

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*  
*Université MOULOUD MAMMARI de TIZI-OUZOU*  
*Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques*  
*Département de Biochimie et de Microbiologie*



# Mémoire

De fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master  
En sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie

## Thème

**Evaluation de l'impact bactériologique des rejets de la  
STEP Est Tizi-Ouzou sur l'ensemble hydraulique récepteur  
(Oued, Nappe, Forage et réseaux de distribution)**

Présenté par :

M<sup>lle</sup> Khichane SARA

M<sup>lle</sup> Khouas DYHIA

Devant le jury :

M<sup>me</sup> Benahmed Djilali A.  
M<sup>f</sup> Metahri M.S.  
M<sup>me</sup> Bouzid M.  
M<sup>f</sup> Moualek I.  
M<sup>me</sup> Aissaoui D.

Maître de conférences A  
Maître de conférences A  
Doctorante  
Maître de conférences B  
Doctorante

UMMTO  
UMMTO  
UMMTO  
UMMTO  
UMMTO

Présidente  
Promoteur  
Co-promotrice  
Examinateur  
Examinatrice

Promotion : 2018/2019

## **Remerciement**

*Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné la force et la foi afin de réaliser ce Travail.*

*Nous tenons à remercier Monsieur METAHRI Mohammed Saïd, notre promoteur, qui nous a proposé ce travail et accepté de nous encadrer. Son avis et ses remarques, ses critiques et ses qualités humaines apportées tout au long de ce travail nous ont été précieuses.*

*Nous exprimons nos respectueux remerciements à Madame Bouzid Malika notre Co-promotrice.*

*Nous adressons notre profonde reconnaissance à Madame Ben Ahmed Djilali. A pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury*

*Nous exprimons aussi nos reconnaissances aux membres du jury Monsieur Moualek Idir pour l'honneur qu'ils nous a fait de juger ce mémoire*

*Nos remerciements vont à Madame mazi damia pour son aide*

*Nous tenons à remercier vivement nos parents, nos frères et sœurs pour leur amour qui est le meilleur des encouragements.*

*Et nous tenons à remercier également monsieur Chaffai qui nous a beaucoup aidé tout au long de notre parcours*

*Enfin, nous réservons un vif remerciement à tous nos amis et spécialement Chetouani Younès et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*A mes précieux Parents*

*Auxquels je dois ce que je suis, que dieu les protège et leurs  
donne la santé et une longue vie*

*A ma sœur Katia*

*Qui ma soutenue tout au long de ce travail par ces précieux  
encouragements*

*A ma grand-mère Yasmine*

*Que dieu la protège*

*A la mémoire de ma grand-mère Dahbia*

*Que Dieu la garde dans son vaste paradis*

*A toutes ma famille, mes amis et à tous ceux qui ont  
contribuée de*

*Près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Sara*

## *Dédicace*

*A mes précieux Parents*

*Auxquels je dois ce que je suis, que dieu les protège et leurs  
donne la santé et une longue vie*

*A mes petits frères et sœurs*

*A qui je souhaite beaucoup de réussite dans leurs parcours  
scolaire*

*A mes grands-parents paternels*

*Que dieu les protègent*

*A la mémoire de mes grands-parents maternelle*

*Que dieu les gardent dans son vaste paradis*

*A toutes ma famille, mes amis et à tous ceux qui ont  
contribuée de*

*Près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Dyhía*

## Sommaire

### Introduction générale

1. Définition de l'Eau.....	3
2. Définition de l'Eau potable .....	3
3. Définition des Eaux superficielle .....	3
4. Définition des Eaux souterraine .....	3
5. Pollution de l'eau .....	4
6. Resistance bactérienne .....	4
7. Maladies à transmission hydrique .....	4
8. Qualité Microbiologique .....	5
8.1 Les bactéries revivifiables à 22°C et à 37 °C .....	5
8.2 Coliformes totaux .....	5
8.3 Coliformes fécaux .....	6
8.4 Les entérocoques intestinaux .....	6
8.5 Salmonella.....	6
8.6 vibron .....	6
8.7 clostridium .....	6
9. Les normes selon l'OMS .....	7

### Matériels et méthodes

1. Objectif d'études .....	8
2. Zone d'étude .....	9
3. Méthode .....	10
4. Analyse bactériologique .....	11
4.1 Dénombrement des microorganismes revivifiables .....	11
4.2 Isolement des coliformes .....	12
4.3 Recherche des entérocoques intestinaux .....	13
4.4 Isolement des spores des bactéries anaérobies sulfito-reductrices et de clostridium sulfito-reducteurs .....	13
4.5 Recherche des salmonelles .....	14
4.6 Isolement du vibron cholérique .....	15
5. Identification des bactéries .....	15
5.1 Etude macroscopique.....	15
5.2 Etude microscopique .....	16

5.3 Etude biochimique .....	16
5.3.1 Test catalase.....	16
5.3.2 Test de la voie d'attaque des glucides (MEVAG) .....	17
5.3.3. Test de Mannitol-mobilité.....	17
5.3.4 Dégradation des sucres milieu Triple Sugar Iron (TSI) .....	18
5.3.5. Test d'orthoNitroPhenylgalactopyranoside (ONPG) ...	18
5.3.6. Recherche des décarboxylases LDC et ODC et la dihydrolase ADH .....	19
5.3.7. Recherche de l'indole.....	20
6. Réalisation de l'antibiogramme.....	20

### **Résultats et discussion**

1. Etude macroscopique.....	23
2. Etude microscopique .....	24
3. Résultats des analyses bactériologiques .....	24
3.1. Dénombrement de la flore mésophiles totale FMAT .....	24
3.2. Dénombrement des Coliformes, Streptocoque et Clostridium .....	26
4. Résultats de l'identification .....	27
5. Identification bactérienne .....	27
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>35</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexe**

### Liste des abréviations

**ADH** : l'Arginine Dihydrolase

**ASR** : Anaérobies sulfito-réducteurs

**BEA** : Bile Esculine Azide

**BHI** : Brain Heart Infusion

**CA-SFM** : Comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**E.coli** : Escherichia coli

**FMAT** : Flore mésophile aérobie totale

**GNAB** : Gélose nutritive alcaline biliée

**LDC** : Lysine Décarboxylase

**MES** : Matière En Suspension

**MEVAG** : Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides

**ODC** : l'Ornithine Décarboxylase

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ONPG**: OrthoNitroPhényl Galactopyranoside

**STEP** : Station d'Épuration

**TDA** : Tryptophane Désaminase

**TGEA** : Glucose Tryptone Extrait Agar

**TSI** : Milieu Triple Sugar Iron

**TTC** : Triphenyl Tetrazolium Chloride

**UFC** : Unité Formant Colonies

Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les bactéries pathogènes responsables de maladies d'origine hydrique .....	5
<b>Tableau 02</b> : représentant les normes selon l'OMS .....	8
<b>Tableau 03</b> : Liste des forages de BOUKHALFA et leurs capacités.....	10
<b>Tableau 04</b> : Les caractères macroscopiques des souches isolées .....	26
<b>Tableau 05</b> : Les caractères microscopiques des souches isolées.....	32
<b>Tableau 06</b> : Résultats du dénombrement de la flore mésophile .....	33
<b>Tableau 07</b> : Résultats du dénombrement des coliformes totaux, coliformes fécaux et des streptocoques fécaux .....	35
<b>Tableau 08</b> : Les résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir des eaux analysée Oued, Forage et réseaux de distribution des deux périodes.....	37
<b>Tableau 09</b> : Résultats de l'identification des bactéries durant la période d'étude.....	41
<b>Tableau 10</b> : représentatif des diamètres d'inhibition (mm) des souches isolées .....	43
<b>Tableau 11</b> : représentatif des diamètres d'inhibition (mm) des souches isolées en période Mai/Juin.....	44
<b>Tableau 12</b> : Détermination des profils de sensibilité des antibiotiques des bactéries isolées selon les normes du comité français de l'antibiogramme de la période Mars/Avril .....	45
<b>Tableau 13</b> : Détermination des profils de sensibilité des antibiotiques des bactéries isolées selon les normes du comité français de l'antibiogramme de la période Mai/Juin.....	46

# **Introduction générale**

### Introduction générale

L'eau est une ressource vitale pour l'homme, sa survie, sa santé, son alimentation et la qualité de son environnement en dépend étroitement. Cependant, elle est le réceptacle universel de tout type de pollution (**Ecosse, 2001 ; Metahri, 2016**)

Ces dernières années la qualité de l'eau s'est détériorée par les rejets anarchiques et non contrôlés, intensifiés par l'accroissement de l'activité humaine ; ce qui a conduit à la mise en place des traitements de plus en plus puissants, dans un but de potabilisation en premier temps et secundo, facilité son épuration après usage afin de garantir les objectifs de qualité des milieux récepteurs (**Rouabhia et al, 2004**). En effet, l'autoépuration naturelle peut s'avérer lente et/ou dépassée, ce qui conduit à un déséquilibre écologique (**Ghadbane, 2003 ; Oluduro et Aderiye, 2007**).

En l'absence de traitements tertiaires des effluents secondaires au niveau des stations d'épuration(STEP), cas de notre étude sur la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou. Des préjudices sanitaires peuvent être engendrés sur les ressources superficielles et souterraines avales, qui peuvent être étroitement liées cas aussi de l'Oued et de la nappe du Sébaou (**Metahri, 2012**)

Dans ces conditions, les eaux de consommation pourront être touchées par cette pollution en cas de communication hydraulique direct entre les différents compartiments, cette contamination sera plus prononcée dans le cas où, le filtre naturel protecteur des réserves souterraines est fragilisé par les extractions illicites des sables et des agrégats (**Elsevier, 2018**)

L'eau potable doit répondre à une certaine qualité édictée au niveau national et international, des examens physicochimiques et microbiologique permettent de fournir des informations quant à la potabilité de l'eau, c'est à dire sans risque d'ingestion d'éléments toxiques ou pathogènes, provenant généralement d'une contamination industrielle ou par, des matières fécales humaines ou d'autres animaux à sang chaud (**Brouillet et Quellet, 2013**)

Les micro-organismes spécifiques présents dans les eaux naturelles sont pour la plupart inoffensifs pour la santé humaine. Mais certains qui sont issus de la contamination par les eaux usées peuvent être préjudiciable pour la santé publique (**Brésil, 2013**)

L'eau ne doit contenir alors, ni parasite, ni virus, ni bactérie pathogène. La qualité biologique et particulièrement bactérienne est évaluée lors des contrôles de routines réglementaires pour la recherche de bactéries, principalement des germes témoins de contamination fécale comme les coliformes fécaux (coliformes thermo tolérants) et *Escherichia coli*, sont utilisés pour

évaluer le niveau de contamination bactérienne des eaux (**Brouillet, 2008 ; Quellet ,2013 et Debabza, 2005**)

Par ailleurs, de nombreuses bactéries pathogènes accumulent les contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus et développent des résistances aux antibiotiques, particulièrement en présence d'effluents d'activité sanitaire dans les collecteurs d'eau usée urbaine, cas aussi des réseaux d'assainissement de Tizi-Ouzou.

Dans cette optique, notre travail s'est basé sur l'étude de l'impact du recyclage court des rejets de STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou sur la qualité bactériologique des eaux de consommation issus des forages de Boukhalfa et sur les essais de la bio-résistance aux antibiotiques des espèces qui seront identifiées.

# **Partie bibliographique**

## Partie bibliographique

### 1. Définition de l'Eau

L'eau est un élément essentiel pour le développement de la vie. Le corps d'un être humain adulte est composé de 60% d'eau et une consommation minimale de 1,5 litre d'eau par jour lui est nécessaire (**Nathalie Gadin-Goyon, 2002**). En raison de son caractère vital, l'eau doit être mise à la disposition des populations sous forme potable et donc de bonne qualité sanitaire (**Chérif Ibrahima Khalil Diop, 2006**).

### 2. Définition de l'Eau potable

Une eau potable se définit comme étant une eau exempte de germes pathogène qui provoquent des maladies à transmission hydrique, de substances toxiques, ne contenant pas de quantités excessives de matières minérales et organiques. Elle doit par ailleurs, être incolore et ne doit pas présenter aucun goût ou odeur désagréables. Les qualités requises sont d'ordre physique, chimique et bactériologique (**Anie Bras, 2005**).

### 3. Définition des Eaux superficielles

Les eaux de surface sont constituées par les eaux des rivières, des fleuves, des étangs, des lacs, des barrages, des réservoirs, des glaciers. Il s'agit d'une masse d'eau bien individualisée, solide ou liquide, immobile ou en mouvement (**E. Vierling, 2003 ; OUAHCHIA C et Al, 2015**) 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 (**F. Boucenna, 2009**).

### 4. Définition des Eaux souterraine

Les eaux souterraines sont toutes les eaux se trouvant sous la surface du sol, dans la zone de saturation et en contact direct avec le sol ou le sous-sol et se caractérise par une turbidité faible ou leurs eaux bénéficient de filtration naturelle importante. Comme elle se caractérise par une contamination bactérienne faible, car elle est habituellement à l'abri des sources de pollution.

Par conséquent la dureté est souvent élevé, et les eaux souterraines peuvent être en contacte avec des formations rocheuses contenant des métaux bivalents comme le calcium ou magnésium. En plus, dans les eaux souterraines, le fer et le magnésium présentent une concentration élevée (**DEGREMONT, 2005**).

### 5. Pollution de l'eau

La pollution ou la contamination de l'eau peut être ainsi définie comme la dégradation de celle-ci en modifiant ses propriétés physique, chimique et biologique; par des déversements,

rejets, dépôts directs ou indirects de corps étrangers ou de matières indésirables telles que les microorganismes, les produits toxiques, les déchets industriels (Mohamed B, 2014).

### 6. Résistance bactérienne

On peut définir la résistance bactérienne aux antibiotiques comme la capacité des microorganismes d'une certaine espèce à survivre ou même à se développer en présence d'antibiotiques.

De nombreuses bactéries pathogènes accumulent les contaminants à de très fortes concentrations dans leurs Tissus et développent des résistances aux antibiotiques. Les conséquences de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont considérables : augmentation de la morbidité et dans certains cas, de la mortalité, augmentation des coûts du système de santé. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration après 72 heures de traitement (Le Médecin du Québec, 2002).

### 7. Maladies à transmission hydrique

Les bactéries pathogènes pour l'homme sont à l'origine de multiples maladies infectieuses globalement responsables d'un tiers des décès dans le monde. Au cours des années, l'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles Gram négatif, particulièrement les entérobactéries représentent un problème majeur de santé publique au niveau mondial (Bagattini et al, 2004; Carbonell et al, 2000; Chiang et al, 2013; da Silva et al, 2015; de Vries et al, 2006; Gupta et al, 2014).

Les maladies d'origine hydrique englobent le choléra, la typhoïde, le shigellose, la polio, la méningite et l'hépatite A et B. Les êtres humains et les animaux peuvent être les hôtes des bactéries, des virus et des protozoaires qui causent ces maladies.

Les maladies diarrhéiques, qui sont les principales maladies d'origine hydrique, sont prévalentes dans de nombreux pays où l'épuration des eaux usées est insuffisante (Abdessamad Dris, 2005).

Généralement transmises à l'Homme par voie digestive liée à la consommation d'eau ou d'aliments contaminés (M. SAVADOGO ; Y. BOUBKEIR, 2016).

**Tableau 01** : Les bactéries pathogènes responsables de maladies d'origine hydrique (rejsek 2002)

<b>Bactéries</b>	<b>Pathologie</b>
<b>Salmonella</b>	Fièvre typhoïde et diarrhée
<b>Shigella</b>	Diarrhée.
<b>Campylobacter</b>	Diarrhée (cause première des intoxications alimentaire)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Diarrhée.
<i>Escherichia coli</i>	Diarrhée risque de complications (urémie hémolytique) chez les enfants
<i>Legionella pneumophila</i>	Pneumonie et autres infection respiratoire
<b>Vibrien</b>	Cholera, gastro-entérite, infection cutanée

## **8. Qualité Microbiologique de l'eau**

Parmi les caractères d'une eau potable, on y trouve les caractères biologiques ou bien bactériologiques (**DEGREMONT, 2005**) Les microorganismes recherchés dans l'eau de consommation sont les suivant :

### **8.1. Les bactéries revivifiables à 22°C et à 37 °C**

Les bactéries revivifiables sont des bactéries aérobies, c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'oxygène pour se développer, telles que les moisissures et les levures.

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits « revivifiables » permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.

La méthode de référence pour l'analyse consiste en un dénombrement du nombre de germes pour 1ml d'eau :

- Germes totaux à 22°C = comptage des colonies obtenues après incubation à 22°C durant 68H ;
- Germes fécaux à 37°C = comptage des colonies obtenues après incubation à 37°C durant 44H.

### **8.2. Coliformes totaux**

Sous le terme « coliformes » se regroupe un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des Enterobacteriaceae. Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des

températures de 35 à 37°C. Les coliformes comprennent les genres : *Esherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia* (**Debabza M, 2005**).

### 8.3. Coliformes fécaux

Ce sont des coliformes qui présentent les mêmes propriétés et caractéristiques des coliformes totaux après incubation à la température de 44°C.

### 8.4. Les entérocoques intestinaux

Ils sont des grams positifs, commensaux du tube digestif (**Bougattoucha et Boudelaa, 2010**) Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field. Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, gram positifs. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, se développent le mieux à 37°C et ils possèdent le caractère homo fermentaire avec production de l'acide lactique sans gaz Ils sont anaérobies facultatifs (**Mohamed S et Malik Ait Kaci, 2008**).

### 8.5. Salmonella

C'est une entérobactérie responsable de gastro-entérite, toxi-infection alimentaire et des fièvres typhoïde et paratyphoïde (*S.typhi* et *S.paratyphie*).

La transmission de ces deux derniers se fait surtout par l'eau potable lors des épidémies étendues. Mais le contact direct ou les aliments peuvent également être en cause dans la propagation. Le contrôle bactériologique strict des eaux de consommation ainsi que la surveillance du réservoir de germes expliquent la diminution spectaculaire des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dans les pays a hygiène développée (**brands et al, 2005**).

### 8.6. Vibrion

Ce sont des petits bacilles, de formes fréquemment incurvées dites 'en virgule', l'espèce la plus connue du vibrion est *vibrion cholérae* : agent responsable du cholera.

La transmission se fait par voie orale à partir du milieu extérieure (eaux ou aliments) souillé par les selles, le vibrion cholérique à une extraordinaire capacité de multiplication.

### 8.7. Clostridium

Ce sont des bactéries très répandues dans la nature, elles se trouvent dans les intestins des animaux, elles peuvent provoquer des maladies mortelles. La plupart des espèces de clostridium sont des bactéries telluriques, mais sont également isolées dans l'intestin et les selles de l'homme et de divers animaux. Ainsi la présence de clostridium dans les eaux ou les aliments par exemple signe en général, une contamination fécale (**Leyral, 2007**).

## 9. Les normes selon l'OMS

Des normes sont imposées pour une eau de bonne qualité. Selon l'OMS, les normes pour une eau potable sont d'assez large gamme, afin de s'adapter aux nombreux pays sous développés, qui ont une eau de très mauvaise qualité et qui n'ont pas de moyens

technologiques afin de suivre les traitements conformes et nécessaires pour rendre une eau potable.

Dans le tableau suivant, des normes d'eau potable selon l'OMS sont données :

**Tableau 02:** représentant les normes selon l'OMS.

<b>Bactéries</b>	<b>Normes</b>
GR à 37°C	20/ml
GR à 22°C	100/ml
Coliforme totaux	<10/100ml
Coliforme fécaux	0/100ml
Streptocoque	0/100ml
Salmonella	0
Clostridium	0/20ml

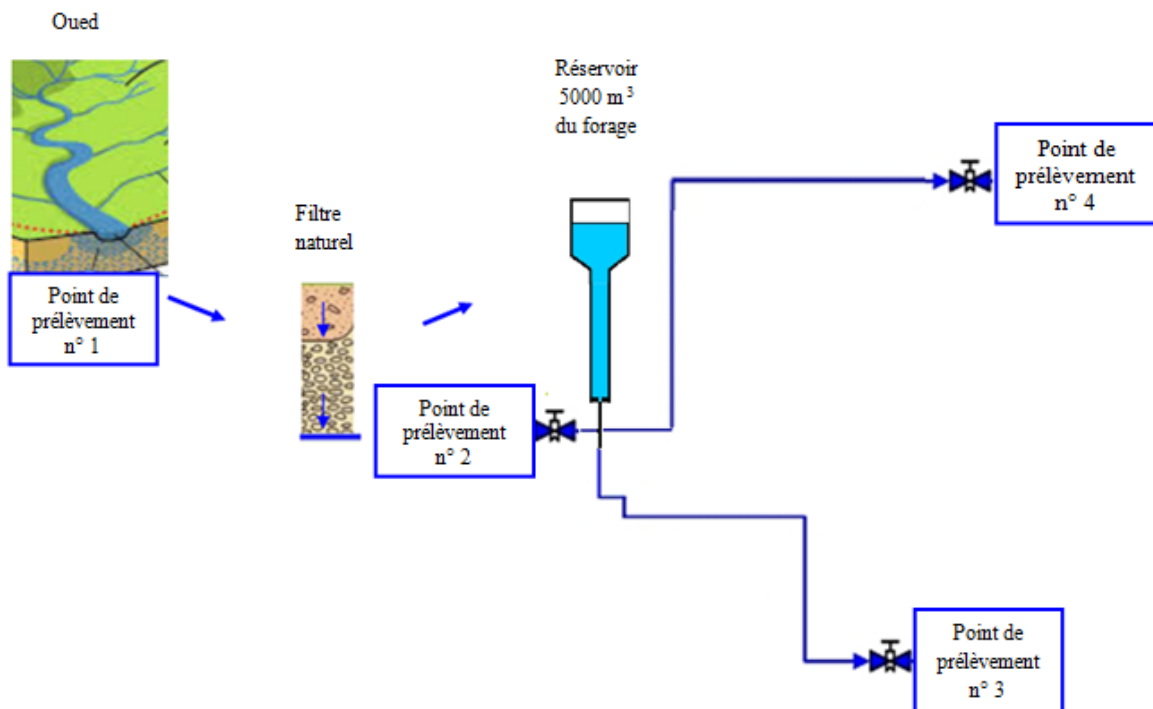
**Matériels**  
**et**  
**méthodes**

## Matériels et méthodes

### 1. Objectif d'étude

Afin d'évaluer l'impact bactériologique des rejets de la STEP Est de Tizi-Ouzou sur l'ensemble hydraulique récepteurs, nous avons procédé à des analyses microbiologiques au sein du laboratoire de traitement des eaux de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques ; département des sciences agronomiques. Notre étude s'est déroulée sur une période allant du 10 mars jusqu'au 30 juin, plusieurs prélèvements ponctuels, à raison d'une fois par quinzaine et au même moment de la journée, entre 9 h et 11h du matin, ont été effectués au niveau de :

1. Oued Sebaou ;
2. Forages ;
3. Réseau de distribution 1 vers le côté bas de la ville de Boukhalfa ;
4. Réseau de distribution 2 vers le côté haut de la ville de Boukhalfa.



**Figure 01** : représentatif des différents points de prélèvements

Cette eau est conditionnée dans des flacons en verre stériles, puis emportée dans une glacière à 4°C et transportée au laboratoire, afin d'effectuer les analyses bactériologiques.

## 2. Zone d'étude

Le site des forages est localisé dans la wilaya, daïra et commune de Tizi-Ouzou au niveau de l'Oued Sébaou ; situé à environ 05 km du chef lieu de wilaya et se trouve au nord-ouest de la ville de Tizi-Ouzou. Un vaste bassin versant de 2900 Km<sup>2</sup>avec un exutoire principal représenté par l'Oued Sébaou, s'écoulent du sud Est vers le Nord Ouest sur une distance de 88 Km (mesurée avec Google Earth), L'apport annuel moyen enregistré est de l'ordre de 750 million de mètre cubes. Le réservoir d'arrivée d'eau brute d'une capacité de 5000 m<sup>3</sup> permet l'alimentation en eau potable des habitants des communes frontalières, entre autres Boukhalfa, ThalaAllam ; Sidi Naaman et Mdouha et ce après une simple désinfection. Le dit réservoir est alimenté par la station de Boukhalfa qui est composée de dix forages dont un n'est pas en fonction pour cause de manque de ressource, les forages se présentent comme suit voir tableau 03 et figure 01.

**Tableau 03:** Liste des forages de BOUKHALFA et leurs capacités (ADE, 2014)

FORAGE	CAPACITE (m <sup>3</sup> /h)	ALTITUDE (m)
BK1	100	109.9
BK2	25	109.9
BK3	35	109.9
BK4	100	109.9
BK5	100	109.9
BK6	70	109.9
BK7	57	109.9
BK8	55	109.9
BK9	100	109.9
BK10	0	109.9



**Figure 01:** Image satellitaire Google Earth de la zone d'étude prise le 25/06/2019

A: OUED

B: FORAGE

C: R1

D: R2

### 3. Méthodes

Après prélèvement et transports des échantillons on procède à l'analyse bactériologique qui doit être faite dans les 24h suivant l'échantillonnage.

Les analyses bactériologiques ont été effectuées selon les étapes suivantes :

- Isolement et dénombrement des germes des bactéries à partir des échantillons
- Identification et l'anti-bio résistance des bactéries

L'analyse bactériologique consiste à la recherche, dénombrement et isolement des germes suivants :

- Les mésophiles aérobies totaux à 22°C et à 37°C **ISO 6222**
- Les coliformes totaux **ISO 9308-2** et fécaux **ISO 9308-1**
- Streptocoques fécaux **ISO 7899-2**

- Les germes anaérobies sulfito-réductrices (clostridium) **ISO 6461-2**
- Salmonelles **ISO 6340**
- Vibriion cholériques **ISO 21872-1**

### 4. Analyse bactériologique

#### Principe de la méthode par filtration

Les bactéries présentes dans l'échantillon à analyser sont retenues sur un filtre dont les pores sont inférieurs à la taille des bactéries (pore de 0,45 µm de diamètre). Le filtre qui a retenu les bactéries contenues dans l'eau, est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié où les bactéries puisent les éléments nécessaires à sa croissance et se développent. Après incubation, les UFC (unités formants colonies) sont comptées pour évaluer la qualité microbiologique de l'eau. Selon le milieu de culture où est déposé le filtre, on met en évidence la présence de différents types de microorganismes

#### 4.1. Dénombrement des microorganismes revivifiables

##### Le principe de la technique

Il s'agit d'une technique de numération de manière non spécifique du plus grand nombre de microorganismes après incorporation de volumes d'échantillon ou de ses dilutions dans un milieu gélosé

##### Préparation de l'échantillon

- Agiter soigneusement et de façon prolongée le flacon d'échantillon, de manière à remettre les microorganismes en suspension homogène.
- Prélever ensuite, stérilement, 1ml de l'échantillon et procéder aux dilutions adaptées à celui-ci.

##### Ensemencement

- Placer un volume de prise d'essai de 1 ml de ses dilutions, de manière stérile, dans le fond d'une boîte de pétri.
- Utiliser une pipette stérile de 1ml, en débutant par la dilution la plus forte jusqu'à la plus faible.
- Ajouter 15 à 20ml de gélose fondue de TGEA (maintenue en surfusion à 45°C) et mélanger avec précaution par rotation de la boîte de pétrie, sans faire de bulles et sans mouiller les bords extérieurs, afin de répartir les bactéries de manière homogène sur la surface de la boîte. Le temps entre l'addition de la prise d'essai (ou dilution) et l'addition du milieu fondu ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Laisser le milieu solidifier sur une surface plane, horizontale et fraîche.
- Retourner les boîtes et incuber une série à 37°C pendant 24 h et l'autre série à 22°C pendant 24 h.
- Dénombrer les colonies apparente à l'aide du compteur de colonies.

- Puis calculer le nombre d'unités formant colonies (UFC) par millilitre d'échantillon à partir du nombre de colonies apparues sur le milieu de culture et en respectant le mode de calcul donné par la norme, selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \text{Colonies}}{V_{ml} (n_1 + 0.1n_2) \cdot d_1}$$

- N : nombre d'UFC par gramme de produit initial ;
- $\sum$ Colonies : sommes des colonies des boites interprétable ;
- $V_{ml}$  : volume d'inoculum déposé par boite (1ml) ;
- $n_1$  : Nombre de boites considéré à la première dilution retenue ;
- $n_2$  : Nombre de boites considéré à la seconde dilution retenue ;
- $d_1$  : Facteur de la première dilution retenue.

### 4.2. Isolement des coliformes

#### Méthode par filtration sur membrane

Cette méthode consiste à rechercher et dénombrer des *Escherichia coli* et des coliformes qui sont dans tous type d'eau.

En utilisant une rampe de filtration et des filtres de 0.45  $\mu$ m

#### Mode opératoire

- Stériliser l'entonnoir gradué en verre ainsi que le filtre poreux en les faisant passer à travers la flamme du bec bunsen ;
- Refroidir avec de l'eau à analyser ou avec de l'eau distillée ;
- Flamber la pince et transférer dans des conditions d'asepsie la membrane poreuse de 0.45 $\mu$ m et la mettre entre l'entonnoir et le filtre poreux ;
- Fixer ce dispositif avec la pince correspondante ;
- Verser ensuite aseptiquement entre deux becs bunsens les échantillons à analysés ;
- Actionner la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane ;
- Après avoir filtré toute la quantité d'eau (100ml), arrêter la pompe et retirer l'entonnoir en verre ;
- Retirer la membrane à l'aide d'une pince stérile, et la transférer immédiatement sur la surface d'une plaque de gélose TTC préalablement préparée.

Incuber les boites de pétries couvercle en bas à Incuber à 37°C ; pendant 24h (jusqu'à 48h) pour les coliformes totaux, et incuber à 44°C pendant 24heures afin d'avoir les coliformes fécaux.

- Après incubation, considérer les colonies lactose positif comme caractéristiques des coliformes, quelle que soit leur taille, si le milieu présente une coloration jaune sous la membrane.

- Repiquer, de préférence, toutes les colonies caractéristiques, ou un nombre représentatif (au moins dix), sur :
  - Une gélose non sélective comme la gélose Désoxycholate ; incubé à 37°C pendant 24 h ;
  - Un bouillon au tryptophane, incubé à 44°C pendant 24 h.
- **Après incubation, réaliser**
  - Le test oxydase sur les colonies isolées sur la gélose ;
  - La recherche de la production d'indole sur le bouillon.
- **Lecture des résultats**
  - Colonies ayant une réaction négative à l'oxydase sont considérées comme coliforme.
  - Les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase mais positive à l'indole sont considérées comme *E.coli*.

### 4.3. Recherche des entérocoques intestinaux

#### Méthode par filtration sur membrane

Cette technique permet de dénombrer les entérocoques dans l'eau par filtration sur membrane

#### Mode opératoire

La recherche des entérocoques ou streptocoques du groupe D se déroule selon le même procédé utilisé pour la recherche des coliformes par la méthode de filtration sauf qu'ici la membrane est déposée sur la plaque de Slanetz et Bartley.

Après incubation durant 24 h à 37°C, on procède au dénombrement des colonies qui présentent une coloration rouge, marron ou rose, pouvant être limitée à leur centre ou à leur périphérie, et provenant de la réduction par les entérocoques du TTC.

La confirmation du genre *Enterococcus* se fera par transfert de la membrane à l'aide d'une pince stérile sur un milieu à l'esculine préalablement chauffé à 44°C et incubation de ce milieu à 44°C pendant 2 heures. Les colonies présentant une coloration foncée à noire sur cette gélose seront dénombrées comme des entérocoques. Cette coloration est due à l'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu.

### 4.4. Isolement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de clostridium sulfito-réducteurs

#### Méthode par filtration sur membrane

Cette technique consiste en la recherche et le dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sur membrane.

#### Mode opératoire

-Sélection de la spore en détruisant toutes formes végétatives par chauffage de l'eau à analyser au bain marie à 75°C, pendant 15 minutes à partir du moment où cette température a été atteinte. Ensuite on réalise un choc thermique sous l'eau du robinet.

-Filtrer 100ml de cette eau sur une membrane dont les pores suffisamment petits pour retenir les spores 0.45µm

-Après la filtration placer la membrane face supérieure tournée vers le bas dans le fond d'une boîte de pétri de 90mm de diamètre stérile et vide en s'assurant qu'il ne reste pas de bulles d'air emprisonnées sous le filtre

-Verser ensuite soigneusement 18ml de milieu de culture liquéfié (gélose viande foie) préalablement refroidi à environ 45°C sur la membrane en l'immobilisant avec des pinces stérile.

-Après solidification de la gélose incuber en atmosphère anaérobie dans une jarre à anaérobiose à 37°C pendant 24 à 48 heures.

### Lecture

Compter toutes les colonies noires après incubation et donner le résultat en nombre de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices en fonction du volume filtré.

### 4.5. Recherche des salmonelles

Cette méthode consiste à rechercher et identifier les salmonelles présentes dans l'eau, par filtration sur membrane

#### Mode opératoire

- Filtration de 250ml d'eau sur une membrane de 0.45µm

-Placer le filtre dans 50ml de l'eau peptonée tamponnée afin d'effectuer le pré-enrichissement et incuber à 37°C pendant 24h

-Après incubation transférer 1ml du bouillon d'enrichissement dans 10ml du milieu Rappaport vassiliadis préalablement chauffé à 42°C et incuber à 37°C pendant 18 à 24h

-Repiquer à l'aide d'une anse le milieu Hektoen afin d'effectuer un isolement et incuber à 37°C pendant 24h

### Lecture

-Colonies ayant un contour régulier

-Colonies ayant la couleur du milieu parfois avec ou sans centre noire sur gélose Hektoen

La présence de colonies typique de salmonelle sur les milieux gélose sélectifs n'est pas une preuve suffisante de la présence de cette bactérie. Il est donc nécessaire d'effectuer une identification biochimique basée essentiellement sur ; ONPG Urée, TSI, indole, LDC

### 4.6. Isolement du vibrion cholérique

Cette technique consiste à rechercher des vibrions cholera dans des eaux par filtration sur membrane

#### Mode opératoire

-Verser 450ml dans un flacon d'eau peptonée alcaline dans le but d'effectuer un pré-enrichissement puis incuber à 37°C pendant 24h

-Après incubation transférer 1ml du bouillon d'enrichissement dans 10ml d'eau peptoné alcaline (enrichissement)

-Après incubation on ensemence une plaque de gélose GNAB à partir du bouillon d'enrichissement incubé à 37°C pendant 24h

#### Lecture

Apparition de colonies plates et transparentes. La présence de colonies typique de vibrion sur les milieux gélosée sélectifs n'est pas une preuve suffisante de la présence de cette bactérie il faut établir l'identification morphologique (état frais, coloration de gram) et une mini galerie biochimique (test d'oxydation, LDC, ODC, ADH) ainsi qu'un repiquage sur le milieu KIA et une GN incliné en stries et incuber à 37°C pendant 24h

La confirmation de la présence de se germe nécessite l'établissement d'un test d'agglutination avec de l'eau physiologique et le sérum polyvalent.

### 5. Identification des bactéries

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques :

- Etude macroscopique ;
- Etude microscopique ;
- Etude biochimique.

#### 5.1. Etude macroscopique

Cette technique consiste à effectuer une observation à l'œil nu des colonies des souches bactériennes isolées afin de déterminer les caractères suivants :

- Forme ;
- Relief ;
- Contour ;
- Consistance ;
- Surface ;
- Opacité ;
- La couleur ;

- Centre.

### 5.2. Etude microscopique

Pour cela on procède à l'établissement d'un frotti bactérien comme suite :

- On dépose d'abords une goutte d'eau puis le prélèvement est délayé dans cette goutte d'eau.
- On étale la souche bactérienne en une couche mince et homogène.
- Le frottis est séché par passage au-dessous de la flamme.
- Le frottis est fixé par la chaleur par passage de 4 ou 5 fois dans la flamme.

### Principe de la coloration de Gram

Elle consiste à traiter un frottis bactérien fixé à la chaleur par une solution de violet de Gentiane par une solution iodo-iodurée (Lugol) : un complexe de colorant teint les cellules. Celle-ci sont soumises ensuite à l'action d'un solvant organique, l'éthanol.

#### Mode opératoire

- Recouvrir le frottis avec le colorant primaire : le violet de gentiane et laissé agir 1mn.
- Rejeter le colorant sans laver, recouvrir avec le Lugol (fixateur), laissé agir 45 secondes.
- Rejeter le Lugol, et recouvrir une secondes fois avec le Lugol : laisser agir 45 secondes ;
- Décolorer à l'alcool pendant 30 secondes ;
- Rincer à l'eau courante afin de neutraliser l'action de l'alcool ;
- Recouvrir le frottis avec la Fuchsine et laisser agir 1mn ;
- Laver à l'eau courante jusqu'à ce que les eaux de rinçage ressortent claires ;
- Sécher la lame, et observer à l'immersion (G-1000) ;

### 5.3. Etude biochimique

#### 5.3.1. Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes, aéro-anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) formé au cours des réactions d'oxydation. Cette enzyme catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon la réaction

#### Technique

- Sur une lame propre, déposer une colonie prélevée à l'anse
- Ajouté une goutte d'eau oxygénée. Observer immédiatement le résultat.

### Résultats

- Apparition de bulles d'oxygène, l' $\text{H}_2\text{O}_2$  est donc dégradé en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ . La bactérie possède une catalase, elle est dite catalase(+).
- Pas d'apparition de bulles d'oxygène,  $\text{H}_2\text{O}_2$  n'est donc pas dégradé en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$  : la bactérie ne possède pas de catalase, elle est dite catalase (-).

### 5.3.2. Test de la voie d'attaque des glucides (MEVAG)

Les bactéries utilisent les glucides suivant deux voies métaboliques :

- Une voies oxydative : en présence d'oxygène, le glucide est oxyde en  $\text{CO}_2$ , par le dioxygène (ou un autre oxydant minéral)
- Une voie fermentative : en absence d'oxygène ou en faible tension d'oxygène, le glucide est transformé en acides, alcools qui sont libérés dans le milieu qu'ils acidifient sensiblement.

Pour déterminer la voie d'attaque dans le milieu des glucides (glucose en particulier) par les bactéries à Gram négatif, on utilise le milieu MEVAG (Milieu d'Etude de la voie d'Attaque des glucides) contenant un indicateur de pH (rouge phénol)

#### Technique

- Ensemencer par piqure central deux tubes de milieu MEVAG ;
- Recouvrir l'un des deux tubes d'une couche d'environ 1-1.5 cm d'épaisseur de vaseline stérile pour mettre en évidence le rôle de l'oxygène.
- Incubé à  $37^\circ\text{C}$  pendant 18 à 24h.

#### Résultats

- Virage au jaune dans les deux tubes, acidification dans les deux tubes : la bactérie utilise la voie oxydative, fermentative.
- Virage au jaune donc acidification que dans le tube sans vaseline : la bactérie utilise la voie oxydative

### 5.3.3. Test de Mannitol-mobilité

Le Mannitol est un polyalcool. Sa dégradation conduit à la formation du fructose qui est lui-même dégradé en acides à chaînes courtes. Le milieu Mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la mobilité et l'utilisation du Mannitol :

- La fermentation du Mannitol : les bactéries mannitol (+) acidifient le milieu qui vire au jaune (virage d'un indicateur coloré, le rouge phénol).
- La mobilité : du fait de la faible teneur en agar du milieu (gélose molle), les bactéries mobiles peuvent s'y déplacer (Singleton, 2005).

#### Technique

- Ensemencer le milieu par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit).
- Incubation à 37°C durant 18 heures

### Résultats

- Fermentation du mannitol
- Coloration jaune, virage du rouge de phénol, acidification du milieu : utilisation du mannitol souche Mannitol(+).
- Milieu rouge, pas de virage du rouge phénol au jaune, pas d'acidification : souche Mannitol(-).
- Caractères mobilité :
- Répartitions des colonies dans toute la gélose : les bactéries sont mobiles.
- Développement uniquement dans la piqûre centrale : les bactéries sont immobiles.

### 5.3.4 Dégradation des sucres milieu Triple Sugar Iron (TSI)

La gélose TSI permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz) du saccharose et de la production du sulfure d'hydrogène. Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune l'indicateur pH (rouge de phénol)

### Technique

La pente du milieu TSI est ensemencée par strie serrée et le culot par piqure centrale, puis incubation à 37° pendant 24h, capsules desserrées de manière à favoriser les échanges gazeux.

### Résultats

- Fermentation de glucose
- Culot jaune : glucose fermenté glucose (+)
- Pas de virage de couleur ; lactose et saccharose non fermenté, lactose et saccharose (-)
- Production d'H<sub>2</sub>S ; formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqure

### 5.3.5. Test d'orthoNitroPhenylgalactopyranoside (ONPG)

Ce test particulièrement important pour les entérobactéries, consiste à rechercher la présence d'une enzyme du métabolisme du lactose, la b-galactosidase .le lactose est source de carbone d'énergie pour les bactéries. La dégradation du lactose par les micro-organismes passe par sa transformation en glucose (**singleton, 2005**) cette dernière n'est possible que si ces microorganismes possèdent :

-Le lactose perméase qui permet la pénétration du lactose au travers de la membrane plasmique

-Une  $\beta$ -galactosidase qui catalyse son hydrolyse en glucose et galactose

La  $\beta$ -galactosidase peut être mise en évidence facilement car elle est capable d'hydrolyser toute molécule analogue du lactose telle que l'ONPG

L'ONPG permet lorsque la bactérie est lactose(-) de trouver s'il ya présence d'une  $\beta$ -galactosidase que l'on reconnaît grâce à la coloration en jaune du milieu

### Technique

-Réaliser une suspension épaisse de bactérie prélevée obligatoirement sur milieu lactose solide dans de l'eau physiologique ou de l'eau distillé

-Ajouter avec une pince flambée puis refroidie un disque imprégné d'ONPG

-Incuber à 37°C

### Résultat

-Apparition d'une coloration jaune : bactérie possède donc  $\beta$ -galactosidase elle est dite ONPG(+),  $\beta$ -galactosidase (+)

-Pas d'apparition d'une coloration jaune : la bactérie ne possède pas la  $\beta$ -galactosidase elle est ONPG(-),  $\beta$ -galactosidase(-)

### 5.3.6. Recherche des décarboxylases LDC et ODC et la dihydrolase ADH

Les décarboxylases bactérienne sont des enzymes qui dégradent les acides aminés trois de ces enzymes ont un intérêt pour l'identification bactérienne (différenciation des entérobactéries et autre bacilles Gram négatif) la lysine décarboxylase ; LDC, l'ornithine, décarboxylase ; ODC, l'arginine dihydrolase : ADH. Cette dégradation aboutit à la fermentation de produits basique ; l'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH à sa teinte basique (violette) (Singleton2005)

La recherche de ces trois enzymes se fait sur milieu de Moeller .il existe quatre milieux de Moeller :

-Milieu Moeller + Lysine

-Milieu Moeller + Omithine

-Milieu Moeller + Arginine

-Milieu de Moeller témoin sans acide aminé

### Technique

Ensemencer chaque milieu contenant l'acide aminé dont on veut étudier la décarboxylation et un indicateur de pH (BCP, pourpre de bromocresol) ainsi que le milieu de Moeller témoin avec quelques gouttes de suspension de la culture à étudier. Agiter et si le tube n'est pas plein le recouvrir par de la vaseline stérile afin de placer le milieu en anaérobie. Incuber à 37°C pendant 24h

### Résultat

-Virage au jaune, acidification du milieu liée à l'utilisation du glucose. Le substrat (arginine ; lysine ou ornithine) n'a donc pas été dégradé : la bactérie ne possède pas LDC ou ODC ou ADH elle est dite LDC(-) ou ADH (-) ou ODC (-)

-Virage au violet, acidification du milieu liée à la fermentation du glucose puis il y a eu alcalinisation du milieu liée à la dégradation du substrat (Arginine, Lysine ou Ornithine) par la bactérie : la bactérie possède la LDC ou ODC ou ADH elle est dite LDC(+) ADH (+) ODC (+)

### 5.3.7. Recherche de l'indole

Il existe des acides aminés qui peuvent être décomposés selon des réactions métaboliques particulières, comme le cas du tryptophane. Ces trois tests biochimiques permettent l'identification de germes particulièrement les entérobactéries sur le milieu urée indole. Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole : de l'acide pyruvique et de l'ammoniac. Après addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

La recherche d'indole se fera dans un tube à part contenant le milieu eau peptonée exempt d'indole.

### Technique

-Faire une suspension bactérienne en milieu urée-indole incubé 24h à 37°C

### Résultats

-Coloration rouge : urée (+)

-Pas de coloration urée (-)

## 6. Réalisation de l'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques, il sert également :

-A la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne

-A l'identification par la mise en évidence de résistance naturelle

Des disques imprégnés d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (milieu de Mueller-Hinton) préalablement ensemencé avec une dilution calibrée de la souche.

Ensuite observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci

### **Technique standardisée**

-Repiquage à partir du milieu sélectif de différentes souches sur milieu BHI (bain heart infusion) et les incuber à 37°C pendant 18h afin d'obtenir des souches jeunes.

-Après 18h réaliser une suspension bactérienne en prélevant à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie à partir du milieu BHI, puis l'introduire dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile

-Ajuster l'inoculum à environ 107UFC par ml correspondant à une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 (l'absorbance à 625nm) ajuster si nécessaire la DO par prise d'une nouvelle colonie pour concentrer l'inoculum ou par ajout d'un volume d'eau physiologique pour diluer jusqu'à obtention de la DO voulue

-Ensemencement des tubes de 90mm par écouvillonnage en plongeant l'écouvillon stérile dans la suspension ajustée, ensemencer la boîte en frottant l'écouvillon sur toute la surface de la gélose et en tournant la boîte trois fois afin d'obtenir un tapis de colonies jointives

Déposer les disques fermement à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide puis incuber à 37°C pendant 24h.

Le diamètre d'inhibition obtenu autour du disque d'antibiotique est comparé à deux diamètres critiques correspondant aux concentrations critiques, ces derniers sont proposés par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM) en fonction des données bactériologiques pharmacocinétiques et cliniques disponibles.

Les bactéries sont ainsi définies comme résistantes, sensibles ou intermédiaires (si le diamètre est compris entre les deux valeurs critiques)

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro :

#### **1. souche sensible(s)**

Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie générale ou orale.

#### **2. souche résistantes (R)**

Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

### 3. la catégorie intermédiaire (I)

Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le diamètre est supérieur au diamètre critique bas et inférieur ou égale au diamètre critique haut

Le diamètre d'inhibition obtenu autour du disque d'antibiotique est comparé à deux diamètres critiques correspondant aux concentrations critiques, ces derniers sont proposés par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM) en fonction des données bactériologique, pharmacocinétiques et cliniques  
Disponible.

**Résultats  
et  
discussion**

### Résultats et discussion

#### 1. Etude macroscopique

Cette étude repose sur l'aspect des colonies sur milieu gélosé qui varis d'une souche à une autre, ces critères sont les suivant : forme, taille, opacité, consistance, contour, centre, la surface des colonies.

Les figures (2 à 33) et le tableau (05) si dessous illustre les résultats obtenus.

**Tableau 05:** les caractères macroscopiques des souches isolées.

Bactéries	Aspect	Forme	Chromogènes	opacité	élévation	surface	consistance	Odeur	bord
<b>Flore revivifiable</b>	Non punctiforme	Irrégulier et ronde	Pigment	opaque	Légèrement convexe	Lisse et matte	Sèche et homogène	Désagréable	Régulier et ondulé
<b>Coliforme</b>	Non punctiforme	Irrégulier et ronde	Jaune orangé	opaque	Convexe	Lisse et matte	Sèche et homogène	Désagréable	Régulier et ondulé
<b>Salmonelle</b>	punctiforme	Ronde	Rouge et jaune	opaque	Convexe	Lisse et brillante	Sèche et homogène	Désagréable	régulier
<b>Vibron</b>	Non punctiforme	Ronde	Pigment	opaque	Légèrement convexe	Lisse et brillante	Sèche et homogène	Désagréable	régulier

## 2. Etude microscopique

Après avoir effectué la coloration de Gram et observation au microscope des lames portant les différentes souches au grossissement \*100 on constate que toutes les souches isolées sont des bacilles majoritairement et Gram négative et cela correspond à notre étude effectué sur des enterobacteriaceae.

**Tableau 06:** Les caractères microscopiques des souches isolées

Bactéries	Gram	Forme
Salmonelle	-	Bacille
Vibrons	-	Bacille
Coliforme	-	Bacille en amas
Flore revivifiable	-	Bacille

## 3. Résultats des analyses bactériologiques

### 3.1. Dénombrement de la flore mésophiles totale FMAT

Les résultats du dénombrement de la flore mésophiles à 22°C et de la flore mésophiles à 37°C sont illustres dans le tableau 07 :

**Tableau 07:** Résultats du dénombrement de la flore mésophile.

Périodes	Température d'incubation	Oued (UFC/ml)	Forage (UFC/ml)	R1 (UFC/ml)	R2 (UFC/ml)	Chlore actif mg/l
Mars	GR à 22 °C	1,07.10 <sup>3</sup>	5,6.10 <sup>4</sup>	7,5.10 <sup>2</sup>	3,6.10 <sup>3</sup>	0.08
	GR à 37 °C	6,3.10 <sup>2</sup>	2,61.10 <sup>4</sup>	2,9.10 <sup>2</sup>	5,6.10 <sup>2</sup>	
Avril	GR à 22 °C	1,9.10 <sup>2</sup>	2,4.10 <sup>4</sup>	8,1.10 <sup>2</sup>	3,1.10 <sup>3</sup>	0.07
	GR à 37 °C	4,6.10 <sup>3</sup>	1,4.10 <sup>4</sup>	4 ,7.10 <sup>2</sup>	2,3.10 <sup>3</sup>	
Mai	GR à 22 °C	2,5.10 <sup>4</sup>	2 ,5.10 <sup>5</sup>	1,1.10 <sup>5</sup>	6,2.10 <sup>4</sup>	0.07
	GR à 37 °C	6,3.10 <sup>3</sup>	1,5.10 <sup>4</sup>	1,02.10 <sup>4</sup>	2,1.10 <sup>4</sup>	
Juin	GR à 22 °C	1,06.10 <sup>6</sup>	5,6.10 <sup>5</sup>	6,9.10 <sup>5</sup>	1,6.10 <sup>5</sup>	0.05
	GR à 37 °C	9,2.10 <sup>5</sup>	3,7.10 <sup>4</sup>	4,3.10 <sup>5</sup>	3,1.10 <sup>5</sup>	

### ➤ Interprétations des résultats

Le dénombrement des germes revivifiables vise à estimer la densité de la population bactérienne globale présente dans l'eau potable, la plupart ne sont pas pathogènes. Cependant, certaines espèces peuvent être pathogènes opportunistes et causent des infections chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. En effet, la forte concentration en germes totaux génère des problèmes d'ordre organoleptique et sanitaire.

Pour les périodes indiquées à savoir Mars, Avril, Mai et juin respectivement les périodes de hautes eaux et basses eaux les principaux résultats se présentent comme suit :

Au niveau de l'oued, le nombre de germes à 22°C passe de  $1,07.10^3$  UFC/ml au mois de Mars à  $1,06.10^6$  UFC/ml pour le mois de juin. Cette augmentation obéit à la règle de dilution (basses eaux et hautes eaux). Pour les germes à 37°C, les concentrations passent de  $4,6.10^3$  UFC/ml pour la période de hautes eaux à  $9,2.10^5$  UFC/ml au début de la période de basses eaux.

Au niveau du collecteur principal des 10 forages nous avons remarqué que le nombre de germes à 22°C passe de  $2,4.10^4$  UFC/ml à  $5,6.10^5$  UFC/ml ; à 37°C les concentrations enregistrées varient de  $1,4.10^4$  UFC/ml en période de hautes eaux à  $3,7.10^4$  UFC/ml pour la période de basses eaux.

Au niveau des réseaux de distribution R1 et R2 le nombre de germes à 22°C passe de  $7,5.10^2$  UFC/ml en période de hautes eaux à  $6,9.10^5$  UFC/ml pour la période de basses eaux ; pour la flore pathogène à 37°C les concentrations passent de  $2,9.10^2$  UFC/ml et  $4,3.10^5$  UFC/ml.

Afin d'expliquer ces variations, il est important de comprendre le fonctionnement global du système hydraulique étudié qui est composé de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou, de l'Oued Sébaou, des forages sis sur la nappe du Sébaou et des réseaux de distribution.

Au niveau de l'oued, nous constatons une contamination par les rejets de la STEP Est cela s'explique par l'absence du traitement tertiaire au niveau de ladite STEP, à ce niveau aussi nous avons enregistré des valeurs supérieures aux normes malgré la pluviométrie importante durant cette période.

L'augmentation des concentrations bactériennes étudiée au niveau des forages s'explique par la communication hydraulique directe entre l'Oued et la nappe, vu la fragilisation de cette dernière par l'extraction du filtre naturel composé de sables fins. Ces concentrations importantes dans les forages sont accentuées par l'absence du phénomène de chasse d'eau en période de crue, ce qui favorise la mise en place d'un micro-écosystème composé de vase et de microorganismes.

En ce qui concerne les eaux de distribution à savoir R1 et R2, les résultats bactériologiques obtenus dépassent de loin les normes fixées par l'OMS, qui doivent être inférieures à 100

UFC/ml à 22°C et ne doivent pas dépasser 20UFC/ml pour les germes à 37°C. Cette situation est due à l'insuffisance du traitement de désinfection car, l'eau de la nappe du moyen Sébaou a perdu sa qualité souterraine en raison de la fragilisation de la nappe. Nous avons aussi constatés que la désinfection telle qu'elle est appliquée actuellement au niveau du réservoir 5000 m<sup>3</sup> est insuffisante au vu des concentrations moyennes de chlore qui ne dépassent pas les 0.08 mg/l.

Afin de remédier à cette situation nous suggérons un renforcement du traitement par une filtration et une coagulation floculation dans les meilleurs délais afin d'éviter les préjudices sanitaires pour les consommateurs.

### 3.2. Dénombrement des Coliformes, Streptocoque et Clostridium

Les principaux résultats du dénombrement des Coliformes (fécaux et totaux), Streptocoques et Clostridium sont résumé dans le tableau 08.

**Tableau 08:** Résultats du dénombrement des coliformes totaux, coliformes fécaux et des Streptocoques fécaux

Périodes	Oued (UFC/100ml)				Forage (UFC/100ml)				R1 (UFC/100ml)				R2 (UFC/100ml)			
	CT	CF	SF	C	CT	CF	SF	C	CT	CF	SF	C	CT	CF	SF	C
Mars	36	32	0	0	57	33	0	0	3	3	0	0	4	3	0	0
	31	23	0	0	59	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Avril	24	22	0	0	55	1	0	0	1	1	0	0	3	2	0	0
	23	15	0	0	23	4	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0
Mai	39	12	0	0	75	10	1	0	1	1	0	0	3	0	0	0
Juin	141	109	0	0	51	22	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

**CT**= coliforme totaux, **CF**=coliforme fécaux, **SF**=streptocoque fécaux, **C**=Clostridium

#### ➤ Interprétation des résultats

Pour les périodes indiquées à savoir Mars, Avril, Mai et juin respectivement les périodes de hautes eaux et basses eaux les principaux résultats de recherche de Coliforme totaux, Coliforme fécaux, Streptocoque fécaux et Clostridium se présentent comme suit :

D'après le tableau ci-dessus, nous remarquons que les eaux de l'oued sont caractérisées par la présence d'un nombre de CT compris entre 31 et 141 UFC/100ml ; au niveau des Forages les concentrations varient entre 23 et 75 UFC/100ml ; au niveau de la distribution à savoir R1 et R2 les valeurs des concentrations varient entre 1 et 4 UFC/100ml.

Pour les coliformes fécaux, les concentrations varient de 12 à 109 UFC/100ml dans l'Oued, de 1 et 33 UFC/100ml dans les forages et de 0 et 3 UFC/100ml au niveau de la distribution.

Par ailleurs, nous avons constaté que les résultats d'analyses concernant les Streptocoques fécaux et les Clostridium sont négatifs dans l'ensemble des compartiments étudiés.

De façon générale au niveau de l'oued et des forages, les eaux sont conformes aux normes fixées par l'OMS.

Par ailleurs, nous signalons que des coliformes fécaux ont été retrouvés au niveau de la distribution d'où l'insuffisance du seul traitement de désinfection. A cet effet une étape d'identification et d'antibio-résistance a été mise en place afin de déterminer les espèces en question et leurs probables effets sanitaires.

En ce qui concerne les SF, ils sont absents totalement dans tous les prélèvements de l'eau analysée, ceci montre que l'eau de tous les échantillons sont conformes aux normes de l'OMS, leur absence est due à leurs exigences, car le développement de ces germes demande des milieux spécifiques enrichis en nutriments.

L'Analyse de l'eau a révélé également l'absence de spore de Clostridium au niveau de l'Oued, Forage et réseaux de distribution R1 et R2 car les milieux étudiés sont riche en oxygène, et les Clostridium en besoin de l'anaérobiose pour se propager.

#### 4. Résultats de l'identification

Après avoir procédé à l'identification des espèces recherchées, les résultats principaux sont résumés dans le tableau 09.

#### 5. Identification bactérienne

Dans le tableau 10, nous avons classés les germes identifiés en fonction du compartiment de leur présence.

**Tableau 10:** Résultats de l'identification des bactéries durant la période d'étude

Période Mars/Avril				
Bactéries	Oued	Forage	R1	R2
<i>Citrobacter</i>	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-
<i>Shigella sonnei</i>	+	+	-	-
<i>E.coli</i>	+	+	-	+
<i>K. ornithinolytica</i>	+	+	-	-
<i>Providencia</i>	+	+	+	-

<i>Salmonella s.g /// (arizona)</i>	+	-	-	-
<i>Salmonella majorité</i>	+	+	+	+
<i>Serratia</i>	+	+	-	-
Période mai / juin				
<i>Plesoimonas shigelloides</i>	+	+++	-	+
<i>Salmonella bongori</i>	+	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	-
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	+	+	-	-
<i>Providencia</i>	+	-	-	-
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	-	-	-
<i>Salmonella Sg 1</i>	+	+	-	-
<i>Salmonella sg 3 arizona</i>	+	+	-	-
<i>Salmonella enterica ssp</i>	+	+	-	-
<i>Pseudomonas mendocina</i>	+	+	-	-
<i>E coli</i>	+	+	+	-
<i>Serratia</i>	+	+	-	+

### ➤ Interprétation des résultats

Ces résultats confirment non seulement la présence des bactéries de la famille des Entérobacteriaceae (*Escherichia coli*, salmonella, *Klebsiella pneumoniae*..) mais aussi celles des familles des Pseudomonadaceae (*Pseudomonas aeruginosa* , *Pseudomonas mendocina*) dans les eaux de l'oued , forage et réseaux de distribution R1 et R2 (voir tableau 8).

On remarque d'après le tableau 10, que 100 % des bactéries identifiées sont présentes dans les eaux de l'Oued, cela est dû certainement à la contamination de ce dernier par les rejets de la STEP et sa communication hydraulique directe avec le reste des compartiments étudiés. On remarque aussi que 79% des bactéries, on pu passer de l'oued au forage en raison de l'absence de filtration naturelle des eaux qui est à présent détérioré, les eaux brutes de surface sont davantage sujettes à ce type de contaminations entre autre par les rejets de STEP.

On remarque également une présence de certaines bactéries au niveau des réseaux de distribution qui s'explique par un manque de chlore libre qui est en moyenne de 0.07mg/l au bout des robinets, alors que la norme est de 0.2 - 0.6mg/l et un manque d'autres ouvrages de traitement tel que la filtration et la coagulation floculation. Cela peut générer des maladies à transmission hydrique en cas de condition favorable vu que ces bactéries sont majoritairement pathogènes opportunistes de la famille des entérobacteriaceae.

Parmi ces entérobactéries *Serratia spp*, un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans plusieurs types d'infections telles que les infections urinaires, les infections des voies respiratoires et les bactériémies (Mahlen, 2011).

Les *Klebsiella* sont naturellement présents dans de nombreux environnements aqueux et peuvent se multiplier en grand nombre dans les eaux riches en nutriments, telles que les eaux usées, dans les réseaux de distribution d'eau de boisson, en particulier *K. pneumoniae* peuvent provoquer des infections graves, telles que des pneumonies destructives.

Les *Salmonella* sont l'une des 4 causes principales de maladies diarrhéiques dans le monde, la plupart des cas de salmonellose sont bénins, mais il arrive parfois que la maladie engage le pronostic vital. **OMS 2018**

Les *Shigella spp* peuvent provoquer des maladies intestinales graves, toutes les espèces peuvent provoquer des maladies graves, mais la maladie due à *S. sonnei* est habituellement relativement modérée et la guérison est spontanée

*Pseudomonas aeruginosa* peut provoquer diverses infections mais rarement des maladies graves chez des individus sains sans facteur de prédisposition. *Pseudomonas aeruginosa* est une source connue d'infections nosocomiales pouvant avoir des complications potentiellement graves. *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à la désinfection et sa pénétration dans les réseaux de distribution peut être minimisée par une désinfection appropriée.

*E.coli* est à l'origine d'infection entéro-coliques, infections urinaires, toxi-infections alimentaires, infections intra-abdominale (cholécystites, péritonites..), septicémies, infections néonatales (méningites).

*Citrobacter* provoque des infections nosocomiales : septicémies, abcès et infections pulmonaires, urinaires, méningées.

*Providencia* provoque généralement des infections urinaires – bactériémies nosocomiales.

La présence de *Plesiomonas shiguelloide* dans les milieux aquatiques est toujours liée à la pollution et la contamination par les eaux usées.

Dans les tableaux 11 et 12, nous avons énuméré les résultats des essais de l'antibio-résistance.

**Tableau 11:** représentatif des diamètres d'inhibition (mm) des souches isolées

ABTs	<i>Citrobacter</i>	<i>Klebsiella p</i>	<i>Shigella s</i>	<i>e.coli</i>	<i>k.orni</i>	<i>Providencia</i>	<i>Providencia</i>	<i>Salmonella.s.g</i>	<i>Salmonella.m</i>	<i>Salmonella.m</i>	<i>serratia</i>
ofx	0	25	/	20	30	20	25	18	21	22	12
cn	24	20	23	25	25	18	25	/	16	16	15
amp	0	/	0	0	0	0	0	13	0	0	0
c	0	27	25	25	0	0	0	30	0	13	0
va	/	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/

0= résistante ; / = AB non utilisé

**Tableau 12:** représentatif des diamètres d'inhibition (mm) des souches isolées en période Mai/Juin

Milieux	Familles	Phénicolés	Quinolones	Aminosides	β-lactamines	CEPHALOSPORINE
/	ATBs	Chloramphénicol	Ofloxacin	tobramycin	Ampécilline	Céphalotin
Forage	<i>Plesoimonas shigelloides</i>	0	20	22	0	0
Oued	<i>Salmonella bongori</i>	18	23	22	0	18
R1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	24	24	0	0
R2	<i>Plesoimonas shigelloides</i>	15	25	30	0	0
Forage	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	26	23	23	18	23
Oued	<i>Providencia</i>	10	19	20	0	0
Oued	<i>Providencia alcalifaciens</i>	0	20	19	0	0
Forage	<i>Salmonella Sg 1</i>	0	25	27	0	0
Oued	<i>Salmonella sg 3 arizona</i>	0	30	21	0	0
R1	<i>Salmonella enterica ssp</i>	0	20	22	0	0
Oued	<i>Pseudomonas mendocina</i>	20	25	0	0	0
Oued	<i>E coli</i>	0	40	35	0	0
Forage	<i>Plesoimonas shigelloides</i>	0	20	21	0	0
Forage	<i>Plesoimonas shigelloides</i>	0	15	21	0	0
R1	<i>Serratia</i>	20	20	0	0	0
R1	<i>E coli</i>	30	22	10	0	0
R2	<i>Serratia</i>	0	19	20	0	0
R2	<i>Salmonella enterica</i>	0	18	20	0	0

Dans les tableaux 13 et 14, nous avons énuméré les résultats des essais de l'antibio-résistance selon la classification du comité français de l'antibiogramme.

**Tableau 13:** Détermination des profils de sensibilité des antibiotiques des bactéries isolées selon les normes du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie de la période Mars/Avril

Milieux	Familles	Phénicolés	Quinolones	Aminosides	β-lactamines	Glycopeptides
/	ATBs	Chloramphénicol	Ofloxacin	Gentamycine	Ampécilline	Vancomycine
Oued	<i>Citrobacter</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
	<i>Salmonella Sg</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	/	<b>S</b>	/
Forage	<i>Shigella sonnei</i>	<b>S</b>	/	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
	<i>Providencia</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
	<i>K.orth</i>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
	<i>Serratia</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	/
R1	<i>Providencia</i>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
	<i>Salmonella Majorité</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	/
	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	/	<b>R</b>
R2	<i>E.coli</i>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
	<i>Salmonella Majorité</i>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	/

**S** = sensible, **R** = résistante, **I** = intermédiaire

**Tableau 14:** Détermination des profils de sensibilité des antibiotiques des bactéries isolées selon les normes du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie de la période Mai/Juin

Milieux	Familles	Phénicolés	Quinolones	Aminosides	β-lactamines	CEPHALOSPORINE
/	ATBs	Chloramphénicol	Ofloxacin	tobramycin	Ampécilline	Céphalotin
Oued	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>E coli</i>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>Salmonella sg 3 arizona</i>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>Providencia</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>Salmonella bongori</i>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	/
Forage	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	/
	<i>Salmonella Sg 1</i>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
	<i>Plesioimonas shigelloides</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>

R1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	S	S	R	R
	<i>Salmonella enterica ssp</i>	R	R	S	R	R
	<i>Serratia</i>	S	R	R	R	R
	<i>E coli</i>	S	R	R	R	R
R2	<i>Serratia</i>	R	R	S	R	R
	<i>Salmonella enterica</i>	R	R	S	R	R
	<i>Plesoimonas shigelloides</i>	R	S	S	R	R

### ➤ Interprétation des résultats

#### Résistance des souches aux $\beta$ -lactamines

D'après nos résultats, 81,2 % des souches bactériennes isolées des eaux de l'oued, forages et réseaux de distribution sont résistante à l'ampicilline tel que *Citrobacter*, *Providencia* et 19 % des souches sont sensible tel que *Salmonella Sg*, *Shigella sonnei*

#### Résistance des souches aux Quinolones

Dans cette étude, 56,2% des souches résistantes à l'ofloxacin tel que *Serratia*, *Salmonella enterica ssp* et 50% des souches sont sensible tel que *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas mendocina* et 19% des souches sont intermédiaire tel que *Salmonella bongori*, *Citrobacter amalonaticus*.

#### Résistance des souches aux Phénicoles

D'après nos résultats, 70,5% des souches isolées sont résistante au chloramphénicol tel que *Pseudomonas aeruginosa*, *Plesoimonas shigelloides* et 47% des souches sont sensible tel que *Pseudomonas mendocina*

#### Résistance des souches aux Aminosdes

D'après notre étude, 25 % des souches isolées sont résistante à la tobramycin tel que *Serratia*, *E coli* et 92% des souches sont sensible tel que *Providencia alcalifaciens*, 75% des souches sont sensible à la gentamycine tel que *Shigella sonnei* et 25% des souches sont intermédiaire tel que *Salmonella Majorité*

#### Résistance des souches aux Glycopeptides

D'après nos résultats, les souches isolées sont résistante à la vancomycine tel que *Shigella sonnei*, *Klebsiella Pneumoniae*

#### Résistance des souches aux Céphalosporines

D'après nos résultats, les souches isolées sont résistante au céphalotin tel que *Salmonella Sg 1*, *Salmonella enterica ssp*

Il ressort de cette étude que le phénomène de multi résistance est sans aucun doute présent chez les bactéries isolées des eaux de l'oued, forage et réseaux de distribution.

Ainsi, la maîtrise des bactéries multi résistantes des eaux reste un enjeu de santé publique dans notre pays, car ces souches bactériennes sont à l'origine de nombreuses infections.

Il est important de mettre en place un système de surveillance et de suivi de la qualité microbiologique de ces eaux.

Dans ce contexte, une prise en charge plus rigoureuse de l'environnement est plus que nécessaire. D'une part, l'amélioration des procédés de traitement des eaux usées et d'autre part la décontamination des effluents hospitaliers, industriels par des procédés physicochimiques et microbiologiques est donc essentiel.

# **Conclusion**

### Conclusion

L'étude de l'impact des rejets de la STEP Est de Tizi-Ouzou, sur l'ensemble récepteur hydraulique : Oued, Forage et réseau de distribution et essai de l'anti bio résistance s'est déroulée au laboratoire de traitement des eaux de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, département des sciences agronomiques. Durant la période allant du 10 mars jusqu'au 30 juin, plusieurs prélèvements ponctuels, à raison d'une fois par quinzaine et au même moment de la journée, entre 9 h et 11h du matin, ont été effectués.

Nous avons procédé à des analyses microbiologiques ; dénombrement, identification puis essai de l'anti bio résistance.

Les résultats obtenus sont comme suite :

- Les moyennes des coliformes totaux sont de 49 UFC/100 ml pour l'oued, 53 UFC/100ml pour les forages et 1,5 UFC/100ml pour R1 et 3,25 UFC/100 ml pour R2.
- les coliformes fécaux sont de l'ordre de 35.5 UFC/100ml, 15.5 UFC/100ml et 1,7 UFC/100ml, 2 UFC/100ml respectivement pour les eaux de l'oued, forages, R1 et R2.
- la flore revivifiables à 22°C, le nombre moyen de colonies au niveau de l'oued est de  $2,7 \cdot 10^5$  UFC/ml, il est de  $2,2 \cdot 10^5$  UFC/ml concernant les forages et  $1,2 \cdot 10^5$  UFC/ml pour les robinets.
- la flore pathogène est de l'ordre de  $2,4 \cdot 10^5$  UFC/ml,  $2,3 \cdot 10^4$  UFC/ml et  $9,6 \cdot 10^4$  UFC/ml pour l'oued, forages et robinets.
- les vibrions cholériques sont présents avec une moyenne de 154 germes/ml au niveau de l'Oued et 138 germes/ml au niveau du Forage, pour les salmonelles leurs moyenne est de 119 UFC/ml au niveau de l'Oued et au niveau du forage elle est de 111 UFC/ml Ceci est certainement dû à contamination par la STEP.

Ces résultats restent élevés et dépassent les normes fixées par l'OMS

- On a aussi remarqué une absence totale des Streptocoques et des Clostridium dans l'oued, les forages et les eaux de robinets ; pour les Streptocoques leur absence est due à leurs exigences car le développement de ces germes demande des milieux spécifiques enrichis en nutriments ; pour les Clostridium, ils sont absents car les milieux étudiés sont riche en oxygène, et les clostridium en besoin de l'anaérobie pour se propager.
- L'identification des bactéries a pu mettre en évidence 17 bactéries comme par exemple : *Citrobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *E.coli*, *K. ornithinolytica*, *Providencia*, *Salmonella s.g (arizona)*, *Salmonella majorité*, *Serratia*, *Plesiomonas shigelloides*, *Providencia alcalifaciens*, *Pseudomonas mendocina*; on a remarqué que 80% des bactéries présentes dans l'oued se retrouvent aussi dans les forages ;
- En ce qui concerne l'anti bio-résistance : plusieurs souches bactériennes isolées ont montré de fortes résistances aux antibiotiques utilisés avec 95% pour l'Ampicilline, 90% pour les céphalosporines, 75% pour les Chloramphénicol et 50% pour les Ofloxacins ; 85% des souches sont sensibles au tobramycine

On a enregistré une importante similitude entre les eaux de l'oued et des forages avec la présence des mêmes germes à des proportions semblables.

On conclut qu'il ya une communication intime entre ces deux compartiments avec contamination microbienne qui vient des eaux de rejets de la STEP Est et passe de l'oued vers les forages vu la destruction du filtre naturelle de la nappe par l'extraction anarchique des agrégats de l'aquifère ; cette contamination risque de parvenir au robinet du consommateur.

L'eau des forages ne peut plus être traitée comme une eau souterraine car elle ne répond plus au critère d'une eau souterraine elle doit être traitée comme une eau superficielle.

### Perspectives

- Des traitements de filtration sur charbon actif ou de coagulation-floculation avant la désinfection doivent être mis en place, avant la distribution, dans le but de garantir une meilleur qualité pour le consommateur ;
- Une reconstruction de l'aquifère semble une solution dans le cadre d'une protection des forages ;
- Des traitements tertiaires sont nécessaires au niveau de la STEP Est à fin de diminuer la charge polluante détectée dans les eaux de l'oued ;
- Enfin il est important de mettre en place un système de surveillance et de suivi de la qualité microbiologique de ces eaux.

# **Référence bibliographique**

**ADE, 2014** Document interne

**Anie.B, 2005** Evaluation des risques sanitaires des oocystes de *Cryptosporidium* dans l'eau destinée à la consommation humaine distribuée dans la zone métropolitaine de Port-au Prince, Haïti. Université de Quisqueya.

**Abdessamad.D, 2005** L'eau matière stratégique et enjeu de sécurité au 21ème siècle Université Paris 10 - DEA Sciences Politiques

**Bactériologie Médicale** page 244 Tableau 15-I Caractères Biochimiques Différentiels Des Principales Genres Et Espèces (G 31)

**Brésil, 2013** Fondation Nationale de la santé ; Manuel pratique d'analyse de l'eau/National Health ; Foundation – 4. ed. – Brasilia : FUNASA

**BROUILLET. J, PICOT .B, 2008** : Eco techniques d'assainissement des eaux usées domestiques évolution et perspectives, UMR 5569 hydrosciences \_ UMI faculté de pharmacie, BP 14491 34093 MONTPELLIER cédex5 .France. p : 07.

**Brands et al, 2005** Genotypes and Antibiotic Resistance of Salmonella Newport Isolates from U.S Market Oysters.

**Bougattoucha.W et Boudelaa.Y, 2010** L'examen cytobactériologique des urines .Ecole de formation paramédicale de Skikda Algérie - Laborantin diplômé d'état.

**CA-SFM / EUCAST, 2019** comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

**Chérif.I ; Khalil.D, 2006** Etude de la qualité microbiologique des eaux de boisson conditionnées en sachet et vendues sur la voie publique dans la région de dakar. Université cheikh antadiop de dakar. Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales.)

**Debabza.M, 2005** Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville d'Annaba. Université Badji-Mokhtar- Annaba. Thèse de Magister

**DEGREMONT, 2005** « Mémento technique de l'eau », Deuxième édition Tom1.

**Vierling.E, 2003** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition DOIN éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, p: 11-270.

**Boucenna.F, 2009** Mémoire de Magister, Cartographie par les différentes méthodes de vulnérabilité à la pollution d'une nappe côtière cas de la plaine alluviale de l'Oued Djendjen, Université de Badji Mokhtar, Annaba(Algérie)

**Ghadbane, 2003** Les eaux usées urbaines. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, Algérie, p. 147

**LE GOUVERNEMENT DU GRAND-DUCHÉ DE LU XEMBOURG ; Rapport AGE-15-26797 ; 14/12/2015**

**Leyral, 2007** Microbiologie et toxicologie des aliments Hygiène et sécurité alimentaire

**Manuels d'utilisation système d'identification bactérienne, 2019** Microbiologie Réf Bis-Neg-D

**Mahlen, 2011** *Serratia* infections: from military experiments to current practice. *Clin Microbiol Rev* 24: 755-791.

**Ben Ali Rim.M, 2014** Evaluation de la pollution des eaux issue de la zone industrielle de Skikda. Thèse de magister en Ecologie et Environnement.

**Hamdi.M et Ait Kaci I, 2008** Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued Béni-Messous DEUA sciences de la mer.

**Metahri, 2016** Agriculture & Food ISSN 1314-8591, Volume 4, Journal of International Scientific Publications.

**Savado.M ; Boubkeir.Y, 2016** Mémoire de Master, Isolement et Etude de quelques Entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug à Constantine

**Oluduro et Aderiye, 2007** Efficiency of *Moringa oleifera* seed extract on the microflora of surface and ground water. *Journql of Plant Science*, 6: 453-438)

**OMS, 2018** organisation mondiale de la santé

**Ouahchia. C, 2015** Qualité bactériologique de l'eau potable des différents réservoirs et chez les consommateurs de la commune de Tipaza alimentes par la station de Sidi Amar a partir de l'eau de surface du lac-arrage de Boukourdane. Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n°23, p. 139-154

**Rouabhia , 2004** Vulnérabilité et risque de pollution des eaux souterraines de la nappe des sables miocènes de la plaine d'El MA EL Abiod (Algérie) sécheresse.

**Singleton.P, 2005** Bactériologie, 6ème édition. DUNOD, Paris.154-488

# **Annexes**

## Annexe

### 1. Matériel utilisé

- Bain marie
- Bec benzène
- Pompe à vide
- Autoclave
- Etuve
- Balance
- Agitateur
- Microscope optique
- Spectrophotomètre
- Compteur de colonies (Funke gerber)

### 2. Les milieux de cultures

#### 2.1. Les milieux de culture liquides

- Bouillon Tryptophane
- Eau peptonée alcaline
- Eau peptonée tamponné
- Milieu rappaport

#### 2.2. Les milieux de culture solides

- Gélose TGEA
- Gélose VF
- Gélose GNAB
- Gélose Terigitol
- Gélose desoxycholate
- Gélose Hecktoen
- Gélose Slanetz et bartley
- Gélose MH
- Gélose BHI
- Gélose nutritive

#### 2.3. Tests biochimiques

- Eau oxygénée
- Milieu TSI
- Milieu Urée Indole
- Milieu Mevag
- Milieu ONPG
- Milieu Mannitol Mobilité
- Milieu LDC / ODC / ADH
- Milieu KIA
- Milieu Moeller
- Disque d'ONPG

#### 2.4. Réactifs

- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fushine
- Huile de vaseline stérile
- Huile d'immersion

#### 2.5. Antibiotiques en disque

**Annexe 1** : représentant les antibiotiques utilisés pour l'identification et leurs charges

Les antibiotiques utilisés pour l'identification des bactéries	Familles	abréviation	Charge du disque (µg)
Ofloxcin	Quinolones	OFX	5µg
Chloramphénicol	Phénicolés	C	10µg
Céphalotin	Céphalosporine	KF	30µg
Ampécilline	β-lactamines	AMP	25mcg
Gentamicine	Aminosides	CN	10µg
Tobramycin	Aminoside	TOB	10µg
Vancomycine	Glycopeptides	VA	30 mcg

## Annexe 2 : Normes OMS pour les eaux de surfaces OMS 2011

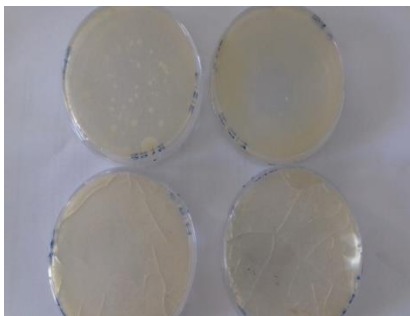
Bactéries	Normes
Coliforme totaux	5000 UFC/100 ml.
Coliforme fécaux	2000 UFC/100 ml.
Streptocoque fécaux	1000 UFC/100 ml.
Clostridium	00 spores /20 ml.
Salmonelle	0 UFC / 20ml
Germe totaux à 37°C	3000 Germe /1ml
Germe fécaux à 22°C	-
Vibriion	0 UFC/:ml

**Annexe 03:** Les résultats de la galerie biochimique des souches isolées à partir des eaux analysée Oued, Forage et réseaux de distribution des deux périodes.

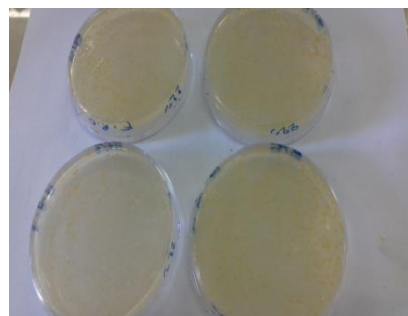
Période Mars/Avril														
Souches/Tests	Man	Mob	TSI	H <sub>2</sub> S	Urée	Ind	TDA	LDC	ODC	ADH	ONPG	MEVAG	CAT	K/IA
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	V.F	-	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	V.F	-	/
<i>Shigella sonnei</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	V.F	-	/
<i>E.coli</i>	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	V.F	-	/
<i>K. ornithinolytica</i>	/	/	/	/	+	+	-	/	/	/	/	/	+	/
<i>Providencia</i>	/	/	/	/	-	+	+	/	/	/	/	/	+	/
<i>Salmonella s.g /// (arizona)</i>	+	+	/	/	/	/	/	+	+	+	/	V.F	-	+
<i>Salmonella majorité</i>	+	+	/	/	/	/	/	+	+	+	/	V.F	-	-
<i>Serratia</i>	+	+	/	/	/	/	/	+	+	+	/	V.F	-	+
Période Mai / Juin														
<i>Plesoimonas shigelloides</i>	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	V.F	+	/
<i>Salmonella bongori</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	V.F	+	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	V.F	+	/
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	V.F	+	/
<i>Providencia</i>	/	/	-	-	-	+	+	/	/	/	/	V.F	+	/
<i>Providencia alcalifaciens</i>	/	/	+	-	-	+	+	/	/	/	/	V.F	+	/

**Annexe**

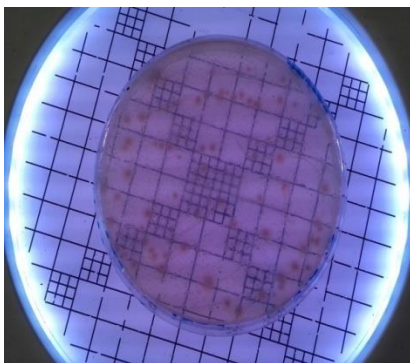
<i>Salmonella Sg 1</i>	/	/	-	-	-	+	+	/	/	/	/	V.F	+	/
<i>Salmonella sg 3 arizona</i>	/	/	+	+	/	/	/	+	+	+	/	V.F	-	-
<i>Salmonella enterica ssp</i>	/	/	+	-	/	/	/	+	+	+	/	V.F	-	+
<i>Pseudomonas mendocina</i>	/	/	-	-	/	/	/	-	-	+	-	V.F	-	/
<i>E coli</i>	/	/	-	-	/	/	/	+	+	+	-	V.F	-	/
<i>Serratia</i>	/	/	-	-	/	/	/	+	+	+	-	V.F	-	/



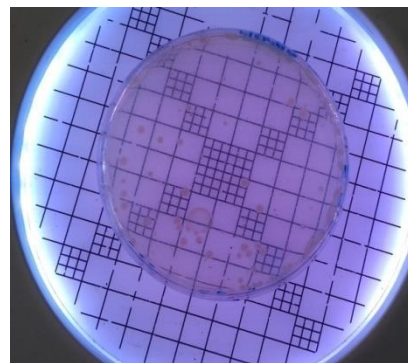
**Figure 02 :** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 37°C Pour les eaux de l'oued



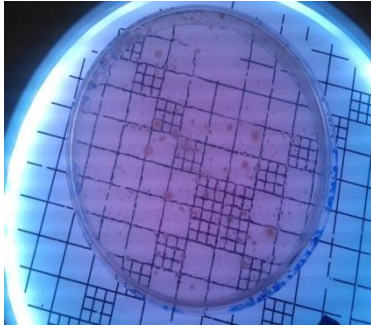
**Figure 03 :** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 22°C pour les eaux de l'oued



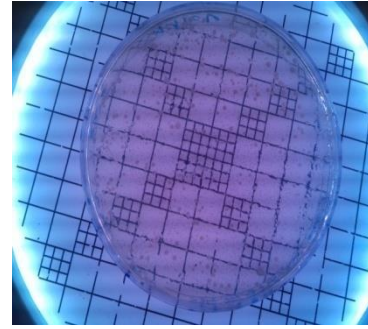
**Figure 04 :** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 37°C pour les eaux de forage



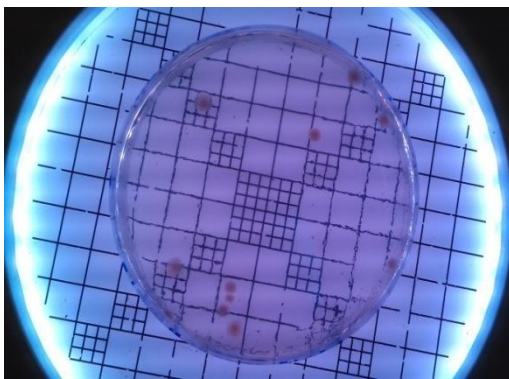
**Figure 05:** Représentation des boîtes de Pétries correspondant à la recherche de la FMAT 22°C pour les eaux de forage



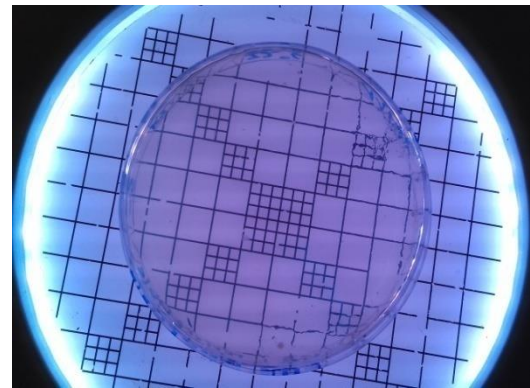
**Figure 06:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 37°C pour l'eau de R1



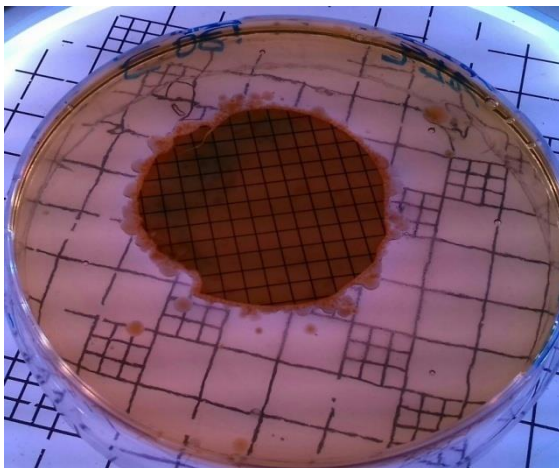
**Figure07:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 22°C pour l'eau de R1



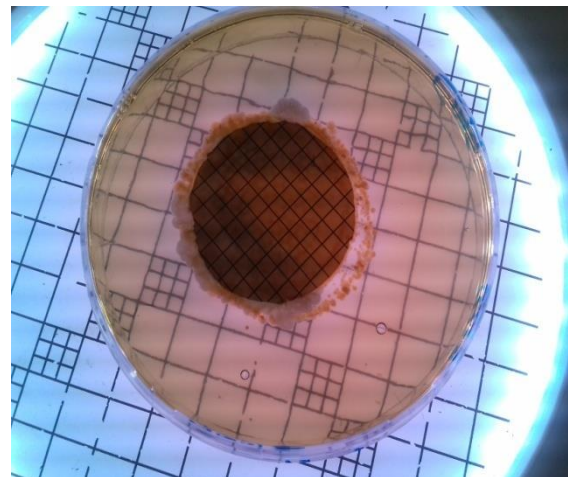
**Figure 08 :** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 37°C pour l'eau de R2



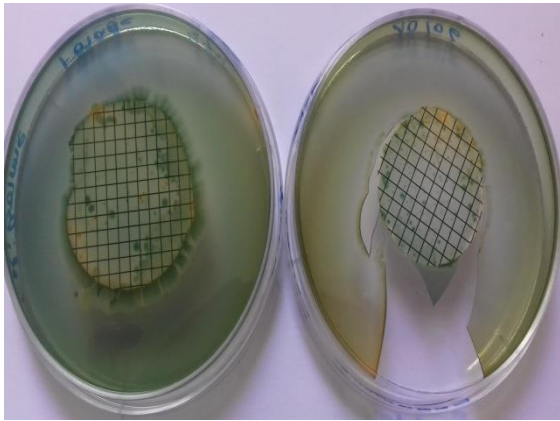
**Figure 09:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche de la FMAT 22°C pour l'eau de R2



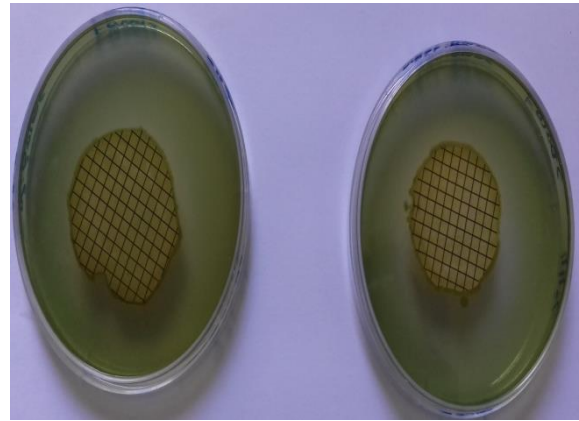
**Figure 10 :** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des CT 37°C pour les eaux de l'oued



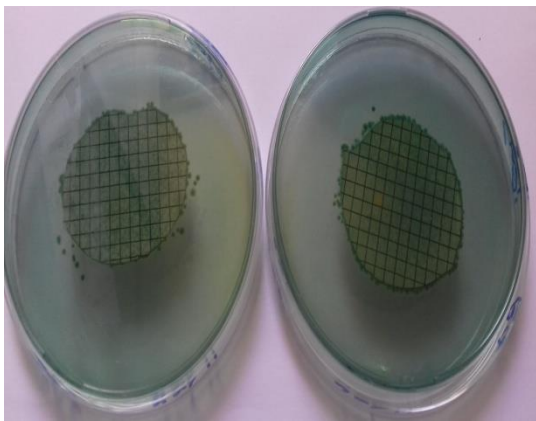
**Figure 11:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des CF 44°C pour les eaux de l'oued



**Figure 12:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CT 37°C pour les eaux de forage



**Figure 13:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CF 44°C pour les eaux de forage



**Figure 14:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CT 37°C pour l'eau du R1



**Figure 15:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CF 44°C pour l'eau du R1

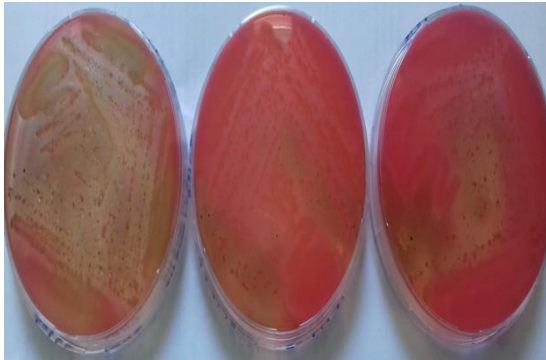


**Figure 16:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CT 37°C



**Figure 17:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des CF

pour l'eau du R2

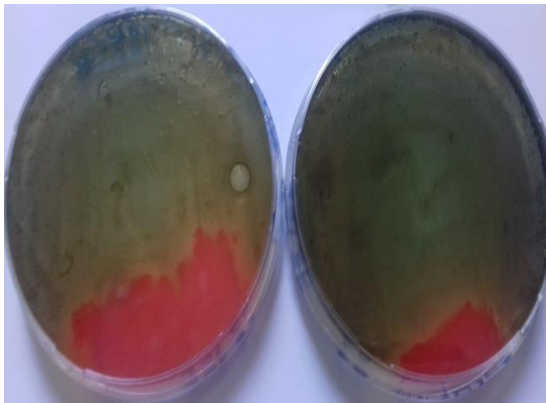


**Figure 18:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Salmonelles pour les eaux de l'oued

44°C pour l'eau du R2



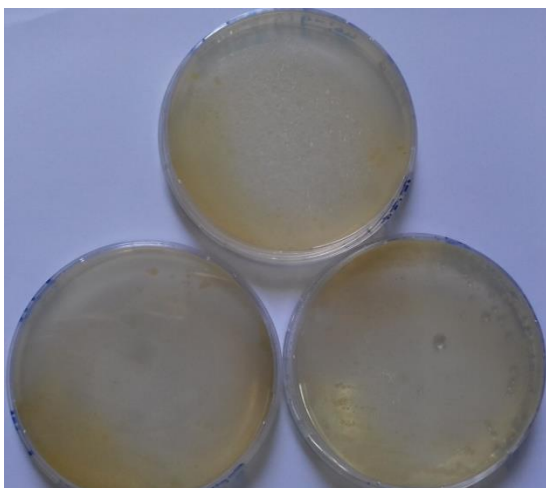
**Figure 19:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Salmonelles pour les eaux de forage



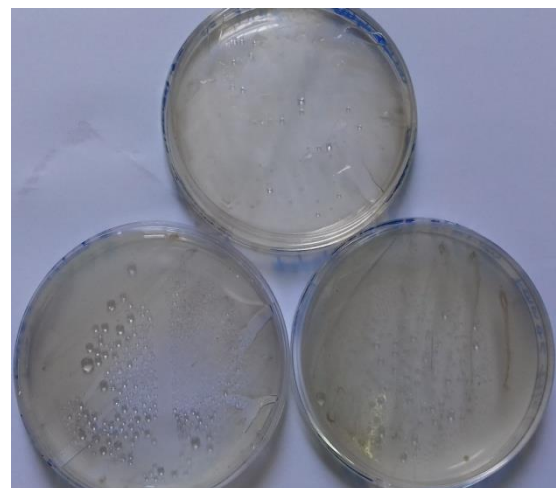
**Figure 20:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Salmonelles pour l'eau du R1



**Figure 21:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Salmonelles pour l'eau du R2

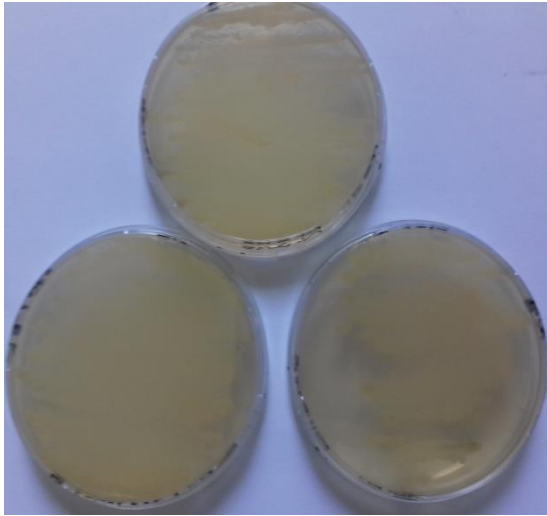


**Figure 22:** Représentation des boîtes de pétries



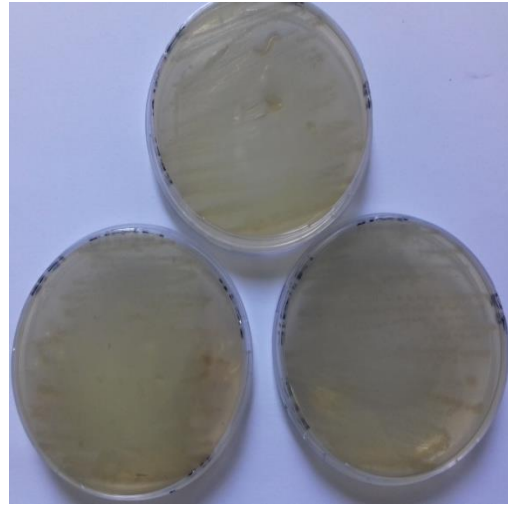
**Figure 23:** Représentation des boîtes de

correspondant à la recherche des Vibriion pour les eaux de l'oued

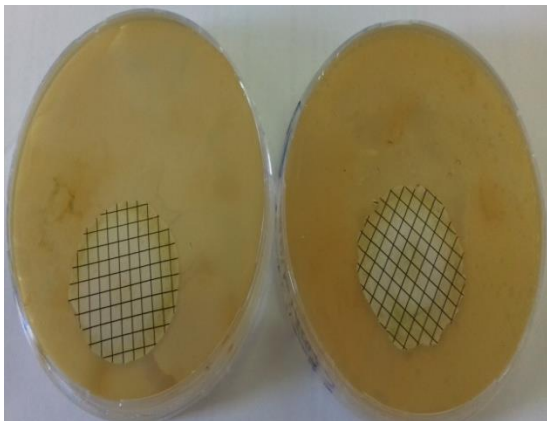


**Figure 24:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des Vibriion pour l'eau du R1

pétries correspondant à la recherche des Vibriion pour les eaux de forage



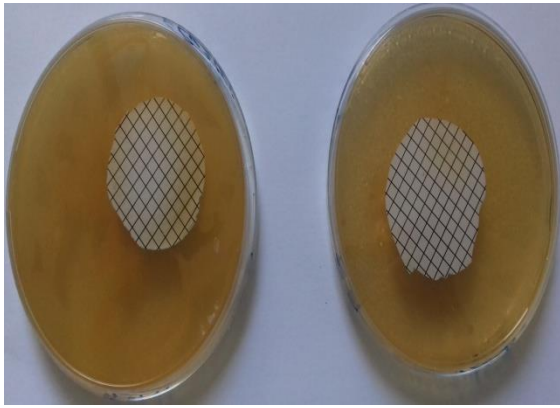
**Figure 25:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des Vibriion pour l'eau du R2



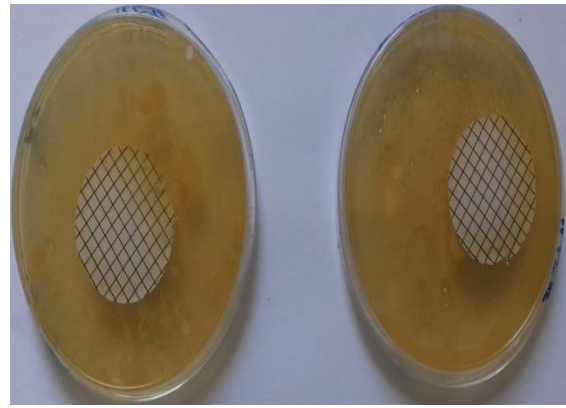
**Figure 26:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des Clostridium pour les eaux de l'oued



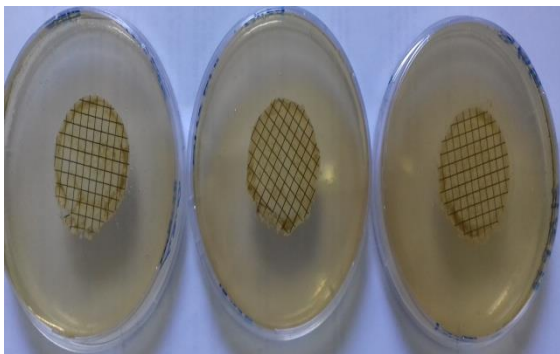
**Figure 27:** Représentation des boites de pétries correspondant à la recherche des Clostridium pour les eaux de forage



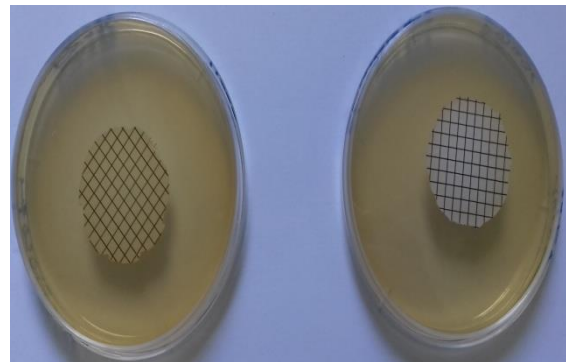
**Figure 28:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Clostridium pour l'eau du R1



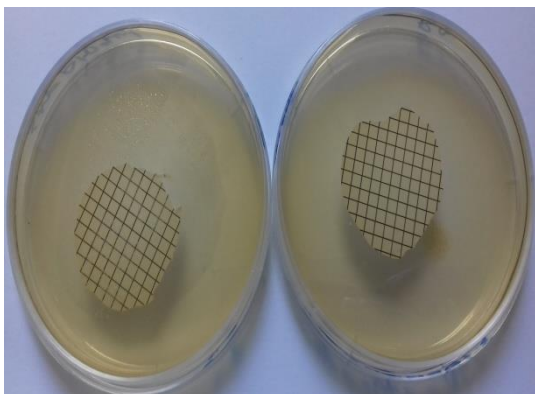
**Figure 29:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des Clostridium pour l'eau du R2



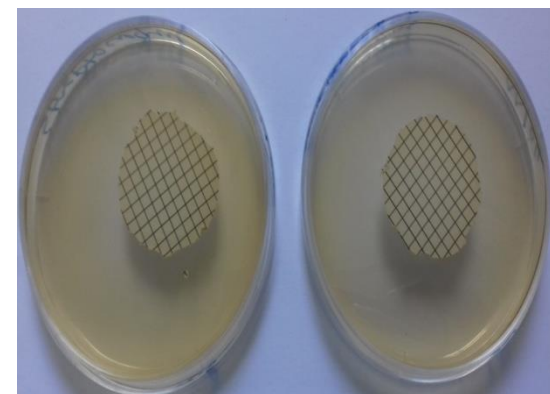
**Figure 30:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des SF pour les eaux de l'oued



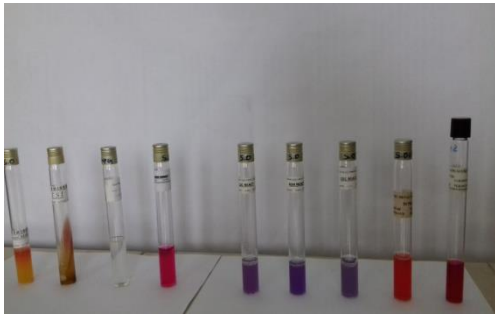
**Figure 31:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des SF pour les eaux de forage



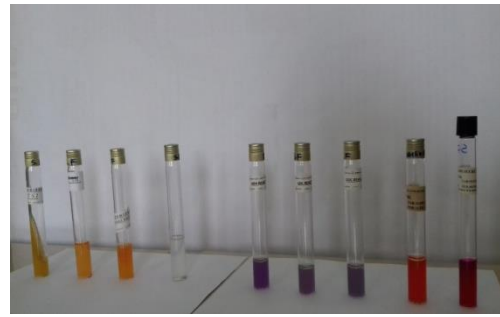
**Figure 32:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des SF pour l'eau du R1



**Figure 33:** Représentation des boîtes de pétries correspondant à la recherche des SF pour l'eau du R2



**Figure 35:** Représentant l'identification des Salmonelles au niveau de l'Oued



**Figure 36 :** Représentant l'identification des Salmonelles au niveau des Forage



**Figure 37:** Représentant l'identification des Salmonelles au niveau de R1



**Figure 38:** Représentant l'identification des Salmonelles au niveau de R2



**Figure 39:** Représentant l'identification des Vibrien au niveau de l'Oued



**Figure 40 :** Représentant l'identification des Vibrien au niveau des Forages



**Figure 41:** Représentant l'identification des Vibrien au niveau de R1



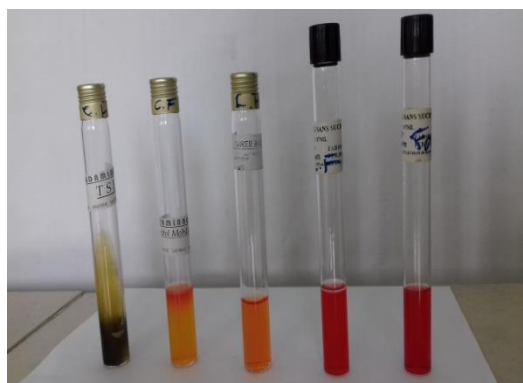
**Figure 42:** Représentant l'identification des Vibrien au niveau de R2



**Figure 43:** Représentant l'identification des Coliforme Totaux 37°C au niveau de l'Oued



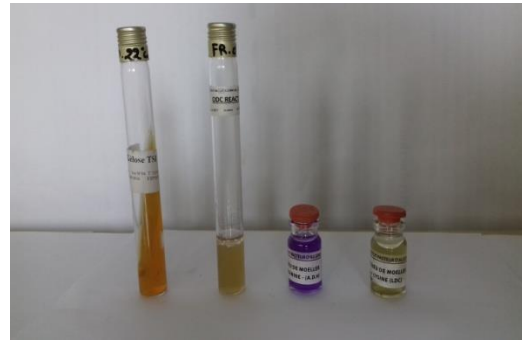
**Figure 44:** Représentant l'identification des Coliforme Fécaux 44°C au niveau de l'Oued



**Figure 45:** Représentant l'identification des Coliforme Totaux 37°C au niveau des Forages



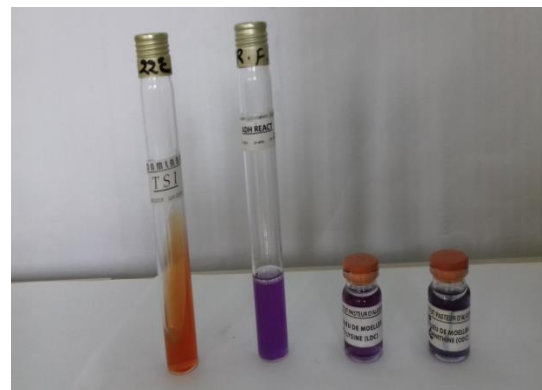
**Figure 46:** Représentant l'identification de la FMAT 37°C au niveau de l'Oued



**Figure 47:** Représentant l'identification de la FMAT 22°C au niveau de l'Oued



**Figure 48:** Représentant l'identification de la FMAT 37°C au niveau des Forages



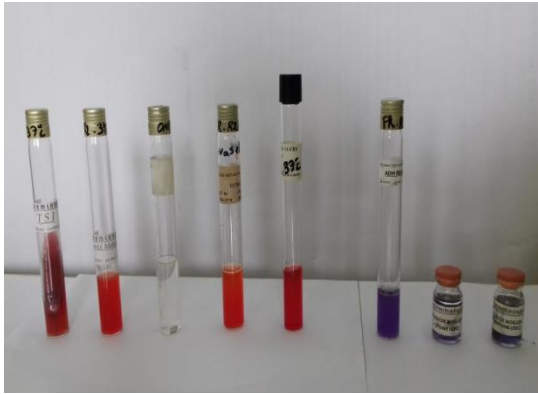
**Figure 49:** Représentant l'identification de la FMAT 22°C au niveau des Forages



**Figure 50 :** Représentant l'identification de la FMAT 37°C au niveau de R1



**Figure 52 :** Représentant l'identification de la FMAT 22°C au niveau de R1

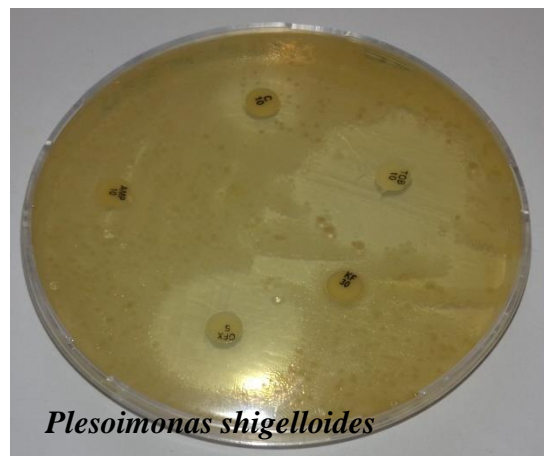
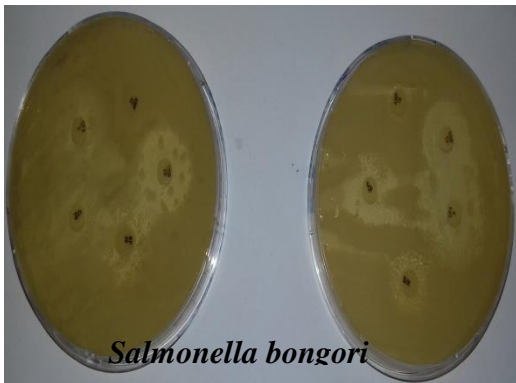


**Figure 52:** Représentant l'identification de la FMAT 37°C au niveau de R2



**Figure 53:** Représentant l'identification de la FMAT 22°C au niveau de R2

**Boîtes correspondante aux tests d'antibiogramme**

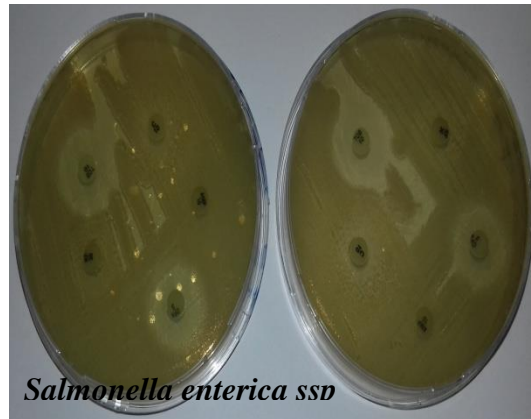




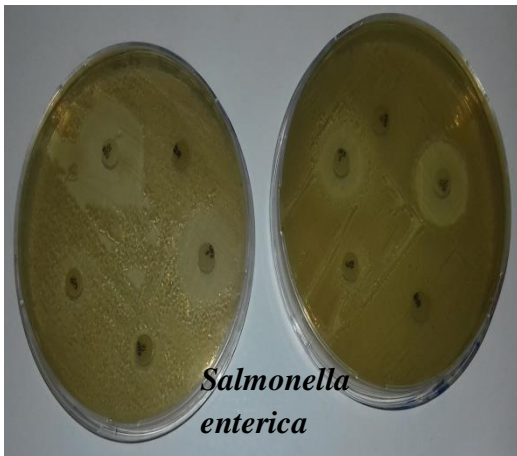
*Salmonella sg 3 arizona*



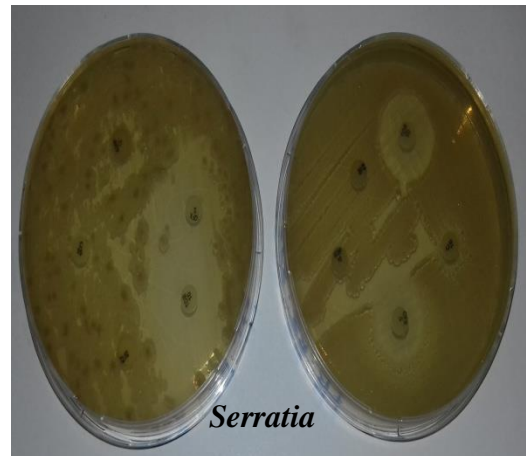
*Salmonella Sg 1*



*Salmonella enterica ssp*



*Salmonella enterica*



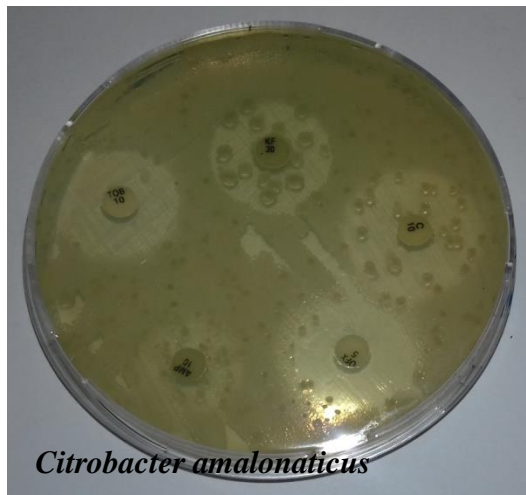
*Serratia*



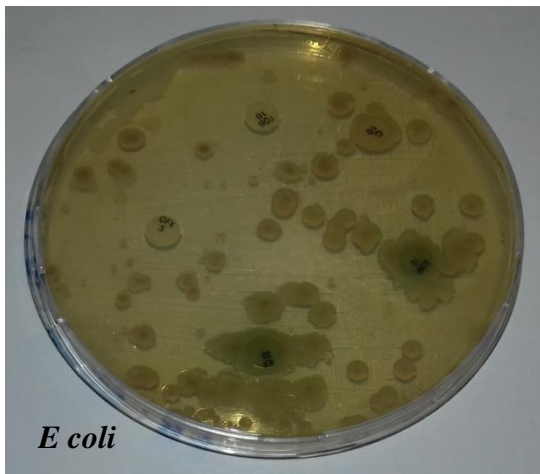
*Providencia*



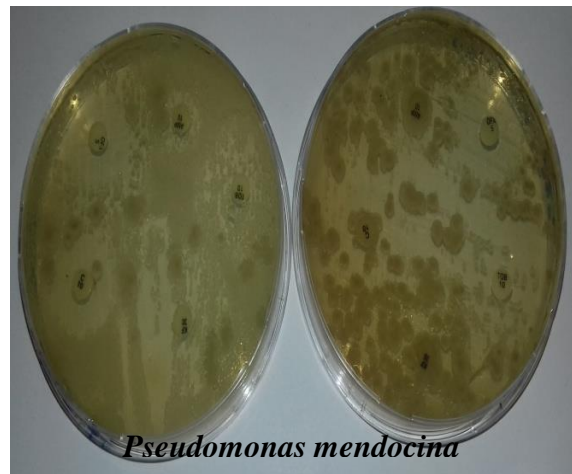
*Providencia alcalifaciens*



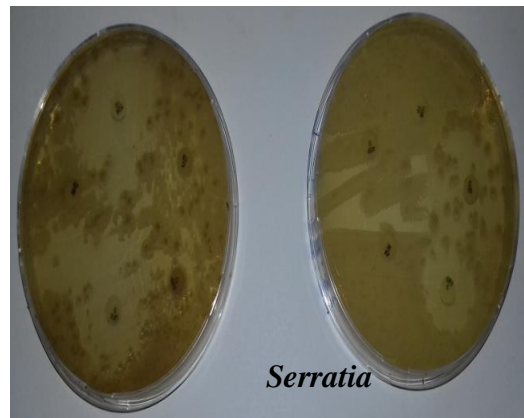
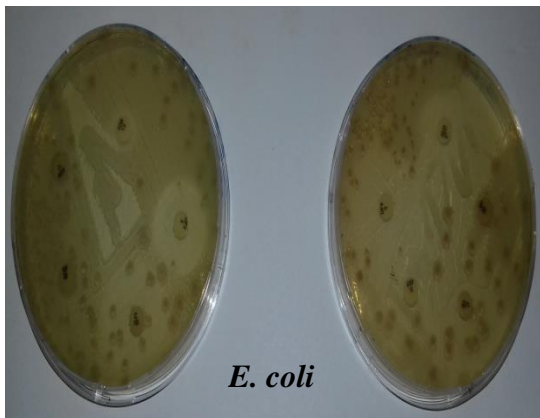
*Citrobacter amalonaticus*



*E coli*



*Pseudomonas mendocina*



## **Résumé**

Notre étude porte sur l'impact des rejets de la STEP Est de Tizi-Ouzou, sur l'ensemble récepteur hydraulique : Oued, Forages et réseau de distribution, pour cela nous avons procédé à des analyses microbiologiques ; dénombrement, identification puis essai de l'anti bio résistance. D'une façon générale les résultats du dénombrement de la flore revivifiable pour l'oued, forages et robinets dépassent de loin les normes fixées par l'OMS ; les résultats des coliformes, clostridiums et des streptocoques sont conformes aux normes fixées par l'OMS. L'identification des bactéries a pu mettre en évidence 17 bactéries ; 100 % des bactéries sont présentes dans les eaux de l'Oued, qui a été contaminé par les rejets de la STEP, 79% des bactéries, ont pu passer de l'oued aux forages. Certaines bactéries sont présentes au niveau des réseaux de distribution qui s'explique par un manque de chlore libre qui est en moyenne de 0.07mg/l au bout des robinets, et aussi un manque d'autres ouvrages de traitement tel que la filtration et la coagulation floculation. Plusieurs souches bactériennes isolées ont montré de fortes résistances aux antibiotiques utilisés. On conclut qu'il y a une contamination microbienne qui vient des eaux de rejets de la STEP Est et passe de l'oued vers les forages, vu la destruction du filtre naturelle de la nappe par l'extraction anarchique des agrégats de l'aquifère ; cette contamination risque de parvenir au robinet du consommateur.

**Mots clés :** STEP, Oued, Forage, eaux de distribution, Qualité bactériologique, anti bio résistance

## **Abstract**

Our study focuses on the impact of the discharges from the Tizi-Ouzou East wastewater treatment plant on the hydraulic receiver: wadi, areas of drilling and consumption, for this we conducted microbiological analyzes; dismemberment, identification and testing of the organic anti-resistance. In general, the results of the dismemberment of the revived flora for oued, boreholes and taps far exceed the standards set by WHO. The results of coliforms, clostridiums and streptococci are in line with WHO standards. The identification of the bacteria could highlight 17 bacteria; 100% of the bacteria are present in the water of the wadi, which was contaminated by the discharges of the purification plant, 79% of the bacteria, they could pass from the wadi to the boreholes. . Some bacteria are present in drinking water; this is due to a lack of free chlorine which averages 0.07 mg / l at the end of the taps, and also a lack of other treatment facilities such as filtration and coagulation flocculation. Several isolated bacterial strains showed high resistance to the antibiotics used. It is concluded that there is microbial contamination that comes from the East WWTP wastewater and flows from the wadi to the boreholes, due to the destruction of the natural filter of the aquifer by the uncontrolled extraction of the aggregates of the aquifer; this contamination is likely to reach the consumer's faucet.

**Key words:** WWTP, Wadi, Drilling, drinking water, Bacteriological quality, anti-bio resistance