avec d'autres souches	45
17	Pourcentage de la résistance d' <i>E. Coli</i> vis-à-vis Des Antibiotiques testés	46
18	Résultats de l'Antibiogrammes des souches d' <i>E. Coli</i> des 3 stations	47
19	Pourcentage de la résistance de <i>Klebseilla</i> vis-à-vis Des Antibiotiques testés	48
20	Résultats de l'antibiogramme de <i>Klebseilla</i> (photooriginale)	48
21	Pourcentage de la résistance d' <i>Enterobacter Sakazakii</i> vis-à-vis des Antibiotiques testés	49

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Généralités sur les eaux	03
I.1.cycle de l'eau	04
I.2.les ressources des eaux dans le monde.....	05
I.3.les ressources des eaux en Algérie.....	06
I.4.les eaux de superficielles	03
I.4.1.les différentes type des eaux de surface.....	07
Chapitre II. Pollution des eaux	08
II.1.les origines de la pollution	08
II.2 Les principaux types de polluants.....	09
Chapitre. III. Les paramètres microbiologiques de la qualité des eaux superficielles	11
III.1 Flore microbienne de l'eau	11
III.2.les paramètres microbiologiques	12
III.2.1 Germes indicateurs de contamination fécale	12
III.2.2 Germes pathogènes	13
III.3 Evaluation de l'Indice de Contamination Microbiologique.....	14
III.4 Maladies à Transmission Hydrique (MTH).....	14
Chapitre IV Antibiorésistance	15
IV.1.1 Définition des antibiotiques	15
IV.1.2 Antibiorésistance des bactéries	13
IV.1.3 Antibiorésistance des bactéries dans l'environnement aquatique.....	14
IV.1.4 Mécanismes de l'Antibiorésistance.....	14
IV.2. l'espèce étudiée Les entérobactéries.....	15

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I. Matériel et méthodes	21
I.1. Présentation de la zone d'étude et choix des stations de prélèvement	21
I.1.1. description de la zone d'étude	21
I.1.2. choix des stations de prélèvement	22
I.2. Matériel	24
I.2.1- Matériel biologique	24
I.2.2- Matériel non biologique	24
I.3- Méthodes	24
I.3.1. mode de prélèvement et transport, échantillonnages	25
I.4. Analyses microbiologique	25
I.3.3. Examen bactériologique des souches des entérobactéries	35
I.3.4. l'antibiogrammes	37
Chapitre II. Résultats et discussion	40
II.1. Résultats des analyses microbiologiques	40
II.1.1. Germes indicateurs de contamination fécale	40
II.1.2. Germes pathogènes	46
II.2. Indice de pollution	46
II.2 .1. Indice de la qualité microbiologique (IQM)	46
II.3. Résultats de l'antibiorésistance des souches isolée des entérobactéries	48
II.3.1. Isolement et identification	48
II.3.2. Résultats de l'antibiogramme	49
Conclusion	54

Références bibliographiques

Annexes



INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'eau est devenue un enjeu stratégique mondial dont la gestion, doit impérativement s'intégrer dans une perspective politique de développement durable. Certains affirment en effet qu'elle sera, au troisième millénaire, un enjeu de guerres comme le pétrole l'a été et l'est encore aujourd'hui (**Garçia, 2006**). Malheureusement cette source naturelle indispensable est menacée aujourd'hui par les activités humaines (**Afri-Mehennaoui et al., 2009**).

En effet, la qualité des eaux dans le monde, a connu ces dernières années une grande détérioration, à cause des rejets industriels non contrôlés et l'utilisation intensive des engrais chimiques en agriculture. Ces derniers produisent une modification chimique de l'eau qui la rendent impropre aux usages souhaités (**Reggam et al., 2015**). Il est donc nécessaire d'avoir une meilleure connaissance sur les ressources en eau existantes surtout les informations concernant la vulnérabilité des ressources et les mesures nécessaires pour développer, gérer et protéger ces ressources (**Belghiti et al., 2013**).

En outre, la croissance démographique accompagnée d'une urbanisation rapide et le manque de sensibilisation de la population envers la protection de l'environnement, conduisent autant au déséquilibre de l'écosystème et génèrent des éléments polluants qui peuvent affecter la qualité physico-chimique et biologique des milieux aquatiques récepteurs, mais aussi altérer les usages de l'eau (**Makhoukh et al., 2011**).

En Algérie, les ressources en eau existantes sont également menacées par ces différents types de pollution. En effet, les oueds sont devenus véritables dépotoirs, en ce sens, ils charrient toutes sortes de rejets liquides et solides et constituent un danger pour la population (**Guasmi et al., 2006**).

Le contrôle et la surveillance de la qualité des eaux de surface et les eaux souterraines devraient susciter un intérêt particulier. Ils doivent avoir comme objectifs majeurs la préservation de la santé de la population et le dépistage de tous les types de pollution pouvant nuire à la santé humaine (**El ouali Lalami et al., 2011**).

Par ailleurs, les écosystèmes aquatiques peuvent aussi être un lieu favorable à la dissémination des résistances. Des bactéries fécales porteuses de gènes de résistance peuvent être excrétées dans l'environnement et les eaux. Elles survivent dans ces milieux, et auront la capacité de transmettre leurs gènes de résistance. De plus, ces bactéries peuvent contaminer par la suite l'homme et l'animal via différents écosystèmes notamment l'eau, les effluents, les sols, l'environnement ou la nourriture (**Van Den Bogaard *et al.*, 2000**).

Dans cette optique, notre travail s'est orienté, dans l'objectif d'évaluer d'une part la qualité microbiologique de trois stations localisées sur le long de l'oued Sidi El Kebir à Bouarfâ dans la wilaya de Blida et d'autre part, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la résistance des entérobactéries isolées vis-à-vis des antibiotiques.



ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités

L'eau se trouve presque partout sur la terre et elle est vitale pour tous les organismes vivants connus.

Sur 1 386 000 000 de km³ d'eau sur toute la terre, environ 97 % est saline. En ce qui concerne l'eau douce, plus de 68 % se trouve dans la glace et les glaciers. D'autre 30 % se trouve dans le sol. Les sources d'eau douce de surface, comme les rivières et les lacs, totalisent 93 100 km³, ce qui représente 1/150 d'un pourcent de la quantité totale de l'eau. Cependant, les rivières et les lacs sont les sources de la plupart de l'eau qui est utilisée par les hommes tous les jours. La circulation de l'eau au sein des différents compartiments terrestres est décrite par son cycle biogéochimique, le cycle de l'eau (**Bretrand ,2008**)

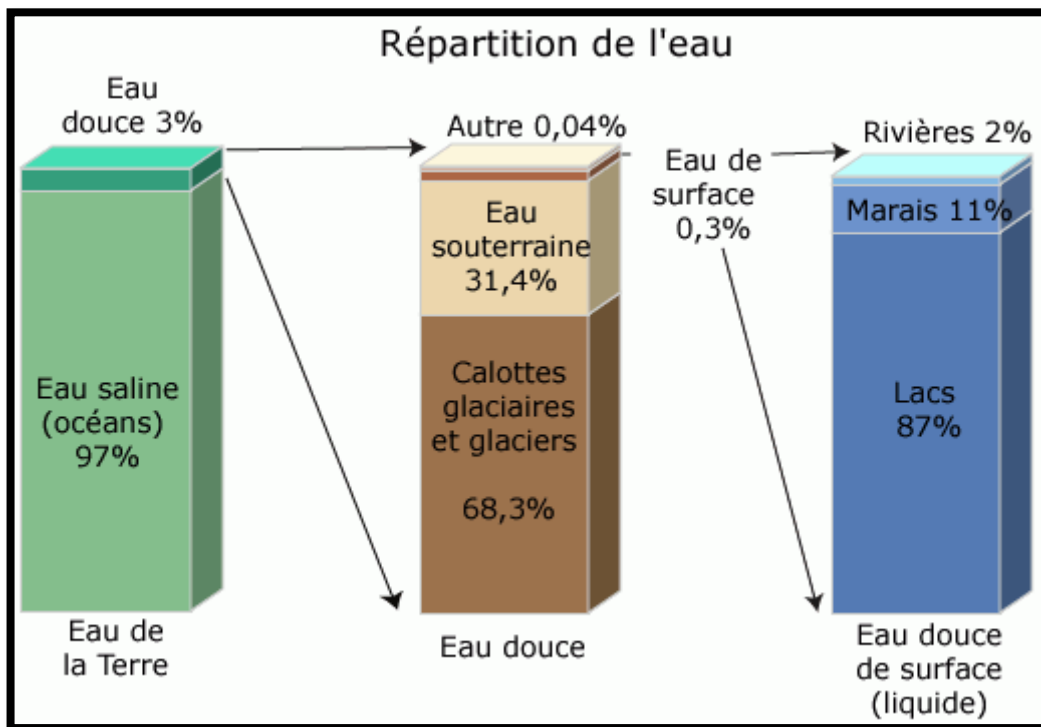


Figure 01 : la distribution globale de l'eau (**Rodier et al.,2009**)

I.1 Ressource des eaux dans le monde

Les réserves disponibles d'eaux naturelles sont constituées des eaux souterraines (infiltration, nappes), des eaux de surface retenues ou en écoulement (barrages, lacs, rivières) et des eaux de mer (**Jean-Claude,1983**).

Le total des ressources : 2.109 km³ dont 97% en Mer et Océans..... Donc reste 3% qui se trouvent ailleurs et qui est de l'eau principalement non salée. Dans ces 3% il y a :

- 18 % d'eaux profondes inexploitable.
- 77 % de glaces.
- 5 % autres constitué :
 - 3.5 % dans les êtres vivants
 - 1 % dans les rivières
 - 5.5 % dans l'atmosphère
 - 20 % eaux souterraines superficielles
 - 30 % lacs salés
 - 40 % lacs eaux douces (**Papa, 2005**).

I.2 Ressources des eaux en Algérie

Les ressources en eau, utilisées pour nos divers besoins, proviennent des eaux dites de surface (ruissellement des eaux de pluie, écoulement des cours d'eau) que l'on peut en partie stocker dans des barrages et retenues de diverses tailles, et des eaux souterraines accumulées par les nappes aquifères, alimentées également par l'infiltration d'une partie des eaux de pluie. Ces dernières totalisent en Algérie un volume moyen annuel de 12,4 milliards de m³ (**Bahmed, 2004**).

Les études les plus récentes (**Mate, 2000**) estiment à 4,7 milliards de m³ le volume global que l'on pourra mobiliser (stocker dans des barrages) à partir des eaux de surface, au moment où tous les barrages qu'il est possible (techniquement et financièrement) de réaliser seront installés : ce volume ne représente que 38% du volume annuel global des eaux de surface. Pour ce qui est des eaux souterraines, leurs réserves permettent d'exploiter un volume annuel de quelques 6,8 milliards de m³ et elles exigent, par conséquent, de coûteux forages. En termes de ressources mobilisables, l'Algérie dispose d'un plafond annuel de 11,5 milliards de m³ qui se répartissent comme suit (**Mate, 2000**)

- Mobilisation des eaux de surface (barrages): 4, 7 milliards de m³.
- Exploitation des nappes souterraines: 1, 8 milliards de m³ (pour le nord de l'Algérie). Et 5 milliards de m³ (pour le sud de l'Algérie). Soit un total de 11,5 milliards de m³.

Cette situation nous classe déjà parmi les pays qui se situent en dessous du seuil de pénurie de la disponibilité en eau, fixé internationalement à 1000 m³/ an/ habitant. La disponibilité de l'eau est en effet actuellement, avec une population de 30 millions d'habitants, de 383 m³/an/habitant et passera en 2020 avec une population de quelque 44 millions d'habitants, à 261m³/an/habitant, pour ce qui concerne les ressources mobilisables (**Bahmed, 2004**).

I.3 Eaux superficielles

Elles sont constituées par toutes les eaux circulantes ou stockées à la surface des continents. Elles ont pour origine les eaux de ruissellement ou les nappes profondes dont l'émergence constitue une source de ruisseau puis de rivière (**Jean-Claude, 1983**).

Ces eaux se rassemblent en cours d'eau caractérisés par une surface de contact eau-atmosphère en mouvement et une vitesse de circulation appréciable. Elles peuvent se trouver stockées en réserves naturelles (étangs, lacs) ou artificielles (retenues, barrages) caractérisées par une surface d'échanges eau-atmosphère quasiment immobile, une profondeur qui peut être importante et un temps de séjour souvent élevé (**Guilbert , 2000**). Il s'agit d'une ressource facilement accessible mais, malheureusement, fragile et vulnérable, qui doit être protégée contre les divers facteurs de pollution qui la menacent. Ces facteurs résultent, pour la plupart, de l'activité humaine et industrielle, mais aussi de processus naturels (eutrophisation: développement excessif d'algues et de plancton) qui peuvent dégrader la qualité de l'eau (**Berne F and Jean C., 1991**).

Ce qui caractérise les eaux superficielles ce sont

- Les variations saisonnières (car climatiques) et à degré moindre, journalières des paramètres physiques : température, turbidité et coloration. Les concentrations en matières solides finement dispersées ou à l'état colloïdal peuvent être importantes, tout en étant aléatoires, suite à des pluies soudaines, des orages et des pollutions accidentelles.

- Le développement plus ou moins important de phytoplancton (algues), de zooplancton et dans certaines conditions, d'une vie aquatique intense .
- La présence fréquente de matières organiques d'origine naturelle provenant de la décomposition des organismes végétaux ou animaux après leur mort
(**Jean-Claude, 1983**).

La fragilité de la ressource, très vulnérable à la pollution urbaine, industrielle et agricole. On y rencontre par suite très souvent une micropollution minérale (métaux lourds, sulfures) ou organique (hydrocarbures, phénols, solvants, pesticides, herbicides, etc.) pouvant avoir un caractère toxique ainsi que des substances azotées et phosphatées à l'origine des phénomènes d'eutrophisation (**Guilbert, 2000**).

I.3.1 Différents type des eaux de surface

Il existe plusieurs types de surface

- ❖ **Lacs** : ils sont constitués de bassins naturels, de retenues d'eau, ce qui a pour effet :
 - De réduire la turbidité des eaux étant donné que, grâce à leur faible turbulence, les MES ont tendance à se déposer au fond.
 - De réduire également la concentration des bactéries et des virus pathogènes dans ces eaux, grâce à l'effet combiné de sédimentation et les longs séjours de l'eau dans les lacs, là où les conditions sont peu favorables à la survie de ces organismes, qui sont généralement d'origine intestinale.
 - D'accroître la concentration de certains sels nutritifs comme le phosphore, l'azote, ce qui provoque l'eutrophisation des lacs (**Briere, 2000**).
- ❖ **Oueds** : dans les régions basses et en plaine, les cours d'eau prennent l'allure d'un oued, qui se jette les uns dans les autres et donnent naissance aux fleuves.
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**).
- ❖ **Etangs** : un étang est une surface d'eau peu profonde (moins de 6 cm), à très faible écoulement. la masse liquide se renouvelle très lentement (**Bachasson, 1997**).

II. Pollution des eaux de surface

La pollution des eaux est définie comme toute modification physique ou chimique de la qualité des eaux, qui a une influence négative sur les organismes vivants ou qui rend l'eau inadéquate aux usages souhaités. Donc on dit que l'eau est polluée, lorsque sa composition ou son état est directement ou indirectement modifié par l'action de l'homme (**Ezziane, 2007**).

II. 1 Origines de la pollution

La pollution des eaux provient essentiellement des activités domestiques et industrielles ainsi que des précipitations, elle perturbe les conditions de vie de la flore et la faune aquatiques, elle compromet également l'utilisation de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique. (**Gommella and Gurree., 1983**)

II.1.1 La pollution domestique

Selon **Genin et al., (2003)**, elle provient des habitations. Elle est en général véhiculée par un réseau d'assainissement, qui collecte les rejets de chaque foyer au centre d'activité vers une station de traitement des eaux usées. Elle se caractérise par :

- De fortes teneurs en matières organiques ;
- Des sels minéraux, dont l'azote et le phosphore ;
- Des détergents;
- Des germes fécaux (**Gaujous, 1995**).

II.1.2 pollution agricole

Provenant des fermes ou des cultures, elle se caractérise par : de forte teneurs en sels minéraux (azote, phosphore, potassium), provenant des engrais, des pesticides et des insecticides qui altèrent la qualité des nappes souterraines vers lesquelles ils sont entraînés. (**Ezziane, 2007**).

II.1.3 Pollution industrielle

D'après (**Genin et al., 2003**), elle est caractérisée par une très grande diversité, suivant l'utilisation de l'eau dans les processus (refroidissement, lavage, extraction, mise en solution, etc.) et l'activité de l'usine (chimie, traitement de surface, agroalimentaire, etc.). On peut donc

retrouver dans l'eau qui est un bon solvant, tous les sous-produits possibles de l'activité humaine:

- Matières organiques et graisses (industries agroalimentaires, abattoirs équarrissages;
- Hydrocarbures (raffineries);
- Acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques et pharmaceutiques, tanneries).

II.1.4 Pollution naturelle

Divers phénomènes naturels sont à l'origine de cette pollution par exemple, une éruption volcanique, un épanchement sous-marin d'hydrocarbures, le contact avec des filons géologiques (métaux, arsenic), une source thermominérale...(Gaujous, 1995).

II.2 Les principaux types de polluants

Un polluant est un facteur physique, chimique, ou biologique issu de l'activité humaine et provoquant, sous une intensité ou une concentration, a normale, une altération de la qualité de l'eau naturelle (Margat and Andereassian., 2008)

II.2.1 Polluants physique

Selon (Castany, 1982), les trois principaux agents physiques de la pollution sont : la chaleur, le transport de matières solides en suspension et la radioactivité

- **La chaleur** : par élévation de la température de l'eau surtout de surface, provoque des effets écologiques sur la vie aquatique (développement des microorganismes comme les algues) .elle diminue la solubilité de l'oxygène, déficit renforcé par l'accroissement de l'activité biologique qui en consomme.
- **Les matières solides en suspension** : sont introduites par les précipitations et les eaux de surface. Certaines particules, très petites de l'ordre du micron, peuvent ainsi transiter.
- **La radioactivité** : est potentiellement le plus dangereux des polluants physique. C'est pourquoi tous les rejets sont sévèrement réglementés et contrôlés.

II.2.2 Polluants chimiques

L'eau, par son pouvoir dissolvant élevé, dissout les substances rejetées par l'activité humaine. Les polluants chimiques sont nombreux et d'origines diverses : sels minéraux dissous, métaux lourds, pesticides, détergents et hydrocarbures. **(Castany, 1982)**

- **Les sels minéraux dissous** : les plus couramment rencontrés dans la pollution des eaux sont : les nitrates, les phosphates, les sulfures, les nitrites, les carbonates... **(Zourez and Frahani., 2003)**
- **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)**.
- **Les pesticides** : Appelés aussi « produits phytosanitaires », ce sont des substances chimiques minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures. **(Rodier et al., 1996)**, puisque leur rôle est précisément la destruction des parasites des cultures et qu'ils sont entraînés dans des eaux par ruissellement **(Angelier, 2000)**
- **Détergents** : très complexe, ce sont des détergents eux-mêmes (anionique ou cationiques), ou des adjuvants, tels que les poly phosphates, conduisent à un abaissement de la teneur en oxygène du milieu, et à des phénomènes de moussage **(Vilagines, 2003)**.
- **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)**. Ils donnent un goût désagréable à l'eau (1 litre d'essence suffit pour dégrader entre (1000 et 5000 m³) **(Castany, 1982)**.

II.2.3 Polluants biologiques

La pollution microbienne est un risque sanitaire majeur pour la santé de l'homme, c'est le premier problème contre lequel il faut lutter, car à l'inverse des autres polluants, il s'agit d'un risque à court terme. **(Hartmann, 2004)**, 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**).

III. Les paramètres microbiologiques de la qualité des eaux superficielles

III.1 Flore microbienne de l'eau

Les micro-organismes rencontrés dans l'eau sont très variés, leur nature dépend de celle de l'eau analysée ; eau de captage ou distribution, eau de traitement ou de circuits industriels, eaux résiduaires, ces micro-organismes sont classés en trois types :

1. Les germes typiquement aquatique : ce sont des bactéries (*vibrions, Pseudomonas...*).
2. Les germes telluriques : ce sont des bactéries sporulées (*bacilles, Clostridium...*) ou apportant aux germes *streptomyces* et des spores fongiques.
3. Les germes de pollution humaine ou animale : ce sont des germes souvent pathogènes et essentiellement d'origine intestinale (*E-coli i, salmonelles et streptocoques fécaux...*) (**Berne, 1972**).

On peut également rencontrer dans l'eau des parasites (kystes d'amibes) et des virus (poliomyélite virus des hépatites virales) (**Berne, 1972**).

L'eau ne doit contenir ni microbe, ni bactérie pathogène, ni virus, ni parasites qui pourraient entraîner une contamination microbiologique et être la cause d'une épidémie (**Rodier, 1996**).

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 (**Delarass, 2007**).

III.2 Paramètres microbiologiques

III.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 and Pierti., 1989**).

❖ Coliformes

Ce sont des microorganismes indicateurs de contamination fécale (**Delarass, 2007**). ils sont présents en très grand nombre dans l'intestin et les selles de l'homme. Ils appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Conjous, 1995**). ce groupe renferme :

❖ Coliformes totaux (CT)

Selon l'organisation internationale de standardisation, il s'agit de bacilles gram négatifs (BGN) non sporulés oxydase négative aérobies ou anaérobies facultatifs, ils peuvent se développer en présence des sels biliaires ou d'agents de surface équivalents. Ils sont capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36°C et 37°C. 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(CF)

Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants » correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44°C. Le groupe des coliformes fécaux comprend entre autres les espèces suivantes : *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* (**Rodier et al., 2009**).

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**).

❖ **Streptocoques fécaux (SF)**

Il s'agit de cocci à Gram positif de forme sphérique ou ovoïde, se présentant en chaînettes plus ou moins longues, non sporulées aéro-anaérobies facultatives, ne possédant ni catalase ni oxydase. Ce sont des hôtes normaux d'homme, et ne sont pas considérés comme pathogène. Ils sont néanmoins considérés comme indicateurs d'une pollution fécale (**Berne, 1972**).

❖ **Clostridium sulfito-réducteur**

En dehors des streptocoques fécaux et *Esherichia.coli* qui sont des indices de contamination fécale récente, du fait que leur survie dans l'eau peut être très courte, les clostridiiums sulfito-réducteurs représentent l'indice d'une contamination fécale ancienne, ils sont résistants aux conditions défavorables grâce à la sporulation, ils sont des bactéries anaérobies strictes, sporulés, Gram positif réduisent les sulfites en sulfures et dont la plupart des espèces est mobile (**Gregorio C and Pierre M., 2007**).

III.2.2 Germes pathogènes

❖ **Salmonelles**

Les salmonelles sont classées dans la famille des Enterobacteriaceae, elles possèdent les propriétés générales des bactéries de cette famille (**Delarras, 2003**).

D'après (**Carip, 2008**), les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif, mobiles par ciliature péritriches, aéro-anaérobies facultatifs, oxydase négative, capable de fermenter le glucose par fermentation alcoolique mais incapable de fermenter le lactose ou de produire de l'uréase. Les salmonelles sont mésophiles mais sont capables de divisions actives entre 5°C et 45°C.

Les salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulence et leur pathogénicité varient énormément : fièvres typhoïdes, salmonelloses systémiques, gastroentérites, toxi-infections alimentaires (**Rodier et al., 2009**).

❖ **Vibrion cholérique**

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

❖ **Pseudomonas**

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires (**Palleroni, 2008**). Ce sont des aérobies obligatoires et ont un métabolisme mésophile et chimio organotrophe oxydatif (**Moore et al., 2006**). Ubiquistes, ils sont particulièrement abondants dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes pour les animaux et les végétaux (**Haas and keel., 2003**). *Pseudomonas aeruginosa* est la principale espèce du genre *Pseudomonas* de par sa fréquence et sa présence dans de nombreuses niches écologiques (eaux, végétaux, sols). Elle est le type même des bactéries opportunistes pathogènes chez l'immunodéprimé ou après un traumatisme grave ou chez les brûlés (**Denis et al., 1998**).

III.3 Evaluation de l'Indice de Contamination Microbiologique

Comme pour les analyses chimiques, il est possible de calculer pour les cours d'eau un indice de contamination microbiologique à partir du dénombrement de différents germes dont les principaux, généralement associés à la pollution organique, sont les bactéries totales, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. La méthode de traitement de données est basée sur l'indice de Contamination fécale (**Bovesse and Depelchin., 1980**). Le principe est de répartir les valeurs des éléments polluants en 05 classes et de déterminer à partir de ses propres mesures le numéro de classe correspondant pour chaque paramètre pour en faire la moyenne.

III.4 Maladies à Transmission Hydrique (MTH)

Selon (**l'OMS, 2006**), L'eau est le principal énergisant de toutes les fonctions du corps. Elle constitue en raison de son pouvoir de dissolution et de sa grande mobilité, un véhicule pour de nombreux microorganismes, bactéries, virus et protistes. Environ 5 millions de décès étaient imputables à une eau de mauvaise qualité, qui transmet le choléra, la fièvre typhoïde et notamment les diarrhées ou les gastroentérites. Le tableau suivant résume les principales maladies d'origine hydrique

Tableau I : Principales maladies d'origine hydrique et leurs agents pathogènes

Origine	Maladies	Germes responsables
Bactérienne	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fièvres typhoïdes ▪ Fièvres, infection pulmonaires, Insuffisances rénales ▪ Dysenterie bacillaire ▪ Choléra ▪ Gastro-entérites aiguës 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Salmonella ▪ Legionella ▪ Shigella ▪ Vibrio cholerae ▪ Escherichia coli, Salmonella, Shigella.
Virale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hépatites ▪ Poliomyélite ▪ Gastro-entérites aiguës 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Virus hépatiques ▪ Virus poliomyélique ▪ Virus de Norwalk, Rotavirus, Entérovirus
Parasitaire	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dysenterie amibienne ▪ Gastro-entérites 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Entamoeba histolytica ▪ Gardia lamblia, Cryptosporidium

(Bessiere, 2005)

IV. Antibiorésistance

IV.1 Définition des antibiotiques

- **(Waksman, 1943)** : « toute substance chimique produite par des micro-organismes capable d'inhiber le développement et/ou de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes »
- **(Turpin and Velu.,1957)** : « Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires » **(Guezlane-Tebibel et al., 2010)**.

Les antibiotiques sont des composés antimicrobiens et sont plutôt des substances naturelles que synthétiques. Ils sont produits par un large éventail de micro-organismes fongiques et bactériens **(Madigan and Martinko., 2007)**. Mais toutefois chaque antibiotique a une spécificité d'action. Ils n'agissent pas sur les virus **(Figarella et al., 2007)**.

IV.1.2 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 03).

a) 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).

b) 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).

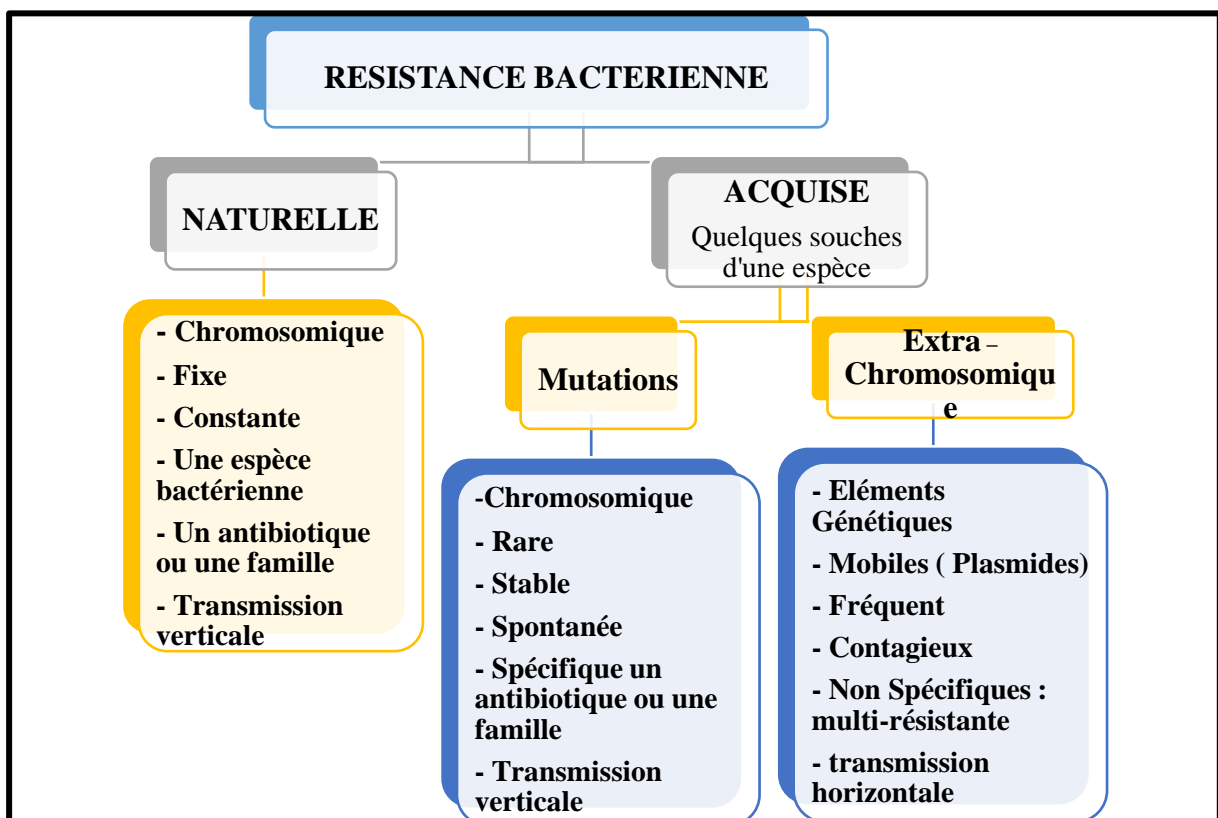


Figure 02 : Présentation des différents types de résistance bactérienne (Lavigne, 2007)

IV.1.3 Antibiorésistance des bactéries dans l'environnement

La diversité génétique des bactéries naturellement présentes dans l'environnement fait d'elles un réservoir naturel de gènes de résistance. Par ailleurs, de grandes quantités de bactéries résistantes se déversent dans les eaux usées avec les déjections humaines. Dans le domaine agricole, la diffusion s'effectue par le pâturage du bétail et l'épandage du lisier et passe par le sol avant d'atteindre le milieu aquatique et éventuellement les eaux souterraines. Cette « émission » de bactéries antibiorésistantes et de gènes de résistance comporte des risques :

- Diffusion de l'antibiorésistance et propagation des germes pathogènes résistants
- Accumulation de gènes de résistance dans l'environnement rendant plus probable leur absorption par des germes problématiques
- Acquisition ou développement de nouveaux gènes de résistance par les souches bactériennes

L'assainissement urbain, l'élevage et les effluents de l'industrie pharmaceutique sont considérés comme les principaux pôles de diffusion de la résistance. Lors du traitement biologique des eaux usées dans les stations d'épuration, les

L'environnement aquatique est le réceptacle final de nombreuses bactéries antibiorésistantes d'origine fécale, issues du ruissellement des sols et des effluents traités de stations d'épuration. Les écosystèmes aquatiques pourraient donc jouer un rôle clé dans le transfert de gènes de résistance aux antibiotiques entre communautés bactériennes allochtones et autochtones, voire constituer une voie de retour à l'homme (**Laroche-Ajzenberg, 2010**).

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 and Edmond., 2009**).

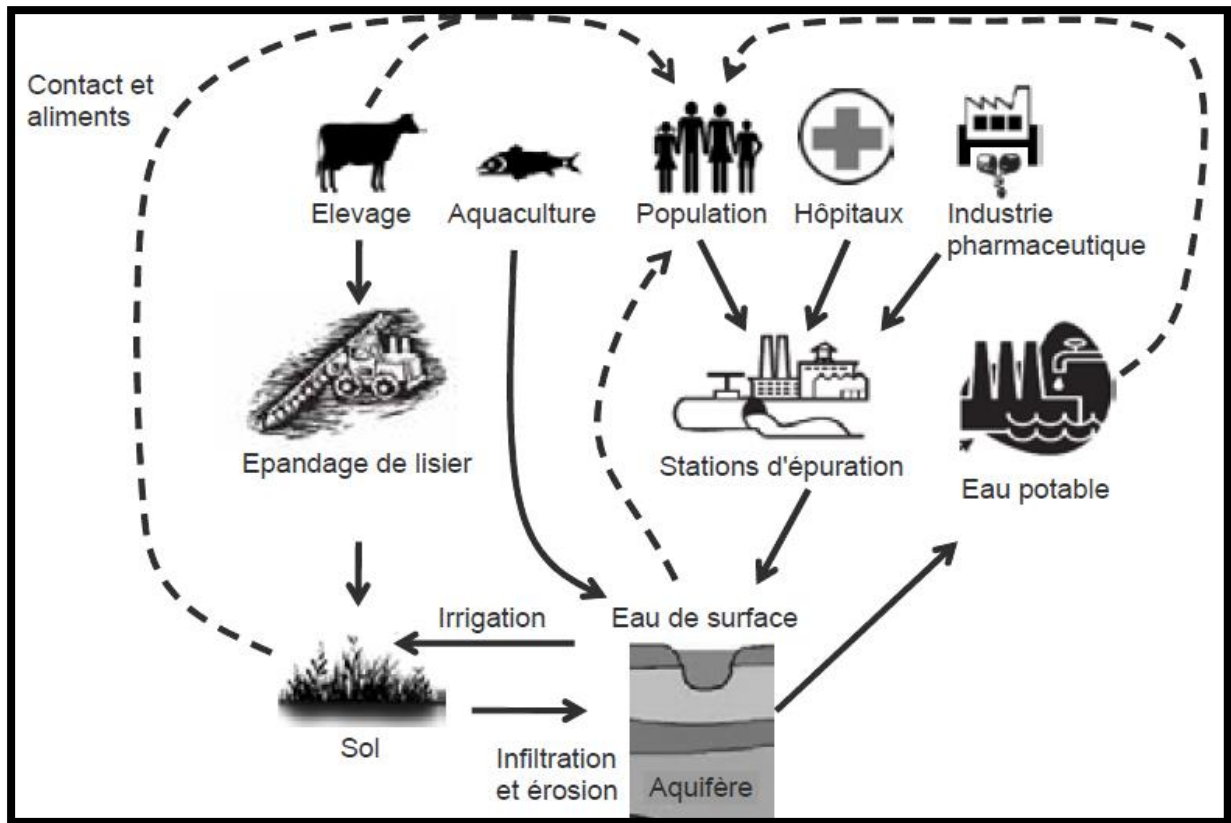


Figure 03: Voies de propagation de l'antibiorésistance dans l'environnement.
(Kim and Aga ., 2007)

IV.1.4 Mécanismes de l'Antibiorésistance

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

1-Résistance par 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'antibiotique vont être remplacées (Fournies, 2003).

2-Résistance par 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).

3-Résistance par 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, β -lactamines (Frere, 2008).

4-Résistance par 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)

Dans le cadre de cette étude, les souches isolées sont les entérobactéries

IV.2 Les entérobactéries

La famille des Enterobacteriaceae est une famille hétérogène, elle comprend de nombreux genres bactériens qui sont rassemblés selon leurs caractères bactériologiques communs. Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, ils sont aérobies-anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire (18 à 24 heures à pH neutre à 37°C). Ils sont dépourvus d'oxydase, possédant une catalase et ont la faculté de fermenter le glucose en acides avec ou sans production de gaz, mais aussi de réduire les nitrates en nitrites. Ils ont une mobilité variable en fonction de la présence ou non de flagelles (Avril *et al.*, 2000).

IV.2.2 Habitat

sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive. On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement. (Avril *et al.*, 2000).

IV.2.3 Classification

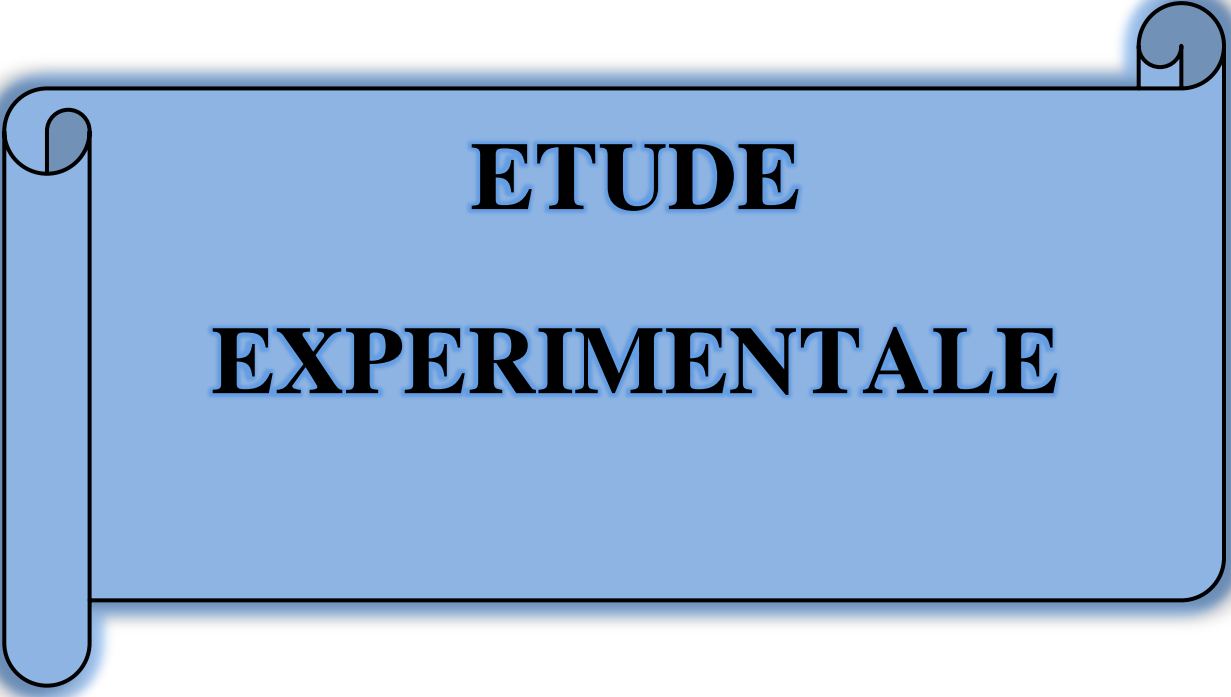
La famille des *Enterobacteriaceae* comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

IV.2.4 Les caractères cultureux

Les entérobactéries sont des germes aéro-anaérobies facultatifs poussent facilement sur les milieux ordinaires en 18 heures. La température optimale de croissance est 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5-8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement rondes, lisses, brillantes à contour régulier et leur diamètre est de 2 à 3 mm après 18 heures d'incubation à 35 - 37 °C. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme. (Pilet *et al.*, 1979 ; Carbonnelle *et al.*, 1987).

IV.2.5 Les caractères biochimiques

Le diagnostic de genre et d'espèce repose sur l'étude des caractères biochimiques, après que le diagnostic de famille ait été établi avec certitude. Les caractères d'identification sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres, la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz. Le tableau (II) (voir l'annexe) résume les caractères d'identification des genres le plus fréquemment rencontrés.



ETUDE

EXPERIMENTALE



Chapitre I

Matériel et méthodes

MATERIEL ET METHODES

Notre étude expérimentale a porté sur l'évaluation de la qualité microbiologique des échantillons d'eau de l'oued Sidi El Kebir et l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées, nous avons réalisé des prélèvements sur une durée de cinq mois (du mois de Janvier au mois de Mai 2016).

Les différents échantillons ont été analysés dans deux laboratoires :

- ✚ le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.
- ✚ le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Tipasa.

I.1.1 Description de la zone d'étude

La région de Blida est caractérisée par un climat subhumide avec un hiver frais. En général, les mois les plus pluvieux se situent entre décembre et avril et les mois les plus secs entre juin et septembre. L'enneigement est assez fréquent, de décembre à janvier sur le massif de Chréa à haute altitude. Les températures les plus élevées sont enregistrées durant le mois d'août 32°C en moyenne et les plus basses sont de l'ordre de 6°C en janvier (**Loucif Seiad, 2003**).

Oued Sidi El Kebir est situé au nord de l'Algérie près la commune de Bouarfa, wilaya de Blida. Il est alimenté principalement par l'oued Chiffa D'une altitude de 397m au niveau de la mer caractérisé par un débit important de 1.6 l/s elle a pour usage l'alimentation en eau potable et en eau d'irrigation (**ARNH_Blida**).



Figure 04: situation géographique des sites de prélèvements au niveau de l'oued Sidi El Kebir (Google earth 3D)

I.1.2 Choix des stations de prélèvement

Le choix des stations de prélèvement a été effectué en fonction de l'implantation des activités humaines et agricoles, et de leur localisation et de l'accessibilité de ces dernières (en amont S1, au milieu S2 et en aval S3)

Trois stations (S1 .S2. S3) représentés par les figures (06), (07), (08) ont été retenues de telle sorte qu'elles soient accessibles et reflètent les caractéristiques réelles des eaux de surface de l'oued Sidi El Kebir.



Figure 05: Photo de la station1 (originale)



Figure 06 : Photo de la station 2(originale)



Figure 07 : Photo de la station 3 (originale)

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel biologique

Eau brute de trois stations de l'oued Sidi El Kebir

I.2.2 Matériel non biologique

Le matériel non biologique est constitué l'appareillage, verrerie, solutions, réactifs et milieux de culture (voir l'annexe I).

I.3. Méthode

➤ Échantillonnage

Les principaux aspects dont il faut tenir compte pour obtenir un échantillon d'eau représentatif sont les suivants :

- La sélection convenable du point d'échantillonnage.
- Le strict respect des procédures d'échantillonnage.
- La conservation adéquate de l'échantillon.

➤ Fréquence de l'échantillonnage

Les échantillons ont été prélevés bimensuellement pendant une période allant du mois de janvier 2016 au mois de mai 2016. Au total, huit prélèvements de P1 à P08 ont été réalisés.

➤ Mode de prélèvement

Nous avons utilisé des flacons en verre de 250 ml ou 500 ml qui ont été stérilisés dans l'autoclave à 120°C puis bouchés, pour une protection totale contre toute contamination. Ces flacons sont immergés en position verticale en le tenant par le fond, l'ouverture doit être légèrement plus haute que le fond et dirigée dans le sens contraire du courant.

➤ Transport des échantillons

Les analyses bactériologiques doivent être commencées moins de 6 heures après le prélèvement. Si le transport dépasse 6 heures, ainsi si la température extérieure est supérieure à 10°C ; le transport doit se faire obligatoirement en glacière à une température

inférieure à 4°C. Enfin, les prélèvements sont placés aux froids dès leurs arrivés au laboratoire avant de commencer les analyses (IPA, 2002).

I.4. Analyses bactériologique

La méthode NPP a été utilisée pour la recherche des germes tels que : les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, les ASR, les salmonelles et les vibrions cholériques.

➤ Préparation des dilutions

Les dilutions sont réalisées en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur développement (cas des tubes) ou d'effectuer le dénombrement des colonies (cas des boites).

Première dilution 10^{-1} : 1ml de l'échantillon à analyser pour 9ml d'eau physiologique stérile à pH=7.

✚ Dilutions décimales

Dilution 10^{-2} : 1ml de la première dilution pour 9 ml d'eau physiologique stérile.

Dilution 10^{-3} : 1ml de la dilution 10^{-2} pour 9ml d'eau physiologique stérile.

Une analyse complète de l'eau brute a été effectuée en se basant sur les paramètres suivants :

- Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.
- Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.
- Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs.
- Recherche des germes pathogènes .

➤ **Recherche et dénombrement des coliformes en milieux liquides (Méthode de NPP).**

Test de présomption

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- ✓ 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham
- ✓ 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham
- ✓ 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, comme l'indique le schéma n° 2.

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

Incubation:

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

- ✓ Seront considérés comme positif + ; les tubes présentant à la fois :
- ✓ Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- ✓ Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- ✓ La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady NPP.

Test de confirmation

Le test de confirmation ou test de Marc Kenzie est basé sur la recherche de coliformes fécaux parmi lesquels on redoute surtout la présence d'Escherichia Coli.

Les tubes de BCPL positifs, après l'agitation, prélever de chacun d'eux quelques gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur pour faire le repiquage dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche.

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloche et bien mélanger le milieu. L'incubation se fait à 44 °C pendant 24 heures.

Lecture

- Seront considérés comme positif + ; les tubes présentant à la fois :
- ✓ Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
 - ✓ Un anneau rouge ou rose en surface, témoin de la production d'Indole par *Escherichia Coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.
 - ✓ La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady NPP.
 - ✓ en tenant compte du fait qu'*Escherichia Coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44 °C.
 - ✓ Utilisation d'un seul tube confirmatif (Dénombrement d'E. Coli).

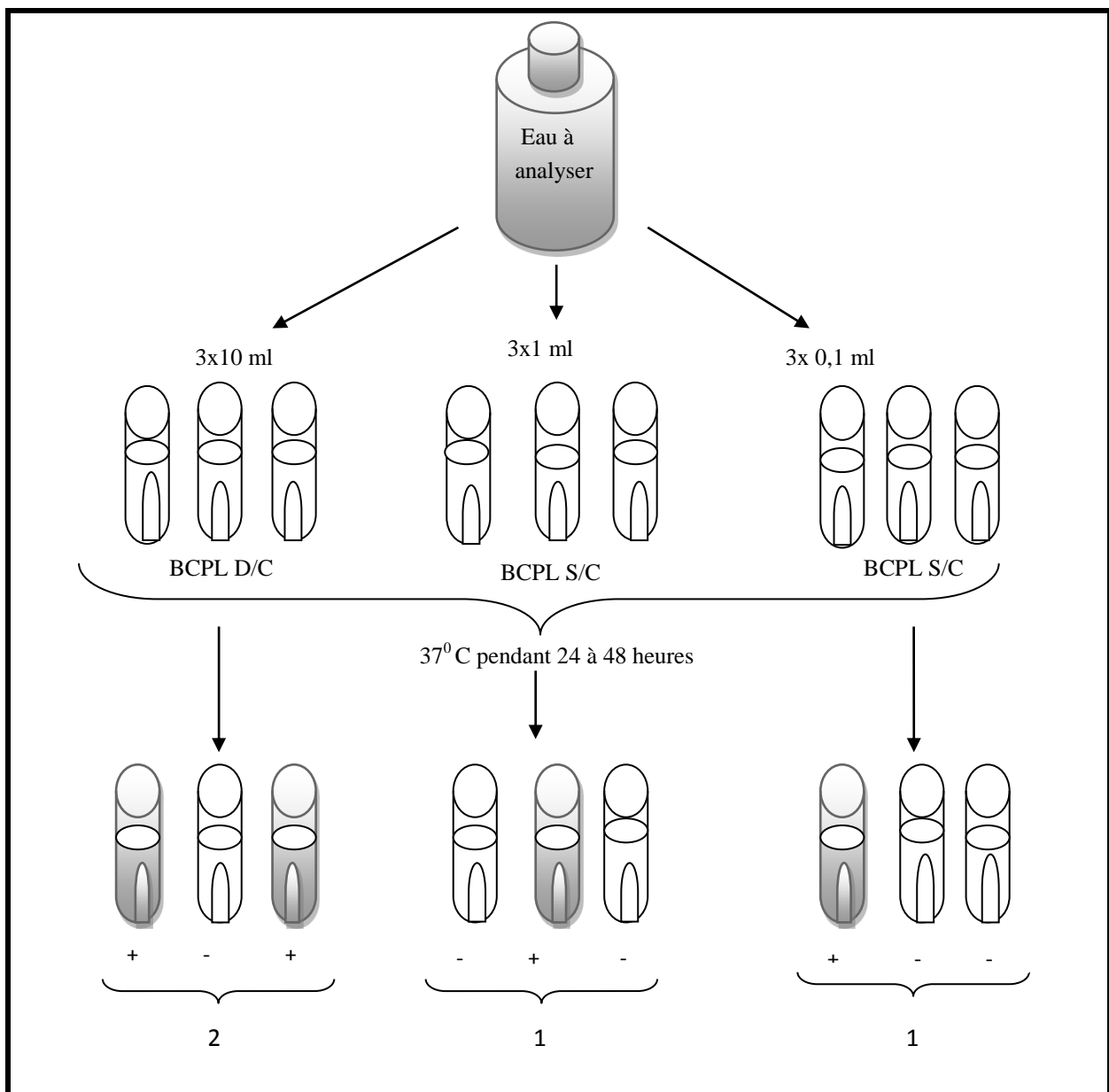


Figure 08: Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide
(Test de présomption)

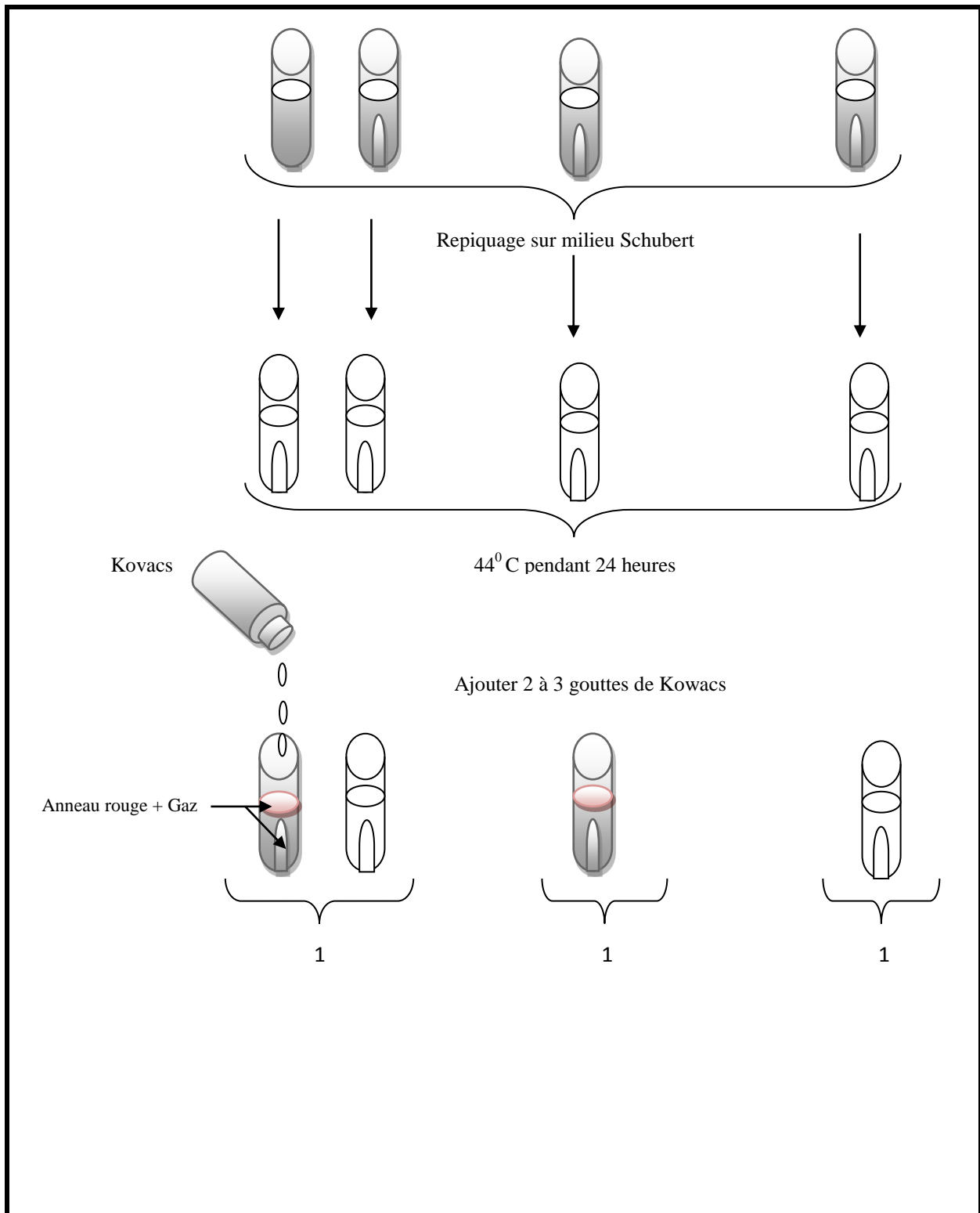


Figure 09: Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide
(Test de confirmation).

➤ **Recherche des Streptocoques fécaux en milieu liquide.**

Test de présomption

A partir de l'eau analysée, porter aseptiquement :

- ✓ 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C.
- ✓ 1 ml dans un tube contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.
- ✓ 0.1ml dans un tube contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C :
 - Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
 - L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

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

- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu pendant cette période est présumé contenir un streptocoque fécal.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP **Test de confirmation**

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoque fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE positifs, après l'agitation, prélever de chacun d'eux quelques gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur donc faire l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu LITSKY EVA :

Bien mélanger le milieu et l'inoculum et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

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

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.
- La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP, le nombre de streptocoque fécaux sont par 100 ml de l'eau analysé.

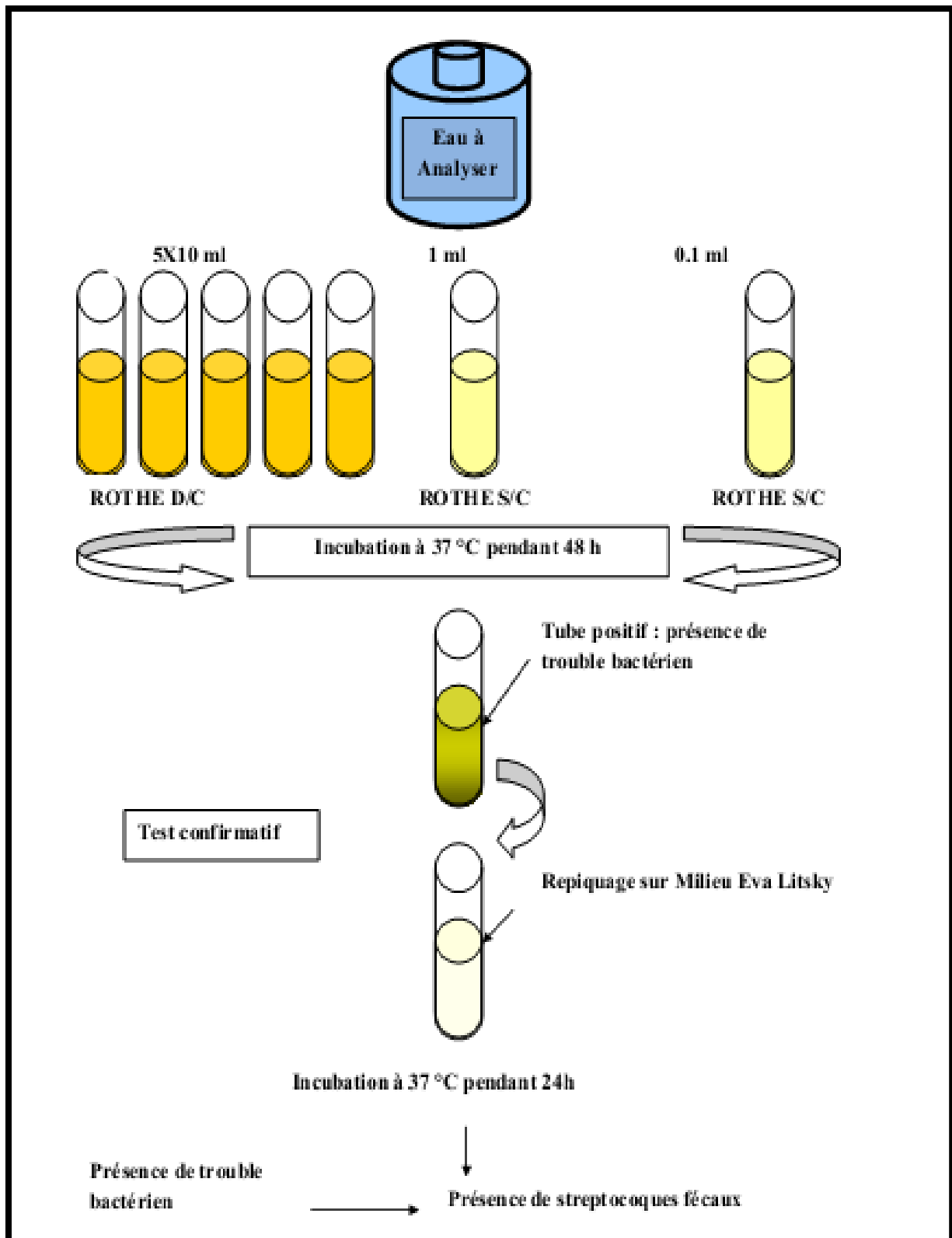


Figure 10 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau brute.

➤ **Recherche et dénombrement des Clostridium Sulfito-Réducteurs**

A partir de l'eau à analyser :

- ✓ prendre environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- ✓ Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.
- ✓ Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
- ✓ Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foie, fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- ✓ Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- ✓ Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C, pendant 24 à 48 heures.
- ✓ Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, poussant en masse.

Lecture

Après la période d'incubation sera considéré comme positif, les tubes contenant de grosses colonies noires, qui correspondent au Clostridium sulfito-réducteur. Le résultat est exprimé par le nombre des Clostridium sulfito-réducteurs par 20 ml de l'échantillon à analyser.

Remarque

Le dénombrement après 24 heures d'incubation est effectué parfois après 48 heures, le tube devient complètement noir et devient donc indénombrable.

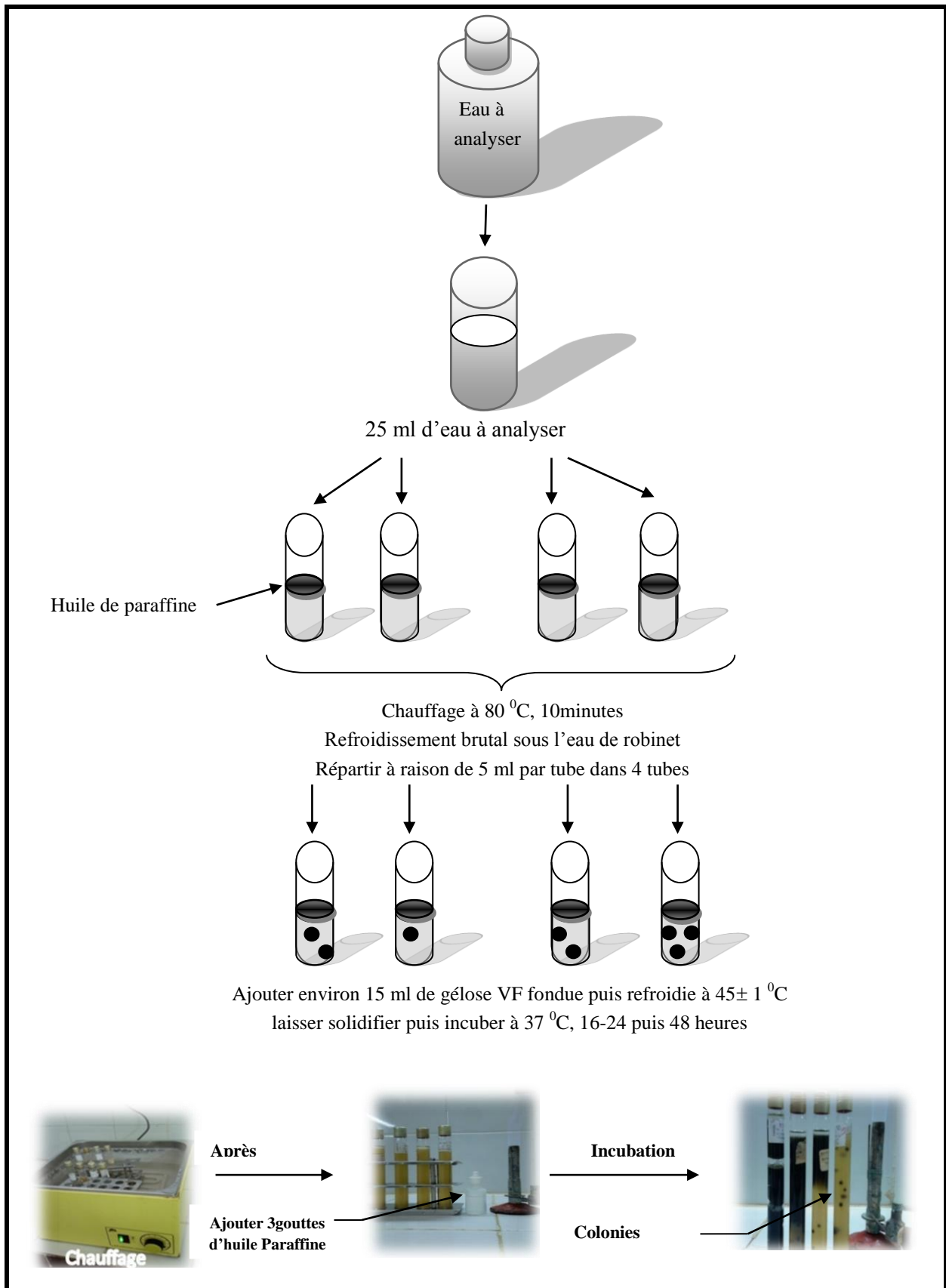


Figure 11: recherche et dénombrement des ASR

➤ Recherche de Salmonella

La recherche des *Salmonelles* est réalisée par la méthode NPP. Elle se déroule en 4 étapes :

1^{ère} étape : Enrichissement primaire

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans 100 ml de bouillon sélénite-cystéine D/C. la solution obtenue est appelée SFBI, elle est incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

2^{ème} étape : Enrichissement secondaire et isolement

- La solution SFBI incubée la veille fera l'objet d'un deuxième enrichissement sur bouillon sélénite-cystéine en tube (SFBII) à raison de 1 ml par tubes et un isolement sur gélose Heckoten I.
- L'incubation est réalisée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

3^{ème} étape : Ré-isolement

- Effectuer à partir du bouillon SFB II un ré-isolement sur gélose Heckoten II
- Prendre ensuite 1 ml du SFB II et l'introduire dans un bouillon sélénite cystéine en tube SFB III, puis l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Effectuer la lecture de la boîte de gélose Heckoten.

4^{ème} étape : Lecture et identification

- La boîte de gélose Heckoten II incubée la veille fera l'objet d'une lecture.
- Les Salmonelles apparaissent les plus souvent sous formes de colonies grises avec ou sans centre noire. Ces dernières subiront une identification biochimique.

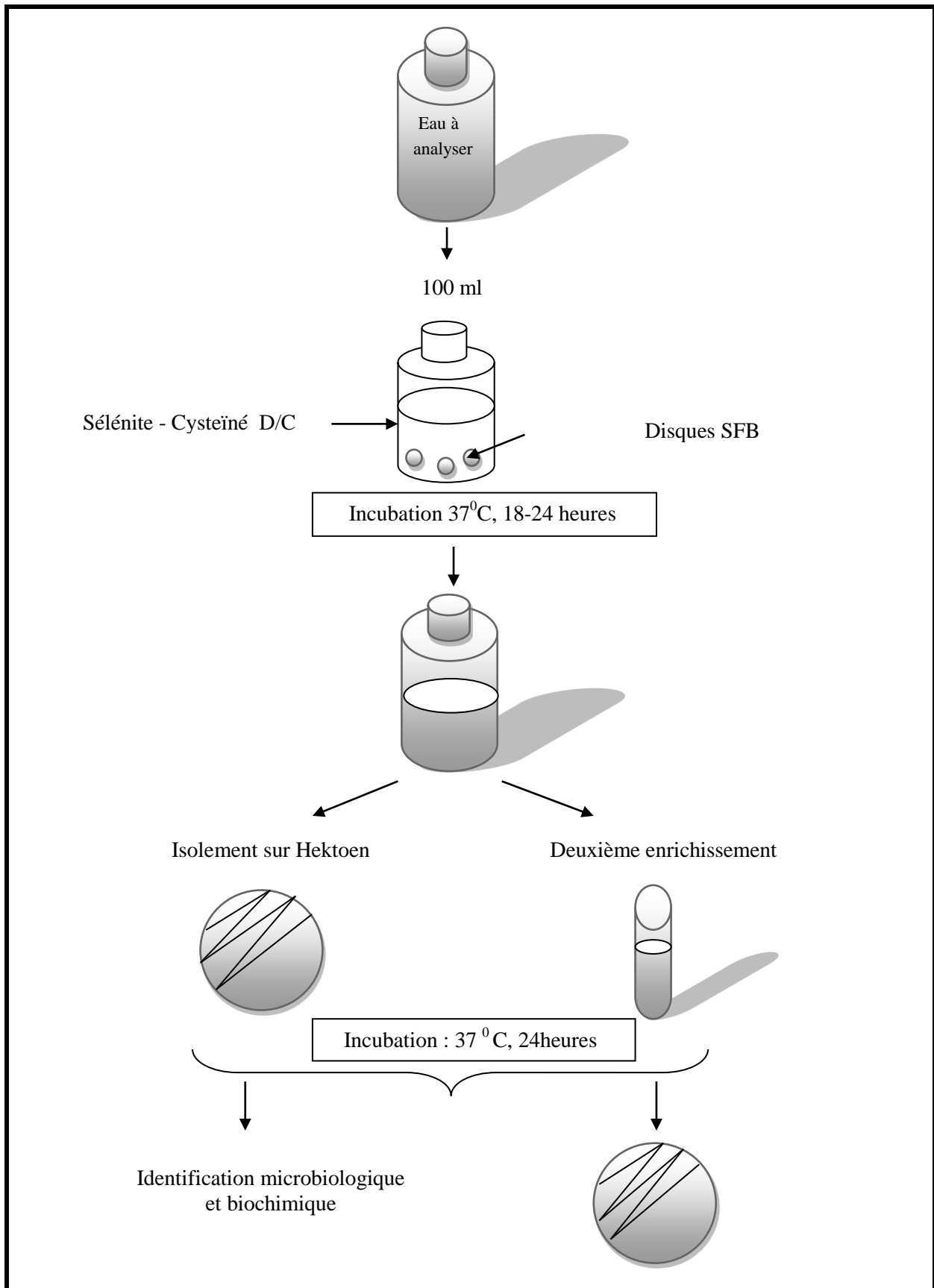


Figure 12 : Recherche de Salmonella.

- **Recherche de *Vibrio cholerae***

La recherche est l'identification de *Vibrio cholerae* à partir de l'eau à analyser selon la norme ISO/ TS 21872-1, est réalisée par la méthode NPP en 3 étapes :

1^{ère} étape : Premier enrichissement

- Réaliser un premier enrichissement sur un milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA) 10 fois concentré, auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

2^{ème} étape : Deuxième enrichissement et isolement

- Effectuer le deuxième enrichissement sur milieu EPA II en tubes à raison de 1 ml par tubes et un isolement sur GNAB I (Bouillon Nutritif Alcaline Biliée), puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

3^{ème} étape : Lecture des boîtes et identification

- Isoler le tube EPA II sur gélose GNAB II et effectuer une lecture des boîtes GNAB I.
- Effectuer la lecture de la boîte de gélose GNAB II, tout en sachant que les *Vibrio* se présentent le plus souvent sous formes de colonies lisses et transparentes.

➤ **Examen bactériologique des souches des entérobactéries**

Identification phénotypique

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 des colonies jaune saumon, colonies à centre noir et vertes, 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.

Identification biochimique a été réalisée par l'Api 20.

Galerie Api 20E

Principe

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substances déshydratés. Au-dessous de chaque tube, un sigle indique la nature du test. Les tubes sont ensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau distillée stérile. La réaction produite au cours du procédé d'incubation se traduit par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif.

Un fond et couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide de tableau d'identification

Technique

- *Préparation de la galerie*

On place de l'eau distillée dans les alvéoles présentes dans le fond de la boîte afin de créer une atmosphère humide.

On dépose aseptiquement la galerie dans la boîte d'incubation.

- *Préparation de l'inoculum*

On prélève à l'aide d'une pipette pasteur bostonnée une colonie suspect parfaitement isolée puis la dissocie soigneusement la colonie dans le tube contenant préalablement l'eau distillée stérile.

- *Inoculation de la galerie*

A l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire, on remplit les microtubes de la galerie. Au sein des microtubes on distingue deux parties : le tube et la cupule selon les tests, la suspension bactérienne doit être placée uniquement dans le tube ou dans le tube et la cupule.

- Lorsque le sigle du test souligné ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant le tube et la cupule sera secondairement rempli d'huile de paraffine afin de créer une anaérobiose dans les tubes.

- Lorsque le sigle du test encadrée, ce qui est le cas des tests CIT, VP et GEL on remplit le tube et la cupule avec la suspension bactérienne.
- On remplit uniquement les tubes des autres tests.

On incube les boîtes d'incubation et les place à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture

Après incubation, on prélève la boîte de l'étuve et on note les résultats obtenus pour les tests spontanés en se référant au tableau de lecture.

On révèle les tests nécessitant l'addition de réactifs tels que VP (on ajoute du réactif VP1 et une goutte de réactif VP2). Ensuite on note tous les résultats.

➤ Indice de la qualité microbiologique (IQM)

Comme pour les analyses chimiques, il est possible de calculer pour les cours d'eau un indice de qualité microbiologique à partir du dénombrement de différents germes dont les principaux, généralement associés à la pollution organique, sont les bactéries totales, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

La méthode de traitement de données est basée sur l'indice de contamination fécale (Bovesse and Depelchin., 1980). Le principe est de répartir les valeurs des éléments polluants en 05 classes et de déterminer à partir de ses propres mesures le numéro de classe correspondant pour chaque paramètre pour en faire la moyenne (Tableau VI)

Tableau IV: Grille de la qualité (IQM)

Classe n°	Bact.tot/ml	Colif .f /ml	Strepto.f./ml	IQM	Contamination Fécale
1	<2000	<100	<5	4.3-5.0	Nulle
2	2000-9000	100-500	5-10	3.5-4.2	Faible
3	9000-45000	500-2500	10-50	2.7-3.4	Modérée
4	45000-360000	2500-20000	50-500	1.9-2.6	Forte
5	360000	20000	500	1.0-1.8	Très forte

(Bovesse and Depelchin., 1980).

I.5. Antibiogramme

Nous avons utilisé la méthode de diffusion ou antibiogramme standard (ISO 2827NF). Des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester sont disposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier. Les géloses sont séchées avant l'emploi.

➤ Préparation de l'inoculum

- Un milieu gélosé non sélectif (Mueller Hinton) a été ensemencé avec la souche de référence et les souches à tester.
- À partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

➤ Ensemencement de l'inoculum

Une gélose Mueller-Hinton est ensemencée à partir de la suspension bactérienne précédemment obtenue à l'aide d'un écouvillon stérile. L'étalement a été répété quatre fois de chaque côté de la boîte carrée afin d'obtenir une distribution homogène de l'inoculum. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

➤ Application des disques d'antibiotiques

L'application des disques se fait 3 à 5 minutes après l'ensemencement. Il est préférable de ne 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. Ils sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.

➤ Incubation

Les géloses sont incubées entre 16 à 18 heures à $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Lecture

La lecture a été faite par la mesure des différents diamètres des zones d'inhibition, à l'aide d'un pied à coulisse métallique. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans l'Annexe 03. On classe les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistance (**Rahal, 2005**).

Il y a actuellement une graduation à 3 niveaux de sensibilité

- S = bactérie sensible : la concentration minimale inhibitrice mesurée pour cette bactérie est inférieure à la concentration critique humorale de l'antibiotique administré par voie habituelle aux doses habituelles
- R= bactérie résistante : la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est supérieure à la concentration critique chez le malade.
- I= niveau intermédiaire : la concentration minimale inhibitrice est à la limite de ces concentration critiques (**Cronberg and Beytout .,1988**).



Chapitre II

Résultats et discussion

II.1. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des eaux de surface échantillonnées dans les trois stations de l'oued Sidi El Kebir sont consignés dans le Tableau III (voir l'annexe III).

II.1.1. Germes indicateurs de contamination fécale

❖ Coliformes totaux (CT)

L'évolution de la concentration des coliformes totaux montre un gradient croissant de l'amont vers l'aval et permet de dégager les constatations suivantes :

- Un premier secteur, représenté par la station S3 c'est la station aval de l'oued Sidi El Kebir est caractérisé par des valeurs très élevées de CT, oscillant entre 180 et 2400 UFC/100ml ml témoin d'une contamination directe ou indirecte par la matière fécale. La station S3 est en contact direct avec les rejets domestiques, industriels et agricoles.

- Un deuxième secteur, représenté par la station S2, est caractérisé par des valeurs intermédiaires.
- Un troisième secteur est représenté par la station amont de l'oued (S1) qui présente les concentrations les plus faibles de la zone d'étude (rejets d'origine agricole) oscillant entre 10 et 540 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 (**Sevrinreet 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 **JORA(1992)** qui est < 50000 UFC/100ml.

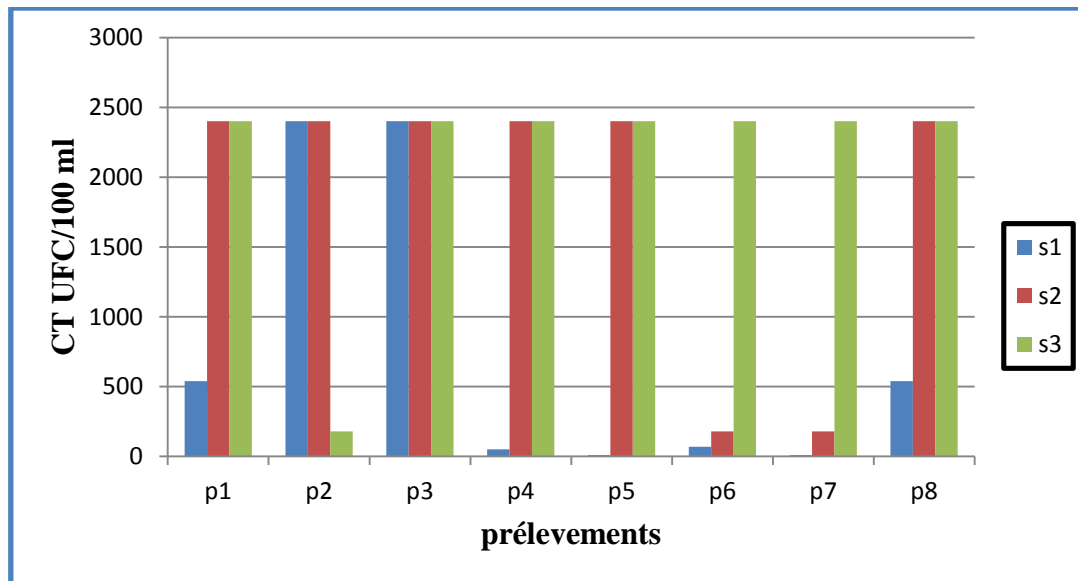


Figure 13 : Variation des coliformes totaux

❖ Coliformes fécaux CF

L'évolution spatiale des coliformes fécaux suit les mêmes tendances que pour les coliformes totaux. Les concentrations les plus élevées de CF sont enregistrées à l'aval de l'oued, La variation saisonnière est très significative et favorisée par la température. D'autres auteurs ont souligné l'existence de fluctuations saisonnières importantes des CF au niveau des cours d'eau (**Chahlaoui, 1996 ; Aboukacem, 2007**).

Ces concentrations en CF des eaux de l'oued Sidi El Kebir sont importantes. Elles oscillent entre 30 et 540 UFC/100 ml dans la station 1 et entre 180 et 2400 UFC/100 ml dans la station 2, Dans la station 3, leur nombre est compris entre 180 et 2400 UFC/100.

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.

Selon l'OMS (1989), 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.

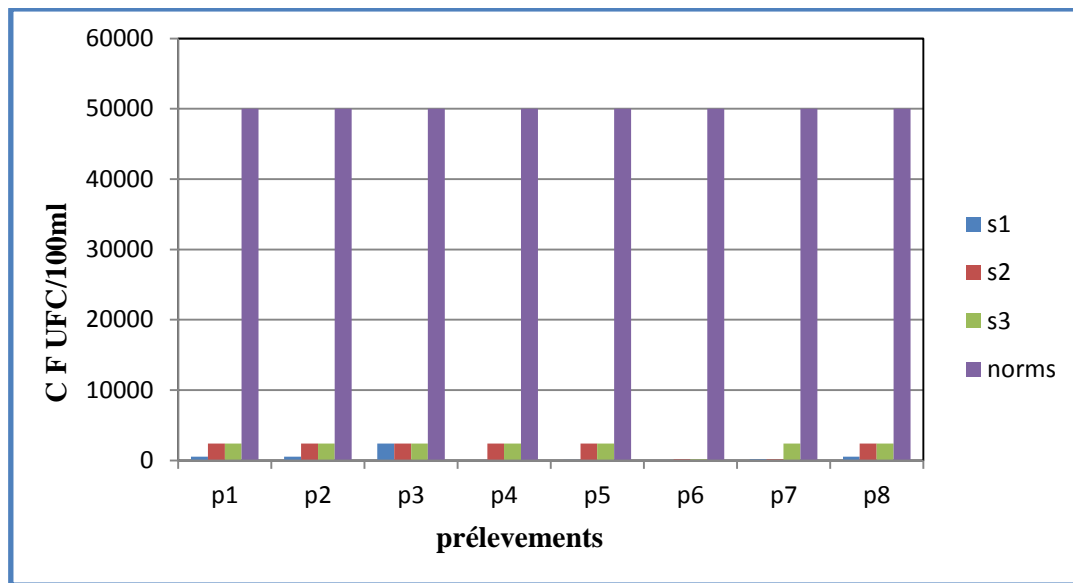


Figure 14 : Variation des coliformes fécaux

❖ **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.

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

La variation spatiale des SF montre un gradient croissant de l'amont (S1) vers l'aval de l'oued (S3). La variation saisonnière n'est pas très nette pour la station S1, les germes dénombrés sont en concentrations faibles et régulières durant toute la période d'étude. Cependant, les autres stations, S2 et S3, présentent des charges en SF très importantes pendant la période sèche, pendant laquelle, on assiste à une diminution du débit d'eau et à un apport accru des eaux usées.

D'après la figure 18, les concentrations des Streptocoques fécaux sont moins importantes que celles notées pour les coliformes totaux et fécaux et les valeurs varient entre 10 et 70 UFC/100 ml dans la station 1, entre 70 et 180 UFC/100 ml pour la station 2 et entre 180 et 2400UFC/100ml dans la station 3.

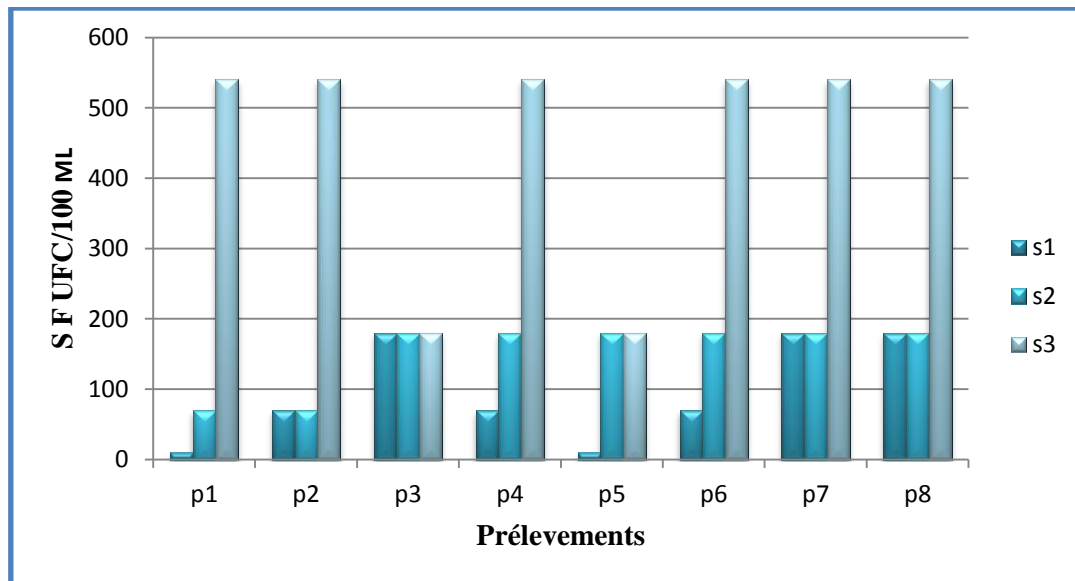


Figure 15 : Variation des streptocoques fécaux

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-Addouliet 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**.

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 **(Rodieret al.,1984)**.

L’apport d’entérocoques par rapport aux coliformes consiste en leur plus grand résistance dans les eaux naturelles, leur présence serait donc le signe d’une contamination fécale de l’eau plus ancienne .de plus il est intéressant de rappeler que la présence des coliformes fécaux par rapport aux streptocoques est un signe d’une contamination d’origine humaine **(Ghezellaoui ,2008)**.

L’origine de la pollution fécale est liée au rapport quantitatif des coliformes fécaux sur les streptocoques fécaux.

$$R=CF/SF$$

- Si le rapport R est inférieur à 0,7, la contamination est d'origine animal,
- Si R est compris entre 0,7 et 1, l'origine de la contamination est mixte à prédominance animal,
- Si R est compris entre 1 et 2 cette origine est incertaine
- Si R se situe entre 2 et 4 l'origine est dite mixte à prédominance humaine
- Si R est supérieure à 4 elle est d'origine humaine.

(Borrego and Romero., 1982)

TableauIV :Résultats de rapport CF /SF

stations	CF (moyenne) UFC/100ml	SF (moyenne) UFC/100ml	CF/SF	Origine de la pollution
S1	538.75	96.25	5.59	Humaine
S2	1845	152.5	12.09	Humaine
S3	2122.5	450	4.71	Humaine

Au niveau de l'oued Sidi El Kebir le rapport est supérieur à 4, la contamination est par conséquent d'origine humaine due aux rejets d'eaux usées domestiques non traitées dans l'oued ainsi que les débordements des réseaux d'égouts.

❖ **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 1 et 5 spores/20 ml dans la station 1 et la station 2 et sont indénombrables dans la station 3.

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

II.1.2.Germes pathogènes

❖ **Salmonelles et vibrions**

Les microorganismes pathogènes tels que *vibrio cholerae* et *salmonella* sont généralement transmis à l’homme par ingestion d’eau contaminée et sont responsables de diverses maladies (Mombaet *al.*, 2006).l’espèce *vibrio cholerae*est largement répandue dans les milieux aquatiques et est responsable de maladies diarrhéiques dues à la consommation d’eau contaminée (Prescott *et al* ; Shanane *al.*,2011et Nagpalet *al.*,2011) la recherche des salmonella revêt une importance particulière car sa présence dans l’environnement hydrique est le signe d’une contamination fécale (Cavallari *et al.*, 2011).

Durant la période d’étude, aucun prélèvement ne s’est révélé positif ni pour les bactéries du genre Salmonella ni pour l’espèce *Vibrio cholerae*. Cette absence est due probablement aux conditions du milieu qui sont défavorables pour la survie et la prolifération de ces deux germes.

Selon (Aboukacem *et al.*,2007)ceci peut être expliqué soit par l’absence des porteurs asymptomatiques de la population habitante dans cette région

II.2.Indice de pollution

En vue d’apprécier la contamination et la qualité des eaux de l’oued Sidi El Kebir, nous avons utilisé

II.2 .1.Indice de la qualité microbiologique (IQM)

Tableau VI: Résultat de l’indice de qualité microbiologique (IQM)

Stations	IQM	Contamination fécale
S1	4	Faible
S2	3	Modérée
S3	3	Modérée

Selon la grille de la qualité IQM et d’après nos résultats, on note que les eaux de la première station de l’oued Sidi El Kebir sont de faible contamination fécale par rapport aux stations 2 et 3 qui est de qualité modérée.

II.3.Résultats de l’antibiorésistance des souches isolée des entérobactéries

La recherche sur l’antibiorésistance obtenus au cours de cette étude a permis de donner un aperçu sur le profil de l’antibiogramme de 3 types d’entérobacter.

II.3.1.Isolement et identification

Sur les 24 isolats recueillis à partir des cultures des coliformes fécaux, après isolement et identification biochimique, 14 isolats se sont révélés des *E. coli* (58.33%) et 2 autres genres appartiennent aux coliformes fécaux, il s’agit de *Enterobacter Sakazakii* et de *Klebsiella* (41.67%) (Figure 16).

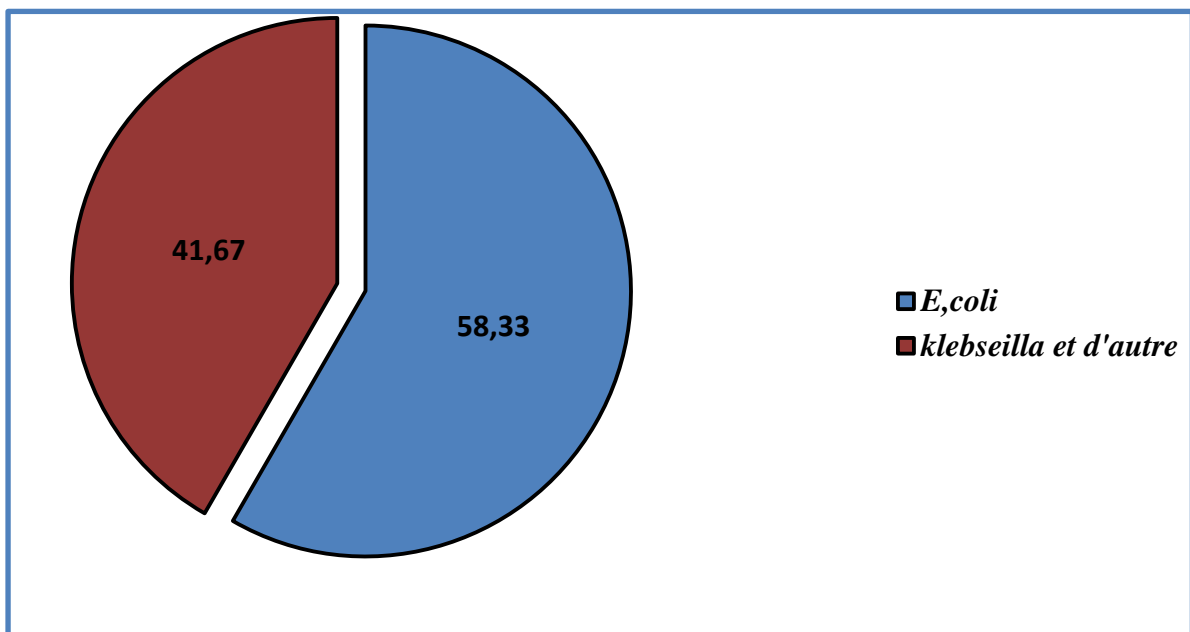


Figure 16: Répartition d’E.coli avec d’autres souches.

II.3.2.Résultats de l’antibiogramme

Nous avons effectué durant cette étude des antibiogrammes correspondant à 24 souches des bactéries (14 souches d’E.Coli, 6 souches de *Klebseilla* et 4 souches de *Entérobacter Sakazakii*) afin de déterminer sa sensibilité vis-à-vis de 15 antibiotiques réparties entre les

bêta-lactamines et d'autres familles d'ATB, les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau VII (voir l'annexe III).

❖ **l'antibiogramme des souches d'E. Coli**

Nous avons noté que les souches d'E. Coli isolées sont très sensibles (pourcentage de résistance nulle 0%) vis-à-vis des antibiotiques suivants

- **La Norfloxacine (NOR5), Imipénème (IPM10) et de Kanamycine (K30), Cilindamycine (CLi).**
- **35.71% vis-à-vis l'Oxacilline (OX5) et de Mécillinam (MEC5) et de l'Acide pipémidique (PI100).**
- **Un taux de résistance très faible 14.28 % a été observé vis-à-vis de la Céfoxétine (FOX30) et de la Doxycycline (DO30) et de la Céfotaxime (CTX30), Amoxicilline+Ac clavulanique (AMC),**
- **un pourcentage de résistance très élevé (100 %) est obtenu vis à vis de la Pénicilline (P10) et de Ampicilline (AM10) et de Céfazoline (CZ30) et de l'Acide fusidique (FA10)**

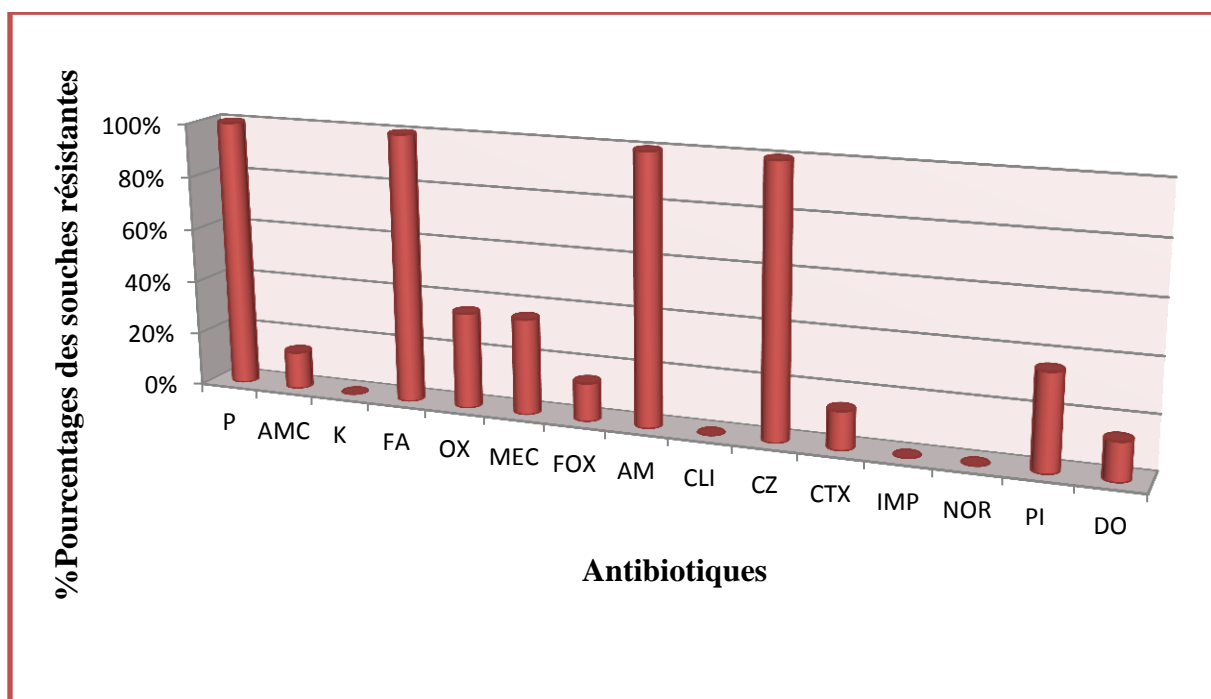


Figure 17 : Pourcentage de la résistance d'E. Coli vis-à-vis Des Antibiotiques testés (n=14)

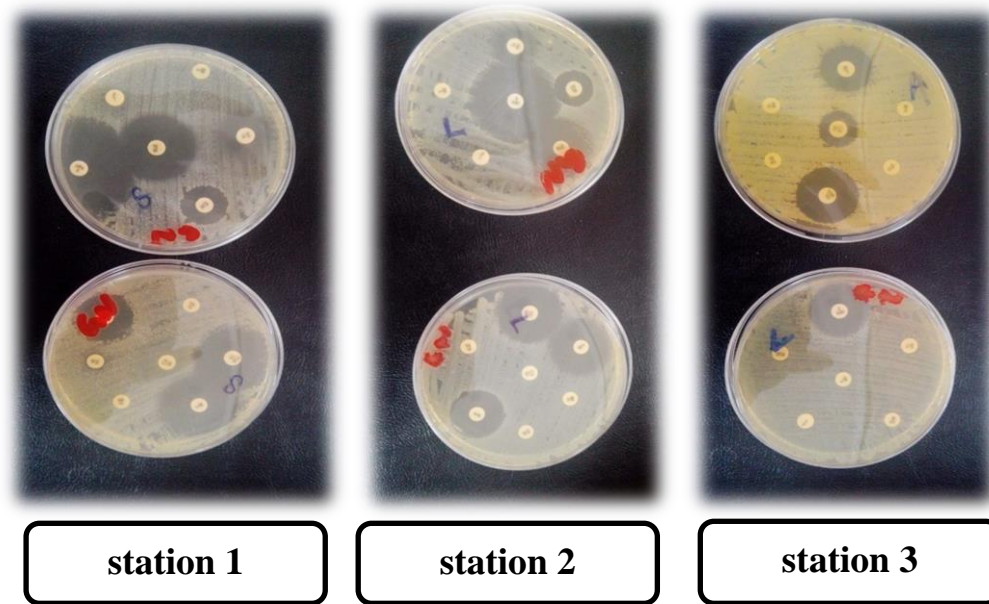


Figure 18: Résultats de l'Antibiogrammes des souches *d'E. Colides* 3 stations
(photo originale).

❖ **l'antibiogramme des souches de *Klebseilla***

- Nous avons noté que les souches isolées de *Klebseilla* sont très sensibles (pourcentage de résistance de 0%) vis-à-vis des antibiotiques suivants : **la Norfloxacine (NOR5)** , **Imipenème (IPM10)** et de **Mécillinam (MEC5)** ,de la **Céfoxétine (FOX30)** , de la **Céfotaxime (CTX30)** , **Ampicilline (AM10)**, **l'Acide pipémidique (PI100)**, **Amoxicilline+Ac clavulanique (AMC)**, **Cilindamycine (CLi)**.
- un pourcentage de résistance plus au moins élevée (33.33%) est obtenu vis à vis de la **Céfazoline (CZ30)** et de la **doxycycline (DO)**, de **l'acide fusidique (FA)**
- Un taux de résistance très faible (16.16%) vis –à- vis **l'oxacilline (OX)** et de la **kanamycine (K)**.
- un pourcentage très élevé (100%) est obtenu vis à vis de la **Pénicilline (P)** seulement.

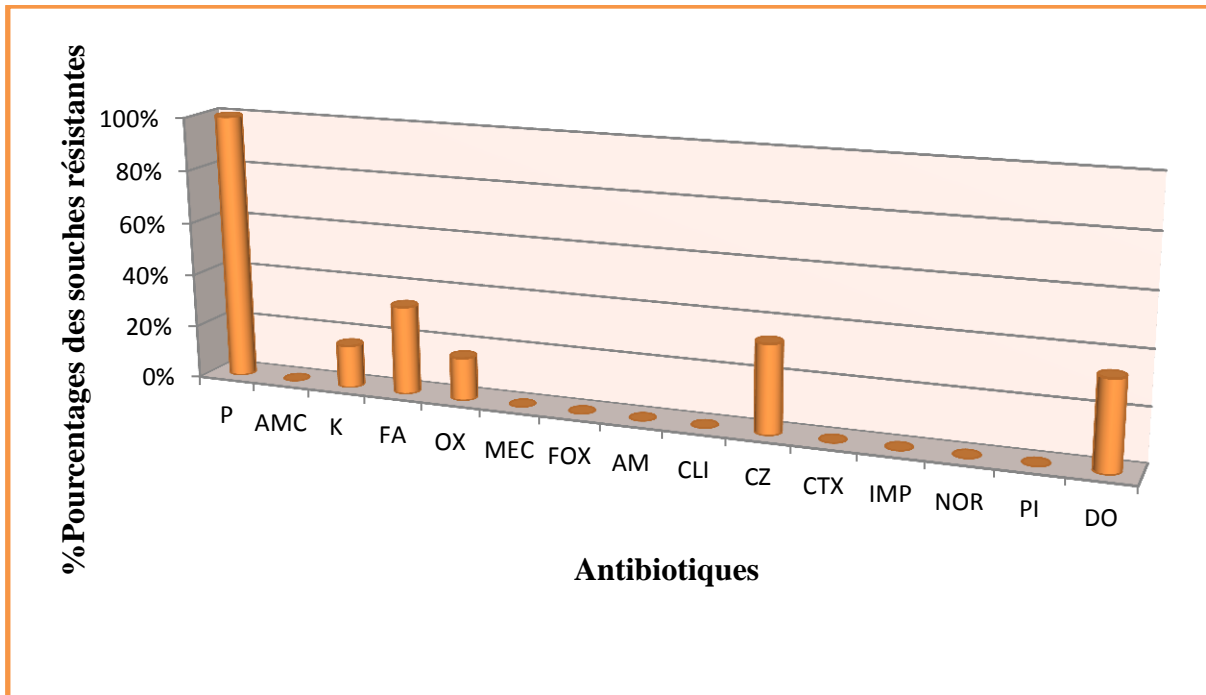


Figure 19: Pourcentage de la résistance de *Klebsiella* vis-à-vis Des Antibiotiques testés (n=6)

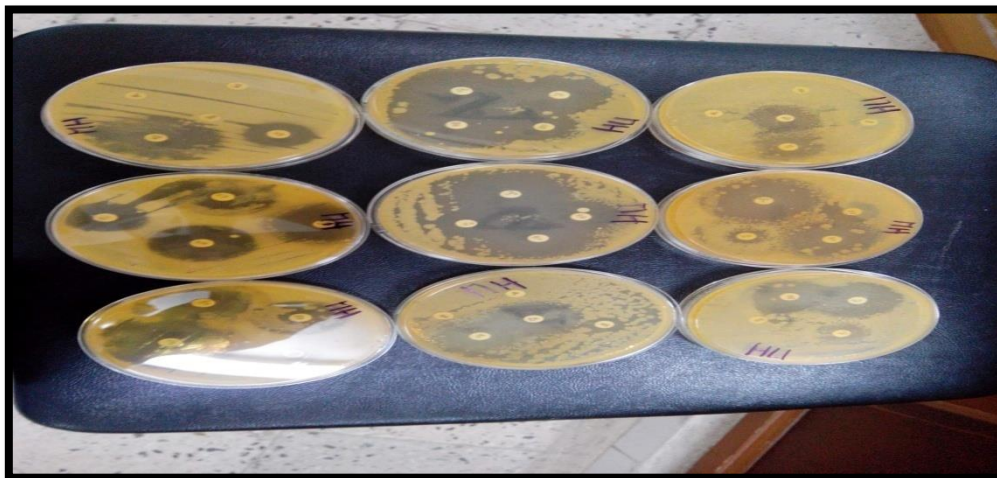


Figure 20: Résultats de l'antibiogramme de *Klebsiella* (photo original).

❖ **l'antibiogramme des souches *Entérobacter Sakazakii***

- D'après nos résultats les 4 souches de ce genre de bactérie marquée une sensibilité très élevée (pourcentage de résistance nul 0%) vis-à-vis la majorité des antibiotiques testé (**P, IMP, CLi, OX, AMC, CZ, K, AM, PI, DO**)
- **75% vis-à-vis l'acide fusidique (FA)**
- Un faible taux de résistance de 50% vis-à-vis 4 antibiotiques (**MEC, FOX, NOR, CTX**)

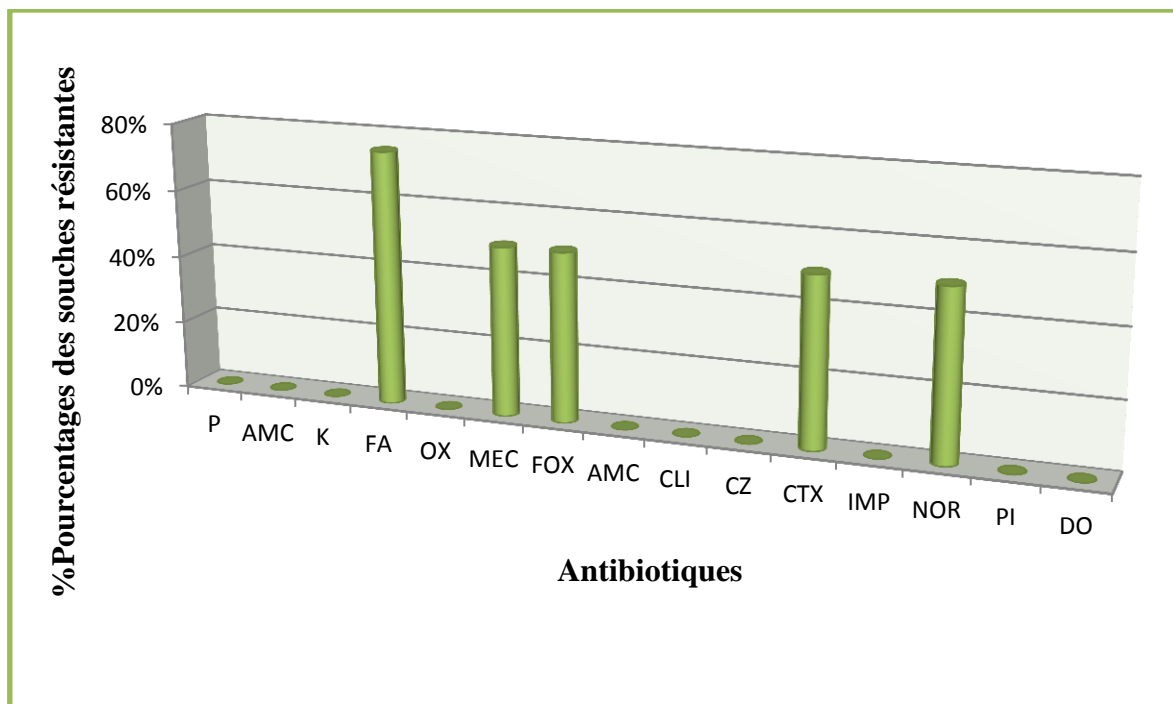


Figure 21: Pourcentage de la résistance d'*Enterobacter Sakazakii* vis-à-vis Des Antibiotiques testés (n=4)

Le taux faible des souches résistantes dans cette 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.

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.

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 (**Niemiet *al.*, 1983 ; Boonand Cattanach., 1999 ; Lazaret *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 ; Cardonhaet *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.



CONCLUSION

CONCLUSION

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de la qualité microbiologique ainsi que l'étude du profil de résistance de quelques souches isolées des eaux échantillonnées à partir de l'oued Sidi El Kebir. 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

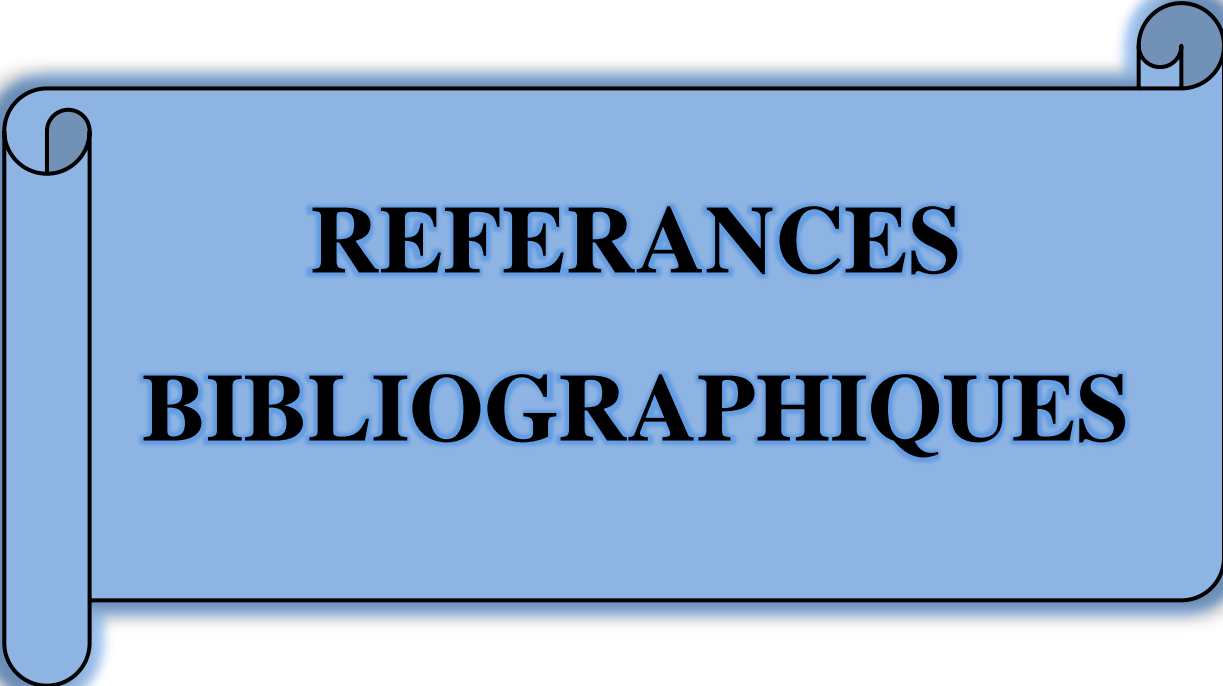
- La recherche des germes indicateurs de contamination fécale montre la prédominance des coliformes totaux et fécaux et une présence moins importante des streptocoques fécaux.
- Nous avons enregistré aussi la présence d'un nombre élevé de spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs dans la 3ème station 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 24 souches de bactérie (18 souches d'*E. coli*, 6 souches de *klebsella* et 4 souches d'*entérobacter sakazakii*) 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 des résultats microbiologiques obtenus dans cette étude qui a été marqué 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 Sidi El Kebir 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 aquatique et pour que ces eaux servent encore en agriculture sans risque de contamination

Quelques perspectives de recherche se dessinent à la lumière des résultats obtenus

- Nettoyer l'oued Sidi El Kebir des rejets domestiques et des eaux usées et traiter ces eaux avant d'être rejetées dans la mer méditerranéenne.
- Des analyses de contrôle et de détection efficaces doivent être assurées avec rigueur tout le long de l'année au risque d'assister à des pathologies inattendues.
- Elargir l'échantillonnage à plusieurs stations.
- Suivre l'évolution des paramètres bactériologiques des eaux de l'oued afin d'évaluer les conséquences de son utilisation pour l'irrigation, l'environnement aussi la santé humaine et animale.



REFERANCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- 📖 **A. GARCIA, 2006.** Etude de la dynamique des *Escherichia coli* dans les rivières du bassin de la Seine. Thèse Doctorat, université libre de Bruxelles. 15-16p.
- 📖 **Abdesselem, A.1999.** Etude de la qualité microbiologique et physicochimique de trois serres alimentant de la région de Tlemcen, Mémoire d'ingénieur institut de biologie, université de Tlemcen, 2-18p.
- 📖 **ABOULKACEM, A. CHAHLAOUI, 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): 10-22p.
- 📖 **AFRI-MEHENNAOUL.F.Z., SAHLIL., MEHANNAOUL.S. 2009.** Évaluation de la contamination par le cadmium, le plomb et le zinc de l'eau, des sédiments de l'oued Rhumel et son affluent le Boumerzoug, et leur transfert vers une plante semi-aquatique : *Rorippa nasturtium-aquaticum* (L.). Sciences & Technologie, C- (29): 45-55p.
- 📖 **ANGELI. N. 1980.** Interaction entre la qualité des eaux et les éléments de son plancton. Pesson. 146 p.
- 📖 **AVRIL.J.L., DABERNAT.H., DENIS.F. et MONTEILH.2000.** Bactériologie clinique 3^{ème} édition; Ellipses.331-335p.
- 📖 **BACHASSON BERNARD, 1997.** Mise en valeur des étangs. Editions Lavoisier Tec et Doc ,176p .
- 📖 **BAHMED L., DJEBABRA M. 2001.** Une démarche qui allie Sécurité, Qualité et Respect de l'environnement, Édition Instantanées Techniques des Techniques de l'Ingénieur- N° 24, 3-5p.
- 📖 **BAHMED L., DJEBABRA M., CHAABANE H.2002.** Architecture d'un projet de conception intégrant la dimension environnement dans les entreprises industrielles, Édition Phoebus, La Revue de Sûreté de Fonctionnement, N°20, 65-75p.
- 📖 **BELGHITL.M.L., CHAHLAOUI.A., BENGOUMLD., EI MOUSTAINE.R. 2013.** Etude de la qualité physico -chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe plio-quadernaire dans la région de Meknès (Maroc). Larhyss Journal, 14 : 21-36p.
- 📖 **BELL, J.B. 1978.** Antibiotic resistance patterns of faecal coliforms isolated from domestic sewage before and after treatment in an aerobix lagoon, Can. Journal of Microbiology, 24: 886-888p.
- 📖 **BERNE F.1972.** Les traitements des eaux dans l'industrie pétrolière, Édition TECHNIP, 207p.
- 📖 **BERNE. F., JEAN. C.1991.** Traitement des eaux, Édition TECHNIP, 306 p
- 📖 **BERTRAND, G.2008** Utiliser L'eau De Pluie, Editions Eyrolles, 130 p.

- 📖 **BESSIERE. 2005.** Filtration frontale sur membrane : mise en évidence du volume filtre critique pour l'anticipation et le contrôle du colmatage. Thèse de doctorat en génie des procédés et de l'environnement. Université Paul Sabatier, Toulouse III France .192p.
- 📖 **BORREGO, A .F. ROMERO, P.1982.** Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci.VI^e journée etude pollution, Cannes, France, 561-569p.
- 📖 **BRIERE, F. 2000.** Distribution et collecte des eaux, 2^{ème} édition, Edition Presses internationales polytechniques, 01-06p.
- 📖 **CAMILLE. D. 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Réglementation, prélèvements, analyses. Tec et Doc 156 P.
- 📖 **CARBONNELLE.B., DENIS.F., MARMONIER.A., et al. 1987.** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris.121-137p.
- 📖 **CARDONHA, A.M.S., VIEIRA, R.H.S.F., RODRIGUES, D.P., MACRAE, A., PEIRANO, G et TEOFILO, G.N.D.2004.** Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in, Natal, Rio Grande de Norte, Brazil. International Microbiology. 7: 213-218p.
- 📖 **CASTANY.G. 1982.** Principes et méthodes de l'hydrologie. Dunod .Paris édition.236p
- 📖 **CAVALLARI, E. LELLIS, L. BALZANI , E. LORENZI, I. STEFENELLI, G-P.2011.** Recherche salmonella en environnement hydrique .Les avantages de la PCR en temps réel. Analytique solution .5p.
- 📖 **CHAHLAOUI, A. 1996** .Etude hydro biologique de l'oued Boufekrane (Meknès), impact sur l'environnement et la santé .Thèse d'état .fac . Meknès, 234 p
- 📖 **CRISTIAN CARIP. 2008.** Microbiologie Hygiène, Bases microbiologiques de la diététique. Edition TEC et DOC. 429 P.
- 📖 **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 :1705-1711p.
- 📖 **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: 1705-1711p.
- 📖 **DEGREMONT.1989,** Mémento technique de l'eau, 9^{ème} Ed. Lavoisier, Paris, Tome 1&2collection degremont.1459p.
- 📖 **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.1-476p.

- 📖 **DENIS.F., DABERNATH., MONTEIL.H., Avril. J.L. 1998.** Bactériologie clinique. Edition marketing, Paris. 144-145p.
- 📖 **DESJARDINS. R. 1997.** Le Traitement des Eaux. 2ème édition, presses internationales polytechnique de Montréal. 304 p.
- 📖 **DJELOUAT.S. 2009.** Les entérobactéries : L'essentiel. [En ligne]. <http://knol.google.com/k/salim-djelouat/mes-knols> (consulté le 12/05/2016)
- 📖 **DUSSART, B. 1966.** Limnologie : l'étude des eaux continentales, Edition géologique écologique aménagement, 2ème trimestre. 252p.
- 📖 **EDBERG, S., KARLIM, R.ALLEN, M. 2000.** Escherichia coli .The best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology. 106-116p.
- 📖 **EL OUALI LALAMI. A., MERZOUKI .M., EL HILLALI.O., MANIAR.S., IBNSOU DA KORAICHI .S. 2011.** Pollution des eaux de surface de la ville de Fès au Maroc : typologie, origine et conséquences. Larhyss Journal, 09 : 55 -72p.
- 📖 **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 Meknès, Larhyss Journal, 09 : 21-33p.
- 📖 **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), Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale 3 : 57-75p.
- 📖 **EZZIANE. S.2007.**, traitement des eaux de rejets, le Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de Magister, Université Hassiba Ben Bouali De Chlef,186p.
- 📖 **FIGARELLA .J., LEYRAL.G et TERRET .M. 2007.** Microbiologie générale et appliquée DELGRAVE EDITION. France. 102,104, 106, 107,108p.
- 📖 **FRERE.J-M.2008.**Antibiotiques contre Bactéries. http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/fr/antibiotiques-contre-bacteries?part=3 (consulté le 01 /07/2016)
- 📖 **GAUJOUS. D. 1995.**La pollution des milieux aquatiques, Aide-mémoire. 2^{ème} édition TEC et DOC. 520p.
- 📖 **GAUTHIER.M., PIETRI.C.1989.** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Edit. Masson.447p.
- 📖 **GERARD. G.1999.** L'eau: Milieu naturel et maîtrise, Édition INRA : Volume 1, 204p.
- 📖 **GHIZELLAOUI,S.2008.**Evaluation and evolution of the quality of the water resources in the distribution network .Elsevier .desalination .222:502-512
- 📖 **GLEESON, C. GRAY, N. A. 1997.**the coliforms index and water borne disease, E & FN spoon, 194p
- 📖 **GOMMELLA. M, GURREE. H.1983.** les eaux usées dans les agglomérations urbains ou rurales Ed EYROLLES 61 boulevard saint – Germain, 249 p.
- 📖 **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

- 📖 **GREGORIO. C., PIERRE-MARIE. B.2007.** Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: Procédés, Presses Univ. Franche-Comté.356 p.
- 📖 **GUASMI. I., DJABRI. L., HANIA., LAMOUREUX.C. 2006.** Pollution des eaux de l'oued Medjerda par les nutriments. Larhyss Journal, 05 : 113-119p
- 📖 **GUEZLANE-TEBIBEL.N., KAHLOUCHE.B., ATHMANI-GUEMOURIS. 2010.** Microbiologie .Office des publications universitaires. 70,74, 93,95, 115, 124p.
- 📖 **GUILBERT, L.2000.** Chimie Dans La Buanderie, Projets d'Intégration des Sciences et des Technologies en Enseignement au Secondaire, 21p.
- 📖 **HAAS. D., KEEL. C. 2003.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Nat. Rev. Microbiol. 3: 307-319p.
- 📖 **HADE. A. 2003.** Nos lacs : les connaître pour mieux les protéger. Canada : FIDES .232-359p
- 📖 **HAENN, S. Février 2009.** Accrombessi, H et Moulin, L. Antibiorésistance des coliformes par l'étude de concentration minimale inhibitrice (CMI) : Application à la Seine et aux rejets hospitaliers. Rapport PIREN-Seine 2008.
- 📖 **HARTMANN.P. 2004.**Contamination des eaux au milieu professionnel, édition Elsevier, pp 63-78p.
- 📖 **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
- 📖 **JEAN-CLAUDE B.1983.** Contrôle des Eaux Douces et de Consommation Humaine, Edition Ed. Techniques Ingénieur, 2-8P.
- 📖 **KECK.G., VERNUS.E. 2000.** « Déchets et risques pour la santé », Techniques de l'Ingénieur, Paris, 2450p.
- 📖 **KIM and AGA.2007.**J. Toxicol. Environ. Health, Pt. B Crit. Rev. vol. 10, et Baran et al. (2011), Journal of Hazardous Materials. 196p.
- 📖 **LAROCHE-AJZENBERG.E. 2010.** Étude de l'antibio-résistance de la population d'Escherichia coli isolée d'environnements aquatiques : Estuaire et hydrosystèmes karstiques. Thèse de Doctorat en Biologie. Microbiologie. Écologie microbienne. à Université de Rouen.3p.
- 📖 **LAVIGNE.J-P.2007.**Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance .Faculté de Médecine. 3p.
- 📖 **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. Bacterial Virus Parietal Epidemiol.47: 185-191p.
- 📖 **LEVEQUE. C. 1996.** Écosystèmes aquatiques. Edition Hachette. 159 P.
- 📖 **MADIGAN.M et MARTINKO. J.2007.** Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l'Illinois du sud .11e édition. P 702,705, 711,860, 862.
- 📖 **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 : 149-169p.
- 📖 **MARGAT.J., ANDREASSIAN.V.2008.**L'eau. Idées reçues. Le Cavalier Bleu, Paris, 125 p

- 📖 **MARTINEAU.G.P. 1997.** Maladies d'élevage des porcs. 1ere édition. Ed. France agricole. 316p.
- 📖 **MATE. 2000.** Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. Rapport sur l'état et l'avenir de l'environnement en Algérie, Alger, Algérie.
- 📖 **MOKEDDEM. K., OUDDANE.S.2005.**Qualité Physico-chimique Et Bactériologique De L'eau De Source Sidi Yaakoub (Mostaganem), Mémoire d'ingénieur institut de biologie – Mascara, 18-22p.
- 📖 **MOMBA,M-N-B.MALAKATE,V-K. THERRON, J.2006.**Abundance of pathogenic Escherichia coli, Salmonella typhimurium and Vibriion cholerae in Nkonkobe drinking water sources .Journal of water and health 4 (3) :289-296 monitoring .Global Environment Monitoring system ,WHO,UNEP.
- 📖 **MOORE. E. R. B., TINDALL.B. J., MARTINS DOS SANTOS.V. A. P., PIEPER.D. H., RAMOS.J.L., et PALLERONI.N. J. 2006.** Nonmedical: Pseudomonas, In Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors, The Prokaryotes: à handbook on the biology of bacteria, 3rd ed, vol 6 Springer, New York, NY. 646–703 p.
- 📖 **NAGPAL,B-N.S.CHAND ,S-K.SINGH, A. SRIVASTAVA, A .DUA,V-K.2011.**Microbiological quality of drinking water in the villages Rehabilitation and Resettlement colonies Located in the Area of Major Dams of Narmada Bassin .India .Webmed central .11p
- 📖 **NIEMI, M., SIBAKOV, M., NIEMELA, S.1983.** Antibiotic resistance among different species of faecal coliforms isolated from water samples. Applied and Environmental Microbiology. 45: 79-83P.
- 📖 **OMS, 1989.** Gealth guidelines for the use of water in agriculture and aquaculture . Rapport d'un groupe scientifiques de l'OMS. Genève : Organisation Mondiale de la santé. 74p.
- 📖 **OMS, 2004.** World health organisation .Directives de qualité pour l'eau de boisson . 3^{eme} édition ,volume 1Recommandations. Genève,Suise . 110p.
- 📖 **OMS, 2006.** Directives de qualité pour l'eau de boisson .Troisième édition, volume 1
- 📖 **PALLERONI.N.J. 2008.** The road to the taxonomy of Pseudomonas. In: Cornelis, P. (Ed.), Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press, Belgium, 1-18p.
- 📖 **PAPA, M.2005.** Les Eaux A Usage Industriel, Edition EP5, 17p.
- 📖 **PASSERAT, J & SERVAIS, P. Février 2008.** Occurrence et origines des bactéries fécales antibiorésistantes (E. coli et entérocoques) dans le bassin de la Seine. Rapport PIREN-Seine 2007.
- 📖 **PILET.C., BOURDON .J.L., TOMA.B., et al.1979.** Les entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris.109-187p.
- 📖 **PILET.C., BOURDON .J.L., TOMA.B., et al.1979.** Les entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris.109-187p.
- 📖 **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

- 📖 **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.
- 📖 **REGGAM. A., BOUCHELAGHEM. H., HOUHAMDI.M. 2015.** Qualité Physico-Chimique des Eaux de l'Oued Seybouse (Nord-est de l'Algérie): Caractérisation et Analyse en Composantes Principales. Journal of Materials and Environmental Science, 1417-1425p.
- 📖 **ROBRSON, W.1995.** Unité et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. dans : aire intérieur et eau potable, presses de l'université Laval, 179-193p.
- 📖 **RODIER, J. 1984** .L'analyse de l'eau, Eaux naturelles, Eaux résiduares 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 résiduares, eau de mer. 8ème édition Dunod, Paris, France.879 p.
- 📖 **RODIER, J. BAZIN C. BOUTIN, J-P. CHAMBON, P. CHAMPSAUR, H. RODI, L. 1996.**L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduares, eau de mer. 8^{ème} édition Dunod, Paris, France.879 p.
- 📖 **RODIER, J.1996.**, Analyse De L'eau (Eau Naturelles, Eaux Résiduares, Eau De Mer), 8^{ème} Edition, paris, 1260 p.
- 📖 **RODIER, J.1997.**L'analyse De L'eau (Eaux Naturelles, Eaux Résiduares Et Eaux De Mer) 8ème Edition, Dunod, Paris, 66p.
- 📖 **RODIER. J.1996.** L'analyse De L'eau, Eaux Naturelles, Eaux Résiduares, 8ème Edition, Dunod, paris, 1335p.
- 📖 **RODIER.J., BAZIN.C., CHAMBON., P. BROUTIN.G-P., CHAMPSAUR.H., RODI. L. 2005.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduares, eaux de mer. 8ème édition. Paris : Dunod technique. 1383p.
- 📖 **RODIER.J., LEGUBE.B., MERLET.N., COLL. 2009.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduares, eau de mer. 9ème édition. Paris : Dunod technique. 1579p.
- 📖 **SARRI HASSIBA, 2014.** Contribution a l'étude de la qualité chimique et bactériologique de l'eau de la source « ATTAR» (TLEMCEN). Mémoire magister. Université ABOU-BEKR BELKAID TLEMC. 92p.
- 📖 **SERVAIS, P &, PASSERAT J.2009.** Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine river basin (France).Science of the Total Environment. 408: 365-372p.
- 📖 **SEVRIN-REYSSAC, G. DELANOUE, J. PROULX, D. 1995.** Le recyclage de lisier de porc par lagunage. Edition Technique et Documentation Lavoisier. 118p
- 📖 **SOKONA, 2002.** Manuel du cours d'hygiène du milieu, (F.M.P.O.S 2002) 50p.
- 📖 **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.

- 📖 **VAN DEN BOGAARD.AE et STOBBERINGH.EE.2000.** Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. International Journal of Antimicrobial Agents 14: 327-35p.
- 📖 **VILLAGINES, R. 2003.** L'eau : environnement et santé publique, 2ème édition. 97p.
- 📖 **WALRER.2008** Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les enfants en Suisse. Patronage : Société suisse de pédiatrie (SSP) et Office fédéral de la santé publique (OFSP).
- 📖 **ZOUREZ, O.H. FERHANI, K. 2003.** Etude physico-chimique et biologique d'un écosystème aquatique : barrage de boukourdane (Wilaya de Tipaza). Mémoire. D'Ingénieur. D'Etat. En halieutique, I.S.M.A.L, Alger, 104p.



ANNEXES

ANNEXE I

Matériels des analyses bactériologiques

Le matériel utilisé durant les analyses est le suivant

1. Milieu de culture

- Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol (BCPL).
- Milieu indole + mannitol (milieu de schubert).
- Bouillon à l'acide de sodium (bouillon de Rothe).
- Bouillon à l'éthyle violet et acide de sodium (EVA litsky).
- Gélose viande foie (VF).
- Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA).

2. Réactifs, additifs et solutions

- Eau physiologique stérile.
- Alun de fer.
- Sulfite de Sodium.
- Réactif de Kovacs.
- Eau de javel.

3. Appareillage et verrerie

- Pipettes graduées de 1 ml.
- Pipettes graduées de 10 ml.
- Tubes à essai stériles.
- Bec bunsen.
- Les boites de pétri.
- Etuve à 22°C, 37°C et 44°C.
- Bain marie.
- Réfrigérateur.
- Flacons en verre de 250 ml stériles.
- Portoirs.
- Anse de platine.

ANNEXE II

Recherche des coliformes

- **Bouillon lactosé au Bromocrésol-pourpre, (BCPL milieu simple et double Concentrations) en g/l d'eau distillée**

	Milieu S/C	Milieu D/C
- Peptone.....	5.....	10
- Extrait de Viande.....	2.....	4
- Lactose.....	5.....	10
- Pourpre de Bromocrésol.....	0,025.....	0,05

pH final : $6,9 \pm 0,2$

- **Bouillon de Schubert en g/l d'eau distillée**

- Tryptophane.....	0,2
- Acide glutamique.....	0,2
- Sulfate de magnésium.....	0,7
- Citrate de sodium.....	0,5
- Sulfate d'ammonium.....	0,4
- Chlorure de Sodium.....	2
- Peptone.....	10
- Mannitol.....	7,5
- Phosphate disodique.....	4
- Phosphate monopotassique.....	0,6

pH final : $7,4 \pm 0,2$

- **Réactif de Kovacs**

- Paradiméthylaminobenzaldehyde.....	5 g
- Alcool iso-amylque.....	75 ml
- Acide chlorhydrique.....	25 ml

4. Recherche des Streptocoques fécaux

➤ Milieu de ROTHE (milieu simple et double concentrations) en g/l d'eau distillée

	Milieu S/C	Milieu D/C
- Hydrolysats tryptique de caséine.....	12,6.....	25,2
- Peptone bactériologique.....	8.....	16
- Glucose.....	5.....	10
- Chlorure de sodium.....	5.....	10
- Phosphate dipotassique.....	2,7.....	5,4
- Phosphate monopotassique.....	2,7.....	5,4
- Acide de sodium.....	0,2.....	0,4

pH final : $6,8 \pm 0,2$

➤ Milieu Litsky (EVA Litsky) en g/l d'eau distillée

- Peptone	20
- Glucose.....	5
- Chlorure de sodium.....	5
- Phosphate dipotassique.....	2,7
- Phosphate monopotassique.....	2,7
- Azothydrate de sodium.....	0,3
- Ethyl-violet.....	0, 0005

pH final : $6,8 \pm 0,2$

5. Recherche des spores de Clostridium sulfito-réducteurs

➤ Gélose viande-foie en g/l d'eau distillée

- Base viande-foie.....	30
- Glucose.....	2
- Amidon.....	2
- Agar.....	11

pH final : $7,6 \pm 0,2$

➤ **Sulfite de sodium à 10%**

- Dissoudre 10g de Na₂SO₃ (anhydre) dans 100ml d'eau distillée stérile.
- Stériliser par un séjour de 10 min environ dans un bain marie bouillant.

➤ **Alun de Fer à 5%**

- Dissoudre 5g de citrate ammoniacal (alun de fer) dans 100ml d'eau distillée stérile.
- L'alun de fer ne doit pas être chauffé. L'eau doit être stérile ainsi que le flacon.

6. Recherche des germes totaux

➤ **Gélose tryptophane - glucose de levure-agar (TGEA) en g/l d'eau distillée**

- Tryptone.....5
- Extrait de levure.....5
- Glucose.....1
- Gélose.....15

pH final : 7,0 ± 0,2

❖ **Composition d'autre milieu**

➤ **Gélose Hektoen**

- Proteose-peptone.....12,0 g.
- Extrait de levure.....3,0 g.
- Lactose.....12,0 g.
- Saccharose.....12,0 g.
- Salicine.....2,0 g.
- Citrate de fer III et d'ammonium.....1,5 g.
- Sels biliaires.....9 g.
- Fuchsine acide.....0,1 g.
- Bleu de Bromothymol.....0,065 g.
- Chlorures de sodium.....5,0 g.
- Thiosulfate de sodium.....5,0 g.
- Agar.....14,0 g.

- Eau distillée.....1000 ml.

➤ **Gélose Nutritive**

- Extrait de viande1, 0g.

- extrait de levure2.5g.

- Peptone5,0g.

- Chlorure de sodium5, 0g.

- Agar.....15g.

➤ **Gélose Mueller -Hinton**

- Infusion de viande de bœuf déshydratée.....300g.

- Hydrolysate de caséine17,5 g.

- Amidon de maïs1,5 g.

- Agar Agar.....13,0 g.

- Eau distillé.....1000 ml.

ANNEXE III (les tableaux)

Tableau II : Les caractères d'identification des genres le plus fréquemment rencontrés chez les entérobactéries (Djelouat, 2009)

	Escherichia	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Salmonella	Shigella	Proteus	Providencia	Yersinia
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP(Acétoïn)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+ *
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+ *
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

* à 20°C seulement, (+) : Résultat positif, (-) : Résultat négatif.

Tableau III : résultats des analyses microbiologiques

Paramètres microbiologiques	Les moyennes			Les normes
	Station 1 (la source)	Station 2 (le lit)	Station 3 (l'aval)	
Coliformes totaux (UFC/100ml)	773.75 (UFC/100ml)	1612.5 (UFC/100ml)	2122.5 (UFC/100ml)	50000
Coliformes fécaux (UFC/100ml)	538.75 (UFC/100ml)	1845 (UFC/100ml)	21.22.5 (UFC/100 ml)	20000
Streptocoques fécaux (UFC/100ml)	96.25 (UFC /100ml)	152.5 (UFC /100 ml)	450 (UFC/100 ml)	10000
Spores d'anaérobie sulfito-réducteurs (Spores/20ml)	1Spores	2 Spores	Indénombrable	00
Salmonelles (UFC/100ml)	0	0	0	Absence
Vibrion (UFC/100ml)	0	0	0	Absence

Tableau VII: Résultats de l'antibiogramme

ANTIBIOTIQUES	<i>E. Coli</i> (n=14)	<i>Klebseilla</i> (n=6)	<i>Enterobacter Sakazakii</i> (n=4)
P	14	6	0
AM	14	6	0
CZ	14	2	0
FA	14	2	3
OX	5	1	0
MEC	5	0	2
FOX	2	0	2
AMP	0	0	0
CL	0	0	2
K	0	1	0
CTX	2	0	2
IMP	0	0	0
NOR	0	0	2
PI	5	2	0
DO	2	2	0

Tableau VIII: Nombre le plus probable et intervalle de confiance dans le cas du système d'ensemencement (NPP).

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			N.P.P dans 100ml	Limite de confiance à 95%	
5 tubes de 10 ml	1tube de 1ml	1tube de 0.1ml		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	0	2	0	5,9
0	1	0	2	0.050	13
1	0	0	2.2	0.050	13
1	1	0	4.4	0.52	14
2	0	0	5	0.54	19
2	1	0	7.6	1.5	19
3	0	0	8.5	1.6	29
3	1	0	12	3.1	30
4	0	0	15	3.3	46
4	0	1	20	5.9	48
4	1	0	21	6.0	53
5	0	0	38	6.4	330
5	0	1	96	12	370
5	1	0	240	12	3700

Tableau IX: Normes de qualité microbiologiques des eaux des eaux de surfaces selon

L'OMS et JORA.

Paramètres microbiologiques	unité	Eau de surface	
		OMS	JORA
Coliformes totaux	UFC/100ml	50000	50000
Coliformes fécaux	UFC/100ml	20000	20000
Streptocoque fécaux	UFC/100ml	10000	10000
Spoires d'anaérobie sulfito- réducteurs	Spoires/20ml	00	00
Salmonella	UFC/100ml	Absence	Absence
Vibrio cholerae	UFC/100ml	Absence	Absence

(Selon OMS.2004 et JORA.1992)