



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé

Evaluation de la qualité Bactériologique des eaux souterraines collectées dans la wilaya de BBA : isolement, identification, caractérisation de quelques espèces aquatiques

Présenté par : Benhemida Djomana
Hima belkis

Soutenu le : 07 Juillet 2022;

Devant le jury :

Président:	M ^r SEDRATI Taher	MC B	Université de B.B.A
Encadrant:	M ^r MERIBAI Abdelmalek	MC B	Université de B.B.A
Examineur:	M ZERROUG Amina	MC B	Université de B.B.A
Invitée:	M ^{lle} FICHOUCHE Maria		Cadre de la DSP de B.B.A

Année universitaire : 2021/2022



Dédicace

A mes parents Rabeh et Yamena, pour leur patience, leur tendresse, leur dévouement, qui ont toujours participé à l'élaboration de ce travail. Qu'il soit pour eux, le témoignage de ma chaleureuse et profonde affection.

A mes grands-parents.

A mes frères Youcef, Ayoub, Yacine.

A mes oncles A.rahmane, A.hamid, Zoheir, Nouredine, Amine.

A toutes mes tantes.

A tous mes cousins et cousines en particulier Mayar

A tous mes amis(es) en particulier Salima, Safa, Manel, Imane, Dounia, Romila, Yasmine, feriel, Djilia, Djihane.

A mes collègues de la promo Master 2 Microbiologie Appliquée 2022

A toutes les merveilleuses filles que j'ai rencontrées aux laboratoires

A mon binôme Djoumana

A ma chatte Luna.

A tous les gens que j'aime.

Hima Belkis



Dédicace

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي مَا تَمَّ جُهدٌ وَلَا خَتْمٌ سَعِي إِلَّا بِفَضْلِهِ.

Je dédie ce travail à :

*A mes chère et respectueux parents Ibrahim et Rebiha, ma source de vie,
d'amour et d'espoire.*

*A mes frères ma force Hichem, Nacer, Zakaria, Khalil, et ma sœurs Sara
source de joie et bonheur.*

*A mes neveux Mohamed, Ishak, Jad, et Younes
ma source de joie et bonheur.*

*A mes chères amies qui avec lesquels j'ai partagé des souvenirs
inoubliables : Hasna, Ferial, Lidia, Djilia.*

*A ma chère binôme Belkis pour son entente et sa
sympathie.*

Djomana.

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

« Il n'y a guère au monde un plus bel excès que celui de la reconnaissance. »

Œuvres de la bruyère (édition 1818) - Jean de La Bruyère-

Par cette belle maxime, nous exprimons notre reconnaissance excessive et indispensable à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent l'expression de ma profonde reconnaissance ici.

Nos Sincères remerciements à M. Sedrati Tahar d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, de juger notre travail. Notre plus sincère gratitude à Mme. Zerroug Amina de bien vouloir sieger dans le jury et d'examiner ce mémoire.

*Merci à notre encadrant M. **Meribai** Abdelmalek pour son soutien et sa disponibilité, le travail avec lui nous a fait découvrir le monde de la Microbiologie on ne le remerciera jamais assez.*

Merci à Mlle Fichouche Maria d'avoir partagé vos connaissances avec nous merci pour votre aide et soutien.

Merci à tous les profs qui nous a enseigner

Merci à M. Benwelha chef de laboratoire d'hygiène pour son aide tout au long de notre stage a la DSP.

Merci à Mme.Fatiha pour la bonne humeur qu'elle a partagée avec nous .

Merci à Mme.Wahiba, Mme.Wassima, M.Khalil, M.issam, M.Fouad, Mme.Ismahane, Mme.Amal, Mme.Sabrina, Mlle Afaf et tous les membres des laboratoires de Microbiologie, Phytopathologie, Chimie, Zoologie et Biochimie.

Belkïs et Djomana

Table des matières

Table des matières

Liste des tableaux	Page
Liste des figures	
Liste des photos (photos personnelles)	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction	1
Chapitre I : matériel et méthodes	4
I.A. Lieux de réalisation de l'étude	4
I.B. Présentation de la DSP et de laboratoire d'hygiène	4
I.B.1. Localisation de la DSP	4
I.B.2. Historiques de la DSP	4
I.B.3. Des données relatives à la structure de DSP	5
I.1. Matériel	6
I.2. Méthodes	6
I.2.1. Stratégie d'échantillonnage	6
I.2.1.1. Lieux de prélèvement	6
I.2.1.2. Matériel de prélèvement	7
I.2.1.3. Prélèvement à partir d'un robinet	7
I.2.1.4. Transport des échantillons	8
I.2.2. Analyse physicochimique des eaux	9
I.2.2.1. Mesure de pH	9
I.2.2.2. Dosage des taux de chlore	9
I.2.3. Analyse bactériologique	9
I.2.3.1. Recherche et dénombrement des coliformes	10
I.2.3.2. Recherche et dénombrement des streptocoques	11
I.2.3.3. Recherche de et dénombrement des spores	12
I.2.3.4. Recherche des Vibrionaceae	13
I.2.3.4.1. Recherche des vibrionaceae sur milieu GNAB	13
I.2.3.4.2. Isolement des vibrionaceae sur gélose TCBS	14
I.2.3.4.3. Isolement sur des vibrionaceae sur gélose BCP modifiée	15
I.2.3.5. Recherche et isolement des Salmonelles	15
I.2.3.6. Isolement et caractérisation des <i>Pseudomonas sp</i> aquatiques	16
I.2.4. Etude de croissance des salmonelles sur différents bouillons sélectifs	17
I.2.5. Coloration de Gram	17
I.2.6. Caractérisation des isolats par la réalisation de galerie API 20 ^E	18
I.2.6.1. Principe de la galerie API 20 ^E	18
I.2.6.2. Test oxydase	18
I.2.6.3. Préparation de la galerie	18

I.2.6.4. Préparation de l'inoculum	18
I.2.6.5. Lecture de la galerie API20^E	19
I.2.6.6. Interprétation de la galerie API20E	19
I.2.7. Réalisation des antibiogrammes des isolats	19
I.2.7.1. Préparation de l'inoculum	20
I.2.7.2. Ensemencement	20
I.2.7.3. Application des disques d'antibiotiques	20
I.2.7.4. Lecture d'antibiogramme	20
I.2.8. Survie, croissance des souches aquatiques sur différentes eaux traitées	21
Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1. Résultats	
II.1.1. Paramètres physico-chimiques	22
II.1.2. Paramètres bactériologiques	23
II.1.3. Isolement des vibrionaceae sur différents milieux sélectifs	24
II.1.4. Isolement des salmonelles aquatiques	25
II.1.5. Isolement des <i>Pseudomonas sp</i> aquatiques	26
II.1.6. Etude de croissance des salmonelles sur différents bouillons sélectifs	26
II.1.7. Identification des isolats par galerie APi20E	30
II.1.8. Antibiogrammes des souches	31
II.1.9. Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des souches aquatiques sur différentes eaux traitées	35
I I.2. Discussion	37
Conclusion	43
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Résultats des analyses physicochimiques des échantillons d'eau.	23
Tableau II	Résultats de l'analyse bactériologique.	24
Tableau III	Aspects macroscopiques et microscopiques des vibronaceae isolées.	25
Tableau IV	Aspects macroscopiques et microscopiques des salmonelles isolées.	26
Tableau V	Estimation de trouble des bouillons.	27
Tableau VI	Résultats d'identification des isolats par galerie APi20E.	31
Tableau VII	Resultats des antibiogrammes pour l'ensemble des souches.	32
Tableau VIII	Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des PsA pendant 72h.	33
Tableau IX	Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des SA pendant 72h.	35
Tableau X	Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des PHA pendant 72h.	35
Tableau XI	Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des STA pendant 72h.	36

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Carte illustrant la localisation de la DSP.	Page 4
Figure 2 : Schéma représentatif de l'organigramme de la DSP.	Page 5
Figure 3 : Schéma illustrant les différentes étapes de cette étude.	Page 6
Figure 4 : Recherche et dénombrement des coliformes.	Page 7
Figure 5 : Recherche et dénombrement des streptocoques.	Page 9
Figure 6 : Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs.	Page 10
Figure 7 : Recherche de Vibriion cholérique.	Page 14
Figure 8 : Recherche et dénombrement des salmonelles.	Page 16
Figure 9 : Schéma de suivi de survie, croissance des isolats sur différentes eaux.	Page 21
Figure 10 : Taux de croissance (%) des SA sur SFB.	Page 27
Figure 11 : Taux de croissance (%) des SA sur BVM.	Page 28
Figure 12 : Taux de croissance (%) des SA sur BMK.	Page 28
Figure 13 : Taux de récupération (en portion) de SA sur les 3 bouillons	Page 29
Figure 14 : Circle en portion (%) des souches S/I/R des vibrionaceae.	Page 31
Figure 15 : Circle en portion (%) des souches S/I/R de pseudomonas.	Page 34
Figure 16 : Circle en portion (%) des souches S/I/R de salmonella.	Page 34
Figure 17 : Taux globales des profils d'antibiogramme des souches.	Page 34

Liste des photos

Liste des photos

Photo 1: virage de couleur de BCPL.	Page 24
Photo 2: Anneau rouge sur Schubert.	Page 24
Photo 3: Aspect des spores CSR sur V.F.	Page 24
Photo 4: Aspect des <i>Pseudomonas</i> isolées.	Page 26
Photo 5: Aspect des bouillons de <i>salmonella</i> avant incubation.	Page 26
Photo 6: Aspects des bouillons contre témoin après incubation contre témoin.	Page 27
Photo 7: Aspects des SA après ensemencement sur gélose Hektoen +additif (À partir des 3 bouillons sélectifs).	Page 28
Photo 8: Aspect des boites d'antibiogramme	Page 32

Liste d'abréviation

Liste d'abréviations

ABS : Absorbance.

ADE : Algérienne des eaux

ADH: L'arginine dihydrolase.

AMY : L'amygdaline (glycoside).

ARA : L'arabinose (sucre pentose).

BCP : Bromocrésol pourpre.

BCPL: Bouillon Lactosé au Bromo Crésol Pourpre.

C F : Les coliformes fécaux.

C T : Les coliformes totaux.

CaCO₃ : Carbonate de calcium.

CDC : Centre for disease control

CIT: Citrate

CN : Cetrimide-nalidixic.

CSR : Clostridium sulfito-réducteurs

DO : Densité optique.

DSP : Direction de la santé et de la population.

E .coli : *Escherichia coli*.

EP : Eau peptonée.

EPA : Eau peptonée alcaline.

EPT: Eau peptonée tamponnée

GEL: Gélatinase.

GLU : Glucose.

GN : gélose nutritive.

GNAB : gélose nutritive alcaline biliée.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

IND: Indole

INO : L'inositol

JORA : Journal officiel de la république algérienne

Liste d'abréviations

LDC : Lysine décarboxylase.

MAN: Mannose (sucre hexose).

MEL: Mélibiose (disaccharide).

MH: Muller Hinton.

MK : Muller Kauffman.

Na OH : Hydroxyde de sodium.

NPP : Nombre le plus probable.

ODC : Ornithine décarboxylase.

OMS : Organisation mondiale de santé.

ONPG : β -galactosidase o-nitrophényl-bD-galactopyranoside.

PCA : Plate Count Agar.

pH : potentiel hydrogène.

PHA : *Photobacterium damsela* aquatique.

PsA : *Pseudomonas aeruginosa* Aquatique.

RHA : Rhamnose.

S.F : Streptocoque groupe D.

SA : *Salmonella arizonae* aquatique.

SAC : Saccharose.

SFB : Bouillon salmonelles au sélénite.

SOR : Sorbitol

STA : *Stenotrophomonas maltophilia* aquatique.

TCBS : Thiosulfate citrate bile saccharose.

TDA : Tryptophane désaminase.

URE : Uréase .

US : Ultrasons.

UV : Ultra-violet.

VF : Viande foie.

VM : Vert de malachite.

VP : Voges-proskauer.

Résumé

Dans les régions rurales/semi-arides, la disponibilité/qualité des eaux, constituent des préoccupations pour les habitants. L'objectif de cette étude est l'évaluation des contaminations des eaux souterraines, pour un effectif de 21 échantillons collectés, durant la période février-avril 2022, de différentes localités, de la province Bordj Bou Arreridj, Nord-Est d'Algérie par la réalisation des analyses bactériologiques (recherche/dénombrement des flores/espèces indicatrices des contaminations récentes/anciennes) qui a donné des résultats positives pour : Coliformes totaux(42%)/fécaux(48%), Entérocoques(48%), spores(48%). Espèces aquatiques pathogènes: *Salmonella sp*(57%), *Vibrio sp* (57%), *Pseudomonas sp* (57%).pH neutre, taux du Chlore compris entre 0 et0,2mg/l aussi par recherche, caractérisation, identification des flores aquatiques dominantes (par culture sur différents milieux classiques/usage des galeries API 20E) qui a donné : *Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophili*, *Salmonella arizonae*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*. L'exploration des profils antibiogrammes a exhibé: Sur 2 souches de *Salmonella*:62% Résistantes vis-à-vis de Ciprofloxacine, Amoxicilline, Acide Nalidixique, Cephalosine, Pristinomycine, Acide Fusique, Chloramphenicol. Sur 5 souches de Vibrions 13% Résistantes vis-à-vis de Gentamicine, Nitroxoline, chloramphenicol, acide Nalidixique, acide Fusique, Ciprofloxacine, HLG. Sur 2 souches de *Pseudomonas*: 64% Résistantes vis-à-vis Ciprofloxacine, Amoxicilline, Nitroxoline, Cephalosine, Acide Nalidixique, Pristinomycine, Acide Fusique, Chloramphenicol. L'Estimation de la survie/croissance des isolats aquatiques sur cinq catégories des eaux potables, traitées par cinq différents procédés physiques: (autoclavage/ chauffage/ filtration/ Ultra-violet/Ultrasons), contre un témoin (négatif), pendant 72heures; à montre la croissance exponentielle, survie aquatique au-delà de quatre jours. L'ensemble des eaux souterraines, semblent de qualité très en dessous des normes nationales/internationales, les antibiorésistances des souches aquatiques, l'aptitude des isolats a la survie/ croissance exponentielle, lors du stockage/conservation des eaux constituent un risque pour la santé publique. Il est souhaitable d'approfondir l'étude par d'autres explorations, sur un effectif élevé, étalé sur l'ensemble de la région.

Mots clés :

Analyses, Contaminations, Eaux souterraines, Chlore, Flores bactériennes, Normes.

Abstract

In order to evaluate the contamination of groundwater, for a number of 21 samples collected, during the period February-April 2022, from different localities, of the province Bordj Bou Arreridj, North-East of Algeria (rural, semi-arid areas) the availability/quality of water is a concern for the inhabitants, bacteriological analysis by research and enumeration of flora, species indicative of recent/old contamination) was done and it gave: Coliforms (42%), fecal (48%), Enterococci (48%), Colistridias (48%). Aquatic pathogenic species: *Salmonella* sp (57%), *Vibrio* sp (57%), *Pseudomonas* sp (57%). neutral pH, Chlorine level: (0-0,2mg/l). Research, characterization, identification of the dominant aquatic flora (by culture on different classical media/use of API 20E galleries) gave: *Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophili*, *Salmonella arizonae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*. The exploration of antibiogram profiles showed: On 2 *Salmonella* strains: 62% resistant for Ciprofloxacin, Amoxicillin, Nalidixic acid, Cephalosin, Pristinomycin, Fusic acid, Chloramphenicol. On 5 strains of *Vibrio* 13% Resistant for Gentamicin, Nitroxoline, Chloramphenicol, Nalidixic acid, Fusic acid, Ciprofloxacin, HLG. On 2 strains of *Pseudomonas*: 64% Resistant for Ciprofloxacin, Amoxicillin, Nitroxoline, Cephalosin, Nalidixic acid, Pristinomycin, Fusic acid, Chloramphenicol. Estimation of the survival/growth of aquatic isolates on five categories of drinking water, treated by five different physical processes: (autoclaving/heating/filtration/ultraviolet/ultrasound), against a witness (negative), for 72 hours; shows exponential growth, aquatic survival beyond four days. The quality of ground water as a whole appears to be well below national/international standards, the antibiotic resistance of aquatic strains, the ability of isolates to survive and exponentially grow, during storage, preservation of water constitute a risk to public health. It is desirable to deepen the study by other explorations, on a high number of water samples, spread over the whole region.

Key words:

Analysis, Contaminations, Groundwater, Chlorine, Bacterial flora, Standards.

ملخص

تعد وفرة ونوعية المياه الجوفية في المناطق الريفية الجافة والشبه الجافة محل انشغال السكان. الهدف من الدراسة هو تقييم مستويات تلوث المياه الجوفية ل 21 عينة تم جمعها من مناطق مختلفة من ولاية برج بوعريبيج شمال شرق الجزائر خلال الفترة الممتدة من فيفري – أبريل 2022.

كانت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية عن طريق البحث عن المجاميع البكتيرية وأنواع مؤشرات التلوث الحديثة والقديمة النتائج كما يلي: القولونيات العليل (42%)، القولونيات البرازية (48%)، المكورات المعوية (48%)، الكلوستريديوم (48%).

أما بالنسبة لأنواع المائية الممرضة: (57%) *Salmonella sp*، (57%) *Vibrio sp*، (57%) *Pseudomonas sp*.

تراوحت مستويات الكلور ما بين: (0-1 ملجم / لتر)، ونتائج قراءة درجة الحموضة pH كانت محايدة.

من خلال البحث، تحديد الخصائص، والتعرف على أنواع البكتيريا الموجودة في الماء عن طريق وسائل إنبات كلاسيكية

مختلفة واستخدام *API20E* تم الحصول على ما يلي: *Photobacterium damsela*:

Pseudomonas aeruginosa، *Salmonella arizonae*، *Stenotrophomonas maltophili*

Burkholderia cepacia، *Enterobacter cloacae*

وقد أظهرت نتائج ملامح المضادات الحيوية ما يلي: في سلالتين من السالمونيلا: 62% منها مقاومة. في 5 سلالات من

Vibrio 13% منها مقاومة. في سلالتين من *Pseudomonas* 64% منها مقاومة.

فيما أجرينا تجربة لتتبع بقاء ونمو البكتيريا المعزولة من الماء في خمس أنواع من مياه الشرب، تم معالجتها بخمس عمليات فيزيائية مختلفة: (التعقيم / التسخين / الترشيح / الأشعة فوق البنفسجية / الموجات فوق الصوتية)، مقابل مياه غير معالجة (سليبي)، لمدة 72 ساعة؛ لإظهار النمو الأسي، والبقاء المائي لأكثر من أربعة أيام.

مما سبق توصلنا الى أن جميع هذه المياه الجوفية ذات جودة أقل بكثير من المعايير الوطنية والدولية، وأن مقاومة مضادات الحيوية للسلالات المائية، وقدرة البكتيريا المعزولة من الماء على البقاء والنمو الأسي، أثناء تخزين والحفاظ على المياه تشكل خطرًا على الصحة العامة. لذلك من المستحسن تعميق الدراسة بتجار بأخرى، على عدد أكبر من العينات، المنتشرة في جميع أنحاء المنطقة.

الكلمات المفتاحية:

تحاليل، التلوث، المياه الجوفية، الكلور، المجاميع البكتيرية، المعايير.

Introduction

Introduction

L'eau est l'élément indispensable à toute forme de vie, cela a bien été décrit dans plusieurs versets du saint coran qui confirme que l'eau est la première créature. C'est le Symbole de fertilité, de richesse et de croissance, tout être vivant a été créé par le principe de l'eau. Dieu, par l'eau, a créé l'homme, le monde animal, le monde végétal mais aussi le monde microscopique. Ces êtres représentés par des bactéries, des virus ou des protozoaires, constituent la flore des eaux qui joue un rôle important dans l'équilibre complexe qui régit les biotopes, cependant certains peuvent être nocifs, leur présence dans l'eau destinée à la consommation est liée à une insuffisance de la protection de la ressource, à un défaut du traitement de l'eau ou à des retours d'eau dans le réseau d'eau potable.

Les eaux souterraines ont leurs origines des eaux superficielles qui, s'infiltrant à travers les différentes couches terrestres et passent à la nappe aquifère, ce système des infiltrations naturelles, permet que l'eau soit plus ou moins purifiée, mais n'empêche les risques des pollutions d'origine diverses (Bouchemal *et al.*, 2011 ; Meribai *et al.*, 2016 ; Alfarrak et Walraevens, 2019). Les eaux souterraines, représentent environ 97 % du total des eaux douces continentales (Bosca, 2002). Certains travaux de recherches réalisés sur la qualité des eaux souterraines, avancent des conclusions, que les contaminations des eaux souterraines, proviendraient, essentiellement, d'une origine géologique (Mohammed-Aslam et Rizvi, (2020) et/ou anthropique (Bouziani, 2000; Ayad et Kahoul., 2016), notamment d'infiltration des eaux usées, de différentes origine ménagères et/ou industrielles et de l'utilisation des engrais et différents d'introns chimiques notamment d'usage en domaine agricole (Nouayti *et al.*, 2015). D'autres travaux, ont révélés que les pollutions des eaux souterraines, sont liées, beaucoup plus, aux activités humaines, à la présence des fosses septiques, à l'absence, faiblesse des systèmes de traitement, canalisation, aussi au manque et/ou à l'absence des réseaux d'assainissement et au non-respect des conditions d'hygiène publique (Fakih *et al.*, 2014). Selon les estimations de l'organisme mondial de la santé (OMS., 2016), près de la moitié de la population mondiale, souffre des maladies à transmission hydriques ou associées à l'eau et/ou à une pénurie et/ou manque d'eau ou à la consommation d'une eau contaminée (Resjek, 2002). D'après les données de l'OMS, (2006), chaque année, environ 1,8 millions de personnes, vivant, pour la plupart, dans les pays en développement, dont 90% sont des enfants de moins de cinq années, meurent de maladies à transmission hydriques et dont 88% des maladies diarrhéiques sont imputables à

la mauvaise qualité de l'eau, à un assainissement absent ou insuffisant et/ou à une hygiène manquante et/ou défectueuse. En Algérie, les données disponibles sur la qualité des eaux souterraines révèlent que la plupart des ressources hydriques souterraines, sont objets à des contaminations diverses (chimiques/biologiques), par les rejets anarchiques, non contrôlés, aussi par des eaux usées ménagères, municipales et des effluents industriels et agricoles non traités, (Meribai *et al.*, 2016).

En raison de son efficacité, et pour des raisons économiques et technologiques, le chlore est encore l'élément halogène, le plus utilisé, de façon préférentielle aux autres oxydants. Son emploi a permis d'améliorer sensiblement l'innocuité des réserves d'eau potable et de réduire les risques de transmission des maladies hydriques (Achour, 2001; Achour et Guerguazi, 2002). Malgré son importance et son efficacité comme désinfectant, certaines espèces procaryotes aquatiques, à l'exemple des *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, peuvent subsister, en survie et assurant même leur croissance en présence des traces du chlore, lors du stockage des eaux (Djaouda *et al.*, 2020). En outre, la présence du chlore, même à l'état de traces, présente également des inconvénients, tels que la formation des sous-produits, à l'exemple des trihalométhanes, chlorophénols et organochlorés, responsables des toxicités chroniques, dont l'effet cumulatif peut également apparaître sous l'aspect d'effet cancérigène. En plus, la présence du chlore et ses sous-produits; notamment lors du stockage des eaux, entraînent des modifications du goût et odeurs, ce qui nécessite des corrections organoleptiques (Catherine, 2012).

La willaya de Bordj Bou Arreridj, située à 220 km à l'Est de la ville Alger, sur l'axe Alger- Sétif, d'une superficie de 3920,42 km² et d'une altitude variée entre: 302m et 1885m, limitée au Nord par Bejaia, à l'Est par Sétif, au Sud par M'sila et à l'Ouest par Bouira (Anonyme). Le relief de la wilaya, composé, de trois grandes zones géographiques: celle des hautes plaines, la zone montagneuse et la zone steppique au Sud. Le climat est de type continental, semi-aride. Le réseau hydrographique de la région est caractérisé par deux sens d'écoulement opposés, cloisonné par une ligne de partage des eaux. Cette limite naturelle, correspond à la limite des grands bassins versants: celui de la Soummam et de Chott el- Hodna (Anonyme). Bien que la willaya soit connue pour sa vocation agricole, cette région est devenue, depuis plus de deux décennies, une mégapole industrielle, ce qui endure les conséquences de la pollution notamment hydrique. A cela s'ajoute l'urbanisation progressive du territoire de la willaya, l'établissement de plusieurs sites abritant des zones réservées aux activités industrielles, d'autres activités économiques, dont certaines nécessitant des demandes

galopantes en eaux. A cela s'ajoute le développement des superficies pour l'agriculture, notamment des surfaces pour les cultures maraichères. Enfin l'élevage et autres activités humaines, menacent cette eau souterraine, sans aucune surveillance pour sa qualité. Dans ce contexte, se situe l'objectif de l'étude, qui vise l'évaluation des contaminations bactériologiques des eaux souterraines, destinée à la consommation humaine dans la willaya, pour un effectif de 21 échantillons collectés, de différentes localités, durant la période février-avril 2022, par réalisation des analyses microbiologiques (recherche/isolément des flores et espèces indicatrices des contaminations récentes et anciennes), dosages des résidus de chlore. Identification des flores aquatiques dominantes dans ces eaux (par des galeries API 20E) et exploration de leurs profils antibiogrammes. Estimation de la survie et de la croissance des flores aquatiques aux cours du stockage des eaux potables traitées pendant 72 heures.

Chapitre I : *Matériels et Méthodes*

I. Matériel et méthodes

I.A. Lieux de réalisation de l'étude

Cette étude a été réalisée conjointement dans les laboratoires suivants

- Laboratoire d'hygiène relevant de la direction de la santé et de la population de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (décrit ci-dessous).
- Laboratoires de Microbiologie, et de Chimie relevant de l'Université de Bordj Bou-Arreridj.

I.B. Présentation de la Direction de la santé et de la population (DSP) et de laboratoire d'hygiène

I.B.1. Localisation de la DSP : Rue Dr Frantz fanon (chef de Wilaya) Bordj Bou Arreridj.



Figure 1 : Carte illustrant la localisation de la DSP BBA (Google maps).

I.B.2. Historiques de la DSP

- Date de création de la DSP : Décret présidentiel n° 267 du 15 juillet 1997.
- Histoire de création de laboratoire d'hygiène de la DSP : à l'époque de la révolution algérienne l'endroit était un service de pédiatrie, c'est après l'indépendance et l'annonce de Bordj Bou Arreridj comme Wilaya que la DSP et le laboratoire d'hygiène et d'analyses d'eau pour les bureaux d'hygiène de la Wilaya ont été créés. Avant les analyses se font à Constantine.
- Mission de la DSP : la lutte contre les maladies transmissibles et les intoxications alimentaires et l'analyse bactériologique des eaux.
- Plan de charge de la DSP
 Nombre de communes gérées : 34.
 Nombre d'analyse annuel :
 • 2019 : 595 analyses.

- 2020 : 333 analyses.
- 2021 : 451 analyses.
- **I.B.3.Des données relatives à la structure de DSP**

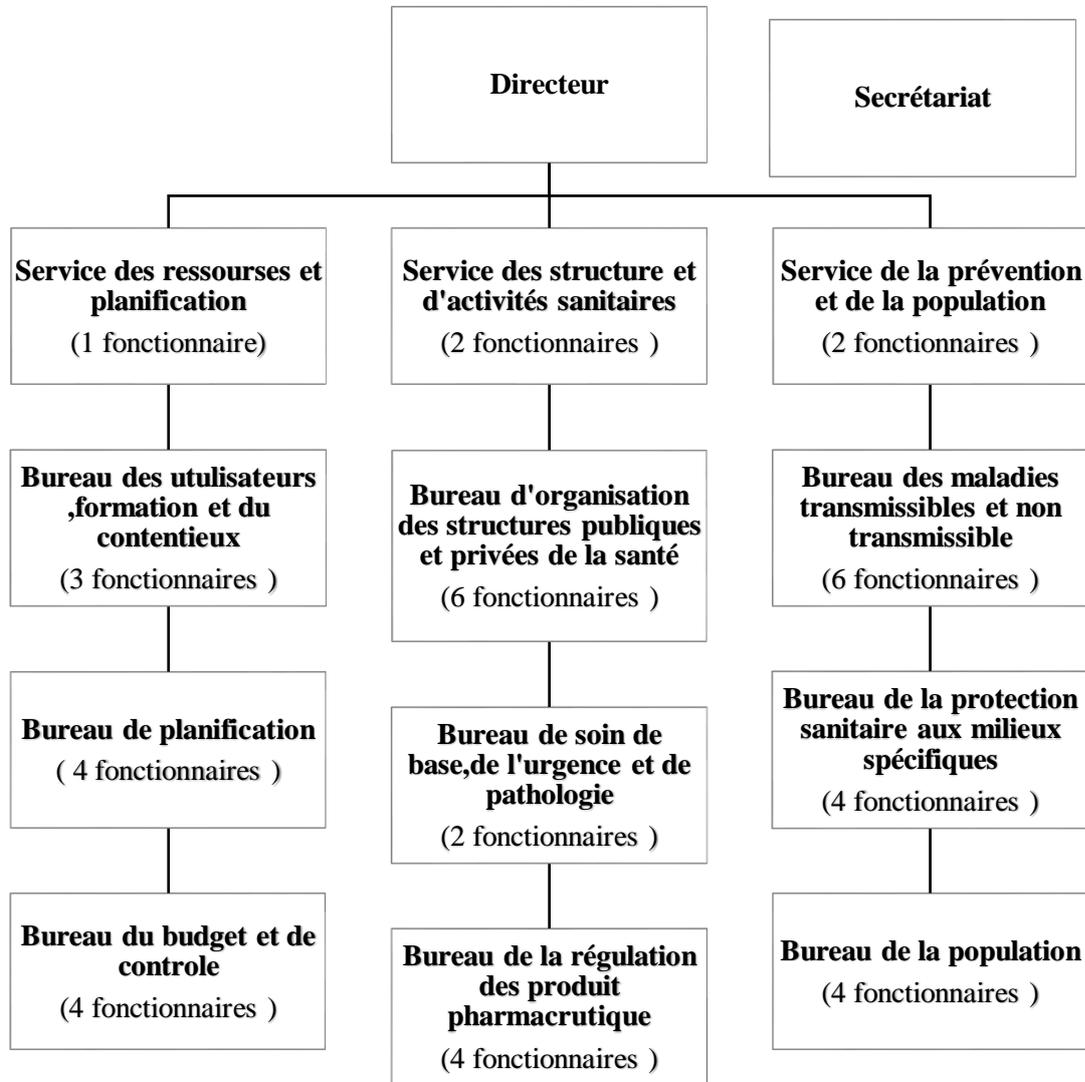


Figure 2 : Schéma représentatif de l’organigramme de la DSP.

I.1. Matériel

Le matériel, l’appareillage, les réactifs et les milieux de cultures utilisés dans cette étude sont cités dans les annexes (Annexe1, 2, et 3).

I.2. Méthodes

La figure 3 illustre les étapes adoptes pour la réalisation de cette étude .

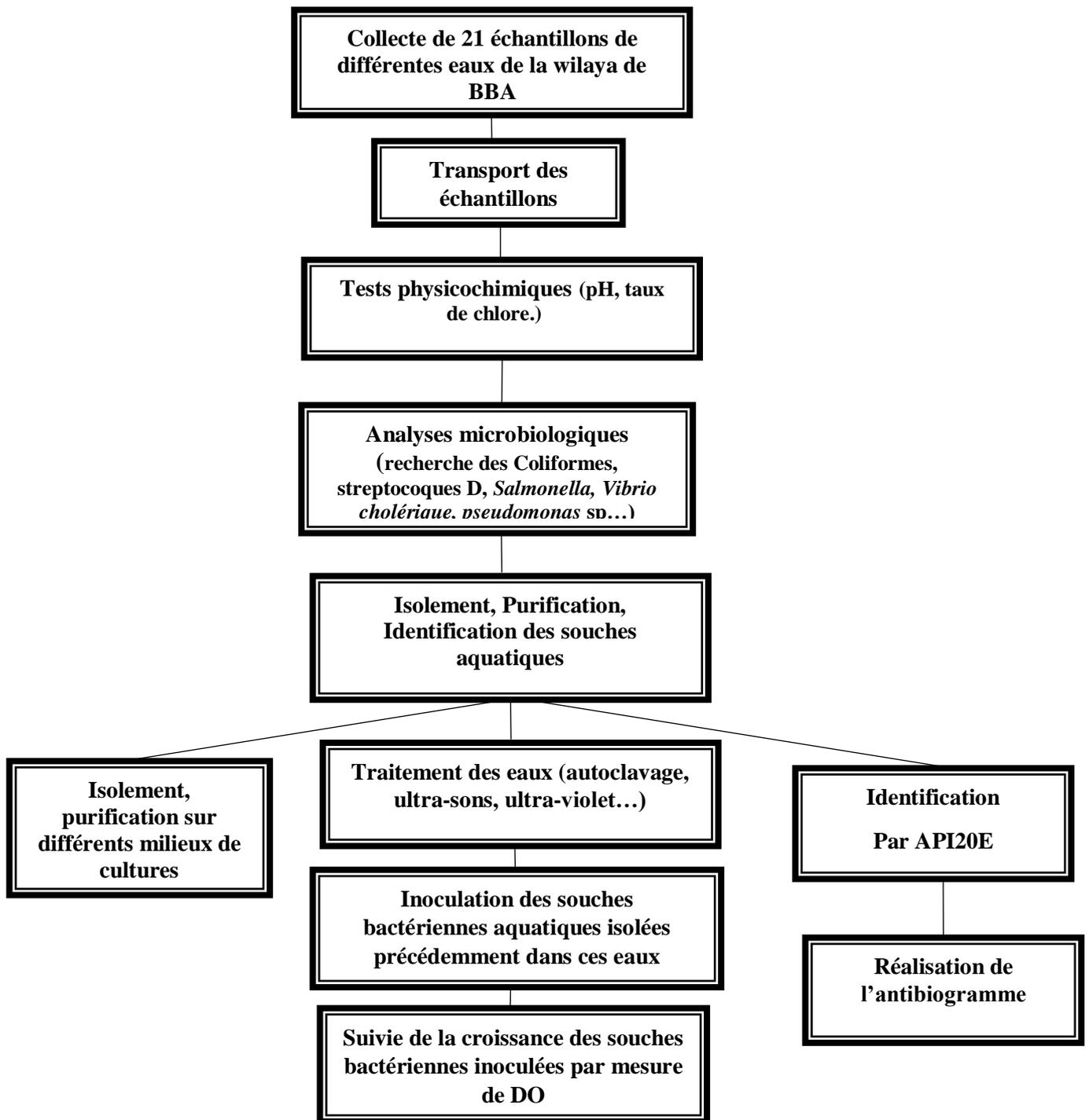


Figure 3 : Schéma illustrant les différentes étapes de cette étude

I.2.1. Stratégie d'échantillonnage

I.2.1.1. Lieux de prélèvement

Les 21 échantillons ont été prélevés à partir de différents points de la wilaya de Bordj Bou Arreridj durant la période allant de février 2022 jusqu'à avril 2022.

I.2.1.2. Matériel de prélèvement

Pour faciliter les prélèvements et éviter tout type de contamination, il est souhaitable d'utiliser des flacons en verre.

La verrerie destinée aux prélèvements d'eau doit être munie d'un nettoyage avec un détergent puis rinçage avec l'eau propre (eau douce), puis un rinçage final avec l'eau distillée.

La verrerie lavée est ensuite stérilisée soit :

- A la chaleur sèche (four Pasteur) à une température comprise entre 170 et 175°C, pendant au moins 1h.
- A la chaleur humide (autoclave) en le maintenant à une température de 121°C, pendant au moins 20min.

Les flacons d'échantillonnage ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'échantillon. Une fois l'échantillon prélevé, les flacons doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse. (Larpen., 1997).

I.2.1.3. Prélèvement à partir d'un robinet

- Se laver les mains et les avant-bras et les rincer à l'alcool, puis les sécher.
- Flamber le robinet pendant au moins une minute.
- Ouvrir le robinet et laisser l'eau couler 1 à 2 minutes
- Nettoyer l'extérieur de robinet avec un chiffon propre imbibé d'alcool.
- Ouvrir le robinet et laisser l'eau couler encore 1 à 2 minutes.
- Flamber le bord de flacon préalablement stériliser.
- Remplir le flacon en tenant le bouchon en protection (Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant un mélange correct en secouant le flacon).
- Fermer le flacon.
- Étiqueter le flacon avec la date, l'heure et le type de prélèvement. (Rodier *et al.*, 2005).

I.2.1.4. Transport des échantillons

Pendant le transport, il faut éviter surtout la destruction de l'échantillon, ou, la modification de la teneur initiale en germes Ceci peut être obtenu en utilisant une glacière contenant des poches de glace dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. (Larpent, 1997).

I.2.2 Analyses physicochimiques des eaux

I.2.2.1 Mesure de pH

On utilisant un papier PH.

Quand ont imbibé le papier pH de la solution d'eau n, il prend instantanément la couleur correspondant au pH de la solution.

Mode d'emploi de papier PH

- Prélever un peu de la solution à tester avec une pipette pasteur.
- Déposer la solution sur le papier pH.
- Comparer la couleur du papier pH avec le nuancier de couleur.

I.2.2.2. Dosage des taux de chlore

Le test du chlore sert à détecter par un dosage colorimétrique la quantité du chlore résiduel dans l'échantillon, à l'aide du DPD (di-éthyleparaphénylène diamine), sous forme de comprimé donne en présence de chlore résiduel une coloration rose. Des disques colorés étalonnés spécifiques pour chaque réactif et un comparateur en lumière du jour sont utilisés pour la déduction des différentes teneurs en chlore.

Plage de mesure : 0 – 1mg/l

Mode opératoire

1. Remplir les deux cuves avec l'échantillon jusqu'à la marque 10 ml.
2. Placer une cuve dans la chambre de mesure de gauche du comparateur (solution témoin). Ajouter une pastille de DPD No.1 (R) dans l'autre cuve.
3. Refermer la cuve et dissoudre la pastille en agitant la cuve.
4. Placer celle-ci dans la chambre de mesure de droite.
5. Faire concorder la couleur obtenue avec le CHECKIT®Disc et lire le résultat en mg/l de chlore libre actif.(manuel d'utilisation fournis avec l'appareil).

I.2.3. Analyse bactériologique

Toutes les analyses bactériologiques ont été fait convenablement avec le guide de l'institut pasteur d'Algérie. (Labres et Mouffok., 2008)

I.2.3.1. Recherche et dénombrement des coliformes

A. Test de présomption

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

- 3 fois dans un 3 tubes contenant 10 ml de milieu Bouillon Lactosé au Bromo Crésol Pourpre (BCPL) D/C (double concentration).
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C (simple concentration).
- 3 fois 0.1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C (simple concentration).

NB : chaque tube contient une cloche du Durham

Bien mélanger le milieu.

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

Les résultats Seront considérés comme positif + ; quand les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady NPP. (Voir annexe 4).

B. Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la recherche de coliformes fécaux parmi lesquels on appréhende surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

L'incubation se fait à 44 °C pendant 24 h.

Lecture

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

- Un dégagement gazeux.
- Un anneau rouge ou rose en surface, témoin de la production d'Indole par *Escherichia coli* après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale se fait selon les déterminations de la table de Mac Grady NPP. En tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole 44°C. (Labres et Mouffok., 2008)

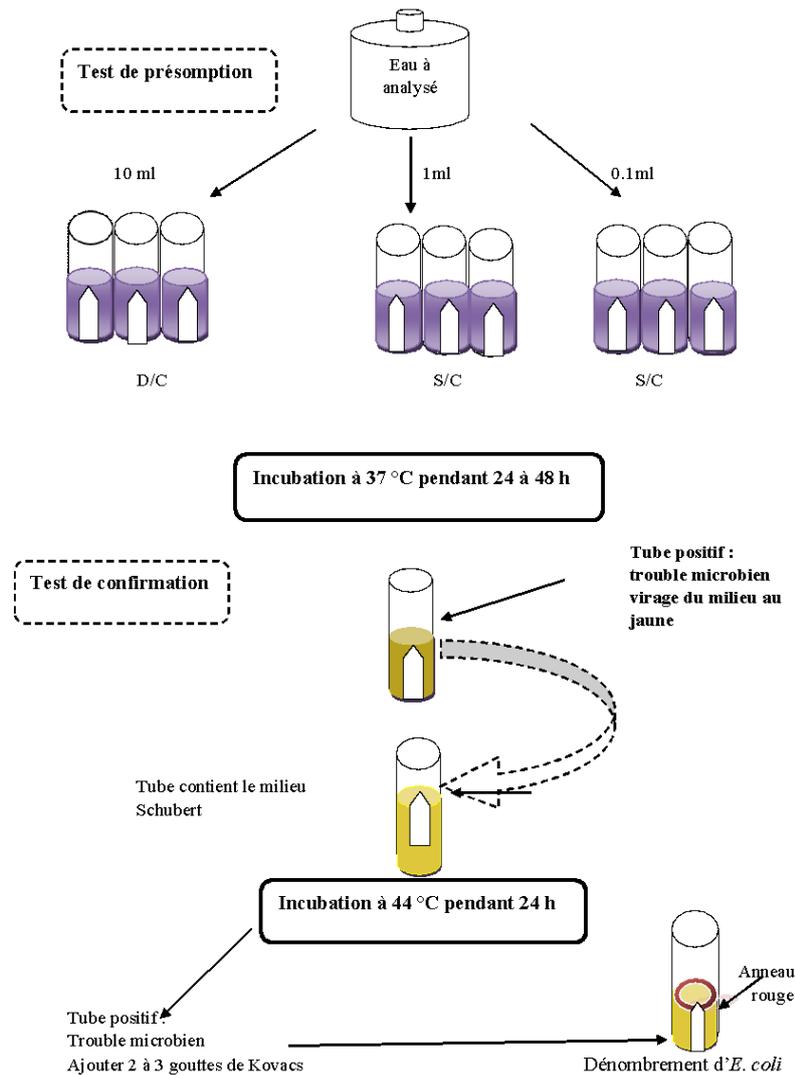


Figure 4 : Recherche et dénombrement des coliformes. (Labres et Mouffok., 2008)

I.2.3.2. Recherche et dénombrement des streptocoques

Sur milieux liquide (méthode NPP).

A. Test de présomption

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

- 50 ml dans Un flacon contenant 50 ml de milieu Rothe D/C (double concentration).
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe S/C (simple concentration).
- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe S/C (simple concentration).

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

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

Lecture

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu pendant cette période est présumé contenir un streptocoque fécal.

La lecture finale se fait selon les déterminations de la table de Mac Grady NPP.

B. Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur l'affirmation des Streptocoque fécaux éventuellement présents dans le test de présomption. Les tubes de Rothe positifs, après l'agitation, prélevée de chacun d'eux quelques gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur, font l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu Eva Litsky.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

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

Lecture

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

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes. (Labres et Mouffok., 2008)

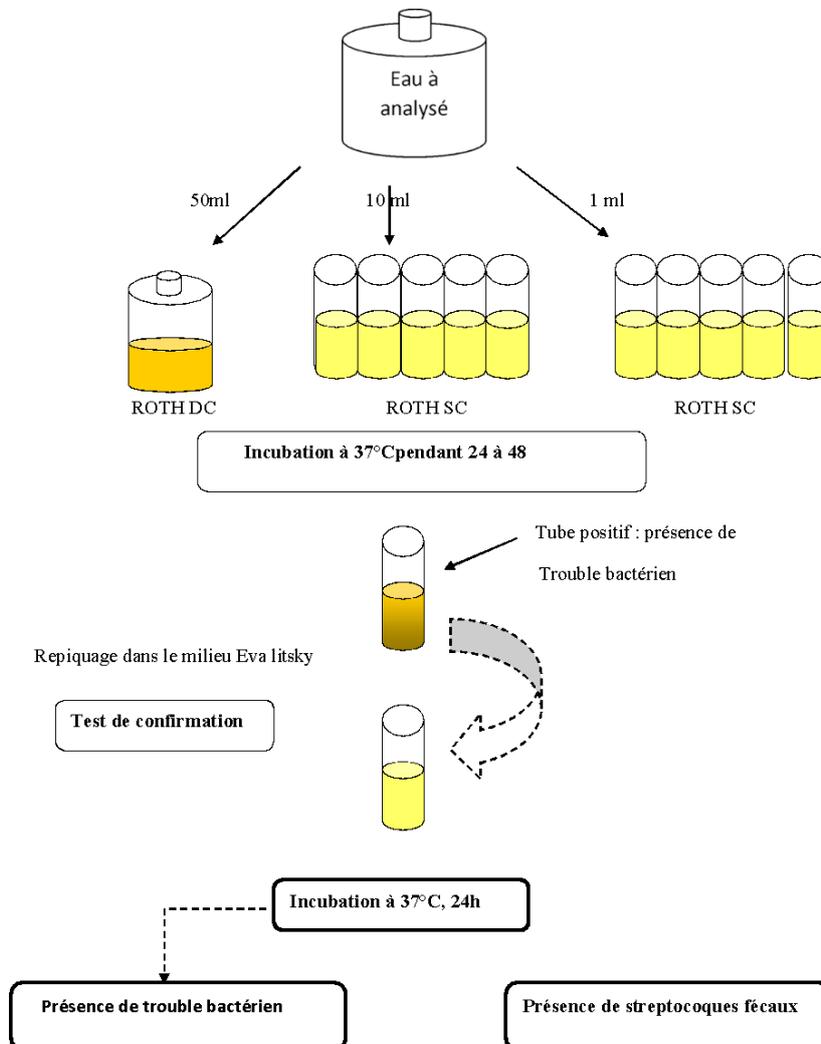


Figure 5: Recherche et dénombrement des streptocoques .(Labres et Mouffok., 2008)

I.2.3.3. Recherche et dénombrement des spores

Mode opératoire

Porter dans quatre tubes de 5 ml de l'échantillon à analyser.

Préparer pour les quatre tubes un chauffage à 80°C, pendant 10 minutes ; puis un refroidissement brutal sous l'eau de robinet (choc thermique qui a pour but d'éliminer la forme végétative et reste seulement la forme sporulée des bactéries Sulfito-Réducteurs).

Complémenter ensuite chacune des tubes avec environ 15 ml de gélose Viande foie (VF + Alun de Fer et Sulfite de Sodium) et mélanger avec précaution.

Laisser solidifier, puis incuber à 37°C pendant 48 heures avec une première lecture après 16 heures d'incubation.

Lecture

Après la période d'incubation sera considéré comme positif, les tubes contenant de grosses colonies noires, qui s'accorde au Clostridium sulfito-réducteur.

Le dénombrement après 24 heures d'incubation est effectué parfois après 48 heures, le tube devient complètement noir et devient donc indénombrable. (Labres et Mouffok., 2008)

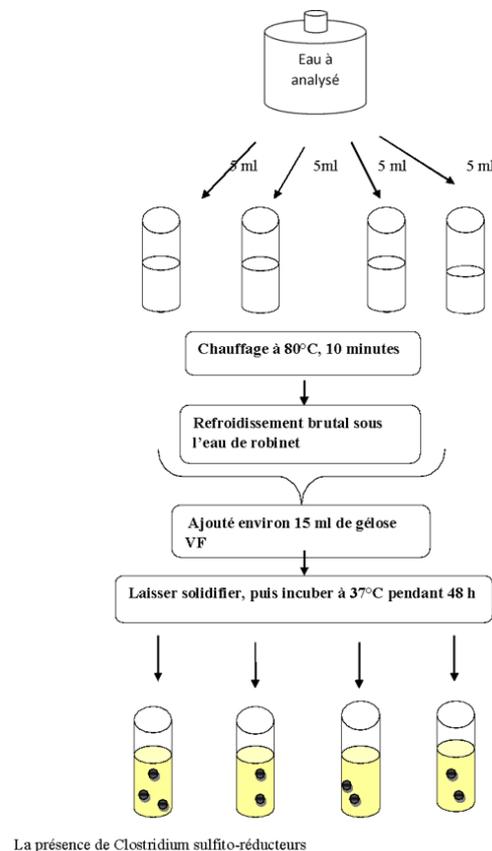


Figure 6 : Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs .(Labres et Mouffok., 2008)

I.2.3.4. Recherche des vibrionaceae

I.2.3.4.1. Recherche des vibrionaceae sur milieu gélose nutritive alcaline biliée(GNAB)

Premier jour : Enrichissement primaire :

L'enrichissement primaire s'effectue sur le milieu eau peptonée alcaline (EPA) 10 fois contenant au préalable 50 ml de milieu, auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser au moment du prélèvement.

Ce dernier sera par la suite incubé à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 20 ± 4 heures.

Deuxième jour : Enrichissement secondaire et isolement :

Après incubation, le flacon constituant l'enrichissement primaire fera l'objet d'un isolement sur gélose GNAB 1, l'incubation se fait à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 20 ± 4 heures.

Troisième jour : Lecture des boîtes et identification :

D'autre part, la boîte de gélose GNAB 1 subira une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques.

Identification morphologique et biochimique

- Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroulent comme suit :
- Etat frais (bacilles, mobilité).
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs).
- Oxydase (+).
- Ensemencement d'un tube de KIA qui sera incubé à 37°C , 24 h (Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S).
- Ensemencement d'un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à 37°C , 24 h qui servira à l'agglutination sur lame.

Lecture et interprétation :

Dépister les colonies caractéristiques.

Faire une identification biochimique basée essentiellement sur ONPG, TSI, Urée -

Indole, LDC...(Labres et Mouffok., 2008)

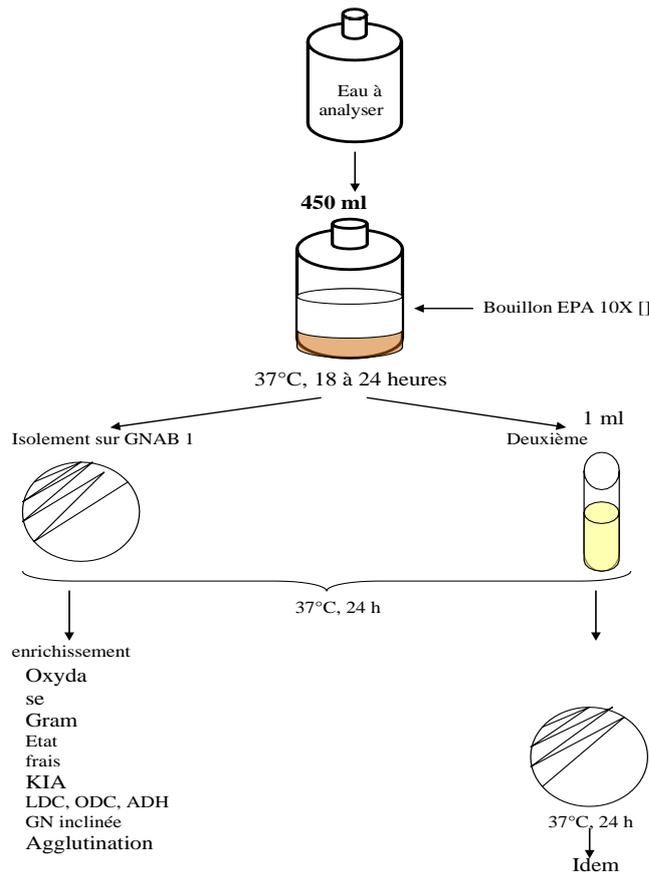


Figure 7 : Recherche des Vibrions cholériques .(Labres et Mouffok., 2008)

I.2.3.4.2. Isolement des vibronaceae sur gélose Thiosulfate citrate bile saccharose (TCBS)

Bien qu'elles aient été développées il y a plusieurs décennies, les méthodes de culture traditionnelles continuent d'être améliorées, ce qui permet une détection plus fiable de *V. cholerae* dans les échantillons environnementaux. Le TCBS est un milieu hautement sélectif qui peut, dans de rares cas, inhiber la croissance de *V. cholerae* et, en même temps, permettre la croissance d'organismes non *Vibrio*, tels que *Aeromonas sp.*, *Staphylococcus sp.* et *Shewanella sp.* (Huq *et al.*, 2012).

Mode opératoire

1. Enrichissement dans l'eau peptonée alcaline (EPA)

L'enrichissement dans l'eau peptonée alcaline peut faciliter l'isolement de *V. cholerae* quand peu de micro-organismes sont présents. Incuber le tube, bouchon dévissé, à une température comprise entre 35 et 37°C, pendant 6 à 8 heures.

2. Isolement avec la gélose sélective TCBS

Après cette durée d'incubation, repiquer une ou plusieurs anses de l'EPA sur une gélose TCBS en prélevant à la surface du milieu liquide car les vibrions ont tendance à se développer dans la partie supérieure du milieu. Ne pas mélanger ou agiter le tube avant de

repiquer. Si le bouillon ne peut pas être repiqué sur gélose après 6 à 8 heures d'incubation, repiquer quelques gouttes après 18 heures dans un tube d'APW. Repiquer ce second tube sur un milieu solide au bout de 6 à 8 heures d'incubation.

Lecture Les colonies soupçonnées d'appartenir à l'espèce *V. cholerae* apparaîtront sur la gélose TCBS sous la forme de petites colonies d'un diamètre de 2 à 4 mm La couleur jaune provient de la fermentation du saccharose dans le milieu. Des organismes ne le fermentant pas tel que *V. parahaemolyticus* produisent des colonies vertes ou bleues-vertes.

I.2.3.4.3. Isolement sur des vibrionaceae sur gélose Bromocrésol pourpre (BCP) modifiée

La gélose BCP (BromoCrésol Pourpre) est un milieu non sélectif, lactosé, utilisé principalement pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants.

Ce milieu est rendu sélective pour les vibrionaceae par l'ajout de 60 g de NaCl par litre d'eau distillée. (Guiraud., 2003) (voir composition de milieu annexe 3)

1) Enrichissement dans l'eau peptonée alcaline (EPA) :

L'enrichissement dans l'eau peptonée alcaline peut faciliter l'isolement de *V. cholerae* quand peu de micro-organismes sont présents Incuber le tube, bouchon dévissé, à une température comprise entre 35 et 37°C, pendant 6 à 8 heures.

2) Isolement avec la gélose sélective saccharosée au BCP salée à 6% :

Après cette durée d'incubation, repiquer une ou plusieurs anses de l'EPA sur une gélose saccharosée au BCP salée à 6%.

I.2.3.5. Recherche et isolement des Salmonelles

Le principe

La recherche des salmonelles comporte plusieurs étapes :

Un pré-enrichissement, un enrichissement, un isolement et identification.

Mode opératoire

1 jour : pré-enrichissement : s'effectue sur le milieu Sélénite Cystéine D/C (SFB).

- 100ml d'eau à analyser dans 100ml de SFB.
- Incubation à 37° C pendant 24 heures.

2 -ème jour : enrichissement et isolement : A partir du bouillon d'enrichissement, effectuer :

- D'un part un isolement sur une gélose Hektoen.
- D'autres part un deuxième enrichissement sur milieu Sélénite en tube à raison de 0.1ml.
- Incubation à 37°C pendant 24 heures à 48 heures.

Lecture

- Après la période d'incubation sera considérée comme positive les boîtes contenant des Colonies gris bleue à centre noir.
- Le tube de Sélénite fera l'objet d'un autre isolement.

3^{ème} jour : L'identification :

Des colonies présumées ou suspectées, se fait à l'aide de : l'API20E.

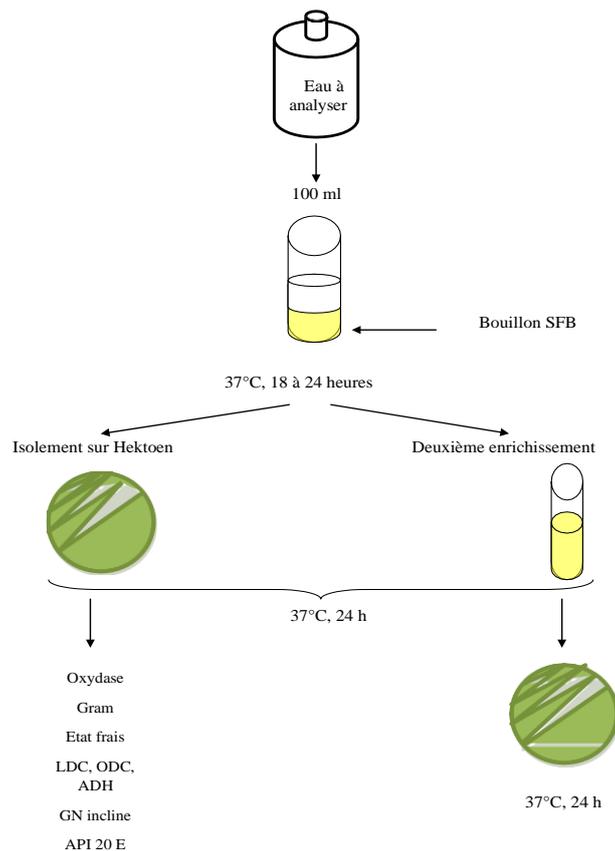


Figure 8 : Recherche des salmonelles dans l'eau .(Labres et Mouffok., 2008)

1.2.3.6. Isolement et caractérisation des *Pseudomonas sp* aquatiques

Milieu de culture utilisés

Pour déterminer *Pseudomonas aeruginosa* (l'une des bactéries souvent recherchées lors de l'analyse microbiologique d'échantillons d'eau), utiliser les milieux suivants :

- Gélose CN pour *Pseudomonas* (JORA., 2013).
- Gélose nutritive.

Mode opératoire

Deux techniques (modes) d'ensemencement ont été utilisées :

1. Ensemencement par inondation :

-Deux millilitres de l'eau à analyser sont déposés à la surface du milieu de culture coulé et solidifié.

- On recouvre la surface totalement, l'excès est éliminé et jeté dans l'eau de javel, puis on incube les boîtes à 37 °C.

2. Ensemencement par étalement :

-Déposer un volume de 100 µl de l'eau à analyser à la surface du milieu de culture coulé et solidifié.

-Constituer un râteau (étaloir) à l'aide d'une pipette Pasteur.

-Etaler la goutte de suspension par ce râteau, puis incuber.

I.2.4. Etude de croissance des salmonelles sur différents bouillons sélectifs

A partir du milieu de pré-enrichissement, on a porté aseptiquement 1 ml dans 3 tubes à essai stériles, contenant chacun 10 ml des bouillons d'enrichissement sélectifs : respectivement : Bouillon au sélénite-cystine (SFB), Bouillon au vert de malachite (BVM) et Bouillon Muller Kauffmann (BMK). (Voir composition des bouillons en l'annexe 3), puis les tubes sont incubés pendant 24H à 37 °C. (Joffin et Joffin, 1999 ;2003).

La lecture s'est faite par évaluation visuelle des troubles de croissance, contre un tube témoin négatif, sur l'échelle arbitraire suivant : absence de croissance (/), (+) Croissance modérée, (++) croissance élevée, (+++) croissance très élevée.

Isolement des salmonelles sur gélose Hektoen modifié

L'isolement s'est fait sur gélose Hektoen +additif, par ensemencement en stries, à partir des tubes d'enrichissement positifs, les boites sont incubées pendant 24H à 37 °C.

Après incubations, les colonies caractéristiques de *Salmonella* présentent : Aspects lisses et de couleurs bleues- verdâtres ou grises- bleues au centre noir sur Hektoen. (Joffin et Joffin, 1999).

I.2.5. Coloration de Gram

Realisation d'un frottis

- Déposer une goutte de suspension bactérienne sur une lame de verre stérilisée à l'alcool.
- Essuyez les gouttes et laissez sécher.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour maintenir la formulation à haute température.
- Laisser la lame refroidir avant de poursuivre la procédure de coloration.

Coloration

- Coloration au violet de gentiane : Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé. Laisser agir 1 minute. Rincer ensuite à l'eau distillée.

- Mordançage au Lugol : Mettre quelques gouttes de Lugol sur le frottis. Laisser agir 1 minute. Rincer ensuite à l'eau distillée.
- Décoloration par à l'alcool : décolorer avec de l'alcool pendant 30 secondes. Rincez la lame avec de l'eau distillée.
- Recoloration par fuchsine : Recolorer avec fuchsine Laisser agir 1 minute. Laver doucement avec de l'eau distillée.

Lecture

Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

Gram positif (+) : violet.

Gram négatif (-) : rose.

I.2.6.Caractérisation des isolats par la réalisation de galerie API 20^E

I.2.6.1.Principe de la galerie API 20^E

La galerie API 20^E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

I.2.6.2.Test oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21ème test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

I.2.6.3.Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

I.2.6.4.Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions" de la notice du produit, ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.
- A l'aide d'une pipette ou d'une PSIPette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- Inoculation de la galerie.
- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSIpette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).
- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

I.2.6.5.Lecture de la galerie API20^E

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. (Voir Annexe 6).

Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, notés sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES ou KOVACS.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. NOTE : Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.(Coz-Rakovac et Strunjak-Perovic., 2007).

I.2.6.6.Interprétation de la galerie API20E

L'identification est obtenue à partir du profil numérique à l'aide du logiciel d'identification Api web TM

Voire Fiche-technique-API-20^E (Annexe 6)

I.2.7.Réalisation des antibiogrammes des isolats

Milieu utiliser :Gélose Mueller Hinton (MH). (Anonyme., 2005).

Antibiotiques utiliser : AMC30: Amoxyclyane, Cip50: Ciprofloxacine, AMX25: Amoxycilline, No30: Nitroxoline, Cep30:Cephaloshine, NA30: acide Nalidixsique, Gen10: gentamicine,

RP15: Pristinomycine, Fc10: acide Fusique, C30: chloramphenicole, HLG:High Level
Gentamicine

I.2.7.1.Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine une colonie bien isolée.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm).
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'application des disques doit se faire dans les 15 mn qui suivent l'ensemencement.

I.2.7.2.Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

I.2.7.3.Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée, le disque ne doit pas être déplacé.

Incubation: 18 heures à 35°C.

I.2.7.4.Lecture d'antibiogramme

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture

- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante. (Anonyme., 2005).

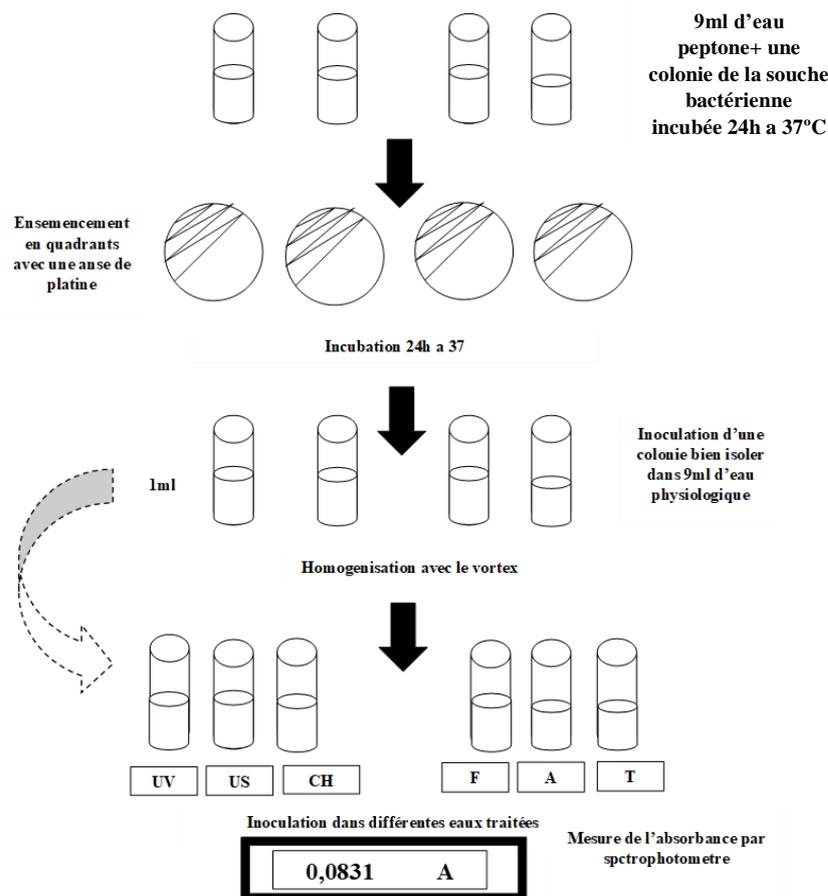
I.2.8. Survie, croissance des souches aquatiques sur différentes eaux traitées

Une étude s'étale pendant une semaine pour le suivi de survie et croissance des quatre souches bactériennes d'origine aquatique ci-dessous :

1. *Pseudomonas aeruginosa*.
2. *Salmonella arizonae*.
3. *Photobacterium damsela*.
4. *Stenotrophomonas maltophilia*.

Selon le protocole utiliser par Djouda *et al* (2020) avec de légères modifications qui ont consisté à multiplier les étapes de revivification, enrichissement, et le suivi de survie sur différentes eaux traitées avec : autoclavage, chauffage, filtration, ultra-violet, ultrasons, et un témoin d'eau non traitées.

Les inocula sont ensuite conservés dans une température ambiante (celle de laboratoire). Et la croissance a été suivie par la mesure de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à 600nm. (Wikler., 2006).



UV :ultra-violet ,US :ultrasons, CH : chauffage, F : filtration, A :autoclavage, T : témoin

Figure 9 : Schéma de suivi de survie, croissance des isolats sur différentes eaux

Chapitre II :

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion :**II.1. Résultats****II.1.1. Paramètres physico-chimiques**

Les résultats des analyses physicochimiques (pH et taux de chlore), sur l'ensemble de 21 échantillons d'eau sont représentées dans le tableau.

Tableau I : Résultats des analyses physicochimiques des échantillons d'eau.

Date	Type de prélèvement	pH	Taux de chlore	Date	Type de prélèvement	pH	Taux de chlore
21/02/2022	Eau de source	Neutre	00	13/03/2022	Réservoirs	Neutre	0,2
21/02/2022	Eau de puits	Neutre	0,1	13/03/2022	Bâche a eau	Neutre	00
21/02/2022	Eau de forage	Neutre	00	13/03/2022	Sonde a eau I	Neutre	00
21/02/2022	Eau de forage	Neutre	00	13/03/2022	Eau de bassin	Neutre	00
28/02/2022	Eau de bassin	Neutre	00	14/03/2022	Eau de source	Neutre	0.01
28/02/2022	Bâche à eau	Neutre	0,2	14/03/2022	Eau de source	Neutre	00
28/02/2022	Eau de puits	Neutre	00	20/03/2022	Eau de forage	Neutre	00
06/03/2022	Eau de lac	Neutre	00	20/03/2022	Sonde a eau	Neutre	00
07/03/2022	Eau de robinet	Neutre	0,1	20/03/2022	Eau de barrage	Neutre	00
07/03/2022	Château d'eau	Neutre	0,2	20/03/2022	Eau de captage	Neutre	0,1
08/03/202	Eau de puits	Neutre	0,2				

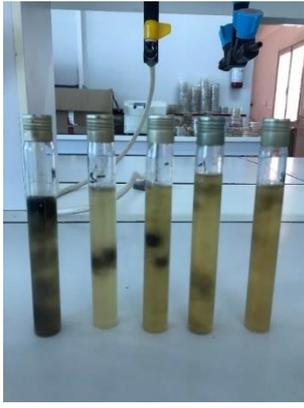
II.1.2. Paramètres bactériologiques

Pour l'ensemble des échantillons les résultats étaient conformes aux normes nationales avec des taux : 58%, 52%, 48%, 43% pour CT, CF, SD, et CRS respectivement, tandis que 57% d'effectifs renferme des vibrionaceae, des salmonelles et des *pseudomonas sp.*

Tableau II : Résultats de l'analyse bactériologique.

Date	Type de prélèvement	CT	CF	SD	Spores	Sal	Vibrio	Ps
21/02/2022	Eau de source	00/100ml	-	≤1	Absence	Absence	Absence	Absence
21/02/2022	Eau de puits	00/100ml	-	≤1	Absence	Présence	Présence	Absence
21/02/2022	Eau de forage	45/100ml	-	00	Absence	Absence	ND	ND
21/02/2022	Eau de forage	0,3/100ml	-	00	Absence	Absence	ND	ND
28/02/2022	Eau de bassin	140/100ml	+	24/100ml	Présence	Présence	Présence	Absence
28/02/2022	Bâche à eau	00/100ml	-	00	Absence	Présence	ND	ND
28/02/2022	Eau de puits	00/100ml	-	00	Absence	Absence	ND	ND
06/03/2022	Eau de lac	140/100ml	+	92/100ml	Présence	Présence	Présence	Absence
07/03/2022	Eau de robinet	140/100ml	-	>240/100ml	Présence	Présence	Présence	Présence
07/03/2022	Château d'eau	1,5/100ml	+	≤1	Présence	Absence	Présence	Présence
08/03/2022	Eau de puits	4/100ml	-	00	Absence	Absence	ND	ND
13/03/2022	Réservoirs	0,9/100ml	-	00	Absence	Absence	ND	ND
13/03/2022	Bâche a eau	2,5/100ml	+	24/100ml	Présence	Absence	Présence	Absence
13/03/2022	Sonde a eau	15/100ml	+	24/100ml	Présence	Absence	Présence	Présence
13/03/2022	Eau de bassin	>140/100ml	+	>240/100ml	Présence	Présence	Présence	Présence
14/03/2022	Eau de source	1,4/100ml	+	>240/100ml	Présence	Présence	Présence	Présence
14/03/2022	Eau de source	140/100ml	+	>240/100ml	Présence	Présence	Présence	Absence
20/03/2022	Eau de forage	2,5/100ml	+	5/100ml	Absence	Absence	Présence	Absence
20/03/2022	Sonde a eau	0,3/100ml	-	≤1	Présence	Absence	Présence	Absence
20/03/2022	Eau de barrage	140/100ml	+	>240/100ml	Présence	Présence	ND	Présence
20/03/2022	Eau de captage	140/100ml	-	>240/100ml	Présence	Absence	ND	ND
Percentage%		58% conformes	52% conformes	48% conforme	43% conforme	57% Non conforme	57% Non conforme	57% Non conforme

CT /CF coliformes totaux/fécaux, SD : streptocoques D, sal : salmonelles, Ps : *Pseudomonas*

		
<p>Photo 1: virage de couleur de BCPL.</p>	<p>Photo 2: Anneau rouge sur Schubert.</p>	<p>Photo 3: Aspect des spores CSR sur V.F.</p>

II.1.3. Isolement des vibrionaceae sur différents milieux sélectifs

Tableau III : Aspects macroscopiques et microscopiques des vibrionaceae isolées.(photos personnelles).

Aspects macroscopiques Des colonies	Milieu de culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
	GNAB	Des petites colonies plates, lisses, et circulaires, transparentes ou blanches.	Bacilles à Gram (-)
	TCBS	Petites colonies vertes ou bleues	Bacilles à Gram (-)

	TCBS	Petites colonies vertes ou bleues	Bacilles à Gram (-)
	TCBS	Petites colonies jaunes	
	BCP	Petites colonies jaunes	

II.1.4. Isolement des salmonelles aquatiques

Tableau IV : Aspects macroscopiques et microscopiques des salmonelles isolées.(photos personnelles).

Aspects macroscopiques Des colonies	Milieu de culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
	Hektoen	Des petites colonies lisses, pigmentées en vert ou en bleu sans centre noir	Bacilles à Gram (-)
	Hektoen	Des colonies irrégulières jaunes ou orangés	Bacilles à Gram (-)

	<p>Hektoen+additifs</p>	<p>Des petites colonies pigmentées en vert ou en bleu avec centre noir</p>	<p>Bacilles à Gram (-)</p>
---	-------------------------	--	----------------------------

II.1.5. Isolement des *Pseudomonas sp* aquatiques

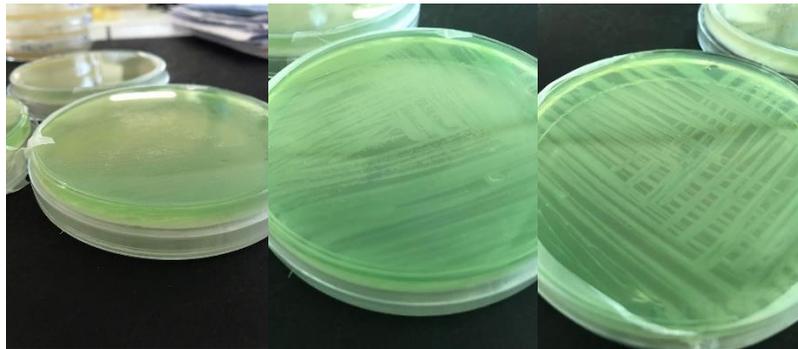


Photo 4: Aspect des *Pseudomonas* isolées.

La culture des pseudomonas a révélé des grosses colonies bombées, de coloration verte.

II.1.6. Etude de croissance des salmonelles sur différents bouillons sélectifs

Tableau V : Estimation de trouble des bouillons.

Type de prélèvement	SFB	BVM	BMK
Eau de bassin	+++	+	+
Eau de forage	/	/	/
Eau de robinet	++	/	+
Eau usée	+++	+	+

Absence de croissance (/), (+) Croissance modérée, (++) croissance élevée, (+++) croissance très élevée

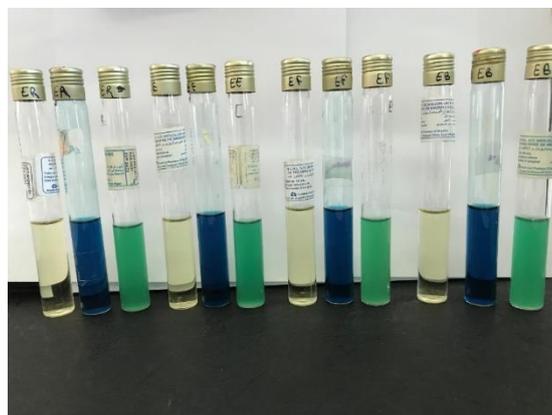


Photo 5: Aspect des bouillons de *salmonella* avant incubation.

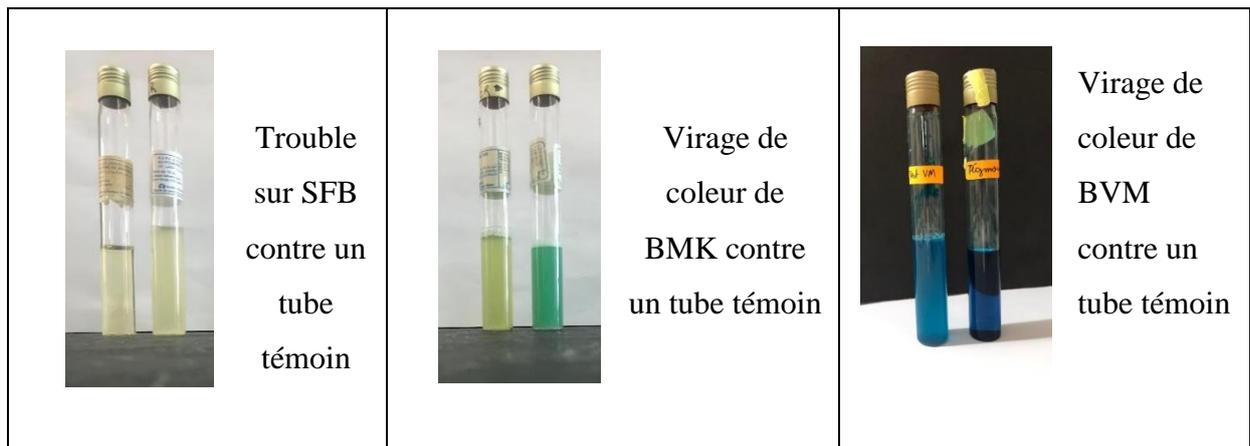


Photo 6: Aspects des bouillons contre témoin après incubation contre témoin.

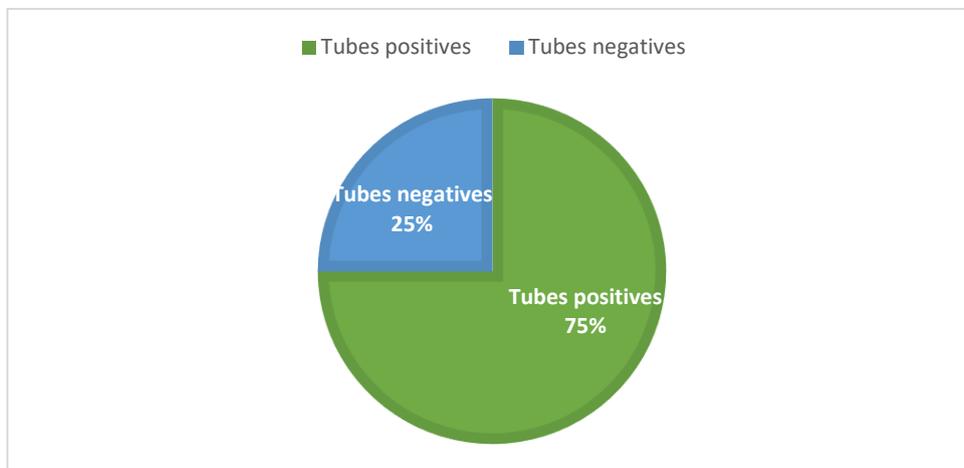


Figure 10 : Taux de croissance (%) des SA sur SFB.

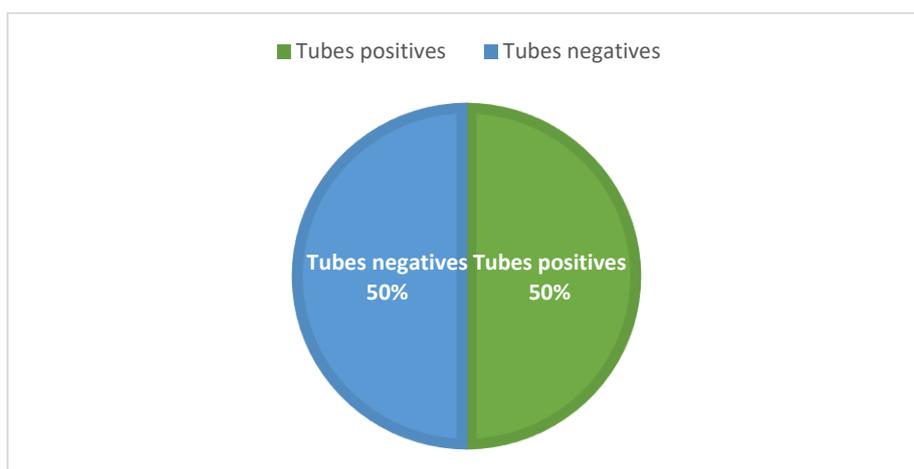


Figure 11: Taux de croissance (%) des SA sur BVM.

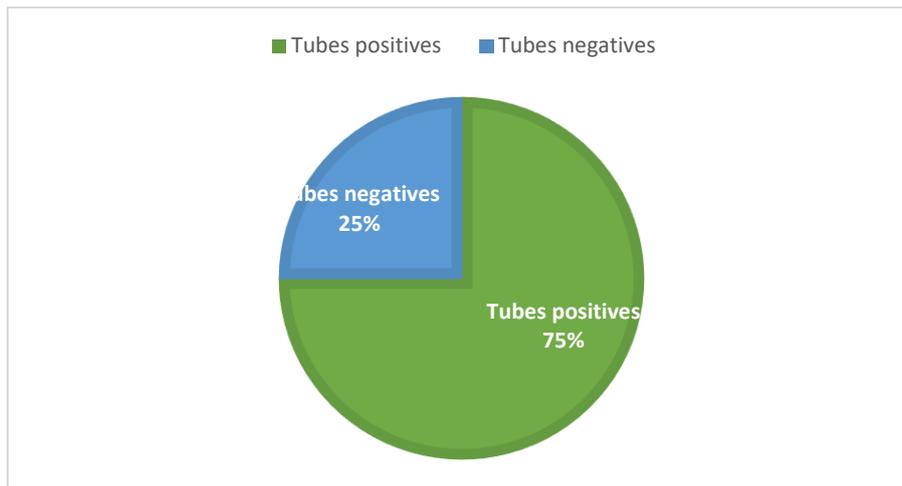
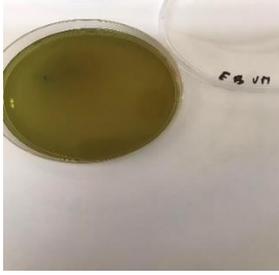
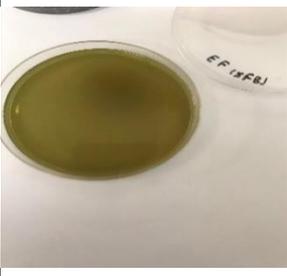
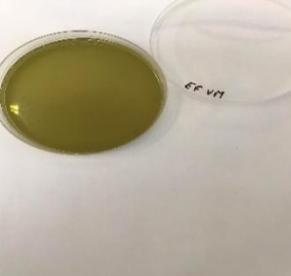
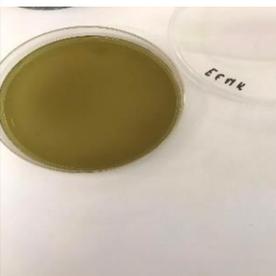
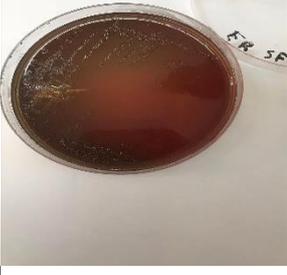
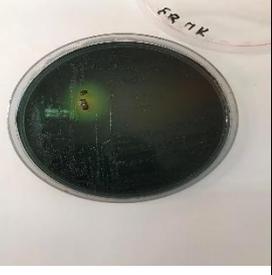


Figure 12: Taux de croissance (%) des SA sur BMK.

Bouillons Echantillons	SFB	BVM	BMK
Eau de bassin			
Eau de forage			
Eau de robinet			

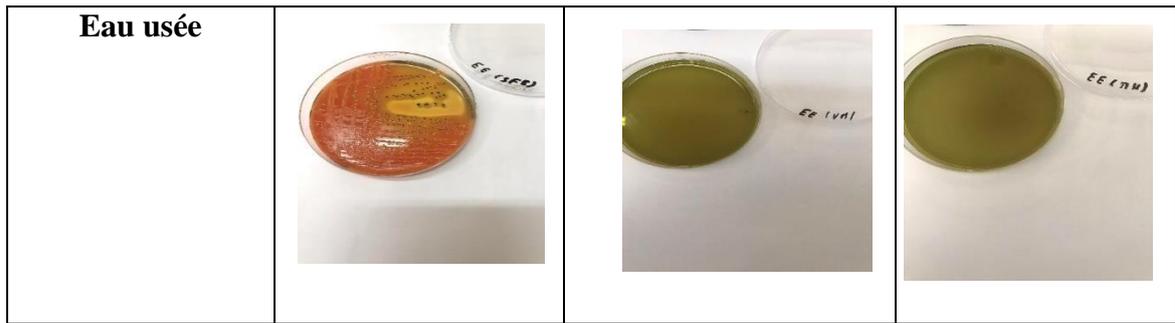


Photo 7: Aspects des SA après ensemencement sur gélose Hektoen +additif (À partir des 3 bouillons sélectifs).

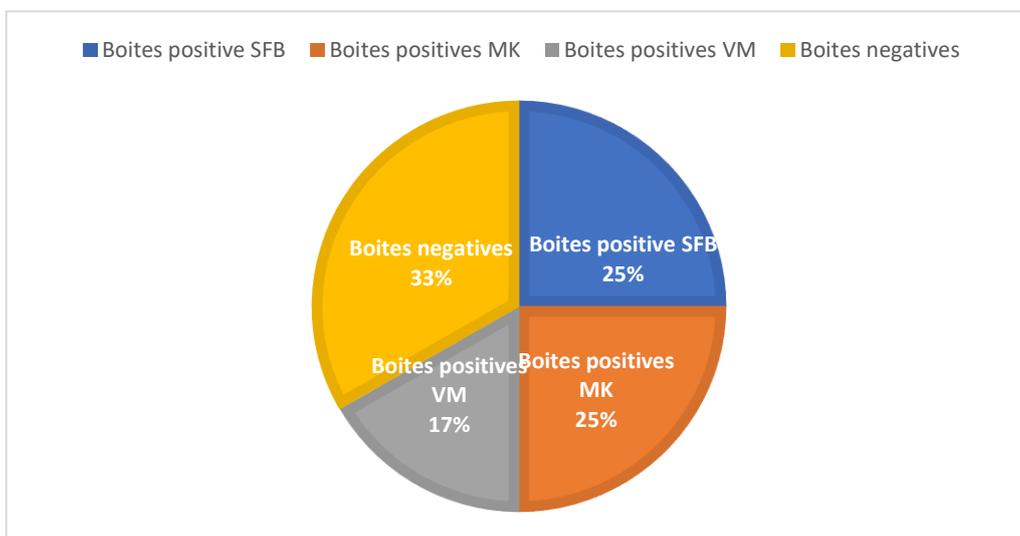
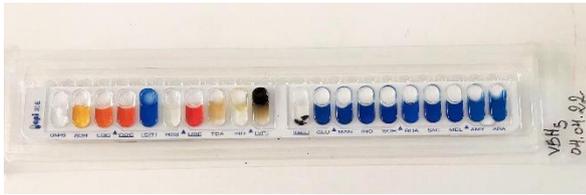
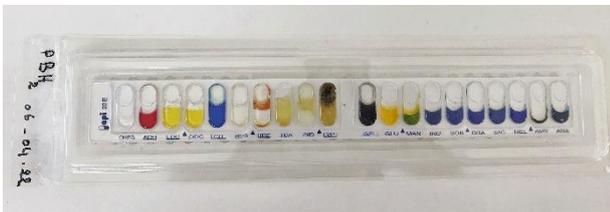


Figure 13: Taux de récupération (en portion) de SA sur les 3 bouillons (SFB/BVM/BMK).

II.1.7. Identification des isolats par galerie API20E

Tableau VI : Résultats d'identification des isolats par galerie API20E.

Milieu de culture	Aspects macroscopiques de quelques galeries API 20 E	Profil numérique obtenu	La bactérie obtenue
GNAB		6310004	<i>Photobacterium damsela</i>
VBH3	/	6302004	<i>Burkholderia cepacia</i>
Hektone		7716577	<i>Salmonella arizonae</i>
KINGA		2200204	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
GNAB		0002000	<i>Stenophthomonas maltophilia</i>
Hektoen		3306573	<i>Enterobacter cloacae</i>

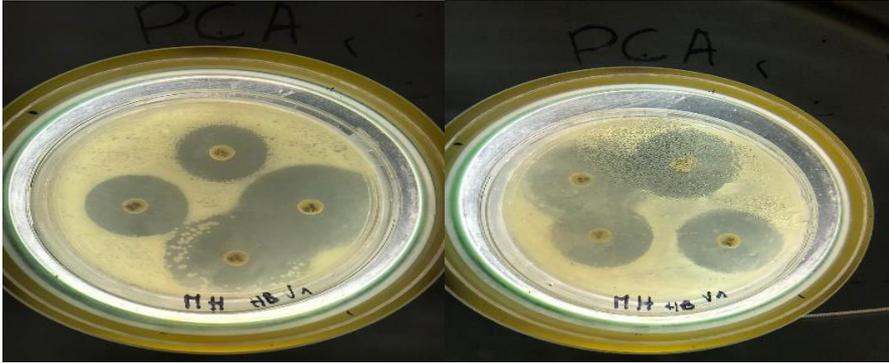
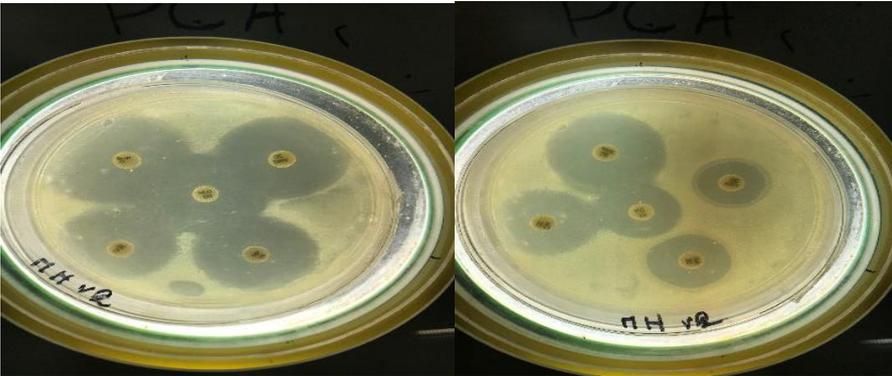
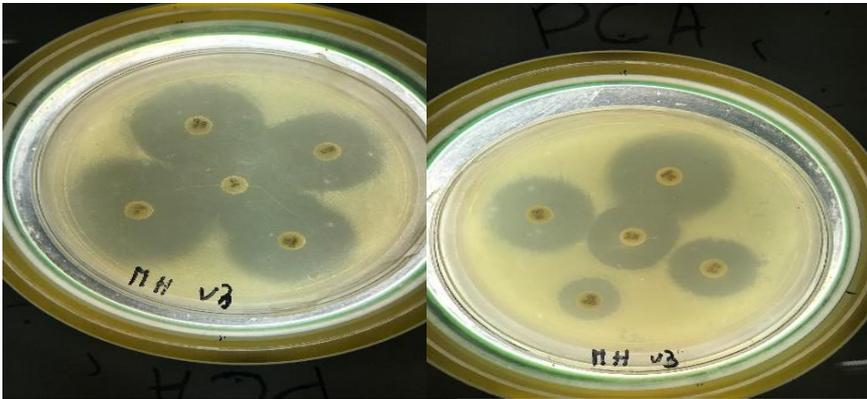
II.1.8. Antibiogrammes des souches

Tableau VII : Resultats des antibiogrammes pour l'ensemble des souches.

	Gen10	NO30	C30	RP15	NA30	FC10	AMC30	Cep30	AMX25	Cip50	HLG120
VBH1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
VBH2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
VBH3	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
VBH5	S	S	S	I	S	S	S	I	S	S	S
VB3	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R
PBH1	S	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S
PBH2	S	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S
SBH1	I	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S
SBH2	I	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S

AMC30: Amoxyclan, Cip50: Ciprofloxacin, AMX25: Amoxicillin, No30: Nitroxoline, Cep30:Cephalosin,
 NA30: acide Nalidixic, Gen10: gentamicine, RP15: Pristinomycin, Fc10: acide Fusic, C30: chloramphenicol,
 HLG:High Level Gentamicine

- 89% des souches sont sensible à gentamicine.
- 56% des souches sont résistant à nitroxoline.
- 56% des souches sont résistant à chloramaphenicol.
- 44% des souches sont résistant à Pristinomycin.
- 67% des souches sont sensible à Nalidixsic acide.
- 56% des souches sont résistant à Fusic acide.
- 78% des souches sont sensible à Amoxyclan.
- 44% des souches sont résistant à la Cephaloshin.
- 56% des souches sont sensible à Amoxycillin.
- 67% des souches sont sensible à Ciprofloxacine.
- 67% des souches sont sensible à la high level gentamicine.

Code de la souche	Aspect des boîtes de l'antibiogramme
VBH1	
VBH2	
VBH3	
VBH5	

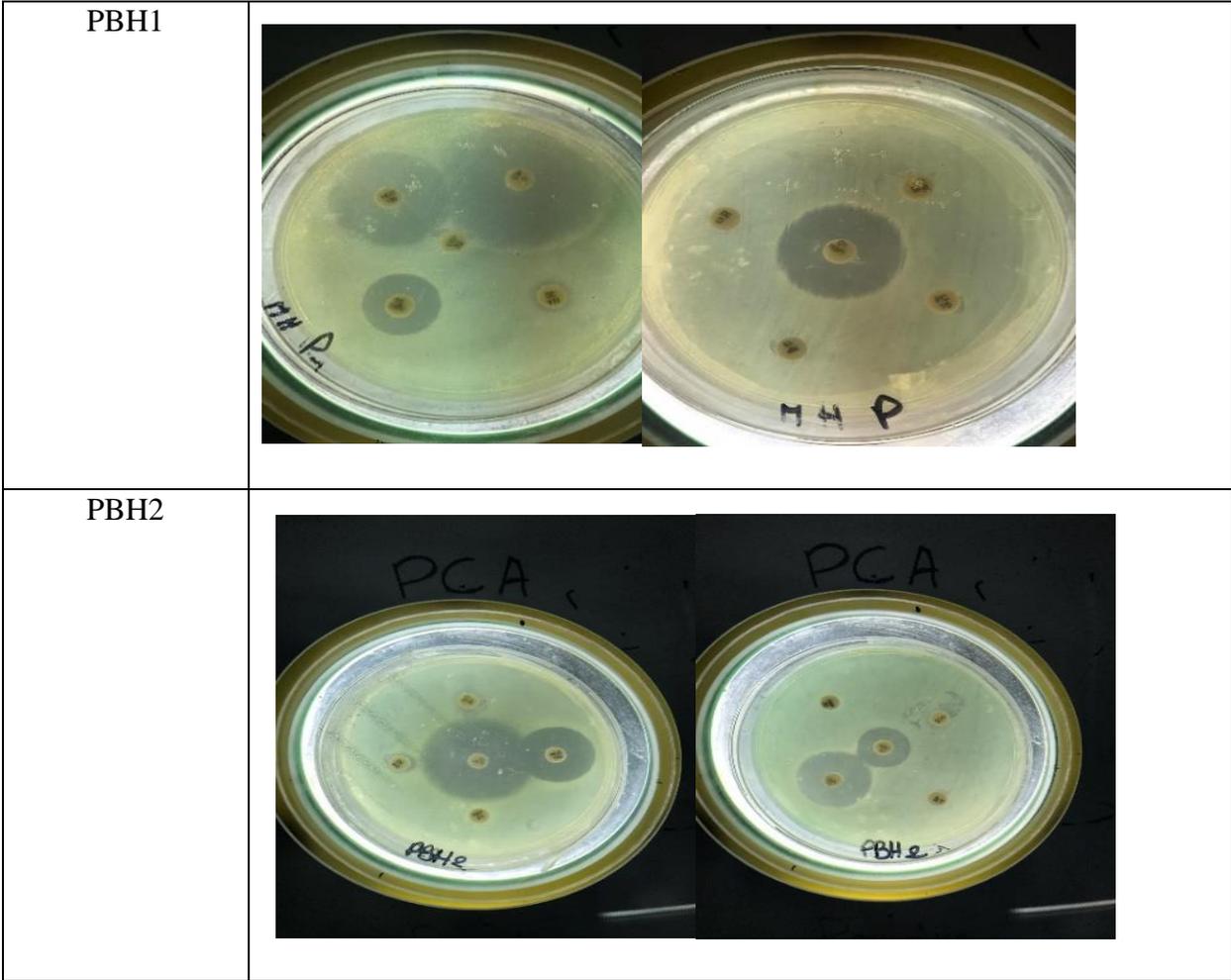


Photo 8 : Aspect des boîtes d'antibiogramme.

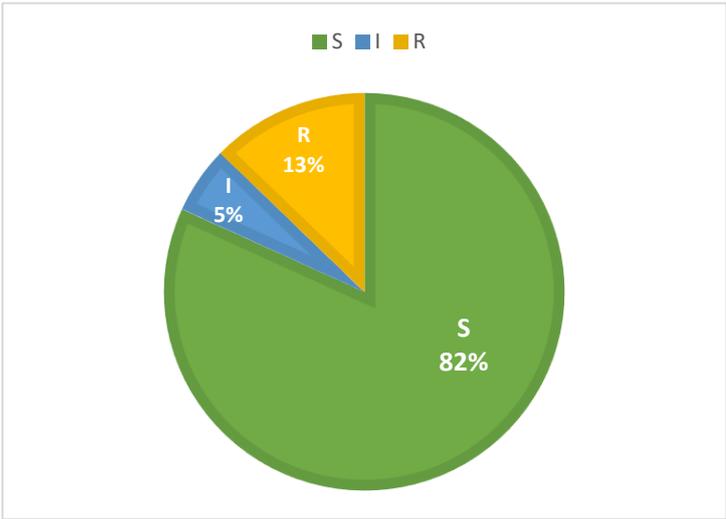


Figure 14 : Circle en portion (%) des souches S/I/R des Vibrionaceae.

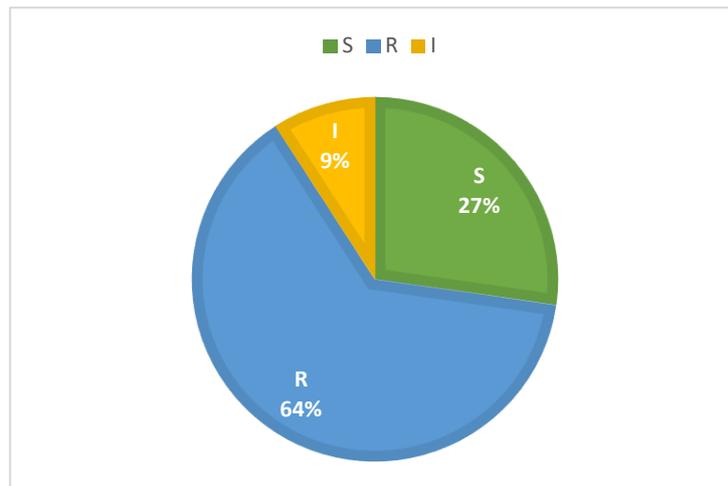


Figure 15: Circle en portion (%) des souches S/I/R de *Pseudomonas*.

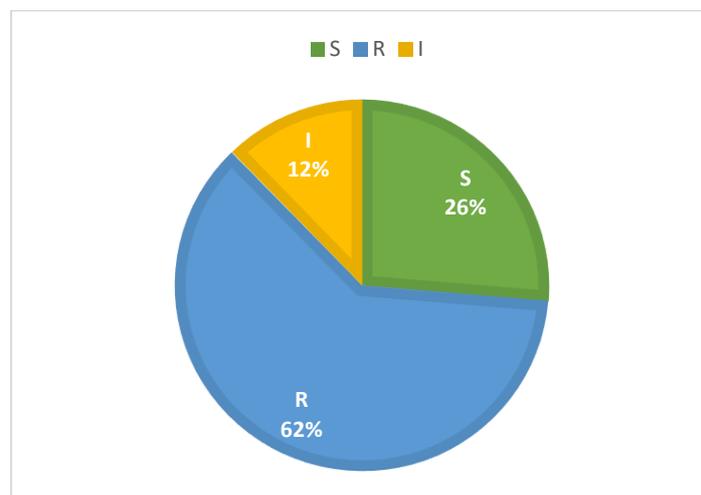


Figure 16: Circle en portion (%) des souches S/I/R de *Salmonella*.

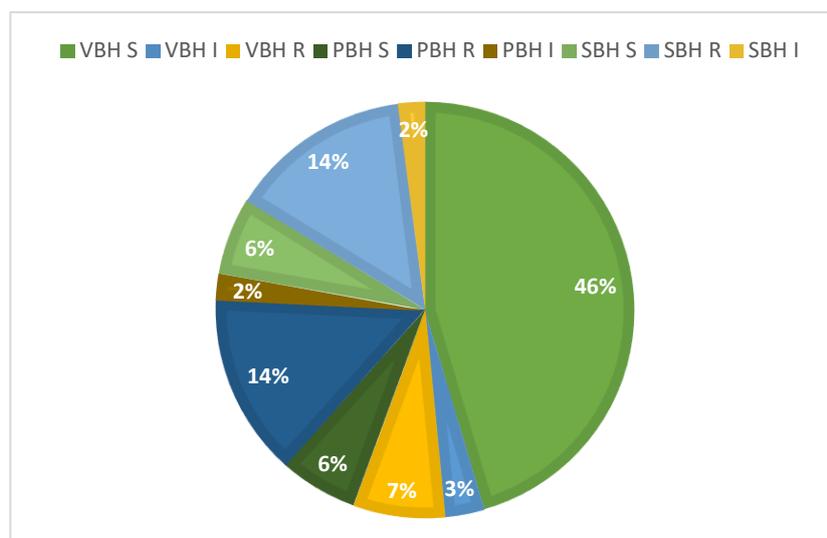


Figure 17: Taux globales des profils d'antibiogramme des souches.

II.1.9. Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des souches aquatiques sur différentes eaux traitées

Tableau VII : Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des PsA pendant 72h.

<i>Pseudomonas</i>	H2O autoclavée	H2O chauffée	H2O filtrée	H2O traitée avec UV	H2O traitée avec Ultra Sound	Témoin
0H	0,094	0,098	0,093	0,081	0,094	0,101
5H	0,123	0,137	0,146	0,097	0,102	0,248
24H	0,256	0,148	0,341	0,172	0,118	0,408
48H	0,447	0,235	0,337	0,231	0,240	0,463
72H	0,592	0,632	0,768	0,270	0,251	0,680

Tableau IX : Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des SA pendant 72h.

<i>Salmonella</i>	H2O autoclavée	H2O chauffée	H2O filtrée	H2O traiter avec UV	H2O traiter avec Ultra Sound	Témoin
0H	0,086	0,096	0,148	0,080	0,093	0,100
5H	0,134	0,146	0,178	0,089	0,149	0,256
24H	0,245	0,282	0,256	0,158	0,164	0,304
48H	0,356	0,359	0,397	0,230	0,265	0,450
72H	0,589	0,607	0,655	0,285	0,300	0,674

Tableau X : Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des PHA pendant 72h.

<i>Photobacterium</i>	H2O autoclavée	H2O chauffée	H2O filtrée	H2O traiter avec UV	H2O traiter avec Ultra Sound	Témoin
0H	0,093	0,098	0,104	0,084	0,087	0,099

5H	0,173	0,123	0,155	0,102	0,129	0,200
24H	0,224	0,256	0,282	0,221	0,190	0,337
48H	0,366	0,338	0,361	0,236	0,301	0,413
72H	0,484	0,421	0,414	0,363	0,399	0,498

Tableau XI : Suivi par la mesure de Do de la survie, croissance des STA pendant 72h.

<i>Stenotrophomonas</i>	H2O autoclavée	H2O chauffée	H2O filtrée	H2O traiter avec UV	H2O traiter avec Ultra Sound	Témoin
0H	0,096	0,087	0,087	0,082	0,080	0,094
5H	0,196	0,117	0,219	0,071	0,042	0,225
24H	0,292	0,230	0,233	0,161	0,195	0,297
48H	0,383	0,293	0,298	0,291	0,225	0,346
72H	0,417	0,321	0,433	0,343	0,282	0,478

II.2. Discussion

Le pH est un paramètre chimique caractérisant l'acidité ou l'alcalinité d'un milieu, plus précisément, le pH mesure la concentration d'une solution aqueuse en ions oxonium H_3O^+ . (Aminot A. et Kérouel R, 2004). Le pH de nos échantillons était neutre. Selon les normes algériennes de l'eau potable, le pH est fixé entre 6,5 et 9,00 (JORA, 2000). De ce fait on peut donc dire que nos échantillons sont conformes du point de vue du pH. Selon Benyahya *et al.*, (2017) le pH n'a pas influencé la variation saisonnière des microorganismes dans les eaux analysées. Même résultat a été montré au cours de l'étude des eaux des puits en Brésil. (Razzolini *et al.*, 2011).

Le chlore est souvent ajouté à l'eau pour limiter le risque de hydriques, dans nos échantillons le taux de chlore totale étaient compris entre. Les valeurs de chlore de nos échantillons sont conformes à la norme établie par l'ADE Normes entre 0,2 et 0,5 mg/l (ADE, 2014). Selon Seby (2006) les résidus de chlore, ne sont pas toxique pour l'homme, cependant ces derniers peuvent affecter le goût et l'odeur lorsque sont présents en concentration élevées. Desjardins, (1990) ; Godart (2000) ; Riboni et Robert (2000), Juery (2004), et Rodier *et al.*, 2005 trouvent aussi que l'utilisation de l'eau de javel pour la désinfection de l'eau destinée à la consommation humaine peut conduire à des mauvais goûts et des odeurs désagréables. En outre, le CDC recommande que la concentration en chlore ne dépasse pas 2,0mg/L après 30 minutes de temps de contact (CDC, 2016) alors que l'OMS (minimum de 0,5mg/L après 30 minutes de son ajout) dans le but d'éviter que l'eau chlorée ait un goût ou une odeur. (OMS., 2016). La présence des bactéries indicatrice de contamination fécales ancienne et récentes ainsi que certains germes pathogènes dans nos échantillons qui sont traitée avec le chlore montre que la chloration des eaux n'est pas vraiment efficace ces résultats sont en concordance avec Paquin, *et al.*, (1992) qui ont constaté que le chlore est un désinfectant acceptable (au sens où il n'y a pas de désinfectant alternatif parfaitement efficace dans les mêmes conditions) limitant la prolifération bactérienne mais ne l'interdisant pas. Mathieu *et al.*, (1992) estiment que l'élimination des contaminations demanderait en théorie un résiduel de chlore total d'au moins 1,8 mg/l. Aussi les pratiques actuelles de chloration (maintien d'un résiduel de chlore total de 0,1 mg/l à 0,3 mg/l) semblent réellement désuètes. En fait, la chloration en réseau doit être fondamentalement reconnue comme un pis-aller et combinée, sinon remplacée, par une

stratégie visant à limiter drastiquement les cellules bactériennes introduites dans les réseaux d'eau.

La pollution des eaux souterraine est peut être physique, chimique et/ou bactériologique (Bouziani, 2000). Les analyses bactériologiques, notamment le dénombrement des bactéries indicatrice de contamination fécales (coliformes) permettent d'évaluer la qualité des eau et/ou l'origine des pollutions (CEQE, 2000 ; Rejesk, 2000 ; Guiraud, 2003). En outre l'analyse de nos échantillons a révélé la présence des indicateurs des contaminations récentes (selon le JORA n (CT(42%),CF(48%) et anciennes (SD(48%),CSR(48%)) sur l'ensemble des échantillons. La présence des indicateurs de contamination récents (CT, CF, E. coli) à des taux élevés constituent un risque vital pour la santé de la population (Gleeson et Gray, 1997 ; Figarella et Leyral, 2002). Néanmoins, le dénombrement des espèces indicatrice de contamination fécale ancienne (SD) indique l'origine probable souterrain et ancienne de la contamination. Enfin, la comparaison des résultats de nos analyses avec les normes nationales (JORA N° 34., 2011 ; JORA N°35., 1998) et internationales (OMS, 2006) montre la non-conformité de la qualité de nos échantillons et le risque sur la santé publique de la consommation de ces eaux (Rodier, 2005). Toutefois, la détermination de l'origine de contamination de nos échantillons semble difficile prenant en considération le contexte de l'étude. Les résultats de notre étude semblent en concordance avec ceux obtenus par Fehdi *et al.*, (2014) ayant focaliser 20 échantillons des eaux souterraines collecter en Nord-Est de l'Algérie (Tébessa) ou les CT, CF, E. coli, SD, et les spores présentes des taux de :96,36%,88,18%.100%,47,5%,97,27% respectivement. En outre sur un lot des eaux de lac Tonga (Nord-Est d'Algérie) pour différentes profondeurs ou les analyses ont montré les moyennes suivantes : CT et CF : 24×10^3 UFC/100 ml, SD : 37×10^3 UFC/100ml a révélé la présence des indicateurs des contaminations récentes. 57 % des échantillons analysés montrent la présence des spores, sur VF, La présence de spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices dans l'eau naturelle rend nous fait Pensez à une contamination fécale, en l'absence de coliformes, Contamination fécale périmée. Ils sont très persistants et leur présence est un bon Indicateurs de vulnérabilité des aquifères et puits (Travel A., 2006).

D'autre part, nos résultats ont montré la présence des germes pathogènes en particulier salmonelles, vibrionaceae, *pseudomonas* a des taux élevée (43%,43%,43%). Les normes algériennes interdit totalement la présence de ces germes dans les eaux potables ce qui confirme la non-conformité de ces échantillons et le risque élever de leur consommation due à leur

pathogénicité. Les résultats de Benyahya *et al.*, (2017) sont en concordance partiel avec nos résultats et ceux de Djaouda *et al.*, (2014 ;2018) sont en concordance totale avec nos résultats.

En outre, Bouteleux., (2005) a confirmés que la contamination des eaux potables était en corrélation avec la qualité et la quantité de la matière organique. Enfin, nos résultats concorde ceux publier par le ministère français aient montrée la contamination des eaux souterraine thermale par les coliformes, les sporulés, *E.coli*, *Legionella*, et *pseudomonas* (Anonyme, 2005). Cependant ; Massa *et al.*, (1998) ont montrés lors de l'étude comparative que le milieu R2A améliore la récupération des flores aquatiques de 343% en comparaison avec le milieu PCA. En plus de l'avis de certain auteures les résultats analytiques négative ne signifient pas l'absence des flores/espèces aquatiques car les microorganismes rentrent dans un état viable mais non cultivable a cet égard l'Exemple de *Vibrio sp* est identique (Roszak et Colwell.1987 ; Huq *et al.*, 2012). Les étapes de recherche et d'isolement des vibrionaceae à nécessiter l'usage des milieux suivant : GNAB, TCBS, BCP.M est a conduit à l'identification des espèces suivant (*Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophilia*,.). De ces étapes, il ressorte que la gélose TCBS a permis la meilleure récupération des vibrions suivi par BCP.M et en dernier lieux la GN rendu sélectif par la bile et pH alcaline. A cette effet la TCBS et le plus recommandée (Massa *et al.*,1998 ; Joffin et Joffin,2003). Selon plusieurs auteurs (Huq *et al.*,1996 ; Sack *et al.*, 2003 ; Huq *et al.*, 2005) aient analyser un ensemble des donnees ces derniers ont révéler des corrélations entre température, profondeur, conductivité, être vivant eucaryote et procaryotes aquatiques et les vibrionaceae toxigènes.

Les salmonelles aquatiques constituent un risque pour la santé publique. Pour l'ensemble de nos échantillons, la recherche de présence absence salmonelles sans dénombrement s'est validée selon le protocole préconiser par plusieurs guides pratiques de microbiologie (Joffin et Joffin., 1999.,2003 ; Guiraud., 2003). L'isolement s'est fait en deux étapes : Enrichissement non sélectif sur eau peptone tamponnée et sélectif sur SFB puis isolement sur Hektoen. l'identification par API20NE des souches a conduit à des souches de *Salmonella arizonae*. L'étude de la croissance de nos échantillons de nos échantillons de salmonelle aquatique sur différents bouillons sélectifs (SFB/MK/VM) a montré que le bouillon sélectif SFB en S/C est le meilleur, a permet la récupération des salmonelles stressées suivi le BMK et enfin BVM. Plusieurs travaux de recherche ont ciblé salmonella à partir des eaux (Levantesi *et al.*, 2012 ; Momtaz *et al.*, 2013 ; Kovačić *et al.*, 2017). De la vie de (Pulford *et al.*, 2019) *Salmonella entreica* serovar panama impliquer dans des épidémies humaines, a comme vecteur de la matière fécale humaine et le lait humain. Le bouillon SFB (par foi additionnée de cystine+novobiocine)

est considéré comme le meilleur bouillon permettant la récupération des salmonelles stressées (JORA.,2005 ; 2017). Dans notre cas le bouillon SFB utiliser à simple concentration renferme la cystéine (100mg/L) et le sélénite de NA(4g/L).Le choix de bouillon d'enrichissement de salmonelles est un sujet controverser, tandis que le SFB est considéré meilleur en microbiologie d'environnement.

Des travaux de recherche de Collard et Unwin. (1958) de Iveson., (1964) et ses collaborateurs et de Vassiliadis., (1968) ont montré que le BVM est meilleur pour la récupération des salmonelles à partir des aliments. Les pseudomonas aquatiques dominant nous échantillons en comparaison aux autres procaryotes. (Seyfried *et al.*, 1980).

D'autres part pour la recherche des pseudomonaceae on a utilisé les géloses suivantes : GN, CN, King A, King, l'étape a conduit à l'identification par API20NE des souches de *Pseudomonas aeruginosa*,

Le milieu CN précommander par les normes algérienne (JORA, 2013) semble inadéquat (pour nos condition expérimentales), sur les autres milieux on a noté une croissance et production des pigments. (Guirad,2003).De l'avis de Rousset *et al.*, (2020) pseudomonas est capable de s'adapter, croitre, et se multiplier dans des eaux souterraines même à 16°C.

Nos résultats d'antibiogramme ont montrées que 89% des souches sont sensible à gentamicine, 56% des souches sont résistant à nitroxoline, 56% des souches sont résistant à chloramaphenicol, 44% des souches sont résistant à Pristinomycin, 67% des souches sont sensible à Nalidixsic acide, 56% des souches sont résistant à Fusic acide, 78% des souches sont sensible à Amoxyclan, 44% des souches sont résistant à la Cephaloshin, 56% des souches sont sensible à Amoxicillin, 67% des souches sont sensible à Ciprofloxacine, 67% des souches sont sensible à la high level gentamicine.L'antibiorésistance des souches aquatiques est peut-être innée, selon la vie de certains auteurs (Windels *et al.*,2019) une très forte corrélation existe entre la persistance dans une niche écologique y compris aquatique et la probabilité de mutation où les souches sensibles devenir résistantes. Ou acquise grâce à des nombreux facteurs: mutation et transfert horizontale, formation des biofilms, dans notre cas la contamination des eaux aquatiques est probablement due à des infiltrations des rejets industriel (industrie pharmaceutique, parapharmaceutique, chimique), infiltration des décharges hospitalière (lixiviats), la proximité des fosse septiques avec des eaux souterraines, les crosses aux connexions entre les conduits de captage des eaux souterraines et celle des eaux de rejets; notamment urbaine. Le review de Zheng *et al.*, (2021) a montré que la prévalence des antibiotiques dans les environnements estuariens et côtiers est en grande partie attribuée aux

activités anthropiques, y compris le ruissellement fluvial contaminé, les stations d'épuration, les rejets d'eaux usées, ainsi que l'aquaculture. A cet égard Alouache *et al.*, (2009) ont démontré des taux de résistance élever, des souches isolées des eaux de mer en Algérie pour amoxicilline et ticarcilline.

Le suivi de la croissance bactérienne validée par les DO, lu à $\lambda=600\text{nm}$ (la longueur d'absorbance optimale donnée après balayage par spectrophotomètre SHIMADZU (Japon)).

La croissance, après inoculation t_0 jusque a 72heures, a été exponentielle, entre deux bornes : V Max pour le milieu aquatique témoin (eau non traitée) et V Min pour le microcosme (jaune) eaux traitées avec UV. Cependant ; les croissances exponentielles et survie, semblent souche dépendante. La croissance exponentielle des souches étudiées, dans les différents microcosmes aquatiques, entre 0heures et 72heures, traduit la disponibilité de la matière organiques dans ce dernier nécessaire au métabolisme et énergie bactérienne. A cet effet le traitement aquatiques par UV semble meilleur, puisque à affecter la MO disponible ce qui a reflété le taux de croissance le plus faible. Nos résultats de survie concordent ceux obtenu par Mary *et al.*, (2001) pour des souches *Aeromonas* d'origine clinique et environnementales sur eaux potable filtrée, autoclavée et/ou non pour cinq jours. Après comparaison des résultats : (différentes représentations graphiques, différentes combinassions) entre souche bactérienne et microcosmes aquatiques et procédé de traitement, il semble qu'un synergisme est possible entre diffèrent procédés. Le couplage entre traitement aquatiques UV et Ultra-sond donnera probablement un meilleur résultat affectant la MO aquatique et taux de croissance et survie par conséquent. D'un part, Hahn M.W (2004) a démontré que le procédé de filtration des eaux, appeler filtration stérile, supposer retenir des bactéries ayant diamètre $\geq 0,2\mu\text{m}$ n'a aucune efficacité microbiologique. D'autres part, Chedad *et al.*, (2007) dans une étude sur l'effet des facteurs biotiques et abiotiques influençant la survie des CF *in situ* et au labo : la lumière, la salinité étaient les principaux facteurs d'inactivation des coliformes. Djaouda *et al.*, (2013) lors d'une étude de la survie et de la croissance de *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Spp* dans l'eau potable non filtrées-autoclavées, filtrées-non autoclavées, et filtrées-autoclavées on eux des résultats similaires à nos résultats, ils ont constaté que toutes les souches ont été capable de survivre et croitre dans tous les microcosmes utilisés et ils ont noté, une période de survie plus longue, de vibrions aquatiques dans l'eau stockées comparativement avec les salmonelles et les *E. coli*. Une étude de la qualité microbiologique des eaux souterraines (puits et sources), stockées pendent 144 heures, a montré que le taux de croissance des flores bactériennes a été élevé dans les eaux de source comme dans celles de puits et ont atteint la

fréquence de 1931,1 divisions par jour (Djaouda *et al.*, 2010). Les résultats de Chandran, et Hatha, (2005). Ont révélé que la lumière du soleil est le facteur d'inactivation le plus important sur la survie de *E. coli* et *Salmonella typhimurium* dans l'eau. Dans l'eau estuarienne non traitée, *E. coli*, *S. paratyphi* et *V. parahaemolyticus* ont mieux survécu à 20°C qu'à 30°C (Abhirosh *et al.*, 2009). Jubair *et al.*, (2014) ont décrit un phénotype persistant de *V. cholerae*, qui a survécu dans l'eau d'un lac pauvre en nutriments et stérilisée par filtration pendant plus de 700 jours. L'Anses dans un rapport scientifique établi en 2010, sur la survie des *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux potables non conditionnées, ont montré que la survie aquatique de l'espèce est relative à certains nombres de paramètres à l'exemple: température, pH, la flore microbienne compétitive, charge des eaux en matières organique, les désinfectants (chlore, O₃), rayon UV...). En fin, Legnani *et al.*, (2010) ont montré la survie et la croissance des souches *Pseudomonas* après 5 années dans des eaux filtrées (0,45µm), conservées entre 19 °C et 24°C.

Conclusion

Conclusion :

Les pollutions des eaux souterraines potables, est peut-être physique, chimique et/ou microbiologique.

L'objectif préalablement, fixé par la présente l'étude, était d'évaluer le risque de pollution bactériologique pour un effectif de 21 échantillons d'eaux souterraines destinées à l'alimentation humaine, collectés de différentes localités de la province BBA Nord-Est Algérie, durant la période (Février-Avril 2022).

Les résultats du contrôle microbiologique, ont révéler des eaux souterraines, de qualité très en dessous des normes nationales, potentiellement contaminées, avec des taux relativement élevés des flores (42%,48%,52%,57% pour CT, CF, SD, et CRS respectivement,57% d'effectifs renferme des vibrionaceae, des salmonelles et des *pseudomonas sp*).

Les résultats relatifs à la lecture des pH, dosage des résidus des Chlore ont montré un pH neutre, taux de chlore dans l'intervalle (0-0,2mg/l).

Les résultats d'isolement, purification et l'identification (par API20E) des flores aquatiques, contenues dans nos échantillons, ont donné six isolats aquatiques, à paroi Gram négatif, appartenant taxonomiquement à trois familles bactériennes : *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* et *Pseudomonadaceae*. Il s'agit essentiellement des espèces: *Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophili*, *Salmonella arizonae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*. Les résultats relatifs aux réalisations des antibiogrammes, ont montré des souches aquatiques, hautement antibiorésistantes: Sur 2 souches de SA : 62% R. Sur 5 souches de VA : 13% R. Sur 2 souches de PsA : 64% R.

Les résultats du suivi, pendant 72H, de croissance, survie et/ou atténuation, des souches aquatiques, validé sur cinq catégories d'eau souterraines potables, traitée par cinq différents procédés physiques, à savoir: (autoclavage, chauffage, filtration, UV, Ultra-Sons) respectivement, ont montré les potentialités de survie et de croissance exponentielle, de nos isolats aquatiques, au-delà de quatre jours, lors du stockage/conservation des eaux (procédé très utilisé par le consommateur, après captage d'eaux), même sur des eaux ultra-traitées,

Globalement les résultats de la présente étude, même partiels, ont montré les niveaux de pollution des eaux souterraines, la diversité et l'antibiorésistance des souches bactériennes aquatiques isolées et leurs aptitudes de subsistance et de croissance dans les eaux en conservation, ce qui constitue un risque pour la santé publique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abhirosh, C., Sheeja, K. M., Hatha, A. A. M., Sherin, V., & Thomas, A. P. (2009). Role of biological factors on the survival of *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* and *Vibrio parahaemolyticus* in a tropical estuary, India. *Water*, 1, 76-84.

Achour S, Guergazi S (2002). Incidence de la minéralisation des eaux algériennes sur la réactivité de composés organiques vis-à-vis du chlore, *Rev. Sci. Eau*, 15, 3, 649- 668.

Achour S. (2001). Incidence des procédés de chloration, de floculation et d'adsorption sur l'évolution de composés organiques et minéraux des eaux naturelles, Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Tizi-Ouzou, Algérie.

ADE ; (2014), Algérienne Des Eaux, unité d'Oum El Bouaghi, secteur Ain Beida, rapport

Alfarrah N and Walraevens K (2019). Groundwater Overexploitation and seawater intrusion in coastal areas of arid and semi-arid regions. *Special Issue Editors Maurizio Polemio Kristine Walraevens*. Printed Edition of the Special Issue Published in *Water*. MDPI.

Aminot, A., & Kérouel, R. (2004). Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses. Editions Quae.

Anonyme [http:// www. aniref. dz/ monographies/bba.pdf](http://www.aniref.dz/monographies/bba.pdf)

Anonyme, (2005) La qualité microbiologique des eaux minérales naturelles utilisées à des fins thérapeutiques en milieu thermal au cours de la saison thermale 2001 ministere des

Anonyme. (2001): Alegria Water Quality Country Report, Rapport sur la gestion de l'eau

Anonyme. (2005) standardisations de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale 4eme édition. OMS 95 pages).

Ayad, W., & Kahoul, M. (2016). Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de puits dans la région d'El-Harrouch (NE-Algérie).*Journal of Materials and Environmental Science*, 7, 1288-1297.

Benyahya, F., Bendahou, A., Essadqui, F. Z., El Behhari, M., El Mamoune, A. F., Ghailani, N. N., ... & Barakat, A. (2017). Etude de la qualité

bactériologique de l'eau utilisée dans l'industrie agroalimentaire dans le Nord du Maroc. *Pan African Medical Journal*, 26(1), 1-7.

Bosca C., (2002): Ground water law and administration of sustainable development Mediterranean Magazine, Science Training and Technology, N° 2, Pp: 13-17.

Bouchemal F, Bouchahm N, Achour S. (2011). Qualité des eaux des nappes aquifères de la région de Biskra. *Rev. Sci. Fond. App.*, Vol. 3 N. 1 (2011), 34- 44.

Bouteleux, C. (2005). *Survie d'entérobactéries dans les eaux de distribution: rôle de la matière organique d'origine algale* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).

Bouziani M. (2000) : L'eau de la pénurie aux maladies, Edition ibn khaldoun, P 247.

Catherine J (2012) Définitions des caractéristiques techniques de fonctionnement et domaines d'emploi des appareils de désinfection, document technique du Fonds National pour le Développement des Adductions d'Eau N2 (FNDAE 02), Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, 58P.

CDC, (2016). Chlorine Residual Testing Fact Sheet, SWS Project.

CEAQE., 2000: Recherche de dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale Gouvernement du Québec, P 24.

Chandran, A., & Hatha, A. M. (2005). Relative survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in a tropical estuary. *Water research*, 39(7), 1397-1403.

Chedad, K., & Assobhei, O. (2007). Etude de la survie des bactéries de contamination fécale (coliformes fécaux) dans les eaux de la zone ostréicole de la lagune de Oualidia (Maroc). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, 29, 79.

Collard P., & M.,Unwin. (1958). A trial of Rappaport's medium. *J. clin. Path.*: 426-427. 1958.

Coz-Rakovac, R., & Strunjak-Perovic, I. (2007). Commercial phenotypic tests (API 20E) in diagnosis of fish bacteria: a review. *Veterinarni Medicina*, 52(2), 49. d'Activité Du mois Mars 2014, Algérie

Desjardin R. (1990). Le traitement des eaux. 2ème édition revue, Ed. Ecole polytechnique de Montréal, Canada, 304 p.

Djaouda, M., Gaké, B., Ebang Menye, D., Zébazé Togouet, S. H., Nola, M., & Njiné, T. (2013). Survival and growth of *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* Spp. in well

water used for drinking purposes in Garoua (North Cameroon). *International journal of bacteriology*, 2013.

Djaouda, M., Gake, B., Zebaze Togouet, S. H., Wadoubé, Z., Nola, M., & Njiné, T. (2018). Évaluation de la contamination par *Salmonella* sp. et *Vibrio cholerae* des eaux de puits de Garoua, Nord Cameroun. *Afrique SCIENCE*, 14(4), 209-224.

Djaouda, M., Njiné, T., Liang, S. et al. (2014). Bacteriological Quality of Well Waters in Garoua, North Cameroon. *Water Qual Expo Health* 6, 161–176.

Djaouda, M., Nola, M., Togouet, S. H. Z., Nougang, M. E., Djah, M., & Njiné, T. (2010). Modifications des propriétés d'abondance bactériennes des eaux souterraines en réponse à une longue durée de stockage dans les récipients à domicile à Yaoundé (Cameroun). *European journal of water quality*, 41(2), 131-143

Djaouda, M., Wadoubé, Z., Baponwa, O., Youssoufa, S., Gaké, B., Liang, S., & Nola, M. (2020). Survival and growth of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in treated groundwater consumed in northern Cameroon. *Applied Water Science*, 10(12), 1-10.

Fakih lanjri A., Brigui J., El Cadi A., Khaddor M., Salmoune F., (2014). Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de Tanger, *Journal de Matériel et Science de l'Environnement*, Vol 5, N. S1, P: 2230- 2235.

Fehdi, C., Rouabhia, A., Mechai, A., Debabza, M., Abla, K., & Voudouris, K. (2016). Hydrochemical and microbiological quality of groundwater in the Merdja area, Tébessa, North-East of Algeria. *Applied Water Science*, 6(1), 47-55.

Figarella, J., & Leyral, G. (2002). Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques. *Ed. Scérén CRDP d'Aquitaine, Paris*.

Gleeson C et Gray N. (1997): The coliform index and water borne disease. E & FN Spon, P 194

Guiraud J-P. (2003): Microbiologie alimentaire. Edition. Dunod, Paris. Pp 651

Hahn, M. W. (2004). Broad diversity of viable bacteria in 'sterile'(0.2 µm) filtered water. *Research in Microbiology*, 155(8), 688-691.

Huq, A., Haley, B. J., Taviani, E., Chen, A., Hasan, N. A., & Colwell, R. R. (2012). Detection, isolation, and identification of *Vibrio cholerae* from the environment. *Current protocols in microbiology*, 26(1), 6A-5.

Huq, A., Sack, R. B., Nizam, A., Longini, I. M., Nair, G. B., Ali, A., ... & Colwell, R. R. (2005). Critical factors influencing the occurrence of *Vibrio cholerae* in the environment of Bangladesh. *Applied and environmental microbiology*, 71(8), 4645-4654.

Huq, A., Xu, B., Chowdhury, M. A., Islam, M. S., Montilla, R., & Colwell, R. R. (1996). A simple filtration method to remove plankton-associated *Vibrio cholerae* in raw water supplies in developing countries. *Applied and environmental microbiology*, 62(7), 2508-2512.

Iveson J.B., N. KOVACS and Wm. LAURIE. (1964). An improved method of isolating *Salmonellae* from contaminated desiccated coconut. *J. clin. Path.* 17:75-78. 1964.

Joffin C. & Joffin J.N. (1999). Microbiologie alimentaire. *Ed. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine*. Pp : 70-73.

JORA N° 42 (2005) Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers. <https://www.joradp.dz/FTP/JO-FRANCAIS/2005/F2005042.pdf?znjo=42>

JORA N° 51 (2013) Arrêté du 21 Moharan 1434 correspondant au 5 decembre 2013 rendant obligatoire la méthode de detection et de denomrement de pseudomonas aeroginosa dans leau par filtration sur membrane disponible sur <https://www.joradp.dz/FTP/JO-FRANCAIS/2013/F2013051.pdf?znjo=51>

JORA. N° 35 (1998). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires disponible sur : <https://www.joradp.dz/FTP/JO-FRANCAIS/1998/F1998035.pdf?znjo=35>

JORA. N° 44. (2017). Arrêté interministériel de Dimanche 29 Chaoual 1438 correspondant au 23 juillet 2017 rendant obligatoire la méthode horizontale pour la recherche des *Salmonellasp.* disponible sur <https://www.joradp.dz/FTP/JO-FRANCAIS/2017/F2017044.pdf?znjo=44>

- JORA. N° 51 (2000).** Les normes de potabilité d'une eau de consommation. Journal officiel de la République algérienne N°51, 20 août 2000, Alger, 4 p
- JORA. N°75 (2009).** Le décret exécutif n° 09-414. Journal Officiel de la République Algérienne N°75,20 décembre 2009, Alger : 10-15.
- JORA.(2011):**Décretexécutif n° 11- 22 mars 2011relatif qualité de l'eau de consommation humaine, Imprimerie Officielle, Les Vergers: Bir-Mourad Raïs, Alger, Algérie, Pp: 7-25.
- Jubair M, Atanasova KR, Rahman M, Klose KE, Yasmin M, Yilmaz O, Jr MJG, Ali A (2014)** Vibrio cholerae persisted in microcosm for 700 days inhibits mobility but promotes biofilm formation in nutrient-poor lake water microcosms. PLoS ONE 9(3):1–8
- JueryC.(2004).**Définition des caractéristiques techniques de fonctionnement et domaine d'emploi des appareils de désinfection. Document technique FNDAE n°2, office internationale de l'eau, SNIDE : 7-14.
- Kovačić, A., Huljev, Ž., & Sušić, E. (2017).** Ground water as the source of an outbreak of Salmonella Enteritidis. Journal of epidemiology and global health, 7(3), 181-184.
- Labres et Mouffok F., (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
- Larpent J. P. (1997).** Microbiologie alimentaire: Technique de laboratoire. Ed. Technique etdocumentation-Lavoisier, Paris, 1073 p.
- Lefèvre J.G., (1991):** Les analyses d'eau avec les tests prêts à l'emploi: la potabilité de l'eau, les eaux piscicolesl'eau des piscines, laboratoire Merck-Clevenot
- Levantesi, C., Bonadonna, L., Briancesco, R., Grohmann, E., Toze, S. et Tandoi, V. (2012).** Salmonella dans l'eau de surface et l'eau potable : occurrence et transmission par l'eau. *Recherche alimentaire internationale* , 45 (2), 587-602.
- Loucif, K., Neffar, S., Menasria, T., Maazi, M. C., Houhamdi, M., & Chenchouni, H. (2020).** Physico-chemical and bacteriological quality assessment of surface water at Lake Tonga in Algeria. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 13, 100284.
- Mary, P., Buchet, G., Defives, C., & Hornez, J. P. (2001).** Growth and survival of clinical vs. environmental species of Aeromonas in tap water. *International journal of food microbiology*, 69(3), 191-198.

Massa, S., Caruso, M., Trovati, F., & Tosques, M. (1998). Comparison of plate count agar and R2A medium for enumeration of heterotrophic bacteria in natural mineral water. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(5), 727-730.

Mathieu I., Paquin J.L., Block J.C., Hartemann P., Colin F., (1992). Paramètres contrôlant l'accumulation de bactéries dans les réseaux de distribution : approche expérimentale Séminaire International « Matières organiques biodégradables dans les réseaux de distribution », Nancy (Soumis à Sci, de l'Eau)

Meribai A., Bensoltane A., Diafat A and A Bahloul (2016). Assessment of chemical and biological pollution of domestic and/or agricultural use wells water, located in Algerian Northeastern Bordj Bou Arridj province: preliminary study 2nd edition 2016, *International Conference On Integrated Environmental Management For Sustainable Development. Tunis.*

Mohammed-Aslam M. A. & Rizvi S.S (2020). Hydrogeochemical characterisation and appraisal of ground water suitability for domestic and irrigational purposes in a semi arid region, Karnataka state, India *Applied Water Science* (2020) 10: 237.

Momtaz, H., Dehkordi, F. S., Rahimi, E., & Asgarifar, A. (2013). Detection of *Escherichia coli*, *Salmonella* species, and *Vibrio cholerae* in tap water and bottled drinking water in Isfahan, Iran. *BMC public health*, 13(1), 1-7.

Nouayti N., Khattach D., Hilali M., (2015). Evaluation de la qualité physico-chimique des eaux souterraines des nappes du Jurassique du haut bassin de Ziz (Haut Atlas central, Maroc), *Journal de Matériel et Science de l'Environnement*, Vol 6, N° 4, Pp: 1068- 1081.

OMS (2006). Les lignes directrices de l'OMS en ce qui concerne la qualité de l'eau potable, mises à jour en 2006, *Organisation Mondiale de la Santé*, Genève, Suisse.

OMS, (2016). Eau, assainissement et santé. Principaux concepts, Rapport 2012 du Programme commun OMS/UNICEF. Consulté en ligne le 10 juin 2022 à l'adresse [http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/key_terms/fr/.organique d'origine algale](http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/key_terms/fr/.organique_d'origine_algale) (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).

Paquin, J., Block, J., Haudidier, K., Hartemann, P., Colin, F., Miazga, J., & Lévi, Y. (1992). Effet du chlore sur la colonisation bactérienne d'un réseau expérimental de distribution d'eau. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 5(3), 399-414.

Pulford, C. V., Perez-Sepulveda, B. M., Rodwell, E. V., Weill, F. X., Baker, K. S., & Hinton, J. C. (2019). Salmonella enterica serovar Panama, an understudied serovar responsible for extraintestinal salmonellosis worldwide. *Infection and Immunity*, 87(9), e00273-19.

Razzolini, M. T. P., Günther, W. M. R., Peternella, F. A. D. S., Martone-Rocha, S., Bastos, V. K., Santos, T. F. D. S., & Cardoso, M. R. A. (2011). Quality of water sources used as drinking water in a Brazilian peri-urban area. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 560-566.

Rejesk F. (2000). Analyses des eaux, aspect réglementaire et technique; Collection BiologieTechnique Environmentale, pp: 53-54, 71,142-148

Resjek F (2002). Analyse des eaux: aspects réglementaires et techniques, centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, France.

Riboni E & Robert M. (2000). Les méthodes de désinfection de l'eau, avantages et inconvénients respectifs entre chlore, U.V., ozone, microfiltration. Ozonoch Sàrl, Boudry, Switzerland, 5 p.

Rodier J., Bazing C., Broutin J. P., Chambon P., Champsaur H., Rodi L. (2005). L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Ed. Dunod, Paris, 1384 p.

Rodier. J ; (2009). L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 9ème édition, Dunod, Paris, France, 1600p.

Roszak, D. and Colwell, R. (1987). Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol. Rev.* 51:365-379.

Rousset, L., Clavel, T., Gillon, M., Duport, C., & Berge, O. (2020). Adaptation de *Pseudomonas syringae* et *Bacillus cereus* à la vie souterraine dans l'eau destinée à l'irrigation. In 14. *Rencontres Plantes-Bactéries*.

Sack, R. B., A. K. Siddique, I. Longini, A. Nizam, M. Yunus, S. Islam, J. G. Morris, A. Ali, A. Huq, G. B. Nair, F. Qadri, Shah, M. Faruque, D. A. Sack, and R. R. Colwell.(2003). A 4-year study of the epidemiology of *Vibrio cholerae* in four rural areas of Bangladesh. *J. Infect. Dis.* 187:96-101.

Seby P. (2006). Etude de la chloration sur le réseau d'eau potable du syndicat d'Annonay-Serrières (07). Mémoire de licence professionnelle, protection de

l'environnement, gestion des eaux urbaines et rurales. Université Louis Pasteur, Strasbourg, 48 p.

Seyfried, P. L., & Fraser, D. J. (1980). Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in chlorinated swimming pools. *Canadian journal of microbiology*, 26(3), 350-355.

Site internet de google maps consultee le 13 avril 2022 disponible sur : <https://www.google.com/maps/?hl=FR>

Travel A., (2006). Attention à la qualité de l'eau de boisson, Réussir Aviculture, Nov., N° 121, Pp: 21-23.

Vassiliadis P., (1968). Shigella spp., Salmonella choleraesuis and Arizona in Rappaport's medium. *J. Appl. Bact.* 367-372. 1968.

Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *Clsi (Nccls)*, 26, M7-A7.

Windels EM, Michiels JE, Fauvart M, Wenseleers T, Bergh BV den, Michiels J. (2019). Bacterial persistence promotes the evolution of antibiotic resistance by increasing survival and mutation rates. *The ISME Journal*;13: 1239. doi:10.1038/s41396-019-0344-9

Zheng, D., Yin, G., Liu, M., Chen, C., Jiang, Y., Hou, L., & Zheng, Y. (2021). A systematic review of antibiotics and antibiotic resistance genes in estuarine and coastal environments. *Science of the Total Environment*, 777, 146009.

Annexes

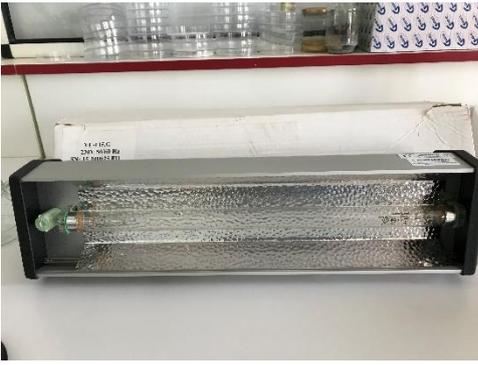
Annexe I.

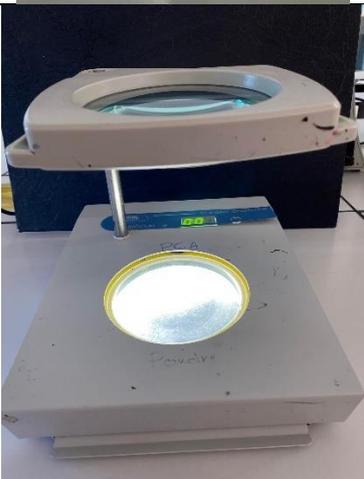
Matériels.

1-Matériel lourd :

Tout le matériel lourd utilisé durant cette étude est présenté dans le tableau suivant :

Matériel	Photo	Référence
Hotte microbiologique		STERIL-GEMINI (Italy)
Etuves		Memmert (Germany)
Autoclave		SANOCALV LaM-3-20-ECZ-J
Spectrophotomètre		SHIMADZU (Japon)

<p>Lampe Ultra-Violet</p>		<p>VILBER LOURMAT (France)</p>
<p>Bains à ultrasons</p>		<p>Branson (France)</p>
<p>Microscope optique</p>		<p>OPTIKA B-350 (Italy)</p>
<p>Bain marie</p>		<p>Memmert (Germany)</p>
<p>Distillateur</p>		<p>Buchi Distillation Unit K-350 (Switzerland)</p>
<p>Réfrigérateur / Congélateur</p>		<p>Samsung®, Algérie</p>

<p>Vortex</p>		<p>Fisher Scientific FB 15024</p>
<p>Agitateur magnétique Plaque chauffante</p>		<p>ND</p>
<p>Bec Bunsen</p>		<p>ND</p>
<p>Compteur de colonies</p>		<p>J.P. SELECTA, s. a (Spain)</p>

Four Pasteur		memmert type UNB400 (Germany)
--------------	--	-------------------------------

2-Matériel léger et accessoires :

Les accessoires, matériel léger, produits chimiques et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau suivant :

Accessoires	Verrerie	Sels et tampons	Colorants et réactifs	Autres
Anses de platine, Barreau magnétique, Boîtes de Pétri, Cuillère, Distributeur, Micropipette, Papier Josef, Papier aluminium, Papier buvard, Ciseau, Pince, Pissette, Poires. Portoir, Rubans de parafilm, Scotch, Spatules.	Béchers, Burette Entonnoirs, Eprouvette graduées, Erlenmeyers, Fioles Jaugé, Flacons, Lames/lamelles, Pipettes graduées, Pipettes Pasteur, Tubes à essai,	Na Cl, Na OH,	Fushine, Huile à émersion, Lugol, Violet de Gentiane, Réactif de Kovacs, Réactif TDA, Réactif VP1, Réactif VP2	Papier pH Glacière Papier WATTMAN CHECKIT®Comparator API20E



Appareil utilisé pour la détermination de taux de chlore (CHECKIT comparator).i



Papier pH utilisé pou la mesure de pH.

Annexe 2.

Réactifs et additifs.

<p>Réactifs de KOVACS</p>	
<p>Réactifs TDA</p>	
<p>Réactifs VP1</p>	
<p>Réactifs VP2</p>	

<p>Additifs Hektoen</p>	
<p>Additifs pour VF</p>	

Annexe 3.

Milieux de culture.

Milieu de culture	Composition en g pour un litre d'eau distillée	PH
Gélose		
PCA	Tryptone.....5g Extrait de levures2.5g Glucose.....1g Agar.....15g	7.0
MH	Hydrolysate acide de caséine.....17,5g Extrait de viande.....3.0g Amidon.....1.5g Agar.....16g	7.3
Hektoen	Peptone pepsique de viande.....12,0g Extrait autolytique de levure.....3,0g Lactose.....12,0 g Saccharose.....12,0g Salicine..... 2,0g Sels biliaires.....9,0g Chlorure de sodium... ..5,0g Triosulfate de sodium... ..5,0g Citrate ferrique ammoniacal.....1,5g Bleu d bromothymol..... 65mg Fuchsine acide.....40mg Agar.....13,5g	7,6±0,2
viande foie	Peptone viande-foie.....30,0g Glucose.....2,0g Amidon soluble.....2,0g Sulfite de sodium.....2,5g Citrate ferrique ammoniacal.....0,5g Agar.....11,0g	7,6 ± 0,2
GN	Extrait de levure.....2,0 g Extrait de viande.....1,0 g Peptone.....5,0 g chlorure de sodium.....5,0 g Agar15,0 g	7,4
King B	peptone dite "B".....20,0g glycérol.....10,0 g hydrogénophosphate de potassium.....1,5 g sulfate de magnésium heptahydraté.....1,5 g Agar12,0 g	7,2
King A	peptone dite "A"20,0 g glycérol.....10,0 g sulfate de potassium.....10,0 g	7,2

	chlorure de magnésium.....1,4 g Agar.....12,0 g	
CN	Peptone de gelatine.....16,0 g Hydrolysate de caseine.....10,0 g Sulfate de potassium(Anhydre)(K ₂ SO ₄).....10,0 g Chlorure de magnesium(Anhydre)(MgCl ₂).....1,4g Glycerol.....10 ml Agar.....11,0 g ‡ 18,0 g supplément CN Bromure d'hexadécyltriméthyl ammonium (cètrimide).....0,2 g Acide nalidixique.....0,015 g	ND
GNAB	Peptone.....20,0 g chlorure de sodium.....5,0 g Agar.....20,0g	8-9
TCBS	Peptone de caseine.....5g Peptone de viande.....5g Extrait de levure.....5g Citrate de sodium.....10g Thiosulfate de sodium.....10g Chlorure de sodium.....10g Bile de bœuf dessechée.....8g Citrate ferrique.....1g Saccharose.....10g Bleu de bromothymol.....0,04g Bleu de thymol.....0,04g Agar.....14g	8,6
BCP salee a 6% pour vibrio	Peptone.....15,0 g Extrait de levure.....3,0 g Extrait de viande.....3,0 g Saccharose.....20,0g chlorure de sodium.....60,0 g Pourpre de bromocrésol.....25,0 mg Agar.....15,0g	7
Bouillon		
Lactosé au bromocrésol pourpre simple concentration (B.C.P.L S/C)	Peptone.....5g Extrait de levure.....2g Lactose.....5g Pourpre de bromocrésol.....25mg	6,9
Lactosé au bromocrésol pourpre double concentration	Peptone.....10g Extrait de viande.....4g Lactose10g Pourpre de bromocrésol50mg	6,9

(B.C.P.L D/C) :		
Rothe	Peptone.....20,0g Glucose.....5,0g Azide de Na.....0,2g NaCl.....5,0g Hydrogénophosphate de potassium.....2,7g Dihydrogénophosphate de potassium.....2,7g	7
Sélénite - cystine (SFB S /C)	Tryptone.....5g Lactose.....4g Phosphate disodique..... 10g Sélénite Acide De Sodium.....4g Cystine..... 100 mg	7,0
Sélénite - cystine (SFB D /C)	Tryptone.....8 g Lactose.....8 g Phosphate disodique.....20g Sélénite Acide De Sodium..... 10g Cystine.....200 mg	7,6
Schubert	Tryptophane..... 0,2g Acide glutamique..... 0,2g Sulfate de magnésium.....0,7g Citrate de sodium0,5g Sulfate d'ammonium.....0,4g Chlorure de sodium2g Peptone10g Mannitol 7,5g Phosphate disodique..... 4g Phosphate monopotassique0,66g	7,6
EVA Litsky	Peptone..... 20,0g Glucose..... 5,0g Chlorure de sodium..... 5,0g Phosphate bipotassique..... 2,7g Phosphate monopotassique..... 2,7g Azide de sodium..... 0,3g Ethyl violet.....0,5g	7
Eau peptonnée	Sodium Glycérophosphate.....19,0 g Peptone de soja.....5,0g Extrait de viande.....5,0g Lactose.....5,0g Peptone de viande.....2,5g Peptone de caséine.....2,5g Extrait de levure.....2,5g Acide ascorbique.....0,5g	ND

Annexes

Eau peptonée alcaline (E.P.A)	Peptone.....30g Chlorure de sodium.....30g	8,6
Muller Kauffmann	Tryptone9g Extrait de viande.....4,25g Bile de boeuf.....4,25g Chlorure de sodium.....2,5g Carbonate de calcium.....38g Thiosulfate de sodium.....30g Vert brillant.....9,5mg	7,3
vert de malachite	Tryptone.....4,5g Oxalate vert de malachite.....36mg Nacl.....7,2g KH ₂ RO ₄1,5g Mgcl ₂ -6H ₂ O.....36g	7,1-7,5
Eau peptonée tamponée	Peptone10g Chlorure de sodium.....5,0g Phosphate disodique anhydre.....3,5g Dihydrogénophosphate de potassium.....1,5g	7,2
Eau physiologique	Chlorure de sodium.....9g	

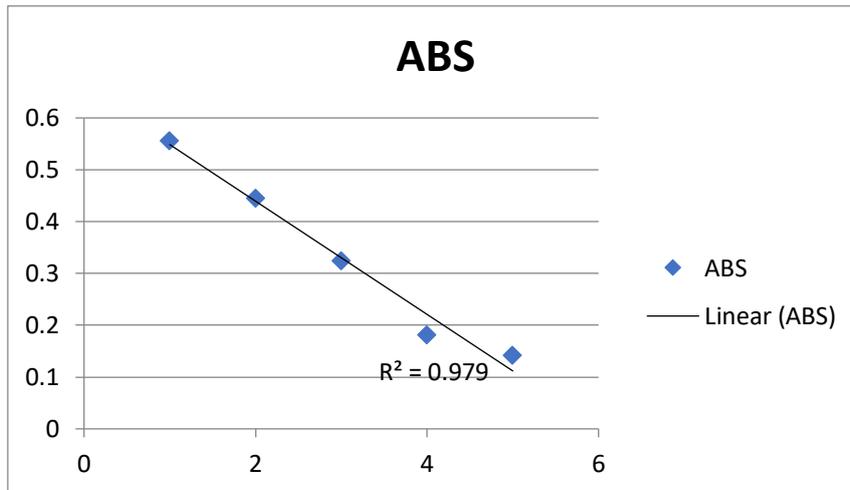
Annexe 4.

Tableau de Mac Grady.

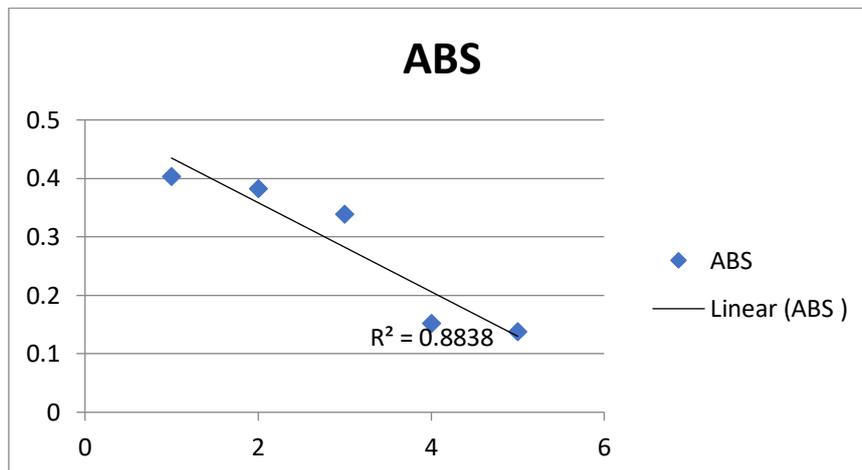
<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre Caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

Annexe 5.

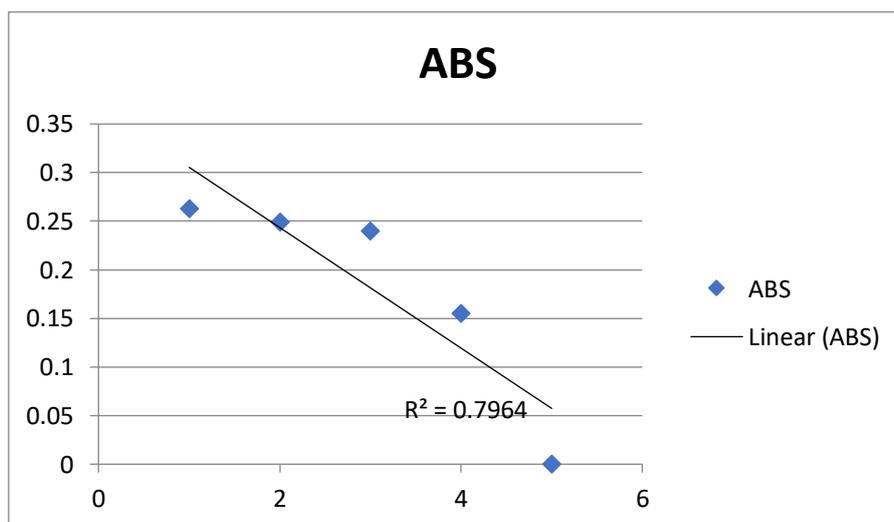
Courbe d'étalonnage.



Vibrionaceae.



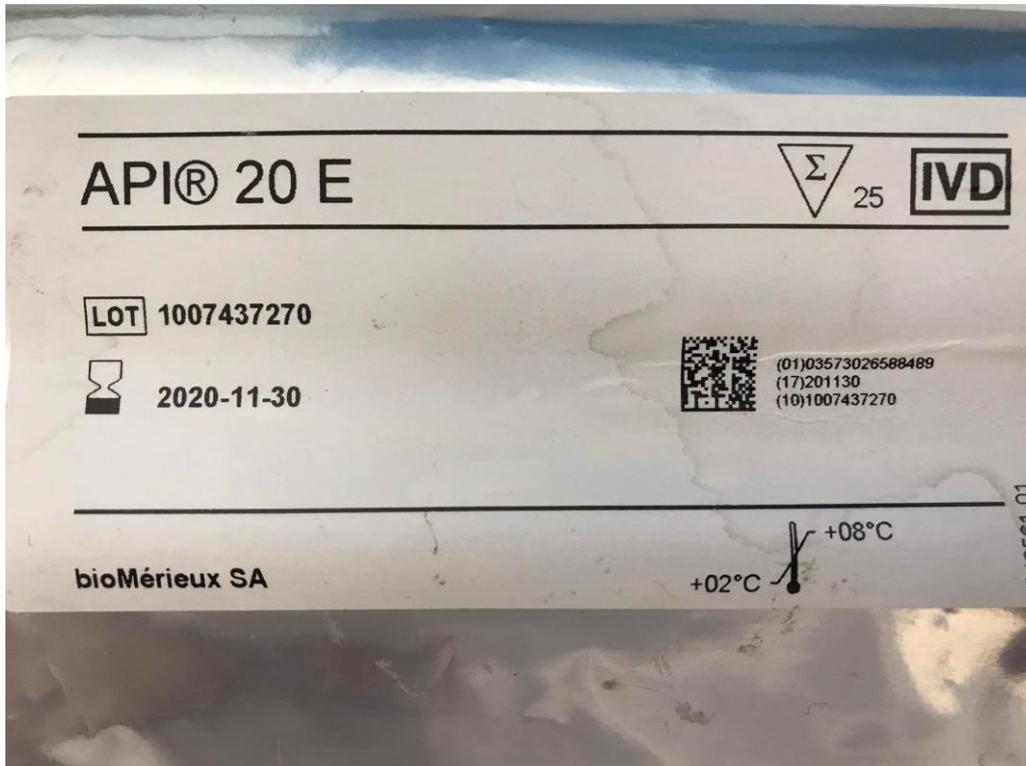
Salmonella.



Pseudomonas

Annexe 6.

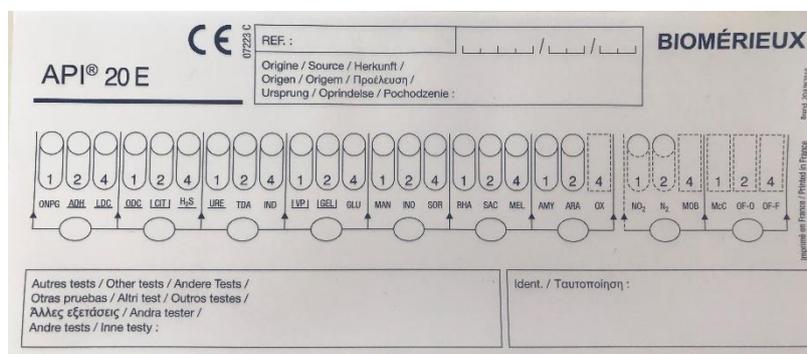
API20E



Numéro de lot de la galerie API20E utilisée.



API20E avant ensemencement.



fiche de lecture API20.

Tableau illustratif : Lecture de la galerie API20E.

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 7.

Diamètres des zones d'inhibition antibiogramme (en mm).

	Gen10	NO30	C30	RP15	NA30	FC10	AMC30	Cep30	AMX25	Cip50	HLG120
VBH1	25	30	30	21	22	19	35	20	30	25	30
VBH2	30	25	30	29	20	20	30	17	30	30	20
VBH3	30	21	30	25	20	22	30	15	30	30	26
VBH5	23	29	21	13	22	25	30	12	30	40	34
VB3	0	25	25	25	0	0	20	20	19	0	0
PBH1	25	0	0	1	0	0	17	0	0	40	25
PBH2	25	0	0	0	0	0	17	0	0	38	25
SBH1	16	0	0	0	29	0	18	0	0	0	19

Résumé

Dans les régions rurales/semi-arides, la disponibilité/qualité des eaux, constituent des préoccupations pour les habitants. L'objectif de cette étude est l'évaluation des contaminations des eaux souterraines, pour un effectif de 21 échantillons collectés, durant la période février-avril 2022, de différentes localités, de la province Bordj Bou Arreridj, Nord-Est d'Algérie par la réalisation des analyses bactériologiques (recherche/dénombrement des flores/espèces indicatrices des contaminations récentes/anciennes) qui a donné des résultats positives pour : Coliformes totaux(42%)/fécaux(48%), Entérocoques(48%), spores(48%). Espèces aquatiques pathogènes: Salmonella sp(57%), Vibrio sp (57%), Pseudomonas sp (57%). pH neutre, taux du Chlore compris entre 0 et 0,2mg/l aussi par recherche, caractérisation, identification des flores aquatiques dominantes (par culture sur différents milieux classiques/usage de galeries API 20E) qui a donné : *Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophili*, *Salmonella arizonae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*. L'exploration des profils antibiogrammes a exhibé: Sur 2 souches de Salmonella:62% Résistantes vis-à-vis de Ciprofloxacine, Amoxicilline, Acide Nalidixique, Cephalosine, Pristinomycine, Acide Fusique, Chloramphenicole. Sur 5 souches de Vibrions 13% Résistantes vis-à-vis de Gentamicine, Nitroxoline, chloramphenicol, acide Nalidixique, acide Fusique, Ciprofloxacine, HLG. Sur 2 souches de Pseudomonas: 64% Résistantes vis-à-vis Ciprofloxacine, Amoxicilline, Nitroxoline, Cephalosine, Acide Nalidixique, Pristinomycine, Acide Fusique, Chloramphenicole. L'Estimation de la survie/croissance des isolats aquatiques sur cinq catégories des eaux potables, traitées par cinq différents procédés physiques: (autoclavage/ chauffage/ filtration/ Ultra-violet/Ultrasons), contre un témoin (négatif), pendant 72heures; à montre la croissance exponentielle, survie aquatique au-delà de quatre jours. L'ensemble des eaux souterraines, semblent de qualité très en dessous des normes nationales/internationales, les antibiorésistances des souches aquatiques, l'aptitude des isolats a la survie/ croissance exponentielle, lors du stockage/conservation des eaux constituent un risque pour la santé publique. Il est souhaitable d'approfondir l'étude par d'autres explorations, sur un effectif élevé, étalé sur l'ensemble de la région.

Mots clés :Analyses, Contaminations, Eaux souterraines, Chlore, Flores bactériennes, Normes

Abstract

In order to evaluate the contamination of groundwater, for a number of 21 samples collected, during the period February-April 2022, from different localities, of the province Bordj Bou Arreridj, North-East of Algeria(rural,semi-arid areas) were the availability/quality of water is a concern for the inhabitants,bacteriological analysis by research and enumeration of flora,species indicative of recent/old contamination) was doneand it gaves: Coliforms (42%), fecal (48%), Enterococci (48%), Colistridias (48%). Aquatic pathogenic species: Salmonella sp (57%), Vibrio sp (57%), Pseudomonas sp (57%). neutral pH, Chlorine level: (0-0,2mg/l). Research, characterization, identification of the dominant aquatic flora (by culture on different classical media/use of API 20E galleries) gave: *Photobacterium damsela*, *Stenotrophomonas maltophili*, *Salmonella arizonae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*. The exploration of antibiogram profiles showed: On 2 Salmonella strains: 62% resistant for Ciprofloxacin, Amoxicillin, Nalidixic acid, Cephalosin, Pristinomycin, Fusic acid, Chloramphenicol. On 5 strains of Vibrio 13% Resistant for Gentamicin, Nitroxoline, Chloramphenicol, Nalidixic acid, Fusic acid, Ciprofloxacin, HLG. On 2 strains of Pseudomonas: 64% Resistant for Ciprofloxacin, Amoxicillin, Nitroxoline, Cephalosin, Nalidixic acid, Pristinomycin, Fusic acid, Chloramphenicol. Estimation of the survival/growth of aquatic isolates on five categories of drinking water, treated by five different physical processes: (autoclaving/heating/filtration/ultraviolet/ultrasound), against a witness (negative), for 72 hours; shows exponential growth, aquatic survival beyond four days. The quality of ground water as a whole appears to be well below national/international standards, the antibiotic resistance of aquatic strains, the ability of isolates to survive and exponentially grow, during storage,preservation of water constitute a risk to public health. It is desirable to deepen the study by other explorations, on a high number of water samples, spread over the whole region.

Key words:Analysis, Contaminations, Groundwater, Chlorine, Bacterial flora, Standards

ملخص

تعد وفرة ونوعية المياه الجوفية في المناطق الريفية الجافة والشبه الجافة محل انشغال السكان. الهدف من الدراسة هو تقييم مستويات تلوث المياه الجوفية ل 21 عينة تم جمعها من مناطق مختلفة من ولاية برج بوعريش شمال شرق الجزائر خلال الفترة الممتدة من فيفري - أبريل 2022. كانت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية عن طريق البحث عن المجاميع البكتيرية وأنواع مؤشرات التلوث الحديثة والقديمة النتائج كما يلي: القولونيات العليل (42%)، القولونيات البرازية (48%)، المكورات المعوية (48%)، الكلوستريديوم (48%).

اما بالنسبة للأنواع المانوية الممرضة: (57%) *Salmonella sp*، (57%) *Vibrio sp*، (57%) *Pseudomonas sp*. تراوحت مستويات الكلور ما بين: (0-1 ملجم / لتر)، ونتائج قراءة درجة الحموضة pH كانت محايدة.

من خلال البحث، تحديد الخصائص، والتعرف على أنواع البكتيريا الموجودة في الماء عن طريق وسائط إنبات كلاسيكية مختلفة واستخدام API20E galleries تم الحصول على ما يلي: *Photobacterium damsela*

Stenotrophomonas maltophili · *Salmonella arizonae* · *Pseudomonas aeruginosa* · *Burkholderia cepacia* · *Enterobacter cloacae*

وقد أظهرت نتائج ملامح المضادات الحيوية ما يلي: في سلالتين من السالمونيلا: 62% منها مقاومة. في 5 سلالات من *Vibrio* 13% منها مقاومة. في سلالتين من *Pseudomonas* 64% منها مقاومة.

فيما أجرينا تجربة لتتبع بقاء ونمو البكتيريا المعزولة من الماء في خمس أنواع من مياه الشرب، تم معالجتها بخمس عمليات فيزيائية مختلفة: (التعقيم / التسخين / الترشيح / الأشعة فوق البنفسجية / الموجات فوق الصوتية)، مقابل مياه غير معالجة (سليبي)، لمدة 72 ساعة؛ لإظهار النمو الأسي، والبقاء المائي لأكثر من أربعة أيام. مما سبق توصلنا إلى أن جميع هذه المياه الجوفية ذات جودة أقل بكثير من المعايير الوطنية والدولية، وأن مقاومة مضادات الحيوية للسلالات المانوية، وقدرة البكتيريا المعزولة من الماء على البقاء والنمو الأسي، أثناء تخزين والحفاظ على المياه تشكل خطراً على الصحة العامة. لذلك من المستحسن تعميق الدراسة بتجار بأخرى، على عدد أكبر من العينات، المنتشرة في جميع أنحاء المنطقة.

الكلمات المفتاحية:تحاليل، التلوث، المياه الجوفية، الكلور، المجاميع البكتيرية، المعايير.