

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENTS SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université SAAD DAHLAB BLIDA 1



MEMOIRE DE FIN D' ETUDE  
EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER  
Domaine : **science de la nature et de la vie**  
Option : **biotechnologie microbienne**

**Contribution d'enquête sur la  
diversité des *Pseudomonas*  
dans les eaux naturelles de la  
région de Blida**

Réalisé par : **OTSMANE Meroua**

**TEBBAL Fatma Zohra**

Date de soutenance : 22 /09/2020

**Soutenu Devant le jury composé de :**

<b>Président:</b> BENCHABANE D.	MAA	UDB1
<b>Examineur:</b> BENSALID F.	MAA	UDB1
<b>Promoteur:</b> BENKORTEBY H.	MAA	UDB1
<b>Co-promoteur:</b> BENHMED S.		

**Année universitaire : 2019-2020**

# Remerciement

Nous exprimons nos remerciements et profonde gratitude à :

Mme **BENKORTEBY** pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer et diriger notre travail, ainsi que pour son aide et ses conseils, et nous avoir fait découvrir le monde de recherche, pour son suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements et toute notre gratitude aux membres du jury :

Mme **BENCHABANE** d'avoir accepté de présider le jury.

Mme **BENSAID** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mme **BENHMED** pour son aide et ses conseils, pour nous avoir orientées dans nos travaux pratiques.

Un grand merci est adressé à Mr **TEFAHI** pour son aide et soutien.

Nos sincères remerciements s'adressent également à toute l'équipe de laboratoire d'hygiène **BLIDA** qui nous a facilité l'accès et le travail au sein de laboratoire.

Nos vifs remerciements sont adressés pareillement à nos enseignants.

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leurs patience illimitée, leurs encouragement continu, leurs aide, en témoignage de mon profond amour respect et pour leurs grands sacrifices*

*Je suis fière de vous.*

*Ma chère et unique sœur, mon cher et unique frère, ma chère petite fille, mon mari ,ma chère tante.*

*A mes amis : Imane, Anissa, Djamila, Bochra , Sarah, Zineb , Abir, à qui je souhaite une longue vie pleine de joie et de réussite.*

*Je vous aime.*

*Meroua*

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire :*

*A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*

*A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et en encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

*A mes frère Oussama, Hossam et mes sœur Youssra et Rahil qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager.*

*Jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes remerciements.*

*A ma petite famille Mohamed et Ines.*

*A tous mes ami(e)s de la promotion :*

*Iman, Anissa, Meroua .*

*Fatma Zohra*

# Résumé

Notre travail est une contribution d'enquête sur la diversité des *Pseudomonas* dans les eaux naturelles de la région de Blida. Les ressources hydriques naturelles tel que les sources, les forages, les rivières, et puits sont considérées comme niches écologiques favorables pour le développement des espèces de genre *Pseudomonas* tel que : *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*. Ces dernières sont caractérisées par la production de différents métabolites, surtout des enzymes qui peuvent être utilisés dans les applications de la biotechnologie microbienne comme la biodégradation des contaminants inorganiques et organiques existant dans l'eau.

Ce travail repose sur la recherche des *Pseudomonas* dans les eaux naturelles de la région de Blida. Nous avons prélevé 100 échantillons d'eaux de différentes ressources hydriques : sources naturelles, forages, puits et rivières. On a procédé à la mesure des paramètres physicochimiques (pH, température, Chlore) et à la mise en évidence des bactéries présentes par études macroscopique, microscopique, et tests biochimiques. L'isolement des espèces de *Pseudomonas* a été fait par cultures sur milieu sélectif. Les résultats obtenus parmi les 100 échantillons d'eaux qui sontensemencées sur le milieu cétrimide on a trouvé 28 échantillons positifs 5 échantillons prélevés à partir de rivières, 7 échantillons prélevés à partir de sources, 9 échantillons prélevés à partir de puits et 7 échantillons prélevés à partir de forges qui indiquent la présence de *Pseudomonas spp* mais on a identifié l'échantillon 37 prélevé à partir de rivière de Chiffa est les résultats indique la présence de *Pseudomonas fluorescens* en plus l'échantillon 52 prélevé à partir de puit à la commune de Bouarfa est les résultats montre la présence de *Pseudomonas aeruginosa*.

## Mots clé :

Ressources hydriques, *Pseudomonas*, biotechnologie, biodégradation.

# Abstract

**Title:** Contribution of the survey on the diversity of *Pseudomonas* in the natural waters of the Blida region

Our work is an investigative contribution to the diversity of bacteria of the genus *Pseudomonas* in the natural waters of the Blida region. Natural water resources such as springs, boreholes, rivers, and wells are described as favorable niches for the development of species of the genus *Pseudomonas* such as: *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*. These are characterized by the production of different metabolites like enzymes, which can be used in microbial biotechnology applications such as biodegradation of existing inorganic and organic contaminants in water.

This work is based on the search for *Pseudomonas* in natural waters. We took 100 water samples from different water resources: natural sources, boreholes, wells and rivers. We proceeded on measuring physicochemical parameters (pH, temperature, chlorine) and detection of bacteria present in water samples by using macro and microscopic studies and biochemical tests. *Pseudomonas* species were isolated by culturing on selective media. The results obtained among the 100 samples of water which are inoculated on the cetrimide medium were found 28 positive samples 5 samples taken from rivers, 7 samples taken from sources, 9 samples taken from wells and 7 samples taken from forges which indicate the presence of *Pseudomonas spp* but we identified the sample 37 taken from the Chiffa river and the results indicate the presence of *Pseudomonas fluorescens* in addition to the sample 52 taken from a well at the municipality of Bouarfa is the results show the presence of *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words:**

Water resources, *Pseudomonas*, biotechnology, biodegradation.

# ملخص

**العنوان:** مساهمة استقصائية حول تنوع *Pseudomonas* في المياه الطبيعية لمنطقة البلدية.

دراستنا هي مساهمة استقصائية على تنوع البكتيريا *Pseudomonas* في المياه الطبيعية في منطقة البلدية. تعتبر المصادر

المائية الطبيعية مثل: الينابيع، الأنهار، الآبار، منافذ طبيعية ملائمة لتطور أنواع بكتيريا *Pseudomonas* نجد:

*Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas fluorescens* حيث، تتميز هذه الأنواع بإنتاج مستقلبات مختلفة خاصة الأنزيمات، التي تستعمل في تطبيقات علم الأحياء الدقيقة، مثل التحلل البيولوجي للملوثات العضوية وغير العضوية.

يعتمد عملنا على البحث عن البكتيريا *Pseudomonas* في مصادر مائية طبيعية مختلفة في منطقة البلدية. أخذنا 100 عينة

ماء من مختلف ينابيع مائية، شرعنا في قياس العوامل الفيزيوكيميائية والكشف عن البكتيريا الموجودة من خلال الدراسات

العيانية والميكروسكوبية والاختبارات البيوكيميائية، تم عزل أنواع طريق الاستزراع في وسط انتقال،

النتائج المتحصل عليها من بين 100 عينة من المياه، التي تم زرعها في وسط *cétrimide* هي العثور على 28 عينة

إيجابية 5 عينات مأخوذة من الأنهار ، 7 عينات مأخوذة من الينابيع ، 9 عينات مأخوذة من الآبار و 7 عينات مأخوذة من

منافذ طبيعية التي يشير إلى وجود *Pseudomonas spp* لكننا حددنا العينة 37 المأخوذة من نهر شفة وتشير النتائج إلى

وجود *Pseudomonas fluorescens* بالإضافة إلى العينة 52 المأخوذة من بئر في بلدية بوعرفة تظهر النتائج إلى وجود

*Pseudomonas aeruginosa*.

## الكلمات المفتاحية

مصادر المياه الطبيعية، *Pseudomonas*، التكنولوجيا الحيوية، التحلل البيولوجي.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les étapes de cycle d'eau dans la nature.....	4
<b>Figure 2.</b> Arbre phylogénétique obtenu à partir des séquences du gène de l'ADNr 16S.....	12
<b>Figure 3.</b> Observation macroscopique de <i>Pseudomonas spp</i> de l'échantillon 37.....	24
<b>Figure 4.</b> Observation macroscopique de <i>Pseudomonas spp</i> de l'échantillon 52.....	25
<b>Figure 5.</b> Observation microscopique de <i>Pseudomonas spp</i> de l'échantillon 37.....	25
<b>Figure 6.</b> Observation microscopique de <i>Pseudomonas spp</i> de l'échantillon 52.....	26
<b>Figure 7.</b> La production de pigment sur le milieu King A et B de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (échantillon 52).....	26
<b>Figure 8.</b> Résultats de la production de pigment sur le milieu King A et King B de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (échantillon 37).....	27
<b>Figure 9.</b> Résultats de catalase.....	27
<b>Figure 10.</b> Résultats de mannitol et mobilité de <i>P. aeruginosa</i> et <i>P.fluorescens</i> .....	28
<b>Figure 11.</b> Résultat de potentiel d'oxydoréduction de <i>P. aeruginosa</i> et <i>P.fluorescens</i> .....	29
<b>Figure 12.</b> Résultats d'acide organique (citrate) pour <i>P. aeruginosa</i> et <i>P.fluorescens</i> .....	29
<b>Figure 13.</b> Résultats de l'antibiogramme de <i>P.aeruginosa</i> et <i>P.fluorescens</i> .....	30

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Résultat des analyses physico-chimiques des 100 échantillons.....	47
<b>Tableau 2 :</b> Les résultats d'ensemencement des 100 échantillons sur le milieu cétrimid.....	50
<b>Tableau 3 :</b> Les résultats de l'antibiogramme de l'échantillon 37 et, l'échantillon 52.....	53

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Chapitre I : généralité sur l'eau**

I-1 Le cycle de l'eau dans la nature.....	4
I-2 L'eau potable.....	4
I-3 Propriétés physico chimiques et bactériologiques de l'eau potable.....	5
I-3-1 Les paramètres physicochimiques.....	5
I-3-2 Les paramètres microbiologique.....	5
I-4 Ressources hydriques naturelles.....	5
I-4-1 L'eau de source naturelle.....	5
I-4-2 L'eau des puits.....	6
I-4-3 L'eau de mer.....	6
I-4-4 L'eau de forage.....	6
I-4-5 L'eau de rivière.....	6

## **Chapitre II : Les contaminants de l'eau**

I-1 Notion de contaminant d'eau.....	8
II-2 Les contaminants inorganiques.....	8
II-2-1 Les substances indésirables.....	8
II-2-2 Les substances toxiques.....	8
II-3 Les contaminants organiques.....	9
II-3-1 Les matières organiques naturelles (MON).....	9

## **Chapitre III : Les bactéries du genre *Pseudomonas*.**

III-1 Description générale des <i>Pseudomonas</i> .....	11
III-2 Phylogénie du Genre <i>Pseudomonas</i> .....	11
III-3 Classification du genre <i>Pseudomonas</i> .....	13
III-4 Caractéristiques du genre <i>Pseudomonas</i> .....	13

III-5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
III-5-1 Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
III-5 Habitat.....	14
III-5-3 Morphologie et culture.....	14
III-5-4 Caractéristiques.....	14
III-5-5 Le rôle pathogène.....	15
III-5-6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et la biotechnologie.....	15
III-6 <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	16
III-6-1 Classification de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	16
III-6-2 Habitat.....	16
III-6-3 Morphologie et la culture.....	17
III-6-4 Caractéristiques.....	17
III-6-5 Le rôle pathogène.....	17
III-6-6 <i>Pseudomonas fluorescens</i> et la biotechnologie.....	17
<b>Chapitre IV Matériels et méthodes.</b>	
<b>IV-1 Matériels</b> .....	20
IV-1-1 Collecte d'échantillons et origine .....	20
<b>IV-2 Méthodes</b> .....	20
IV-2-1 les paramètres physico-chimiques.....	20
IV-2-2 Isolement et purification de <i>Pseudomonas</i> .....	20
IV-2-4 Identification macroscopique et microscopique.....	21
IV-2-4-1 Etude macroscopique.....	21
IV-2-4-2 Etude microscopiques.....	21
IV-2-5 Production du pigment fluorescent.....	21
IV-2-6 Tests biochimiques.....	21
IV-2-7 Antibiogramme.....	22
IV-3 Résultats et discussion.....	24
IV-3-1 Les Paramètres physico-chimiques.....	24
IV-3-2 Isolement et purification de <i>Pseudomonas</i> .....	24
IV -3-3 Identification macroscopiques et microscopiques.....	24
IV-3-3-1 Etude macroscopique.....	24
IV-3-3-2 Etude microscopiques.....	25
IV-3-4 Production des pigments fluorescents .....	26
IV-3-5 Tests biochimiques.....	27

Analyse des résultats .....	31
Conclusion.....	34
Référence bibliographe.....	36
Annexe.....	45

# **INTRODUCTION**

## **Introduction :**

L'eau est un élément indispensable à la vie et revêt de l'importance pour d'innombrables activités humaines (Chaden, 2014). Près de 70% de la surface de la terre est recouverte d'eau, leur composition chimique est simple de formule chimique H<sub>2</sub>O. La circulation de l'eau au sein des différents compartiments est décrite par son cycle hydrologique, le cycle de l'eau (Ben Chabane et Hamdi, 2018).

L'eau c'est la substance la plus répandue dans la terre, elle se déplace et change de forme d'un cycle dans la nature. L'eau que nous consommons chaque jour est essentielle à la vie (Bruce et Jakosky, 1985). Sa qualité a toujours été un élément indispensable à un environnement favorable pour la vie de tous les êtres vivants existant dans notre planète tel que les animaux, les végétaux, l'homme, et même les microorganismes comme les champignons et les bactéries, qui vivent avec des relations entre eux dans les océans, les mers, les lacs, les rivières, les puits et les forages.

De nos jours, les problèmes de pollution constituent un danger de plus en plus important pour l'homme. Certains des facteurs qui menacent les sources d'eau potable et les écosystèmes aquatiques sont constitués de groupes de contaminants, tel que des contaminants inorganiques (les métaux lourds) et des contaminants organiques (les micropolluants organiques artificiels : les pesticides, HAP, PCB, chlordane, chlordécone) et les matières organiques naturelles c'est-à-dire la présence de certaine matière organique produite par la décomposition de débris d'algues, de végétaux et de plantes marines aussi biomasse, activités bactérienne et microbienne (Guérineau, 2013).

En effet, L'eau est un moyen de transport idéal des contaminants sur tous les microorganismes pathogènes, peuvent provoquer des épidémies graves connues sous le nom de maladies à transmission hydrique, d'origines bactériennes tel que *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp*, *Shigella dysenteriae* et *Pseudomonas aeruginosa* (Hedahdia et Aliouche, 2016).

De plus, il a été démontré que les *Pseudomonas* sont caractérisées par la production de divers métabolites ayant une activité antimicrobienne contre certains agents pathogènes, des pigments comme pyoverdine se sont des sidérophores qui peuvent être utilisé comme molécule captant les ions de fer de fusé dans l'eau nécessaire pour leur croissance, des toxines, des enzymes, des phytohormones et décomposés antibiotiques (Berdja et al., 2018).

Ces capacités métaboliques de dégradation de plusieurs composés toxiques font partie des nouvelles applications en biotechnologie microbienne comme moyen de dépollution de l'environnement par l'action des dégradations biologiques des bactéries sur les polluants toxiques de l'eau (Arab et Oudafal, 2012).

Ce travail consiste à rechercher des bactéries de genre *Pseudomonas* dans des échantillons d'eaux prélevées des ressources hydriques naturelles et de mettre en évidence. L'identification des bactéries de genre *Pseudomonas spp* présentent dans 100 échantillons d'eaux des ressources hydriques naturelles (puit, forage, rivière, source) par l'étude macroscopique, microscopique, les tests biochimiques, et l'antibiogramme.

# **Chapitre I : Généralité sur l'eau**

## I-1-le cycle de l'eau dans la nature :

L'eau recouvre 72% de la surface de la terre, pourtant seule 0,65% de cette eau communément appelée eau douce est disponible dans les nappes souterraines 0,63%, les lacs et les rivières 0,02%. L'essentielle de l'eau présente sur terre se trouve dans les océans 97,2%; l'eau glacée ne représente pour sa part que 2,15% de l'eau potable (Zaimache, 2015). Le cycle hydrologique d'eau décrit comment l'eau se déplace sur la terre et change de forme; le cycle a deux composantes principales : le stockage et le mouvement.

Il est important de noter que le cycle de l'eau a besoin d'énergie pour changer d'état solide au liquide (enthalpie de fusion), et du liquide au gaz (enthalpie de vaporisation) (Evinek et al., 2013). Les étapes de cycle hydrologique sont : évaporation, condensation, précipitation liquide ou solide, infiltration dans le sous-sol, ruissellement, écoulement (Figure1) (Alain, 2020).

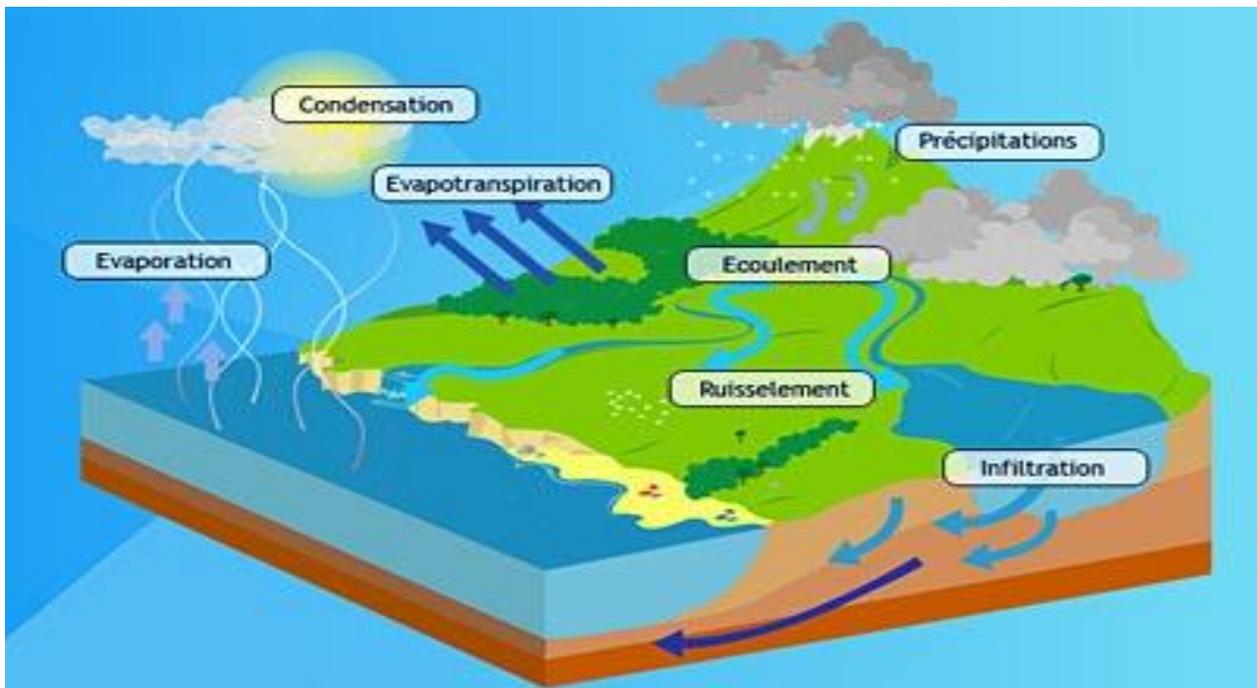


Figure1 : Les étapes de cycle d'eau dans la nature (Alain, 2020).

## I-2-L'eau potable :

Une eau potable est une eau possible de boire sans risque pour la santé. Toute eau destinée à la consommation humaine, répondre à un certain nombre de critères organoleptiques : pas de goût ni d'odeur, pas de couleur et les doses de substances indésirables doivent être conformes à des normes très strictes selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) (Chocat, 2015).

### **I-3 Propriétés physico chimiques et bactériologiques de l'eau potable :**

#### **I-3-1 Les paramètres physico-chimiques :**

Il est primordial de connaître la température de l'eau potable; en effet elle joue un rôle très important dans la solubilité des sels et surtout des gaz. La température de l'eau potable est comprise entre 25,6°C et 32,2°C. Le pH de l'eau potable doit être compris entre 5,5 et 7,6 il est très proche de la neutralité. Mais il existe d'autre paramètre qui donne de façon spécifique la qualité de l'eau potable tel que oxygène dissous, conductivité, turbidité, titre hydrotimétrique (TH) ou dureté totale, titre alcalimétrique (TA), titre alcalimétrique complet (TAC), matière en suspension (MES), demande chimique en oxygène (DCO) (Fakih Lanjri et *al.*, 2014).

#### **I-3-2 Les Paramètres microbiologiques :**

La qualité de l'eau potable est basée sur l'analyse microbiologique. Elle se mesure par la présence d'organismes indicateurs de pollution (Merah, 2019), c'est-à-dire la recherche des "microorganismes indicateurs de contamination de l'eau potable (Ayad, 2017). Il existe plusieurs d'indicateurs : les germes totaux et les coliformes totaux qui vivent normalement dans les intestins humains et animaux. Les principales bactéries indicatrices de contamination fécale sont les coliformes totaux connus sous le nom d'*Escherichia coli* (*E.coli*) les streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs, *vibrions cholériques*, *salmonelles* (Fakih Lanjri et *al.*, 2014).

### **I-4 Ressources hydriques naturelles :**

La diversité des ressources nous permet de les déviser en deux grands groupes; les ressources en eaux conventionnelles comme les eaux superficielles et les eaux sous terraines; et les ressources en eaux non conventionnelles constituent les eaux usées et les eaux de mers (Arab et Oudafal, 2012). Les ressources en eau sont représentées par 97% en eau de mer et océan; les 3% restants sont départagées comme suit :

18 % d'eaux profondes inexploitable, 77 % de glaces, les 5% restants représentent les eaux : des rivières, souterraines superficielles, lacs salés, lacs des eaux douces (Benaouda, 2016).

#### **I-4-1 L'eau de source naturelle :**

Les eaux de sources sont des eaux d'origine souterraine, doivent provenir d'une nappe ou d'un gisement souterrain, exploité à partir d'une ou plusieurs émergences naturelles ou forcées

et adaptées à la consommation humaine, microbiologiquement saines et protégées contre les risques de pollution (Hazzab, 2011).

#### **I-4-2 L'eau des puits :**

Les eaux de puits constituent le réservoir essentiel des eaux potables (Boudjadja et *al.*, 2003), l'eau des puits est une eau souterraine, elles proviennent de nappe phréatique à faible profondeur et qui alimente traditionnellement les puits en eau potable. Ce type de nappe est la plus exposée à la pollution en provenance de la surface (Diallo, 2010).

#### **I-4-3 L'eau de mer :**

Les eaux de mer ou eaux saumâtres sont une source d'eau brute qu'on n'utilise que lorsqu'il n'y a pas moyen de s'approvisionner en eau douce. Ces eaux ne sont pas potables et sont caractérisées par une grande salinité (Hyd, 2014).

#### **I-4-4 L'eau de forage :**

Les eaux de forage sont des ouvrages permettant de capter les eaux souterraines (points d'eau). Les forages sont l'un des meilleurs moyens d'obtenir de l'eau potable (Soulsby, 2012).

#### **I-4-5 L'eau de rivière :**

L'eau de rivière c'est une cour d'eau qui se remplit après des précipitations par le ruissellement de surface, à partir des sources et suintements, ou par la fonte des neiges et des glaciers. Les eaux de la rivière sont utilisées principalement dans les usages domestiques, la production hydroélectrique; irrigation et des activités récréatives (Merhabi et *al.*, 2019).

# **Chapitre II : Les contaminants de l'eau**

## **II-1 Notion de contaminant d'eau :**

Les contaminants sont des substances organique, inorganiques ou biologique détectées dans l'eau et toutes ressources hydrique naturelles (Goulas, 2018) ces substances peuvent être de nature solide, liquide, gazeuse, ou un microorganisme (Dube, 2010). Les contaminants soit organiques ou inorganiques font l'objet d'une surveillance particulière en raison des risques qu'ils présentent pour la santé humaine (Botta, 2004).

## **II-2 Les contaminants inorganiques :**

Le terme «inorganique» signifie généralement substances qui ne contiennent pas de carbone tel que les minéraux, les métaux et les anions (Goulas, 2018).

Les contaminants inorganiques du milieu aquatique causés par des substances naturelles, les déchets industriels (Thangamalathi et Anuradh, 2018), les déchets agricoles et ménagers contenant des composés azotés (Yoshiteru, 2000).

### **II-2-1 Les substances indésirables :**

L'eau potable est le liquide qui dissout le plus grand nombre de substances. Ceci explique le fait que l'eau soit un milieu favorable au développement de la vie, puisque l'on y trouve un grand nombre d'éléments indésirables (Matias et Salvarredy, 2008) avec des concentrations très variables dans l'eau potable ces substances sont divisées en deux catégories : les anions comme le chlorure nitrates, les ions ammonium, l'azote nitrique, l'azote nitreux, les sulfates, les bicarbonates (Josianne, 2017) et les cations comme le calcium, le magnésium, le sodium le potassium (Ineris, 2014).

### **II-2-2 Les substances toxiques :**

Ce sont des éléments métalliques très dangereux, potentiellement toxiques, non-biodégradables et bioaccumulables dans les chaînes alimentaires qui appellent les métaux lourds (Vezina, 2015). On trouve les métaux dans les eaux sous formes ioniques libres ou incorporés dans des structures moléculaires ou des complexes organiques ou inorganiques (Piemont et *al.*, 2019) en faible concentration se forme de traces (Vezina, 2015).

Quelques métaux lourds, comme le zinc, le cuivre, le magnésium et le fer, sont indispensables à la croissance des organismes vivants. D'autres éléments, comme le plomb, le mercure et le cadmium, ne sont pas indispensables aux activités métaboliques et manifestent des propriétés toxiques (Massey, 2015).

## **II-3 Les contaminants organiques :**

Les contaminants organiques sont des molécules chimiques soit d'origine naturelle comme les matières organiques naturelles (MON) ou bien issues des activités humaines et qui ont un effet nocif sur l'environnement. On les appelle généralement les Polluants Organiques Persistants (POP). Ils regroupent les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et biphényles polychlorés (PCB) (Sopheak, 2016).

### **II-3-1 Les matières organiques naturelles(MON):**

Les matières organiques naturelles (MON) sont des mélanges complexes de molécules provenant de la décomposition des débris végétaux et animaux, sont inoffensives pour la santé humaine mais présentent l'inconvénient d'interférer sur tous les procédés de traitement d'eaux potables. Les matières organiques naturelles extraites d'eaux de diverses origines proviennent invariablement des bio polymères suivants, qui composent l'essentiel de la biomasse animale et végétale : polysaccharides, sucres aminés (présents dans les parois bactériennes et fongiques), protéines, substances poly phénoliques (Piemont *et al.*, 2019).

D'autre part, le pool de matière organique provient d'un mélange de différentes sources :

- apports allochtones c'est la matière organique d'origine continentale, par les issues des sols et la décomposition végétale (Thibault *et al.*, 2017).
- apports autochtones c'est la matière organique produite par la décomposition de débris d'algues, de végétaux et de plantes marines aussi biomasse, activités bactérienne et microbienne (Massey, 2015).

Une réactivité microbiologique, traduisant les possibilités d'utilisation de la matrice organique par une population microbienne. Certaines de ces espèces retrouvées dans des rejets domestiques sont apparentées aux genres *Enterobacter*, *Aeromonas* et diverses familles cellulitiques, notamment les *Pseudomonaceae* avec le genre *Pseudomonas* comme les souches de *Pseudomonas fluorescens* qui secrètent une large variété d'enzymes incluant des protéases et des lipases (Labanowsk, 2004).

# **Chapitre 3 : Les bactéries de genre**

## ***Pseudomonas***

### **III-1 Description générale des *Pseudomonas* :**

Le genre *Pseudomonas* rassemble des bactéries qui n'accumulent pas le poly- $\beta$ -hydroxy butyrate (réserve de carbone et d'énergie) et produisent un pigment fluorescent jaune vert comme *Pseudomonas aeruginosa*, *P.syringae*, *P.viridiflava*, *P.fluorescens* et *P.putida* (Morgaint, 2015). Le second rassemble à des bactéries accumulant le poly- $\beta$ -hydroxy butyrate et ne produisant pas de pigment fluorescent par exemple *P.gladioli*, *P.fulava*, *P.fragi*, *P.mendocina* (Ouargui et Chlaala, 2019). Aussi il regroupe des espèces phytopathogène et non phytopathogène (Meghdas et *al.*, 2004).

### **III-2 Phylogénie du genre *Pseudomonas* :**

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, l'arbre phylogénétique construite à partir des séquences partielles de l'ADNr 16S (Figure 2) regroupe les principales espèces du genre *Pseudomonas* et illustre la notion de groupes distincts (Tournus, 2016).

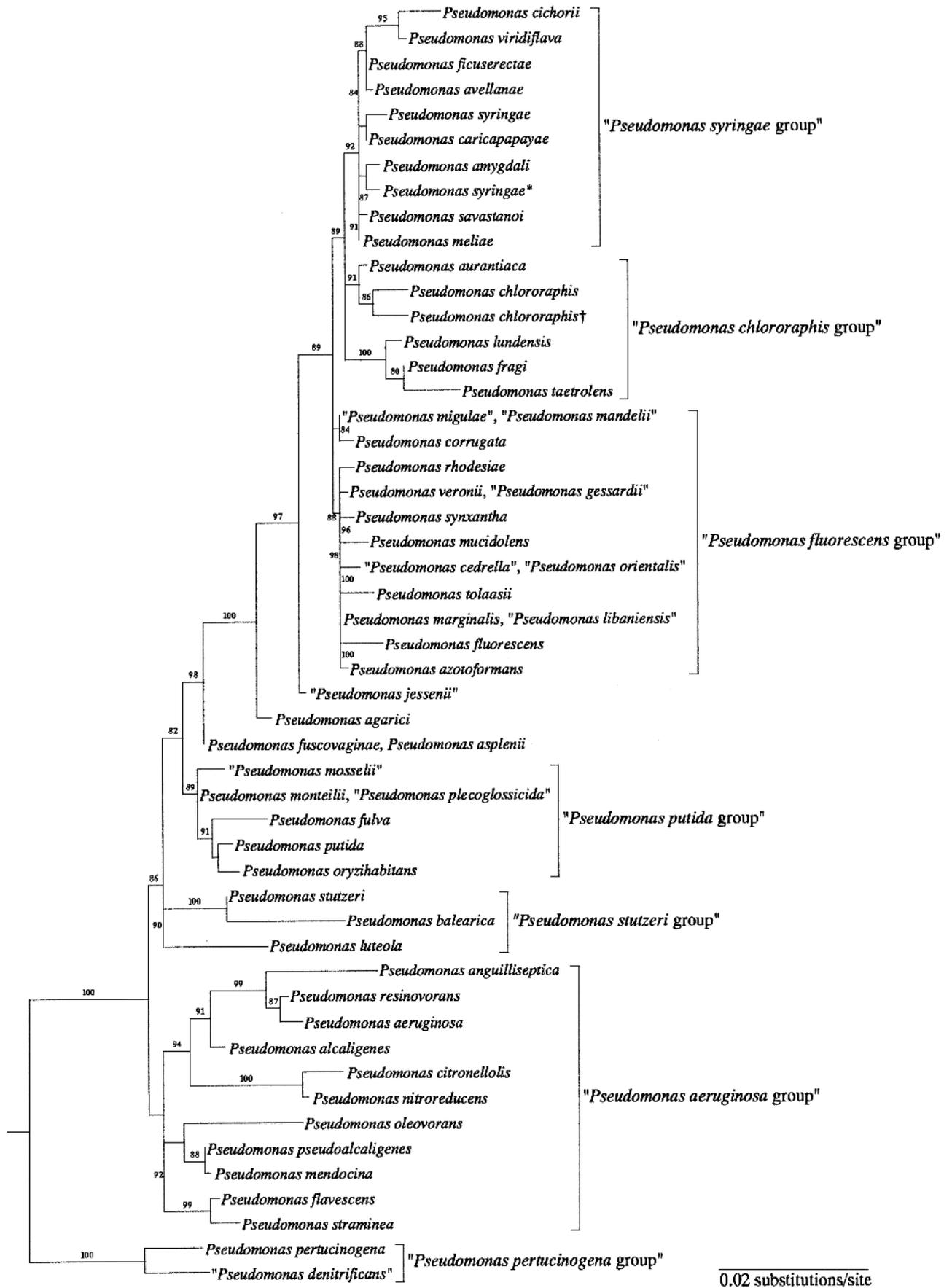


Figure02 : Arbre phylogénétique des espèces du genre *Pseudomonas* construit par Anzai et al. (2000) sur la base du séquençage de l'ARN ribosomal.

### **III-3 Classification du genre *Pseudomonas* :**

Il appartient au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Pseudomonadales*, famille des *Pseudomonaceae*, (Moore et *al.*, 2006). Les espèces de ce genre sont classées en fonction des critères phénotypiques (morphologie, type trophique) et génotypiques (ADN, les gènes) (Meghdas et *al.*, 2004).

### **III-4 Caractéristiques du genre *Pseudomonas* :**

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, animaux et des végétaux (Mezaache, 2012). Les bactéries de ce genre sont des Gram négatives, non sporulantes, sont aérobies obligatoires, à l'exception de certaines pouvant utiliser le NO<sub>3</sub> comme accepteur d'électrons. Leur mobilité est assurée par plusieurs flagelles polaires et elles ont un métabolisme mésophile et la plupart étant saprophytes (Allaire, 2005). Leur températures cardinales aux quelles les espèces se multiplient varient de 4° à 42°C, cette dernière est caractéristique de l'espèce *P. aeruginosa*, alors que la température optimale pour la croissance des espèces saprophytes est située entre 28°C et 30°C et de pH supérieur à 4.5 (Mezaache, 2012), ce sont des germes résistant à de nombreux antibiotiques (Hart et Shears, 1997).

### **III-5 *Pseudomonas aeruginosa* :**

*Pseudomonas aeruginosa* du latin *aeruginosus*= couvert de rouille (Venier, 2011) c'est un bacille pyocyanique, du grec puon = pus et Kuanos = bleu foncé. La bactérie *P. aeruginosa* est l'espèce la plus pathogène pour l'homme (Magin, 2019). Elle possède souvent des granulations plus fortement colorées (Bouamer et Guerbati, 2008).

#### **III-5-1 Classification de *Pseudomonas aeruginosa* :**

Les bactéries de *Pseudomonas aeruginosa* sont classées comme suivant :

Domaine: Bacteria

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gammaproteobacteria*

Ordre: *Pseudomonadales*

Famille: *Pseudomonadaceae*

Genre: *Pseudomonas*

Especie: *Pseudomonas aeruginosa* (Migula, 1900).

### **III-5-2 Habitat :**

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire vivant à l'état saprophyte dans l'environnement (Magin, 2019) que l'on peut retrouver dans les sols et les milieux aquatiques (Boukerb et Cournoyer, 2013) et sur les végétaux. Sur tout type de support et de matériel humide à une température entre 4°C et 45°C (Bernet et *al.*, 2009). On la trouve dans les réservoirs naturel comme les lacs, les rivières, l'eau polluée, les piscines, aussi dans les eaux chaudes sanitaires, et malheureusement au milieu hospitalier (Boudouda, 2015).

### **III-5-3 Morphologie et culture :**

C'est un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large *P. aeruginosa* est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle mono triche polaire (Sefraoui, 2015), en plus de citrate, catalase, et oxydase positive (Hayder et *al.*, 2016). L'espèce *P. aeruginosa* possède un métabolisme aérobie strict (Magin, 2019), elle peut être isolée en culture sur des milieux ordinaires ou sur des milieux rendus sélectifs par addition d'inhibiteur, tel que le cétrimide. Sa température optimale de croissance est comprise entre 5-42°C. Les cultures de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine (Essoh, 2013).

### **III-5-4 Caractéristiques :**

*Pseudomonas aeruginosa* secrète un certain nombre de pigments, dont les principaux la pyocyanine (bleu-vert), la pyoverdine (jaune vert) (Attoui et Rafa, 2018). Les pigments peuvent être apparents sur milieux ordinaires (Bouamer et Guerbati, 2008), ou milieux de King A pour la production des pigments de pyocyanine en bleu et King B spécifique pour la pyoverdine de couleur vert fluorescent (Boudouda, 2015).

*Pseudomonas aeruginosa* est caractérisée par un génome de taille de 6.3 Mpb et la majorité de régions contiennent G+C (Stover et *al.*, 2000). La pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa* est attribuée à la production d'un vaste facteur de virulences membranaires et extracellulaires dans leur habitat (Pmontalegre, 2016) telle que : les facteurs impliquant à la adhérence et la mobilité (les flagelles, pili de type IV), lipopolysaccharides LPS, protéase, les exotoxine, les siderophores (pyoverdine, pyocyanine) (Bricha et *al.*, 2009).

Les cellules de *Pseudomonas aeuroginosa* sont capables de s'associer entre elle pour former biofilm. Cette forme de vie communautaire sessile s'oppose élaviez planctonique; libre avec

une grande capacité de communication intercellulaire et la régulation par Quorum Sensing (QS) se forme un signal entre les cellules bactériennes par la production de petite molécule chimique (Cockenpot, 2014). Le développement de biofilm dans les réseaux de distribution d'eau potable favorise et augmente sa capacité de résistance à différentes classes des antibiotiques (Keehoon et Sang Sun, 2016).

### **III-5-5 Le rôle pathogène :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste humain important qui provoque des infections graves (Marouiet *al.*, 2016) tels que les infections nosocomiales, urinaires, pulmonaires (Doleans-Jordheim et *al.*, 2015).

### **III-5-6 *Pseudomonas aeruginosa* et la biotechnologie :**

*Pseudomonas aeruginosa* est utilisé comme un outil biologique grâce à sa capacité métabolique de dégrader les composés toxiques dans l'eau tels que : phénol, lipide, hydrocarbure pétrolier et p-nitrophenole (PNP) c'est une nouvelle application de biotechnologie microbienne comme moyen pour dépolluer l'environnement par la dégradation biologique (Satapute et Kaliwal, 2016).

- La biodégradation de phénol :

Le phénol est un produit chimique organique toxique très dangereux même à la faible concentration, utilisée dans large gamme des produits tel que les carburants pétroliers, les lubrifiants, les cires.

La biodégradation du phénol par la culture de *Pseudomonas aeruginosa* sur l'eau polluée à l'aide des mécanismes de biorestauration consiste à utiliser des processus biologiques pour accélérer la décontamination d'un site d'eau polluée par le phénol (Agarry et *al.*, 2008).

- La biodégradation de lipide :

Les lipides sont des composants importants de déchets qui provoquent une grave pollution d'environnement par ce qu'ils forment un film d'huile à la surface d'eau qui empêchant la diffusion d'oxygène de l'air dans l'eau et entraînant la mort de nombreuses formes de vie. La biodégradation des lipides se passe par la bactérie *P.aeruginosa* productrice de lipase qui montrant un potentiel élevé pour leur utilisation dans le traitement des eaux polluées par les déchets riches en lipides (Bared, 2010).

- La biodégradation d'hydrocarbure pétrolier :

L'hydrocarbure pétroliers dans l'eau posent un problème de pollution important pour le nettoyage finale d'un environnement contaminate par le pétrole doit être accompli biodégradation de polluant par application potentielle des métabolites tel que *P.aeruginosa* productrice des rhamnolipides extracellulaires définir comme un bio surfactant brut qui utilise pour la dispersion du pétrole brute comme source d'énergie pour leur métabolites (Shafeeq et al., 1989).

- La biodégradation de p-introphenole (PNP) :

Des p-nitrophenole ont été libre et distribués dans l'environnement comme des herbicides, insecticide et les déchets industrielle. Les études montre que le PNP est facilement à décompose dans les eaux de surface par contre il prend plus de temps dans eau souterraine où il provoque des effets sur le système biologiques à cause de leur toxicité. Actuellement les méthode d'élimination de la PNP par la dégradation biologique et l'application des bactérie de *Pseudomonas aeruginosa* grâce à leur capacité de minéralise le PNP comme seul source de carbone, azote et énergie (Yongliang et al., 2009).

### **III-6 *Pseudomonas fluorescens* :**

Elle porte aussi le nom *Bacillus fluorescens* mais le nom *Pseudomonas fluorescens* est valablement publié (Hugh et al., 1964).

#### **III-6-1 Classification de *Pseudomonas fluorescens* :**

Les bactéries de *Pseudomonas fluorescens* sont classées comme suivant :

Domaine : *Bactéria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre: *Pseudomonadales*

Famille: *Pseudomonadaceae*

Genre: *Pseudomonas*

Espec: *Pseudomonas fluorescens* (Palleroni, 1992).

#### **III-6-2 Habitat :**

*Pseudomonas fluorescens* est une bactérie ubiquitaire présente dans l'eau et les sols, et surtout dans la rhizosphère végétale (Ossis et al., 2000), c'est une espèce saprophytes commensale chez les plantes (Muriel, 1959).

### **III-6-3 Morphologie et la culture :**

Les *Pseudomonas fluorescens* sont des bactéries à Gram négatif communes en forme de bâtonnet sont principalement aérobies, sauf pour certaines souches qui peuvent utiliser NO<sub>3</sub> comme accepteur d'électrons à la place d'O<sub>2</sub>. Elles sont mobiles au moyen de multiples flagelles polaires (Ganeshan et Manoj Kumar, 2005), leur pH compris entre 4 et 8 en plus à température de croissance optimale se situe entre 25 et 30°C (Brittan et *al.*, 2014).

### **III-6-4 Caractéristiques :**

*Pseudomonas fluorescens* est capable de synthétiser le pigment jaune-vert, fluorescent, soluble dans l'eau. Ce pigment fluorescent c'est d'un complexe stable qui s'appelle le pyoverdine (Meyer, 1978).

*Pseudomonas fluorescens* est une bactérie associée à la plante qui habite dans une rhizosphère dynamique et microbiologiquement complexe. Ce mode de vie permet à s'adapter aux changements des conditions environnementaux qui favorise la colonisation et la formation de nouvelle niche écologique (Mavrodi et *al.*, 2009). La stratégie pour meilleur attachement à leur environnement c'est la formation de biofilm sur une surface abiotique qui joue un rôle dans la fixation et la transmission de signal entre les cellules bactériennes (O'toole et Kolter, 1998).

### **III-6-5 Le rôle pathogène :**

Le danger que représente la souche de *P. fluorescens* pour la santé humaine de la population générale est jugée comme faible à moyenne. Mais il existe des rapports concernant les effets nocifs, y compris les infections nosocomiales et les septicémies liées à la bactérie *P. fluorescens* et des produits sanguins contaminés, cette souche ne cause aucun effets nocifs potentiels concernant les plantes ou les animaux (Mavrodi et *al.*, 2009).

### **III-6-6 *Pseudomonas fluorescens* et la biotechnologie :**

Les applications biotechnologiques de *Pseudomonas fluorescens* jouent un rôle clé dans la bioremédiation des eaux par la biodégradation (Dominguez-Nuñez et *al.*, 2013) à l'aide de la production de plusieurs molécules extracellulaires tel que les enzymes, les toxines, les antibiotiques, les bio surfactants, les phytohormones et les siderophores (Richard et *al.*, 2012).

Voir ici quelque exemple d'application de *Pseudomonas fluorescens* dans la biotechnologie :

- La biodégradation de l'ester de phthalate di-n-butyle (DBP) :

L'ester de phthalate di-n-butyle DBP est c'est un produit chimique perturbateur endocrinien qui applique comme plastifiants prouvé les propriétés mécaniques de la résine et le plastiques, principalement utilisé dans les matériaux de construction et des produits médicaux .La biodégradation de DBP a lieu grâce aux bactéries de *Pseudomonas fluorescens* qui peuvent dégradées ces composées chimiques et utilisent pour leurs métabolites comme source de carbone en plus comme source d'énergie(Xiang-Rong et *al.*, 2005).

- La biodégradation de benzene, toluene, ethylbenzène et le xylenes (BTEX) :

Ce sont des composants aromatiques de nombreux produits pétroliers et largement utilisés dans les solvants industriels qui peuvent se trouver dans les eaux souterraines. La biodégradation de BTEX par la co-culture de *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida* qui jouent un rôle efficace pour dégrader ce polluant et utilisent comme source de carbone (ShimetYang, 1999).

- La biodégradation de disulfure de diméthyle (DMDS) :

C'est un composé organique soufré volatile, largement trouvées dans l'environnement, il cause de grave problèmes dans l'eau même à faible concentration, ce dernier il est utilisé en plus pour des processus industrielles et biologiques telles que l'industrie de bois et les raffineries de pétrole.

La *Pseudomonas fluerscens* peut dégrader le DMDS et utilisé dans leur métabolite comme la seule source de soufre (Ito et *al.*, 2007).

- La biodégradation d'hydrocarbure :

Le sol et l'eau surtout souterraine sont les plus contaminés par les hydrocarbures de pétrole comme le benzène, le diesel et hydrocarbures poly aromatique (HAP) qui sont très toxiques actuellement sont classés comme des composants cancérrogène, les techniques biotechnologiques et applications de la biodégradation qui définir par l'utilisation des bactéries de *Pseudomonas fluorescens* qui produisant des enzymes tel que le protéase, catalase, urease, déshydrogénase, polyphénol oxydase sont ajoutées pour leurs métabolismes comme source de carbone et d'énergie (Vijay et *al.*, 2014 ).

# **Chapitre IV**

## **Matériel et méthodes**

## **Matériels et méthodes :**

L'eau c'est un moyen de transport idéal des contaminants sur tous les microorganismes pathogènes tel que les bactéries de genre *Pseudomonas*. Notre étude est basée sur la recherche des bactéries de *Pseudomonas* dans différents échantillons d'eaux prélevés de différentes ressources hydriques naturelles de la région de Blida tels que : Bouarfa, chiffa, Guerwawe, Mouzaia, Bni tamo, Chréa.

### **IV-1 Matériels**

#### **IV-1-1 Collecte d'échantillons et origine :**

On a réalisé un prélèvement de 100 échantillons d'eaux de ressources hydriques naturelles (puits, forages, rivières, sources) dans différentes régions de Blida, et on a les mis dans des flacons stériles de 50 ml.

### **IV-2 Méthode :**

#### **IV-2-1 Les paramètres physico-chimiques :**

On a mesuré trois paramètres physicochimiques :

- **Potentiel d'hydrogène (pH):** par l'utilisation de pH mètre qui est un appareil souvent électronique, permettant la mesure du pH d'une solution.
- **La température:** le pH mètre est doté d'un dispositif qui révèle la température de la solution.
- **Le taux du chlore.**

#### **IV-2-2 Isolement et purification de *Pseudomonas* :**

On prend 50 ml de chaque échantillon. L'ensemencement se fait par le dépôt de quelques gouttes de chaque échantillon d'eau sur le milieu sélectif cétrimide (annexe III) à l'aide d'une pipette Pasteur, en condition d'asepsie. L'ensemencement est incubé pendant 24h à 37°C dans l'étuve.

La purification se fait par séries de repiquage pour obtenir une culture pure.

#### **IV-2-4 Identification macroscopique et microscopique :**

##### **IV-2-4-1 Etude macroscopique :**

Les colonies obtenues sur milieu solide sont observées à l'œil nu. L'étude macroscopique est basée sur les éléments d'identification tel que :

- La forme des colonies : rondes, irrégulières

- La taille des colonies : par mesure du diamètre : punctiformes ou non punctiformes.
- L'opacité : opaque, translucide.
- L'aspect de la surface
- L'aspect de contour
- La consistance
- L'odeur : présence ou absence.
- L'élévation : convexe, concave, plate.
- La chromogènes : couleur de la colonie (Baghdadi ben attia et Bachkat, 2019).

#### **IV-2-4-2 Etude microscopiques :**

Basé sur la morphologie microbienne, au microscope photonique, c'est rechercher la forme des bactéries (cocci, bacille, spirale) et leur mode de groupement (mono, diploé, tétra, chaîne, grappe de raisin).

Ces renseignements peuvent être fournis par une simple préparation à l'état frais entre lame et lamelle, les bactéries étant alors observées vivantes, ou par l'observation d'un frottis coloré (Baghdadi ben attia et Bachkat, 2019).

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode classique sur des cultures jeunes de moins de 24h. Un frottis de cellules a été réalisé sur une lame propre et fixé à la chaleur par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène. Après fixation, des solutions de violet de Gentiane et de lugol ont été appliqués sur le frottis, qui ensuite a été traité avec, la fushine pendant 30 secondes. Le frottis a été utilisé sous microscopique avec l'ajout d'huile à immersion au grossissement X100. Les isolats ayant une coloration violette sont Gram positifs (+) tandis que ceux présentant une coloration rose sont Gram négatifs (Yousfi, 2013).

#### **IV-2-5 Production du pigment fluorescent :**

La production du pigment fluorescent diffusible a été recherchée sur milieu King A (annexe IV) et King B (annexe V) ensemencé avec des cultures pures. Après incubation de 24 h à 96 h à 37°C (Ouargui et Chlaala, 2019).

#### **IV-2-6 Tests biochimiques :**

##### **a. Catalase :**

Ce test pour voir est ce que les bactéries ont l'enzyme catalase pour la décomposition peroxyde d'hydrogène. Sur une lame propre, déposé une goutte de peroxyde d'hydrogène à 10 volume, puis à l'aide d'une pipette Pasteur stérile une colonie bactérienne a été prélevée

et déposée dans la solution, la lecture de résultats s'effectue après 2 minutes (Mezaache, 2012).

#### **b. Mannitol et mobilité :**

Pour déterminer la mobilité bactériennes c'est-à-dire la présence des flagelles et est-ce que les bactéries fermenté le mannitol on a réalisé une pique central à l'aide d'une pipette Pasteur sur le milieu mannitol-mobilité -nitrate (annexe II) après incubation pendent 24h à 37°C (Baghdadi ben attia et Bachkat, 2019).

#### **c. Potentiel d'oxydo-réduction :**

Ce test est réalisé pour voire le type de respiration de ces bactéries on va faire une pique central à l'aide d'une pipette Pasteur sur le milieu de gélose viande foie (annexe VI) après incubation 24h à 37°C. Mrabet, (2015).

#### **d. Acide organique (citrate):**

Dans le but de connaitre est ce que les bactéries utilisé le citrate comme seul source de carbone on a Ensemencé quelque goutte de suspension bactérienne par l'utilisation d'une pipette Pasteur sur le milieu gélose Simmons citrate (annexe I) après incubation 24h à 37°C (Boudouda, 2015).

### **IV-2-7 Antibiogramme :**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélose cétrimide, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Déposer stérilement les disques d'antibiotiques à la surface de milieu après incubation 24h à 37°C (Sefraoui, 2015).

# **Résultats et discussion**

### **IV-3 Résultats et discussion :**

#### **IV-3-1 Les Paramètres physico-chimiques :**

Les résultats des paramètres physico chimique obtenu montrent que la haute température est 22,8 °C dans échantillon 27 et échantillon 28 et la basse température dans échantillon 17,4 °C, le pH entre 6,2 et 7,1 et le chlore est toujours absent dans les 100 échantillons traitées (Tableau 1) (annexe VII).

#### **IV-3-2 Isolement et purification de *Pseudomonas* :**

Parmi les 100 échantillons d'eaux qui sontensemencées sur le milieu cétrimide on a trouvé 28 échantillons positifs qui indiquent la présence de *Pseudomonas spp* mais on a identifié l'échantillon 37 et l'échantillon 52 (Tableau 2) par ce que les colonies qui on a trouvé dans les 26 échantillons sont identique avec les colonies de l'échantillon 37 et les colonies l'échantillon 52 totalement différents par rapport a les autres échantillons (annexe VIII).

### **IV -3-3 Identification macroscopiques et microscopiques :**

#### **IV-3-3-1 Etude macroscopique :**

Les bactéries de l'échantillon 37 présentent des colonies de petites tailles, rondes, avec une couleur crème pigmentées aux bords réguliers, des reliefs bombés et des surfaces lisses et absence d'odeur (Figure3) (Ouargui et Chlaala, 2019).

Les bactéries l'échantillon 52 présentent des colonies de tailles moyennes, avec une couleur crème, rugueuses au centre opaque et aux bords clairs irréguliers. Elles présentent des pigments jaune-vert fluorescent, un reflet irisé et une odeur aromatique (Figure4) (Boudouda, 2015).



**Figure 3 : Observation macroscopique de *Pseudomonas spp* de l'échantillon 37.**

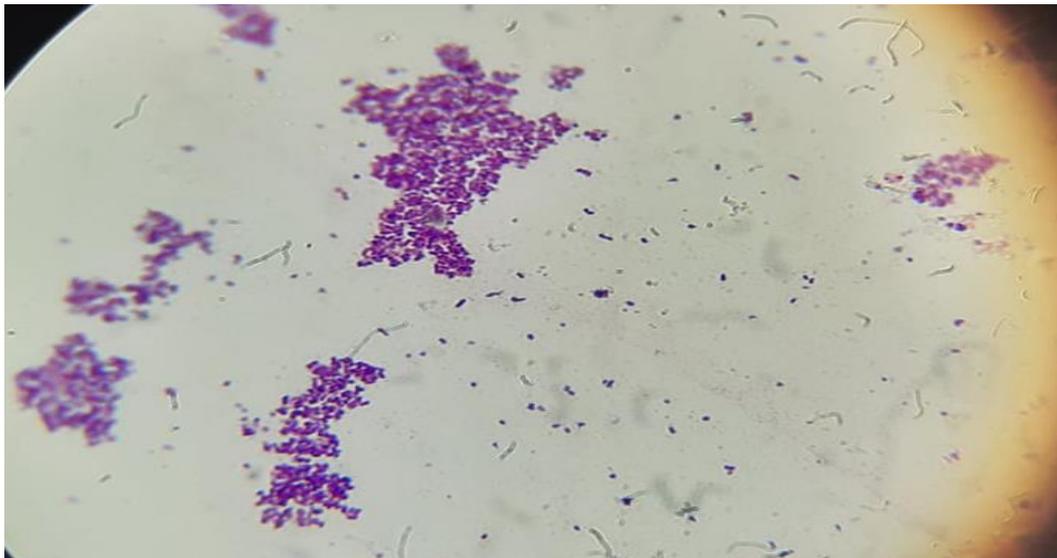


**Figure 4 : Observation macroscopique de *Pseudomonas spp* de l'échantillon 52.**

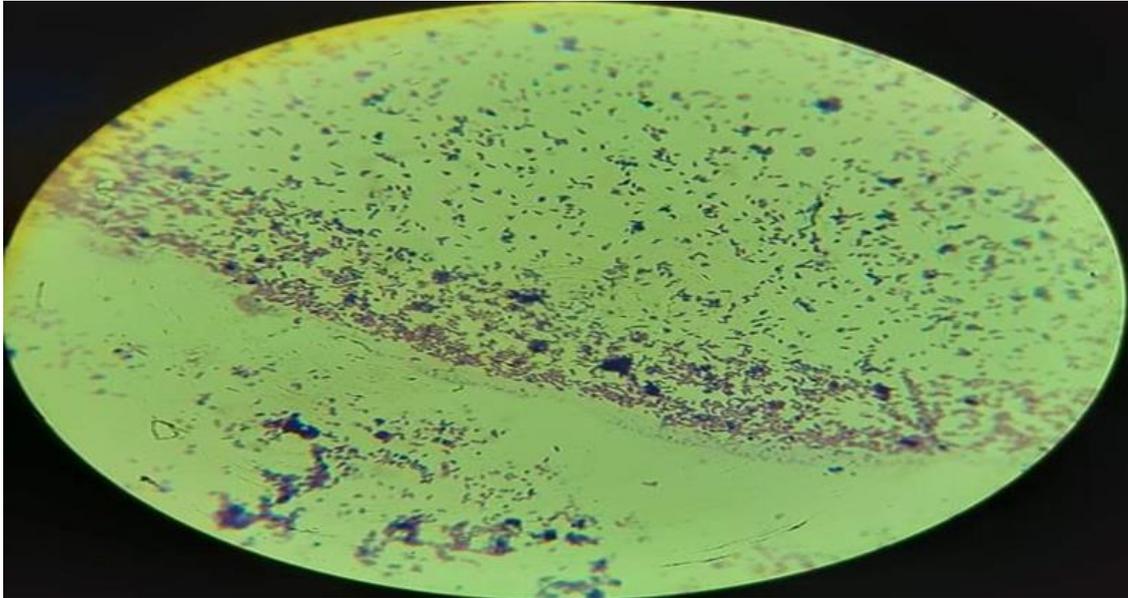
#### **IV-3-3-2 Etude microscopiques :**

- **L'observation microscopique de coloration de Gram :**

La coloration a révélé que les bactéries isolées des 37 et 52, sont des bacilles à Gram négatif et les cellules se présentent isolées ou groupées par deux (Rabhi, 2012).



**Figure 5 : Observation microscopique de *Pseudomonas spp* de l'échantillon 37.**

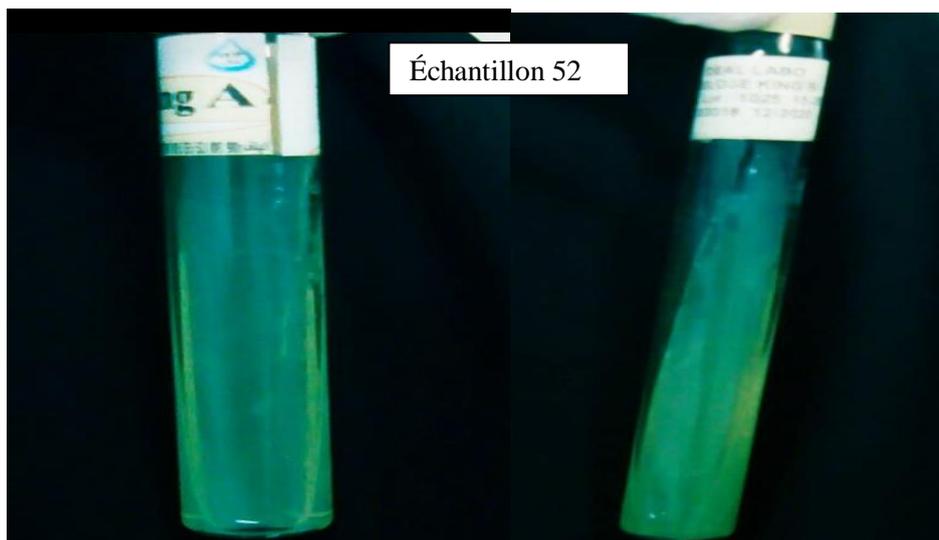


**Figure 6 : Observation microscopique de *Pseudomonas spp* de l'échantillon 52.**

#### **IV-3-4 Production des pigments fluorescents :**

Pour l'échantillon 52 on a observé le pigment pyoverdine sur le milieu King B et de pigment pyocyanine sur le milieu King A. Indiquant la présence de *Pseudomonas aeruginosa* (Ouargui et Chlaala, 2019) (figure7).

Pour l'échantillon 37 on a observé le pigment pyoverdine sur le milieu King B et absence de pigment de pyocyanine sur le milieu King A, indiquant la présence de *Pseudomonas fluorescens* (figure 8) (Mezaache, 2012).



**Figure 7 : Resultats de la production de pigment sur le milieu King A et B de *Pseudomonas aeruginosa* (échantillon 52).**



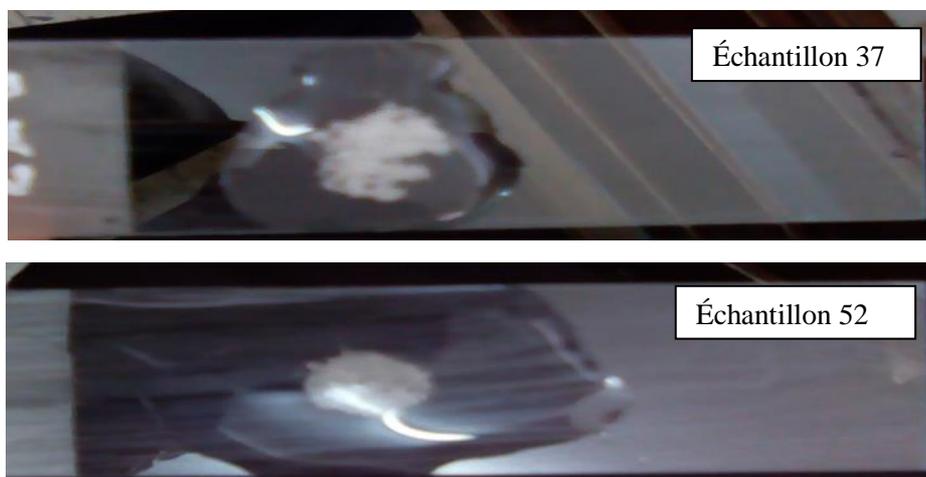
**Figure 8 : Résultats de la production de pigment sur le milieu King A et King B de *Pseudomonas fluorescens* (échantillon 37).**

#### **IV-3-5 Tests biochimiques :**

##### **a. Catalase :**

L'apparition de bulles gazeuses (effervescence) sur la lame chez les échantillons 37 et 52 montre une réponse positive (figure 9).

Les bactéries de *Pseudomonas* (échantillon 37, échantillon 52) sont capables de décomposer de peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  c'est-à-dire ces deux échantillons ont la capacité de production de l'enzyme catalase qui réagit très rapidement avec le  $H_2O_2$  pour donner l'eau  $H_2O$  et dioxygène  $O_2$  (Ait Belkacem et Belgrade, 2017).



**Figure 9 : Résultats de catalase.**

## b. Mannitol et mobilité :

Le milieu reste rouge pas de changement de couleur vers le jaune : absence d'acidification du milieu, les bactéries de *P. aeruginosa* et *P. fluorescens* dans échantillons 52 et 37 ne fermentent pas le mannitol, elle est dite bactéries mannitol négative.

La présence de trouble dans le milieu semi solide c'est à dire Mobilité positive grâce à les présences des flagelles (Figure10) (D).

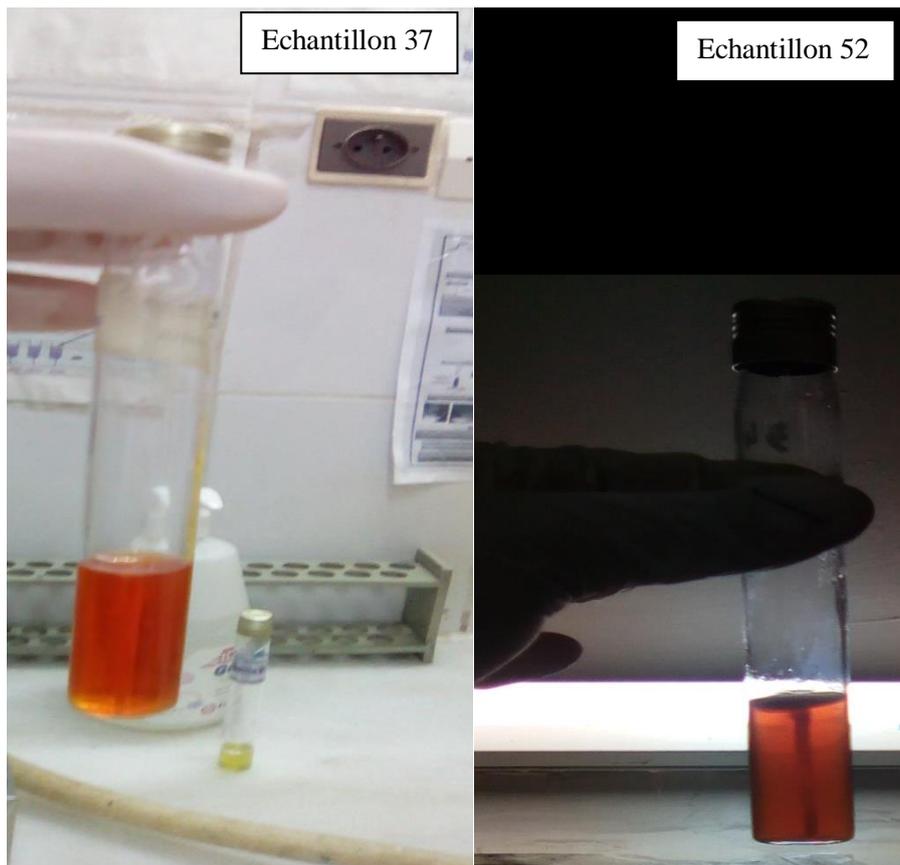


Figure 10: Résultats de mannitol et mobilité de *P. aeruginosa* et *P. fluorescens*.

## C. Potentiel d'oxydo-réduction :

Le type de respiration des bactéries *P. fluorescens* et *P. aeruginosa* est aérobie stricte ne peuvent pas vivre sans dioxygène par ce que on a observé une croissance au niveau de la couche supérieure de milieu viande foie (Figure 11).

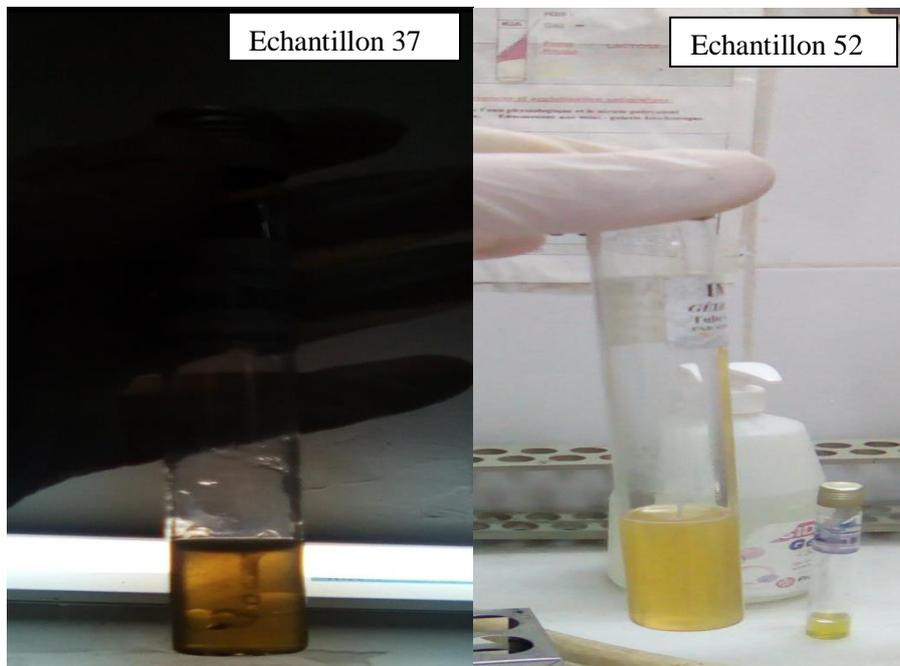


Figure 11 : Résultat de potentiel d'oxydo réduction de *P. aeruginosa* et *P.fluorescens*.

#### d. Acide organique (citrate) :

Avec présence de culture bactérienne des *P. aeruginosa* et *P.fluorescens* le milieu de Simmons devient milieu de couleur bleu c'est-à-dire les bactéries utilisent le citrate comme seule source de carbone avec alcalinisation du milieu et les bactéries possèdent un citrate perméase elles sont dites citrate positive (Figure 12) (Boudouda, 2015).

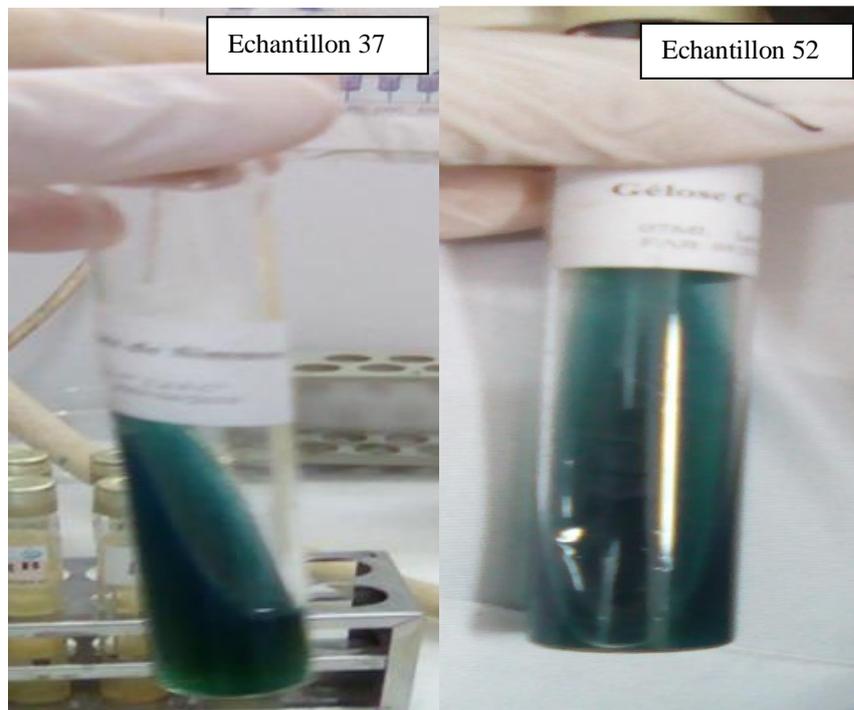


Figure 12 : Résultats d'acide organique (citrate) pour *P. aeruginosa* et *P.fluorescens*

#### IV-3-6 Antibiogramme :

Dans cette étude, les bactéries de *Pseudomonas aeruginosa* (échantillon 52) ont montrées une résistance élevée à tous les antibiotiques testés et les bactéries de *pseudomonas fluorescens* (échantillon 37) ont montré une sensibilité élevée à tous les antibiotiques testés, l'antibiogramme permettre de déterminer le degré de la résistance (échantillon 52) et le degré de la sensibilité (échantillon37)( Boukhatem 2013).

Echantillon 52 correspondant au *Pseudomonas aeruginosa* à une résistance aux antibiotiques (AMC30, CZ30, VA30, CN30, TE30, COT25, CX30, CAZ30, E15, AMX25, OX1) et à une sensibilité intermédiaire aux antibiotiques (CTX30, CTR30). Concernant l'échantillon 37 correspondant eu *Pseudomonas fluorescens* à une sensibilité aux antibiotiques (AMC30, VA30, COT25, CTX30, CX30, CAZ30, E15, AMX25, OX1) et une sensibilité intermédiaire aux antibiotiques (CZ30, CN30, TE30, CTR30) (Figure 13) (annexe IX).

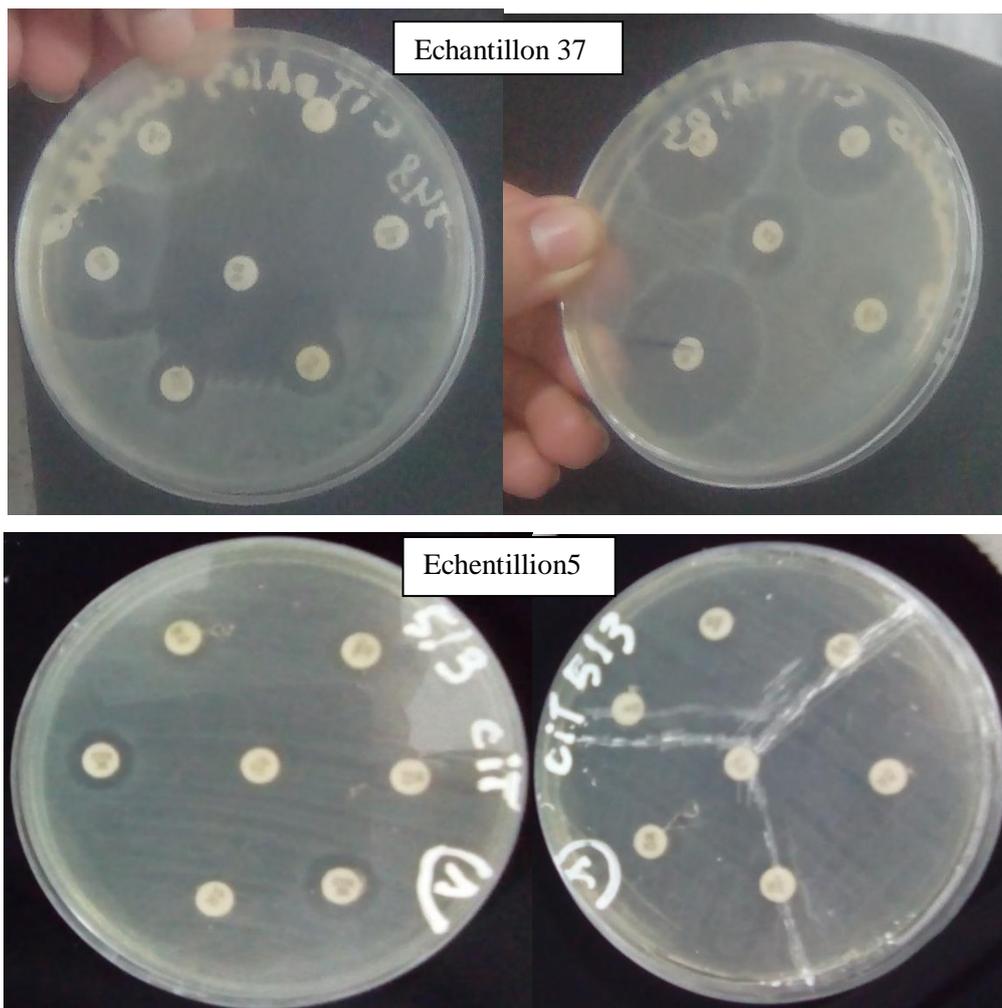


Figure 13. Résultats de l'antibiogramme de *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*.

## Analyse des résultats :

Les 100 prélèvements effectués d'eaux des ressources hydriques naturelles de la région de Blida ont permis d'identifier deux espèces différentes de genre *Pseudomonas spp* sont les *Pseudomonas aeruginosa* dans l'échantillon 52 prélevé à partir de puit et *Pseudomonas fluorescens* dans l'échantillon 37 prélevé à partir de rivière, la diversité des microorganismes vivants dans ces ressources hydriques naturelles dépend de la température, chlore, pH et la disponibilité des éléments nutritifs. Les bactéries doivent donc posséder des caractéristiques requises pour s'adapter à diverses contraintes de l'environnement.

Selon Ouargui et Chlaala, (2019) l'étude macroscopique permet d'observer deux colonies différentes, il y a des colonies de petites tailles avec une couleur crème, rondes, pigmentées aux bords réguliers, des reliefs bombés et des surfaces lisses et absence d'odeur (échantillon 37) et le deuxième type de colonies sont de tailles moyennes avec une couleur crème, rugueuses au centre opaque et aux bords clairs irréguliers. Elles présentent de pigment jaune-vert fluorescent, un reflet irisé et d'une odeur aromatique (échantillon 52) (Boudouda, 2015) et concernant l'étude microscopique on a trouvé que les bactéries sont des bacilles à Gram - (échantillon 37, échantillon 52) (Rabhi, 2012). En plus le genre de *Pseudomonas spp* est caractérisé par la production de pigments fluorescents, les bactéries de l'échantillon 37 peuvent produire le pigment pyoverdine sur le milieu King B cela signifie que sont des *Pseudomonas fluorescens* (Mezaache, 2012) et les bactéries de l'échantillon 52 peuvent produire le pigment pyoverdine sur le milieu King B et de pigment pyocyanine sur le milieu King A cela signifie que sont des *Pseudomonas aeruginosa* (Ouargui et Chlaala, 2019).

Dans les travaux réalisés par Baghdadi ben Attia et Bachkat, (2019) montre que le test de mannitol est négatif chez l'échantillon 37 et l'échantillon 52 parce que le milieu reste rouge c'est à dire absence d'acidification du milieu, la bactérie ne fermente pas le mannitol, la diffusion et le déplacement des bactéries (échantillon 37, échantillon 52) dans le milieu (gélose semi-molle) indique que les bactéries sont mobiles Mobilité + grâce à leurs flagelles.

Pour le test de catalase, les bactéries de *Pseudomonas* (échantillon 37, échantillon 52) sont capables de décomposer le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  c'est-à-dire ces deux échantillons ont la capacité de production de l'enzyme catalase qui réagit très rapidement avec le pour donner l'eau  $H_2O$  et dioxygène  $O_2$  (Ait Belkacem et Belgrade, 2017).

Dans le test de l'acide organique citrate, on a trouvé la présence de culture bactérienne (échantillon 37, échantillon 52) et le milieu de Simmons devient milieu de couleur bleu c'est-à-dire les bactéries utilisent le citrate comme seule source de carbone avec alcalinisation du

milieu, les bactéries possèdent un citrate perméase elles sont dites citrate +, les même résultats sont signalée dans les travaux Boudouda, (2015).

Dans autre test biochimique, le milieu viande foie permet de déterminer le type respiratoire d'une bactérie, c'est -à- dire définir son comportement vis-à-vis du dioxygène, nos résultats montrent que les bactéries trouvées (échantillon37, échantillon52) sont des aérobies stricts ne peuvent pas vivent sans dioxygène.

D'après Boukhatem (2013), les bactéries de *Pseudomonas aeruginosa* (échantillon 52) ont montrées une résistance élevée à tous les antibiotiques testés et les bactéries de *Pseudomonas fluorescens* (échantillon 37) ont montré une sensibilité élevée à tous les antibiotiques testés, l'antibiogramme permettre de déterminer le degré de la résistance (échantillon 52) et le degré de la sensibilité (échantillon37).

# **CONCLUSION**

## Conclusion :

L'eau constitue un élément essentiel pour l'organisme humain et sa consommation journalière par tous implique une surveillance étroite sur le plan organoleptique, que physico-chimique et bactériologique.

Avec le développement de l'urbanisation, les problèmes d'hygiène et de publique liés à la contamination bactérienne de l'eau sont devenus de plus critiques et constitue un problème environnemental croissant.

Dans ce contexte notre étude a été basée sur la recherche des bactéries de genre *Pseudomonas* dans différents prélèvements des eaux des ressources hydriques naturelles de la région de Blida et pour tester la qualités de ces eaux.

L'analyse physicochimique durant la période de fin février et début de mars d'étude révèle une température moyenne de 17,4 à 22,8 °C et de pH de 6,2 à 7,1.

Les résultats des études macroscopique, microscopique, les tests biochimiques et l'antibiogramme des échantillons 52 et 37 indiquent la présence de deux espèces qui sont : *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*.

En effet, les espèces bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* pourraient trouver leurs place dans les applications biotechnologiques grâce à la capacité de production de deux types de pigments pyoverdine et pyocianine qui sont des sidérophores jouent un rôle dans le traitement des eaux polluées par la biodégradation des polluants inorganiques c'est une nouvelle approche de la bioremédiation. À l'avenir, il peut être utilisé les métabolites de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* pour la dépollution des ressources hydriques naturelles.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographies:

Agarry S. E., Durojaiye A. O., Yusuf R. O., Aremu M. O. (2008). *Biodegradation of phenol in refinery wastewater by pure cultures of Pseudomonas aeruginosa NCIB 950 and Pseudomonas fluorescens NCIB 3756*. Int. J. Environment and Pollution. 32(1):3-11.

Ait Belkacem C, Belgrade A N. (2017). Extraction et caractérisation de quelques molécules bioactives à partir des souches de *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus sp.* Spécialité Biotechnologie Microbienne. Université M'hamed Bougara de Boumerdes. p59.

Alain P. (2020). *Le cycle de point uriercrck du Centre école françaises de Casée Kayak*. 5p.

Allaire M. (2005). *Diversité fonctionnelle des Pseudomonas producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu nature*. Microbiologie agricole, université LAVA. 79p.

Anzai Y., Kim H., Park J.Y., Akabayashi H., Oyaizu H. (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. J. Syst. Evol. Microbiol. 50:1563-1589.

Arab L., Oudafal N. (2012). *Evaluation de la qualité Physico-chimique et bactériologique des eaux brutes et traitées du barrage de TAKSEBT de la ville de TIZI OUZOU*. Spécialité Traitement et valorisation des ressources hydriques, université mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU. 74p.

Attoui H., Rafa A. (2018). *L'effet de l'acide salicylique sur la formation de biofilm de Pseudomonas aeruginosa*. Spécialité biotechnologie microbienne, université Akli Mohand Oulhadj – Bouira. 40p.

Ayad W. (2017). *Évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines : cas des puits de la région d'el-harrouch (wilaya de SKIKDA)*. Microbiologie appliquée, université BADJI MOKHTAR-ANNABA. 110p.

Baghdadi ben attia N, Bachkat D. (2019). *Activité antibactérienne des extraits d'Ammi visnaga sur Pseudomonas aeruginosa*. Spécialité Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 61p.

Bared R., Boucheta A., Chaib M., Kacimi S. (2010). *Phenol and Benzoic Acid Degradation by Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Water Resource and Protection. 2 (9) :788-791.

Benaouda A. (2016). *Etude et analyse des propriétés de l'eau potable au sein de l'ADE, université Abdelhamid Ibnbadis Mostaganem*. 54p.

Ben Chabane T., Hamdi S. (2018). *Caractérisation des eaux des sources de la région de Yakourene. Suivi d'une étude comparative avec les eaux minérales (ifri, Toudja, Lalla*

*Khadîdja*). Université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, faculté des sciences, département de chimie. 41p.

Berdja R., Abderrahmane O., Benchabane M., Ammad F. (2018). *analyse de sensibilité d'un modèle de chélation de fer Appliquée à une souche phyto bénéfique de pseudomonas fluorescens* .Revue Agrobiologia .8 :765-774.

Bernet C., Laprugne-Garcia E., Saint Genis L. (2009). *Le risque de contamination a Pseudomonas aeruginosa à l'ouverture d'un et a blessement de sante, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux*– Environnement, CCLIN Sud-Est .p8 .

Botta A. (2004). *Pollution chimique de l'eau et santé humaine*, médecine, université TETHYS. p23.

Bouamer H., Guerbati M. (2008). *Fréquence de l'otite moyenne causée par Pseudomonas aeruginosa dans la région d'Ouargla, spécialité biologie*, université Kasdi Merbah Ouargla. 33p.

Boudjadja A., Messahel M., Pauc H. (2003). *Ressources hydriques en Algérie du Nord*, sciences de l'eau. 16(3):285–304.

Boudouda R .2015.*Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de Pseudomonas aeruginosa*. Spécialité génétique moléculaire, université des Frères Mentouri Constantine. 39p.

Boukerb M. A., Cournoyer B. (2013) .*Pseudomonas aeruginosa, une espèce pathogène à forte fréquence de recombinaisons génétiques abritant des lignées spécialisées et largement disséminées* .Anses Bulletin de veille scientifique n° 20. Santé et Environnement. p20 -24.

Boukhatem L. (2013). *Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen*. Option microbiologie. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. 54 p.

Bricha S., Ounine K., Oulkheir S., EL Haloui N. E., Attarassib. (2009). *Facteurs de virulence et epidemiologie lies au Pseudomonas aeruginosa virulence factors and epidemiology related to Pseudomonas aeruginosa*. Revue Tunisienne d'Infectiologie, 2 : 7 - 14.

Brittan S., Scale S., Robert P., Dickso N., John J., Lipum A ., Gary B., Huffnagl E.(2014). *Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the Pseudomonas fluorescens species complex*, and appreciated colonizer of humans, Cline microbial rev.27 (4):927–948.

Bruce M., Jakosky Y. (1985).*le cycle saisonnier de l'eau à mars*, Laboratoire de physique atmosphérique et spatiale, université du Colorado, Boulder, 70p.

- Chadenmoussa H. (2014). *Evaluation de la qualité de l'eau du bassin supérieur de la rivière du Litani, Liban approche hydrogéochimique, Géosciences*, université de Lorraine .259p.
- CHOCAT B. (2015). *L'eau du robinet est-elle différente de l'eau en bouteille*, université Paris Sud, Élodie Brelot. 14p.
- Cockenpot L. (2014). *Mécanismes de résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa en motilité de type swarming et sa fonction écologique*. Spécialité microbiologie appliquée, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique, Institut Armand-Frappier. p11.
- Colas S., Clemence F., Pecheux M., Agnes V. (2019). *Métaux lourds : cadmium, mercure et plomb*, Focus. Environnement et santé. pp 61 ,113 .
- Diallo M. (2010). *Evolution des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des eaux de puits en fonction du traitement à l'hypochlorite de sodium*. Pharmacie et d'odontostomatologie, université de Bamako Mali. p87.
- Doleans-Jordheim A., Bertrand X., Bittar F., Duval R. (2015). *Fiche espèce Pseudomonas aeruginosa*. Association des Enseignants de Microbiologie et d'Immunologie des facultés de pharmacie. p2.
- Dominguez-Nuñez J A., Muñoz D., Cruz A., Omeñaca J A S. (2013). *Effects of Pseudomonas fluorescens on the Water Parameters of Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal seedlings of pinushal epensis, departamento de silvopasci cultura, agronomy.3: 571-582*.
- Dube J.S. (2010). *Les caractéristiques des contaminants*. p14.
- Essoh C. Y. (2013). *Étude épidémiologique de souches de Pseudomonas aeruginosa responsables 'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique*. Spécialité sciences agricoles, Université Paris Sud - Paris XI, université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire). 237p.
- EvineK, Renberth T., Ohnt J., Asullo F. (2013). *Régional Energy and Water Cycles: Transports from Ocean to Land*. Centre national de recherche atmosphérique. Boulder, Colorado. pp7837-7851.
- Fakih L., anjri A., Brigui J., Cadia E. L. Khaddor M., Salmoune F. (2014). *Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de Tanger (Physico-chemical and bacteriological characterization ground water of Tangier*. Université Abdelmalek Essaâdi Tanger-Tetouan, Mater. Environ. Sci. 5 (S1), pp 2230- 2235.

- Ganeshan G., Manoj Kumar A. (2005) - *Pseudomonas fluorescens, a potential bacterial antagonist to control plant diseases*, Journal of Plant Interactions.1 (3):123-134.
- Goulas A. (2018). *epandages des PRO risques associés à la présence de contaminants organiques et biologiques, Sainte-Croix en plaine*.14p.
- Guérineau H. (2013). *Sources et risques de contamination dans une source d'eau potable*, mémoire en sciences appliquées, université de Montréal, école polytechnique de Montréal, 150p.
- Hart T., Shears P. (1997). *Atlece de poche microbiologie, Médecine-Sciences Flammarion 4. Rue Casimir-Delavigne .75006 PARIS .162p.*
- Hayder A., Obaid R., Saleh A S. (2016). *Isolation and Identification of Pseudomonas aeruginosa from different sources (soil, wound, urine) and Checking its MIC with various Antibiotics* .Directorate-General for Education Anbar, Department of Education Fallujah, 2 Lecturer at Al-anbar University Helix . 4 (5):795-799.
- Hazzab A., (2011). *Eaux minérales naturelles et eaux de sources en Algérie*, geoscience .vol 343 .pp20-31.
- Hedahdia A., Aliouche S. (2016). *contribution à l'étude de l'origine de la contamination, fécale des eaux du barrage Bouhamdane –Guelma, génie de l'environnement*. Université 8 mai 1945 Guelma.43p.
- Hugh R., Guarraia L., Hatt H. (1964). *the proposed neo type strains of Pseudomonas fluorescens (trevisan) migula 1895, international bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy*.14 (4):145 -155.
- Hyd S. (2014). *L'influence de la force ionique sur le dessalement des eaux faiblement saumâtre, Hydraulique* .université Aboubakr Belkaid TLEMCEM ,127p.
- Ineri S. (2014). *Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : cuivre, composés et alliages*.91 p.
- Josianne R. (2017). *Les contaminants chimiques cancérigènes au travail*. FTQ –Colloque en SST Trois-Rivières .vol 964.p107.
- Keehoon L., Sang Sun Y. (2016). *Pseudomonas aeruginosa Biofilm, a Programmed bacterial life for fitness* .J. Microbiol. Biotechnol. 27(6) : 1053–1064.
- Labanowsk J. (2004). *Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation*, école nationale supérieure d'ingénieurs de Limoges, laboratoire des sciences de l'eau et de l'environnement, université de Limoges. p193.

- Lagnika M., Ibikounle J-P., Montcho V., Wotton S. (2014). *Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des puits dans la commune de Pobè, Benin*. J. Appl. Biosci. pp6887, 6897.
- Magin V. (2019). *Exploration du potentiel des bactériophages dans le traitement des surfaces en contact avec l'eau, contaminées par un biofilm de P.aeruginosa*. Spécialité génie des procédés et bioprocédés, l'école nationale supérieure Mines-Telecom Atlantique, Bretagne pays de la Loire - Imt Atlantique comue, universite Bretagne Loire .p187 .
- Makoutode M., Assani A. K., Ouendo E.M., Agueh V. D., Diallo P. (2011). *Qualité et mode de gestion de l'eau de puits en milieu rural au benin : cas de la sous-préfecture de Grand-Popo*. Institut régional de santé publique .Cotonou .pp 529 ,534.
- Maroui I., Aboukacem A., Timinouni M., Belhaj A. (2016). *Virulence profiles of clinical and environmental Pseudomonas aeruginosa isolates from Central Morocco*. frican Journal of microbiology research. 10 (14):473-480.
- Martinez-Garcia P. M., Ruano-Rosa D., Schiliro E., Prieto P., Cayo R., Rodriguez-P P., Mercado-Blanco J.(2015). *Complete genome sequence of Pseudomonas fluorescens strain PICF7, an indigenous rootendophyte from olive (Olea europaea L.) and effective biocontrol agent against Verticillium dahliae*. Journal List Stand Genomic Sci. 10 (10) :1 -7.
- Massey J L. (2015). *Origine et devenir de la matière organique au sein du micro-estuaire temporaire de Fiume Santu (L'Agriate, Haute-Corse)*, spécialité Gestion Intégrée du Littoral et des écosystèmes. Université de Corse, p22.
- Matias M., Salvarredy A. (2008). *Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Valde Milluni (An des Boliviennes) par des déchets miniers Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique*. Université Pauln Sabatier-Toulouse .III. Français.p379.
- Mavrodi D V., Loper J T., Paulsen E I., Thomashow L S. 2009. *Mobile genetic elements in the genome of the beneficial rhizobacterium Pseudomonas fluorescens Pf-5*. BMC microbiology .9 (8):1 -18.
- Meghdas I., Hamze M., Dabboussi F., Baida N., Izard D, 2004. *Taxonomie du genre pseudomonas*. Lebanese Science Journal. 5(1) :115.
- Merah. (2019). *Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau des puits de la région El Hassan (W. Mostaganem)*, mémoire, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem .p51 .

- Merhabi F., Amine H., Halwani J. (2019). *Evaluation de la qualité des eaux de surface de la rivière kadicha*, Journal Scientifique Libanais.20 (1) :10-34.
- Meyer J.M. (1978). *The Fluorescent Pigment of Pseudomonas fluorescens : Biosynthesis, Purification and Physico chemical Properties*. Journal of General Microbiology. 107:pp319-328.
- Mezaache S. (2012). *Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de Pseudomonas isolées de la rhizosphère de la pomme de terre*. Option Microbiologie Université Ferhat ABBAS Sétif.141p.
- Migula W. (1900). *System der Bakterien: Handbuck der Mor-phologie, Entwicklungsgeschichte und System atikder Bakterien*. Verlag von Gustav Fischer.Jena. Allemagne.2: 875–954.
- Moore E.R.B., B.J. Tindall, V.A.P., Martins Dos Santos D.H., Pieper J.L., Ramos N.J. Palleroni. (2006). *Nonmedical: Pseudomonas. Prokaryotes*. 6 : 646-703.
- Morgaint B. (2015). *Identification et caractérisation des Pseudomonas associées à la bactériose de l'abricotier en vallée du Rhône*, spécialité Productions Végétales et Industries Agroalimentaires (PVIA), Université de Picardie Jules Verne .p 30.
- Mrabet N E H.(2015). *Etude phénotypique de la microflore salivaire chez des adultes sains à Indice de Masse Corporelle (IMC) supérieur à 25*.Specialite microbiologie appliquée. Université de Tlemcen. p58.
- Muriel E. R. (1959). *La caractérisation de Pseudomonas fluorescens*. *J. gen. Microbiol.* 21 : 221-265 .
- Ossis E.B., Emanceau L.P., Atour X.L., Ardan Inra G. L. (2000). *La taxonomie de Pseudomonas fluorescens et Pseudomonas putida: currentstatus and need for revision*. *Ruv Agronomie*. EDP Sciences.20 (15) :1-63.
- Otooleg A., Kolter R. (1998). *Initiation of biofilm formation in Pseudomonas fluorescens WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: agenetic analysis*, *Molecular Microbiology*. 28(3): 449-461.
- Ouargui H., Chlaala R. (2019). *Isolement et caractérisation de quelques souches de Pseudomonas spp fluorescents productrices d'antibiotiques de nature phenaziniques*, spécialité microbiologie, université Blida1 .p 40.
- Piemont A., Coatalem A., Hinaut B., Quintela C., Cazaban C., Delporte C., Prevot C., Gorski D., Perrin D., Jong E., Sutton-Sharp E., Toledo E., Judenne E., Fenoglio F., Petitpain P., Gerard F., Vanderghote G., Herve G., Javier P., Jean-Baptiste A., Malige J L., Hoen J-

M., Faccioli J-M., Laurent G., Magalie D., Marjorie G., Naomi S., Olivier B., Pascal T., Pedro F., Declercq P., Pardo P., Roger N., Lochmatter S., Cheret, S., Roncelli, S., Sylvain D., Baig S., Ballard T., Holst T., Lazarova V., Camy V. (2019). *Impuretés organiques*. L'édition digitale du Memento Technique de l'eau pour les professionnels du traitement de l'eau. p14.

Pmontalegre R. (2016). *évaluation du risque d'émergence de résistances de Pseudomonas aeruginosa à différents antibiotiques antityrocyaniques en réanimation*, spécialité biologie médicale, université Toulouse III – Paul SABATIER, p 86.

Rabhi N. (2012). *Isolement de Pseudomonas spp fluorescents d'un sol sa lé. Effet d'osmoprotecteur naturels, option Génie microbiologique*, université Ferhat Abbas Sétif, 111p.

Richard A., Rossigno L.G., Jean-Paul C., Bernot G., Guespin-Michel J., Merieau A. (2012). *Boolean Models of Biosurfactants Production in Pseudomonas fluorescens* .7 : 1-8.

Satapute P., Kaliwal B. (2016). Biodegradation of the fungicide propiconazole by *Pseudomonas aeruginosa* PS-4 strain isolated from a paddy soil, Springer-Verlag Berlin Heidelberg and the University of Milan .Ann Microbiol. DOI 10.1007/s13213-0.9p.

Sefraoui I. (2015). *Etude de la résistance aux antibiotiques de Pseudomonas aeruginosa au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien*, sciences de la terre et de l'univers, université Tlemcen, Algérie. 62p.

Shafeeq M., Kokub D., Khalid Z. M., Khan A. M., Kauser A. M. (1989). *Degradation of different hydrocarbons and production of biosurfactant by Pseudomonas aeruginosa isolated from coastal waters*, MIRCEN Journal .5: 505- 510.

Shim H., Yang S.T. (1999). *Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by a coculture of Pseudomonas putida and Pseudomonas fluorescens immobilized in a fibrous-bed bioreactor*, Journal of Biotechnology .67: 99–112.

Sopheak N. (2016). *Contaminants Organiques en Milieux Aquatiques : Développements analytiques, techniques et applications*, Chimie, Université de Lille 1 - Sciences et Technologies.219p.

Soulsby D. (2012). *Réalisation et réhabilitation de forages Dans les conditions du terrain*, revue technique.998(1):p137.

Stover C. K., Pham X. Q., Erwin A. L., Mizoguchi S. D., Warrenner P., Hickey M. J., Brinkman F. S. L., Hufnagle W. O., Kowalik D. J., Lagrou M., Garber R. L., Goltry L., Tolentino E., Westbrook-Wadman S., Yuan Y., Brody L. L., Coulter S. N., Folger K. R., Kas A., Larbig K., Lim R., Smith K., Spencer D., Won G., Paulsenk I T., Reizer J.,

- Saier M. H., Hancock R. E. W., Lory S., Olson M.V. (2000). *Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PAO1, an opportunistic pathogen*, nature. 406: 959 -964.
- Thangamalathi S., Anuradhav. (2018). *Role of Inorganic Pollutants in Freshwater Ecosystem .A Review*, international journal of advanced research in biological sciences, pp39-49.
- Thibault A., Sourzac M., Anquetil C., Derenne S., Hugu A. E. (2017). *Approches combinées globales et moléculaires pour le suivi des caractéristiques de la matière organique dans le bassin de la Seine*, PIREN-Seine phase VII. pp 3–21.
- Tournus C. (2016). *Validation de l'identification des Pseudomonas spp. Par spectrométrie de masse type MALDI-TOF via la caractérisation d'une collection de souches environnementales et cliniques*. Université de Caen Normandie, 143 p.
- Venier A G. (2011). *Pseudomonas aeruginosa en réanimation : épidémiologie et facteurs de risque d'acquisition*. Spécialité Sciences, technologie, santé. Epidémiologie et santé publique, université Bordeaux .210p.
- Veziham C. (2015). *Présence de métaux dans l'eau de surface du bassin versant de la rivière Bécancour, secteur minier de Theford Mines*. Groupe de concertation des bassins versants de la zone Bécancour (GROBEC). 45p.
- Vijay K., Simranjeet S., Anu M., Pritika N., Sourav S., Parvinder K., Pooja B., Shivika D., Arjun K., Ridhi J., Joginder S., Sitansh S., Niraj U. (2014 ). *Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon by using Pseudomonas Species Isolated from Petroleum Contaminated Soil*. Peer Reviewed Research Journal.30 (4):1771-1776.
- Xiang-RongX., Hua-Bin L., Ji-Dong G. (2005). *Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-butyl phthalate ester by Pseudomonas fluorescens B-1*. International biodeterioration et biodegradation. 55: 9 – 15.
- Yongliang Z., Deli L., Hui X., Yulin Z., Yongze Y., Xiong L., Wenxin L. (2009). *Biodegradation of p-nitrophenol by Pseudomonas aeruginosa HS-D38 and analysis of metabolites with HPLC–ESI/MS*. International Biodeterioration et Biodegradation.63: 1125 - 1129.
- Yoshiteru T. (2000). *Produits chimiques inorganiques, y compris radioactifs matériaux dans les corps à eau*. Université de Kogakuin. Japon. 2 :1-10.
- Yousfi L. (2013). *Etude des microorganismes impliqués dans la méningite*. Spécialité microbiologie. Université Blida 1.49p.
- Zaimache S. (2015). *Contribution à l'étude de l'action d'agents polluants sur des végétaux bio indicateurs, pollution d'écosystèmes*. Université des frères Mentouri Constantine.171p.

# **Annexes**

## **Annexe I :**

### **Citrate de Simmons :**

#### **Composition (grammes/litre)**

Sulfate de Mg.....0,2 g  
Phosphate mono ammoniacal.....1g  
Phosphate bi potassique.....1g  
Citrate de sodium.....2g  
NaCl.....5g  
BBT.....0,08g  
Agar.....15g  
PH=6,8.

## **Annexe II:**

### **Mannitol mobilité**

#### **Composition (grammes/litre)**

Peptone tryptique de viande.....20g  
Mannitol.....2g  
RP 1%.....4mL  
Nitrate K.....1g  
Agar.....4g  
PH = 7,6-7,8

## **Annexe III**

### **Cétrimide**

#### **Composition (grammes/litre)**

Peptone de gélatine .....16g  
Peptone de caséine .....10g  
Bromure de tétradonium (cétrimide).....0, 2g  
Acide nalidixique .....15mg  
Sulfate de potassium.....10g  
Chlorure de magnésium.....1, 4g  
Agar.....10g

PH=7,1.

#### **Annexe IV:**

##### **King A**

###### **Composition (gramme/litre)**

Peptone.....20g  
Glycérol.....10g  
Sulfate de potassium.....10g  
Chlorure de magnésium.....1,4g  
Agar purifiés.....12g

PH=7,2

#### **Annex V:**

##### **King B**

###### **Composition (grammes/litre)**

Peptone .....20g  
Glycérol.....15ml  
Hdrogénophosphate de potassium.....1, 5g  
Sulfate de magnésium heptahydraté ...1 ,5g  
Eau distillé.....1000 ml

Ph=7,2.

#### **Annexe VI**

##### **Viande foie**

###### **Composition (grammes/litre)**

Base viande foie.....30g  
Glucose.....2g  
Agar.....6g

pH=7 ,4

## Annexe VII

**Tableau 1: Résultat des analyses physico-chimiques des 100 échantillons.**

Echantillons	Types de ressources hydriques	Température	pH	Chlore
Echantillon 1	source	21,5°C	7,3	-
Echantillon 2	source	21°C	7,1	-
Echantillon 3	Puit	21,6°C	7,6	-
Echantillon 4	source	21,5°C	7,3	-
Echantillon 5	Puit	18°C	7,3	-
Echantillon 6	Puit	17,7°C	6,9	-
Echantillon 7	Puit	17,7°C	7	-
Echantillon 8	Puit	17,6°C	7	-
Echantillon9	source	18,8°C	7,6	-
Echantillon10	source	22°C	7	-
Echantillon11	source	22,5°C	7	-
Echantillon12	source	22,2°C	6,9	-
Echantillon13	source	18,3°C	6,2	-
Echantillon14	Puit	18,1°C	6,4	-
Echantillon15	source	18,7°C	7,1	-
Echantillon16	source	17,4°C	6,5	-
Echantillon17	Puit	20,1°C	6,5	-
Echantillon18	source	19,3°C	6,6	-
Echantillon19	Puit	20,4°C	6,5	-
Echantillon20	source	20,4°C	6,5	-
Echantillon21	Puit	19,3°C	6,9	-
Echantillon22	forage	21,3°C	6,4	-
Echantillon23	forage	21,4°C	6,7	-
Echantillon24	forage	21,3°C	6,7	-
Echantillon25	Puit	21,5°C	6,7	-
Echantillon26	source	20,3°C	7,4	-
Echantillon27	source	22,8°C	7,2	-
Echantillon28	source	22,8°C	7,6	-
Echantillon29	Puit	20,2°C	6,7	-

Echantillon30	source	18,9°C	7,31	-
Echantillon31	Puit	20,4°C	7	-
Echantillon32	source	20,1°C	6,83	-
Echantillon33	source	21,5°C	6,99	-
Echantillon34	source	21,7°C	6,86	-
Echantillon35	forage	21°C	7,17	-
Echantillon36	forage	21,2°C	6,99	-
Echantillon37	rivière	20,3°C	7,67	-
Echantillon38	rivière	20,1°C	7,2	-
Echantillon39	rivière	19,7°C	7,61	-
Echantillon40	source	20,2°C	6,73	-
Echantillon41	Puit	20,4°C	6,96	-
Echantillon42	Puit	20,6°C	6,35	-
Echantillon43	forage	22,2°C	7,05	-
Echantillon44	forage	22,9°C	6,9	-
Echantillon45	source	20,2°C	7,06	-
Echantillon46	forage	19,8°C	7	-
Echantillon47	forage	19,9°C	7,1	-
Echantillon48	Puit	19,3°C	7,4	-
Echantillon49	Puit	19,2°C	7,1	-
Echantillon50	Puit	19,2°C	7,06	-
Echantillon51	Puit	19,3°C	7,1	-
Echantillon52	Puit	19,4°C	7,2	-
Echantillon53	Puit	19,1°C	7,07	-
Echantillon54	Puit	19,5°C	7,08	-
Echantillon55	Puit	19,1°C	7,01	-
Echantillon56	Puit	19,6°C	7,04	-
Echantillon57	forage	20,2°C	7,2	-
Echantillon58	forage	20,3°C	7,1	-
Echantillon59	source	19,9°C	7,04	-
Echantillon60	Puit	20,1°C	7,07	-
Echantillon61	Puit	20,3°C	7,1	-
Echantillon62	Puit	20,4°C	7,3	-
Echantillon63	forage	21°C	6,8	-

Echantillon64	forage	20°C	7,4	-
Echantillon65	Puit	19°C	7	-
Echantillon66	Puit	21°C	7,2	-
Echantillon67	Puit	19,3°C	6,9	-
Echantillon68	rivière	20,1°C	7,11	-
Echantillon69	Puit	20°C	7,01	-
Echantillon70	Puit	20,5°C	7,06	-
Echantillon71	forage	21,6°C	7,6	-
Echantillon72	forage	20,1°C	7,2	-
Echantillon73	forage	20,3°C	7,3	-
Echantillon74	forage	20,2°C	7,02	-
Echantillon75	forage	20,1°C	7,1	-
Echantillon76	source	21,2°C	7,2	-
Echantillon77	source	21,5°C	7,1	-
Echantillon78	forage	21,3°C	7,3	-
Echantillon79	forage	21,6°C	7,1	-
Echantillon80	forage	21,1°C	7,09	-
Echantillon81	source	21,3°C	7,4	-
Echantillon82	source	21,5°C	7,4	-
Echantillon83	source	20,1°C	7,01	-
Echantillon84	source	20,2°C	7,2	-
Echantillon85	source	20,3°C	7,2	-
Echantillon86	source	20,1°C	7,1	-
Echantillon87	rivière	20,5°C	7,3	-
Echantillon88	rivière	20,1°C	7,06	-
Echantillon89	source	20,2°C	7,11	-
Echantillon91	source	21,3°C	7,3	-
Echantillon92	source	20,4°C	7,08	-
Echantillon93	Puit	19,6°C	7,11	-
Echantillon94	Puit	19,4°C	7,21	-
Echantillon95	source	19,8°C	7,09	-
Echantillon96	source	21,1°C	7,13	-
Echantillon97	rivière	19,3°C	7,18	-
Echantillon98	source	19,2°C	7,3	-

Echantillon99	rivière	21,1°C	7,1	-
Echantillon100	forage	19,2°C	7	-

**(-): Negative.**

**(+): positive.**

### **Annexe VIII:**

**Tableau 2 : les résultats d'ensemencement des 100 échantillons sur le milieu cétrimide.**

Echantillons	Types de ressources hydriques	<i>Pseudomonas spp</i>
Echantillon 1	Source	-
Echantillon 2	Source	+
Echantillon 3	Puit	+
Echantillon 4	Source	+
Echantillon 5	Puit	+
Echantillon 6	Puit	+
Echantillon 7	Puit	+
Echantillon 8	Puit	-
Echantillon9	Source	-
Echantillon10	Source	-
Echantillon11	Source	-
Echantillon12	Source	-
Echantillon13	Source	-
Echantillon14	Puit	+
Echantillon15	Source	-
Echantillon16	Source	-
Echantillon17	Puit	-
Echantillon18	Source	-
Echantillon19	Puit	-
Echantillon20	Source	-
Echantillon21	Puit	-
Echantillon22	Forage	-
Echantillon23	Forage	-

Echantillon24	Forage	-
Echantillon25	Puit	-
Echantillon26	Source	-
Echantillon27	Source	-
Echantillon28	Source	-
Echantillon29	Puit	-
Echantillon30	Source	+
Echantillon31	Puit	-
Echantillon32	Source	+
Echantillon33	Source	+
Echantillon34	Source	+
Echantillon35	Forage	+
Echantillon36	Forage	+
Echantillon37	Rivière	+
Echantillon38	Rivière	+
Echantillon39	Rivière	+
Echantillon40	Source	-
Echantillon41	Puit	-
Echantillon42	Puit	-
Echantillon43	Forage	-
Echantillon44	Forage	-
Echantillon45	Source	-
Echantillon46	Forage	-
Echantillon47	Forage	-
Echantillon48	Puit	-
Echantillon49	Puit	+
Echantillon50	Puit	-
Echantillon51	Puit	-
Echantillon52	Puit	+
Echantillon53	Puit	-
Echantillon54	Puit	-
Echantillon55	Puit	-
Echantillon56	Puit	-
Echantillon57	Forage	-

Echantillon58	Forage	-
Echantillon59	Source	-
Echantillon60	Puit	-
Echantillon61	Puit	-
Echantillon62	Puit	-
Echantillon63	Forage	-
Echantillon64	Forage	-
Echantillon65	Puit	-
Echantillon66	Puit	-
Echantillon67	Puit	+
Echantillon68	Rivière	+
Echantillon69	Puit	-
Echantillon70	Puit	+
Echantillon71	Forage	+
Echantillon72	Forage	+
Echantillon73	Forage	+
Echantillon74	Forage	+
Echantillon75	Forage	+
Echantillon76	Source	-
Echantillon77	Source	-
Echantillon78	Forage	-
Echantillon79	Forage	-
Echantillon80	Forage	-
Echantillon81	Source	-
Echantillon82	Source	-
Echantillon83	Source	-
Echantillon84	Source	-
Echantillon85	Source	-
Echantillon86	Source	-
Echantillon87	Rivière	-
Echantillon88	Rivière	-
Echantillon89	Source	-
Echantillon90	Source	-
Echantillon91	Source	-

Echantillon92	Source	+
Echantillon93	Puit	-
Echantillon94	Puit	-
Echantillon95	Source	-
Echantillon96	Source	-
Echantillon97	Rivière	+
Echantillon98	Source	-
Echantillon99	Rivière	-
Echantillon100	Forage	-

**(-): negative.**

**(+): positive.**

### **Annexe IX:**

**Tableau3 : les résultats de l'antibiogramme de l'échantillon 37et l'échantillon52.**

R : résistance.

antibiotiques	AM C30	CZ 30	VA 30	CN 30	TE3 0	COT 25	CTX3 0	CTR 30	CX 30	CAZ 30	E 15	AM X25	O X 1
Echantillon 52	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R
Echantillon 37	S	I	S	I	I	S	S	I	S	S	S	S	S

S : sensible.

I : intermédiaire.