



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 des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologies Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

**Evaluation des paramètres physico-chimiques,
bactériologiques des eaux usées de la station d'épuration
d'Ibn Ziad et recherche de *Vibrio cholerae*.**

Présenté et soutenu par : Boufercha Oumeima

Le : 22/06/2017

Benmalek Selma

Jury d'évaluation:

Président du jury : Mr. KHELIFA F.	Maître de conférences A	Faculté de médecine
Rapporteur : M ^{me} . SEKHRI-ARAFA N.	Maître de conférences B	U FM. Constantine
Examinatrice : M ^{elle} . ARABET D.	Maître de conférences B	U FM Constantine

*Année universitaire
2016 - 2017*

Remerciements

Ce travail a été réalisé à la station d'épuration des eaux usées d'Ibn Ziad ainsi que le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine.

Nos gratitude s'adresse à *M^{me} Sekhri Arafa N*, Maître de conférences B, à l'université des Frère Mentouri Constantine pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle a témoigné pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Nos vifs remerciements à l'ensemble des membres du jury :

Monsieur Khelifa F, Maître de conférences A, laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine, pour nous avoir accordé l'accès au laboratoire d'hygiène, et qui nous fait l'honneur de bien vouloir présider le jury de soutenance.

M^{elle} Arabet D, Maître de conférences B, à l'université des Frère Mentouri Constantine, pour l'intérêt qu'elle a accordé à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger. Qu'elle trouve ici le témoignage de nos respectueuses gratitude s.

Nous tenons aussi à remercier le personnel du laboratoire d'hygiène : M^{me} Haifi M, M^{me} Belhaffaf M, M^{me} Boulelli S, pour leurs aides, ainsi que toute l'équipe de la station.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La personne qui m'importe le plus dans ce monde, ma Maman Bensí Hamdí Fouzia. Elle qui m'a toujours soutenu et cru en moi, qui est ma source d'inspiration. Je suis éternellement reconnaissante pour ses sacrifices, ses conseils, sa présence et sa tendresse.

Mon très cher père pour tous les efforts consentis pour mon éducation, et pour tout ce qu'il fait pour moi.

Mon idéal, l'être le plus généreux, mon très cher grand père Mohammed qui m'a encouragé pour tenir jusqu'au bout.

Mon adorable sœur Chaíma, qui m'a souvent redonné le sourire.

Mes beaux et chers frères ; Oussama Takí Eddíne et Mohammed Bahaa Eddíne, je n'oublie et je n'oublierai jamais leur aide morale.

Toute ma famille, mes amies et les personnes que j'aime, ainsi qu'à toute la promotion de M2 MGBMM 2016/2017.

Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance,

Mon amour et mon affection.

Oumeíma. M

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

*L'être le plus proche de mon cœur ma mère **Souad**, mon ange gardien, ma confidente, aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour éternel, ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me porter depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés.

*Mon père **Abderrahmane**, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, merci papa*

*Mon frère **Abdelkader**, bijoux de la famille, sources de mes joies, et de ma force*

*Ma tante **Sabrina** ma deuxième mère, pour son amour, son encouragement et son soutien morale malgré la distance qui nous sépare.*

*Mon grand-père **Ahmed**, ma grand-mère **Latraqui** sont toujours dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite.*

*Mes tantes et mes oncles, en particulier nanou, **Nadia**, **Moufida**, **Chahrazed**, **Faouzi**, **Salim**, **ALI** et **Mouloud**.*

*Mes cousins et mes cousines, en particulier **Amina**, **Ghozlen**, **Meriem**, **Zaki**, **Sidou**, **Jalel**, **Maram**, **Hani**, **Skander**, **Bahí** et **Mimi**.*

Tous mes amis chacun avec son nom.

SELMA

Résumé

Les eaux usées constituent un milieu aquatique rassemblant l'essentiel des rejets domestiques et industriels. Elles renferment une pollution organique et véhiculent un grand nombre d'agents pathogènes.

Dans notre étude, l'échantillonnage a été effectué une fois par semaine sur une période d'un mois du (27 Mars au 23 Avril) avec un total de 5 prélèvements, analysés au niveau de la STEP d'Ibn Ziad et le laboratoire d'hygiène de la ville de Constantine.

L'objectif de cette étude est de déterminer à l'entrée et à la sortie de la Station d'épuration d'Ibn Ziad les caractéristiques physico-chimiques (pH, température, conductivité, turbidité, MES, DBO₅) et bactériologiques par dénombrement des indicateurs de contamination fécale, ainsi que la recherche de *V.cholerae*.

Les résultats physico-chimiques des eaux usées épurées montrent des températures ambiantes, des pH alcalins et minéralisation moyenne. La charge polluante générée par l'effluent traité est de l'ordre de 7,07 FTU pour la turbidité, de 30,04 mg/l pour les MES, et de 35,6 mg O₂/l pour la DBO₅. Ces paramètres sont en accord avec les normes du journal officiel Algérien. L'analyse bactériologique des eaux usées épurées indique des concentrations en coliformes totaux et fécaux, Streptocoques fécaux et spores de Clostridium sulfito réducteur répondant aux directives de l'OMS. Les résultats montrent aussi la présence de *V.cholerae* non O1 dans l'eau usée brute, les isolats ont été identifiés après culture sur milieu GNAB par des tests biochimiques et sérologiques, la résistance à l'amoxicilline et à l'acide nalidixique a été notée.

Le traitement des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad par boues activées a un impact positif sur la qualité des eaux d'Oued Rhumel.

Mot clés : Eau usée brute, Eau usée épurée, Station d'épuration d'Ibn Ziad, Paramètres physico-chimiques, Paramètres bactériologiques, *V.cholerae* non O1.

ملخص

المياه القذرة تشكل وسط مائي يجمع اهم الإطراحات المنزلية والصناعية. المياه القذرة تحوي تلوث عضوي وتنقل عدد كبير من العوامل الممرضة.

في دراستنا المعاييرة تمت بمعدل مرة كل أسبوع على مدى شهر من (27 مارس الى 23 أبريل) بمجموع 5 عينات تم تحليلها على مستوى محطة معالجة المياه ابن زياد والمخبر الجهوي الولائي للوقاية لمدينة قسنطينة.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة الخصائص الفيزيوكيميائية (معامل القلوية، الحرارة، الناقلية، التعكر، المواد العالقة، معيار الطلب البيوكيميائي للأوكسجين) والبكتيرية من خلال حساب مؤشرات التلوث الغائطي وكذلك دراسة *V.cholerae* عند مدخل ومخرج المحطة.

النتائج الفيزيوكيميائية للمياه المعالجة توضح درجات حرارة معتدلة وقلوية قاعدية وتمعدن متوسط. ثقل الملوث المحمول من التيار الدافق المعالج هي من رتبة FTU 7,07 بالنسبة للتعكر و30,04 مغ/ل للمواد العالقة و35,6 مغ/ل بالنسبة لمعيار الطلب البيوكيميائي للأوكسجين. هذه الخصائص تتوافق مع معايير الصحيفة الرسمية الجزائرية. التحاليل البكتيرولوجية للمياه المعالجة تظهر تراكيز عن البكتيريا القلوية والقلوية البرازية والعقد المكورة البرازية وبكتيريا الكلوسترية تتناسب مع توجيهات المنظمة العالمية للصحة. النتائج توضح كذلك وجود *V.cholerae non O1* في المياه القذرة، التي تم الكشف عنها انطلاقا من زراعتها في وسط GNAB والتأكد منها عن طريق اختبارات بيو كيميائية ومصلية، وقد سجلنا مقاومة l'amoxicilline و l'acide nalidixique .

معالجة المياه القذرة بمحطة ابن زياد بطريقة الحمأة النشطة لها تأثير إيجابي على نوعية مياه واد الرمال .

الكلمات المفتاحية: مياه قذرة، مياه معالجة، محطة تصفية المياه ابن زياد، خصائص فيزيوكيميائية، خصائص بكتيرولوجية، *V.cholerae non O1*.

Abstract

The waste waters constitute an aquatic environment gathering the main part of the domestic and industrial wastes. The waste waters contains an organic pollution and conveys a large number of disease-causing agents.

In our study, sampling was carried out once per week over one month period of (from March 27th to April 23rd) with a total of 5 samples, analyzed on the level of the STEP of Ibn Ziad and the laboratory of hygiene of the town of Constantine.

The objective of this study is to determine at the entry and the exit of the STEP the physico-chemical characteristics (pH, temperature, conductivity, turbidity, suspended matter, BOD₅) and bacteriological parameters by numeration of the indicators of fecal contamination, as well as the study of *V.cholerae*. The physico-chemical results of purified waste waters: ambient temperatures, alkaline pH and fairly mineral-bearing. The polluting load generated by the treated effluent is about 7.07 FTU for turbidity, of 30.04 mg/l for the suspended matter, and of 35.6 mg O₂/l for the BOD₅. These parameters are in agreement with the standards of the Algerian official journal. The bacteriological analysis of purified waste water indicates concentrations of total and faecal Coliforms, faecal Streptococci and sulphite-reducing Clostridia complies with WHO guidelines. The results also show the presence of *non-O1 V.cholerae* in the raw waste water, the isolates were identified after culture on GNAB medium by biochemical and serological tests, Resistance to amoxicillin and nalidixic acid was noted. The treatment of waste waters of the STEP of Ibn Ziad by activated sludge will have a positive impact on the quality of water of Rhumel valley.

Keyword: Raw waste water, Purified waste water, waste water treatment plant of Ibn Ziad, Physicochemical parameters, Bacteriological parameters, *V.cholerae non O1*.

Liste des abréviations

ADH : Argénine Dihydrolase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigène

A_w : Activité de l'eau

BLBVB : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant

C S-R : Clostridium Sulfite Réducteur

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CE : Conductivité Electrique

CF : Coliformes Fécaux

CT : Coliformes Totaux

COT : Toxine Cholérique

DBO₅ : Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours

E.coli : *Escherichia coli*

EPA : Eau Péptonée Alcaline

EU : Eau Usée

EUB : Eau Usée Brute

EUE : Eau Usée Epurée

FTU : *Formazin Turbidity Unit*

Gel : Gélatinase

Glu : Glucose

GNAB : Gélose Nutritive Alcaline Bilié

H₂S : Sulfure d'hydrogène

Lac : Lactose

LDC : Lysine Décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharide

MEB : Microscope Électronique à Balayage

MES : Matières en Suspension

MH : Muller-Hinton

MO : Matière Organique

MRE : Ministre des Ressource en Eau

NAG : Non Agglutinant

NCBI : National center for biotechnology information

NPP : Nombre le Plus Probable

NR : Nitrate Réductase

ODC : Ornithine Décarboxylase

OMS : Organisation Mondial de la Santé

ONPG : Orthonitrophényl-β-D-galactopyrannoside.

pH : Potentiel d'hydrogène

R : Résistance

RM : Rouge de Méthyle

S : Sensibilité

S/C : Simple Concentration

Sac : Saccharose

SF : Streptocoques Fécaux

SM : Solution Mère

STEP : Station d'Épuration des Eaux Usées

T : Témoin

TCSB : Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose

TSI : Triple Sugar Iron Agar

TTR : Tetrathionate Réductase

UV : Ultra-Violet

V.cholerae : *Vibrio cholerae*

VF : Viande Foie

VP : Voges-Proskauer

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les eaux usées

1. Définition des eaux usées	2
2. Origine des eaux usées	2
2.1. Les eaux usées domestiques	2
2.2. Les eaux usées pluviales	3
2.3. Les eaux usées agricoles	3
2.4. Les eaux usées industrielles	3
3. Caractéristiques des eaux usées	4
3.1. Caractéristiques physico-chimiques	4
3.2. Caractéristiques bactériologiques.....	4

Chapitre II : Traitement des eaux usées

1. L'assainissement, de l'antiquité à nos jours	5
2. L'épuration des eaux usées en Algérie.....	5
3. L'épuration des eaux usées	6
3.1. Les prétraitements	6
3.1.1. Le dégrillage	6
3.1.2. Le dessablage	6
3.1.3. Le déshuilage	6
3.2. Les traitements physiques	6
3.2.1. La décantation primaire	6
3.2.2. La décantation secondaire	7
3.3. Les traitements biologiques	7
3.3.1. Le traitement par boues activées	7
3.3.2. L'épuration sur lit bactérien	7
3.3.3. Traitement anaérobie	7
3.4. Les traitements physico-chimiques	7

Chapitre III : *Vibrio cholerae*

1. Historique	8
2. Ecologie.....	8

3. Taxonomie	9
4. Etude bactériologique.....	11
4.1. Caractères morphologiques.....	11
4.2. Caractères cultureux	12
4.3. Caractères biochimiques	13
4.4. Caractères génétiques	14
4.5. Caractères antigéniques	15
5. Pathogénicité et Virulence de <i>Vibrio cholerae</i>	15
5.1. Le pouvoir pathogène	15
5.2. La virulence	17
6. La sensibilité aux antibiotiques.....	19
7. Epidémiologie du choléra.....	19

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la zone d'étude	22
1.1. Localisation de la station d'épuration d'Ibn Ziad.....	22
1.2. Capacité de la station d'épuration	23
1.3. Qualité des eaux usées brutes	23
1.4. Les grandes étapes du traitement	24
1.4.1. Prétraitement	24
a. Le criblage grossier	24
b. Séparation du sable et de graisse	24
1.4.2. Traitement secondaire (Biologique)	25
a. Bassin d'aération	25
b. Décantation secondaire	26
c. Boues activés de retour	27
d. Evacuation des boues.....	27
1.4.3. Traitement tertiaire.....	28
1.5. Impacte de la station d'épuration	28
2. Prélèvement et suivi des paramètres	30
2.1. Rythme des prélèvements	30
2.1.1. Echantillonnage	30
2.1.2. Bonne pratique de prélèvement.....	30

2.1.3. Transport des échantillons	30
2.2. Paramètres physico-chimiques.....	30
2.2.1. Température	31
2.2.2. pH	31
2.2.3. Conductivité	31
2.2.4. Matières en suspension (MES)	31
2.2.5. Turbidité.....	32
2.2.6. Demande Biochimique en Oxygène (DBO ₅).....	32
2.3. Paramètres bactériologiques	32
2.3.1. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	33
2.3.2. Dénombrement des Streptocoques fécaux.....	35
2.3.3. Dénombrement des spores de Clostridium sulfito -réducteurs	35
2.4. Recherche de <i>Vibrio cholerae</i>	38
2.4.1. Enrichissement	38
2.4.2. Isolement.....	38
2.4.3. Identification morphologique.....	38
a. Examen macroscopique	38
b. Examen microscopique.....	38
2.4.4. Identification biochimique	39
a. Enzymes respiratoires et test ONPG.....	39
b. Métabolisme glucidique.....	40
c. Métabolisme protidique	41
2.2.5. Identification sérologique : Agglutination avec le sérum anti-O1	42
2.2.6. Antibiogramme par la technique de diffusion sur gélose	42

Résultats et Discussion

1. Caractérisation physico-chimiques et bactériologiques des eaux usées brutes et traitée de la STEP d'Ibn Ziad	44
1.1. Paramètres physico-chimiques.....	44
1.1.1. Température	44
1.1.2. pH.....	45
1.1.3. Conductivité	46
1.1.4. Matières en suspension (MES)	48
1.1.5. Turbidité.....	49
1.1.6. Demande Biochimique en Oxygène (DBO ₅).....	50

1.2. Paramètres bactériologiques	52
2. Recherche de <i>Vibrio cholerae</i>	54
2.1. Identification morphologique	54
a. Aspect macroscopique	54
b. Aspect microscopique	55
c. Test de l'oxydase	55
2.2. Identification biochimique	55
2.3. Identification sérologique	58
2.4. Sensibilité de <i>V.cholerae</i> non O1 vis-à-vis des antibiotiques.....	59
Conclusion	62
Perspectives	63
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Figure 01 : <i>Vibrio cholerae</i> sous MEB	11
Figure 02 : Coloration de Gram de <i>Vibrio cholerae</i>	11
Figure 03 : Aspect des colonies de <i>Vibrio cholerae</i> sur le milieu TCBS	12
Figure 04 : Répartition géographique du choléra dans le monde selon l’OMS en 2015 ...	21
Figure 05 : Carte géographique de la localisation de la STEP d’Ibn Ziad.....	22
Figure 06 : Conduite principale des eaux usées qui alimentent la STEP d’Ibn Ziad	23
Figure 07 : Vue des trois entrées de l’eau usée au criblage grossier avec des ouvertures manuelles (1, 2, 3)	24
Figure 08 : Vue d’ensemble sur la séparation des graisses et du sable	25
Figure 09 : Bassin d’aération.....	25
Figure 10 : Décanteur secondaire	26
Figure 11 : Vue des pompes à vis	27
Figure 12 : Bassin d’assainissement des boues activées	27
Figure 13 : Lits de séchage	28
Figure 14 : Récapitulatif du procédé d’épuration de la STEP d’Ibn Ziad de Constantine	29
Figure 15 : Organigramme de la recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans EUB	34
Figure 16 : Organigramme de la recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans EUB.....	36
Figure 17 : Organigramme de la recherche et dénombrement des spores de Clostridium sulfito-réducteurs dans EUB.....	37
Figure 18 : Organigramme de la recherche du <i>Vibrio cholerae</i>	41
Figure 19 : Variations journalières de la température des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad	45
Figure 20 : Variations journalières du pH des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad.....	46
Figure 21 : Variations journalières de la CE des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad	47
Figure 22 : Variations journalières de la salinité des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad...	47
Figure 23 : Variations journalières des MES des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad	48
Figure 24 : Variations journalières de la turbidité des eaux usées de la STEP d’Ibn Ziad ..	49

Figure 25 : Variations journalières de la DBO ₅ des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.....	50
Figure 26 : Aspect des colonies sur milieu GNAB	54
Figure 27 : Aspect microscopique des isolats suspects	55
Figure 28 : Révélation du test d'oxydase	55
Figure 29 : Résultat du test de catalase	56
Figure 30 : Galerie biochimique classique des trois suspectées de <i>V.cholerae</i>	56
Figure 31 : Test d'agglutination du <i>V.cholerae</i> avec un antisérum polyvalent anti O1	58
Figure 32 : Résultat de l'antibiogramme de <i>V.cholerae</i> non O1	60

Liste des tableaux

Tableau 01 : Différenciation des quatre genres formant la famille des <i>Vibrionaceae</i>	09
Tableau 02 : Classification de <i>Vibrio cholerae</i> dans le monde bactérien	10
Tableau 03 : Facteurs de développement de <i>V.cholerae</i>	13
Tableau 04 : Caractères biochimiques pour l'identification des espèces du genre <i>Vibrio</i> .	14
Tableau 05 : Facteurs de virulence des principales espèces de <i>Vibrions</i> non cholériques	18
Tableau 06 : L'évolution journalière des paramètres physico-chimiques de l'eau usée brute et épurée.....	51
Tableau 07 : Résultats d'analyses bactériologiques des eaux usées brutes et épurées de la STEP d'Ibn Ziad	52
Tableau 08 : Résultats de la recherche de <i>V.cholerae</i> dans l'eau usée brute et épurée de la STEP d'Ibn Ziad	54
Tableau 09 : Profil de sensibilité /résistance de <i>Vibrio cholerae</i> non <i>O1</i> vis-à-vis les antibiotiques testés	59

Introduction

L'eau représente un élément essentiel et irremplaçable, sa disponibilité en bonne qualité est un élément indispensable pour prévenir les maladies et améliorer la qualité de vie. Actuellement, la situation en Algérie se caractérise par une demande en eau croissante, alors que les ressources hydriques se raréfient d'une manière permanente. À cet effet, le rejet des eaux usées dans les oueds constitue un problème qui se traduit par un déséquilibre du milieu écologique d'une part et d'autre part par la perte de ces eaux sans récupération (**Ghadbane, 2003 ; Oluduro et Aderiye, 2007**).

Les eaux usées peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes pathogènes, menacent la qualité de l'environnement dans son ensemble. Ces eaux usées ne peuvent pas être rejetées telles quelles d'où la nécessité de leur épuration (**Von Sperling, 2007**).

Selon l'Organisation Mondiale de Santé, 80% des maladies qui affectent la population de la planète sont liées à la pollution des eaux. Effectivement, la plupart des microorganismes qui sont à l'origine des grandes épidémies historiques d'origine hydrique, ont pour habitat normal les intestins de l'homme et certains animaux à sang chaud. C'est pourquoi, le contrôle et la surveillance de la qualité de l'eau notamment les eaux usées apparaissent de plus en plus indispensables. Universellement, la pollution bactériologique de l'eau est évaluée par la recherche et le dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale dont la présence en nombre élevé indique une pollution d'origine fécale et la présence probable de microorganismes potentiellement dangereux notamment : Les Salmonelles, les Vibrions cholériques et les parasites (**Burton et al., 1987 ; OMS, 2004 ; El Ouali lalami et al., 2014**).

Les eaux usées constituent un environnement favorable pour la prolifération bactérienne. *V.cholerae* est une bactérie aquatique pathogène pouvant être retrouvée au niveau des eaux usées, appartenant à la famille des *Vibrionaceae*. Certaines souches sont responsables du choléra et d'autres des gastro-entérites.

Les objectifs entrepris dans ce travail sont :

- L'Évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes et épurées de la STEP d' Ibn Ziad à la ville de Constantine ainsi que l'évaluation de la qualité du traitement de la STEP.
- L'Isolement et identification de *Vibrio cholerae*.
- L'Étude du profil de sensibilité /résistance de *Vibrio cholerae*.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I:
Généralités sur les
eaux usées

Chapitre I : Généralités sur les eaux usées

1. Définition des eaux usées

Une eau usée, appelée encore eau résiduaire ou effluent est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est définie comme « Tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines » (**Merlet, 2004**).

L'aspect des eaux résiduaires fraîches est celui d'un liquide brun gris avec une odeur typique, mais faible. Durant leur transport, ces eaux se modifient d'autant plus vite que la température est élevée ; elles deviennent noires et dégagent une odeur d'œufs pourris, signe de la présence d'hydrogène sulfureux (H_2S), dangereux pour les égoutiers et corrosifs pour le béton et les aciers des égouts. Environ un tiers des matières contenues est en suspension, le reste est en solution.

La plus part des eaux usées sont inoffensives, d'autre sont nocives, elles peuvent être à l'origine de grave problèmes de santé publique (**Moussa Moumouni Djermakoye, 2005**).

2. Origine des eaux usées

Suivant l'origine et la qualité de substances polluantes, on distingue quatre catégories d'eau usées :

2.1. Les eaux usées domestiques

Les eaux usées d'origine domestique sont issues de l'utilisation de l'eau (potable dans la majorité des cas) par les particuliers pour satisfaire tous les usages ménagers. Lorsque les habitations sont en zone d'assainissement collectif, les eaux domestiques se retrouvent dans les égouts. Elles constituent l'essentiel de la pollution et se composent (**Baumont et al., 2005**) :

- Des eaux de cuisine, qui contiennent des matières minérales en suspension provenant du lavage des légumes, des substances alimentaires à base de matières organiques, (glucides, lipides protides), et des produits détergents ;
- Des eaux de buanderie, contenant principalement des détergents ;
- Des eaux de salle de bains, chargées en produits utilisés pour l'hygiène corporelle, généralement de matières grasses hydrocarbonées ;

- Des eaux de vannes, qui proviennent des sanitaires, très chargées en matières organiques hydrocarbonées, en composés azotés, phosphorés et en microorganismes (**Chocat, 1997 ; Franck, 2002**).

2.2. Les eaux usées pluviales

L'eau pluviale désigne l'eau issue des précipitations. Les eaux pluviales peuvent constituer la cause de pollutions importantes des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis, en ruisselant, des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...)¹.

2.3. Les eaux usées agricoles

L'agriculture est une source de pollution des eaux non négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses. Les eaux agricoles issues de terres cultivées chargées d'engrais nitrates et phosphates, sous une forme ionique ou en quantité telle, qu'ils ne seraient pas finalement retenus par le sol et assimilés par les plantes, conduisent par ruissèlement à un enrichissement en matière azotée ou phosphatée des nappes les plus superficielles et des eaux des cours d'eau et des retenues (**Metahri, 2012**).

2.4. Les eaux usées industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. En raison de leur spécificité, certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte. Elles ne sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations d'épuration ou du milieu récepteur (**Baumont, 2002**).

¹ (<http://www.dictionnaire-environnement.com/>)

3. Caractéristiques des eaux usées

Les normes de rejet des eaux usées, fixent des indicateurs de qualité physico-chimique et biologique. Ce potentiel de pollution généralement exprimés en mg/l, est quantifié et apprécié par une série d'analyses. Certains de ces paramètres sont indicateurs de modification que cette eau sera susceptible d'apporter aux milieux naturels récepteurs. Pour les eaux usées domestiques, industrielles et les effluents naturels, on peut retenir les analyses suivantes (**Attab, 2011 ; Metahri, 2012**).

3.1. Caractéristiques physico-chimiques

Elles résultent de l'introduction dans un milieu des substances conduisant à son altération, se traduisant généralement par des modifications des caractéristiques physico-chimiques du milieu récepteur.

La mesure de ces paramètres (la température, le pH, la conductivité, les matières en suspensions, la turbidité et la demande biochimique en oxygène pendant 5 jours) se fait au niveau des rejets, à l'entrée et à la sortie des usines de traitement et dans les milieux naturels (**Ghadbane, 2003 ; Metahri, 2012**).

3.2. Caractéristiques bactériologiques

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes (**Belaid, 2010**).

Les bactéries sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées (**Toze, 1999**).

Les eaux usées urbaines contiennent 10^6 à 10^7 bactéries/100ml dont la plupart sont des Proteus et des Entérobactéries, 10^3 à 10^4 Streptocoques et 10^2 à 10^3 Clostridium. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de 10^4 germes/ml. Parmi les plus détectées sont retrouvées, les Salmonelles, dont celles responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux. Les Coliformes thermotolérants sont des germes témoins de contamination fécale communément utilisée pour contrôler la qualité relative d'une eau (**Belaid, 2010**).

Chapitre II :
Traitement des eaux
usées

Chapitre II : Traitement des eaux usées

1. L'assainissement, de l'Antiquité à nos jours

De nos jours l'assainissement des eaux usées domestiques et industrielles est perçu comme une évidence, aussi bien pour la protection de notre santé que pour la préservation de l'eau en tant qu'écosystème. La collecte et le traitement des eaux usées ont suivi, à la fois, le mode de vie des sociétés au fil de l'Histoire, mais également les découvertes scientifiques. D'un point de vue historique la croissance démographique et le développement des villes ont imposé la nécessité de fournir aux citoyens une eau saine de « bonne qualité ». La protection de la santé publique a fait l'objet de nombreux efforts, avec notamment la dépollution des eaux usées, depuis plusieurs générations. Scientifiquement, la prise de conscience des problèmes de santé publique et la compréhension des causes d'épidémies, telles que le choléra, la peste et le typhus, ont entraîné la construction d'infrastructures et le développement de procédés, de plus en plus sophistiqués, permettant de mettre un terme à ces problèmes (**Hyaric, 2009**).

2. L'épuration des eaux usées en Algérie

En Algérie, peu d'importance est accordée à la couverture des services d'assainissement, comparée à la couverture des services d'approvisionnement en eau et encore moins d'importance est accordée à l'épuration. En effet, pour un taux de couverture du réseau d'assainissement de l'ordre de 85 %, seules 20 % des eaux usées collectées en Algérie sont traitées. Le volume annuel des eaux usées est estimé à 600 millions de m³, dont quelques 550 millions de m³ correspondent aux agglomérations de taille supérieure à 50 000 habitants (**Hartani, 2004**). Au cours de ces dernières années, le Ministère des Ressources en Eau (MRE) a entrepris la mise en œuvre d'un important programme d'investissement concernant la réalisation de 84 stations d'épuration (STEP) et la réhabilitation de 15 autres, dont deux en exploitation. Ceci a porté le nombre actuel des STEP existantes et en exploitation de 46 à 138 avant la fin 2008. À noter aussi que 56 STEP en cours d'étude ou en étude de réhabilitation, et dont le lancement des travaux a été prévu pour le moyen terme (2007-2010), ce qui a permis d'atteindre un parc de 194 STEP en 2010 (**Dape, 2006**).

3. L'épuration des eaux usées

Pour recycler les eaux usées dans le milieu naturel et les rendre propres et sécuritaires, l'épuration des eaux usées s'avère une nécessité primordiale. Elle est effectuée au niveau des stations d'épuration où les eaux usées subissent des différents types de traitements.

3.1. Les prétraitements

Ils permettent d'éliminer la fraction la plus grossière, afin de ne pas gêner les opérations ultérieures. Il s'agit de dégrillage, de dessablage, de dégraissage également appelé déshuilage.

3.1.1. Le dégrillage

Il s'agit d'éliminer les éléments de grandes dimensions qui se trouvent dans l'eau d'égout brute (chiffons, matières plastiques, etc...) et qui pourraient perturber le fonctionnement hydraulique de la STEP (**Belhamadi, 2011**).

3.1.2. Le dessablage

Après le dégrillage, il reste encore dans l'eau des fragments qui peuvent décanter facilement, mais dont la dureté et la taille sont relativement importantes, supérieure à 0,2 mm de diamètre, et qui pourraient conduire l'abrasion de certains éléments de la station et particulièrement les pompes, on élimine ces matériaux facilement décantables dans de petits bassins rectangulaires ou circulaires (**Belgiorno et al., 2007**).

3.1.3. Le déshuilage

Les eaux usées urbaines contiennent souvent des matières flottantes qui passent à travers les grilles (huiles, hydrocarbures, débris de graisse, etc...). Les huiles et les hydrocarbures forment une couche mince en surface et gênent ainsi le processus d'aération dans le cas des boues activées, il est donc nécessaire de piéger ces substances au niveau du prétraitement par un dispositif d'écumage (**Belhamadi, 2011**).

3.2. Les traitements physiques

3.2.1. La décantation primaire

Permet d'alléger les traitements biologiques ou chimiques ultérieurs, en éliminant une partie des particules solides en suspension de diamètre inférieur à 0,2 mm. L'eau circule lentement dans un bassin où sont raclées et aspirées périodiquement les particules rassemblées au fond (**Lazarova et al., 2003**).

3.2.2. La décantation secondaire

Appelée également clarification, elle intervient après le traitement biologique ou chimique, afin d'éliminer les floccs issus de ces derniers (**Belgiorno et al., 2007**).

3.3. Les traitements biologiques

Ces traitements consistent à une consommation de la matière organique contenue dans les eaux usées et d'une partie des matières nutritives (azote et phosphore) par des microorganismes, on trouve entre autres :

3.3.1. Le traitement par boues activées

C'est un traitement très largement utilisé. Il s'agit d'un réacteur qui contient les eaux à traiter, dans lequel est injectée une boue chargée de bactérie. Les bactéries consomment la matière organique et contribuent à l'élimination de l'azote et du phosphate (**Belhamadi, 2011**).

3.3.2. L'épuration sur lit bactérien

C'est le plus ancien procédé biologique utilisé. Des bactéries cultivées sur un substrat neutre ; de la pierre concassée, du pouzzolane, ou du plastique, sur lequel on fait passer l'effluent (**Belgiorno et al., 2007**).

3.3.3. Traitement anaérobie

Dans ce genre de traitement on utilise essentiellement la fosse imhoff ou la fosse à double étage, qui consiste en une consommation des matières organiques par les microorganismes présents dans l'eau en absence d'air (**Belhamadi, 2011**).

3.4. Les traitements physico-chimiques

Ils sont généralement utilisés dans les stations d'épuration de grande capacité, ou dans celles ayant à faire face à de grandes variations de charge dans l'année (zone touristique). Ils comportent classiquement deux phases : une phase de coagulation par des sels de fer ou d'aluminium, puis une floculation des colloïdes formés (**Lazarova et al., 2003**).

Chapitre III:
Vibrio cholerae

Chapitre III : *Vibrio cholerae*

Les sources d'eaux de surface doivent être considérées comme susceptibles d'être contaminées par des matières fécales et donc par *Vibrio cholerae* (**Bonhomme, 2003**).

1. Historique

V. cholerae, ou Vibriion cholérique (de grec kholera) l'agent chez l'homme du choléra, une maladie d'origine hydrique dont l'histoire a connu trois grande période (**Prescott et al., 2010 ; Delarras, 2014**).

- **1^{ère} Période**

De la plus haute antiquité où la maladie était déjà connue et jusqu'au XIX^e siècle, le cholera a sévi en Asie, en particulier dans le delta du Gange et du Brahmapoutre.

- **2^{ème} Période**

A partir de ce foyer du sous-continent indien, entre 1877 et 1922, six grandes pandémies vont se reprendre dans le monde, et en particulier en Europe, décimant les populations avec des conséquences sociales et économiques.

- **3^{ème} Période**

De 1922 à 1960, la maladie régresse et ne subsiste qu'au Bengale. Mais, en 1961, c'est en Indonésie qu'une 7^{ème} pandémie se déclare et s'étend vers l'ouest ; elle atteindra en 1970 les frontières de l'Europe occidentale et elle s'installera au Moyen-Orient sur le pourtour méditerranéen (**Delarras, 2014**).

2. Ecologie

Le genre bactérien *Vibrio* fait partie des bactéries autochtones du milieu marin, saprophytes, hétérotrophes et ubiquistes et rassemble des espèces halotolérantes dont la croissance n'est pas inhibée par la présence de fortes concentrations de sel (**Flandrois et al., 1997 ; Fukushima et Seki, 2004**).

V. cholerae a pour habitat les milieux aquatiques et notamment les eaux saumâtres des estuaires, les eaux côtières et les lits des fleuves (**Bouchriti, 1997**).

V. cholerae se trouve donc à l'état libre dans l'environnement, mais elle présente une survie accrue lorsqu'elle est associée à d'autres organismes aquatiques, et en particulier avec de copépodes vivants, ou associés à différents supports, sédiments, particules en suspension, plancton (**Huq et al., 1990 ; Nair et Bartram, 2001**).

La distribution de ce germe est gouvernée par différents facteurs tels : la température, la salinité, l'oxygène dissous, la profondeur, et les matières en suspension ainsi que par la prédation par les eucaryotes et les bactériophages (Gay, 2004).

On a estimé pendant longtemps que cette bactérie était relativement fragile dans l'environnement, car sensible aux UV, à la dessiccation et la température, que sa durée de vie y était restreinte et que sa présence dans les milieux aquatiques résultait essentiellement d'une contamination d'origine fécale (Miossec, 2002).

3. Taxonomie

La mise à jour de la taxonomie de la dernière édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2005) décrit 68 espèces de *Vibrio* et de nouvelles espèces ont été identifiées depuis. Le site Web du NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) fait état actuellement de plus de 70 espèces du genre *Vibrio* dans la rubrique Taxonomie de la famille de *Vibrionaceae*. Parmi ces espèces, certaines sont pathogènes pour l'homme et les animaux aquatiques, et engendrent de plus en plus de problèmes de santé publique humaine et animale (Guegan, 2006).

La famille des *Vibrionaceae* compte trois autres genres : *Photobacterium*, *Plesiomonas* et *Aeromonas* (Tableau 01), ces deux derniers comptent des espèces connues pour être la cause de diarrhées et infections septicémiques chez l'Homme (Madden et Mc Cardell, 1989).

Tableau 01 : Différenciation des quatre genres formant la famille des *Vibrionaceae* (Madden et Mc Cardell, 1989).

Propriétés	<i>Vibrio</i>	<i>Photobacterium</i>	<i>Plesiomonas</i>	<i>Aeromonas</i>
p.100 moltaire Guanine + cytosine	38-51	40 – 44	51	57-63
Sensibilité à l'agent O129	+	+	+	-
Fermentation du D-mannitol	+	-	-	+
Nécessite l'ion Na ⁺ pour la croissance ou stimuler la croissance	+	+	-	-

Le genre *Vibrio* appartient à la famille des *Vibrionaceae* (voir **Tableau 02**) qui a été décrite pour la première fois par Véron en 1965. Ce dernier s'est basé sur deux critères majeurs pour différencier les espèces des *Vibrionaceae* de celle des *Enterobacteriaceae* : la présence d'une cytochrome oxydase et la mobilité à l'aide de flagelle polaire. Selon Mac Dowell et Colwell, ces critères proposés par Véron étaient beaucoup plus destinés pour séparer les deux familles (**Véron, 1965 ; Mac Dowell et Colwell, 1985**).

Tableau 02 : Classification de *V. cholerae* dans le monde bactérien (**Gay, 2004**).

DOMAINE	BACTERIA
PHYLUM	PROTEO BACTERIA
CLASSE	GAMMA PROTEOBACTERIA
ORDRE	VIBRIONALES
FAMILLE	VIBRIONACEA
GENRE	<i>VIBRIO</i>
ESPECE	<i>Vibrio cholerae</i>

V.cholerae appartenant aux sérogroupes *O1* et *O139* sont les deux seuls considérés comme étant les agents du choléra d'après la définition donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ces sérogroupes sont détectés grâce à des antisérums *O1* et *O139*. La prévalence de ces sérogroupes dans les environnements aquatiques semble inférieure à celle des autres sérogroupes de *V.cholerae*. Le nombre de sérogroupes O recensés continue d'augmenter et actuellement plus de 206 sérogroupes O sont reconnus (**Shimada et al., 1994**).

Parmi l'espèce *V.cholerae O1*, deux biovars sont distingués : « classique » et « *El Tor*», Ce dernier étant capable de provoquer l'hémolyse d'érythrocytes de mouton. Trois sérotypes sont décrits : *Inaba*, *Ogawa* et (plus rarement) *Hikojima* (**Bonhomme, 2003**).

4. Etude bactériologique

4.1. Caractères morphologiques

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés (en virgule) avec des extrémités légèrement arrondies, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm . non sporulés et non capsulés (voir **figure 01 et 02**).

Vibrio cholerae présente un flagelle « engainé » dans la paroi caractéristique, monotriches ou plus rarement multitriches. En milieux solides, co-existence possible d'un double système de ciliature ; avec présence, en plus des flagelles à insertion polaire, de flagelles latéraux nus. Cette ciliature mixte s'accompagne souvent de phénomène d'envahissement. Elles sont fréquemment pléomorphes dans les vieilles cultures (Bonhomme, 2003 ; Subhash, 2009).

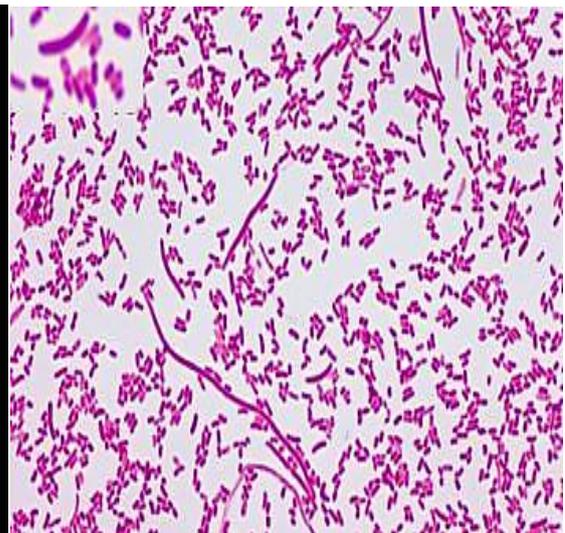
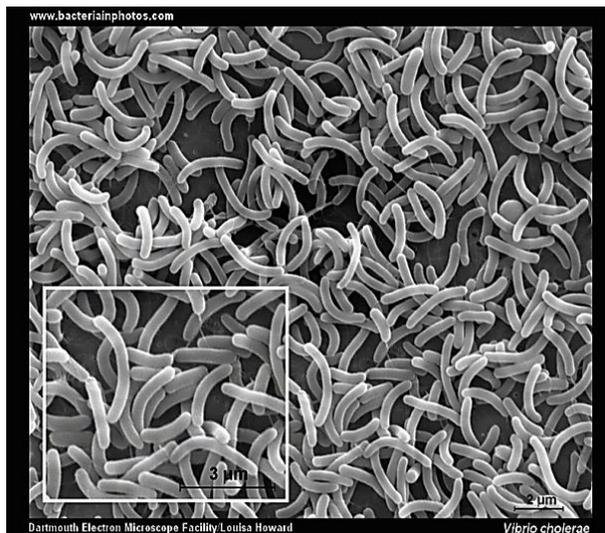


Figure 01 : *Vibrio cholerae* sous microscope électronique à balayage (MEB)¹

Figure 02 : Coloration de Gram de *Vibrio cholerae*²

¹ (<http://www.bacteriainphotos.com/>)

² (<http://microbe-canvas.com/>)

4.2. Caractères cultureux

Les espèces de *Vibrio* sont halophiles et requièrent du sodium pour leur croissance. Elles poussent abondamment en milieux peptonés simples et croient aisément sur le milieu "marine agar" et sur la gélose Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS) (**figure 03**). Les *Vibrio* donnent sur gélose trypticase soja, au bout de 24 h, des colonies de 2 à 3 mm de diamètre, circulaires à bords réguliers, légèrement convexes et transparentes.

Avec l'âge les colonies s'opacifient ; deviennent lisses et luisantes de type S (**Quilici et Fournier, 2002 ; Cohen et Karibn, 2007**).

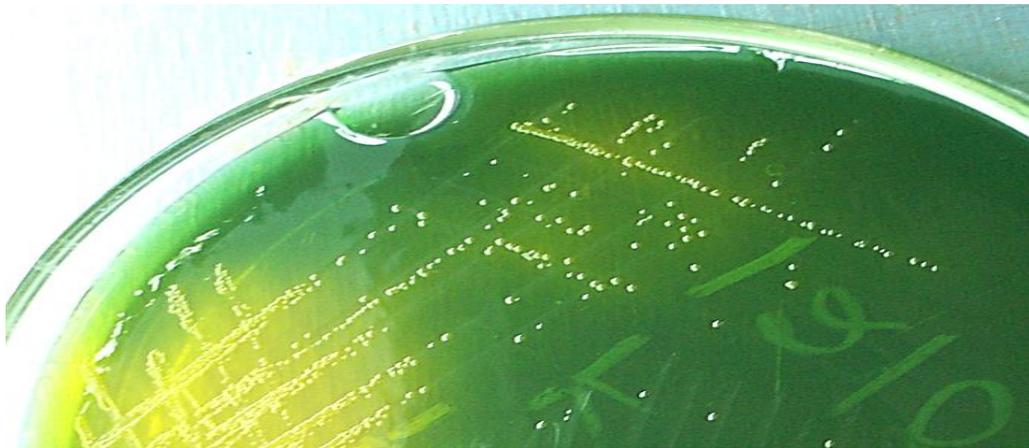


Figure 03 : Aspect des colonies de *Vibrio cholerae* sur le milieu TCBS³.

La croissance de *Vibrio* n'est pas entravée par l'utilisation d'inhibiteurs tels que les sels biliaires, citrate de sodium, thiosulfate de sodium.

Les *Vibrio* ont des propriétés qui permettent leur « électivité » sur les différents milieux (**Cohen et Karibn, 2007**) (voir **Tableau 03**) :

- **Température**

La température minimale de croissance a été estimée à 10°C, la température maximale à 43°C, le développement de *V. cholerae* est optimal à 37°C (**Bonhomme, 2003**).

- **pH**

Les bactéries du genre *Vibrio* sont relativement sensibles au pH, et il a été montré que lorsque celui-ci diminue, la sensibilité à la chaleur diminue également (**ICMSF, 1996**).

³ (<https://en.wikipedia.org/>)

- **Aw :**

Vibrio cholerae est sensible à la sécheresse (Aw minimale = 0,970). Sa survie dans les aliments secs est inférieure à douze heures généralement (**Bonhomme, 2003**).

Tableau 03 : facteurs de développement de *Vibrio cholerae*
(**Madden et Mc Cardell, 1989**).

Facteurs	Optimum	Extrêmes
Température (°C)	37	10 - 43
pH	7,6	5,0 - 9,6
Activité de l'eau Aw	0,984	0,970 - 0,998
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie
NaCl p.100	0,5	0,1- 4,0

4.3. Caractères biochimiques

Les propriétés biochimiques sont utiles pour l'identification conventionnelle des *Vibrio*. Elles sont consignées dans le (**Tableau 04**). Ce dernier fait apparaître des caractères communs aux onze espèces et des caractères distinctifs (**El Marrakchi, 2012**).

Les Vibrions cholériques sont des chimio-organotrophes, anaérobies facultatifs capables de métabolisme respiratoire ou fermentatif ne dénitrifient pas, ni ne fixent l'azote (**Bonhomme, 2003**).

Tableau 04 : Caractères biochimiques pour l'identification des espèces du genre *Vibrio* (El Marrakchi, 2012).

	<i>V. cholerae O1 et non O1</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. costicus</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>P. shigelloides</i>	<i>A. hydrophila</i>
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Nitrate-réductase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Indole	+	+	-	-	+	+	-	d	+	+	d
Gaz (en glucose)	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	d
Test ONPG	+	+	+	+	-	-	-	+	+	[+]	+
TTR	-	-	ND	[-]	+	+	-	-	d	+	d
LDC	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
ODC	+	+	-	d	d	d	-	-	-	+	-
ADH	-	-	+	-	-	-	d	-	+	+	[+]
Mannitol	+	+	+	d	+	+	+	+	+	-	[+]
Inositol	-	-	-	-	*	-	-	d	-	+	-
Saccharose	[+]*	-	+	-	*	+	+	+	+	-	+
VP	d	-	-	-	-	+	+	d	[+]	-	d
Géladnase	+	d	+	+	+	+	-	+	d	-	+
Sensibilité à 0/129	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
Tolérance à NaCl (g%)	0-5	0-5	0-1.7	0-5.6	0-5.8	0,5-10	1-12	0,5-2,5	0,2-6	0-4	0-4

(+) ou (-) = caractère négatif ou positif de la majorité des souches

(d) = différents résultats observés

(ND) = non déterminé

(R) = résistant

(S) = sensible

- quelques souches avec caractère contraire

4.4. Caractères génétiques

Le pourcentage en guanine – cytosine de l'acide désoxyribonucléique (ADN) des *Vibrions* et compris entre 38 et 51 % (Holt et al., 1994).

Le génome de *Vibrio cholerae* a maintenant été séquencé. Il contient 3.885 cadres de lecture ouverts, distribués dans deux chromosomes circulaires, le chromosome 1 (2,96 millions de paires de bases) et le chromosome 2 (1,07millions de pb). Le plus grand chromosome porte les gènes des fonctions cellulaires essentielles, comme la réplication d'ADN, la transcription, la synthèse des protéines. Il contient aussi la plus part des gènes

de virulence (par exemple : le gène de la toxine cholérique est situé dans un phage CTX Φ intégré dans le chromosome1). Le chromosome 2 aussi possède des gènes essentiels, comme les gènes de transport et les gènes des protéines ribosomiales. Certains gènes ont une copie sur chacun des deux chromosomes. Peut-être *V.cholerae* arrive-t-il à une réplification de son génome et à une division cellulaire plus rapide, en répartissant ses gènes sur deux chromosomes (**Prescott et al., 2007**).

4.5. Caractères antigéniques

Vibrio cholerae possède à sa surface l'antigène somatique O constitué par le lipopolysaccharide (endotoxine). La nature de cet antigène permet de décrire actuellement plus de 155 sérogroupes, pouvant être identifiés dans les centres de référence à l'aide d'anticorps spécifiques (**Chadli, 1995**).

Antigène flagellaire H (Ag H) : L'antigène flagellaire n'a pas d'intérêt est commun à tous les *Vibrions* (*Vibrions cholériques* et *Vibrions non cholériques*) (**Chadli, 1995**).

L'antigène K (antigène capsulaire) a été observé chez le sérotype O139. On rappelle que les autres souches de *V. cholerae* est faiblement encapsulé (**Comstock, 1995 ; Don et al., 2005**).

5. Pathogénicité et virulence de *Vibrio cholerae*

5.1. Le pouvoir pathogène

Vibrio cholerae des sérogroupes O1 et O139 sont les agents responsables de choléra épidémique. Cependant, il y a des souches de ces deux sérogroupes qui ne sont pas impliquées dans des épidémies ou qui ne produisent pas de toxine et ne sont pas responsables de cholera (**Flandrois, 1997**).

➤ Description de la maladie

- Le choléra est une toxi-infection intestinale aiguë, limitée à l'espèce humaine. Après ingestion d'une dose infectante assez élevée, les *Vibrions cholériques* se multiplient dans la lumière de l'intestin grêle.
- Les sujets sains, sans facteur de risque particulier, sont potentiellement protégés de l'infection par l'acidité gastrique. L'ingestion de 10^8 à 10^9 est nécessaire pour déclencher la diarrhée. En présence de bicarbonate de soude absorbé avec les aliments qui protègent les *Vibrions* de l'acidité gastrique, des doses de 10^3 à 10^4 bactéries sont infectantes.

- Dans l'intestin grêle les Vibrions cholériques adhèrent aux cellules épithéliales et secrètent une entérotoxine protéiques. Cette entérotoxine provoque une perte d'eau et d'électrolytes massifs, d'où une diarrhée hydrique sérieuse menant à la déshydratation, voir au décès du malade, en l'absence de réhydratation d'urgence par des solutés hydroélectrolytiques. L'entérotoxine provoque des pertes liquidiennes parfois supérieures à vingt litres (ou vingt kilos) par jour. En l'absence de traitement, 25 à 50% des sujets atteints de cholera grave, favorisée par la mal nutrition et la promiscuité, décèdent (**Madigan et Martinko, 2007**).

➤ ***Vibrio cholerae* non O1 et non O139**

Certaines souches de *Vibrio cholerae* n'agglutinent pas les antisérums O1 et O139 mais peuvent être à l'origine de maladies qui se manifestent par des gastro-entérites, de septicémie ou d'infection de blessures, habituellement suite à la consommation de coquillages contaminés ou après exposition d'une plaie à l'eau de mer (**Daniels et Shafaie, 2000**).

Les souches de *Vibrio cholerae* non O1 et non O139, particulièrement celles qui possèdent une entérotoxine thermostable similaire à celle produite par *Escherichia coli* entérotoxino-gène, peuvent être à l'origine de syndromes de type cholériforme, associées à une diarrhée aqueuse sévère, difficile à distinguer cliniquement du choléra ; c'est pourquoi il est important de connaître le contexte clinique et épidémiologique de l'infection, et de réaliser l'agglutination après l'identification de l'espèce (**Daniels et Shafaie, 2000 ; Quilici et Fournier, 2002 ; Morris, 2003**).

Chez les sujets immunodéprimés, ou présentant une pathologie hépatique ou digestive, ces infections à *Vibrio cholerae* non O1/non O139 peuvent donner des pathologies extra-intestinales invasives, évoluant vers une bactériémie, avec fièvre, frisson et choc septique. Ces formes infectieuses sont associées dans ce cas à un taux de létalité proche de 50%.

Des infections cutanées sporadiques superficielles ou profondes faisant suite à un contact direct avec des eaux douces ou saumâtres sont également rapportées, généralement chez des sujets immunodéprimés, avec rougeurs et gonflement au site d'infection, elles peuvent également évoluer vers des formes septicémiques. Des souches de *Vibrio cholerae* non O1/ non O139 ont également été isolées d'otites (**Quilici et Fournier, 2002**).

5.2. La virulence

Pour l'espèce *Vibrio cholerae*, les facteurs de virulence ne sont pas similaires pour les souches épidémiques (sérogroupes O1 et O139) responsables du choléra et pour les souches non épidémiques (sérogroupes non O1 et non O139) responsables de gastro-entérites, d'infection de lésions ou de septicémies chez les personnes présentant une pathologie sous-jacente (**El Marrakchi, 2012**).

Chez les sérogroupes responsables du choléra, on reconnaît plusieurs facteurs de virulence :

- **L'entérotoxine cholérique**, c'est la toxine la mieux étudiée.

La toxine cholérique COT est une exotoxine, une protéine toxique excrétée dans le milieu extérieur. La toxine COT est codée par le phage filamenteux CTXΦ, intégré au chromosome I de *V. cholerae* (**Faruque et Mekalanos, 2003**).

- **Toxin-Coregulated Pilus (CTP)**

Le TCP est un facteur de virulence clé dans le processus infectieux de *V. cholerae* à deux titres : il s'agit d'un pilu de type IV, indispensable à la colonisation du tractus intestinal de l'homme ; par ailleurs, le TCP sert de récepteur au bactériophage filamenteux CTXΦ, codant pour la toxine cholérique (**Tacket et al., 1998**).

- **Une hémolysine désignée Hly A** : produite par *Vibrio cholerae* O1 biotyp *El Tor*.

Vibrio cholerae O1 biotype *El Tor* et des souches non O1 sont capables de produire une toxine hydrosoluble cytolytique qui a été désignée Hly A ou hémolysine *El Tor*. Cette hémolysine pourrait bien jouer un rôle dans la pathogénie des gastro-entérites causées par des souches de *Vibrio cholerae* (**Ichinose et al., 1987; Zhang et Austin, 2005**).

- **Une capsule polysaccharidique** : produite par *Vibrio cholerae* O139.

La présence de la capsule polysaccharidique a été signalée chez *Vibrio cholerae* O139 mais pas chez *Vibrio cholerae* O1. Cette capsule pourrait augmenter leur virulence.

Les souches de *Vibrio cholerae* non O1 et non O139 qui peuvent provoquer des septicémies chez les sujets immunodéprimés, sont d'ailleurs capsulées. Un autre rôle connu des capsules polysaccharidiques est de protéger la bactérie contre la dessiccation. Une telle propriété contribue à augmenter la survie dans l'environnement de *Vibrio cholerae* O139 comparativement à *Vibrio cholerae* O1 (**Lesne et Fournier, 1998 ; Faruque et al., 2003**).

- **Le lipopolysaccharide ainsi que d'autres facteurs**

Par opposition aux exotoxines, les endotoxines regroupent les composés toxiques structuraux de la paroi des bactéries Gram-négatives, appelés lipopolysaccharides (LPS). Les LPS servent notamment de barrière pour protéger les bactéries des stress extérieurs. La toxicité du LPS survient après avoir été libéré par la lyse cellulaire de la bactérie, provoquée par la réponse immunitaire de l'hôte ou par un traitement antibiotique. Cette toxicité repose sur la capacité du LPS à induire l'apoptose de la cellule hôte, ou sur une sur-stimulation du système immunitaire entraînant un choc septique (**Foster et al., 2000**).

➤ Quant aux *Vibrions* appartenant aux autres sérogroupes non O1 et non O139, ils ne produisent pas de toxines analogues à la toxine cholérique, ils sont donc incapables de provoquer le choléra. En revanche, ils possèdent d'autres facteurs de pathogénicité qui sont à l'origine des différents syndromes observés lors des infections qu'ils provoquent. Les principaux facteurs peuvent être classés en trois catégories (**Tableau 05**) : les entérotoxines, les hémolysines et la capsule polysaccharidique (**Quilici et Fournier, 2002**).

Tableau 05 : Facteurs de virulence des principales espèces de *Vibrions non cholériques* (**Cohen et Karib, 2007**).

Facteurs	Espèces	Syndromes
Entérotoxines	<i>Vibrio cholerae</i> (nonO1/nonO139)	Gastro-entérite
Hémolysine	<i>Vibrio cholerae</i> (nonO1/nonO139)	Gastro-entérite
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Gastro-entérite
	<i>Vibrio vulnificus</i>	Lésions tissulaires
Capsule polysaccharidique	<i>Vibrio cholerae</i> (nonO1/nonO139) <i>Vibrio vulnificus</i>	Septicémies

6. Sensibilité aux antibiotiques

V. cholerae est naturellement sensible à la plupart des antibiotiques utilisés dans les diarrhées infectieuses. Cependant, les résistances aux tétracyclines sont de plus en plus fréquentes, conséquence souvent de l'utilisation de cet antibiotique dans le cadre d'épidémies. Ceci est vrai également pour les sulfamides. Les résistances aux fluoroquinolones sont rares (Mhalu et al., 1979 ; Reid et Amyes, 1986).

7. Epidémiologie du choléra

Les premières études sur l'épidémiologie et la naissance du concept proviennent d'une étude sur le choléra à Londres par Docteur John Snow (OMS, 2010).

Le choléra peut être endémique ou épidémique. Il s'est étendu à travers le monde au XIX^{ème} siècle, réalisant 7 pandémies. La dernière pandémie, en 1961, s'est accompagnée d'un changement bactériologique majeur de l'agent infectieux, qui n'était plus le *Vibrio cholerae* classique mais le *Vibrio El Tor*. Dans cette même perspective, en 1992, une importante septicémie survint dans le sud de l'Inde, due à une nouvelle souche de *Vibrio cholerae* non-O1 (Said et Drasar, 1996 ; Lavallée, 1999).

Le choléra reste un problème de santé publique majeur dans les pays en développement, notamment en termes d'accès à l'eau potable et à des moyens d'assainissement convenables, et il représente l'un des indicateurs clés du développement social. Bien que le choléra ne soit plus une menace dans les pays où les normes minimales d'hygiène sont respectées, la maladie demeure problématique pour une part croissante des populations vulnérables vivant dans des conditions d'insalubrité, par exemple dans des bidonvilles ou des camps de réfugiés ou de personnes déplacées. Outre la présence de longue date d'un choléra endémique dont les conséquences ne sauraient être sous-estimées, nombre de pays et de sous-régions sont régulièrement touchés par des flambées dévastatrices de cette maladie (OMS, 2012).

En 2015, 42 pays ont notifié un total de 172 454 cas de choléra, dont 1304 décès, soit un taux de létalité (TL) global de 0,8%. Cela représente une baisse de 9% du nombre de cas par rapport à 2014 (190 549 cas). Des cas ont été signalés dans toutes les régions, notamment dans 16 pays d'Afrique, 13 pays d'Asie, 6 pays d'Europe, 6 pays des Amériques et 1 pays d'Océanie. L'Afghanistan, Haïti, le Kenya, la République démocratique du Congo (RDC) et la République-Unie de Tanzanie ont représenté 80% du total des cas.

Sur l'ensemble des cas notifiés à l'échelle mondiale, 41% provenaient d'Afrique, 37% d'Asie et 21% de l'île d'Hispaniola. Des cas importés ont été signalés dans 13 pays (**figure 04**). Selon les estimations, entre 1,3 et 4,0 millions de cas de choléra et entre 21 000 et 143 000 décès dus à cette maladie surviendraient chaque année dans le monde.

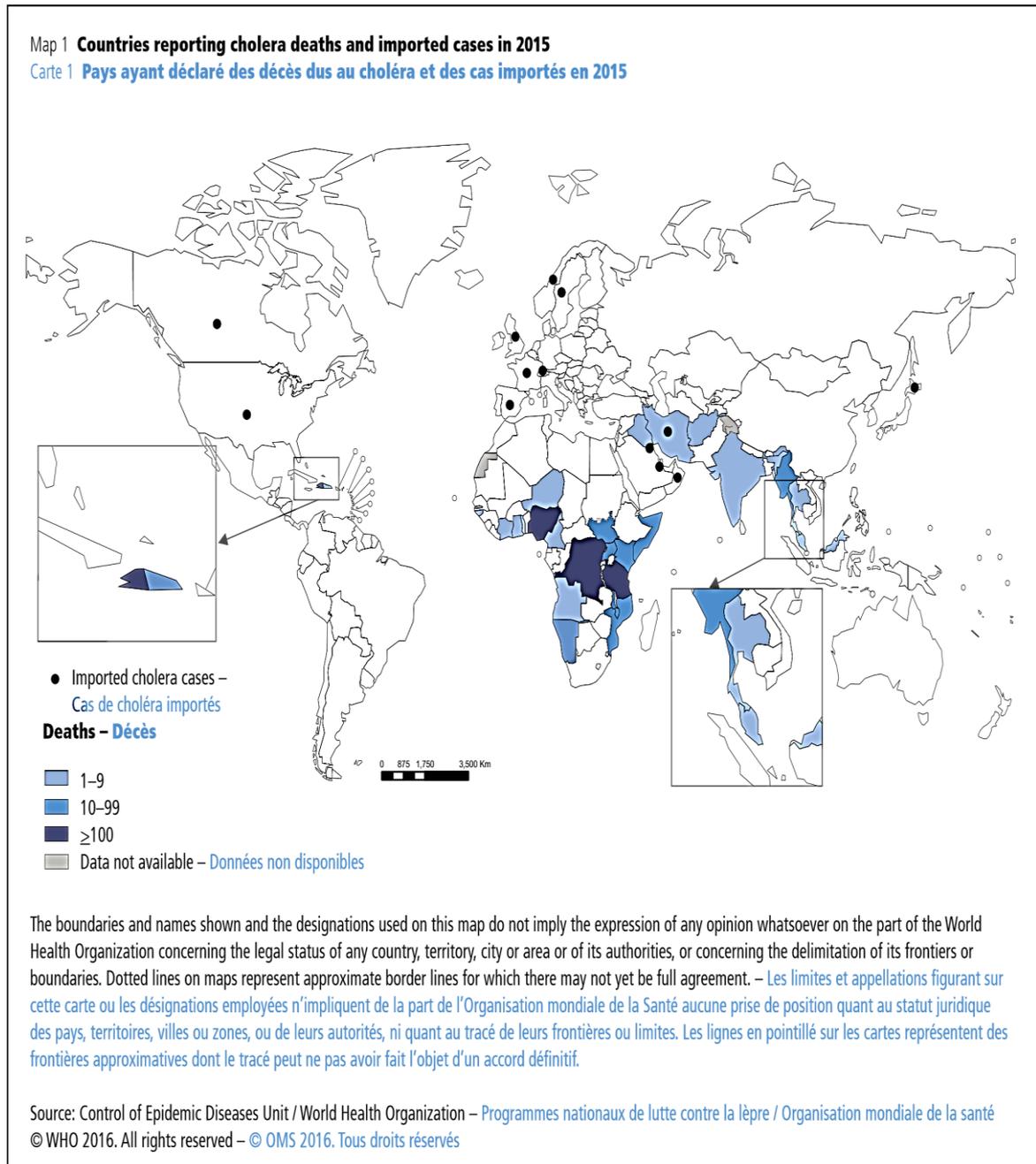


Figure 04 : Répartition géographique du choléra dans le monde selon l'OMS en 2015 (OMS, 2016).

Matériel et Méthodes

Ce travail a été effectué dans une première étape à la station d'épuration où ont eu lieu les prélèvements des échantillons des eaux usées et l'analyse physico-chimique. Dans une deuxième étape au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine à Sidi Mabrouk où a eu lieu l'analyse bactériologique des échantillons.

1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Localisation de la station d'épuration d'Ibn Ziad

La station d'épuration des eaux usées d'Ibn Ziad est située à 12 km de la ville de Constantine, dans la daïra de Hamma Bouziane, sur la route de Mila (**Figure 05**). Elle s'étend sur une superficie de 12 Hectares. Elle se localise entre $6^{\circ} 30$ et $6^{\circ} 45$ Nord et entre $36^{\circ} 15$ et $36^{\circ} 30$ Est. Elle se trouve au nord de la Mechtat Ouldjet el Cadi, en bas de la route nationale N°2 (A.N.P.E, 1996).

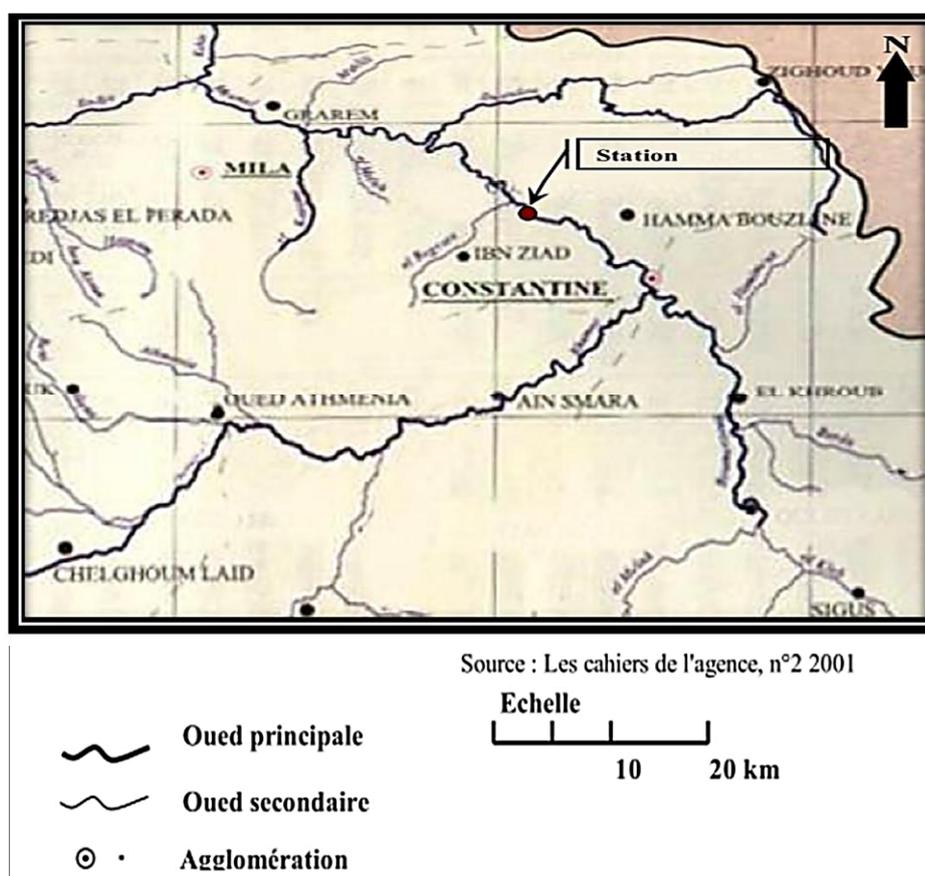


Figure 05 : Carte géographique de la localisation de la STEP d'Ibn Ziad.

1.2. Capacité de la station d'épuration

La station d'épuration d'Ibn Ziad a été conçue en 1978 par des Yougoslaves, pour traiter un débit moyen de 150 l/s avec une capacité maximum de 800 à 1000 l/s. C'est une station d'épuration à boues Activées, prévue pour 450.000 habitants. Elle a été mise à l'essai le 15/05/1997, et en service réel le 15/09/1997 ; elle traite aujourd'hui une partie des rejets d'eaux usées déversées par la ville de Constantine (A.N.P.E, 1996).

1.3. Qualité des eaux usées brutes

Les eaux usées se classent généralement en deux catégories : les eaux d'égouts et les eaux industrielles. La station d'épuration d'Ibn Ziad traite les eaux usées d'égouts de Constantine ; ces eaux proviennent de diverses origines : ce sont aussi bien les eaux usées (EU) industrielles que domestiques.

Elles sont acheminées à la station par une conduite à écoulement gravitaire (**Figure 06**).



Figure 06 : Conduite principale des eaux usées qui alimentent la station d'épuration d'Ibn Ziad

1.4. Les grandes étapes du traitement

La filière d'épuration des eaux usées utilisée dans la station d'Ibn Ziad est la suivante :

1.4.1. Prétraitement

a. Le criblage grossier

L'égout d'amenée déverse les eaux usées dans une chambre de réception à l'entrée de la station, de là, les eaux usées sont envoyées dans les cribles (**Figure 07**). Les débris du criblage sont éliminés définitivement vers une benne de rejet.



Figure 07 : Vue des trois entrées de l'eau usée au criblage grossier, avec des ouvertures manuelles (1, 2,3).

b. Séparation du sable et de la graisse

Le sable et la graisse sont éliminés des eaux usées dans un canal aéré à écoulement en spirale et à double compartiments. (**Figure 08**).

Les eaux usées criblées entrent dans le canal à bas niveau. Les agitateurs à air provoquent une rotation en spirale du débit permettant au gravier et au sable de se déposer au fond du canal tandis que la matière organique reste suspendue. Les graisses et les huiles montent à la surface et demeurent dans le canal d'aération pendant quatre minutes environ.

Le sable retiré est refoulé dans un canal de décharge et rincé dans un clarificateur électrique. Il est ensuite envoyé dans une benne pour l'évacuation définitive.

La graisse est enlevée de la surface du bassin grâce à un écremeur et qui la transporte pour une évacuation définitive.



Figure 08: vue d'ensemble sur la séparation de la graisse (à gauche) et du sable (à droite).

1.4.2. Traitement secondaire (biologique)

a. Bassins d'aération

Les eaux usées criblées et dessablées s'écoulent vers une chambre de séparation et de mélange où elles sont divisées en quatre parties (**Figure 09**).

Les boues activées sont ajoutées à chaque partie et le mélange s'écoule dans les unités d'aération. Quatre bassins d'aération fonctionnent en parallèle et chaque bassin d'aération est divisé en six compartiments.

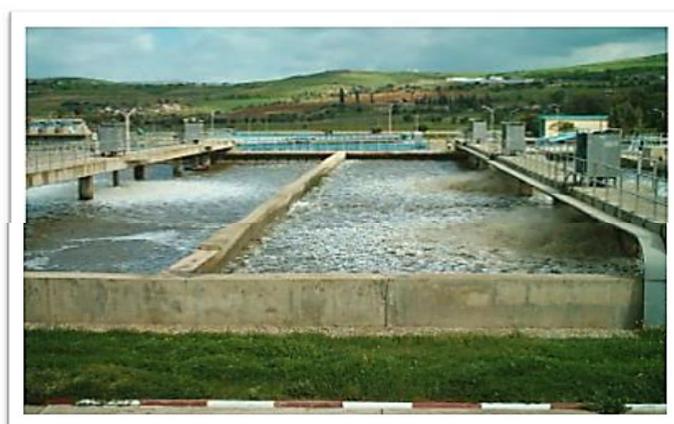


Figure 09 : Bassins d'aération.

Les deux premiers compartiments sont dénommés « zones d'anoxie » et sont munis d'un mélangeur visant à assurer la suspension du mélange "boues activée et eaux usées" (Liqueur mixte). Les quatre derniers compartiments, sont munis d'aérateurs mécaniques superficiels alimentant la liqueur mixte en oxygène dissous.

La liqueur mélangée et traitée passe sur le déversoir de sortie est envoyée dans le bassin de décantation secondaire. Les boues activées y sont décantées des eaux usées.

b. Décantation secondaire

La liqueur mélangée s'écoule dans l'un des huit bassins de décantation secondaire, où les boues activées tombent au fond du bassin et sont enlevées (**Figure 10**).

La liqueur mélangée entre au centre du bassin par un agitateur central et traverse le bassin vers le déversoir de sortie.

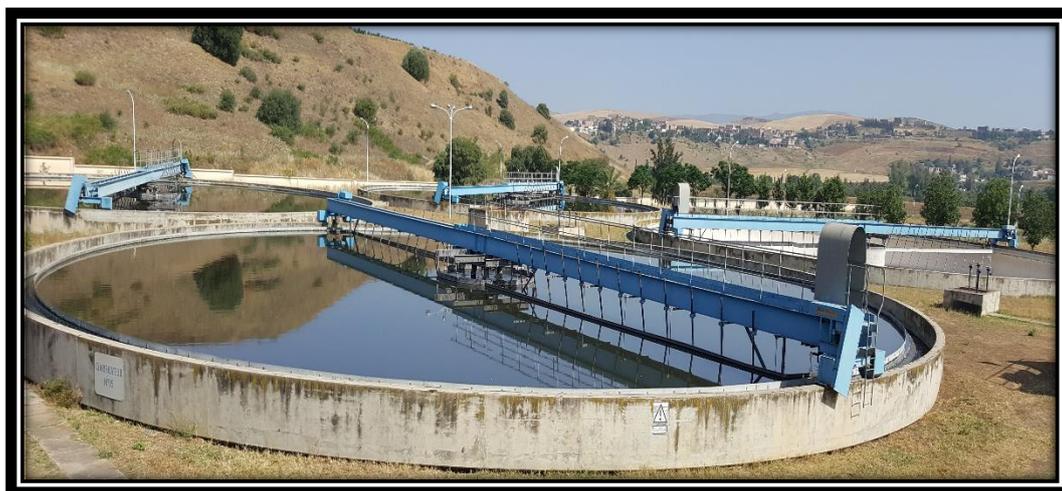


Figure 10 : Décanteurs secondaires.

Les racleurs de chaque bassin entraînent les boues activées décantées vers le centre du bassin et dans une trémie centrale où elles sont acheminées vers quatre chambres de recueil des boues.

Les eaux usées traitées de sortie s'écoulent dans un canal de sortie commun qui les achemine vers l'oued Rhumel.

c. Boues activées de retour

Des pompes à vis sont utilisées pour renvoyer les boues activées vers les bassins d'aération pour traiter une nouvelle quantité des eaux usées. **(Figure 11).**



Figure 11 : Vue des pompes à vis.

Les boues remontent vers la décharge d'où elles s'écoulent par gravité vers le canal de partage d'écoulement. Une autre quantité de boues est définitivement évacuée.

d. Evacuation des boues

- **Epaississeur des boues**

Les boues excédentaires, de la station de pompage des boues de retour s'écoulent vers deux bassins d'épaississement des boues **(Figure 12).**



Figure 12 : Bassins d'assainissement des boues activées.

Les boues pénètrent dans le bassin et sont doucement agitées par l'épaisseur à entraînement électrique. Les boues épaissies tombent au fond du bassin d'où elles sont raclées vers le bord. Les débits de chacun des bassins se mélangent et s'écoulent par gravitation vers les lits de séchage.

- **Lits de séchage des boues**

Les boues épaissies s'écoulent par gravité des épaisseurs vers l'un de 24 lits de séchage, où ils sont distribués et l'eau surnageant est drainée manuellement des lits par un système de vannes et renvoyé à la station pour être traitée. (**Figure 13**).

L'eau décantée s'écoule vers un puisard de décantation puis refouler vers un puisard des boues de retour. Le reste de l'eau s'évapore et les boues sèchent à l'air.



Figure 13 : Lits de séchage.

1.4.3. Traitement tertiaire

Le traitement tertiaire représente un post de chloration (mais non équipé), il est normalement destiné à un traitement poussé des eaux usées traitées pour des fins d'irrigation.

1.5. Impacte de la station d'épuration

- Protection de l'environnement.
- Protection d'oued El Rhumel et barrage Beni Haroun.
- Lutte contre les maladies hydriques.
- Utilisation en agricole des eaux épurées et boues déshydratées.

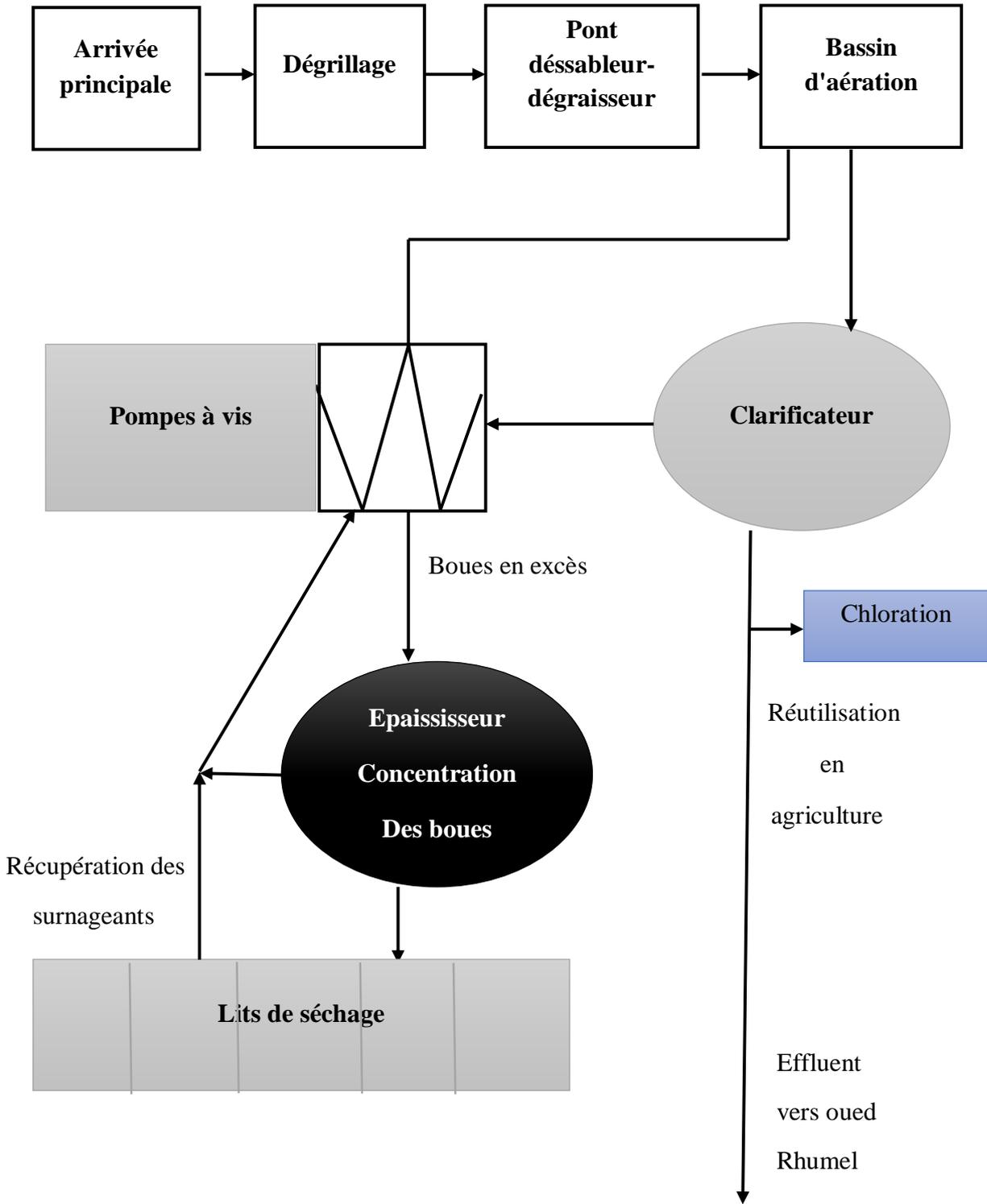


Figure 14 : Récapitulatif du procédé d'épuration de la STEP d'Ibn Ziad de Constantine.

2. Prélèvement et suivi des paramètres

2.1. Rythme des prélèvements

2.1.1. Échantillonnage

L'échantillonnage s'est fait au sein de la STEP d'Ibn Ziad pendant la période (27/03/2017 à 23/04/2017). Au total 5 prélèvements ont été effectués à deux endroits précis, le premier à l'entrée de la STEP (eau usée brute) et l'autre à la sortie (eau usée épurée).

2.1.2. Bonne pratique de prélèvement

- Le préleveur doit se laver les mains avant chaque prélèvement et utiliser des gants jetables.
- Pour les analyses bactériologiques, Les eaux doivent être prélevées dans des flacons stériles en verre borosilicaté de 250 ml. Ces flacons une fois bouchés assurent une protection totale contre toute contamination extérieure. Des flacons en plastiques sont suffisants pour l'analyse physico-chimique.
- Étiqueter les flacons et identifier : (identité du préleveur, date et heure de prélèvement, motif de la demande d'analyse, point de prélèvement d'eau et l'origine de l'eau).

2.1.3. Transport des échantillons

La teneur initiale en microorganismes contenus dans l'eau risque de subir des modifications après le prélèvement, c'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible et transportée dans l'eau peptonée alcaline 10×C (*V.cholerae*) et dans une enceinte réfrigérée (aux environ de 4°C) avec un délai maximum de 8 heures avant l'analyse (Attab, 2011).

2.2. Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques étudiés sont : la température, le pH, la salinité et la conductivité, les matières en suspensions (MES), la turbidité et la demande biochimique en oxygène (DBO₅).

Ces paramètres (sauf la DBO₅) ont été mesurés *in situ* directement au niveau des échantillons d'eaux usées brutes (EUB) et épurées (EUE).

La mesure du pH, de la température, de la conductivité et de la salinité ont été déterminées par un appareil multi-paramètres (Consort C5020).

2.2.1. Température

La température est un facteur écologique important du milieu. Elle permet de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température.

De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine et l'écoulement de l'eau. Il est important de connaître la température de l'eau avec précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels (**Rodier, 2005**).

2.2.2. pH

Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques, et dépend de plusieurs facteurs dont la température et l'origine de l'eau. En milieu côtier et estuarien, certains rejets industriels ou les apports d'eau de ruissellement sont la cause de la variation du pH qui s'avère être, dans ce cas, un indice de pollution (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

2.2.3. Conductivité

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité des sels dissous dans l'eau. La conductivité est également fonction de la température de l'eau ; elle est plus importante lorsque la température est élevée (**Eddabra, 2011**).

2.2.4. Matières en suspensions (MES)

La présence des MES dans l'eau provoque sa turbidité. Pour le dosage des MES, nous avons utilisé la méthode par filtration sur disque filtrant de 0.45µm. Le filtre est séché à 105°C puis pesé après refroidissement (**Rodier, 2005**).

Le taux des MES exprimé en (mg/l) est donné par l'expression :

$$\text{MES} = (M_1 - M_0)1000/V$$

Où

V : Le volume en ml d'échantillon utilisé.

M₀ : La masse en mg du disque filtrant avant utilisation.

M₁ : La masse en mg du disque filtrant après utilisation.

2.2.5. Turbidité

C'est la mesure de l'aspect plus ou moins trouble de l'eau. La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées telles que : argile, limons, grains de silice, matières organiques (**Rodier, 2005**).

La mesure a été effectuée à l'aide d'un turbidimètre de type 2100N (HACH).

2.2.6. Demande biochimique en oxygène (DBO₅)

Afin d'estimer la teneur en matière organiques (MO) présente dans une eau usée ou eau de surface, on procède au dosage de la DBO₅. Cette mesure nous renseigne sur la biodégradabilité des MO de ces eaux et par la suite sur l'aptitude de ces eaux à un traitement biologique (**Rodier, 2005**).

La détermination de la DBO₅ consiste à mesurer la consommation d'oxygène par voie biologique à température constante de 20°C, pendant un temps limité, par convention à 5 jours et à l'obscurité à l'aide d'un système de mesure OxiTop incubé dans une armoire thermorégulatrice (type Lovibond). Ce système est pratique, rapide et donne des résultats représentatifs.

2.3. Paramètres bactériologiques

Les analyses bactériologiques des différents échantillons d'eaux usées brutes et épurées ont consisté en un dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale. Les germes recherchés sont :

- Coliformes totaux et fécaux (CT et CF) ;
- Entérocoques (Streptocoques fécaux : SF) ;
- Spores de Clostridium anaérobie sulfite réducteurs (CS-R).

Les méthodes utilisées pour la détermination des indicateurs de pollution fécales sont multiples. Dans le cadre de notre étude les numérations bactériennes ont été réalisées par dénombrement indirecte par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

2.3.1. Dénombrement des Coliformes totaux et fécaux

Sous le terme de «Coliformes» est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*.

La définition suivante a été adoptée par l'Organisation internationale de standardisation (ISO). Le terme «Coliforme» correspond à des organismes en bâtonnets, Gram négatif, non sporogènes, oxydase négatif, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C.

Les Coliformes fécaux sont appelés aussi les Coliformes thermo-tolérants. Ce sont des Coliformes qui fermentent le lactose mais à 44°C. Le germe *Escherichia coli* est le type de Coliformes fécaux d'habitat fécal exclusif, sa recherche est donc extrêmement importante (Rodier, 2005).

Des dilutions décimales de 10^{-3} jusqu'à 10^{-6} pour les eaux usées brutes sont réalisées, et des dilutions de 10^{-1} à 10^{-3} pour les eaux usées épurées ont été réalisées.

Il est nécessaire d'ensemencer des tubes de Bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) muni d'une cloche du Durham avec 1 ml de chaque dilution d'eau à analyser.

Après une incubation de 24 h à 48 h à 37°C, une culture positive avec un dégagement de gaz est présomptive pour les Coliformes totaux. La mise en évidence des Coliformes fécaux et surtout *E.coli* s'effectue à partir des tubes positifs par le test de Mackenzie (test confirmatif) qui consiste à un ensemencement d'une eau peptonée et d'un tube de BLBVB avec cloche puis incubation pendant 48 h à 44°C. La culture avec gaz sur BLBVB et la formation d'un anneau rouge après l'adjonction de 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs sont témoins de la production d'indole et la présence de Coliformes fécaux (voir **Figure 15**).

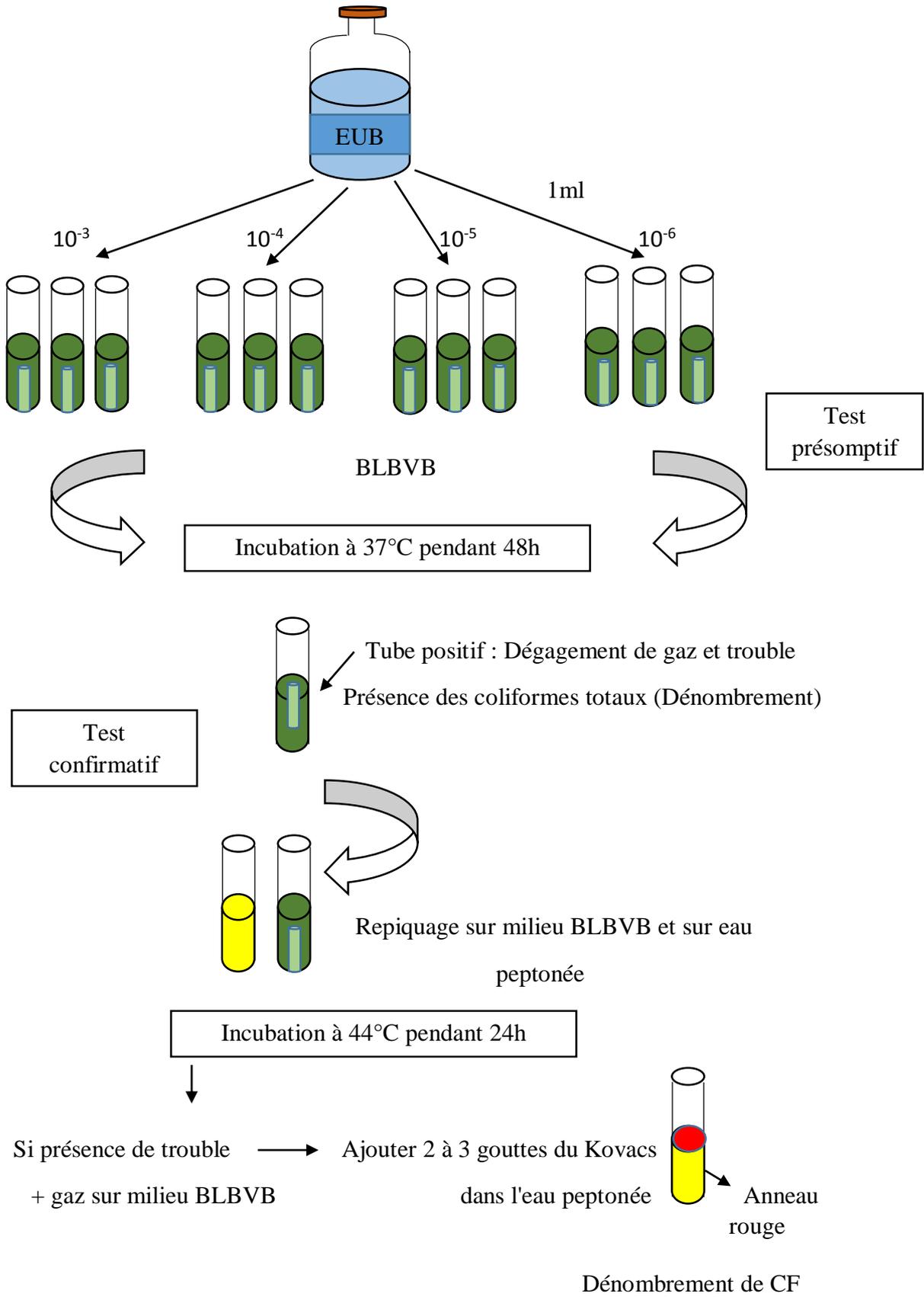


Figure 15 : Organigramme de la recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans EUB.

2.3.2. Dénombrement des Streptocoques fécaux

Le terme "Streptocoques fécaux" désigne les Streptocoques généralement présents dans les fèces de l'homme et des animaux. Ils se présentent sous forme de cocci, Gram+, formant des chaînettes, dépourvus de catalase mais possédant la substance antigénique caractéristique du groupe 'D' de Lancefield, c'est-à-dire : *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus durans* ; *Streptococcus bovis* ; *Streptococcus equinus* (OMS, 1994).

Les mêmes dilutions sont effectuées pour le dénombrement des Streptocoques fécaux.

Les entérocoques sont dénombrés de manière présomptive sur le milieu de Rothe simple concentration (Rothe S/C) à 37°C pendant 24 h. À partir des tubes de Rothe positifs présentant à la fois : un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu, on effectue une subculture sur milieu Eva Litsky pendant 24h à 37°C (test confirmatif). Une culture positive avec éventuellement l'apparition d'une pastille violette traduit la présence de Streptocoque (**Figure 16**).

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par 100 ml suivant la table de Mac Grady.

2.3.3. Dénombrement des spores de Clostridium sulfito-réducteurs

Les spores ne sont pas seulement d'origine fécale, mais sont des germes ubiquistes, dont la présence dans l'eau est souvent révélatrice d'infiltration telluriques ou de matières organiques en putréfaction et sont considérées comme indicateur de l'élimination de kyste de protozoaires. Elles se rencontrent normalement dans les matières fécales humaines et animales ; leurs spores peuvent survivre dans l'eau et l'environnement pendant plusieurs mois (**Figarella et al., 2001**).

La méthode du dénombrement est la suivante :

Elaborer un chauffage à 80°C, pendant 10 minutes des tubes contenant 1 ml de l'échantillon à analyser (une solution mère «SM» et des dilutions de 10⁻¹ et 10⁻² pour EUB sont réalisées, pour EUE la solution mère est suffisante), puis un refroidissement brutal sous l'eau de robinet (choc thermique qui a pour but d'éliminer la forme végétative et de garder seulement la forme sporulée des bactéries Sulfite Réductrices) (**Attab, 2011**). Additionner 20 gouttes de sulfite de sodium, 4 gouttes de Alun de fer et 20 ml de gélose viande foie (VF).

Mélanger soigneusement en évitant l'introduction de l'air. Laisser solidifier, puis incuber à 37°C pendant 48 heures avec une première lecture après 16 heures d'incubation.

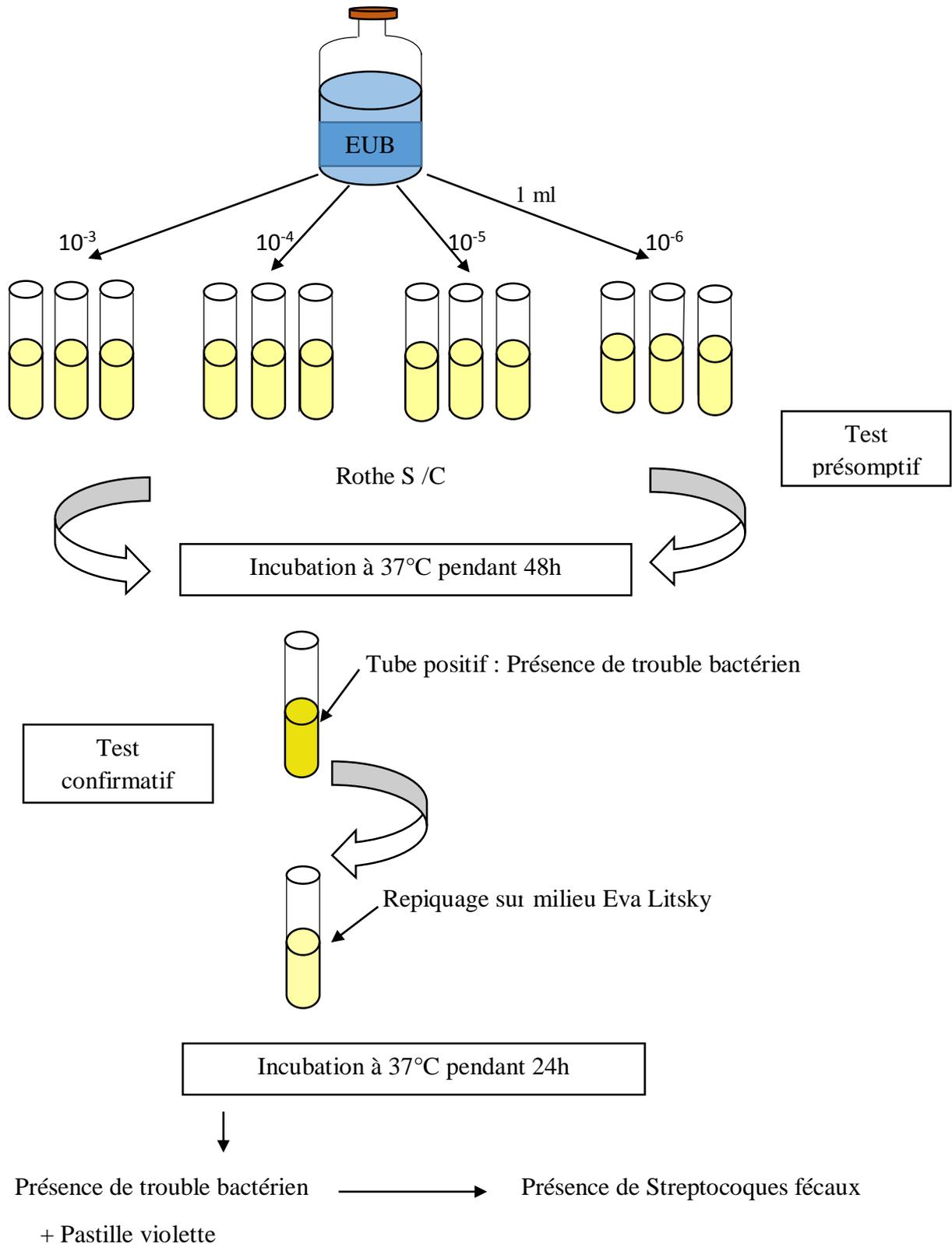


Figure 16 : Organigramme de la recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans EUB.

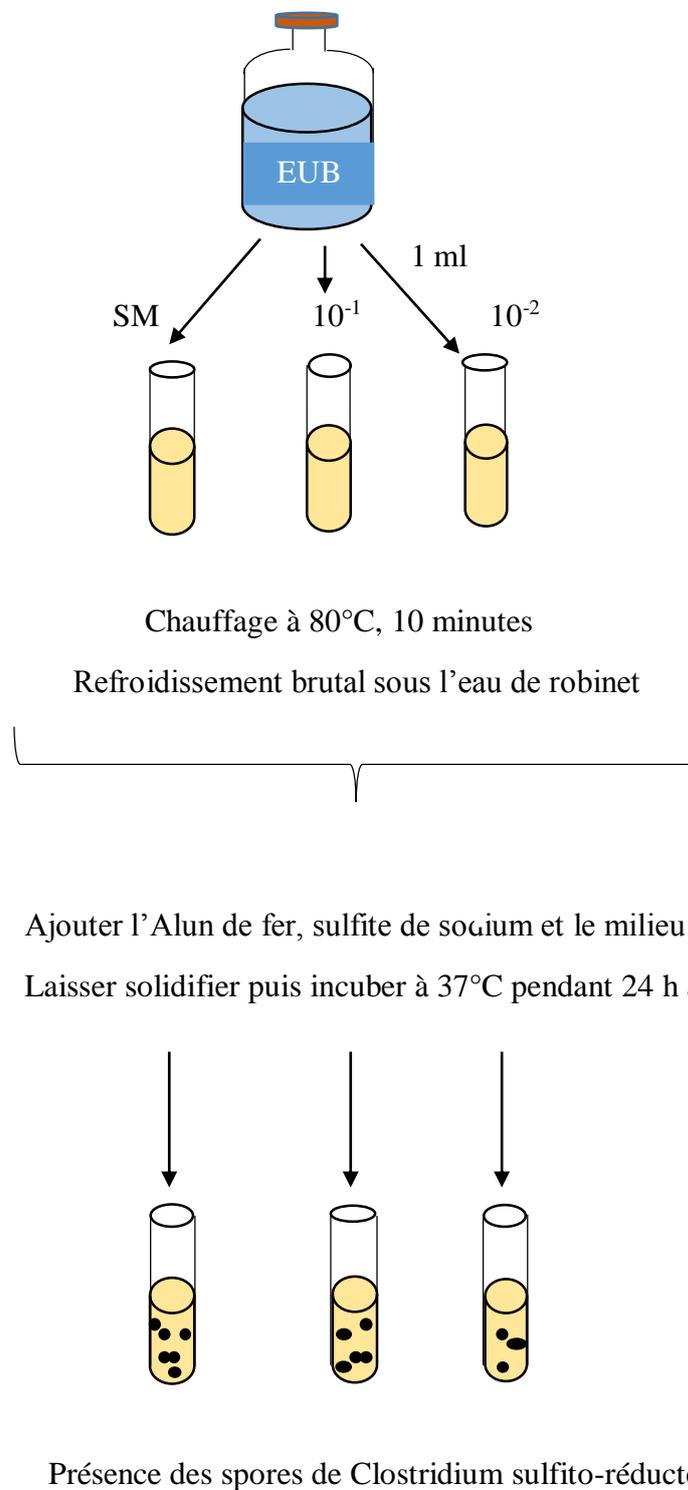


Figure 17 : Organigramme de la recherche et dénombrement des spores de Clostridium sulfito-réducteurs dans EUB.

Après la période d'incubation, les tubes considérés comme positifs sont ceux qui contiennent de grosses colonies noires, correspondant aux spores de *Clostridium sulfitoréducteur* (**Figure 17**). Le résultat est exprimé par nombre de spores de *Clostridium sulfitoréducteurs* par 1 ml d'échantillon à analyser.

2.4. Recherche de *Vibrio cholerae*

Le protocole d'isolement de *Vibrio cholerae* adopté est celui décrit par Lesnes et *al.*, (1991).

2.4.1. Enrichissement

Les échantillons d'eaux usées brutes et épurées prélevées au niveau de la STEP d'Ibn Ziad ont été pré-enrichis (450 ml) dans un premier temps dans l'eau peptonée alcaline 10 fois concentrées (EPA 10×c).

Après 6 heures d'incubation à 37 °C, un voile apparaît à la surface des tubes. Sans agiter, on prélève 1 ml à la surface du tube et on l'ajoute au tube de l'enrichissement effectué dans l'eau peptonée alcaline simple (20 ml) à 37°C pendant 6 heures.

Le prélèvement s'est fait à partir du voile à la surface car les *vibrions* ont tendance à se développer dans la partie supérieure du milieu (**Eddabra, 2011**).

2.4.2. Isolement

Un isolement sur milieu sélectif consiste à ensemercer le milieu Gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB) à partir du bouillon d'enrichissement puis une incubation à 37°C pendant 24 heures.

2.4.3. Identification morphologique

a. Examen macroscopique

Les colonies présumées sur le milieu GNAB sont des colonies rondes, lisses, plates, à bords réguliers, 2-3 mm de diamètre, faiblement convexes, légèrement opaques, et surtout transparentes (**Quilici, 2011**).

b. Examen microscopique

- **Examen à l'état frais**

Les colonies observées à l'état frais sont de forme bacillaire, mobile, polaire (vol de moucheron).

- **Coloration de Gram**

Les isolats ont fait l'objet d'un contrôle de la coloration de Gram. Ces colonies vont subir le test d'oxydase.

- **Recherche de l'oxydase**

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinone rose-violacées (**Tankeshwar, 2012**).

Sur un disque d'oxydase imprégné d'une goutte d'eau distillée stérile, on dépose une colonie pure ; la présence de l'oxydase se manifeste par une coloration violette au bout de 30 secondes (**Karraouan et al., 2010**).

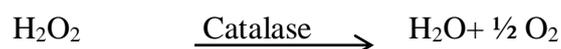
2.4.4. Identification biochimique

Si les examens précédents répondent aux caractéristiques de *Vibrio cholerae*, l'identification est poursuivie par la galerie conventionnelle. Les tests biochimiques réalisés sont les suivants :

a. Enzymes respiratoires et test ONPG

- **Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir de peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une lame de verre. On remarque une effervescence lorsque la réaction est positive (**Tankeshwar, 2013**).

- **Recherche d'une nitrate réductase**

Les bactéries, lorsqu'elles possèdent une nitrate réductase, sont capables de transformer les nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) et éventuellement en azote (N_2).

Un bouillon nitraté estensemencé avec la bactérie étudiée et incubé pendant 18 heures à 37°C. Après incubation, quelques gouttes d'une solution d'acide sulfanilique (Griess A) et 3 gouttes d'une solution de naphtylamine (Griess B) sont ajoutées au bouillon. Si une coloration rose fugace apparaît, les nitrates ont été réduits au stade nitrites. En l'absence de coloration, soit les nitrates ont y été réduits au stade azote, soit la bactérie ne possède pas de nitrate réductase. L'addition de poudre de zinc (réactif de Zobell, qui va réduire les nitrates

en nitrites) permet de trancher : Si une coloration rose apparaît, la bactérie ne possède pas de nitrate réductase ; Si aucune modification de coloration n'est visible après l'ajout du zinc, alors les nitrates ont été réduits au stade azote (**Denis et al., 2012**).

- **Production de la β -galactosidase (test ONPG)**

Il s'agit de la recherche d'une β -galactosidase qui dégrade le lactose en galactose et en glucose. En pratique, ce test utilise l'ortho-nitro phényl-galacto (ONPG) ou le para-nitro-phényl-galact-pyranoside (PNPG). L'ONPG et PNPG qui diffusent spontanément dans la bactérie (à la différence du lactose qui nécessite une perméase) sont dégradés par la β -galactosidase en galactose et orthonitrophénol ou paranitrophénol respectivement, qui sont des composés jaunes. Individuellement, ils peuvent être réalisés en mettant en contact une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique avec un disque d'ONPG. Après mise à l'étuve à 37°C pendant 18 heures, l'apparition d'une coloration jaune peut être observée (**Denis et al., 2012**).

b. Métabolisme glucidique

- **Test mannitol-mobilité**

Le milieu mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol, la mobilité et la réduction de nitrates en nitrites. La dégradation du mannitol conduit à la formation de fructose, dont la réaction à des acides à chaînes très courtes (acide acétique, acide formique). Cette dégradation entraîne le virage du milieu vers le jaune. Dans des tubes à essai, nous avonsensemencé 4 ml de milieu mannitol-mobilité par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit chargé de la culture. Les milieux sont incubés à 37° C pendant 24 heures (**Ogri, 2007**).

- **Utilisation de Citrate**

Ce test est effectué sur le milieu citrate de Simmons qui contient le bleu de bromothymol comme indicateur de pH, La pente du milieu estensemencée avec des stries. Cetensemencement est incubé à 37°C pendant 18 h. Seules les bactéries capables d'utiliser le citrate peuvent se cultiver sur ce milieu en l'alcalinisant. Cette alcalinisation se traduit par un virage du milieu vers le bleu (**Tankeshwar, 2013**).

- **Fermentation des sucres (milieu triple sucres : TSI)**

Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non d'H₂S et de noter la production ou non de gaz à partir du

glucose. La technique consiste à ensemencer le culot par piqûre puis la pente de la gélose par stries serrées, la lecture se fait après 18h d'incubation à 37°C (Dellarras, 2007).

- **Le test du rouge de méthyle et le test de Voges –Prauskauer**

A partir du milieu Clark-Lubs contenant de l'acide pyruvique, la formation d'acide formique et d'acide acétique (réaction de rouge de méthyle [RM]) et la formation d'acétoïne ou acétyl-méthylcarinol (réaction de Voges-Proskauer [VP]) sont étudiées.

En pratique, la réaction de VP est fréquemment réalisée, notamment sur les galeries miniaturisées. Sinon, le bouillon Clark-Lubs est ensemencé et incubé pendant 18 heures à 37°C. À 1 ml de culture, ajouter 0,5 ml d'alpha naphthol à 6% et 0,5 ml de soude à 16%. La lecture est effectuée dans les 10 minutes à suivre (Denis et al., 2012).

c. Métabolisme protidique

- **Hydrolyse de la gélatine**

La gélatinase est une protéase : c'est une enzyme qui hydrolyse la gélatine en acides aminés ou en peptides. Le milieu Gélatine nutritive est ensemencé par piqûre centrale puis le tube est incubé à température de 18-20°C.

La liquéfaction du milieu Gélatine lorsqu'il est mis en présence de la bactérie traduit donc la synthèse d'une gélatinase (Tankeshwar, 2014).

- **La recherche des décarboxylases : LDC, ODC et dihydrolase ADH**

Trois décarboxylases sont fréquemment recherchées : la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et l'arginine dihydrolase (ADH). Le test individuel peut être effectué sur le milieu de Moëller contenant l'acide aminé étudié (la lysine, l'ornithine, ou l'arginine), du glucose et un indicateur coloré, le bromocrésol pourpre. La réaction s'effectue en deux temps : Lorsque le glucose est fermenté, il y a un virage au jaune du bromocrésol pourpre ; lorsque l'acide aminé est décarboxylé, il y a une réalcalinisation du milieu qui vire au violet. Après 18 heures à 37°C, un milieu violet trouble correspond à une réaction positive (Denis et al., 2012).

2.4.5. Identification sérologique : Agglutination avec le sérum anti-O1

- déposer sur une première lame une goutte d'eau physiologique stérile et à côté une goutte de sérum anti-O1.
- Prélever à l'anse de platine quelques colonies et les déposer sur la lame à côté de chacune des gouttes d'eau physiologique et de sérum anti-O1.
- Avec l'anse de platine, mélanger doucement et progressivement les bactéries dans chacune des gouttes. Commencer par la goutte d'eau physiologique puis continuer par le sérum anti-O1, la suspension doit être bien homogène. Agiter doucement par un mouvement tournant.
- lire à l'œil nu au-dessus d'une surface sombre. L'agglutination doit apparaître rapidement - en moins de 2 min - et être fine et régulière (Quilici, 2011).

2.4.6. Antibiogramme par la technique de diffusion sur gélose

La technique de diffusion sur gélose ou méthode des disques est préconisée par Bauer et *al.*, (1966). À partir d'une culture pure (18-24 heures) préparer une suspension d'inoculum en eau physiologique équivalente à 0,5 sur l'échelle de Mac Ferland ($\sim 10^8$ UFC /ml). À l'aide d'une pipette Pasteur ensemercer par inondation la surface du milieu Muller-Hinton (MH) avec 3 à 5 ml de la suspension bactérienne avant de déposer les disques d'antibiotiques en se référant aux normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (C.A.S.F.M). Dans notre étude les antibiotiques testés sont : Amoxicilline, Imipénem, Cefazoline, Erythromycine, Gentamicine, Ofloxacin, Acide nalidixique, Fosfomycine, Colistine, Doxycycline, chloramphénicol, Co-trimoxazole. Les boîtes sont séchées pendant 15 minutes à température ambiante, et l'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats s'effectue par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition apparue. La **Figure 18** présente l'organigramme de la recherche du *Vibrio cholerae*.

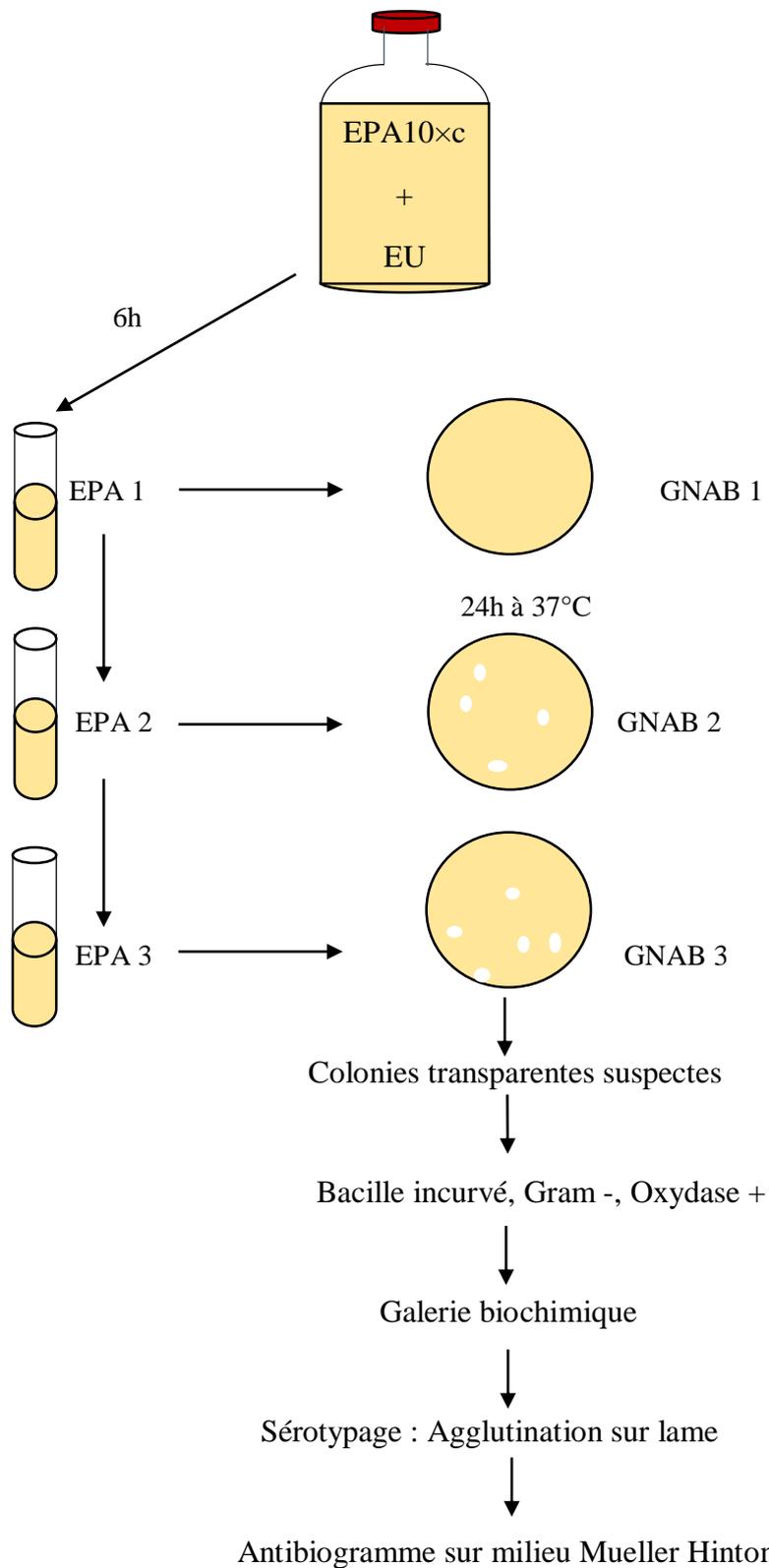


Figure 18 : Organigramme de la recherche du *Vibrio cholerae*.

Résultats et Discussion

Au cours de ce chapitre, nous allons présenter les résultats d'analyses des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des eaux usées brutes et épurées, afin de déterminer la pollution de la STEP d'Ibn Ziad de la ville de Constantine. Les résultats obtenus feront l'objet d'une interprétation afin de cibler les anomalies qui peuvent exister dans les diverses étapes de la STEP concernée et éventuellement la présence du *V.cholerae*.

1. Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes et traitées de la STEP d'Ibn Ziad :

1.1. Paramètres physico-chimiques

L'évolution journalière de quelques paramètres physico-chimiques de l'eau brute et de l'effluent traité est portée dans le (**Tableau 06**).

1.1.1. Température

Les résultats obtenus dans la **figure 19** montrent que le degré de température des prélèvements ne présente pas de grande variation et est proche de la température ambiante.

Les valeurs de la température se situent dans un intervalle qui va du minimum de 19,2 °C au maximum de 21,1 °C à l'entrée (EUB), avec une moyenne de 19,88 °C et entre 18,6 °C et 20,2 °C à la sortie (EUE) avec une moyenne de 19,38°C. Ce résultat est similaire à celui trouvé par Djeddi, (2007) à Constantine, et par Eddabra, (2011) au Maroc mais différent de celui de Boutayeb à Ouardigha – Maroc, (2012) rapportant une température entre 17°C et 29 °C.

Les valeurs ne dépassent pas les normes de rejet des eaux usées admises dans la nature en Algérie qui est de l'ordre de 30 °C (**Annexe 01**), le système renfermé des canalisations favorables au développement des organismes anaérobies, qui par leur activités fermentescibles induisent un dégagement d'énergie (**Jora, 1993 ; Rodier, 2005**).

L'élévation de la température au cours du temps est influencée par la température atmosphérique. Elle s'accompagne d'une réduction de la viscosité lorsque la température croît, d'une augmentation de la tension de vapeur saturante à la surface (l'évaporation) (**Rodier, 2005**).

Certains de ces effets sont en faveur d'une accélération des procédés biologiques de traitement des eaux usées par des boues, car elles contribuent à l'augmentation de la cinétique de dégradation des matières organiques (**Benyakhlef et al., 2011**).

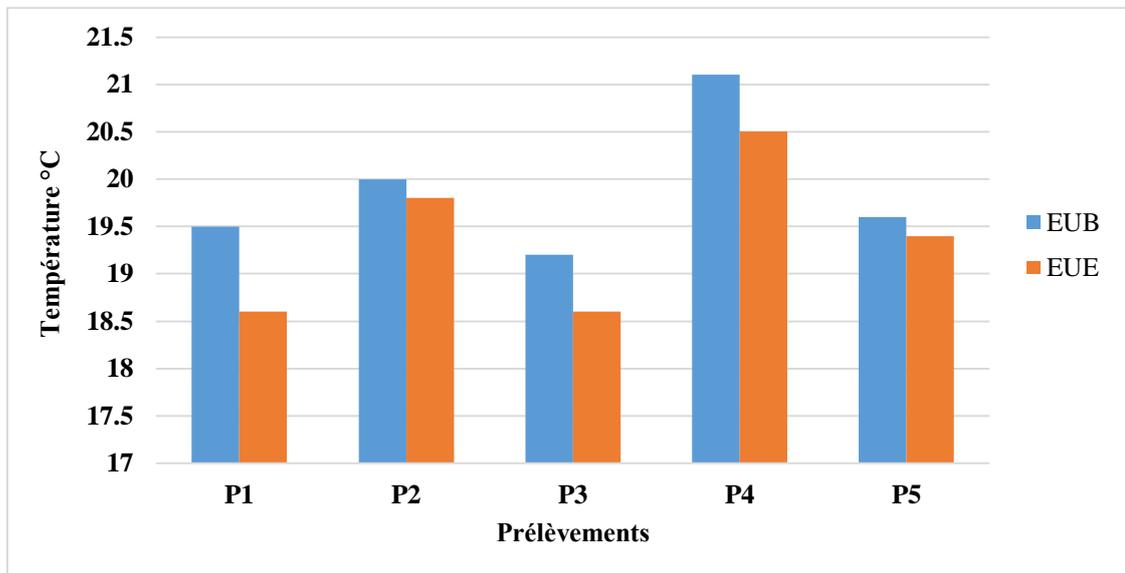


Figure 19 : Variations journalières de la température des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

1.1.2. pH

Le pH est un indicateur de pollution par excellence, il varie suite à la nature des effluents basiques ou acides (**Fathallah et al., 2014**).

Les valeurs de pH des eaux usées brutes sont comprises entre 7,71 et 8,13 avec une moyenne de 7,97, qui est favorable à l'action bactérienne, pour les processus d'épuration aérobie et anaérobie (**Franck, 2002**).

Concernant l'effluent traité, le pH varie entre 7,86 et 8,12 avec une moyenne de 7,93 voisinant la neutralité (**figure 20**), ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par Oulkheir, (2002) à Kénitra – Maroc, par Abouelouafa et al., (2002) à Oujda – Maroc, par Djeddi, (2007) en Algérie, et répondant aux normes de rejet limitées en Algérie qui est entre 6,5 et 8,5 (**Jorra, 1993**) (**Annexe 01**).

Le pH alcalin et la température modérée constituent des conditions de milieu idéales pour la prolifération des microorganismes qui instaurent un parfait équilibre biologique, permettant la dégradation de la matière organique ce qui conduit à la décontamination de l'eau (Reyssac *et al.*, 1995).

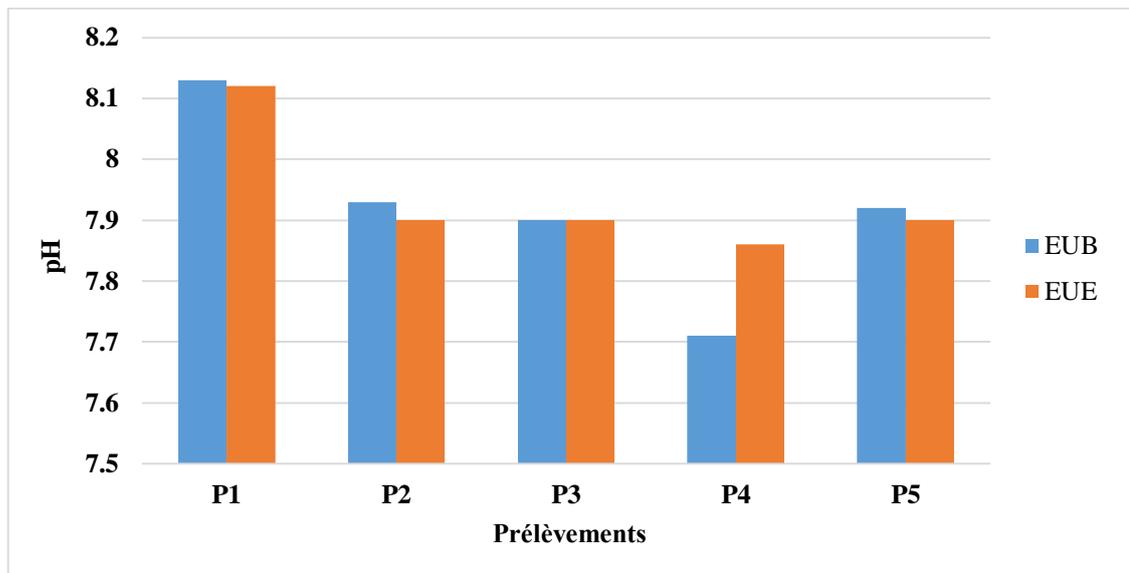


Figure 20 : Variations journalières du pH des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

1.1.3. Conductivité

La conductivité électrique (CE) est l'un des plus simples et plus importants paramètres pour le contrôle de la qualité des eaux usées (Eddabra, 2011).

Elle donne une idée sur la minéralisation d'une eau et est à ce titre un bon marqueur de l'origine d'une eau (HCEFLCD, 2006).

Les valeurs enregistrées durant la période d'étude varient entre 1510 et 1700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (figure 21) à l'entrée (EUB) et entre 1670 et 2002 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à la sortie (EUE). Ces valeurs sont proches de celles trouvées par Djeddi, (2007) à la même STEP, par El Guamri *et al.*, (2007) à Kénitra – Maroc, et similaires à celles d'Eddabra, (2011).

La même évolution est observée pour les valeurs de la salinité (figure 22). Ces résultats peuvent être expliqués par le rejet d'eaux usées fortement minéralisées dans le réseau d'assainissement.

Ces paramètres dépendent des charges de matière organique endogène et exogène, génératrice de sels après décomposition et minéralisation et également avec le phénomène d'évaporation qui concentre ces sels dans l'eau (Belghiti *et al.*, 2013).

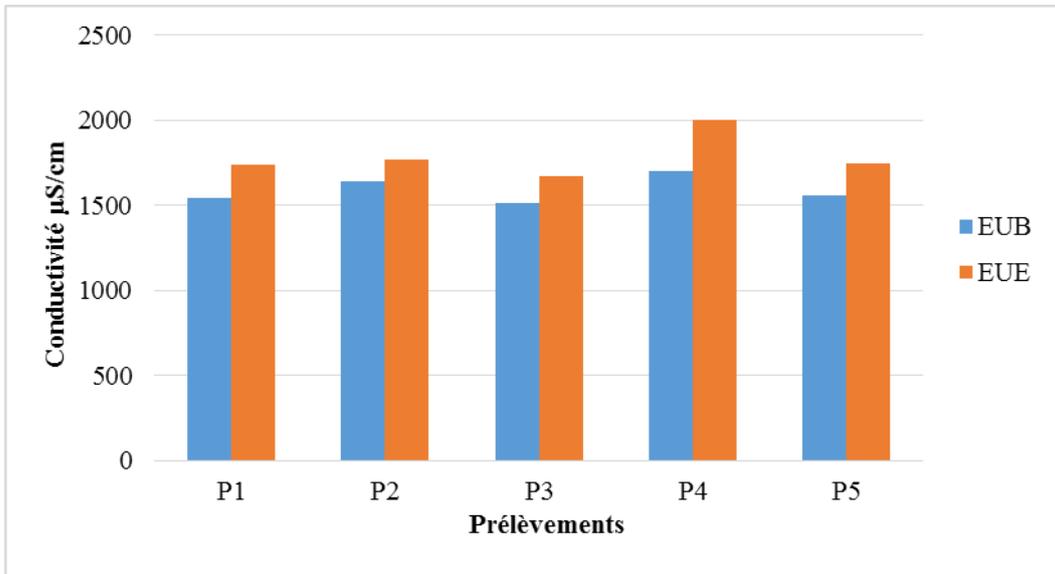


Figure 21 : Variations journalières de la CE des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

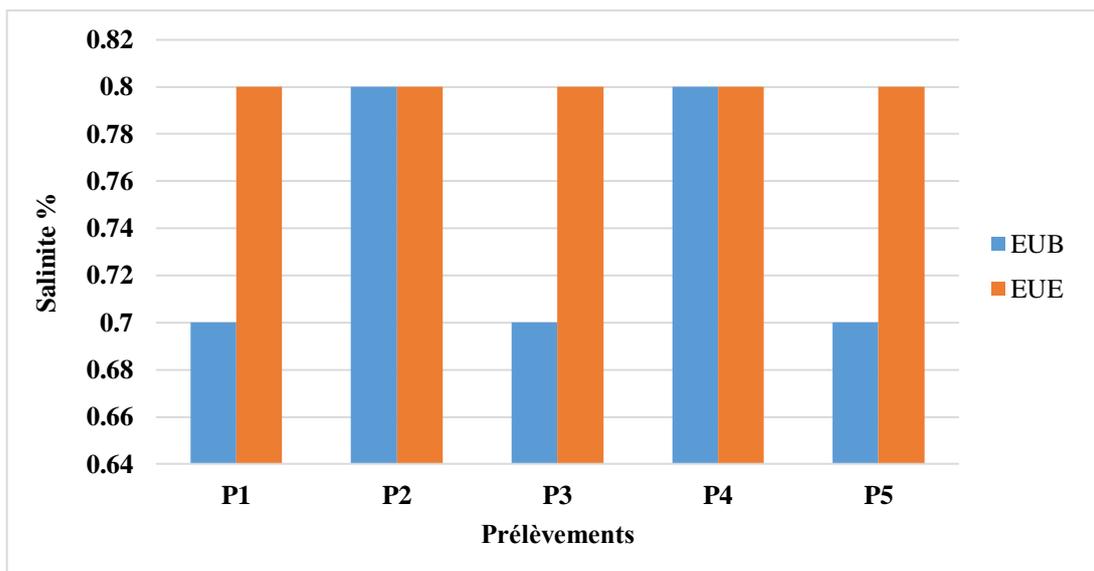


Figure 22 : Variations journalières de la salinité des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

1.1.4. Les matières en suspension (MES)

L'analyse des résultats des MES montre que l'effluve brute (EUB) est caractérisé par une concentration moyenne de 115.6 mg/l. Cette valeur est en fonction de la nature du rejet (**Figure 23**). Tandis que le taux des MES de l'eau épurée varie entre 0,7 mg/l et 5,5 mg/l. Ces faibles valeurs sont dues à la décantation de matières décantables et sont similaires à celles trouvées par Djeddi, (2007) et inférieures à celles d'El Krati, (2000) à Sidi Bennour, de Kribch et *al.*, (2011) du Gharb Maroc et de Raweh et *al.*, (2011) de la ville de S'Anna – Yemen .

Deux pics ont été enregistrés dans EUE au niveau des prélèvements P1 et P4, 75 mg/l et 66 mg/l qui sont supérieurs à la norme de rejet du journal officiel Algérien limitée à 40 mg/l (**Jora, 1993**) (**Annexe 01**).

D'après Onouki et Achour, (2014) à Ouargla-Algérie, ces deux pics obtenus peuvent s'expliquer par la présence du phénomène de la prolifération massive des algues dans les différentes étapes de traitement biologique.

Les algues peuvent exister au niveau des bassins peuvent être macroscopiques (en masse) ou microscopiques (en suspension) Les algues microscopiques peuvent être considérées comme des MES, leur croissance confirme l'augmentation des teneurs en MES dans EUE (**Ounoki et Achour, 2014**).

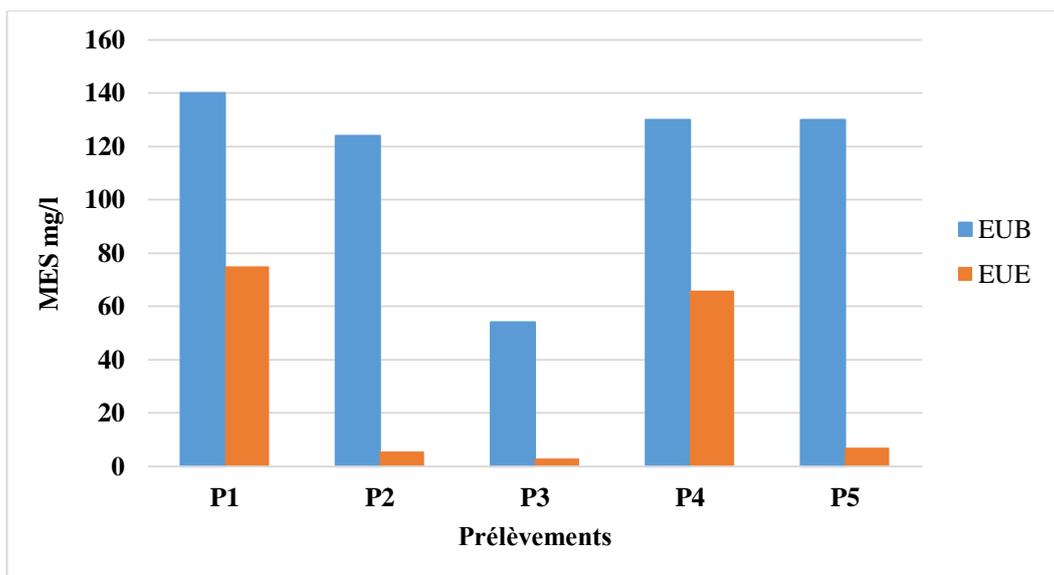


Figure 23 : Variations journalières des MES des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

1.1.5. Turbidité

Selon Lenntech (2004), la mesure de la turbidité permet de préciser les informations visuelles sur l'eau.

Les valeurs de la turbidité se situent dans un intervalle de de 30,2 FTU à 40,6 FTU. Un pic a été enregistré au cours de notre suivi (P5), qui est 418 FTU (**figure 24**), ces valeurs sont fonction de la nature de l'eau à traiter.

En ce qui concerne l'eau épurée, on observe une nette réduction de ce paramètre dans un intervalle qui varie entre 1,36 FTU et 26,1 FTU, avec une moyenne de 7,07 FTU. Ce résultat est proche de celui donné par Djeddi, (2007).

Ces valeurs restent toujours inférieures aux normes Algériennes de rejet (50 FTU) (**Jora, 1993**).

La turbidité, indicateur de présence de matières particulaires, renseigne donc indirectement sur la présence de microorganismes : plus la teneur en particules de l'eau est élevée, plus il est probable de trouver des microorganismes (**Santé Canada, 1995**).

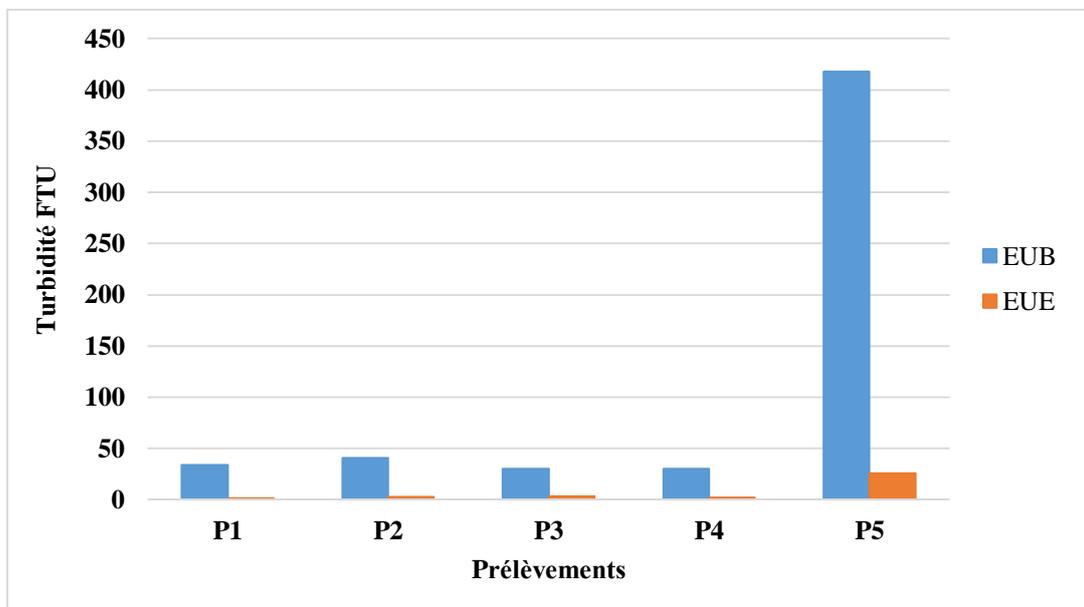


Figure 24 : Variations journalières de la turbidité des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

1.1.6. Demande biochimique en oxygène (DBO₅)

Les valeurs enregistrées se situent entre 60 mg O₂/l et 210 mg O₂/l. La variation journalière de la DBO₅, peut être expliquée par l'origine des eaux usées qui sont chargées en matières organiques biodégradables.

Les effluents traités montrent des teneurs en DBO₅ entre 20 mg O₂/l et 43 mg O₂/l (**Figure 25**). Elles sont proches de celles décrites par le Journal officiel Algérien qui sont de l'ordre de 35 mg O₂/l (**Jora, 1993**). Donc on constate que le maximum de pollution organique biodégradable est éliminé par la station.

Ces valeurs sont supérieures à celle trouvée par Djeddi, (2007) et similaires à celles d'Onouki et d'Achour, (2014) mais inférieures à celles d'Azami Idrissi et *al.*, (2015).

L'augmentation des concentrations de la DBO₅ de l'eau traitée de (35 - 35,6 - 40 - 43) est en relation avec la charge en matières organiques biodégradables. D'après Bliefert et Perraud, (2009), elle est associée au maximum du développement de l'abondance bactérienne et une diminution de la teneur en oxygène suite à la consommation de ce dernier par les microorganismes.

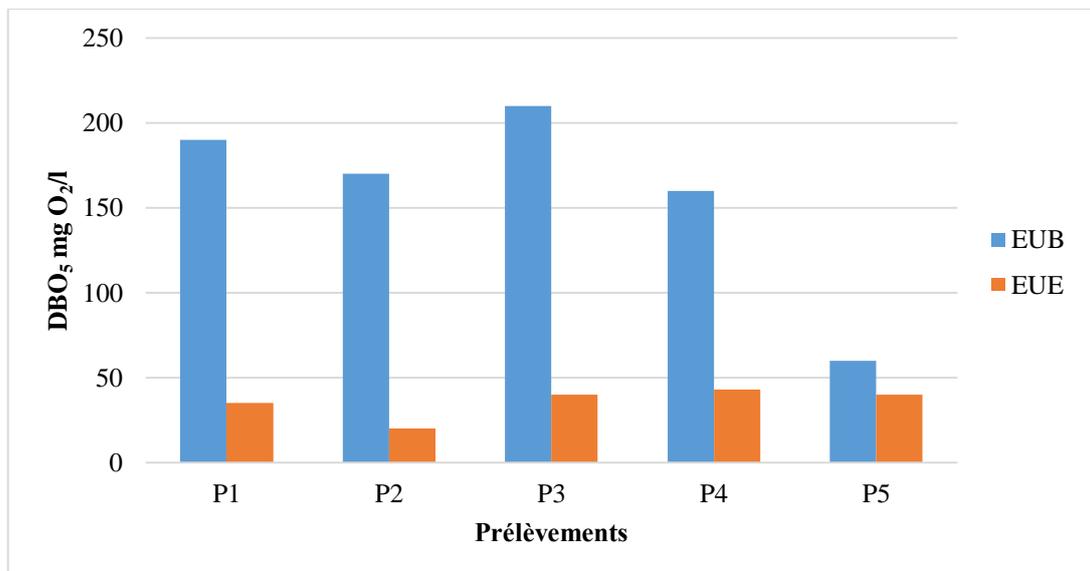


Figure 25 : Variations journalières de la DBO₅ des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad.

Tableau 06 : L'évolution journalière des paramètres physico-chimiques de l'eau usée brute et épurée.

Date de prélèvement	Type d'eau	P1 27/03/2017	P2 02/04/2017	P3 10/04/2017	P4 16/04/2017	P5 23/04/2017	La moyenne
pH	Eau usée	8,13	7,93	7,9	7,71	7,92	7,91
	Eau traitée	8,12	7,9	7,9	7,86	7,9	7,93
Température (°C)	Eau usée	19,5	20	19,2	21,1	19,6	19,88
	Eau traitée	18,6	19,8	18,6	20,5	19,4	19,38
Turbidité (FTU)	Eau usée	33,9	40,6	30,3	30,2	418	110,6
	Eau traitée	1,36	2,67	3,21	2,05	26,1	7,07
Conductivité (µs/cm)	Eau usée	1540	1640	1510	1700	1560	1590
	Eau traitée	1740	1770	1670	2002	1750	1786,4
Salinité (%)	Eau usée	0,7	0,8	0,7	0,8	0,7	0,74
	Eau traitée	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
DBO (mg O₂/l)	Eau usée	190	170	210	160	60	158
	Eau traitée	35	20	40	43	40	35,6
MES (mg/l)	Eau usée	140	124	54	130	130	115,6
	Eau traitée	75	5,5	3	66	7	31,3

1.2. Paramètres bactériologiques

Le suivi de la qualité bactériologique des eaux usées consiste en la recherche et le dénombrement des germes suivants : les coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), les Streptocoques fécaux (SF) ainsi que les spores de Clostridium sulfito réducteurs (CS-R) à l'entrée et à la sortie de la STEP. Ces germes sont choisis par l'OMS comme témoins de contamination fécale.

La raison de ce choix réside dans le fait que la numération de ces bactéries est beaucoup plus simple et rapide (entre 24 et 48h). Les résultats des analyses bactériologiques sont représentés dans le **Tableau 07**.

Tableau 07 : Résultats d'analyses bactériologiques des eaux usées brutes et épurées de la STEP d'Ibn Ziad.

Date de prélèvement	Type d'eau	CT CT /100ml	CF CF/100ml	SF SF/100ml	CS-R Spore/1ml
P1 27/03/2017	Eau usée	45.10 ⁶	30.10 ⁴	95.10 ⁵	6.10 ²
	Eau traitée	14.10 ²	450	3.10 ²	Absence
P2 02/04/2017	Eau usée	11.10 ⁶	25.10 ⁴	25.10 ⁵	10.10 ²
	Eau traitée	14.10 ²	450	250	Absence
P3 10/04/2017	Eau usée	11.10 ⁶	16.10 ⁴	14.10 ⁵	8.10 ²
	Eau traitée	14.10 ²	450	14.10 ²	Absence
P4 16/04/2017	Eau usée	45.10 ⁶	20.10 ⁴	25.10 ⁵	90
	Eau traitée	14.10 ²	450	14.10 ²	6
P5 23/04/2017	Eau usée	25.10 ⁶	1 .10 ⁴	25.10 ⁵	6.10 ²
	Eau traitée	14.10 ²	450	11.10 ²	Absence
La moyenne	Eau usée	27,4.10 ⁶	21,4.10 ⁴	36,8.10 ⁵	618
	Eau traitée	14.10 ²	450	890	1

Les résultats du dénombrement des indicateurs de contamination fécale au niveau des eaux usées brutes ne présentent pas de fluctuations significatives durant toute la période de notre étude.

La charge moyenne en coliformes totaux (CT) est de l'ordre de $27,4 \cdot 10^6$ CT/100 ml, et de $21,4 \cdot 10^4$ CF/100 ml pour les coliformes fécaux. Ces valeurs sont élevées par ce que les eaux usées sont considérées comme un milieu favorable pour la prolifération bactérienne. En ce qui concerne les Streptocoques fécaux la valeur moyenne est de $36,8 \cdot 10^5$ SF/100ml, et de 618 spores/1ml pour les Clostridium.

Les eaux épurées véhiculent une charge bactérienne moins élevée que les eaux usées brutes. Ces eaux restent riches en bactéries fécales (Coliformes et Streptocoques). On dénombre durant la période d'étude, une moyenne de $14 \cdot 10^2$ CT/100 ml, $1,18 \cdot 10^6$ CF/100 ml, 890 SF/ 100 ml et 1spore /1 ml.

Les résultats obtenus sont inférieurs aux normes décrites par l'OMS (**Annexe 02**), et similaires avec ceux d'Eddabra, (2011) au Maroc-STEP L'Mzar ($1,52 \cdot 10^2$ CF/100 ml, $2,81 \cdot 10^2$ SF/100 ml, 70,17 Spores/100ml) et d'Ounouki et Achour, (2014) à Ouargla – STEP Said Otba (84 CT/100 ml, 62,5 CF/100 ml, 59 SF /100 ml, 4Spores/1 ml), mais présentent une différence avec le travail fait par Attab, (2011) à Ouargla –STEP Haoud Berkaoui ($2,1 \cdot 10^6$ CT/100 ml, $1,8 \cdot 10^6$ CF/100 ml, $1,8 \cdot 10^4$ SF/100 ml, 72,2 spores/20 ml).

Les abondances en coliformes dans les effluents traités dépendent de la qualité microbiologique des eaux brutes d'une part, et de l'efficacité de la filière de traitement à éliminer les coliformes, d'autre part. La présence de coliformes, résulte de leur abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et constitue un indicateur fécal de première importance (**Dupray et Derrien, 1995**).

Concernant les Streptocoques fécaux qui sont des témoins assez résistants de contamination fécale (**Gaujous, 1995**), ces bactéries peuvent se multiplier dans des milieux salés présentant des pH alcalins, par conséquent, elles sont utilisées comme indicatrices de germes pathogènes qui présentent une résistance similaire au pH élevé (**OMS, 1979**).

Quant aux Clostridium sulfite-réducteurs, la présence de ces germes indique la présence de sulfite de fer, qui provoque l'apparition des mauvaises odeurs et peut être à l'origine de la corrosion des conduites (**Rodier, 2005**), mais nos résultats montrent une faible concentration au niveau des eaux de la sortie de ces germes.

2. Recherche du *Vibrio cholerae*

Les résultats de recherche du *V.cholerae* sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Résultats de la recherche de *Vibrio cholerae* dans l'eau usée brute et épurée de la STEP d'Ibn Ziad

Date des prélèvements	<i>Vibrio cholerae</i> non O1	
	Entrée	Sortie
27/03/2017	Absence	Absence
02/04/2017	Présence	Absence
10/04/2017	Absence	Absence
16/04/2017	Présence	Absence
23/04/2017	Présence	Absence

2.1. Identification morphologique

a. Aspect macroscopique

Sur un total de 5 prélèvements d'eaux usées brutes de la STEP d'Ibn Ziad, 12 souches suspectes du Vibrion cholérique ont été isolées sur milieu GNAB, elles sont rondes, de taille moyenne, environ 2 mm de diamètre, translucides, à bord régulier (**Figure 26**).

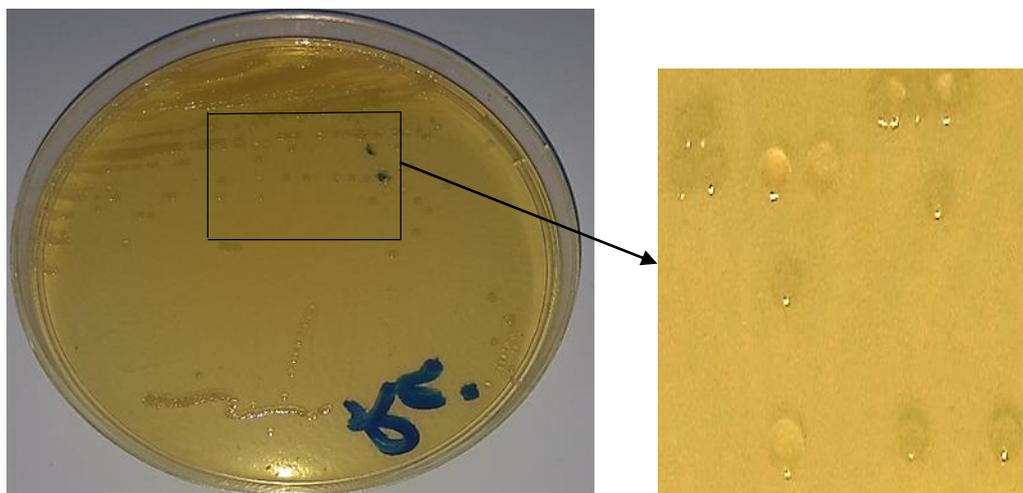


Figure 26 : Aspect des colonies sur milieu GNAB.

NB : Nous avons réalisé un examen microscopique et le test de l'oxydase pour chaque colonie présomptive.

b. Aspect microscopique

- **Etat frais** : L'observation microscopique montre que certaines souches présentaient l'aspect incurvé, à mobilité de type polaire.
- **Coloration de Gram** : Selon le Gram seules 3 souches sur 12 isolées révèlent une flore monomorphe faite de bacilles à Gram négatif, fins, incurvés, isolés (voir **Figure 27**).

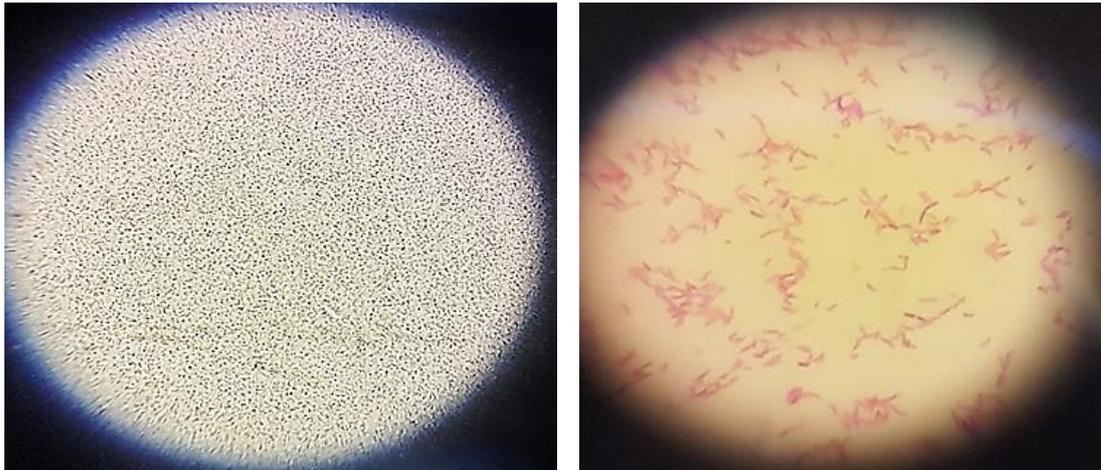


Figure 27 : Aspect microscopique des isolats suspects (à gauche l'état frais, à droite la coloration de Gram).

c. Test de l'oxydase

Les résultats de notre étude indiquent que ces 3 souches sont positives pour le test d'oxydase (coloration violette) (**Figure 28**).



Figure 28 : Révélation du test d'oxydase.

2.2. Identification biochimique

L'identification du *Vibrio cholerae* est basée sur l'étude des caractères biochimiques en utilisant la galerie classique (voir **Figure 30**), qui indique l'appartenance de ces souches à l'espèce de *V.cholerae*.

• **Test de catalase**

Toutes les colonies testées sont catalase positive dont la présence se manifeste par un dégagement de bulles d'air dès leur contact avec l'eau oxygénée (**Figure 29**).



Figure 29 : Résultat du test de catalase

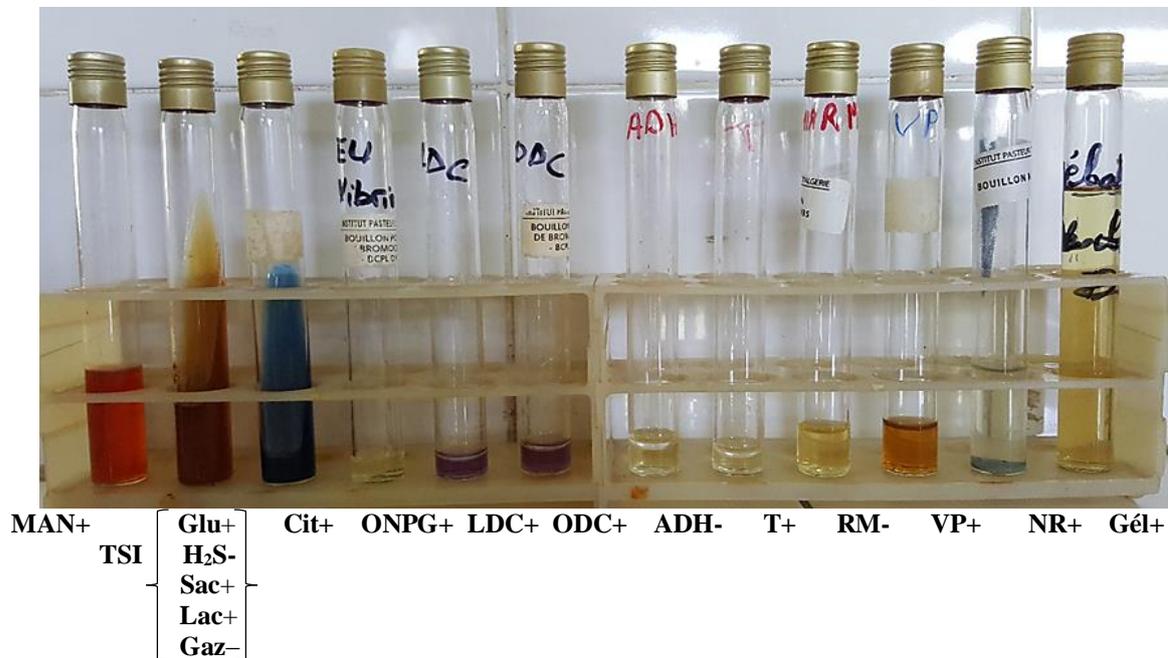


Figure 30 : Galerie biochimique classique des trois souches suspectées du *V.cholerae*.

• **Test du mannitol-mobilité**

Le virage de l'indicateur coloré rouge de phénol du rouge au jaune témoigne d'une utilisation du mannitol. De plus la mobilité des souches est avérée par la formation de voiles autour de la piqure centrale avec un trouble du milieu. Les colonies testées présentaient l'aspect : mobilité + et mannitol +.

- **L'utilisation du glucose, du lactose, saccharose, de la production de gaz et H₂S sur le milieu TSI**

- Le culot jaune indique que la souche utilise le glucose (Glu +).
- Le virage de la pente au jaune indique que la souche utilise le lactose (Lac +) et le saccharose (Sac +).
- Absence de décollement de la gélose indique que la souche ne produit pas de gaz (Gaz -)
- Absence de noircissement indique que la souche ne produit pas l'H₂S (H₂S -).

- **L'utilisation du citrate**

Les souches étudiées utilisent le citrate comme seule source de carbone et entraînent une alcalinisation du milieu, d'où le virage du vert au bleu (Cit+).

- **Recherche de la β -galactosidase : Test ONPG**

Les souches testées étaient pourvues de la β -Galactosidase, elles ont donné un résultat positif c'est-à-dire ONPG + ou le milieu utilisé devient jaune.

- **Recherche des décarboxylases (ADH, LDC, ODC)**

Le milieu de moëller ADH a changé de couleurs et est devenu jaune donc négatif (ADH -) car il aurait fallu avoir une ré-alcalinisation, par contre les milieux LDC, ODC n'ont pas changé de couleur et ils sont restés violet donc positif (LDC +, ODC +).

- **Le test de RM et VP**

La voie des acides mixtes est mise en évidence après ajout du réactif de RM dans le milieu. Une coloration rouge désigne un RM + c'est-à-dire une fermentation acide mixte. Une coloration jaune est un résultat négatif.

La voie du butylène glycolique est mise en évidence après ajout des réactifs VP I et VP II. Une coloration rouge témoigne d'un VP + et la réaction négative est révélée par l'absence de la coloration rouge. Les colonies que nous avons testées avaient le profil suivant (RM -, VP +).

- **Test de Nitrate réductase**

Le résultat a révélé l'absence de coloration après l'addition de la poudre de zinc pour les colonies suspectés (NR +).

- **Test de gélatinase**

Lorsque la gélatine est hydrolysée par la gélatinase elle ne se solidifie pas en baissant la température et reste liquide ce qui se voit en inclinant le tube, ce qui a été observé chez les souches testées (Gél +).

Les résultats de l'identification obtenus des 3 souches montrent qu'elles sont des bacilles incurvés mobiles, Gram négatif, oxydase +, catalase +, mannitol +, Glucose et gaz -, H₂S -, lactose, saccharose et citrate +, ONPG +, gélatinase +, VP +. LDC +, ODC +, ADH -.

Les résultats de l'identification par la galerie biochimique classique des souches présumées montrent qu'elles appartiennent à l'espèce de *Vibrio cholerae*.

NB : La recherche de la bactérie *Vibrio cholérique*, dans nos prélèvements d'EUE et pendant toute la période de l'étude s'est révélée négative.

2.3. Identification sérologique

Le test d'agglutination des souches de *V.cholerae* isolées à partir des EUB montre des résultats négatifs en eau physiologique (souche non autoagglutinable), et confirme que toutes les souches identifiées de *V.cholerae* sont des *V.cholerae* non O1 (**Figure 31**).

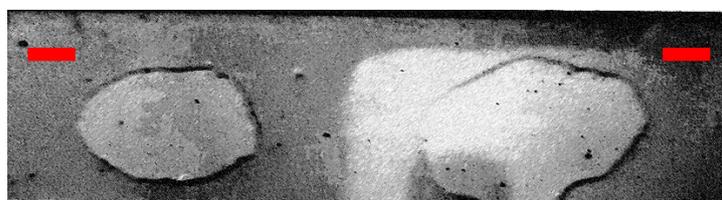


Figure 31 : Test d'agglutination du *V.cholerae* avec un antisérum polyvalent anti O1 (à droite *V.cholerae* avec l'eau physiologique, à gauche avec l'antisérum).

D'après l'observation microscopique à l'état frais et après coloration de Gram ainsi que la recherche d'oxydase, l'identification biochimique et test d'agglutination dans EUB montre que les souches étudiées sont des *V.cholerae* non O1.

2.4. Sensibilité de *Vibrio cholerae* non O1 vis-à-vis des antibiotiques

L'étude de la sensibilité de *V.cholerae* non O1 vis-à-vis des antibiotiques testés a donné les résultats consignés dans le **tableau 09** :

Tableau 09 : Profil de sensibilité /résistance de *Vibrio cholerae* non O1 vis-à-vis les antibiotiques testées.

Antibiotique	Code	Famille	Break-points	Sensibilité/ Résistance
Amoxicilline	AMX	β -lactamine	21-14	R
Imipénem	IPM	β -lactamine	20-22	S
Cefazoline	KZ	β -lactamine	23-29	S
Érythromycine	E	Aminoglycosides	22-17	S
Gentamicine	CN	Aminoglycosides	16-14	S
Ofloxacine	OF	Fluoroquinolones	22-16	S
Acide nalidixique	NA	Fluoroquinolones	20-15	R
Fosfomycine	FOS	Fosfomycine	14-14	S
Colistine	CL	Polymyxines	15-15	S
Doxycycline	DO	Tétracyclines	/	S
Chloramphénicol	C	Phénicolés	23-16	S
Co-trimoxazole (triméthoprine /sulfaméthoxazole)	COT	Sulfamides- triméthoprine	16-10	S

La figure suivante montre les zones d'inhibition de *V.cholerae* non O1.

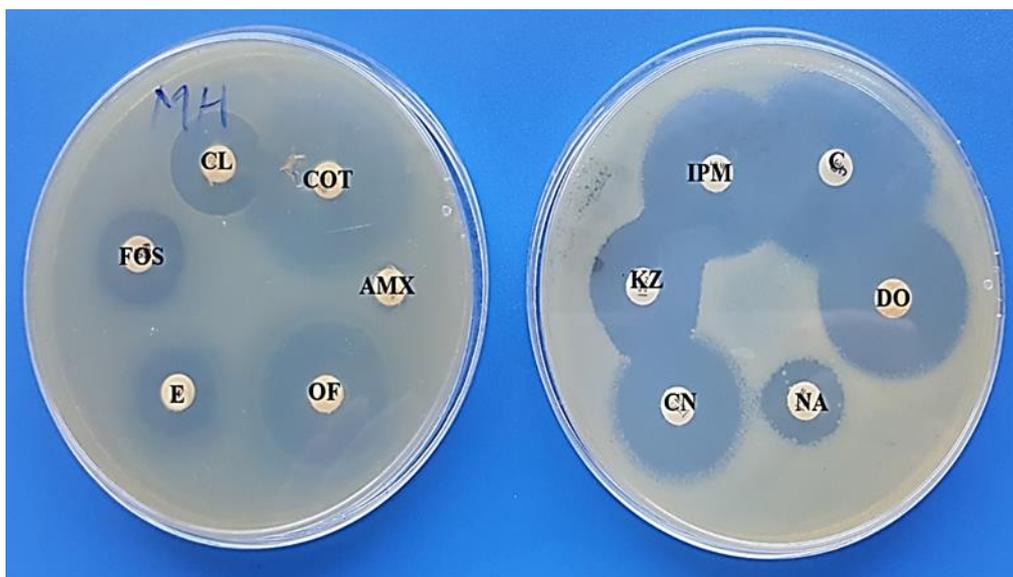


Figure 32 : Résultat de l'antibiogramme de *V.cholerae* non O1.

Sur un total de 5 échantillons des eaux usées brutes de la STEP d'Ibn Ziad, l'enrichissement a présenté un voile évoquant la bactérie *V.cholerae* non O1 dans 3 d'entre eux.

Le milieu GNAB a présenté une bonne sélectivité que la gélose nutritive GN ce qui a permis à de nombreuses colonies de se cultiver. Nous utilisons le milieu GNAB pour faciliter la recherche de cette bactérie.

La colonisation de l'eau usée brute (P2, P4, P5) par *V.cholerae* NAG O1 pourrait s'expliquer par son adaptation aux conditions du milieu qui sont favorables pour sa multiplication. Il est important de noter que la température, la salinité et le pH ; sont les principaux paramètres de la dynamique de *V.cholerae* non O1.

Les résultats positifs obtenus durant la période d'étude étaient après une forte chute de pluie, donc la présence du *V.cholerae* NAG O1 pourrait aussi s'expliquer par les pluies qui portent avec elles les micro-organismes adhérents aux différents supports, ainsi que ceux issues de matière fécale.

Par ailleurs il faut rappeler que la présence du *V.cholerae* non *O1* indique la présence du *V.cholerae* *O1*. Selon l'OMS aucune méthode sélective ne permet de faire pousser *V.cholerae* *O1* au sein d'une population de souche non *O1*. Si dans un échantillon un grand nombre de micro-organismes non *O1*, un petit nombre de *O1* peuvent ne pas être isolables en pratique et subsistent pendant de longue période comme population « silencieuse » (OMS, 1981).

L'absence du *V.cholerae* dans les EUB (P1, P3) pourrait s'expliquer par les conditions extérieures et les facteurs de stress tel que la carence nutritive et l'exposition prolongée à la lumière naturelle qui peuvent influencer sur l'état physiologique des cellules et donc la perte de leur capacité de pousser dans un milieu bactériologique simple, connu par l'état viable non cultivable (VNC).

Les résultats trouvés au cours de notre étude sont différents de ceux rapportés par El Ouali Lalami et *al.*, (2014) qui montrent l'absence de *V.cholerae* non *O1* dans les eaux usées brutes, et différents aussi de celui d'Eddabra, (2011) qui a trouvé *V.cholerae* non *O1* dans les eaux usées épurées.

L'absence du *V.cholerae* dans l'eau usée épurée est due à l'efficacité du traitement de la STEP d'Ibn Ziad.

Concernant la résistance aux antibiotiques, *V.cholerae* non *O1* présentait une bonne sensibilité vis-à-vis des antibiotiques testés : Chloromphénicol, Co-Trimoxazol, Imipénem, Doxycycline, Ofloxacine, Gentamicine, Céfazoline, Colistine, Fosfomycine et Erythromycine. En revanche le travail d'Eddabra, (2011) montre une résistance de *V.cholerae* non *O1* à la Fosfomycine, celui de Gonzalez Fraga et *al.*, (2009) au Co-Trimoxazol, et de Dutta et *al.*, (2013) à la Gentamicine et au Chloromphénicol.

Dans notre étude les 3 souches étudiées présentent une résistance acquise à l'amoxicilline, et à l'acide nalidixique. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Teikoura et *al.*, (2010), par Eddabra, (2011) et par Dutta et *al.*, (2013). La résistance aux β lactamines est probablement due à une production de β lactamases de type pénicillinase. Les travaux d'Aucher, (1998) montrent que l'ampicilline est généralement inactive vis-à-vis la majorité des *Vibrions*, mais l'acide nalidixique présente une bonne activité.

Conclusion

L'objectif de cette étude a visé le suivi de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes et épurées ; réalisée respectivement au niveau de la STEP d'Ibn Ziad et le laboratoire d'hygiène de la ville de Constantine.

L'eau subit diverses pollutions et dégradations d'où la nécessité de son traitement et contrôle afin de produire un effluent qui respecte les normes de rejet dans un milieu récepteur.

Les résultats physico-chimiques et bactériologiques de notre étude montrent que les eaux usées brutes entrant à la STEP présentent une pollution organique élevée et véhiculent d'importantes charges de bactéries témoins de contamination fécale. Quant à la recherche de *Vibrio cholerae*, on note la présence de *V.cholerae* non *O1* responsable des gastro-entérites. La présence de *Vibrio cholerae* non *O1* indique aussi la présence d'un petit nombre de *V.cholerae* *O1*, ce dernier peuvent ne pas être isolables en pratique et subsistent pendant de longue période comme population « silencieuse ».

L'étude du profil de résistance et/ou de sensibilité de *V.cholerae* non *O1* vis-à-vis des antibiotiques testés révèle une efficacité considérable à la majorité, et une résistance à l'amoxicilline et à l'acide nalidixique.

Concernant les eaux usées épurées, les résultats obtenus indiquent que la qualité physico-chimique et bactériologique répondent aux normes du journal officiel Algérien et aux recommandations de l'OMS, ainsi qu'à l'absence de *V.choleare* non *O1*.

Ces résultats permettent de conclure que le traitement utilisé dans la STEP d'Ibn Ziad est suffisant pour permettre d'abaisser les concentrations en polluants organiques et bactériologiques et donc d'atténuer le risque sanitaire à un niveau acceptable.

Perspectives

Les résultats préliminaires obtenus dans le cadre de cette étude nous permettent de penser aux perspectives suivantes :

- Vue le déficit hydrique en Algérie et l'utilisation clandestine des eaux usées rejetées par la STEP par les agriculteurs en irrigation. La mise en marche du système de chloration déjà structuré est impérative afin de protéger la santé publique.
- Étaler l'étude sur une période plus longue avec plusieurs prélèvements.
- Etudier d'autres eaux notamment les eaux d'Oued, marines, saumâtres, et estuariennes.
- Compléter la détermination des stéréotypes de *V.cholerae* notamment le sérotype O139.
- Réaliser une étude moléculaire variée pour *V.cholerae* non O1 (PCR, RLFP, Profils de restriction...).
- Améliorer les méthodes de détection et caractérisation des espèces de *Vibrio* pathogènes.

*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

A

Abouelouafa M, El Halouani H, Kharboua M, Berrichi A. (2002). Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes de la ville d'Oujda: canal principal et Oued Bounaïm. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 22 (3): 143-150.

Agence Nationale sur la Protection de l'Environnement (A.N.P.E). (1996). Document interne.p.55.

Aminot A, Chaussepied M. (1983). Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Edition Jouve Cnexo. France.p.395.

Attab S. (2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux usées épurées par boues activées de la station d'épuration Haoud Berkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local. Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée. Université Kasdi Merbah-Ouargla, p.49-55.

Aucher P, Dugaz G, Missonnier F, Fortas N. (1998). A propos d'un cas d'infection autochtone a *Vibrio cholerae* non O1 et non O139. *Annales De Biologie Clinique*, 56 (2): 213- 4.

Azami Idrissi Y, Alemad A, Aboubaker S, Daifi H, Elkharrim K, Belghyti D. (2015). Caractérisation physico-chimique des eaux usées de la ville d'Azilal-Maroc. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 11(3): 556-566.

B

Bauer AW, Kirly WM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45:493-496.

Belaid N. (2010). Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax : salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse de doctorat .Université de Sfax, Tunisie, p.1-39.

Belghiti ML, Chahlaoui A, Bengoumi D, El Moustaine R. (2013). Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe plio-quadernaire dans la région de Mekken (Maroc). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, (14): 21-36.

Belgiorno V, Rizzo L, Fatta D, Della Rocca C, Lofranoa, Nik Olaou A, Naddeo V et Merics S. (2007). Review on endocrine disrupting emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination*, 215: 166-176.

Belhamadi M. (2011). Etude de la biodégradation du 2,4-dichlorophénicol par le microbiote des effluents d'entrée et de sortie de la station d'épuration des eaux usées d'Ibn Ziad. Mémoire de Magister en Microbiologie appliquée et biotechnologies microbiennes. Université Mentouri-Constantine, Algérie, p : 16.

Benyakhlef M, Naji S, Belghyti D, El Guamri. (2011). Caractérisation physicochimique des eaux usées industrielles du grand Agadir (Maroc), Cas d'une huilerie. *Science en liberté*, 3, (110707).

Bliefert C, Perraud R. (2009). Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, Déchets. Deboeck .p.320.

Bonhomme AJC. (2003). Les bactéries du genre *Vibrio* et la santé publique vétérinaire. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France, p.11-13-14-15-19-42-43-46-98.

Bouchriti N, EL Marrakchi A, Goyal SM. (1997). Microbial pollution of seawater and shellfish in Morocco. *Fisheries and Environment*. Université Petanian, Malaysia, p.339-359.

Boutayeb M, Bouzidi A, Fekhaoui M. (2012). Etude de la qualité physico-chimique des eaux usées brutes de cinq villes de la région de la Chaouia – Ouardigha (Maroc). *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie, 34 (2): 145-150.

Burton JA, Gunnison D, Lanza CR. (1987). Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 633-638.

C

Chadli A. (1995). Maladies bactériennes d'origine hydrique. Thèse de doctorat .Université Hassan II, Casablanca, p. 58-60.

Chocat B. (1997). Encyclopédie de l'hydrologie urbaine et assainissement. Techniques et documentations Lavoisier. Paris.p.1124.

Cohen N, Karib H. (2007). *Vibrio spp.* dans les produits de pêche: risques et prévention. Les technologies de laboratoire, 2 (4): 4-10.

Comstock EL, Maneval D, Panigrahi P, Aaron J. (1995). The Capsule and O antigenic in *Vibrio cholerae* O139 Bengal are associated with a genetic region not present in *Vibrio cholerae* O1. *American society for microbiology, infection and immunity*. Baltimore-Maryland-USA. 63 (1): 317-320.

D

Daniels NA, Shafaie A. (2000). A review of Pathogenic Vibrios Infections for Clinicians. *Infection Medecin*, 17: 665- 685.

Direction de l'Assainissement et de la Protection de l'Environnement (D.A.P.E). (2006). Étude de réutilisation des eaux épurées à des fins agricoles ou autres sur tout le territoire national, Mission 1 : Reconnaissance et collecte des données de base, 120.

Delarras, C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire: Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Edition Lavoisier. Paris. p.648.

Dellarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. Lavoisier. France. p.462.

Denis F, Bingen E, Martin C, Ploy CM, Quentin R. (2012). Bactériologie médicale: Techniques usuelles. 2^{ème} édition. Elsevier Masson. p. 92.

Djeddi H. (2007). Utilisation des eaux d'une station d'épuration pour l'irrigation des essences forestières urbaines. Thèse de magister: Ecologie et environnement. Université frères Mentouri –Constantine, Algérie, p.76- 84.

Dupray E, Derriena A. (1995). Influence du passage de *Salmonella spp*, et *Escherichia coli* en eaux usées sur leur survie en eau de mer. *Water Research*, 29 (4): 10051011.

Dutta D, Chowdhury G, Pazhani GP, Guin S, Dutta S, Ghosh S, Rajendran K, Nandy RK, Mukhopadhyay AK, Bhattacharya MK, Mitra U, Takeda Y, Nair GB. (2013). *Vibrio cholerae* Non-O1, Non-O139 Serogroups and Cholera-like Diarrhea, Kolkata, India. *Emerging Infectious Diseases*; 19 (3): 464–467.

E

Eddabra, R (2011). Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du Grand Agadir: Isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces du genre *Vibrio*. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Ibn Zohir et Université de Strasbourg, Agadir, p.34- 38.

El Guamri Y, Belghyti D. (2007). Etude de la qualité physicochimique des eaux usées brutes de la commune urbaine de Saknia, rejetées dans le lac Fouarat (Kénitra, Maroc). *African Journal of Environmental Science and Technology*, 1: 53- 60.

El Krati M. (2000). Etat de l'environnement de la ville d'El Jadida. Etude de la traitabilité des rejets liquides de textiles. Thèse d'Etat, Université Chouaib Doukkali –Maroc, p.56.

El Marrakchi S. (2012). Les vibrions pathogènes chez l'homme. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mouhamed V, Rabat, p.5-21-22-26.

El Ouali Lalami A, El Akhal F, Berrada S, Bennani L, Raiss N, Maniar S. (2014). Evaluation de la qualité hygiénique des eaux de puits et de sources par l'utilisation d'une analyse en composantes principales (ACP) : Une étude de cas de la région de Fès (MAROC). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (S1): 2333- 2344.

F

Faruque SM, Mekalanos JJ. (2003). Pathogenicity islands and phages in *Vibrio cholerae*. *Evolution trends microbiology*, 11: 505- 510.

Faruque SM, Sack DA, Sack RB, Colwell RR, Takeda Y, Nair B. (2003). Emergence and evolution of *Vibrio cholerae* O139. *PNAS*, 4: 1304-1309.

Fathallah Z, El Kharrim K, Fathallah R, Hbaiz EM, Hamid C, Ayyach A, El Khadmaoui A, Belghyti D. (2014). Étude physico-chimique des eaux usées de l'unité industrielle papetière à Sidi Yahia el Gharb (Maroc). *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, (20): 57- 69.

Figarella J, Leyral G, Terret M. (2001). Microbiologie Générale et Appliquée. 3^{ème} édition. Jacques Lanore. p. 285.

Flandrois JP, Courcoul R, Lemeland JF. (1997). Bactériologie médicale. *Presses Universitaires*. Lyon. p.201

Foster JS, Apicella MA, McFall-Ngai MJ. (2000). *Vibrio fischeri* lipopolysaccharide induces developmental apoptosis, but not complete morphogenesis, of the Euprymna scolopes symbiotic light organ. *Developmental biology*: 226-242-254.

Franck R. (2002). Analyse des eaux, Aspects réglementaires et techniques. Scérén CRDP Aquitaine. Bordeaux. p. 165-239.

Fukushima H, Seki R. (2004). Ecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in brackish environments of the Sada River in Shimane Prefecture. *Fems Microbiology Ecology* 48: 221- 229.

G

Gaujous D. (1995). La pollution des milieux aquatiques. Technique et Documentation Lavoisier. p. 220.

Gay M. (2004). Infection expérimentale chez *Crassostrea gigas* : étude de deux souches pathogènes apparentées à *Vibrio splendidus*. Thèse de doctorat. Université de la Rochelle - France, p.174.

Ghadbane N. (2003). Les eaux usées urbaines. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, Algerie, p. 147.

González Fraga S, Villagra de Trejo A, Pichel M, Figueroa S, Merletti G, Caffer MI, de Castillo MC, Binsztein N. *Rev Argent Microbiol.* (2009). Characterization of *Vibrio cholerae* non-O1 and non-O139 isolates associated with diarrhea. *Revista Argentina de Microbiología*, 41(1): 11- 9.

Guegan J F. (2006). Quantification des risques d'émergence d'épidémies à choléra dans le bassin méditerranéen en relation avec le changement climatique. Centre National De la Recherche Scientifique, Rapport du Ministère Français de l'écologie et du développement durable, Montpellier-France. p. 2- 13

H

Hartani T. (2004). La réutilisation des eaux usées en irrigation : cas de la Mitidja en Algérie. Institut national agronomique, Alger-Algérie, p 3.

Haut Commissariat aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification (HCEFLCD). (2006). Etude sur la pisciculture au barrage Almassira. CR dar Chafaai, Cercle d'El Brouge-Province de Settat, Maroc, p.201.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore.p.82.

Huq A, Colwell RR, Rahman R, Ali A, Chowdhury MA, Parveen S, Sack DA, Russek Cohen E. (1990). Detection of *Vibrio cholerae* O1 in the aquatic environment by fluorescent monoclonal antibody and culture methods. *Appl Environ Microbiol* 56: 2370-2373.

Hyaric R. (2009). Caractérisation, traitabilité et valorisation des refus de dégrillage des stations d'épurations. Thèse Doctorat l'Institut National des Sciences appliquées de Lyon, p 30-34.

I

Ichinose Y, Yamamoto K, Nakasone N, Tanabe MJ, Takeda T, Miwatani T, Iwanaga M. (1987). Enterotoxicity of El Tor-like hemolysin of non O1 *Vibrio cholera*. *Infection and Immunity*, 55: 1090- 1093.

ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1996). *Microorganisms in Foods: Characteristics of Microbial Pathogens*, 5.

J

Jora "Journal Officiel de la République Algérienne". (1993). Annexe des valeurs limites maximales des paramètres de rejet des installations de déversement industrielles, (46).p.7.

K

Karraouan B, Fassouane A, El ossmani H, Cohen N, Charafeddine O, BOUCHARIF B. (2010). Prévalence et gènes de virulence des *Salmonella* isolées des viandes hachées crues de dinde à Casablanca (Maroc). *Revue médecine vétérinaire*, 161(3): 127- 132.

Kbibch A, Belghyti D, Elkharrim K, El Khokh K. (2011). Analyse de la pollution de l'oued Mda par les eaux usées domestiques de la ville de Souk Elarba du Gharb Maroc, *Science Lib Editions Mersenne*, 3 (110203).

L

Lavallée M. (1999). Le choléra à l'aube du 3^e millénaire. *Développement et Santé*.p.142.

Lazarova V, Gaid A, Rodriguez Gonzales J et Ansola J. (2003). L'intérêt de la réutilisation des eaux usées : analyses d'exemples mondiaux. *Sciences et Méthodes*, 9 : 64-85.

Lenntech L. (2004). Traitement de l'eau et de l'air. Hermann. Paris. p.120.

Les cahiers de l'agence. (2001). Le bassin Kebir-Rhumel, Agence de bassin hydrographique Constantinois-Seybouse-Mellegue. Ed Elnnakhla, Alger, n°2, 33p.

Lesne J, Baleux B, Bousaid A, Hassani L. (1991). Dynamics of non O1 *Vibrio cholerae* in experimental sewage stabilization ponds under arid Mediterranean climate. *Water Sci. Technology*, 22: 387-390.

Lesne J, Fournier JM. (1998). *Vibrio* in Manuel de Bactériologie Alimentaire. Polytechnica. Paris. p.308.

M

Mac Dowell HT, Colwell RR. (1985). Phylogeny of the *Vibrionaceae* recommendation for two new generation, *Listoenella* and *Shewanella* System. *Applied Microbiology*, 6: 171-185.

Madden JM, Mc Cardell BA. (1989). *Vibrio cholerae*. **In:** Doyle, M.P. Food borne Food Bacterial Pathogens. Marcel Dekker. New York. p. 525-542.

Madigan M, Martinko J. (2007). Biologie des micro-organismes. 11^{ème} édition. Pearson Science. Paris. p.927.

Merlet P. (2004). Dictionnaire le petit Larousse illustré. 1^{ère} édition. Larousse. Paris. p.1818.

Metahri M. (2012). Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées. Thèse de doctorat: Génie de procédés. Université Mouloud Mammeri -Tizi Ouzou, Algérie, p.18.

Mhalu FS, Mmari PW, Ijumba J. (1979). Rapid emergence of *El Tor Vibrio cholerae* resistant to antimicrobial agents during first six months of fourth cholera epidemic in Tanzania. *Lancet*: 345– 347.

Miossec L. (2002). Les vibrions pathogènes pour l'homme: le risque associé au milieu marin en France. Rapport Direction de l'environnement et de l'aménagement Littoral.p.41.

Morris JG Jr. (2003). Cholera and others types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. *Food safety*, 37: 272-280.

Moussa Moumouni Djermakoye H. (2005). Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries. Caractérisation physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surfaces et les souterraines. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali, p. 29.

N

Nair GB, Bartram J. (2001). *Vibrio cholerae*. National Institute of cholera and Enteric Diseases, Calcutta –India, p. 119-122.

O

Ogri F. (2007). Etude de la contamination fécale d'un sol irrigué par des eaux usées (Bathalocalité) de la ville de Fès, Mémoire, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des sciences Dhar El Mehraz, Fès.p.58.

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

OMS. (1979). Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Bureau régional de l'Organisation Mondiale de la Santé, Copenhague.p.168.

OMS. (1981).Cholera et autres diarrhées associées à des vibrions, 59 (1): 27-52.

OMS. (1994). Directives de qualité de l'eau de boisson, 2^{ème} édition. Genève.1. p. 8- 30.

OMS. (2004). Guidelines for drinking-water quality. Recommendations. 3rd edition. World Health Organization. Geneva.

OMS. (2010). Éléments d'épidémiologie, 2^{ème} édition. P. 1.

OMS. (2012). Choléra, 2011.Relevé épidémiologique hebdomadaire, 87 (31-32): 289- 304.

OMS. (2016). Choléra ,2015. Relevé épidémiologique hebdomadaire, 91 (38) : 433- 440.

Oulkheir S. (2002). Caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des eaux usées de la ville de Kénitra. Thèse de 3^{ème} Cycle, Université Ibn Tofayl- Kénitra, Maroc, p.79.

Ounoki S, Achour S. (2014). Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées brutes et épurées de la ville d'Ouargla. Possibilité de leur valorisation en irrigation. *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, (20): 247- 258.

P

Prescott, Harley, Klein, Sherwood, woolverton. (2007). Microbiologie. 2^{ème} édition. De Boeck .Paris.p.983.

Prescott, Harley, Klein, Sherwood, woolverton. (2010). Les maladies humaines dues aux bactéries. **IN:** Microbiologie. 3^{ème} édition. De Boeck .Paris.p.983.

Q

Quilici ML, Fournier JM. (2002). Infections à vibrions non cholériques. Encyclopedie. Medecine Chirurgie. Elsevier. SAS. Paris. p.15-17.

Quilici ML. (2011). Le diagnostic bactériologique du choléra. *Revue Francophone des laboratoires*, (413): 29-43.

R

Raweh S, Belghyti D, AL Zaemey A, EL Guamri Y, El kharrim K. (2011). Qualité physico-chimique des eaux usées de la station d'épuration de la ville de S'Anaa -Yemen, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (1).

Reid AJ, Amyes SG. (1986). Plasmid penicillin resistance in *Vibrio cholerae*: identification of new beta-lactamase SAR-1. *Antimicrob Agents Chemother*, 30: 245–247.

Reyssac SJ, De La Noüe J, Proulx D. (1995). Le recyclage du lisier de porc par lagunage. Edition Technique et Documentation Lavoisier.p.118.

Rodier J. (2005). L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème} Edition DUNOD technique. Paris. p. 1008-1043.

S

Said B, Drasar B. (1996). Cholera: *Vibrio cholerae*. **IN:** Chapman and Hall. Cholera and the ecology of *Vibrio cholerae*. London. p. 1-17.

Santé Canada. (1995). La turbidité, document de support aux recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada. Accessible à :

Shimada T, Arakawa E, Itoh K, Okitsu T, Matsushima A, Asai Y, Yamai S, Nakazato T, Nair GB, Albert MJ, Takeda Y. (1994). Extended serotyping scheme for *Vibrio cholerae*. *Current microbiology*, 28:175-178.

Subhash CP. (2009). Text book of Microbiology and Immunology. Shabina Nasim. India. p.307.

T

Tacket CO, Taylor RK, Losonsky G, Lim Y, Nataro Jp, Kaper JB, Levine. (1998). Investigation of the roles of toxin-Coregulated Pili and Mannose-Sensitive hemagglutinin pili in the pathogenesis of *Vibrio cholerae* O139 infection. *Infection and Immunity*, 66 (2): 692- 695.

Tankeshwar A. (2012). Oxidase test: Principle Procedure and oxidase positive organisms. Biochemical tests in Microbiology, laboratory diagnosis of Bacterial Disease. <http://www.microbeonline.com>.

Tankeshwar A. (2013). Catalase test: principale, uses, procedure and results. Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria. <http://www.microbeonline.com>.

Tankeshwar A. (2013). Citrate utilization test: Principle, Procedure, expected results and positive organisms. <http://www.microbeonline.com>.

Tankeshwar A. (2014). Gelatin Hydrolysis Test: Principle, Procedure and expected results. <http://www.microbeonline.com>.

Tiekoura KB. (2010). Caractérisation Moléculaire des Souches de *Vibrio Cholerae* Non O1, Non O139 Isolées des Eaux Lagunaires de Grand-Lahou (Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, 45(3): 333-345.

Touyer O. (1997). Eaux usées dans le Grand Agadir: impact sur l'environnement et épuration dans le système infiltration-percolation de Ben Sergao (étude physico-chimique et parasitologique). Memoire DES. Université Ibn Zohr-Agadir, Maroc, p.183.

TOZE S. (1999). PCR and the detection of microbial pathogens in water and waste waters. *Water research*, 33(17): 3545–3556.

V

Véron MM. (1965). La position taxonomique des *Vibrio* et de certaines bactéries comparables. C.R. Acad. sci. Paris. p.5243-5246.

Von Sperling M. (2007). Wastewater characteristics, treatment and disposal. IWA. London.p.4.

Z

Zhang XH, Austin B. (2005). A review haemolysins in *Vibrio* species. *Japan Applied Microbiology*, 98: 1011-1019.

Références électroniques

http://www.bacteriainphotos.com/vibrio_cholerae_sem_micrograph.html Consulté le 25/04/2017

http://www.dictionnaire-environnement.com/eau_pluviale_ID1238.html. Consulté le 25/04/2017

https://en.wikipedia.org/wiki/File:Vibrio_cholerae_on_TCBS_agar.jpg. Consulté le 25/04/2017

http://microbe-canvas.com/vibrio_cholerae_coloration_de_Gram.html Consulté le 25/04/2017

Annexes

Annexe 01: Tableau des Valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur
(Journal Officiel de la République Algérienne, 2006).

Paramètres	Unités	Valeurs Limites
Température	°C	30
pH	-	6,5 à 8,5
MES	mg/l	35
Turbidité	FTU	50
DBO₅	mg/l	35
Conductivité	µs/cm	/

Annexe 02 : Tableau des valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur
(OMS, 2013).

Paramètres	Norme de l'OMS
Coliformes totaux	5000 CT /100ml
Coliformes fécaux	2000 CF /100ml
Streptocoques fécaux	1000 SF /100ml
Clostridium sulfite -reducteur	/

Annexe 03 : La composition des milieux de culture (g/l).**Milieu de Rothe (S/C)**

Peptone de caséine	20
Extrait de viande	1,5
Glucose.....	4
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate dipotassique.....	2, 7
Phosphate monopotassique.....	2,7
Azide de sodium.....	0,2
pH 6,9	

Milieu Litsky (Eva Broth)

Tryptone.....	20
Glucose.....	5
Phosphate dipotassique.....	2, 7
Phosphate monopotassique	2, 7
Chlorure de sodium.....	5
Azide de sodium.....	0,4
Ethyle violet.....	0, 00083
pH 6,8	

Milieu VF (Viande –Foie)

Bse viande foie.....	30
D glucose	2
Amidon	2
Agar.....	20
pH 7,6	

Agar G.N.A.B.

Peptone de viande.....	10
Extrait de viande.....	3
Chlorure de sodium.....	5
Bile de bœuf desséchée.....	2
Agar	18
pH 8,6	

Eau peptonée exempte d'indole

Peptone de viande.....	10
Tryptone.....	10
Chlorure de sodium	5
pH 7,2	

Eau peptonée alcaline(EPA)

	EPA	EPA 10 x cc
Protéose peptone.....	10	100
Peptone.....	10	100
Chlorure de sodium	5	50
pH 8,6		

Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brilliant /cloche (BLBVB)

Peptone.....	10
Lactose.....	10
Bile.....	20
Vert brilliant.....	13
pH 7,4	

Milieu Mannitol-mobilité

Peptone de viande.....	15
Extrait de viande	3
Mannitol.....	10
Potassium nitrate.....	1
Rouge de phénol.....	0,05
Agar.....	5
pH 7,8	

Milieu Citrate de Simmons

Ammonium dihydrogenophosphate	1
Phosphate dipotassique	1
Chlorure de sodium	5
Citrate de sodium.....	2
Sulfate de magnesium	0, 2
Bleu de bromothymol	0,08
Agar.....	18
pH 6,6	

Gélose TSI (Triple Sugar Agar)

Peptone de viande.....	15
Proteose peptonée.....	5
Extrait de viande.....	3
Extrait de levure.....	3
Glucose	1
Saccharose.....	10
Lactose.....	10
Citrate de Fer ammoniacal.....	0,3
Chlorure de sodium.....	5
Sodium thiosulfate.....	0,3
Rouge de phénol.....	0,05
Agar.....	18
pH 7,4	

Bouillon Clark et Lubs

Peptone	5
Glucose.....	5
Hydrogénophosphate de potassium.....	5
pH 7,5	

Bouillon nitraté

Peptone de viande.....10
Extrait de viande.....5
Chlorure de sodium.....5
Nitrate de potassium.....1

pH 7,2

Gélatine nutritive

Extrait de viande.....3
Peptone.....5
Gelatine.....120

pH 6,8

Gélose nutritive

Peptone.....10
Extrait de viande.....3
Extrait de levure.....3
Chlorure de sodium.....5
Agar.....18

pH 7,3

Milieu de Mueller Hinton

Extrait de viande.....3
Hydrolysate acide de caséine.....17,5
Amidon.....1,5
Agar.....16

pH 7,3

Annexe 04 : Réactifs utilisés

Réactif de la recherche d'oxydase (OX)

Disque imprégnés d'une solution à 1% de chlorhydrate de Tetraméthylparaphénylène-diamine

Réactif de Kovacs

Para-dimethyl -amino-benzaldéhyde	7g/l
Alcool isoamylique	75 ml
Acide chlorhydrique concentré	20 ml

Réactif de Voges-Proskauer I et II

VP I

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

VP II

Alpha-naphtol	6 g/l
Ethanol 95°C.....	100 ml

Réactif de GRIESS-ILOSVAY pour la recherche des nitrites

Nitrate réductase I

Acide sulfamilique	0,8 g/l
Acide Acétique 5N	100 ml

Nitrate réductase II

Naphtylamine.....	0, 5 g/l
Acide acétique5N	100 ml

Solution de l'eau oxygénée à 10 %

Eau oxygénée à 10 V.....	0,5ml
Eau distillée	14,5ml

Rouge de méthyle

Rouge de méthyle.....	50mg
Hydroxide de Sodium NaOH (0,1M).....	2ml
Alcool éthylique.....	50ml
Eau distillée.....	40ml

Disque ONPG

Disque de papier filtre stérile imprégné de tampon et de l'ortho-nitro-phényl- galactoside

Annexe 05 : Coloration de Gram et examen a l'état frais

Coloration de Gram

Préparation du Frottis :

En effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

Réalisation de la coloration :

- 1- Coloration primaire : Coloration par le **violet de gentiane** ou **crystal violet**. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau distillée.
- 2- Mordantage au **lugol** (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 60 secondes ; Rincer à l'eau distillée.
- 3- Décoloration à l'**alcool** (+acétone) : verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer sous un filet d'eau distillée.
- 4- Contre-coloration à la **safranine** ou à la **fuchsine**. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau distillée. Sécher la lame entre 2 feuilles de papier buvard.

Examen a l'état frais

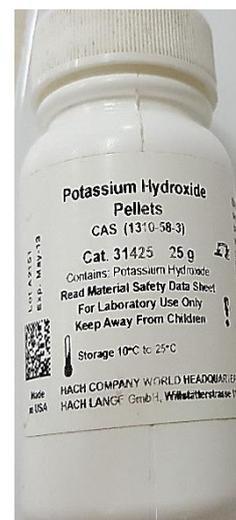
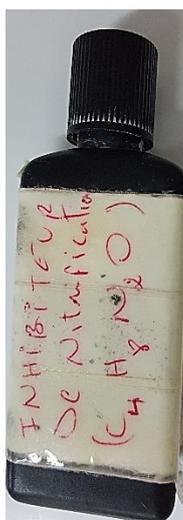
- Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame.
- Prélever une fraction de colonies sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci (ou prélever une petite goutte de bouillon).
- Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum et en remuant très délicatement (afin de ne pas casser les flagelles).
- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air. Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).

Annexe 06: Matériel et appareils utilisés



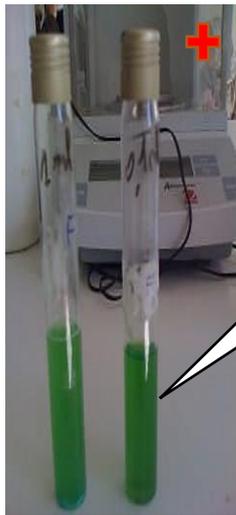
Appareil multi-paramètre

Turbidimètre



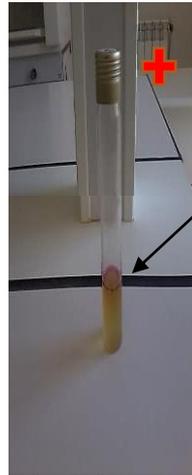
Système OxiTop

Annexe 07: Résultats positifs de dénombrement des bactéries de contamination fécale.



Dégagement de gaz+Trouble

Coliformes totaux



Anneau rouge

Coliformes fécaux



Streptocoques fécaux



Spore de Clostridium

Clostridium sulfito-réducteur

Evaluation des paramètres physico-chimiques, bactériologiques des eaux usées de la station d'épuration d'Ibn Ziad et recherche de *Vibrio cholerae*.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

Les eaux usées constituent un milieu aquatique rassemblant l'essentiel des rejets domestiques et industriels. Elles renferment une pollution organique et véhiculent un grand nombre d'agents pathogènes.

Dans notre étude, l'échantillonnage a été effectué une fois par semaine sur une période d'un mois du (27 Mars au 23 Avril) avec un total de 5 prélèvements, analysés au niveau de la Station d'épuration d'Ibn Ziad et le laboratoire d'hygiène de la ville de Constantine.

L'objectif de cette étude est de déterminer à l'entrée et à la sortie de la STEP les caractéristiques physico-chimiques (pH, température, conductivité, turbidité, MES, DBO₅) et bactériologiques par dénombrement des indicateurs de contamination fécale, ainsi que la recherche de *V.cholerae*.

Les résultats physico-chimiques des eaux usées épurées montrent des températures ambiantes, des pH alcalins et une minéralisation moyenne. La charge polluante générée par l'effluent traité est de l'ordre de 7,07 FTU pour la turbidité, de 30,04 mg/l pour les MES, et de 35,6 mg O₂/l pour la DBO₅. Ces paramètres sont en accord avec les normes du journal officiel Algérien. L'analyse bactériologique des eaux usées épurées indique des concentrations en coliformes totaux et fécaux, Streptocoques fécaux et spores de Clostridium sulfite réducteur répondant aux directives de l'OMS. Les résultats montrent aussi la présence de *V.cholerae* non O1 dans l'eau usée brute, les isolats ont été identifiés après culture sur milieu GNAB par des tests biochimiques et sérologiques, la résistance à l'amoxicilline et à l'acide nalidixique a été notée.

Le traitement des eaux usées de la STEP d'Ibn Ziad par boues activées a un impact positif sur la qualité des eaux d'Oued Rhumel.

Mots clés : Eau usée brute, Eau usée épurée, Station d'épuration d'Ibn Ziad, Paramètres physico-chimiques, Paramètres bactériologiques, *V.cholerae* non O1.

Laboratoire de recherche : Laboratoire d'hygiène de la ville de Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. Khlifa F. (Maître de conférences A – faculté de médecine),
Rapporteur : M^{me} SEKHRI-ARAFI N. (Maître de conférences B -UFM Constantine),
Examinatrice : M^{elle} Arabet D. (Maître de conférences B - UFM Constantine).

Date de soutenance : 22/06/2017