



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

**Etude bibliographique sur la pollution bactériologique qui
menace la qualité de l'eau du Barrage Beni Haroun, willaya de
Mila.**

Préparé par :

- BOUSMAHA Sara
- BOUCHEMMA Rayane

Le : 12/10/2020

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr BENKAHOUL Malika (MCB- UFM Constantine 1).

Encadrante : Dr BOUBEKRI Karima (MCA- UFM Constantine 1).

Examineur : Dr BOULAHROUF Khaled (MCB- UFM Constantine 1).

Tutrice : Mme BOUTADJINE Hiba (Doctorante- UFM Constantine 1)

Année universitaire

2019- 2020

Résumé

Le barrage est le moyen le plus sûr qui permet de préserver l'eau pour une consommation ultérieure. Leurs différents usages peuvent varier d'un barrage à un autre. Cependant, le point commun avec ces édifices est le blocage de l'eau coulante qui par conséquent limite la circulation des espèces animales aquatiques ainsi que les sédiments.

Dans le présent travail, nous avons développé une étude documentaire pour déterminer la qualité bactériologique de l'eau du barrage Beni Haroun, le plus grand complexe hydraulique à la wilaya de Mila, Algérie.

Notre recherche a démontré que la pollution des écosystèmes aquatiques pose un grand problème dans de nombreux barrages, précisément le barrage Beni Haroun, qui souffre de différents polluants. En effet, la plupart des études déjà faites concernant la qualité des eaux superficielles de ce barrage ont démontré une teneur élevée en nutriments comme le phosphore et l'azote. Cette eutrophisation des eaux induit la prolifération de certaines espèces de cyanobactéries produisant des toxines au niveau des couches superficielles des retenues du barrage.

Au dernier chapitre, nous avons entamé une étude détaillée sur les méthodes d'échantillonnage, transport et conservation, ainsi que les méthodes mises en œuvre pour la recherche et l'identification phénotypique et moléculaire des bactéries des eaux, spécialement les cyanobactéries.

Finalement, cette étude a démontré que les cyanobactéries sont une source de toxines qui restent présentes dans l'eau même après son traitement dans les stations d'eau potable. Donc, d'éventuelles recherches devraient être effectuées afin de trouver un moyen pour éliminer ces toxines qui sont un risque potentiel pour la santé des organismes.

Mot clés : barrage, Beni Haroun, pollution, les bactéries pathogènes, cyanobactéries, les toxines.

Abstract

The dam is the safest way to preserve water for a later consumption. Their different uses may vary from one dam to another. However, the common point with these buildings is the blockage of flowing water which consequently limits the circulation of aquatic animal species as well as sediments.

In the present work, we have developed a documentary study to determine the bacteriological quality of the water of the Beni Haroun dam, the largest hydraulic complex in the wilaya of Mila, Algeria.

Our research has shown that the pollution of aquatic ecosystems is a big problem in many dams, especially the dam of Beni Haroun, which suffers from various pollutants. In fact, most of the studies already carried out concerning the quality of the surface water of this dam have demonstrated a high content of nutrients such as phosphorus and nitrogen. This eutrophication of the water induces the proliferation of certain species of cyanobacteria which produce toxins in the surface layers of the dam reservoirs.

In the last chapter, we started a detailed study on the methods of sampling, transport and conservation, as well as the methods implemented for the research and the phenotypic and molecular identification of water bacteria, especially cyanobacteria.

Finally, this study has shown that cyanobacteria are the source of toxins that remain in water even after its treatment in drinking water stations. Therefore, possible research should be done to find a way to eliminate these toxins which are a potential health risk for organisms.

Keywords: dam, Beni Haroun, pollution, pathogenic bacteria, cyanobacteria, toxins.

ملخص

السد هو الوسيلة الأكثر ضمانا للمحافظة على المياه لاستهلاكها لاحقا، حيث ان استخداماتها تختلف من سد إلى آخر، بحيث تشترك هذه السدود في منع تسرب وتدفق المياه وتضع بذلك حدا لحركة الكائنات البحرية والرواسب لحد سواء. ومن خلال عملنا الحالي قمنا بدراسة نحدد من خلالها الجودة والنوعية البكتريولوجية لمياه سد بني هارون، الذي يعد أكبر مجمع هيدرولوجي في ولاية ميلة في الجزائر.

كما أظهر بحثنا أن تلوث الانظمة البيئية المائية يمثل مشكلة كبيرة في العديد من السدود وبالتحديد سد بني هارون الذي يعاني من أنواع مختلفة من التلوث. في الواقع، أظهرت معظم الدراسات التي أجريت بالفعل بشأن جودة المياه السطحية لهذا السد، نسبة عالية من العناصر الغذائية مثل الفوسفور والنيتروجين. وهذا التلوث في الماء يؤدي إلى تكاثر أنواع معينة من البكتيريا الزرقاء التي تنتج السموم في الطبقات السطحية لخزانات السد.

في الفصل الأخير تطرقنا الى دراسة تفصيلية حول كيفية أخذ العينات، والنقل، والحفظ وكذا الطرق المطبقة للبحث والتعرف الظاهري والجزئي لبكتيريا الماء، وخاصة البكتيريا الزرقاء.

وفي الأخير أظهرت الدراسة أن البكتيريا الزرقاء هي مصدر للسموم المتواجدة في الماء حتى بعد معالجتها في محطات معالجة المياه الصالحة للشرب وعليه يجب القيام بأبحاث تمكننا من العثور وإيجاد وسيلة للتخلص من السموم التي تشكل خطراً محتملاً على صحة الكائنات الحية.

الكلمات المفتاحية: السد، بني هارون، التلوث، البكتيريا الممرضة، البكتيريا الزرقاء، السموم

Remerciements

Après avoir rendu grâce à Dieu le Tout-Puissant et le miséricordieux nous tenons à remercier vivement tous ceux qui, de près et de loin ont participé à l'aboutissement de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à notre encadrante :

« Dr. BOUBEKRI Karima » Maître de Conférences classe A
À l'Université Frères Mentouri-Constantine 1, pour sa patience, sa Contribution, son encouragement et sa disponibilité qui nous a permis d'achever ce modeste travail.

Nous remercions également Dr BENKAHOUL Malika (MCB) et Dr BOULAHROUF Khaled (MCB) qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'examiner notre travail.

Nous tenons aussi à remercier profondément notre tutrice, nos familles, nos amis, toutes les personnes qui nous ont soutenus pour la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à mes plus chers au monde.

À tous ceux qui m'ont consacré temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

Tout d'abord à mes parents et spécialement à ma très chère mère, la bougie qui a éclairé ma vie et ma source de succès « Saliha » pour son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie.

À mon très cher père « Abdel Hafid », le meilleur guide dans ma vie, pour son soutien, son aide, sa compréhension, son amour et ses sacrifices.

Puisse Dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À ma moitié et ma belle-sœur la source de sourire dans ma vie « Dikra » "Souvenir".

À mon plus cher frère, le symbole de fidélité et de la paix le meilleur frère dans le monde « Islam ».

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Pour tout l'amour et l'entente qui nous unissent, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

À mes chères amies : « Romaïssa » qui a une place particulière dans mon cœur, qui a toujours avec moi, pour leur soutien, leur aide et ses encouragements, « Chaïma », « Chahí », « Sara » et « Souha ».

À mon très cher binôme Sara avec laquelle j'ai réalisé ce travail, pour ses efforts et aux très bons moments quand a passés ensemble. Je te souhaite une belle vie et un parcours lumineux.

J'adresse mes sincères remerciements à toute personne qui par ses paroles, ses écrits, ses conseils et ses critiques a contribué à la réalisation de ce travail.

« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur, elles sont les charmantes jardinières par qui nos âmes fleuries » Marcel Proust.

Rayane

Dédicace

Grâce à dieu tout puissant, qui m'a guidé tout le long de ma vie et qui m'a permis de réaliser ce mémoire que je dédie à

Mes très chers merveilleux parents ; ma mère Houria et mon père Mohamed, auxquels je leur dois tout mon respect et mon amour pour tous leurs tendresse, soutien, encouragement, patience et sacrifice.

À la personne qui m'a toujours aidé et encouragé, et était à mes côtés durant toute la période d'élaboration de cette modeste étude ; mon fiancé Yakoub.

À mes frères Mourad, Rami et Nadir que j'aime tant pour leur soutien et leur encouragement.

À toute ma famille, précisément Samira, Fouad et ma chère tante wafa qui occupent une partie de mon cœur telle qu'une grande sœur et une amie qui était toujours à mes côtés tout au long de cette année.

À mes très chères amies Meriem, Hajar et Youssra avec lesquelles j'ai partagé des moments et des souvenirs inoubliables durant tout mon parcours universitaire.

Une spéciale dédicace à mon binôme Rayane. Merci pour ta confiance, ma chère.

À toute la promo BMM que j'aime tant chacun par son nom.

À tous ceux que je n'ai pas cités et qu'ils restent dans mon cœur.

Sara.

Table des matières

Introduction.....	1
-------------------	---

Recherche bibliographique

Chapitre 1 : les barrages

1 Les barrages.....	3
1-1 L'eau des barrages.....	3
1-2 Les types des barrages.....	3
1-2-1 le barrage-voûte.....	3
1-2-2 Le barrage à contreforts.....	4
1-2-3 Le barrage-poids.....	5
1-3 Rôle des barrages.....	5
1-3-1 - Distribution d'eau pour usages domestiques.....	6
1-3-2 - La faune aquacole.....	6
1-3-3 Hydroélectricité.....	6
1-3-4 Contrôle des crues.....	7
1-3-4 L'irrigation.....	7
1-4 Localisation et caractéristiques du barrage de Beni Haroun.....	7
2 Les problèmes des barrages en Algérie.....	8
2-1 Problèmes de la pollution.....	9
2-1-1 Pollution microbiologique.....	9
2-1-2 Pollution chimique	10

Chapitre 2 : La microbiologie des eaux

1-1 Généralités.....	11
1-2 Les bactéries pathogènes.....	11
1-2-1 Les coliformes totaux.....	11
1-2-1-1 <i>Escherichia coli</i>	12
1-2-1-2 <i>Enterobacter aerogenes</i>	13
1-2-1-3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
1-2-1-4 <i>Salmonella</i>	14

Table des matières

1-2-1-5 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1-2-1-6 <i>Vibrio cholerae</i>	15
1-2-1-7 <i>Legionella pneumophila</i>	15
1-2-1-8 <i>Shigella</i>	16
1-2-1-9 Les Clostridium sulfite réducteurs.....	17
1-2-1-10 Campylobacters.....	18
1-2-1-11 <i>Aeromonas</i>	18
1-2-1-12 <i>Mycobacteries</i>	19
1-2-1-13 <i>Leptospires</i>	19
1-3 Facteur de prolifération des bactéries d'origine hydrique.....	20

2- Les cyanobactéries

2-1 Généralités sur les cyanobactéries.....	21
2-2 Les adaptations morphologiques.....	22
2-2-1 Les cellules végétatives.....	23
2-2-2 Akinètes.....	24
2-2-3 Hétérocystes.....	25
2-3 Habitat et écologie.....	26
2-4 Mode de reproduction.....	27
2-5 Les cyanobactéries toxiques.....	28
2-5-1 Les cyanotoxines.....	28
2-5-1-1 Hépatotoxines.....	29
2-5-1-2 Dermatotoxines.....	30
2-5-1-3 Neurotoxines.....	31

Chapitre 3 : méthodes de prélèvement et d'analyse des échantillons

1 Présentation de la Zone d'étude.....	33
2 Préparation du matériel de prélèvement.	34
3 Prélèvement des échantillons d'eau.....	34
3-1 Méthodes de prélèvement	34

Table des matières

3-2 La technique de prélèvement d'eau au niveau des barrages.....	35
3-3 Étiquetage des échantillons.....	35
4 Transport et conservation au laboratoire.....	35
5 Analyses bactériologiques.....	36
5-1 Recherche et dénombrement des coliformes.....	37
5-1-1 Technique en milieu liquide sur BCPL.....	38
5-1-2 Recherche des coliformes totaux.....	39
5-1-3 Recherche des coliformes fécaux.....	40
5-1-4 Recherche et dénombrement des <i>salmonella</i>	41
5-1-5 Recherche des <i>staphylocoques</i>	42
5-1-6 Recherche de <i>pseudomonas aérogrosa</i>	44
5-1-7 Recherche et dénombrement des spores des <i>clostridium</i> sulfite-réducteur..	46
5-1-8 Recherche de <i>Vibrio cholerae</i>	47
6 L'identification bactériologique.....	49
6-1 Examen macroscopique des caractères cultureux.....	49
6-2 Examen microscopique.....	50
7 Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques.....	51
7-1 Caractères enzymatiques... ..	51
7-2 Caractères biochimiques... ..	52
7-2-1 La galerie biochimique classique.....	52
7-2-2 La galerie API 20 E.....	53
8 Isolement et purification des cyanobactéries toxiques.....	54
8-1 Identification des isolats étudiant.....	56
8-2 Repiquage et purification.....	56
8-3 Identifications moléculaires.....	57
8-3-1 Extraction de l'ADN génomique.....	57
8-3-2 Amplification de L'ADN par PCR.....	58

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1 : représente les produits et les matériels utilisés lors de l'extraction et la PCR.... 68

Tableau 2 : Programme et cycles d'amplification de là de la Réaction en Chaîne par Polymérase (PCR).....56

Liste des figures

Figure 1 : coupe type d'un barrage-voûte.....	03
Figure 2 : le barrage d'Almoravila sur le fleuve Douro, à la frontière entre l'Espagne et le Portugal.....	04
Figure 3 : coupe type d'un barrage à contreforts.....	04
Figure 4 : barrage Daniel-Johnson dans l'est du Québec, Canada.....	05
Figure 5 : coupe type d'un barrage-poids.....	06
Figure 6 : barrage des Trois Gorges, un projet hydroélectrique gigantesque sur le fleuve Yangtsé, à Yichang, dans la province chinoise du Hubei.....	06
.....	
Figure 7 : Photos du barrage Beni Haroun.....	08
Figure 8 : Photos prises le 22-09-2020 au barrage Beni Haroun.....	10
Figure 9 : présentation microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	15
Figure 10 : présentation microscopique de <i>Pseudomonas aëroginosa</i>	17
Figure 11 : présentation microscopique <i>Vibrio cholerae</i>	18
Figure 12 : présentation microscopique de <i>Legionella</i>	19
Figure 13 : présentation microscopique de <i>Shigella</i>	20
Figure 14 : présentation microscopique de <i>Campylobacter</i>	21
Figure 15 : schéma d'une cyanobactérie.....	25
Figure 16 : cellules rectangulaires courtes (angular-short)	26
Figure 17 : les trois types des cellules : des cellules végétatives, des hétérocystes et des Akinètes.....	27
Figure 18 : hétérocyste intercalaire bipolaire et triangulaire.....	27
Figure 19 : hétérocyste terminal unipolaire rectangulaire.....	28
Figure 20 : structures chimiques de certaines molécules toxiques produites par les cyanobactéries (A : micro cystine et nodularine, B : cylindrospermopsis, C : homoanatoxine, D : anatoxine, E : saxitoxine, F : la β -N-méthylamino-L-alanine, G : lynchbyatoxine, H : l'aplysiatoxine.	32
Figure 21 : situation géographique du barrage Beni-Haroun.....	33
Figure 22 : préparation des dilutions décimales.....	36
Figure 23 : recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.	41
Figure 24 : protocole de la recherche de <i>Salmonella</i> dans les eaux.....	42

Liste des figures

Figure 25 : recherche et identification des staphylococcus dans les eaux.....	44
Figure 26 : recherche et identification de Pseudomonas aeruginosa.....	45
Figure 27 : recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite - Réducteurs.....	47
Figure 28 : procédure de la coloration de Gram.....	49
Figure 29 : protocole expérimental de l'isolement, l'identification et repiquage effectués pour l'échantillon des cyanobactéries à partir de l'eau.....	54
Figure 30 : schéma de principe de la technique de PCR.....	57

Liste des abréviations

ASR : Anaérobie sulfito-réducteur
ADH : Arginine dihydrolase
BAAR : Bacilles acido-alcool-résistants
BCPL : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol
NaCl : Chlorure de sodium
CIT : Citrate de Simmons
CO₂ : Dioxyde de carbone
DNTP : Désoxyribonucléoside triphosphate
EMJH : Ellingshausen- McCullough-Johnson-Harris
EPA : Eau peptone alcaline
EPEC : *Escherichia coli* Enter pathogènes
ETEC : *Escherichia coli* Enter toxinogènes
GEL : Gélatinase
VF : gélose viande foie
IND : Indole
LPS : Lipopolysaccharides
LDC : Lysine décarboxylase
MW : Méga Watt
NPP : Nombre le plus probable
ODC : Ornithine décarboxylase
ONPG : Orthonitrophényl-β-D-galactopyrannoside
PCR : *Polymérase Chain réaction*
rpm : Rotation par minute
SS : Salmonella-Shigella
MgSO₄: Sulfate de Magnésium
H₂S : Sulfure dihydrogène
TCBS : Thiosulfate citrate bile saccharose
TDA : Tryptophane désaminase
TSI : Triple Sugar Iron. Agar
UFC : Unités formants colonies

Liste des abréviations

URE : Uréase

VP : Voges-Proskauer

Introduction

L'eau est un élément naturel primordial au maintien de la vie de tous les êtres vivants. Ainsi, le stockage de l'eau dans des ouvrages de retenue comme les barrages est le moyen le plus sûr qui permet de la préserver pour une consommation ultérieure.

En revanche, les barrages modifient la physionomie des cours d'eau et constituent un obstacle pour la circulation des espèces et sédiments. Les eaux coulantes deviennent des eaux stagnantes sensibles aux changements de température. Ainsi, les barrages ont des conséquences majeures sur la composition de la flore et de la faune.

Actuellement, la pollution des écosystèmes aquatiques pose un grand problème dans de nombreux barrages dans le monde, dont le barrage de Beni Haroun, le plus grand complexe hydraulique en Algérie avec une capacité de 1 milliard de m³ (Harrat *et al.*, 2007). Ce barrage est situé à la wilaya de Mila, à l'aval de la confluence d'Oued Rhumel et Oued Endja à une quarantaine de kilomètres au nord de Constantine. Il alimente plus de cinq millions d'habitants et fournit également une quantité importante d'eau d'irrigation (Mebarki *et al.*, 2008). Cette structure souffre de différents polluants générés par les activités humaines qui sont à l'origine des problèmes environnementaux.

Les contaminants sont entraînés par les eaux de ruissellement qui coulent vers le barrage de Beni Haroun et assurent un enrichissement de l'eau en nutriments, particulièrement en phosphore, l'azote, et certains éléments contenant des traces métalliques dont les concentrations sont légèrement élevés (Bouزيد-Lagha *et al.*, 2012). Une autre étude a démontré que le barrage est caractérisé par une forte teneur en nitrate et nitrite (Harrat *et al.*, 2007).

Cet excès de nutriments cause l'eutrophisation des eaux, ce qui induit la prolifération de certaines espèces de cyanobactéries produisant des toxines au niveau des couches superficielles des retenues de barrage. Cette prolifération peut altérer la qualité de l'eau et causer des dégâts environnementaux et sociaux économiques (Kherief *et al.*, 2018).

La majorité des microorganismes sont présents naturellement dans les milieux aquatiques ayant des conditions favorables à leur croissance. Pour cela, la consommation des

Introduction

eaux brutes du barrage sans traitement préalable expose le consommateur à un risque de toxoinfection qui peut être dangereux et parfois mortel.

La présente étude vise à déterminer la qualité bactériologique de l'eau du barrage de Beni Haroun par une recherche documentaire qui a pour objectifs de :

- Identifier les différents types des barrages, dont le barrage de Beni Haroun.
- Localiser les problèmes de l'eau du barrage selon les études antérieures
- Déterminer les contaminants bactériologiques qui menacent la qualité de l'eau, dont les cyanobactéries, et leurs effets néfastes sur l'écosystème aquatique et les êtres vivants.
- Définir les méthodes d'échantillonnage et d'analyses bactériologiques des eaux brutes du barrage.

Chapitre 1 :

Les barrages

1. Les barrages

Un barrage est une barrière sur une voie d'eau qui emprisonne ou retient l'eau qui coule, en créant un lac ou un réservoir derrière la structure. En fonction de sa taille, le barrage offrira également une gamme d'autres installations. L'un des plus importants est un évacuateur de crue par lequel l'eau peut être libérée du réservoir si celui-ci devient trop plein. L'eau ne doit jamais être autorisée à s'écouler au-dessus d'un barrage, car cela pourrait éventuellement conduire à son échec (Lemzadmi *et al.*, 2017).

Les barrages peuvent également être créés par des forces géologiques naturelles. Les barrages volcaniques se forment lorsque des coulées de lave, souvent basaltiques, interceptent le chemin d'un cours d'eau ou d'un lac, ce qui entraîne la création d'un bassin de retenue naturelle (Amara, 2018).

1. Les types des barrages :

Il existe plusieurs types de barrages, chacun adapté à une situation différente.

1.1 Le barrage-voûte

Le barrage-voûte est un ouvrage particulièrement élégant ; en raison de la forme arquée du barrage (**figure 1**). Ce type de barrage convient parfaitement aux gorges étroites avec des culées solides. La gorge a souvent la forme d'un V ; moins souvent, c'est une forme en U (figure 2). Un barrage voûte est un barrage en béton qui est incurvé en amont dans le plan. Ils utilisent beaucoup moins de béton que tout autre type de barrage (Chanson et James, 2002).

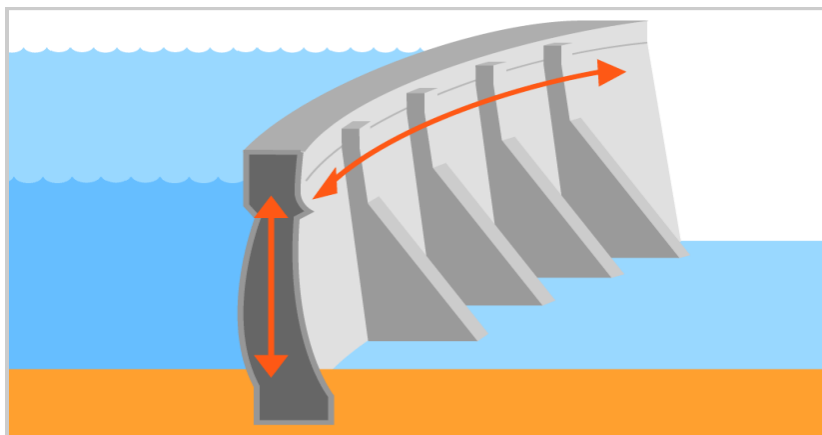


Figure 1 : Coupe type d'un barrage-voûte

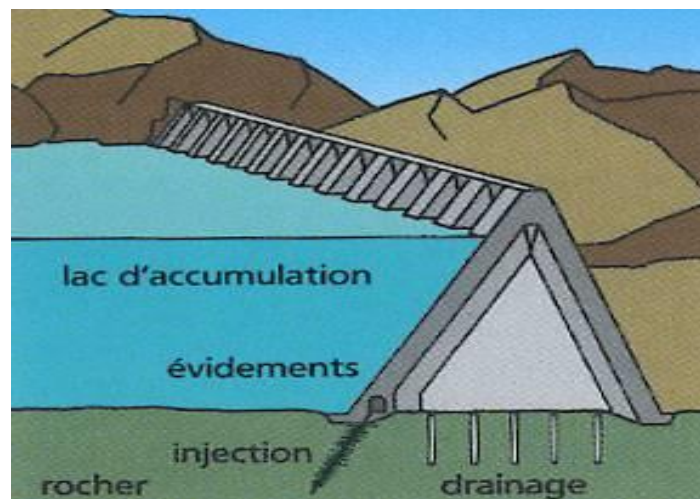


© Shutterstock.com

Figure 2 : Le barrage d'Almoravila sur le fleuve Douro, à la frontière entre l'Espagne et le Portugal

1.2 Le barrage à contreforts

Un barrage à contreforts (**figure 3**) consiste en une membrane ou un tablier en pente retenant l'eau en amont qui est soutenu par une série de contreforts perpendiculaires à l'axe du barrage



© (<http://www.swissdams.ch/fr/les-barrages>)

Figure 3 : Coupe type d'un barrage à contreforts

Chapiter 01: les barrages

(<http://www.swissdams.ch/fr/>). Les contreforts, relativement minces, conduisent les efforts jusqu'aux fondations. Ce mode de construction se subdivise en sous-catégories ; contreforts à têtes arrondies à masque amont et à voûtes multiples. Le plus grand barrage de ce type au monde (**figure 4**) se trouve au Québec (Adeline, 2018).



©musees.qc.ca/Fr

Figure 4 : Barrage Daniel-Johnson dans l'est du Québec, Canada

1.3 Le barrage-poids

Le barrage-poids se caractérise par sa masse. Très lourd, il a en principe, dans une coupe verticale, une forme triangulaire (**figure 5**). Son poids suffit à contenir la poussée et la pression exercée par l'eau. Sa stabilité est alors assurée en partie par son poids et en partie par son appui sur les rives (Adeline, 2018). Le plus grand barrage-poids au monde, c'est le barrage des Trois Gorges (**figure 6**), situé au cœur de la province du Hubei. Sa construction démarrée en 1994 et achevée en 2000 a nécessité vingt-sept millions de mètres cubes de béton. D'une superficie de 1 084 kilomètres carrés, le réservoir peut contenir 39,3 milliards de mètres cubes d'eau ([https : //total. direct-energie.com](https://total.direct-energie.com)).

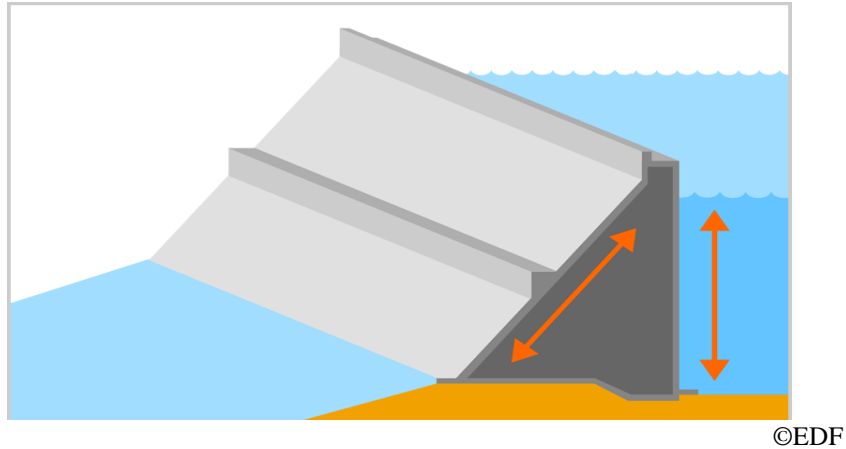


Figure 5 : Coupe type d'un barrage-poids



Figure 6 : Barrage des Trois Gorges, un projet hydroélectrique gigantesque sur le fleuve Yangtsé, à Yichang, dans la province chinoise du Hubei (centre)

2. Rôle des barrages

La majorité des barrages sont à but unique, mais il y a un nombre grandissant de barrages polyvalents. Ils sont très importants pour le monde.

2.1 Distribution d'eau pour usages domestiques

Permettre de canaliser, régulariser et de sécuriser l'alimentation par l'eau potable dans les grandes métropoles du monde (*Icold cigb*).

2.2 La faune aquacole

Les barrages permettent le passage des poissons et des espèces comme le saumon ou certaines anguilles, de remonter le cours d'eau (bloqué) vers l'amont, souvent à des fins de reproduction (Chocat., 2014).

2.3 Hydroélectricité

La force de l'eau est utilisée pour créer de l'énergie et la production d'électricité. Plus de 90 % de l'électricité renouvelable du monde provient des barrages (Birane *et al.*, 2018).

2.4 Contrôles des crues

Le contrôle des crues est un des objectifs principaux de la majorité des barrages. Il consiste de diminuer le niveau du réservoir pour faire plus de capacité de stockage lors des saisons pluvieuses donc en stockant temporairement l'eau et en la relâchant plus tard, cette stratégie élimine les crues (Chocat, 2014).

2.5 L'irrigation

Une irrigation consiste en un apport artificiel d'eau des barrages sur des terres à des fins agricoles, c'est donc une forme de précipitation artificielle. L'irrigation est utilisée pour favoriser la croissance des cultures agricoles, et la végétalisation des sols perturbés dans les zones arides et pendant les périodes de pluies insuffisantes. Le terrain irrigué devient plus fertile (Delliou, 2008).

1.4 Localisation et caractéristiques du barrage de Beni Haroun

Le barrage de Beni Haroun est de type poids, se trouve au nord-est de l'Algérie sur oued El-Kébir-Rimel à environ 40 km de la mer méditerranée.

Le barrage est situé à l'extrémité amont de la gorge calcaro-marneuse de Beni Haroun et à 3 km de la confluence des deux oueds Ennedja et Rhumel et géographiquement au nord de la ville de Grarem Gouga située dans la wilaya de Mila

Le barrage de Beni Haroun atteint les 118 m de hauteur à partir de la fondation et 107 m au-dessus du terrain naturel, il a une longueur de 710 m à la crête. La largeur de la digue à la base est égale à 93 m et à la crête 8 m. La capacité de stockage d'eau à la cote normale est égale à 963 millions de m³. Le volume de la tranche utile est égal à

Chapiter 01: les barrages

723 millions de m³ alors que le volume moyen annuel régularisé est de l'ordre de 435 millions de m³. (Chebbah et kabour, 2018).

C'est un barrage parmi les 65 barrages opérationnels en Algérie, Le barrage de Beni Haroun est l'un aussi des 85 barrages en exploitation que compte actuellement notre pays, il constitue le plus important projet national du secteur hydraulique depuis l'indépendance. Classé deuxième grand barrage d'Afrique après Al Sad El Alli d'Égypte,

Ce barrage alimente diverses régions de la wilaya de Mila en eau potable en citant : Jijel, Constantine, Oum el Bouaghi, Batna et Khenchla. Il fournit aussi une grande quantité d'eau d'irrigation de cinq wilayas. Il est composé de trois stations de pompage d'eau brute avec une grande capacité (Chebbah et Kabour, 2018).



Figure 7 : Photo du barrage de Beni Haroun (Wikipédia)

2. Les Problèmes des barrages en Algérie

La plupart des barrages se trouvent toujours confrontés au moins à l'un des problèmes quantitatifs, comme la pollution, les fuites d'eau et même l'évaporation, et/ou à l'un des problèmes qualitatifs qui se résument à la dégradation de la qualité d'eau vis-à-vis de leur différente utilisation.

À l'heure actuelle le plus grand barrage en Algérie, celui de Beni Haroun a des problèmes entraînant des pertes en eau et des pertes de capacité de stockage.

Chapiter 01: les barrages

La qualité de l'eau dépend de plusieurs facteurs : physiques, chimiques, biologiques et humains. La contamination de l'eau est un problème majeur de pollution qui est à l'origine de différentes maladies hydriques qui ont responsables de vastes épidémies de dysenteries, fièvre typhoïde, choléra et autre. (Rodier *et al*, 2005).

2.1 Problèmes de la pollution des eaux

Selon GIAD (1984), la pollution des eaux des barrages en général c'est une modification de nature physicochimique (sels minéraux, matières en suspension, micropolluants organiques et minéraux) et biologique (bactéries, virus, parasites, cyanobactéries...) qui touche la qualité de l'eau et créer aussi un risque sanitaire pour les populations exposées via les produits agricoles c'est-à-dire la qualité d'eau utilisée pour irrigation est un paramètre essentiel pour le rendement des cultures, le maintien de la productivité du sol et la protection de l'environnement, d'une part les eaux des barrages qui doivent être destinées à la consommation humaine est impératif de se contrôler et traiter au niveau des stations d'épuration pour le potabiliser, parmi les procédés utilisés, la désinfection est universellement appliquée et empêche la propagation des maladies en inactivant des microorganismes pathogènes (Adnane, 2015).

La station d'épuration d'eau potable doit éliminer la plus grande partie des germes présents dans l'eau lors de l'étape de la désinfection, mais certain nombre des microorganismes (des bactéries, algues) peuvent se développer et former des biofilms dans les réseaux et se fixent sur les parois des canalisations, plusieurs points offrent des voies d'entrée à la contamination par des microorganismes c'est le cas des interventions sur le réseau (réparations, branchements), les fuites (dépression) et les accidents tel que des retours d'eau ou des cassures peuvent également être responsables de plusieurs problèmes sanitaires (Adnane, 2015).

Afin de potabilité une eau il faut l'encadrer par une réglementation stricte qui impose des normes et fixent les teneurs limites pour ne pas dépasser certain nombre de substances nuisibles et susceptibles d'être présentes dans l'eau, en Algérie, la qualité de l'eau de consommation humaine doit obéir à des normes définies par une réglementation locale, en citant le Journal officiel de la République algérienne qui représente les différents paramètres physicochimiques et bactériologiques. La volonté première est de fournir

Chapiter 01: les barrages

l'utilisation d'eau pour une qualité sanitaire, garantie contre tous les risques, immédiats ou à long terme réels. Pour offrir une eau de qualité organoleptique, agréable à boire, claire, inodore et équilibrée en sels minéraux.



Figure 8 : Photo prise le 22-09-2020 au barrage Beni Haroun

Selon l'origine de la pollution des eaux des barrages, on distingue certain type :

2.1.1 Pollution microbiologique

Un grand nombre de microorganismes peuvent proliférer dans les eaux et les milieux naturels grâce aux conditions favorables que l'homme a créées.

Les principaux microorganismes pathogènes qui se multiplient ou qui sont transportés dans l'eau provoquent des maladies dangereuses et même des effets néfastes comme : les bactéries pathogènes par exemple Bactéries *Legionella* peuvent provoquer la légionellose (infection pulmonaire). Et même des maladies hydriques (origine bactérienne) tel que : Fièvre typhoïde et paratyphoïde qui sont causés par *salmonella typhi* et *salmonella paratyphoïde* A, B et C (Belaid et Redjimi., 2013).

Chapiter 01: les barrages

Dans certains pays en développement comme la France, Canada, les États-Unis et les pays en voies de développement tel le Maghreb et l'Algérie ont un problème majeur de la pollution microbiologique soit par les bactéries pathogènes ou par les cyanobactéries, selon Bidi-Akli (2014) le Barrage de Zeralda en Algérie a noté une prolifération de quelques espèces cyanobactériennes tel que : *Planktothrix agardhii*, *Microcystis wesenbergii* et *Chamaesiphon polymorphus* ces espèces peuvent produire des toxines dans l'eau comme le microcystis et d'autres toxines qui ont un effet mortel sur la biodiversité aquatique. Il existe d'autres études sur la qualité d'eau du barrage des Trois Gorges, sur le Yangzi, en Chine ce dernier est le plus grand projet hydroélectrique du monde, offrant de multiple fonction, premièrement, la régularisation des crues dévastatrices du fleuve Yangtsé. Deuxièmement, l'augmentation de la charge des navires afin d'améliorer le transport maritime. Enfin, la production d'électricité grâce au formidable potentiel hydraulique du Yangtsé. Au cours des 3 dernières décennies, de nombreuses études ont indiqué que le bassin du réservoir trois gorges constaté une augmentation aiguë des espèces des cyanobactéries et des algues grâce à la présence des concentrations élevées de nutriments hydrosolubles et autres nombreux facteurs environnementaux ont été décrits comme ayant un effet sur la production de cyanotoxines. Parmi ceux-ci, l'intensité lumineuse et la température qui ont été étudiés de manière plus approfondie (Neilan *et al.* 2013), mais d'autres facteurs tels que la salinité, le vent, les métaux traces ou les polluants environnementaux semblent aussi pouvoir influencer la production de ces toxines ; Neilan *et al* (2013) indique que La densité cellulaire des cyanobactéries sont apparues en avril jusqu'en août avec des niveaux le plus élevé ensuite diminué progressivement en septembre et atteignant sa valeur la plus basse en février ou mars, au cours de l'étude de Neilan *et al* 19 genres et 45 espèces de cyanobactéries, la fréquence d'analyse a montré que *Anabaena*, *Merismopedia*, *Planktolyngbya*, *Aphanocapsa* et *Chroococcus* étaient les plus couramment détectée.

Les Genres potentiellement toxiques de cyanobactéries ayant déjà été observés dans les eaux du barrage de Trois Gorges comme *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Oscillatoria* et les toxines associées qui ont déjà identifié tel que : Cylindrospermopsines, Débromoaplysiatoxine,

Chapiter 01: les barrages

Microcystines, Saxitoxines, Anatoxines. Ces toxines peuvent être produites par des espèces différentes et qu'une même espèce peut produire différentes toxines.

Dans notre recherche on s'intéresse aussi au barrage de Beni Haroun (wilaya de Mila) ce dernier est considéré parmi les barrages le plus pollue en Algérie par les microorganismes (bactéries, algues, virus, cyanobactéries...); et par l'accumulation de cyanobactéries et leur toxine intracellulaire qui peut être affectée par les processus de forces hydrodynamiques, l'hydrologie et le comportement des cyanobactéries elles-mêmes. La croissance des cyanobactéries et la production de toxines peuvent quant à elles être affectées par d'autres facteurs, tels que la disponibilité en éléments nutritifs (Dolman *et al.* 2012) La température, les eaux douces.....Ex ; par exemple pendant l'été, on peut observer les efflorescences des phytoplanctons et certains genres des cyanobactéries comme *Microcystis* et *Anabaena*, peuvent produire les cyano toxines et autres espèces des algues bleu vert libèrent aussi des neurotoxiques et hépatotoxiques, S'appuyant sur les travaux de Kherief *et al.* (2018) soutiennent que le taux de la production de toxines est fortement corrélé au taux de croissance de l'espèce cyanobactérienne ces toxines résultent un problème pour la faune de l'écosystème, qui provoquent la mort des populations des poissons et un risque pour les utilisateurs de ces eaux.

Il y a aussi d'autres barrages dans le monde entier qui exposent le même problème de pollution microbiologique par les différents microorganismes parmi eux : le barrage d'Ain Zada (Collo, Wilaya de SKIKDA). Le barrage de Cheffia (Wilaya de TARF), le barrage de Xiluodu (chine), le barrage de Guri (Venezuela), le barrage de Hoover (États-Unis), le barrage de Serre-Ponçon (France)... ex.

2.1.2 Pollution chimique

Elle est due aux polluants chimiques de nature organique et minérale générés par les différentes activités anthropiques. Certains polluants chimiques sont particulièrement persistants, ils résistent à la dégradation chimique et biologique, ce type de pollution peut s'agir soit de substance qui n'existent pas dans la nature ex : les métaux lourds (Zn, Pb, Cd...), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les pesticides, soit de substances déjà présentes dans le milieu naturel, c'est typiquement le cas des éléments nutritifs tel que : azote, nitrate et le phosphore.

Chapiter 01: les barrages

Dans des recherches de Vezie *et al.* (2002) où ils évaluent l'effet de l'interaction de différents facteurs, en particulier les concentrations en azote et en phosphore sur la croissance et la production de toxine par certaines espèces des cyanobactéries, dans d'autres études menées dans un lac en Finlande, Wu *et al.* (2008) observent que lors d'une prolifération, les quantités de toxines sont positivement corrélées avec l'azote et le phosphore.

Wu *et al.* (2008) citent aussi des études effectuées en Amérique qui montrent que les teneurs en micro cystine sont fortement corrélées avec l'azote ; ils ont trouvés respectivement une production de toxines 10 fois moins élevée en absence d'azote et une légère baisse de la production de toxines dans des conditions de faibles teneurs en azote.

La prolifération massive des phytoplanctons potentiellement toxiques est présente depuis des centaines d'années dans les plans d'eau douce eutrophes riches par les éléments nutritifs ; selon Carrabin, (2011) les populations des cyanobactéries composant ces floraisons produisent une grande variété de métabolites secondaires, dont des cyanotoxines. Les microcystines, sont également hautement toxiques pour de nombreux organismes. La libération de micro cystines dans l'eau peut donc avoir des implications majeures sur la santé publique. À une échelle mondiale, la synthèse des microcystines est principalement due aux genres *Microcystis*, *Anabaena* et *Planktothri*, généralement ces toxines entraînent des conséquences néfastes sur la qualité de l'eau. De plus, les poissons présents dans les eaux polluées finissent par mourir, ils ont également des impacts sur l'agriculture.

La pollution chimique affecte tout le cycle de l'eau, depuis la pluie jusqu'aux eaux souterraines par exemple : 7,8% des eaux souterraines dépassent 40 mg. L⁻¹ de nitrates contre 1,6% pour les eaux de surfaces.

Chapitre 2 :

La microbiologie des eaux

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

1. La bactériologie des eaux

1.1 Généralité

La contamination des eaux due à divers agents pathogènes ce qui pose un grand problème de pollution qui remonte très loin dans le temps.

Cette pollution est causée par différents types de microorganismes. Ces derniers peuvent provoquer des maladies d'origine hydriques parfois mortelles, elles sont responsables de vastes épidémies telles que : la dysenterie, fièvre typhoïde et le choléra (George et Servais.,2002).

Dans le monde, environ 6 millions d'enfants meurent chaque année à cause des suites gastro-entérites, 100millions de gens souffrent en permanence de gastro-entérites hydriques (Conseil national de la recherche scientifique, 2004).

Ces maladies sont le plus souvent transmises par voie féco_orale et aussi par Contamination de l'homme.

1.2 Les bactéries pathogènes

Les micro-organismes pathogènes sont des bactéries qui ont des caractéristiques spécifiques qui représentent les facteurs de virulence tels que : les toxines, les hémolysines et les systèmes chélateurs de fer (Chouder, 2006), permettant de déclencher une infection.

1.2.1 Les coliformes totaux

Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulé, aérobie anaérobies facultatifs et ne possède pas de l'oxydase ; Germes sensibles au chlore, leur présence dans les échantillons d'eau indique l'existence d'un biofilm comme : Enterobacter et Klebsiella.

1.2.1.1 *Escherichia coli*

C'est un Gram négatif, bacille, de 2,5 µm de long et 0,6 µm de large, anaérobie parfois mobile soit par des cils ou des flagelles. Cette bactérie est localisée dans les ruminants (Blanc *et al*, 2006) ; Elle a un glucose positif, H₂S négatif, lactose positif, mannitol positif, sorbitol positif, bêta galactosidase positive, uréase négative et indole négatif (Nicklen ,2000).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

Ces bactéries provoquent une diarrhée modérée qui peut être distinguée d'une colite hémorragique, 2 à 7 % des cas développent un syndrome urémique hémolytique potentiellement léthal caractérisé par une insuffisance rénale grave et une anémie hémolytique.

Les enfants de moins de 5 ans sont les plus exposés à ce risque.

Les souches ETEC produisent une entérotoxine thermolabile ou/et thermostable, qui sont la cause principale d'une diarrhée dans les pays en développement particulièrement chez les enfants, des crampes abdominales, des nausées et des maux de tête concernant l'infection EPEC est caractérisée par une diarrhée grave chronique, vomissements et de fièvre chez les nourrissons.

Ces dernières infections sont rares dans les pays développés, mais fréquentes dans les pays en développement, par titre d'exemple : les nourrissons souffrent de malnutrition, de perte de poids et de retard de croissance.

Escherichia coli sont des organismes entériques, leur réservoir principal est l'homme. Elles sont rencontrées aussi dans les légumes crus comme les germes de soja et aussi dans divers environnements aqueux (Goita, 2014).

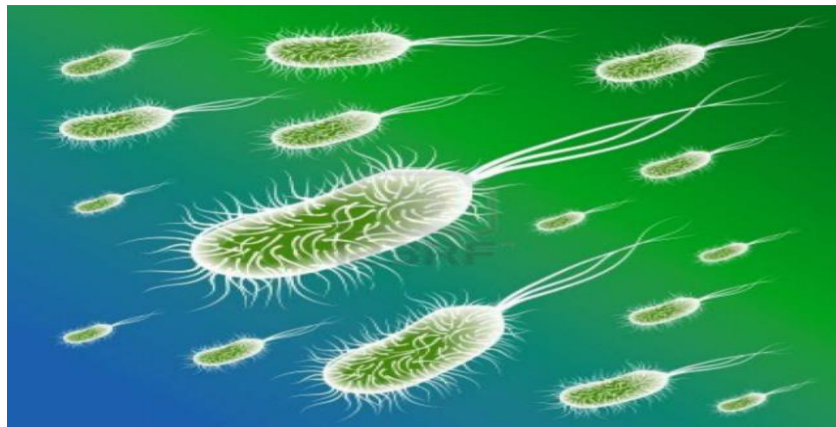


Figure 9 : présentation microscopique d'*Escherichia coli* (Goita, 2014).

1.2.1.2 *Enterobacter* aérogènes

Ce sont des bacilles à Gram négatif, mobile, elles sont caractérisées par (lactose, catalase, citrate) positifs et indole négatif (Fauchere *et al.*, 2002).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

Elles existent dans le tractus gastro-intestinal humain.

Ces bactéries sont la cause principale des infections nosocomiales diverses (Lachassinne *et al.*, 2004). Tel que les infections des voies respiratoires : la pneumonie et même les infections cutanées, abcès, bactériémie et peut conduire à une septicémie. Elle peut aussi provoquer une méningite.

1.2.1.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Elle fait partie de la famille des *pseudomonadaceae*, c'est un bacille à flagelle polaire, aérobic, Gram négatif. Elle produit un pigment bleu non fluorescent : la pyocyanine. D'autres souches produisent le pigment vert : pyoverdine.

Cette bactérie possède une catalase, l'oxydase et de l'ammoniaque à partir de l'arginine et peut même croître sur citrate comme la seule source de carbone.

C'est un organisme courant dans l'environnement, il peut se trouver dans le sol, l'eau et se multiplier dans les milieux aquatiques, c'est une source d'infections nosocomiales.

Plusieurs infections sont causées par ce genre de bactéries qui colonisent principalement des zones endommagées : des brûlures, les blessures chirurgicales, le système respiratoire et les yeux provoquant des lésions destructrices ou une septicémie et une méningite même les patients immunodéprimés sont sensibles à la colonisation par ces bactéries qui peuvent entraîner des infections pulmonaires graves, les infections de l'oreille au contact avec l'eau qui sont associés aux environnements chauds et humides tel que : piscines et spas (Goita, 2014).

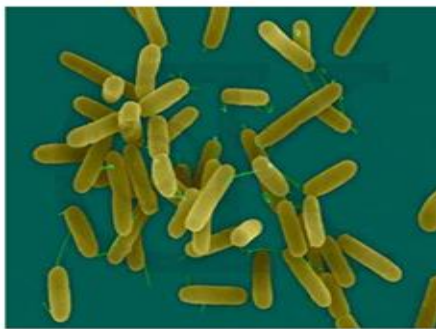


Figure 10 : présentation microscopique de *Pseudomonas aéroginosa* (Boucenna, 2018).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

1.2.1.4 *Salmonella*

Elles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae, bacille à Gram négatif, mobile, lactose négatif. ; Elles sont largement répandues dans l'environnement qui peut pénétrer dans les réseaux de distribution d'eau suite à une contamination fécale due à des eaux usées, du bétail ou des animaux sauvages.

Les salmonelles provoquent des maladies graves : gastro-entérite (diarrhée, nausées et vomissements), bactériémie ou septicémie, fièvre typhoïde.

Il existe deux maladies entériques qui ont été divisées en deux groupes : les espèces typhiques et les espèces non typhiques, les symptômes de ces derniers apparaissent 6 à 72H après l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminée (Goita, 2014).

1.2.1.5 *Staphylococcus aureus*

C'est un Gram positif, immobile, non sporulé (Robert, 2013). Elle est catalase positive, oxydase négative, glucose positif, coagulase positif, mannitol positif (Callon, 2008).

Elle est pathogène qui peut causer des infections localisées et des intoxications alimentaires.

1.2.1.6 *Vibrio cholerae*

C'est une bactérie appartenant à la famille des vibrionaceae, un Gram négatif, bâtonnet et mobile.

Elle a une morphologie particulière en virgule, très sensible à la dessiccation, à l'acidité et aux agents désinfectants habituels, avec un glucose positif, oxydase et nitrate réductase positive.

Le principal réservoir est l'homme malade, mais le germe peut survivre dans l'environnement (eau salée). C'est une source du choléra qui est caractérisée par une diarrhée cholérique avec des pertes en eau. C'est une maladie parmi les maladies à déclaration obligatoire (Goita, 2014).

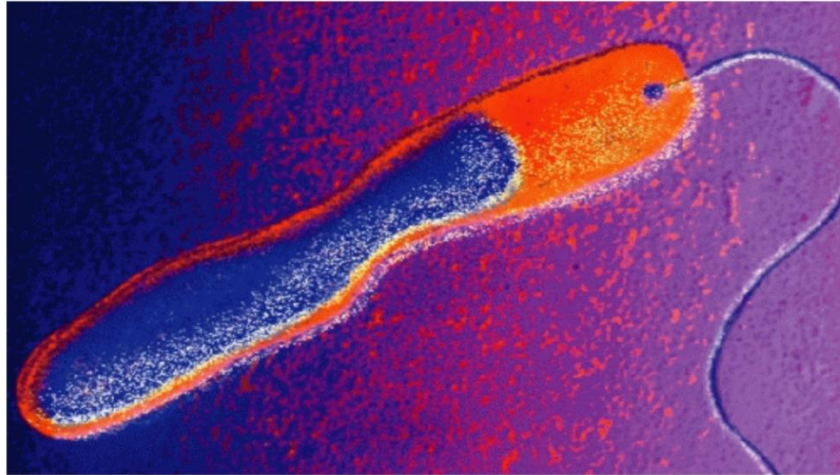


Figure 11 : présentation microscopique *Vibrio cholerae* (Goita, 2014).

1.2.1.7 *Legionella pneumophila*

C'est un bacille à Gram négatif qui appartient à la famille des legionellaceae, ubiquiste aérobie strict, catalase positive, oxydase positive.

Elles vivent dans les eaux douces, mais aussi la terre humide et les composts donc ce sont des bactéries hydrotelluriques (eau et sols).

In vitro les légionelles sont des bactéries exigeantes : elles poussent sur des milieux spéciaux et lentement (3 à 4 jours jusqu'à 10 jours).

La particularité de cette famille de bactéries est qu'elle est détectable dans des eaux ou des réseaux d'eau, à des températures allant de 5,7 à 63 C°.

Elle est transmise par inhalation d'aérosol.

La légionellose cause des complications qui peuvent être fatale telle que : une insuffisance respiratoire, un choc septique et une insuffisance rénale aiguë.

Ont permis de caractériser plusieurs types de souches par l'utilisation des outils de typage moléculaire en citant l'électrophorèse en champs pulsés en association avec des données épidémiologiques cliniques (Goita, 2014).

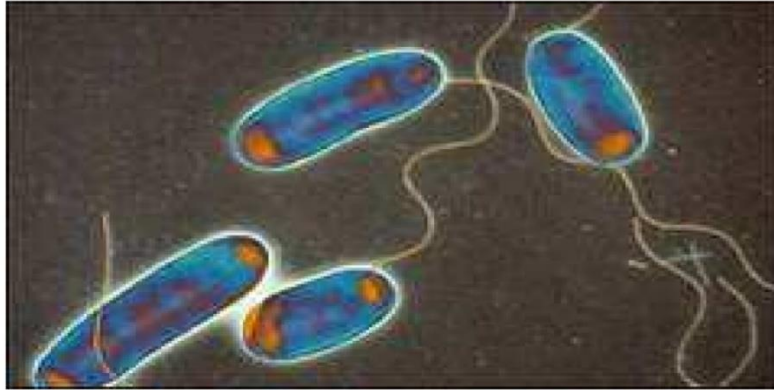


Figure 12 : présentation microscopique de Legionella (Goita, 2014).

1.2.1.8 Shigella

C'est un bacille à Gram négatif, immobile (à flagellé), leur température optimale de croissance est de 37C° en milieu Aero ou anaérobie. La propagation de *shigella* s'effectue par voie féco-oral direct du malade à son entourage par les mains sales. L'eau et les aliments peuvent être contaminés.

Les shigelles produisent trois entérotoxines différentes : shigella entérotoxine 1 (SHE-1) présente chez *shigella flexneri*, shigella entérotoxine 2 (SHET-2) trouvée dans tous les sérotypes et enfin Shiga toxine la plus puissante et la mieux caractérisée.

Cette dernière toxine exerce une action entérotoxinique, cytotoxique et neurotoxique.

L'infection par les shigelles ou shigellose se traduit par diverses infections intestinales variant de la simple diarrhée aigüe à la dysenterie bacillaire (Goita, 2014).



Figure 13 : présentation microscopique de *Shigella* (Goita, 2014).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

1.2.1.9 les *clostridium*s sulfite-réducteurs

Ce sont des bactéries à Gram positif mesurant 4 à 6 μm de long et 1 à 2 μm de large produisant des spores dont le plus caractéristique est *Clostridium perfringens*. Elles font partie de la flore tellurique naturelle, aussi bien que dans les matières fécales humaines et animales. Elles sont très répandues dans la nature, elles peuvent provoquer des maladies mortelles. La plupart des espèces sont 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).

Après destruction des formes végétatives par chauffage à 80 C° seules les spores vont persister dans l'échantillon.

1.2.1.10 *Campylobacter*

Bactérie appartient à la famille des campylobacteriaceae, bacille à Gram négatif, non sporulé. Ce sont des bactéries spiralées du tube digestif des animaux, transmises à l'homme. Elles sont catalase et oxydase positive ; L'origine de contamination est par consommation de produits animaux, des denrées ou d'eau souillée. Elles sont responsables de la campylobacterioses qui est l'entérite humaine d'origine bactérienne ; Toutes les espèces du genre *Campylobacter* sont dites : micro-aérophiles et *C. jejuni* peut se développer dans une gamme de température allant de 30 C° à 45 C° (Goita, 2014).

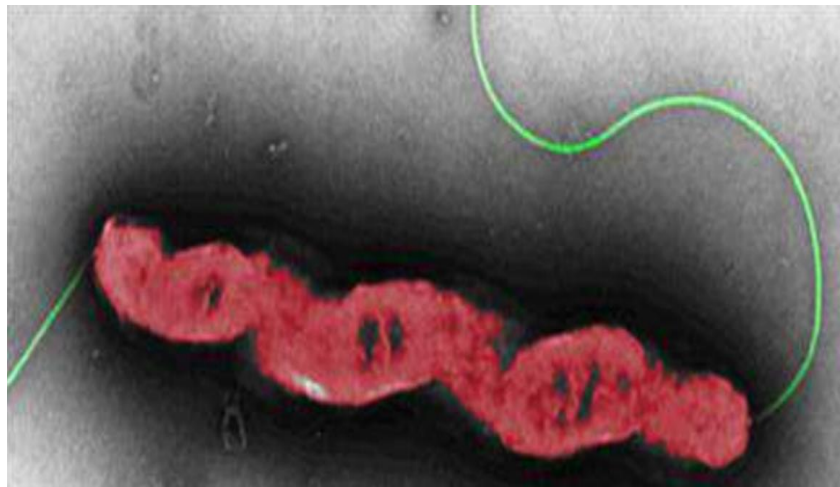


Figure 14 : présentation microscopique *Campylobacter* (Goita, 2014).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

1.2.1.11 *Aeromonas*

Ce sont des bactéries ubiquitaires appartenant à la famille des Aeromonadaceae, bacilles à Gram négatif aéroanaérobie facultatif. Elles sont oxydase et catalase positive. Elles sont présentes dans le sol et les eaux douces.

Les infections à *Aeromonas spp* sont liées à une contamination d'origine hydrique soit par contact de l'eau ou par voie digestive, il y'a aussi des infections humaines induites par *Aeromonas* qui se regroupent en deux catégories :

Les infections intestinales telles que les diarrhées et les infections extra-intestinales comme les bactériémies.

Les espèces les plus isolées en pathologie humaine sont : *Aeromonas hydrophila* et *Aeromonas caviae* (Goita, 2014).

1.2.1.12 *Mycobactéries* :

Ce sont des bactéries de la famille des mycobacteriaceae, bacilles, immobiles, aérobies stricts ou microaérophile, non capsulés, elles sont nommées aussi BAAR « bacilles acido-alcoolorésistants ».

Ces bactéries se rencontrent dans la nature ou elles vivent comme saprophytes, mais également chez l'homme et les animaux.

Il existe plusieurs genres de mycobactéries en citant qu'ils disent atypiques ou non-tuberculeuses qualifiées de mycobactéries environnementales. Leur réservoir principal est l'eau.

Les espèces de mycobactéries environnementales pathogènes sont : *Mycobacterium asiaticum*, *Mycobacterium Haemophilum* et *Mycobacterium malmoense*. Les voies de contamination ont été par l'aérosol, contact d'une plaie avec une eau contaminée, mais il n'existe pas de transmission interhumaine (Goita, 2014).

1.2.1.13 *Leptospires*

Les Leptospires sont observés pour la première fois lors de l'autopsie d'un patient suspecté de fièvre jaune.

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

Ce sont des bactéries appartenant à la famille des Leptospiraceae. Elles vivent parmi les rongeurs, mais aussi dans les zones où il y'a de l'humidité et de l'eau. Leur observation nécessite un microscope à fond noir.

Le genre *Leptospira* est très fin, flexible, spiralé, mobile avec un flagelle périplastique. Elles sont très fragiles à la dessiccation, survivent plusieurs mois dans les eaux douces et elles ne se colorent pas par la coloration de Gram, mais sa coloration se fait par l'argent ou après marquage.

Ces bactéries poussent uniquement sur des milieux spécifiques comme : Fletcher, Korthoff, Noguchi, Stuart ou EMJH qui peuvent être solide, liquide ou semi-liquide et finalement l'incubation à 28/30 C° qui se fait obligatoirement à l'obscurité.

Le réservoir principal de ce genre de bactéries est constitué de petits mammifères (rongeurs, dont les rats) et de mammifères domestiques (cochons, chien, chevaux...) et transmis à l'homme soit par contact direct cutané avec les animaux infectés ou leur urine, soit indirect par contact avec des eaux douces ou des boues contaminées par les urines d'animaux.

Les leptospires sont à l'origine de la Leptospirose qui est une zoonose de répartition mondiale (pays humides), ce qui provoque l'insuffisance rénale aux atteintes respiratoires, méningitiques, oculaires ou cardiaques (Goita, 2014).

1.3 Les facteurs de prolifération des bactéries d'origine hydrique

Il existe certaines conditions qui favorisent la prolifération des bactéries dans les milieux hydriques tels que les conditions climatiques : la température, le pH, l'humidité, la chaleur... ainsi que des conditions d'hygiène.

La température constitue le principal facteur externe susceptible d'influencer la vie, la survie et la prolifération des bactéries.

Une chaleur modérée favorise la croissance microbienne qui est entre 20C° et 40C° par exemple : *Escherichia coli*, double toutes les 20 minutes dans des conditions optimales.

Il a été mentionné que la dureté et le pH de l'eau influencent la survie des bactéries même que la présence d'amibes ou de biofilm qui favorisent une protection vit - à vis des traitements physiques (choc thermique) et chimiques (chlore, biocides).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

Pour le *Legionella* : ces bactéries peuvent se multiplier à une température de 25C° et 45C° avec des caractéristiques physicochimiques spécifiques.

Le vibron cholérique prolifère à pH alcalin et croit lorsque la température de l'eau augmente.

De même que l'existence de dépôts de tartre, de résidus métalliques, de matériaux tels que le caoutchouc, le chlorure de polyvinyle et la silicone avec la présence de concentration élevée en calcium et magnésium sont aussi des facteurs favorisant la croissance bactérienne (Goita, 2014).

2. Les cyanobactéries :

2.1 Généralités sur les cyanobactéries

Cyanobactéries, encore appelées Cyanophycées (cyanophytes) ou algues bleues ; c'est un groupe primitif d'algues et les plus anciennes plantes à chlorophylle, il y a environ de trois 3,5 milliards d'années (Schopf, 2002). Leur prolifération pendant la période du précambrien est à l'origine de l'atmosphère terrestre riche en oxygène de l'époque moderne (Berkner *et al.*, 1965) et d'une évolution de la vie végétale et animale plus complexe, on dénombre 150 genres et 1.500-2.500 espèces, ce chiffre est très approximatif parce qu'ils sont très difficiles à détecter (New département of primary industries, 2013).

Ces végétaux, unicellulaires ou pluricellulaires, ont longtemps été inclus dans les « algues » et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et leur coloration bleu-vert, il est actuellement admis que leur ultrastructure de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de cyanobactérie qui leur désormais appliqué.

Les cyanobactéries correspondent à des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l'œil nu soit des populations très importantes formant des fleurs d'eau « *bloom* » ; surtout pendant la saison d'été ceci est dû aux températures élevées (Matodziet et Murembiwa., 2019) et certain facteur tel que : Nutriments (l'azote et le phosphore), Intensité lumineuse, pH..... , la prolifération massive de cyanobactéries, également appelée efflorescence, est constatée, qualitativement, lorsque l'eau prend une

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

coloration verte avec une mousse et d'écume verte ou blanche. On peut trouver aussi des marques bleues sur les roches, les feuilles... etc.

En général, les cyanobactéries n'ont pas de noyau individualisé, mais elles ont une aiguille circulaire et des plasmides qui portent leur information génétique qui est libérée dans le centroplasme, elles sont dépourvues de membrane nucléaire, de mitochondries, de réticulum endoplasmique et même des flagelles, ces algues bleues sont des phototrophes immobiles ou mobiles par glissement grâce à leur vacuole à gaz qui permette d'effectuer des mouvements verticaux en milieu aqueux, leur taille varie selon les espèces certaines filamenteuses capables de former des filaments unicellulaires et d'autres espèces forment des biofilms ; colonies (Déboucheur et Aquat ,2014).

Elles réalisent la photosynthèse productrice d'oxygène comme les plantes, qui se déroule majoritairement en aérobie. Les électrons sont alors issus de l'oxydation de l'eau pour transformer l'énergie solaire (lumineuse) et synthétiser leur molécule organique pour capter cette lumière, elles utilisent des pigments : la chlorophylle A et des phycocyanines qui sont caractérisés par la couleur bleu vert, mais certaines cyanobactéries peuvent réaliser la photosynthèse en milieu aérobie.

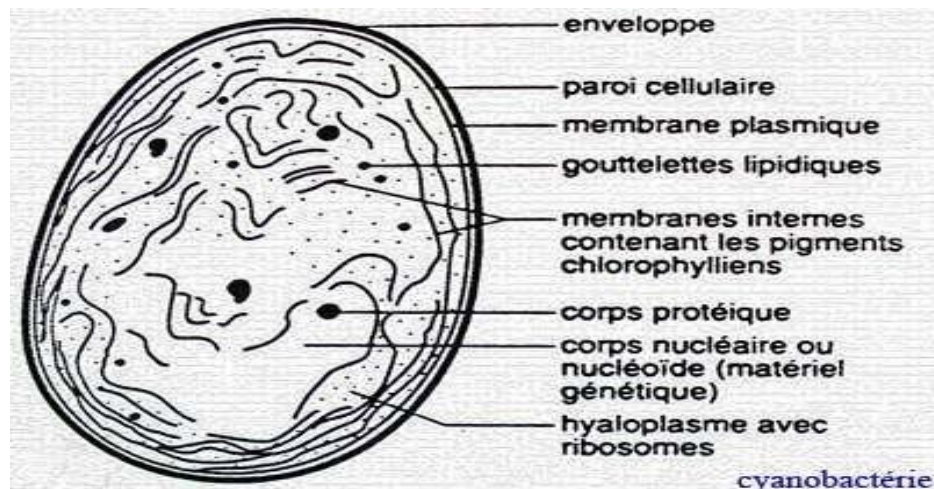


Figure 15 : Schéma d'une cyanobactérie

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

2.2 Les adaptations morphologiques

Les cyanobactéries présentent une diversité morphologique importante correspondent à des organismes soit :

Unicellulaires, sphériques, cylindriques, ovoïdes, piriformes, ou bien pluricellulaires formés de cellules ou de filaments microscopiques qui se développent pour donner soit des colonies visibles ou des fleurs d'eau, leurs formes filamenteuses (ensembles de la gaine mucilagineuse entourant le trichome) (Xingde *et al*, 2019). Peuvent être divisées en trois types de cellules :

2.2.1 Les cellules végétatives

Les cellules végétatives des cyanobactéries présentes nombreuses formes angulaire, rectangulaire courtes, arrondies ; le contenu de ces cellules est des teneurs des pigments photosynthétiques

Ces cellules végétatives sont capables d'assurer l'activité photosynthétique et de stocker des nutriments notamment du glycogène comme réserve de CO₂ ; ainsi que l'azote et le phosphore (transformer le phosphore organique en phosphore inorganique assimilable pour les cyanobactéries).

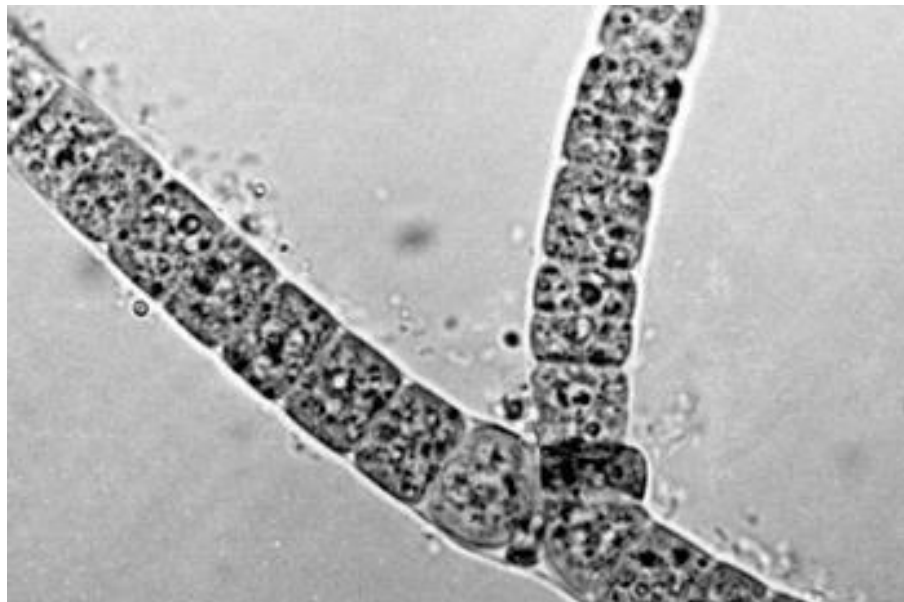


Figure 16 : Cellules rectangulaires courtes (angular-short) (Roger, 2006).

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

2.2.2 Akinètes (A)

Ce sont des spores à grande taille à paroi épaisse riche en réserves nutritionnelles, immobiles, ils peuvent être lisses ou ornementés et se former n'importe où sur le filament, mais se localisent préférentiellement à côté des hétérocystes. Dans les conditions défavorables les cellules végétatives sont transformées vers des akinètes pour permettre aux cyanobactéries de résister pendant les périodes climatiques difficiles et des catastrophes écologiques telles que le froid et à la sécheresse et ainsi de survivre à l'hiver ; Lorsque les conditions du milieu s'améliorent et devient favorables ces cellules sont détachées de l'organisme, germent et donner la croissance d'un nouveau filament.

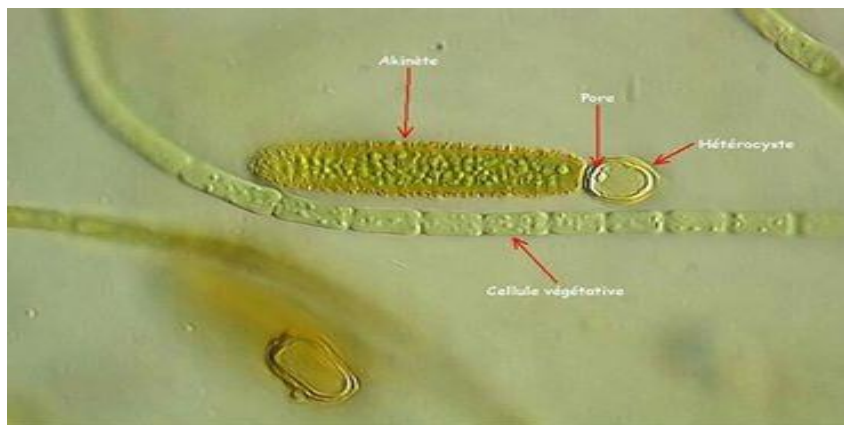


Figure 17 : les trois types des cellules : des cellules végétatives, des hétérocystes et des Akinètes
(André, 2018)

2-2-3 Hétérocystes (H) :

Ce sont des cellules transparentes qui présentent plusieurs formes : circulaire, ovales, triangulaires, sphérique, carrés ou rectangulaires à paroi épaisse, à un contenu homogène faiblement coloré se localise soit intercalaire, soit terminale dans le trichome sur l'une des extrémités ou bien aux deux soit latérale ; habituellement translucide ; Lorsque les nitrates et l'ammoniac deviennent limitants dans le milieu (ce sont des sources d'azote préférées pour cyanobactéries sont directement assimilables), entre 5 et 10 % des cellules végétatives des cyanobactéries développent des hétérocystes et ces derniers assurent la fixation d'azote atmosphérique par la nitrogénase pour le réduire.

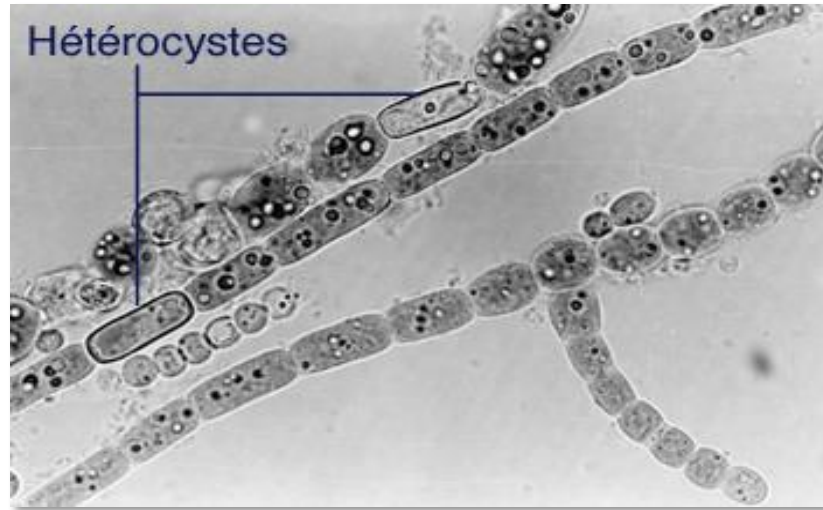


Figure 18 : hétérocyste intercalaire bipolaire et triangulaire (Roger, 2006)

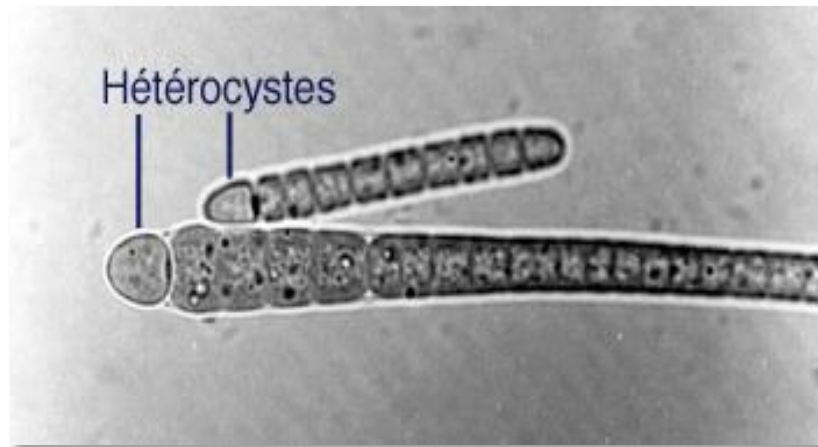


Figure 19 : hétérocyste terminal unipolaire rectangulaire (Roger, 2006)

Ces trois types de cellules présentent certaines principales adaptations morphologiques qui aident les cyanobactéries à survivre dans les conditions défavorables et favoriser la prolifération dans les milieux.

2.3 L'habitat et l'écologie des cyanobactéries

Les Cyanobactéries sont des bactéries ubiquitaires les plus anciennes depuis longtemps, on les retrouve partout dans le monde. Elles colonisent la majorité des écosystèmes aquatiques et terrestres, en eau douce généralement dans les lacs, dans les mers et les rivières, sur les roches et même sur les sols humides .

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

Les algues bleues vert peuvent aussi s'apparier dans des autres milieux aux conditions extrêmes comme les glaces polaires (sous plus de 5 m de glace, on peut trouver des tapis d'algues bleu vert) (Jungblut, 2005 ; Taton, 2003), aux sables des déserts (Yeager *et al.*, 2007), elles survivent dans les lacs très chauds (thermales) ou encore sur des lacs à Salinités très élevées (hypersalins) (Dillon, 2009), capables de développer dans des milieux pollués par l'activité humaine (les milieux pollués sont riches en l'azote et en phosphore et ces derniers sont des substrats très utilisables par les cyanobactéries pour leur développement).(Carrabin., 2011).

Les cyanobactéries se multiplient de façon planctonique c'est-à-dire vivant dans une masse d'eau ou sous forme benthique (fixé à un substrat), certains genres des cyanobactéries tels que *Nostoc* peuvent survivre en symbiose avec d'autres organismes comme les champignons, les plantes et même les éponges... etc. (carrabin. 2011).

2.4 le mode de reproduction

Les cyanobactéries se reproduisent de façon asexuée et ce dernier s'effectue par une scissiparité c'est-à-dire une division binaire ou division..végétative.

Certaine espèce des cyanobactéries telles que : *chroococcales* et *pleurocapsales* se multiplie à travers des spores unicellulaires appelées Cocco spores *qui* peuvent être soit des endospores ou des exospores, il y a aussi des autres espèces de forme filamenteuse comme : *nostocales*, *oxillatoriale* et *stigonématales produisent* des hormogonies (ce sont des formes de multiplication qui peuvent être mobiles ou immobiles) cette partie de filament (hormogonies) se détache pour donner naissance d'un autre filament.

2.5 les cyanobactéries toxiques

Certains genres et espèces des cyanobactéries sont capables de produire plusieurs types de toxines {cyanotoxine} grâce à la présence des gènes codants pour la production des toxines. Une cyanobactérie peut synthétisée des toxines dans quelques environnements et pas dans des autres donc la synthèse de ces molécules par les cyanobactéries et aussi varie en fonction de certains facteurs environnementaux comme : les éléments nutritifs (phosphore, Azote), température, la lumière, la salinité, le vent, les métaux traces ou les polluants (Marie-Laure de Boutray, 2017). L'un

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

des certains principaux genres qui peuvent être toxiques : *Anabena sp*, *Oscillatoria sp*, *Nodularia sp*, *Nostoc sp*, *Microcystis sp*, et *Planktothrix sp*... etc.)

2.5.1 les cyanotoxines

La plupart des cyanotoxines se trouvent à l'intérieur de la cellule (intracellulaire). Les cyanobactéries libèrent ces toxines dans les milieux aquatiques (soluble dans l'eau) lors de la sénescence c'est-à-dire le vieillissement ou de la lyse cellulaire grâce à un stress naturel ou provoqué (ex. : les algicides) (Lavoie *et al*, 2007). Le taux des cyanobactéries est augmenté aux fonctions de la croissance des cyanobactéries, ces toxines sont classées soit par leur structure chimique (en peptide cyclique, lipopolysaccharides et alcaloïdes) ou selon leur mode d'action en trois classes : hépatotoxines, neurotoxine, dermatotoxine (Saoudi, 2008), de très faibles concentrations des cyanotoxines présentent une toxicité aiguë chez la santé humaine et même les animaux par plusieurs voies d'absorption telle que : ingestion, inhalation ou contact cutané (Toxines, 2019. Robert, 2005).

2.5.1.1 Hépatotoxine

C'est la toxine la plus étudiée, elles ont été détectées dans le monde entier impliquer dans les nombreux cas d'intoxication et favoriseraient l'apparition de trouble chronique pour le tube digestif et cible aussi le foie (trouble hépatique), les reins (Houriet, 2015) ; Les symptômes et leur effet peuvent être causés par les hépatotoxines qui sont : faiblesse, vomissement, diarrhée, la mort peut survenir au bout de quelques heures ou quelques jours grâce à une hémorragie au foie. Généralement les hépatotoxines synthétisent plusieurs toxines comme : les microcystines, cylindrospermosines, et les nodularines (Saoudi, 2008).

a. Microcystines

Les microcystines sont des peptides cycliques hépatotoxines contiennent sept acides aminés, leur poids moléculaire entre 800 et 1100 daltons (Ouellet, 2012), elles peuvent persister pendant des mois et des fois des années parce que les microcystines sont des molécules qui peuvent résister à des PH extrêmes et à des températures très élevées (Saoudi, 2008) ; Cette molécule est synthétisée généralement chez le genre *Microcystis sp* mais elles sont également produites par autres

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

genres comme : *Anabaena sp*, *Anabaenopsis sp*, *Nostoc sp*, *Oscillatoria sp*..... ; Elles peuvent causer plusieurs effets chroniques et aigus telles que : diarrhées, vomissements (les fortes concentrations=intoxication aigües) toxiques pour le foie (effet cancérigène), mais aussi pour les reins et l'intestin.)

b. Nodularines

C'est un peptide cyclique de cinq acides aminés sont synthétisés essentiellement par le genre *Nodularia*, elles sont reconnues comme un promoteur de la tumeur au niveau du foie (hémorragie) et d'autres effets comme : diarrhée .vomissement.

c. Cylindrospermopsine

C'est un alcaloïde hépatotoxique synthétisé principalement par l'espèce *cylindrospermopsis* et *Aphanizomenon*, c'est une toxine cible le foie, mais aussi d'autres organes comme les reins, les poumons, les thymus, la rate, les glandes surrénales, l'intestin et le cœur, ces molécules peuvent encore joue un rôle d'inhibiteur de la synthèse des protéines (Ouellet, 2012).

2.5.1.2 Dermato toxine

Ce sont des molécules lipopolysaccharides (LPS) (LPS: sont des endotoxines sécrétées à partir de la membrane des cyanobactéries) et même des alcaloïdes, les principal dermato toxines sont : lyngbyatoxine, débromoaplysiatoxine, et l'aplysiatoxine, ces deux dernières molécules sont considérées comme des promoteurs de la tumeur, généralement ces toxines sont synthétisées par des cyanobactéries marines comme : *lyngbya majuscula* qui est une espèce des cyanobactéries filamenteuses caractériser par leur couleur noire grâce à leur pigment qui appelle : fucoxanthine Les LPS sont responsables de certaines dermatoses, mais peuvent provoquées également des perturbations gastriques (hémorragie gastro-intestinale), en général les dermatos toxines provoquent des allergies, dermatoses, sensation de brulure, des démangeaisons suivies par foie desquamation, rougeâtre, et des soufflures.

2.5.1.3 Neurotoxine

Ce sont des alcaloïdes leurs principaux molécules toxines comme : les anatoxines, la bêta-N-méthylamino-L-alanine, saxitoxine et la néosaxitoxines ; Contrairement aux hépto toxine, les

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

neurotoxines sont limitées pour certains pays seulement telles que : l'Amérique du Nord, Canada, Japon et Australie..... Cet. La première neurotoxine identifiée est l'anatoxine chez des souches d'*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oxillatoria* et *Cylindrospermopsis*. ; Ces molécules toxiques (neurotoxine) agissent sur le système nerveux et paralysent le système (muscle) respiratoire et peuvent provoquer la mort en quelques minutes, elle stimule aussi les muscles et provoquer des crampes après une fatigue excessive et une paralysie de la jonction neuromusculaire qui cause une insuffisance d'oxygène au niveau du cerveau et ce dernier doit être provoqué des suffocations et des convulsions.

Chapitre 2 : la microbiologie des eaux

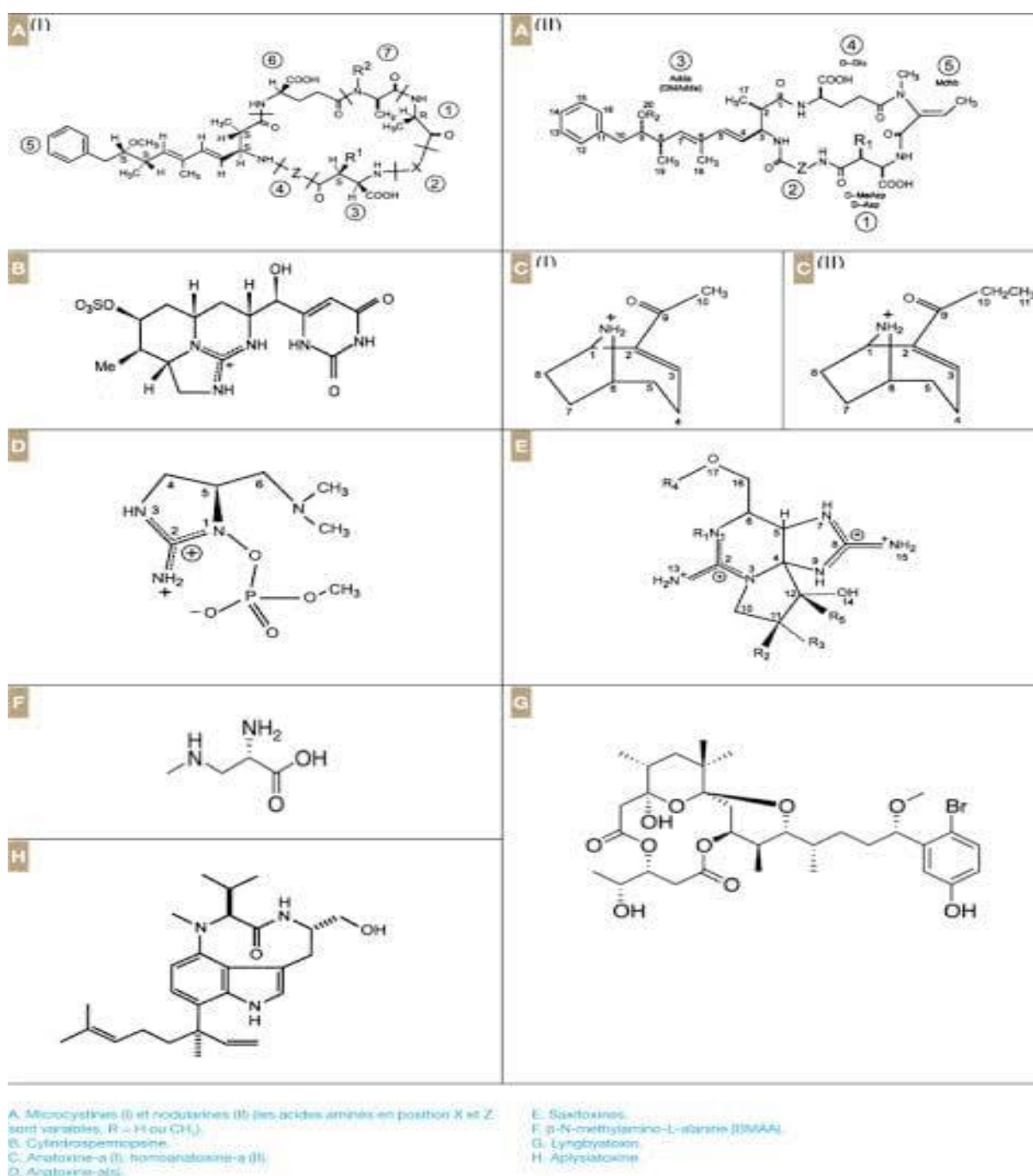


Figure 20 : structures chimiques de certaines molécules toxiques produites par les cyanobactéries (A : microcystine et nodularine, B : cylindrospermopsis, C : homoanatoxine, D : anatoxine, E : saxitoxine, F : la β-N-méthylamino-L-alanine, G : lyngbyatoxine, H : l'aplysiatoxine.) (Toxins, 2019)

Partie méthodologie

Chapitre 01 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

1. Présentation de la zone d'étude

Le barrage de Beni Haroun est situé à l'aval de la confluence d'oued Rhumel et Oued Endja au nord-ouest de la région de Grarem, wilaya de Mila, et à une quarantaine de km au nord de Constantine.

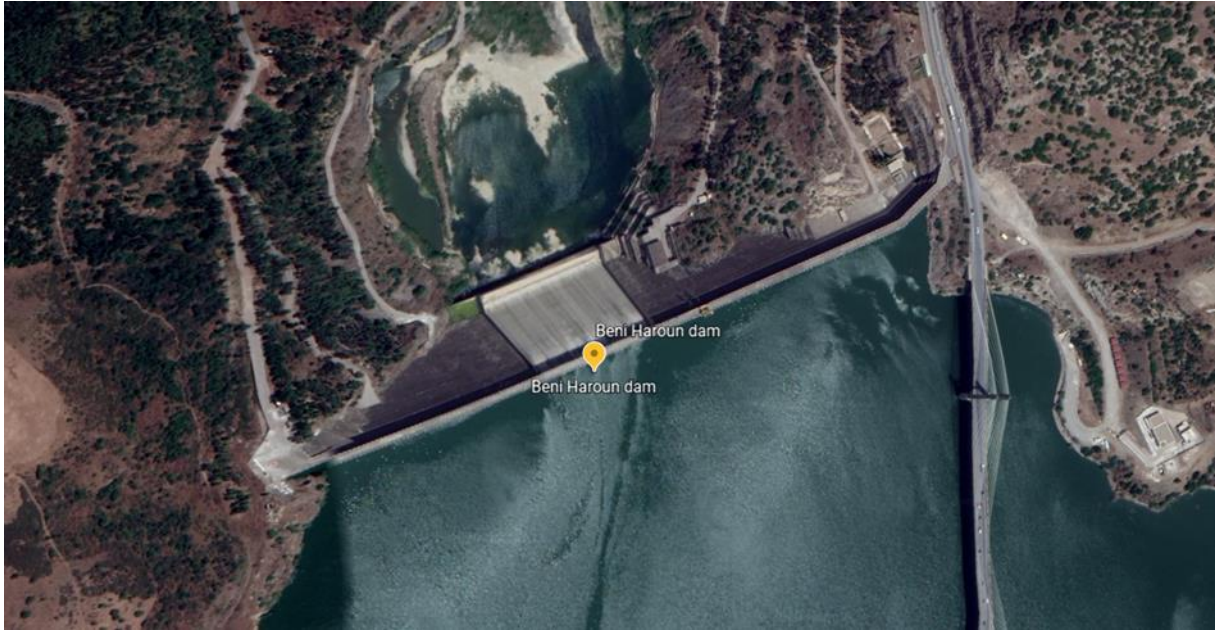


Figure 21 : situation géographique du barrage Beni-Haroun (Google Earth, 2020)

2. Préparation du matériel de prélèvement

Le matériel du prélèvement doit être présent avec une quantité suffisante de bouteilles stérilisées et identifiées en verre de 250, 500 ou 1000 ml munis d'un cordon, une glacière, des blocs réfrigérants, un carnet pour prendre des notes sur le terrain et un thermomètre, marqueur permanent, sac de plastique pour déposer vos bouteilles, appareil photo, bottes imperméables aux genoux et une carte de barrage (www.mddefp.gouv.qc.ca).

3. Prélèvement des échantillons d'eau

Le prélèvement des échantillons est l'une des étapes les plus importantes pour l'évaluation de la qualité de l'eau, les échantillons doivent toujours être prélevés avec toutes les conditions d'asepsie nécessaires dans des contenants stériles en verre à large ouverture de 250 ml, en laissant un espace d'air d'au moins 2,5 cm. Il est donc essentiel que l'échantillonnage soit

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

effectué avec prudence et de la technique afin d'éviter toutes les sources possibles de contamination (Aliouche, 2016).

Pour ce faire il doit satisfaire aux conditions suivantes :

- Les échantillons doivent être homogènes, représentatifs, recueillis, conservés et expédiés Dans des flacons stérilisés adéquats s'il s'agit d'analyse bactériologique.
- Le volume recueilli doit être suffisant pour que l'analyse soit précise.
- Tous les renseignements utiles sur les échantillons doivent être indiqués et le Flacon doit Être étiqueté correctement pour éviter les erreurs (Ayed, 2017).

3.1 Méthodes de prélèvement

Le prélèvement est un acte qui consiste à obtenir un volume global représentatif de l'eau à contrôler, prélevé en un endroit défini selon des modalités définies, appelées échantillon, d'où ce dernier est destiné à la réalisation d'analyse (Mekhloufi, 2017).

Les flacons doivent être remplis et les échantillons doivent être gardés à l'abri de la lumière et au frais. Lors de l'échantillonnage, il faut éviter d'entrer dans les zones où le niveau d'eau est susceptible de dépasser ses bords de caoutchouc. Il faut aussi porter des vêtements de protection comme gilet de sauvetage, ou le préleveur doit être attaché à une autre personne ou à un objet stable.

3.2 La technique de prélèvement d'eau au niveau du barrage

Pour avoir un meilleur prélèvement, il est recommandé de prélever des échantillons 3 fois pendant l'été. Tout d'abord, il faut choisir 3 stations dans le barrage et prélever un échantillon de chaque station, ensuite s'éloigner de la rive du barrage à environ 2 mètres, en tenant la bouteille par la base et à la verticale, rincer la bouteille 3 fois avec l'eau du barrage puis la plonger avec un mouvement continu jusqu'à ce que le goulot se trouve à une profondeur de 15 à 30 cm à la surface de l'eau, afin d'éviter la pénétration de l'air puis en la remontant en exécutant un mouvement en U (Guide pour l'évaluation de la qualité bactériologique de l'eau en Lac, 2013).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

3.3 Étiquetage des échantillons

Pour chaque prélèvement, noter les renseignements comme : type de l'échantillon, lieu, date, heure du prélèvement et nom du préleveur. Afin d'éviter la contamination du prélèvement, attendre quelques minutes pour que les sédiments soulevés par vos déplacements dans le cours d'eau soient entraînés par le courant, détacher le cordon et le flacon est refermé dans les conditions aseptiques requises jusqu'au moment de l'analyse, concernant les autres points de prélèvement, répéter les mêmes étapes précédentes (le Conseil Canadien des Ministères de l'Environnement, 2011).

4. Transport et conservation au laboratoire

Avant prélèvement, les bouchons destinés à la fermeture sont lavés, rincés, séchés puis enveloppés dans un morceau de papier filtre. Il est avantageux d'utiliser des bouchons, les flacons sont alors enveloppés de papier filtre et stérilisés. Il est préférable de mettre chaque flacon dans un étui métallique adapté à sa taille afin d'assurer sa protection et pour éviter la déchirure de l'enveloppe de papier filtre. Les germes de l'échantillon peuvent subir des modifications à l'intérieur de flacons. C'est pour cela, il faut faire toutes les analyses le plus rapidement possible (Rodier *et al.*, 2005).

L'évolution dépend de nombreux facteurs : température, concurrence bactérienne des espèces, composition chimique de l'eau. Les prélèvements seront transportés dans des glacières closes contenant des blocs réfrigérants dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C qui permettent de maintenir au frais et qui le préserve totalement de la lumière, des poussières et des salissures. Même dans ces conditions, l'analyse bactériologique doit débiter dans un délai maximal de 8 heures après le recueil de l'échantillon (Jean, 2005).

Après la prise d'essai, il est nécessaire de garder le reste du prélèvement non utilisé au réfrigérateur. Parce que les premières lectures seront faites 24 ou 48 h après l'ensemencement aboutissent des résultats inattendus, incitant à vérifier l'analyse.

Aux états unis, le délai pour effectuer l'analyse est de 30 heures, les échantillons peuvent être envoyés par la poste en utilisant un système de conservation au froid. Il est monté que, plus la pollution microbiologique est grande, plus le délai de conservation est court (Rodier *et al.*, 2005).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

5. Analyses bactériologiques

(La composition et la préparation des milieux de culture et des réactifs sont spécifiées à l'Annexe A).

Pour déterminer la qualité de l'eau du barrage de Beni Haroun, on doit chercher les microorganismes pathogènes contaminant l'eau de ce barrage. Ces germes jouent un rôle principal, ce sont des indicateurs de contamination fécale.

Les paramètres qui doivent être recherchés sont : les coliformes fécaux, les coliformes totaux, *Salmonella*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium-sulfito-reducteurs* et *Vibrio cholera*.

Tout d'abord, des dilutions décimales doivent être préparées dans des conditions aseptiques comme indiqués dans le schéma suivant :

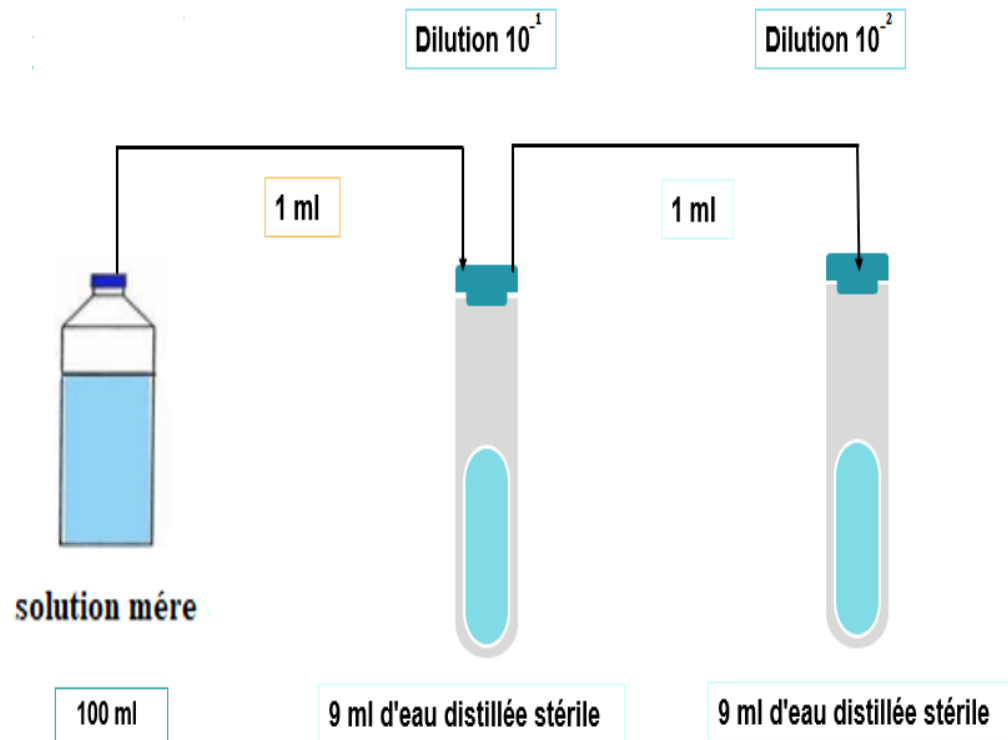


Figure 22 : Préparation des dilutions décimales

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

a. Dénombrement des germes totaux

A partir de la solution mère et les dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2} , porter 1 ml en 2 répétitions dans deux boîtes de Pétri vides, puis compléter chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à 45 C° et faire ensuite des mouvements circulaires en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale. Incuber la première boîte à 22 C° pendant 24 h et la deuxième à 36 C° pendant 44 h (Lebres *et al*, 2006).

b. Dénombrement des coliformes totaux :

Le dénombrement des coliformes totaux a été effectué sur un milieu de culture gélosé VRBL par ensemencement de 1 ml d'échantillon dans la masse à raison de deux boîtes par chaque dilution puis les incuber à 37 C° pendant 24 à 48 heures.

La lecture se fait par le dénombrement des colonies violettes de 0,5 à 1 mm

c. Dénombrement des coliformes fécaux :

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBL par ensemencement de 1 ml de deux boîtes de Pétrie après 24 à 48 heures d'incubation à 44 C° . Dénombrer toutes les colonies dans les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

Le nombre de germes totaux retenu est la moyenne arithmétique du nombre de germes trouvés pour les différentes dilutions. Les résultats sont exprimés en nombre d'unités formant colonies (U.F.C) par millilitre d'eau analysée.

Ensuite, calculer la valeur du nombre N de germes totaux à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{(1,1 * d)}$$

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

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution (Labres *et al*, 2008).

✓ Méthode de dénombrement NPP des coliformes sur milieu liquide :

Le dénombrement des coliformes et l'identification d'E coli ont été effectués par la méthode de nombre le plus probable (NPP) appelée aussi la colimétrie.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Test présomptif : Après avoir bien homogénéisé l'échantillon afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, réaliser cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques (Rejsek, 2002).

Prenez les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple

Concentration) munis d'une cloche de Durham. Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porter dans le premier tube de la série contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1}

. Prélever 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2}

. Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-3} .

. Refaire la technique pour 2 autres tubes de BCPL afin d'obtenir 5 tubes de BCPL, et refaire

Pour 2 autres séries (Délarras, 2008)., Après incubation les tubes positifs présentant :

Un dégagement de gaz, Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (Labres *et al*, 2008).

Retenir le nombre caractéristique constitué par les trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs.

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Grady au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées (Labres *et al*, 2008).

5.1 Recherche des coliformes

Elle peut se faire par deux techniques :

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

5.1.1 Technique en milieu liquide BCPL

Il est nécessaire de faire le test présomptif et même le test de confirmation, le premier test s'effectue par un ensemencement de 9 tubes de 10 ml de BCPL, 3 tubes à double concentration additionnés d'une cloche du Durham avec 1 ml d'eau à analyser.

Les trois autres tubes sont à simple concentration munie d'une cloche du Durham avec 1 ml d'eau à analyser et les derniers tubes sont munis d'une cloche du Durham avec 0,1 ml d'eau à analyser.

- Faire une agitation des tubes afin de vider l'air dans la cloche et placer directement les tubes dans une étuve à 37 C° pendant 48 heures.
- La présence d'un trouble au niveau des tubes avec virage du couleur violet au jaune et un dégagement du gaz au niveau de la cloche, le résultat est positif.

Les tubes positifs sont reportés à la table NPP pour le dénombrement des coliformes dans 100 ml d'eau à analyser.

Le test de confirmation est basé sur la recherche d'*E. coli*.

- Repiquer les tubes de BCPL par une anse de platine bouclé de 2 à 3 gouttes dans le tube qui contient le milieu Schubert avec une cloche du Durham et incubé à 44 C° pendant 24 heures, puis reporter les tubes positifs à la table NPP pour le dénombrement.
- La présence des coliformes fécaux se manifeste par un dégagement gazeux et un anneau rouge en surface, la production d'indole par *E. coli* après l'ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs (Labres et al, 2018).

A. Technique de filtration sur membrane

C'est une méthode rapide, simple, normalisée, mais nécessitant la disponibilité d'une rampe de filtration.

Tout d'abord, il faut stériliser un entonnoir, le refroidir avec l'eau distillée stérile, ensuite mettre aseptiquement une membrane de 0,45 µm entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile et enfin, placer ce dernier avec la pince correspondante (Merah, 2019).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

5.1.2 Recherche de coliformes totaux

- Remplir l'entonnoir avec 100 ml d'eau à analyser, ensuite fonctionner la pompe à vide afin de permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- À l'aide d'une pince stérile, retirer la membrane et la placer dans une boîte de Petrie de 45 mm de diamètre qui contient le milieu TTC.
- La membrane sera incubée à 37°C pendant 24 heures (Labres, 2002).

5.1.3 Recherche des coliformes fécaux

Remplir l'entonnoir avec 100 ml d'eau à analyse, puis fonctionner la pompe, retirer ensuite la membrane et la placer dans une boîte de pétri de 45 mm de diamètre contenant le milieu TTC et finalement, incuber à 44 C°, pendant 24 heures (Labres, 2002).

5.1.4 Recherche et dénombrement des Salmonella

La recherche est faite par quatre étapes :

- Prés-enrichissement qui permet à la bactérie fragilisée de croître.
- Enrichissement sur un milieu sélectif liquide pour endommager les cellules qui nécessitent un processus de revivification et multiplication des cellules sur bouillon de sélénite de sodium cystine. L'isolement est effectué sur milieu gélose sélectif SS (Salmonella-Schigella).

Introduire 10 ml du liquide prés-enrichissement dans 100 ml de bouillon sélénite puis incuber 24 heures à 37 C°.

- **Isolement** : étaler 0,1 ml de la solution enrichie à la surface de la boîte de pétri contenant le milieu SS coulé préalablement.
- **Lecture** : Les Salmonelles et shigelles apparaissent incolores et transparents de petite taille, sur gélose SS.
- **Identification** : Elle se fait par : coloration de Gram, l'ensemencement de tube TSI ou bien l'ensemencement de la galerie biochimique (Labres *et al*, 2008).

Les étapes de recherche des coliformes sont indiquées dans la figure suivante :

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

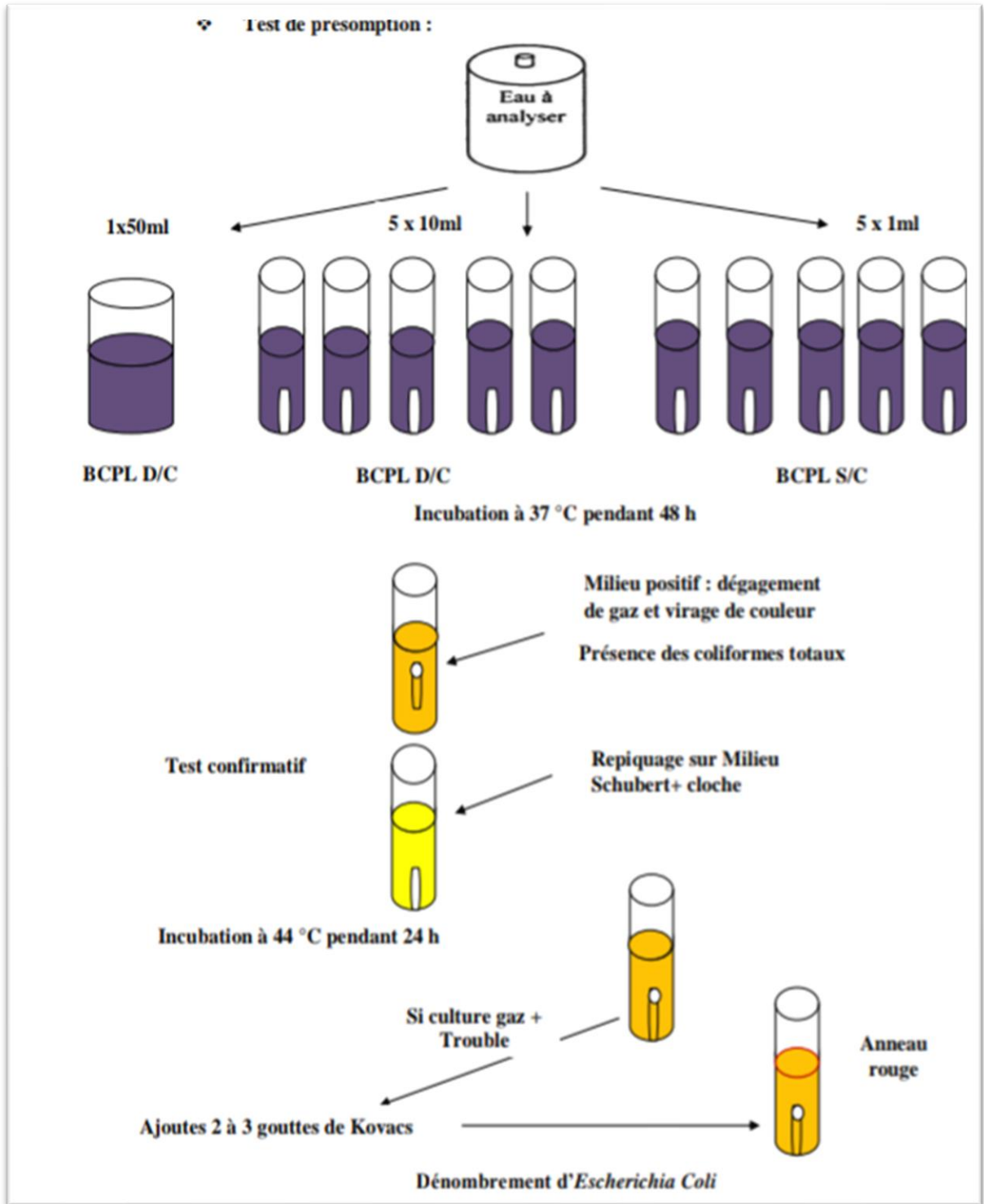


Figure 23 : recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux (Boucherit, 2016).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

La recherche des *Salmonelles* s'effectue selon la figure suivante :

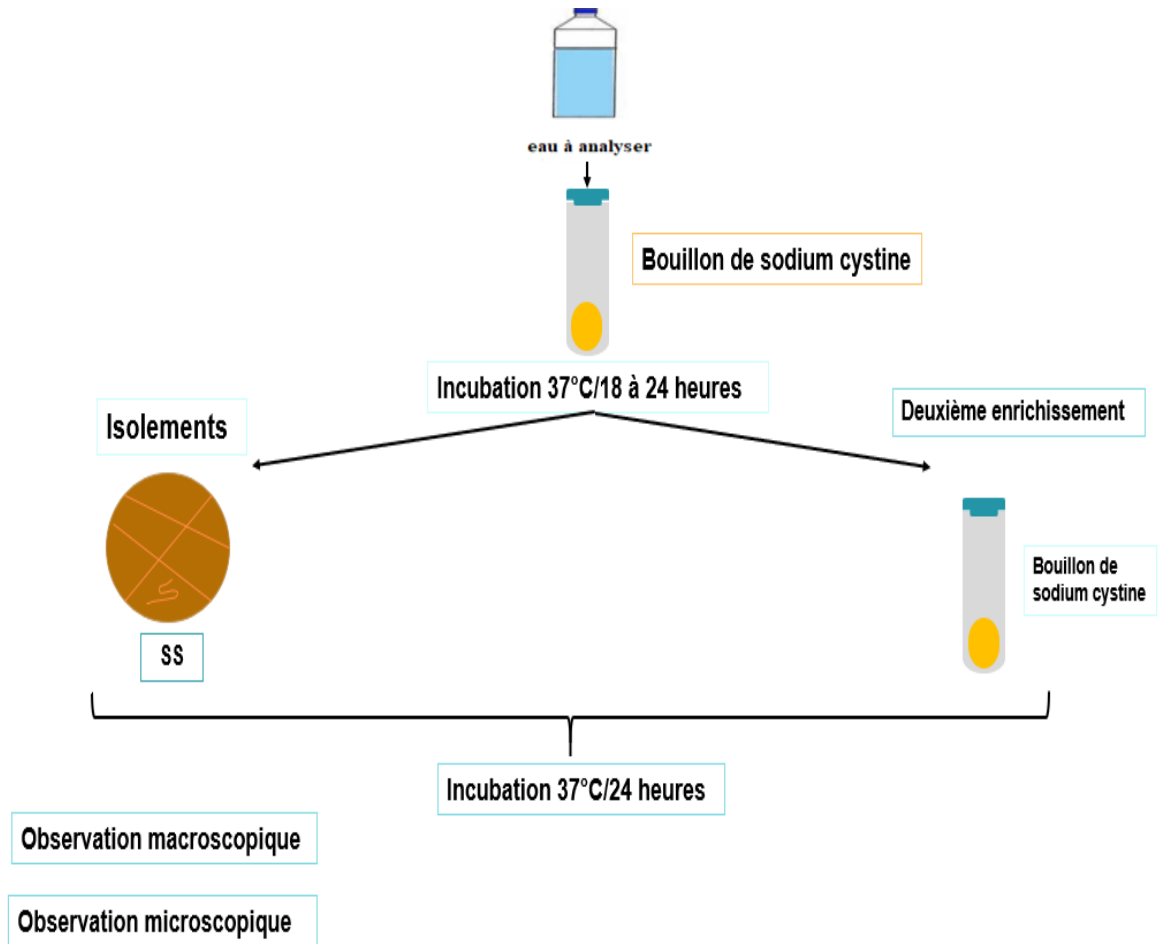


Figure 24 : protocole de la recherche de Salmonella dans les eaux

5.1.5 Recherche des staphylocoques

La recherche des staphylocoques passe par deux étapes :

Enrichissement sur bouillon Giolitti : Ajouter 15 ml de tellurite de potassium dans un flacon contenant 250 ml de Giolitti Cantoni, ensuite préparer les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} dans des tubes secs stériles puis prendre de façon aseptique 1 ml des dilutions ainsi préparées puis ajouter 15 ml du milieu d'enrichissement. Incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

Isolement sur milieu sélectif Chapman qui permet l'isolement sélectif de staphylococcus sur la base d'une tolérance à une forte teneur en NaCl, et la différenciation de

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

l'espèce *Staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment (Marchal, 1982).

À partir de la solution mère, on ensemence par des stries toute la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu Chapman, par la suite les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures (Rodier, 2005).

Lecture : Les tubes apparaissent en noir seront considérés comme positifs ce qui indique la présence des staphylocoques.

Les colonies mannitol positives sont entourées d'un anneau jaune. Le milieu Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus*, mais des tests de confirmation sont obligatoires

a. Tests de confirmation :

- **Test de catalase**

La recherche de la catalase indique la différenciation des staphylocoques des streptocoques.

La technique : s'effectue par l'ajout d'une goutte d'eau oxygénée et une colonie prélevée du milieu Chapman qui sont déposés sur une lame, le dégagement de bulles gazeuses indique la présence d'une catalase (Marchal, 2005).

- **Test Staphylocoagulase**

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénicité d'un staphylocoque. Les staphylocoques pathogènes sécrètent une enzyme qui est « la staphylocoagulase » qui a la propriété de coaguler dans le plasma (Delarras, 2008).

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

Lorsque le plasma est coagulé et qu'on peut retourner le tube même si cela s'accompagne d'un léger écoulement indique que la réaction est positive.

La procédure de recherche des *Staphylocoques* est indiquée dans cette figure :

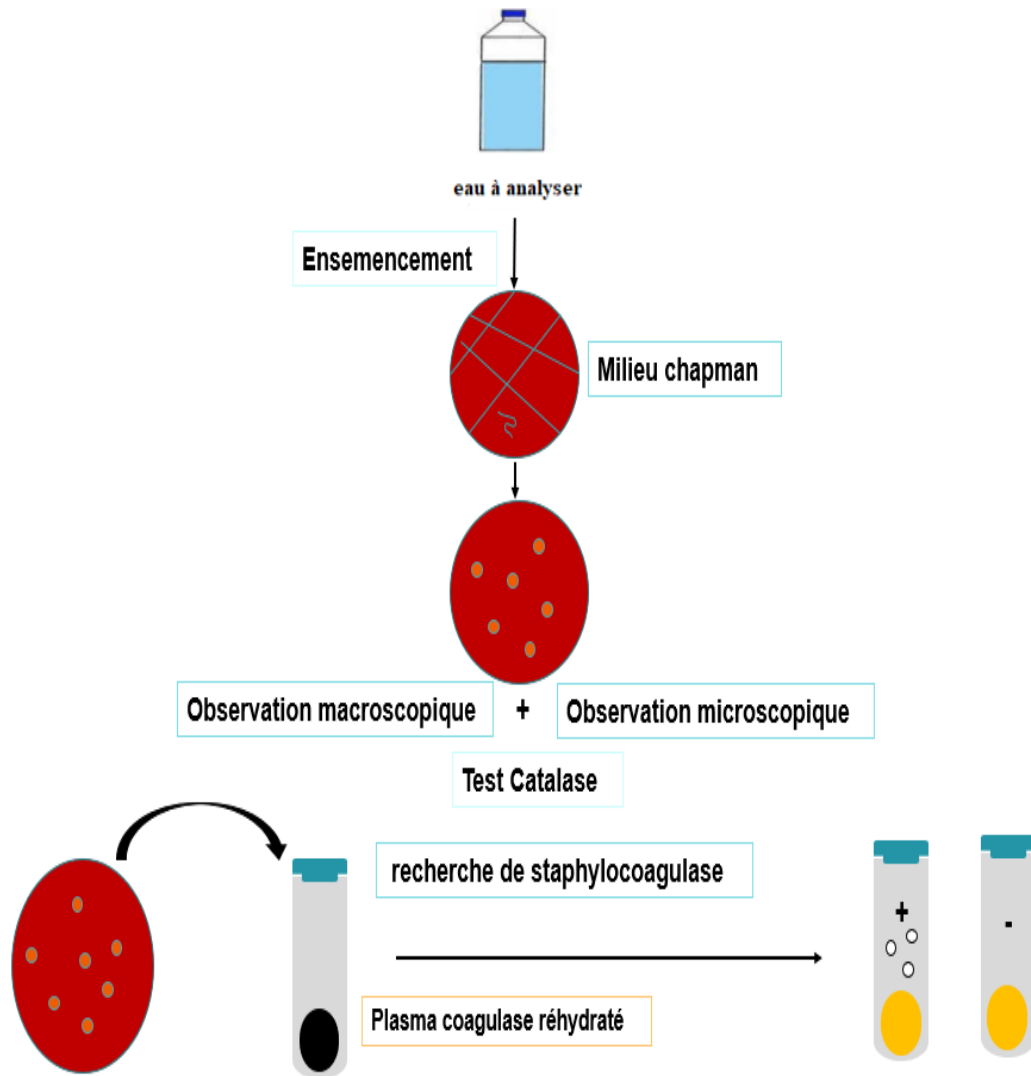


Figure 25 : recherche et identification des staphylococcus dans les eaux

5.1.6 Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

L'isolement se fait par ensemencement d'un volume d'eau à analyser sur milieu sélectif King A et King B. L'incubation se fait à 37 C° pendant 24 à 48 heures (Rouaguia, 2010).

Identification : Le test de confirmation se fait par deux examens microscopiques qui sont effectués par un examen direct entre lame et lamelle et la coloration de Gram.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu King A.

Recherche de la pyoverdine : présente une teinte verte fluorescente est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B (Labres *et al*, 2008).

L'identification des *Pseudomonas* est faite comme suit :

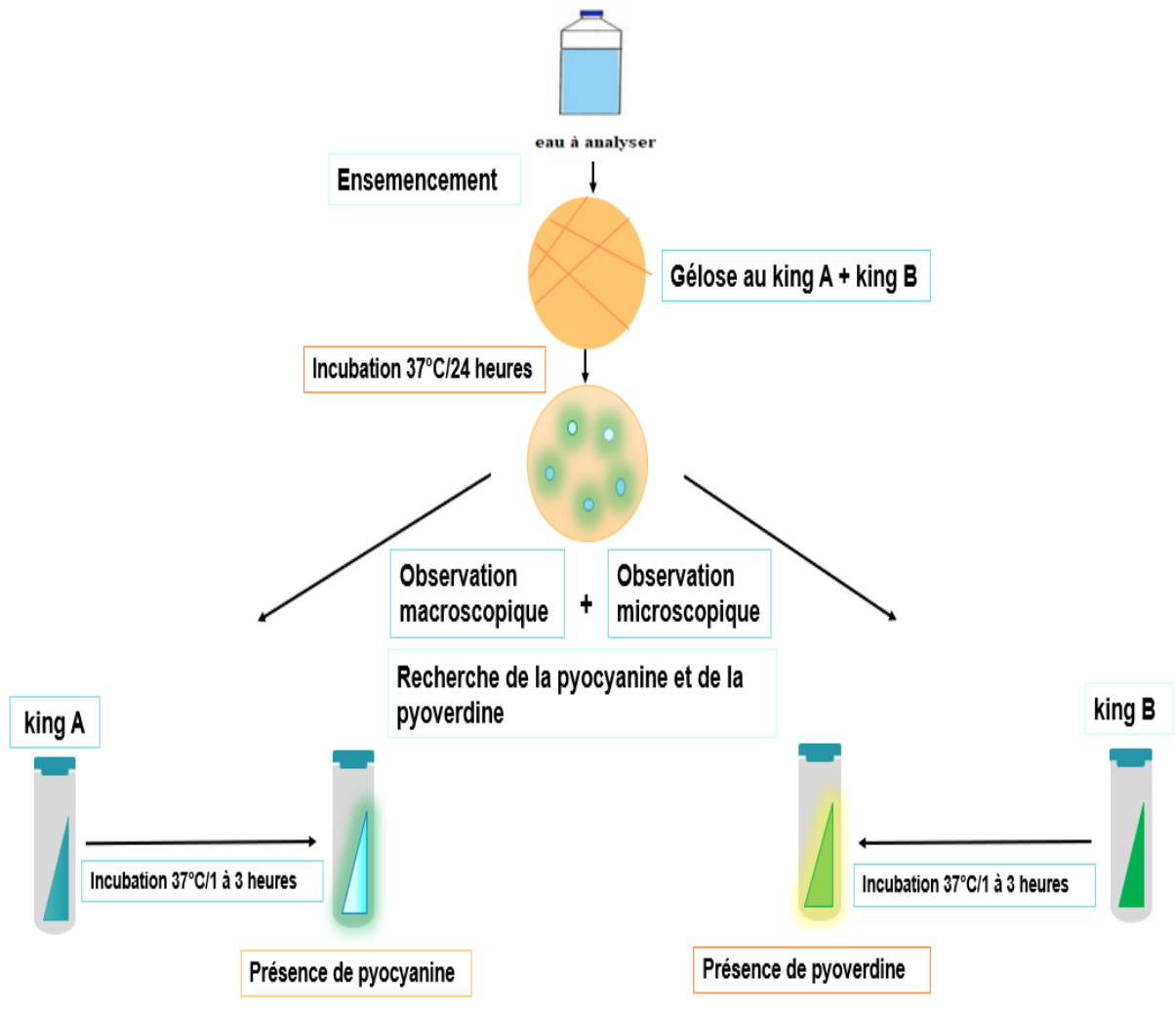


Figure 26 : recherche et identification de *Pseudomonas aeruginosa*

5.1.7 Recherche et dénombrement des spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Mode opératoire : Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se sont des bactéries Gram+, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foi en donnant des colonies typiques

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{+2} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire (Labres, 2002).

Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne

À partir d'un échantillon d'eau, on doit suivre les étapes suivantes :

- Mettre 25 ml dans un tube stérile, puis soumis à un chauffage de 80C° pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Ensuite, refroidir immédiatement le tube sous l'eau de robinet et repartir le contenu de ce tube, dans 4 tubes stériles, chaque tube comprend 5 ml de la suspension.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose Viande Foi, fondue puis refroidie à $45\pm 1\text{C}^\circ$, additionnés d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37C° , pendant 24 à 48 heures (Labres et *al*, 2008).

Lecture : La première lecture doit être faite à 16 heures et l'analyse sera à refaire en utilisant des dilutions décimales de 10^{-1} voire 10^{-2} , la deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.

Dénombrer toute colonie noire de 0, 5 mm de diamètre, poussant en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes d'eau à analyser.

La recherche de ce type des bactéries se passe par les étapes indiquées dans la **figure 27**.

5.1.8 Recherche de *Vibrio cholera*

La recherche de ces bactéries nécessite un enrichissement dans des tubes de 10 ml de milieu eau peptonée alcaline (EPA), puis incuber à 37C° pendant 24 heures (Amiri, 2014). Le milieu TCBS (Thiosulfate citrate bile saccharose), c'est un milieu sélectif utilisé pour la recherche des *Vibrio cholerae*.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Lecture : La présence des *Vibrio cholera* dans les eaux est caractérisée par des colonies grosses, lisses et transparentes.

Identification : Sur le milieu GNAB, les colonies apparaissent rondes, plates, bords réguliers et surface lisse brillante sous forme de goutte de rosée.

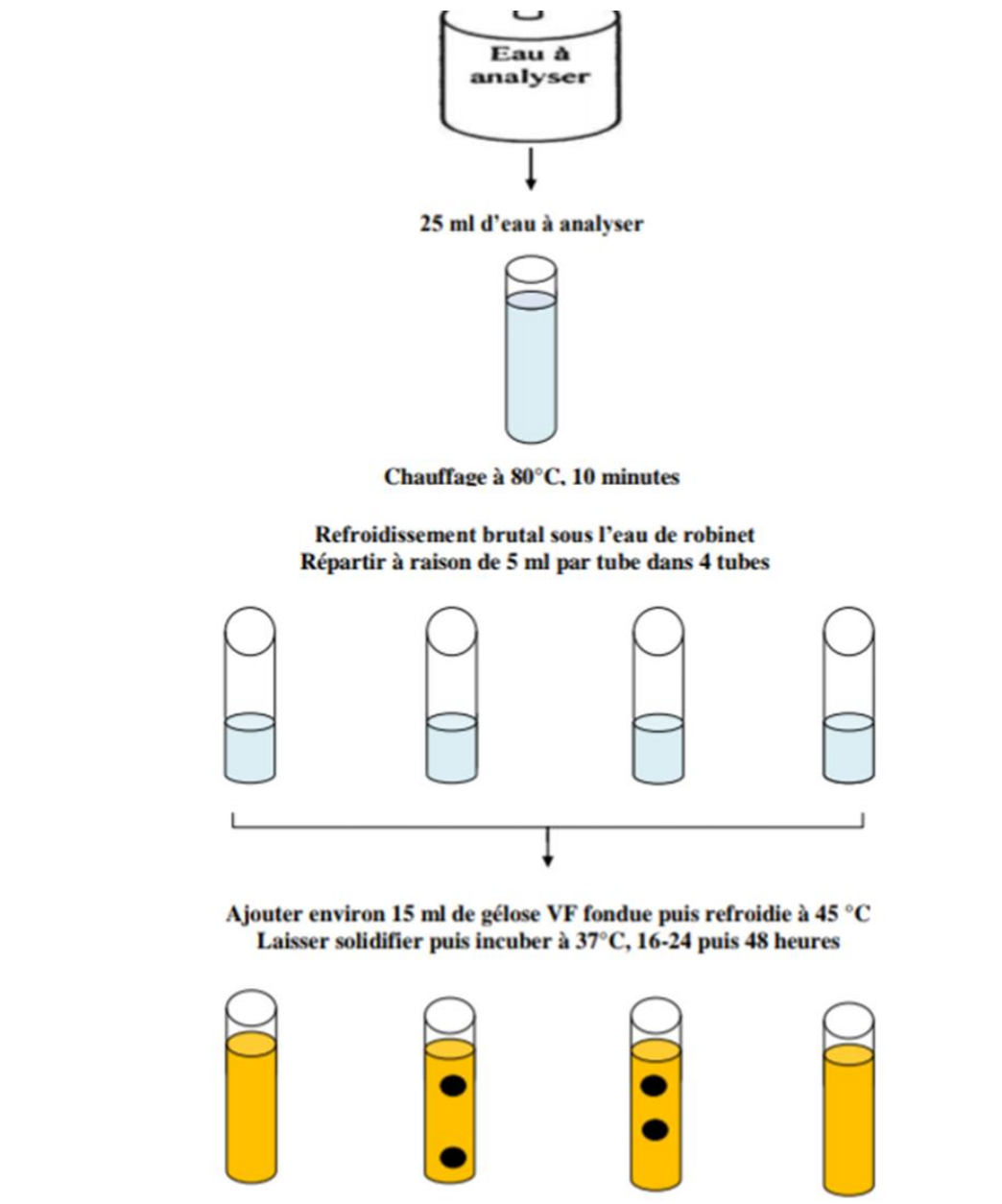


Figure 27 : recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito- réducteurs

(Boucherit, 2016).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

6. Identification

6.1 Examen macroscopique des caractères cultureux

Chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de formes, de couleur et de consistance caractéristiques.

Pour chaque type des colonies distinctes, il faut noter les caractéristiques suivantes : (diamètre, contour, élévation, couleur, surface).

6.2 Examen microscopique

- **A l'état frais**

Elle permet d'observer la forme, la taille, la mobilité et l'abondance des bactéries ainsi que leur mode de regroupement.

Technique : À partir d'une culture en milieu liquide : déposer sur une lame propre une goutte de la culture à étudier à l'aide d'une anse de platine stérile.

À partir d'une culture en milieu solide : déposer tout d'abord sur une lame une goutte d'eau distillée stérile. Puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien.

Puis recouvrir d'une lamelle et ajouter à la préparation la paraffine ou de la vaseline et on observe au microscope à objectif $\times 40$ pour donner les détails de structure, utiliser aussi l'objectif $\times 100$ à immersion (Delarras *et al*, 2003).

- **Coloration de Gram**

À partir des colonies suspectes isolées sur des milieux de culture, une coloration de Gram doit être réalisée.

Principe : La coloration de Gram ou différentielle s'effectue comme suit :

La préparation d'un frottis bactérien, puis la coloration par le violet et laissez agir la solution de cristal violet pendant 1 min puis lavée à l'eau.

Laissez agir le Lugol pendant 1 min et laver à l'eau, puis on décolore avec l'alcool pendant 30 secondes et lavez aussi à l'eau.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

On fait une recoloration avec la Fuschine pendant 30 à 40 secondes, puis lavée à l'eau et sécher (Aouissi, 2010).

Cette opération est indiquée dans la **figure 28** en bas :

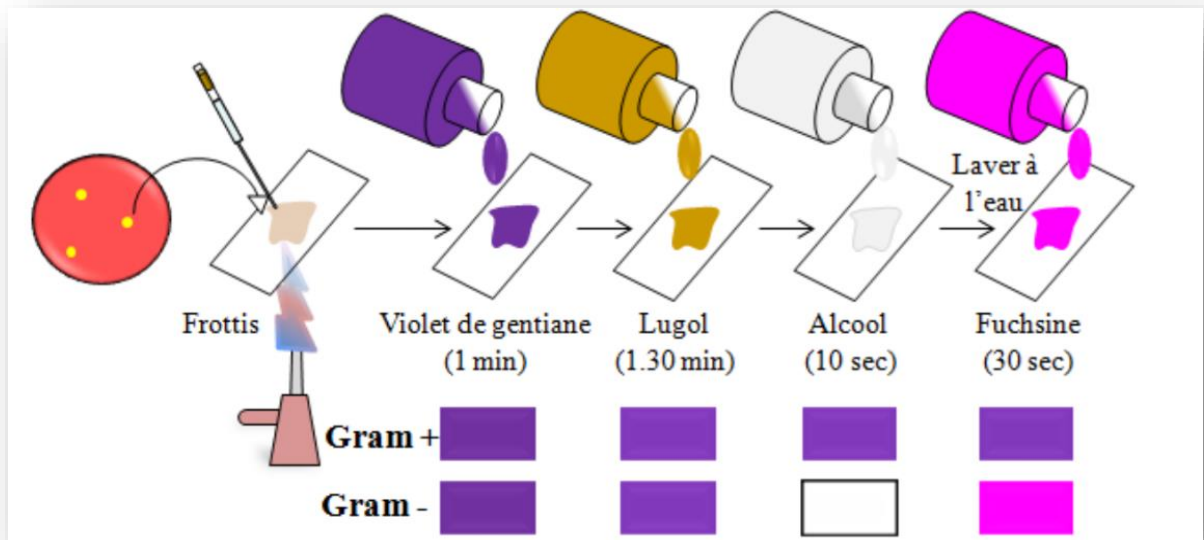


Figure 28 : Procédure de la coloration de Gram (Amiri, 2014).

7. Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques

7.1 Caractères enzymatiques

- **Test catalase**

La catalase est une enzyme qui se produit par la dégradation de l'eau oxygénée en eau plus oxygène ; Le test catalase est basé sur l'identification des bactéries Gram positif. **Technique** : prendre une lame propre et sèche, déposer une goutte d'eau oxygénée, puis ajouter l'inoculum à l'aide d'une pipette pasteur et faite l'observation. L'apparition des gouttes et le dégagement gazeux de dioxygène indiquent que le résultat est positif (catalase+) (Houam, 2018).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

- **Test oxydase**

L'oxydase c'est un enzyme qui intervient dans plusieurs relations d'oxydoréduction. Cette enzyme a la propriété d'oxyder le : N diméthylparaphénylène diamine, ce test est propre pour l'identification des bactéries Gram négatif.

Le test est réalisé sur une lame stérile additionnée par un disque d'oxydase puis mettre une goutte la suspension bactérienne qui est déjà préparée sur le disque.

Si on observe une colonie avec une teinte rose violet, le résultat est positif, donc, le germe possède une oxydase et si les colonies apparaissent incolores, le germe ne possède pas d'oxydase (Houam, 2018).

- **Recherche de la Béta-galactosidase (ONPG)**

Ce test est réalisé pour détecter l'enzyme capable de scinder la molécule de lactose positive des bactéries lactose négatives. C'est un test qui peut être réalisé uniquement pour les bactéries lactose (-) sur milieu solide.

Réaliser une suspension bactérienne à partir d'un milieu lactosé, puis ajouter un disque imprégné d'ONPG à l'aide d'une pince flambée et refroidie et alors observer à 37 C° pendant 30 min.

Le résultat positif est présenté par un milieu jaune, qui indique la présence de l'enzyme ONPG par contre, un milieu sans couleur, le test est négatif, donc ONPG (-) (Houam, 2018).

7.2 Caractères biochimiques

7.2.1 La Galerie biochimique classique

Qui permet de réaliser les tests suivants :

- **Recherche de l'utilisation du glucose, Lactose, production de gaz et H₂S sur le milieu TSI**

Le milieu TSI permet l'identification des bacilles à Gram négatif.

Ensemencer la surface par des stries serrées et le culot par une pique centrale puis incubé à 37 C° pendant 24 heures.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Une couleur jaune indique la présence du glucose, lactose et Saccharose avec une formation d'une tache noire (H₂S+) (Houam, 2018).

- **Recherche de l'utilisation du citrate :**

C'est un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. La pente estensemencée par des stries à partir d'une suspension bactérienne puis incubé à 37 C° pendant 24 heures. S'il y a un virage de l'indicateur de pH au bleu, le citrate est présent (Houam, 2018).

- **Test de Mannitol Mobilité**

Le Mannitol mobilité est un milieu semi-solide qui permet d'étudier la dégradation de Mannitol et la mobilité. L'ensemencement du milieu se fait par piqure centrale à l'aide d'un fil droit. Incubation à 37 C° durant 24 heures. Si les bactéries sont mobiles, il y a une formation d'un voile autour de la piqure et le caractère Mannitol se présente par une couleur jaune (Houam, 2018).

- **Recherche de l'urée indole**

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée par l'activité d'alcalinisation.

La recherche s'effectue par l'ensemencement du milieu par une suspension bactérienne puis incubé à une température optimale durant 24 heures. Ensuite, on ajoute à la culture le réactif à l'indole de Kovacs. L'apparition d'une couleur rose indique la présence d'uréase (Test positif) par contre, la présence d'un anneau rouge à la surface permet l'existence d'indole dans le milieu (indole +) (Houam, 2018).

7.2.2 La Galerie API 20 E

La Galerie API 20 E est un système pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles Gram (-), utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La Galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substances sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

l'addition de réactifs, la lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20 E (Aouissi, 2010).

Mode opératoire : L'opération se fait selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, puis remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupules avec l'huile de paraffine et refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 C° pendant 18- 24 heures (Aouissi, 2010).

Lecture : Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions.

. On ajoute une goutte de réactif VP1 et VP2, attendre 10 min. S'il y a une couleur rose ou rouge, la réaction est positive.

. On ajoute une goutte de réactif TDA, l'apparition d'une couleur marron foncé indique que la réaction est positive.

. On ajoute une goutte de Kovacks, l'apparition d'un anneau rouge obtenu 2 mm indique une réaction positive.

. La lecture doit se faire à l'aide du catalogue analytique API 20 E (Aouissi, 2010).

8. Isolement et la purification des cyanobactéries toxiques

L'isolement des cyanobactéries doit être effectué à partir des échantillons d'eaux étudiés qui contiennent souvent une flore microbienne et algale. Cette flore microbienne doit être éliminée par de nombreuses méthodes basées essentiellement sur l'utilisation des milieux de culture gélosés, additionnés d'antibiotiques et d'agents antifongiques.

L'analyse des cyanobactéries dans l'eau est effectuée par la technique de filtration avec un filtre à membrane en nitrate de cellulose stérile de 0,45 µm. Après filtration, le filtre est déposé à l'aide d'une pince stérile dans des conditions d'asepsie à la surface de la gélose

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

BG11 (pH 7,4), selon la méthode décrite par Rippka (1988). Les boîtes de Petri sont incubées à une température de 25°C et sous lumière pendant 3-6 semaines (Daoudi *et al*, 2017).

Lecture : La lecture se fait après 7 jours d'incubation puis tous les jours jusqu' à 3 à 6 semaines.

Le protocole d'isolement des cyanobactéries est indiqué dans la **figure 29**.

- **Identification macroscopique**

L'identification des cyanobactéries est établie par observation de leurs caractères morphologiques telles la structure cellulaire ou filamenteuse, la forme, la taille, la couleur et la présence ou l'absence de gaine gélatineuse, akinètes, hétérocystes, vacuoles à gaz.

- **Identification microscopique**

Elle s'effectue selon deux examens : un examen direct à l'état frais et examen microscopique après coloration de Gram.

Examen direct à l'état frais s'effectue direct entre lame et lamelle, il permet de confirmer les caractères morphologiques déjà évoqués comme la forme et le mode de regroupement.

Examen microscopique après coloration de Gram : permettant de mettre en évidence la classification de deux groupes bactériens selon la composition chimique de leurs parois cellulaires (Gram -, Gram +).

8.1 Repiquage et purification

La purification des souches est réalisée par repiquages successifs avec étalement sur le même milieu gélosé. Cette manipulation est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une culture Homogène pure, où toutes les colonies ou filaments sont identiques entre elles, et identiques au type de cyanobactéries initialement ciblées.

Les colonies isolées seront remises en culture dans un milieu liquide BG11 et incubées à une température de 25 °C sous une variation périodique de lumière (12 h de jour/12 d'obscurité).

La purification des cyanobactéries consiste à utiliser des antibiotiques à large spectre d'hôte tel que l'ampicilline de concentration 1000 µg/L et 2000 µg/L, l'imipenème 100µ/L et le Cycloheximide : 0.1 g/L ces deux derniers antibiotiques sont spécifiques pour les bactéries hétérotrophes.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

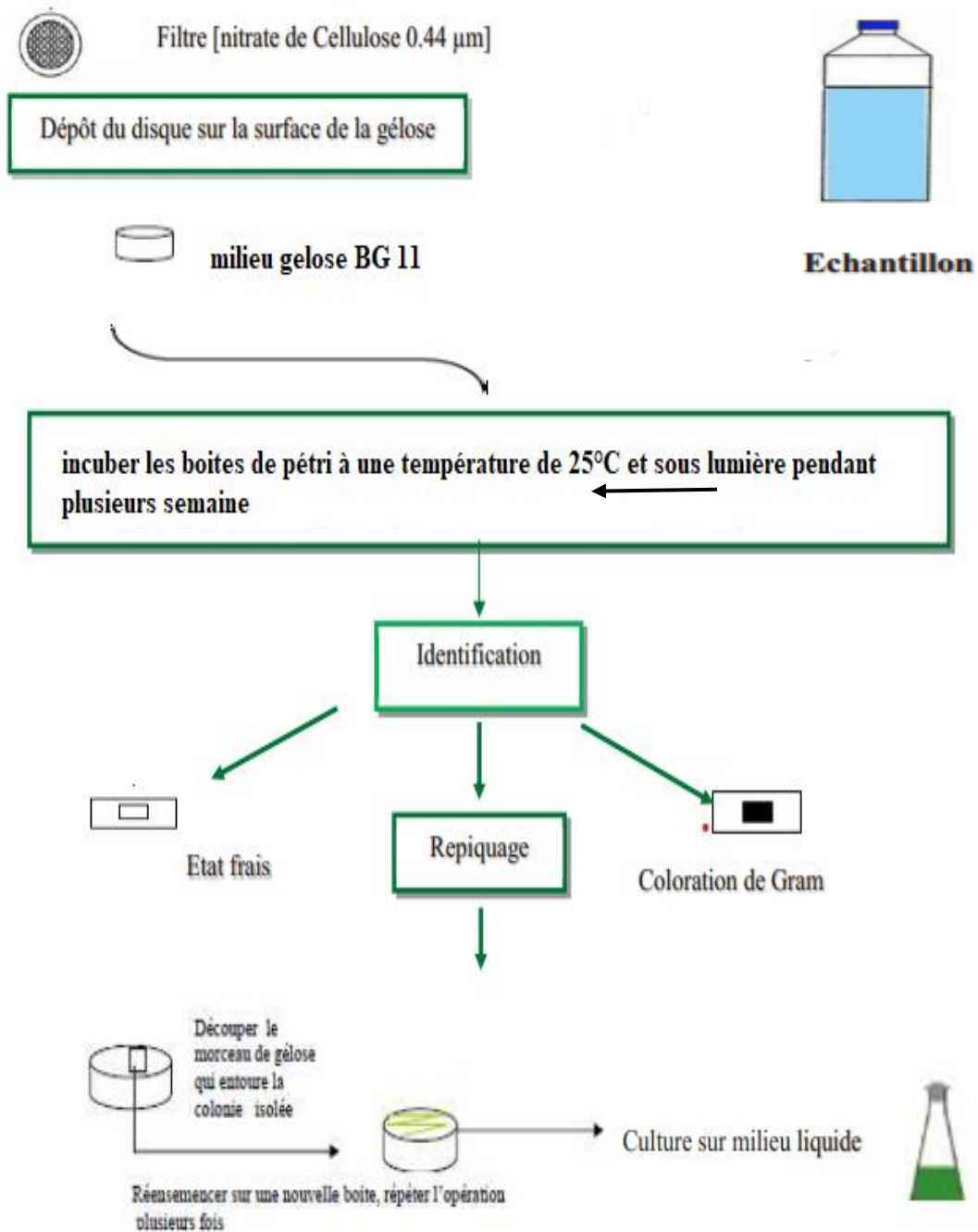


Figure 29 : protocole expérimental de l'isolement, l'identification et repiquage effectués pour l'échantillon des cyanobactéries à partir de l'eau (Mezouari, 2017).

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

8.2 Identification moléculaire

En 1961, William Astbury a décrit la biologie moléculaire comme étant : "plus qu'une technique, mais une approche qui s'intéresse à l'étude des manifestations biologiques à l'échelle moléculaire. Elle s'intéresse particulièrement aux formes tridimensionnelles et structurales des molécules biologiques et à leurs fonctions" (Lodish *et al.*, 2005).

L'identification moléculaire des cyanobactéries nécessite une fois encore le ciblage de gènes conservés, existant cette fois uniquement chez les cyanobactéries. Par exemple, on peut citer les gènes du groupe *nif* codant pour des sous-unités de la nitrogénase, une enzyme impliquée dans le cycle de l'azote (Roeselers *et al.*, 2007), il existe également des régions de l'ADNr 16S spécifiques aux cyanobactéries.

8.2.1 Extraction de l'ADN génomique

a. Lyse cellulaire

- À l'aide d'une anse de platine stérilisée ; prélever une colonie jeune de cyanobactéries, et déposer dans une solution de lyse et mettre le dans le vortex pendant 1-3 s
- Incuber 5 min à 80°C dans un portoir flotteur au bain-marie= une lyse thermique.
- Ajouter de RNase et mélanger en retournant le tube par la main.
- Incuber à 37 °C pendant 15 à 30 min c'est la température optimale pour l'activité de L'enzyme.

b. Précipitation des protéines

- Ajouter la protéinase K pour la dégradation des protéines puis vortexer le mélange et incuber à 37°C pendant 15 min puis Centrifuger pendant 5 min à 13000 rpm.
- Récupérer délicatement le surnageant et transférer le dans un tube propre et jeter le culot.

c. Précipitation et réhydratation de l'ADN

- À l'aide d'une pipette, ajoutez l'Isopropanol et mélangez délicatement en inversant le Tube jusqu'à la formation d'une pelote blanche et c'est notre ADN. Puis centrifuger 2 min À 13000 rpm à 4°C.

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

- Éliminer délicatement le surnageant et ajouter l'Éthanol 70% et mélanger en inversant le Tube pour bien laver l'ADN qui va se désenrouler et devenir linéaire après centrifuger 2Min à 13000 rpm à 4°C une autre fois puis éliminer le surnageant (éthanol)
- Pour le séchage total, mettre le tube dans l'étuve, parce que l'éthanol va inhiber la PCR.

Ensuite, ajouter la solution de réhydratation de l'ADN et laisser une nuit à 4°C

8.2.2 Amplification de l'ADN par PCR

La polymérase chaine réaction est une technique de répllication ciblée in vitro, leur but est l'obtention d'une quantité de matrices suffisante (ADN, ARN) qui permettra par la suite de réaliser le séquençage, clonage..., la RCR sera réalisée sur l'ADN génomique.

a. Préparation du Mix

Composition du mix : H₂O ultra pure- tampon 10X, dNTP, MgSO₄, amorce, Taq polymérase, ADN génomique, Eau distillée stérile.

L'amorce sens 5'→3' : AGAGTTTGATCCTGGCTCAG = ADNr_{16S}

L'amorce anti sens 3'→5' : GCTTCGGCACGGCTCGGGTCGATA

En suite mettre les micros tubes dans un thermocycleur à couvercle chauffant (pas besoin de l'huile).

- Le thermocycleur fonctionne selon un programme qui est indiqué en bas (Tableau 2)

Tableau 2 : Programme et cycles d'amplification de la Réaction en Chaine par Polymérase.

	Dénaturation initiale	Dénaturation	Hybridation	Elongation	Elongation finale
Programme	95°C/5 min	95°C/30 s	56°C/30 s	72°C/90 s	72°C/15 min
Nombre de cycles	1	30			1

Chapitre 1 : Méthode de prélèvement et d'analyse des échantillons

Les étapes de la PCR sont indiquées dans la **figure 30**.

b. Migration sur électrophorèse

- Déposer le tampon de charge puis ajouter l'échantillon (ADN après digestion). Par la suite, charger les échantillons dans les puits.
- Faire migrer en appliquant le courant en volt pour surveiller la migration
- La révélation sera faite sous la table

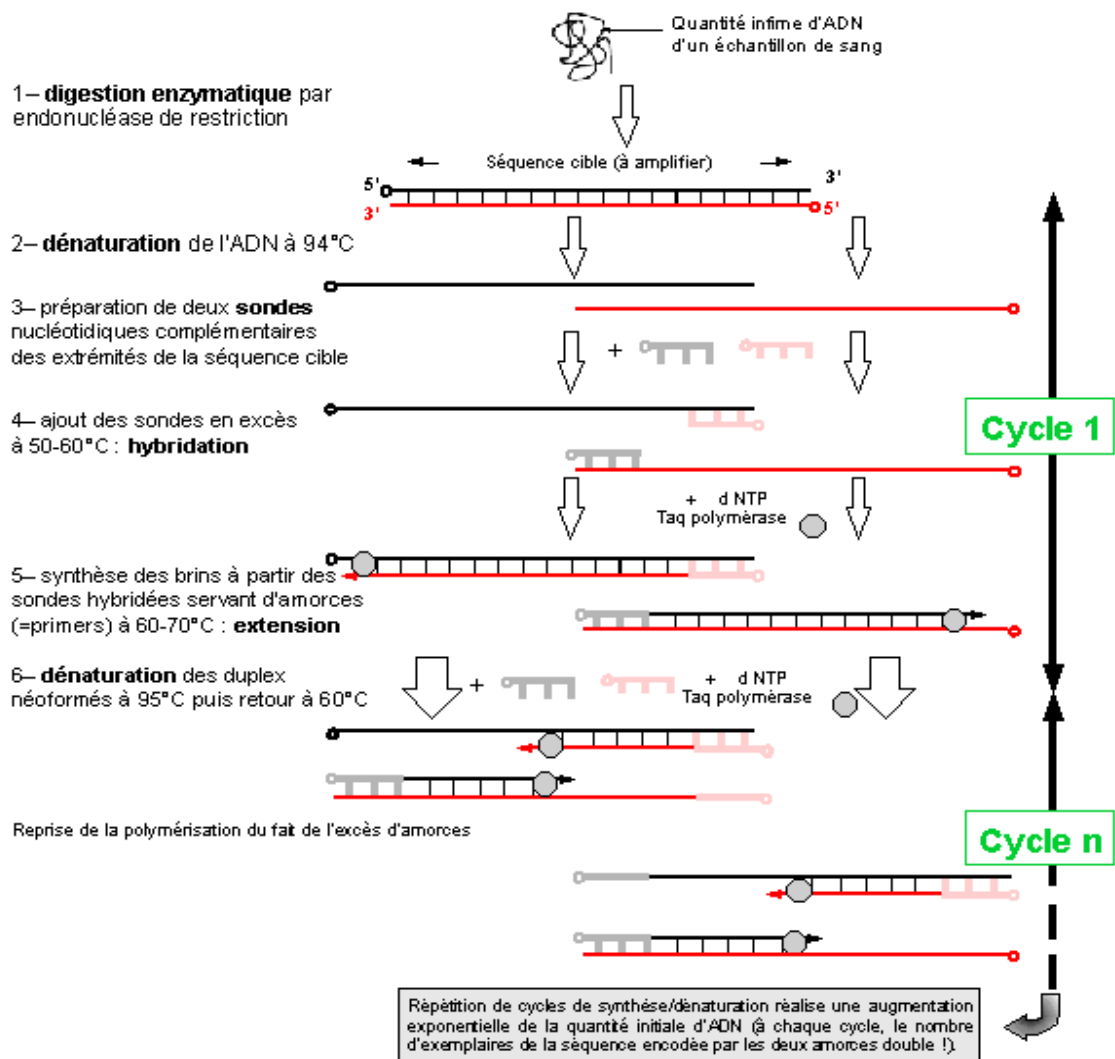


Figure 30 : Schéma du principe de la technique de PCR

Conclusion

Dans le présent travail, nous avons développé une étude documentaire pour déterminer la qualité bactériologique de l'eau du barrage Beni Haroun.

Avant tout, on a défini les barrages qui font partie des édifices les plus impressionnants bâtis par les êtres humains. Le barrage est le moyen le plus sûr qui permet de préserver l'eau pour une consommation ultérieure. Alors que leurs types de construction varient selon la géologie et la topographie du site qui héberge l'eau coulante (des fleuves, des *rivières*, des *ruisseaux*). Leurs différents usages peuvent aussi varier d'un barrage à un autre. Mais, le point commun avec ces édifices est le blocage de l'eau coulante qui par conséquent limite la circulation des espèces animales aquatiques ainsi que les sédiments. Ce dépôt provoque un déséquilibre de l'écosystème en favorisant la pollution chimique et microbiologique, notamment la prolifération des algues, des cyanobactéries et d'autres contaminants micro et macroscopique

Actuellement, la pollution des écosystèmes aquatiques pose un grand problème dans le monde, et on a constaté que même le gigantesque barrage des Trois Gorges en Chine en souffre également. Notre étude a fait un état des lieux sur la pollution des eaux des barrages, précisément le barrage Beni Haroun, le plus grand complexe hydraulique en Algérie. En effet, la plupart des études déjà faites concernant la qualité des eaux superficielles du barrage Beni-Haroun ont démontré une teneur élevée en nutriments comme le phosphore et l'azote. Effectivement, l'utilisation des fertilisants et la croissance des activités industrielles favorisent l'augmentation des nutriments. Aussi, les phénomènes anthropiques tels que la surproduction de dioxyde de carbone et le méthane participent à la modification du climat qui cause une croissance élevée des cyanobactéries. D'autres paramètres, comme l'intensité lumineuse et la variation de température aussi stimulent la prolifération des cyanobactéries

Sur le plan bactériologique, les eaux du barrage Béni Haroun sont souillées par l'activité humaine agricole ou industrielle et l'effet des conditions géologiques, climatiques et hydrogéologiques peut favoriser une croissance élevée des germes microbiologiques (coliformes fécaux, coliformes totaux, *Salmonella*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* sulfito-réducteurs). Cette pollution a été constatée lors de notre visite au barrage au mois de septembre dernier, où des poissons ont été retrouvés morts sur la rive

Du barrage.

Au dernier chapitre, nous avons entamé une étude détaillée sur les méthodes d'échantillonnage, transport et conservation, ainsi que les méthodes mises en œuvre pour la recherche et l'identification phénotypique et moléculaire des bactéries des eaux, spécialement les cyanobactéries.

Finalement, cette étude a démontré que les cyanobactéries sont une source de toxines qui restent présentes dans l'eau même après son traitement dans les stations d'eau potable. Donc, d'éventuelles recherches devraient être effectuées afin de trouver un moyen pour éliminer ces toxines qui sont un risque potentiel pour la santé des organismes.

References bibliographies

- Agarwal, A. K. and Rajwar, G. S. (2010). 'Physico-Chemical and Microbiological Study of Tehri Dam Reservoir, Garhwal Himalaya, India', 6(6), pp. 65–71.
- Alg, B. (2008). 'L'envasement des barrages : quelques exemples algériens', pp. 165–171.
- Algues, L. (2002). 'Les algues, les cyanobactéries et la qualité de L ' eau'.
- Amara, F. (2017). Optimisation de la largeur en crête des petits barrages et retenues collinaires. 'Mémoire de master académique', Cole nationale supérieure d'hydraulique - Arbaout Abdellah, p54.
- Aouissi, A (2010). 'Mémoire Option : Santé, Eau et Environnement Thème Microbiologie et physicochimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie)'.
- AYAD (2017). 'Évaluation de la qualité P_hysico-chimique et bactériologique des Eaux souterraines : Cas des Puits de La Region'.
- Belhadj, Z., Boudoukha, A. and Mezedjri, L. (2011). 'Qualité des eaux de surface et leur impact sur l'environnement dans la wilaya de Skikda (Nord-est de l'Algérie). (Contamination naturelle par le mercure)', European Journal of Scientific Research, 56(2), pp. 204–211.
- Berkner, L. V., & Marshall, L. C. (1965). On the Origin and Rise of Oxygen Concentration in the Earth's Atmosphere. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 22(3), 225-261. Doit: 10.1175/1520-0469(1965)0222.0.CO; 2
- Blida-, S. D., et al. (2017). 'Étude des paramètres physicochimiques et microbiologiques des eaux du barrage de BOUKOURDANE (Tipaza)'.
- Bouزيد-Lagha, S. and Djelita, et B. (2012). 'Étude du phénomène d'eutrophisation dans le Barrage de Hammam Boughrara (Wilaya de Tlemcen, Algérie)', *Hydrological Sciences Journal*, 57(1), p. 186–201. doi: 10.1080/02626667.2011.634417.
- Boucenina, H. (2018). 'Analyse bactériologies de certaines eaux de certaines écoles a la wilaya de MILA', Université des Frères Mentouri Constantine Faculté, PP 82
- CFBR (2013). 'La gestion des risques liés aux barrages', pp. 1–3. Available at: http://www.barragescfbr.eu/IMG/pdf/la_gestion_des_risques_lies_aux_barrages_may_2013.pdf.
- Chahinez, B. et al. (2013). 'Évolution spatio-temporelle des cyanobactéries filamenteuses peuplants le barrage d'AIN DALIA', 3, pp. 1–15.

- Chebbah, L. and Kabour, A. (2018). 'Impact of dam retention on the local climate regime: case of Beni Haroun (east algeria)', *larhyss Journal* P-ISSN 1112-3680 / E-ISSN 2521-9782, 0(33), pp. 51–69.
- Chinyama, A., et al. (2016). 'Occurrence of cyanobacteria genera in the Vaal Dam: implications for potable water production', 42(3), pp. 2008–2013.
- Chocat, B. (2014). 'Les barrages sont-ils un bien pour l'environnement ?', 0(33), pp. 1–24.
- Choquette, M. C. (2016). 'Gestion des eaux retenues par les barrages-réservoirs au Québec'.
- Diplome, D. U. and Octorat, D. E. D. (2017). 'T HESE présentée par Spécialité : Sciences biologiques et biotechnologiques de la région de Sidi Bel Abbès. Remerciements'.
- Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., & Wiedner, C. (2012). Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phosphorus. *PLoS one*, 7(6), e38757.
- Du, X. et al. (2019). 'The Diversity of Cyanobacteria Toxines on Structural Caractérisation, Distribution and Identification': pp. 1–34.
- Enseignement, M. D. E. L., Et, S. and Recherche, D. E. L. A. (2016). Étude de la qualité bactériologique de l'eau du barrage de Zit- Emba et la microflore de « *Barbus callensis* ».
- Enhanced Reader (2020). Available at: <moz-extension://6394574d-cd76-473d-a8ab-0a8888796590/enhanced-reader.html?openApp&pdf=http%3A%2F%2Flarhyss.net%2Fojs%2Findex.php%2Flarhyss%2Farticle%2FviewFile%2F450%2F444> (Accessed: 26 March 2020).
- Étude, S. H. et al. (2012). 'Doctorat en sciences Spécialité : Sciences Hydrauliques Étude de la Qualité des Eaux et de Transport Solide dans le Barrage de Beni-Haroun (Mila), Son Impact sur L ' Environnement de la Région'.
- Farm, U. O. and Primefact, T. (2013). 'Managing blue-green algae in farm dams', (November).
- Forêts, D. (2013). 'Recueil des résumés 1', pp. 1–72.
- Fili, V. and Sp, E. (2019). 'Qualité nutritive des eaux pour le phytoplancton après le transfert du barrage Béni Haroun vers Koudiet Medouar .'.
- Gavériaux, J. (2018). 'Les cyanobactéries des lichens,' 43, pp. 129–146.
- GOITA, A. (2013). 'Les Bactéries pathogènes D'Origine hydrique De L'Épidémiologie a La Prevention', PP 1-144
- Guellati, F. Z. et al. (2017). 'Unusual cohabitation and competition between Planktothrix
- Guelma-, H. D. (2016). 'Mémoire en vue de L 'obtention du Diplôme de Master Thème : Contribution à l'étude de la qualité physico - chimique et bactériologique de l'eau du Barrage'.

rubescens and *Microcystis* sp. (cyanobacteria) in a subtropical reservoir (Hammam Debagh) located in Algeria', PLoS ONE, 12(8), pp. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0183540.

Habilla, S. (2018). 'Thèse de doctorat : Évaluation du risque écologique et sanitaire de la contamination des eaux et des sédiments du barrage Beni Haroun (Wilaya de Mila) Université 8 Mai 1945 de GUEMA Algérie', p. 226.

Haroun, B. and Haroun, B. (2018). 'Pert de la capacité de stockage d'eau au barrage de Beni Haroun, Algérie Loss of water storage capacity at the Beni Haroun dam, Algeria', 02(1), pp. 80–97.

Hawa, D. and Asma, A. (2015). 'Évaluation du Risque de Contaminations microbiologiques et métalliques des Eaux du Barrage de Beni Haroun'.

Henni, S. (2010). 'Isolement, caractérisation et valorisation de bactéries de la mine de Gafsa pour des applications en bioremédiation.', pp. 2009–2010.

Hoeger, S. J. et al. (2004). 'Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in two Australian drinking water treatment plants', 43, pp. 639–649. doi: 10.1016/j.toxicon.2004.02.019.

Id, H. A. L. (2007). 'Étude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation Hélène Barberousse To cite This version : HAL Id : tel-00188566'.

ICOLD CIGB > Rôle des Barrages (2020). Available at: https://www.icold-cigb.org/FR/barrages/role_des_barrages.asp (Accessed: 23 March 2020).

Larbi, U., Ben, M. and El, O. U. M. (2015). 'theme : Étude de qualité des eaux des barrages de l'Est Algérien.', pp. 2014–2015.

Lavoie, I., Laurion, I. and Vincent, W. (2007). 'LES FLEURS D ' EAU DE CYANOBACTÉRIES Document d ' information vulgarisée'.

Lemzadmi, C et Saidi, H. (2017). 'Mémoire de Master Perte de capacité de stockage en eau dans quelques barrages de l ' est Algérien'. L'Université 8 Mai 1945 de Guelma Faculté des Sciences et de la Technologie, p87.

Dorner.B. et al. (2018). 'Les cyanobactéries et leurs toxines dans les sources d'eau potable To cite this version : HAL Id : tel-01743744 Université Paris-Est Les cyanobactéries et leurs toxines dans les sources d'eau potable'.

Mebarki, A., Benabbas, C. and Grecu, F. (2008). 'Le système « Béni-Haroun » (Oued Kébir-Rhumel, Algérie): aménagements hydrauliques et contraintes morfo-géologiques', *Analele Universitatii Bucuresti: Geografie*, 57(March 2019), pp. 37–51.

Medicinales, A. E. T. (2018). 'République algérienne Démocratique et Populaire République algérienne Démocratique et Populaire', (Détermination de certains paramètres biochimiques), pp. 2012–2013.

Mehanned, S., Zaid, A. and Chahlaoui, A. (2014). 'Caractérisation bactériologique du lac réservoir du barrage sidi chahed', pp. 215–225.

Ministrede, P. et al. (2015). 'Étude de la qualité des eaux de surface destinées à destiner l'irrigation : cas de barrage de Dahmouni, wilaya de Tiaret'.

Mireh. A. (2019). 'Étude de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau des puits de la région EL Hassiane (W. Mostaganem), Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, P 60

Mokoena, M. M. and Mukhola, M. S. (2019). 'Current effects of cyanobacteria toxins in water sources and containers in the Hartbeespoort dam area, South Africa', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22), pp. 1–9. doi: 10.3390/ijerph16224468.

Nabil, H. (2007). 'Qualité des eaux de surface de L ' est algérien et leur réactivité vis-à-vis du chlore'.

Nasri, H., Bouaicha, N. and Ka, M. (2007). 'La présence des cyanobactéries potentiellement toxiques dans les eaux du barrage Cheffia « Wilaya d'El tarf »', pp. 201–205.

Ouhmidou, M. and Chahlaoui, A. (2015). 'Caractérisation bactériologique des eaux du barrage Hassan Addakhil (Errachidia-Maroc)', (June), pp. 183–196.

Ouhmidou, M. et al. (2015). 'Étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux du barrage Hassan Addakhil d ' Errachidia (Maroc) Study of the physico-chemical and bacteriological quality of the barrage Hassan Addakhil of Errachidia (Morocco)', 6(6), pp. 1663–1671.

Ozturk, B. Y., et al. (2018). 'Molecular and Morphological Characterization of Several Cyanobacteria and Chlorophyta Species Isolated from Lakes in Turkey', 19(8), pp. 635–643.

Utiliser, C. and Manuel, C. E. (2011). *Manuel des Protocoles D ' Échantillonnage pour L'Analyse de La Qualité de L'Eau Au Canada Pn 1462, Biofilms.*

Robert, C. and Deblois, C. (2005). 'Cyanobactéries et cyanotoxines au Québec : suivi à six stations de production d ' eau potable (2001-2003)'.

Romanowska-duda, Z. and Izydorczyk, K. (2006). 'Toxic cyanobacteria strains in lowland dam reservoir (sulejow res. Central Poland): amplification of mcy genes for detection and identification.'

Kherief.N et al. (2018). 'Dynamique des Éléments nutritifs et du Phytoplancton dans Le Barrage Béni Haroun dans l'Est Algérien,' *European Scientific Journal, ESJ*, 14(12), p. 111. doi: 10.19044/esj.2018.v14n12p111.

Samia, C., et al. (2019). 'Dynamic of filamentous cyanobacteria in the dam Ain Zada (North of Algeria)', *Journal of Ecological Engineering*, 20(5), pp. 97–110. doi: 10.12911/22998993/105335.

Saoudi, A. (2008). 'Isolement, culture et évaluation de la toxicité des efflorescences à *Microcystis* sp., du barrage Mexa'.

Schopf, J. W. (2002). *The Fossil Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage*. In B. Whitton & M. Potts (Eds.), *The Ecology of Cyanobacteria* (pp. 13-35): Springer Netherlands

Soewarno (1995). 'The Burden of Diabetes in Wisconsin,' 11(3), p. 296–300. doi: false.

Wu, S., Wang, S., Yang, H., Xie, P., Ni, L., & Xu, J. (2008). Field studies on the environmental factors in controlling microcystin production in the subtropical shallow lakes of the Yangtze River. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 80(4), 329-334.

Annexe

Tableau 1 : représente les produits et les matériels utilisés lors de l'extraction et la PCR

Produits :	Matériels :
Culture de cyanobactéries - Solution de lyse- RNase- Protéinase K- Isopropanol- Éthanol 70%- Solution de réhydratation d'ADN – Thermocycleur. mixe: ultra pure- tampon10X - dNTP- MgSO4- amorce - laTaq polymérase -ADN génomique-.Eau distillée stérile	Anse de platine– Vortex-balance Bain marie- Portoir flotteur- Micropipettes- Embouts-Tubes Eppendorf 1.5 ml- étuve- glace- Bac à glace centrifugeur– électrophorèse

Milieux de culture

Milieu gélose viande-foie (g/L)

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

PH final : 7,6 ± 0,2

Milieu gélose Salmonella-Shigella (SS) (g/L)

Extrait de viande de bœuf	5
Polypeptone.....	5
Sels biliaires.....	8,5
Thiosulfate de sodium.....	8,5
Citrate ferrique.....	1
Citrate de sodium.....	10
Lactose.....	10
Vert brillant.....	0,00033
Rouge neutre.....	0,025
Agar.....	13,5

PH final = 7,0

Annexe

Milieu gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCPL) (g/L)

Peptone.....	5
Extraits de viande.....	3
Lactose.....	10
BCP.....	.0,025
Agar.....	15

PH final =7

Milieu gélose TSI (g/L)

Mélange de peptones.....	18
Extrait de levure.....	3
Extrait de viande.....	4
Lactose.....	10
Saccharose.....	10
D-glucose.....	1
Chlorure de sodium.....	5
Citrate d'ammonium ferrique.....	0,3
Thiosulfate de sodium.....	0,3
Rouge de phénol.....	0,025
Agar.....	14

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

Milieu Mannitol-Mobilité (g/L)

Peptone.....	20
Nitrate de Potassium.....	1
Mannitol.....	2
Rouge de phénol à 1%.....	4ml
Agar.....	4

PH = 8,1

Annexe

Milieu Citrate de Simmons (g/L)

Sulfate de Magnésium.....	0,2
Phosphate mono ammoniaque.....	1
Phosphate dipotassique.....	1
Citrate de sodium.....	2
NaCl.....	5
Bleu de bromothymol.....	80mg/l
Agar.....	12

PH = 6,8

Gélose TGEA (g)

Tryptone.....	5,00
Extrait de viande.....	3,00
Glucose.....	1,00
Agar.....	15,0
Eau distillée.....	1 000 ml

Ph= 7

Milieu Bouillon Schubert (g)

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

PH final : $7 \pm 0,2$

Annexe

Milieu Urée-indole (g/L)

L-tryptophane.....	3
Phosphate monopotassique.....	1
Phosphate bipotassique.....	1
NaCl.....	5
Urée.....	20
Alcool 95°.....	10ml
Rouge de Phénol.....	25ml

PH = 6,7

Milieu Giolitti Cantoni (g)

Tryptophane.....	10.0
Extrait de viande de bœuf	5.0
Extrait de levure.....	5.0
Chlorure de lithium.....	5.0
Mannitol.....	20.0
Chlorure de sodium.....	5.0
Glycocolle.....	1,2
Pyruvate de sodium.....	3.0

PH = 6,9 ± 0,2

Milieu gélose lactosée au TTC (g)

Peptones.....	10,0
Extrait de viande.....	6
Extrait de levure.....	6,0
Lactose.....	20,0
Bleu de bromothymol.....	0,05
Agar-Agar bactériologique.....	10,0

PH = 6,8

Annexe

Milieu gélose King A (g)

Peptone A.....	20,0
Glycérol.....	10,0
Sulfate de potassium.....	10,0
Chlorure de magnésium.....	1,4
Agar purifié.....	12,0

PH = 7,2

Milieu gélose King B (g)

Peptone B.....	20,0
Glycérol.....	10,0
Hydrogénophosphate de potassium.....	1,5
Sulfate de magnésium heptahydraté.....	1,5
Agar purifié.....	12,0

PH = 7,2

Milieu Chapman (g)

Peptone.....	10,0
Extrait de viande de bœuf.....	1,0
Chlorure de sodium.....	75,0
Mannitol.....	10,0
Rouge de phénol.....	0,025
Agar Agar.....	15,0
Eau distillée.....	1L

PH = 7,4

Réactif de Kovacs

P-diméthyle aminobenzaldéhyde.....	7g/L
Alcool amylique.....	75ml
Acide chlorhydrique concentré.....	20ml

Annexe

Réactif TDA

Perchlorure de fer.....	3,4g
Eau distillée.....	100ml

Réactif de VP

VP 1

Hydroxyde de Potassium.....	40g/L
Eau.....	100ml

VP 2

Alpha naphтол.....	6g
Éthanol.....	100ml

Réactif TDA

Perchlorure de fer.....	3,4g
Eau distillée.....	100ml

Le milieu BG 11 (g)

NaNO ₃	1.5
K ₂ HPO ₄	0.31
MgSO ₄ ,7H ₂ O.....	0.075
CaCl ₂ ,2H ₂ O.....	0.036
Acide citrique.....	0.006
Citrate ferrico-ammonique.....	0.006
EDTA.....	0.001
Na ₂ CO ₃	0.02
Solution d'oligoéléments.....	1ml
Eau distillée.....	1L
Agar-agar	7

Ph = 7,4

Annexe

Gélose VRBL (g)

Peptone.....	7
Extrait de levure.....	3
Lactose.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Melange sel biliaire.....	1,5
Cristal violet.....	0.002
Rouge neutre.....	0.03
Eau distillée.....	1000mL
Agar-agar	15

Ph = 7,4

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Etude bibliographique sur la pollution bactériologique qui menace la qualité de l'eau du Barrage Beni Haroun, wilaya de Mila.

Résumé

Le barrage est le moyen le plus sûr qui permet de préserver l'eau pour une consommation ultérieure. Leurs différents usages peuvent varier d'un barrage à un autre. Mais, le point commun avec ces édifices est le blocage de l'eau coulante qui par conséquent limite la circulation des espèces animales aquatiques ainsi que les sédiments.

Dans le présent travail, nous avons développé une étude documentaire pour déterminer la qualité bactériologique de l'eau du barrage Beni Haroun, le plus grand complexe hydraulique à la wilaya de Mila, Algérie.

Notre recherche a démontré que la pollution des écosystèmes aquatiques pose un grand problème dans de nombreux barrages, précisément le barrage Beni Haroun, qui souffre de différents polluants. En effet, la plupart des études déjà faites concernant la qualité des eaux superficielles de ce barrage ont démontré une teneur élevée en nutriments comme le phosphore et l'azote. Cette eutrophisation des eaux induit la prolifération de certaines espèces de cyanobactéries produisant des toxines au niveau des couches superficielles des retenues du barrage.

Au dernier chapitre, nous avons entamé une étude détaillée sur les méthodes d'échantillonnage, transport et conservation, ainsi que les méthodes mises en œuvre pour la recherche et l'identification phénotypique et moléculaire des bactéries des eaux, spécialement les cyanobactéries ; Finalement, cette étude a démontré que les cyanobactéries sont une source de toxines qui restent présentes dans l'eau même après son traitement dans les stations d'eau potable. Donc, d'éventuelles recherches devraient être effectuées afin de trouver un moyen pour éliminer ces toxines qui sont un risque potentiel pour la santé des organismes.

Mot clés : barrage, Beni Haroun, pollution, les bactéries pathogènes, cyanobactéries, les toxines

Membre du jury :

Président du jury : Dr BENKAHOUL Malika (MCB- UFM Constantine1).

Encadreur : Dr BOUBEKRI Karima (MCA- UFM Constantine 1).

Examineur : Dr BOULAHROUF Khaled (MCB- UFM Constantine 1).

Tutrice : Mme BOUTADJINE Hiba (Doctorante- UFM Constantine)

Présentée par : Bousmaha Sara
Bouchemma Rayane

Année universitaire : 2019 -2020

