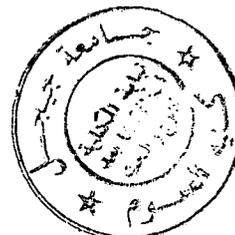


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT



MÉMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MAGISTER EN BIOLOGIE
OPTION : ECOTOXICOLOGIE

Thème :

**CONTRIBUTION À L' ETUDE BIOLOGIQUE DU POUVOIR
AUTO-EPURATEUR DE L'EAU : CAS DU MARAIS
D'EL-KENNAR – JIJEL-**

PRESENTE PAR : Hasna BOULKROUNE

Devant le jury :

Dr. M. LAHOUEL
Dr. M.HOUHAMDI
Pr. E. LEGHOUCHI
Dr. R. MOULAI

M.C. Université de Jijel
M.C. Université de Guelma
Pr. Université de Jijel
M.C. Université de Béjaia

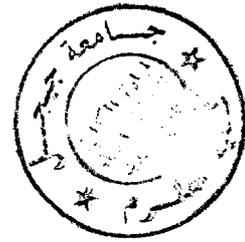
PRESIDENT
ENCADREUR
EXAMINATEUR
EXAMINATEUR

◇ Année Universitaire : 2007 – 2008 ◇

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET D'ENVIRONNEMENT



MÉMOIRE

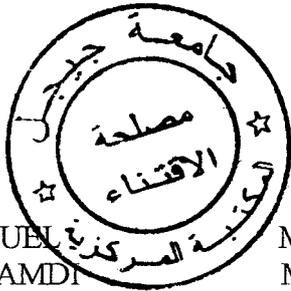
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MAGISTER EN BIOLOGIE
OPTION : ECOTOXICOLOGIE

Thème :

**CONTRIBUTION À L'ETUDE BIOLOGIQUE DU POUVOIR
AUTO-EPURATEUR DE L'EAU : CAS DU MARAIS
D'EL-KENAR**

PRESENTE PAR : Hasna BOULKROUNE

Devant le jury :



Dr. M. LAHOUEL
Dr. M.HOUHAMDI
Pr. E. LEGHOUCHI
Dr. R. MOULAI

M.C. Université de Jijel
M.C. Université de Guelma
Pr. Université de Jijel
M.C. Université de Béjaia

PRESIDENT
ENCADREUR
EXAMINATEUR
EXAMINATEUR

LISTE DES ABREVIATIONS

BCPL	Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol
BG-	Bactéries Gram négatif
BLBVB	Bouillon bilié lactosé au vert brillant
Cd	Cadmium
CFU	Cellule formant colonie
Cu	Cuivre
FTAM	Flore totale aérobie mésophile
H₂O₂	Eau oxygénée
H₂S	Sulfure d'hydrogène
Hg	Mercuré
Lac+	Entérobactéries fermentant le lactose
Lac-	Entérobactéries ne fermentant pas le lactose
mcp	Chemotaxis Protein récepteur of Methyl
Mn	Manganèse
(NH₂)₂CO	Urée
NaCl	Chlorure de sodium
Ni	Nickel
NO₃⁻	Nitrate
NO₂⁻	Nitrite
NPP	Nombre le Plus Probable
O.N.M	Office National de Météorologie
ONPG	Orthonitrophényl B-D-galactoside
Pb	Plomb
PCA	Plat Count Agar ou gélose standard pour dénombrement
RM	Rouge de méthyle
Sn	Étain
TDA	Enzyme tryptophane désaminase
TSI	Triple Sugar Iron
VP	Voges-Prauskauer
YP	Yeast-peptone
Zn	Zinc

LISTE DES FIGURES

FIG 01. CYCLE DE VIE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	14
FIG 02. COUPE SCHEMATIQUE NORD-SUD DE LA PARTIE SUD D'EL-KENAR (REGION FAZA).....	18
FIG 03. REPARTITION MENSUELLE EN MOYENNES DES PRECIPITATIONS DE LA WILAYA DE JIJEL (1996-2006).....	19
FIG 04. REPARTITION MENSUELLE EN MOYENNES DES TEMPERATURES DE LA WILAYA DE JIJEL (1996-2006).....	20
FIG 05. DIAGRAMME OMBROTHERMIQUE DE BAGNOULE ET GUAUSSEN.....	21
FIG 06. LOCALISATION DES STATIONS ECHANTILLONNEES AU NIVEAU DE LA ZONE D'ETUDE.....	24
FIG 07. MODE OPERATOIRE DE L'ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DE L'EAU DU MARAIS D'EL-KENAR.....	42
FIG 08. DETERMINATION DU POUVOIR BACTERIOLYTIQUE DE L'EAU D'EL-KENAR.	47
FIG 09. DETERMINATION DU POUVOIR BACTERICIDE.	47
FIG 10. ETUDE DU ROLE DE <i>Bdellovibrio</i> DANS LA LYSE DES ENTEROBACTERIES.....	48
FIG11. RESULTATS DE DENOMBREMENT DE LA FLORE TOTALE AEROBIE MESOPHILE (FTAM) DE L'EAU DU MARAIS.....	51
FIG 12. SOUCHE D' <i>Escherichia coli</i> ISOLEES SUR MAC CONKEY.....	54
FIG 13. SOUCHE D' <i>Enterobacter agglomerans</i> ISOLEES SUR MAC CONKEY.....	54
FIG 14. SOUCHE DE <i>Klebsiella oxytoca</i> ISOLEES SUR MAC CONKEY.....	54
FIG 15. SOUCHE DE <i>Staphylococcus aureus</i> ISOLEES SUR CHAPMAN.....	54
FIG 16. VUE SOUS LE MICROSCOPE OPTIQUE DE LA COLORATION DE GRAM DE QUELQUES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES.....	55

Fig 17. L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE D' <u>Escherichia coli</u> PAR L'API 20 E.	58
FIG 18. L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE D' <u>Enterobacter agglomerans</u> PAR L'API 20 E.....	58
FIG 19. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES ECHANTILLONS D'EAU NON FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES A LA LONGUEUR D'ONDE 546 nm EN FONCTION DU TEMPS.....	60
FIG 20. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES ECHANTILLONS D'EAU FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES A LA LONGUEUR D'ONDE 546 nm EN FONCTION DU TEMPS.....	61
Fig 21. VARIATION DES NOMBRES EN CELLULES VIABLES (COLIFORMES) DES ECHANTILLONS D'EAU NON FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES EN FONCTION DU TEMPS.....	63
FIG 22. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Escherichia coli</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	65
FIG 23. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Enterobacter agglomerans</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	66
FIG 24. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES DE <u>Klebsiella oxytoca</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	67
FIG 25. VARIATION des pourcentages DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Escherichia coli</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> , <u>Klebsiella oxytoca</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS	68

FIGURE 26. VARIATION DU NOMBRE DES CELLULES VIABLES DANS LES TROIS SUSPENSIONS BACTERIENNES CORRESPONDANT AUX TROIS BACTERIES (<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>) AJOUTEES CHACUNE A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE LA TROISIEME STATION (P3) EN FONCTION DU TEMPS.....	67
FIGURE 27. FORMATION DES PLAGES DE LYSE SUR LE TAPIS D' <i>Escherichia coli</i> DURANT LES SEPT JOURS (LA TROISIEME PURIFICATION).....	69
FIGURE 28. FORMATION DES PLAGES DE LYSE SUR LE TAPIS D' <i>Enterobacter agglomerans</i> DURANT LES SEPT JOURS (LA TROISIEME PURIFICATION).....	70
FIGURE 29. FORMATION DES PLAGES DE LYSE SUR LE TAPIS DE <i>Klebsiella oxytoca</i> DURANT LES SIX JOURS (LA TROISIEME PURIFICATION).....	71
FIGURE 30. LE SUIVIE DES VARIATIONS DES DIAMETRES MOYENES DES PLAGES DE LYSE FORMES PAR <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> SUR LES TAPIS BACTERIENNES DES TROIS BACTERIES (<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> et <i>Klebsiella oxytoca</i>) EN FONCTION DU TEMPS.....	72
FIGURE 31. VARIATIONS DES DENSITES OPTIQUES DES DEUX SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <i>Escherichia coli</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS	75
FIGURE 32. VARIATIONS DES DENSITES OPTIQUES DES DEUX SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <i>Enterobacter agglomerans</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS	76
FIGURE 33. VARIATIONS DES DENSITES OPTIQUES DES DEUX SUSPENSIONS BACTERIENNES DE <i>Klebsiella oxytoca</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS.....	76
FIGURE 34. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE D' <i>Escherichia coli</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS.....	78
FIGURE 35. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE D' <i>Enterobacter agglomerans</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS.....	79
FIGURE 36. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE DE <i>Klebsiella oxytoca</i> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> EN FONCTION DU TEMPS.....	80

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. REPARTITION MENSUELLE MOYENNES DES PRECIPITATIONS DE LA WILAYA DE JIJEL (1996-2006).....	18
Tableau 02. VARIATION DES TEMPERATURES MENSUELLES AU NIVEAU DE LA WILAYA DE JIJEL (1996-2006).....	19
Tableau 03. CHECKLIST DES ESPECES ANIMALES DE LA ZONE HUMIDE DE JIJEL -EL-KENNAR-.....	22
Tableau 04. RESULTATS DE DENOMBREMENT DE LA FLORE TOTALE AEROBIE MESOPHILE (FTAM) DE L'EAU DU MARAIS.....	51
Tableau 05. CARACTERES MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES DES COLONIES BACTERIENNES ISOLEES DE L'EAU DU MARAIS.....	53
Tableau 06. RESULTATS DE L'IDENTIFICATION PAR LA GALERIE BICHIMIQUE CLASSIQUE.....	58
Tableau 07. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES ECHANTILLONS D'EAU NON FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES A LA LONGUEUR D'ONDE 546 nm EN FONCTION DU TEMPS.....	60
Tableau 08. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES ECHANTILLONS D'EAU FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES A LA LONGUEUR D'ONDE 546 nm EN FONCTION DU TEMPS.....	61
Tableau 09. VARIATION DES NOMBRES EN CELLULES VIABLES (COLIFORMES) DES ECHANTILLONS D'EAU NON FILTRES DU MARAIS AUTOCLAVES ET NON AUTOCLAVES EN FONCTION DU TEMPS.....	62
Tableau 10. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Escherichia coli</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	64

Tableau 11. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Enterobacter agglomerans</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	65
Tableau 12. VARIATION DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES DE <u>Klebsiella oxytoca</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS EN FONCTION DU TEMPS.....	66
Tableau 13. VARIATION des pourcentages DE L'ABSORBANCE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Escherichia coli</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> , <u>Klebsiella oxytoca</u> AJOUTEES A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE CHAQUE STATION DES TROIS STATIONS.....	67
Tableau 14. VARIATION DU NOMBRE DES CELLULES VIABLES DANS LES TROIS SUSPENSIONS BACTERIENNES (<u>Escherichia coli</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> , <u>Klebsiella oxytoca</u>) AJOUTEES CHACUNE A 0.5 ml D'EAU DU MARAIS DE LA TROISIEME STATION (S3) EN FONCTION DU TEMPS.....	69
Tableau 15. LE SUIVIE DES VARIATIONS DES DIAMETRES MOYENNES DES PLAGES DE LYSE FORMEES PAR <u>Bdellovibrio bacteriovorus</u> SUR LES TAPIS BACTERIENNES DEZS TROIS BACTERIES(<u>Escherichia coli</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> et <u>Klebsiella oxytoca</u>) EN FONCTION DU TEMPS.....	75
Tableau 16. VARIATION DE LA DENSITE OPTIQUE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES D' <u>Escherichia coli</u> , <u>Enterobacter agglomerans</u> ET DE <u>Klebsiella oxytoca</u> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <u>Bdellovibrio bacteriovorus</u> EN FONCTION DU TEMPS.....	77
Tableau 17. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE D' <u>Escherichia coli</u> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <u>Bdellovibrio bacteriovorus</u> EN FONCTION DU TEMPS	81
Tableau 18. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE D' <u>Enterobacter agglomerans</u> EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE <u>Bdellovibrio bacteriovorus</u> EN FONCTION DU TEMPS.....	82

1

Tableau 19. VARIATION DE LA VIABILITE CELLULAIRE DE Klebsiella oxytoca EN ABSENCE (TEMOIN) ET EN PRESENCE DE Bdellovibrio bacteriovorus EN FONCTION DU TEMPS..... 83

Remerciement

J'aimerai en tout premier lieu remercier mon Dieu le tout puissant qui ma donné le courage et la capacité à fin d'accomplir ce modeste travail.

Puis J'aimerais adresser ma plus sincère gratitude à mon directeur de recherche, monsieur Houhamdi Moussa, maître de conférence de l'université de Guelma, un homme de science et de qualité passionné qui a à cœur la formation et la réussite de ses disciplines et que ce modeste travail leur témoigne ma reconnaissance pour tout ce qu'ils m'ont appris. Merci infiniment monsieur pour votre disponibilité, vos conseils, votre soutien et votre confiance qui m'ont beaucoup appris.

Je suis très reconnaissante envers le Professeur Leghouchi Essaid, doyen de l'université de Jijel, d'abord pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Et puis, pour m'a fait l'honneur d'examiner ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre vive gratitude et de notre profond respect d'avoir beaucoup investis à ressoudre nos nombreux problèmes. Hommage respectueux.

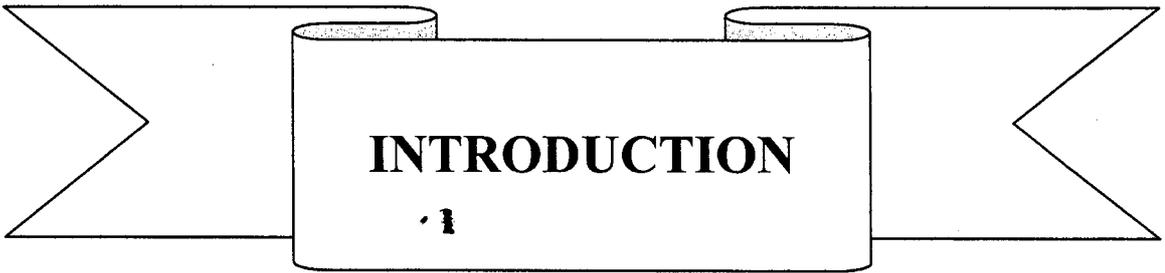
Je remercie vivement chacun de membre de jury qui m'ont fait l'honneur d'y prendre part et qui ont sacrifié de leur temps pour évaluer ce travail: Monsieur Lahouel Mesbahi, maître de conférence de l'université de Jijel, Monsieur Leghouchi Essaid, professeur de l'université de Jijel, Monsieur Moulai Riadh, maître de conférence de l'université de Bejaia. Sincères remerciements.

Je tiens à exprimer aussi mes vifs et sincères reconnaissances à tous mes enseignants qui m'ont suivi durant mon cycle de formation, du primaire à la post-graduation, et mes collègues dans la graduation et la post-graduation.

Je remercie également tous les membres de laboratoire de recherche et de biologie pour leurs convivialité, spécialement Yahia pour son aide et sa patience durant toute la période de la réalisation de mon travail dans le laboratoire.

Enfin et surtout, j'adresse ma plus profonde reconnaissance et tout mon amour à ma mère, mon père, mon mari, mes frères et mes sœurs qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances. Leur soutien indéfectible, leur appui à mes projets m'a permis de prendre les voies que je désirais dans ma vie, m'a permis de m'améliorer à chaque instant et m'incite à continuer et à réaliser mes rêves. Mille mercis à vous d'être si présent!

Hama Boulkroune



INTRODUCTION:

L'eau est l'élément constitutif majeur de la biosphère, elle entre avec des proportions et sous différentes formes dans la composition de nombreux éléments de la lithosphère. Symbole de la vie, elle a toujours été indispensable à toute activité humaine.

Actuellement, les eaux superficielles servent d'exécutoire aux rejets urbains, agricoles et industriels enrichies de différents polluants chimiques, d'agents pathogènes et responsables des maladies hydriques, qui affectent directement l'environnement et la santé humaine.

La dépollution des eaux superficielles, de ces micro-organismes et des éléments physico-chimiques qui les sursaturent reste un problème énorme en santé publique. En effet une surcharge minérale et organique corrobore avec une prolifération bactérienne intense et puis diminue naturellement dans l'eau. Cette qualité propre à ces milieux naturels est qualifiée de capacité d'auto-épuration.

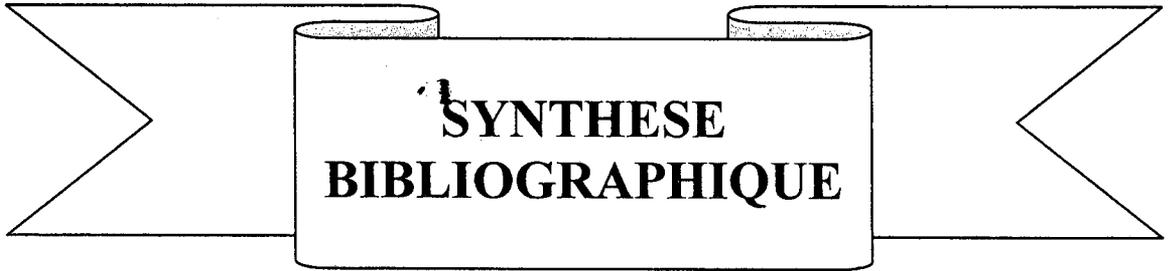
Ceux qui ont eu à étudier le problème de l'auto-épuration des eaux ont été inévitablement amenés à reconnaître à l'eau un pouvoir bactéricide. Ce phénomène de l'auto-épuration apparaît comme une défense naturelle contre la pollution démesurée des nappes d'eau par l'homme et par les animaux, sans lequel les épidémies d'origine hydrique seraient très fréquentes.

Le pouvoir bactéricide des eaux a été révélé par Giaxa [73]. Cet auteur supposait la présence dans l'eau d'un facteur bactéricide hypothétique, jamais mis en évidence. En effet, le rôle joué par les facteurs biologiques est très important. Il a été attribué la plus grande partie du pouvoir bactéricide des nappes d'eau superficielles à l'antagonisme bactérien. Enfin, Stolp et Petzold en [204] qui en voulant isoler des bactériophages de l'eau, ont réussi à mettre en évidence la présence dans l'eau de bactéries appartenantes à la famille des Vibrionnacées "*Bdellovibrio bacteriovorus*" qui sont de véritables rapaces bactériens. Ces bactéries représentent les plus petites cellules connues jusqu'à ce jour [73].

Dans cet objectif, nous avons essayé d'étudier le pouvoir auto-épurateur de l'eau du marais d'El-Kennar, zone humide appartenant à la wilaya de Jijel. Notre travail s'articule sur les points suivants:

- Détermination du degré de pollution biologique de l'eau du marais d'El-Kennar.
 - Détermination de la qualité microbiologique de cette eau (recherche microbienne et isolement de microorganismes pathogènes).
 - Dénombrement de la microflore aquatique du marais (germes totaux, coliformes, coliformes fécaux et streptocoques fécaux).
- Isolement, dénombrement et caractérisation du pouvoir bactéricide de l'eau du marais d'El-Kennar.
- Enfin, étudier au laboratoire le pouvoir lytique de ce microprédateur (*Bdellovibrio bacteriovorus*) vis-à-vis les coliformes les plus rencontrés dans l'eau.

1



1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE:

I. Pollution biologique:

En effet il existe deux catégories de polluants d'origine biologique: les microorganismes et les matières organiques biodégradables. Les microorganismes comprennent principalement des bactéries mais aussi des protozoaires, des champignons et des virus, ils proviennent tous des matières fécales dont ils représentent environ 10% du poids [21].

Les microbes pathogènes et leurs espèces indicateurs ont pour origine des sources diffuses et ponctuelles. En général, la pollution microbiologique a souvent pour source des eaux usées improprement traitées, des rejets urbains industriels, des eaux de ruissellement [97, 137, 142, 217], ou même proviennent des aérosols (allochtones)[71].

I.1. La microflore des milieux aquatiques:

Les microorganismes rencontrés dans l'eau captée de la nature sont de trois types: des germes typiquement aquatiques, des germes telluriques et des germes de contamination humaine ou animale [88]. La composition et l'activité des populations bactériennes sont fortement influencées par la pollution de l'environnement.

La majorité des bactéries aquatiques sont hétérotrophes. Les bacilles à Gram négatif sont prédominants (83 %) par rapport aux bactéries Gram positif (17 %) dont 11% sont des cocci et 6 % sont des bacilles [121].

I.1.1. Les microorganismes autochtones:

Ils constituent la flore naturelle de l'eau. Ils se multiplient et contribuent au chargement de la communauté.

Les bactéries autochtones appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Spirillum*, *Crenothri* [88].

I.1.2. Les microorganismes telluriques:

Les germes telluriques rencontrés dans l'eau sont des bactéries sporulées (*Bacillus*, *Clostridium*) ou appartenant au genre STREPTOMYCE et quelques fois des spores fongiques [88]. Ils sont véhiculés vers les écosystèmes aquatiques. Ils y survivent et dans certains cas peuvent se multiplier pour des périodes limitées [234].

I.1.3. Les microorganismes de pollution animale ou humaine :

Les germes de pollution humaine ou animale sont des germes souvent pathogènes et essentiellement d'origine intestinale. Il s'agit, d'Entérobactéries (*Escherichia coli*, coliformes, *Salmonella*, *Shigella*), des streptocoques fécaux et dans une moindre mesure de *Clostridium Perfringens* et de *vibrio Cholerae* [71].

I.2. Dispersion et devenir des bactéries dans l'eau :

Lors du décharge des microorganismes dans l'eau, ils seront rapidement adsorbés de toute taille (plancton, particules minérales, débris organiques,...etc). Cette adsorption a pour résultat la diminution apparente dans le nombre de microorganismes par unité de volume [23]. Ces adsorbants sont ensuite dilués, dispersés, floculés, sédimentés ou transportés vers les bords ou les côtes. Les grosses particules en tendance à se sédimenter rapidement en fixant les micro-organismes sur lesquels ils sont adsorbés [49, 141]. Alors que les fines particules vont subir des processus de diffusions par lesquels elles vont transporter des grandes quantités de micro-organismes avec eux [18, 67]. La majeure partie de la charge bactérienne des eaux résiduaires, soit environ 98,5 %, suit les particules de faibles dimensions.

Ainsi, c'est en surface et au large des émissaires que l'on retrouvera la plupart des bactéries rejetées, alors que sur le fond adjacent, la charge bactérienne sera d'extension relativement plus faible [7].

II. L'autoépuration:

Généralement, l'autoépuration est définie comme un ensemble de processus biogéochimiques par lesquels un biotope aquatique pollué retrouve après l'arrêt des rejets et un laps de temps variable sa pureté initiale dont il contribue de ce fait à la stabilité du système aquatique [146]. D'un autre côté, le pouvoir auto-épurateur est défini

[145]. D'un autre côté, le pouvoir auto-épurateur est défini généralement comme la capacité d'un biotope aquatique donné à éliminer spontanément les polluants des eaux qu'il renferme [154].

De nombreux investigateurs ont rapporté que l'eau douce exhibe une activité bactéricide particulièrement envers les bactéries entériques [32, 38, 130, 190]. En effet, les eaux de surfaces ne constituent pas l'environnement naturel pour la plus part des micro-organismes telluriques particulièrement celles dont l'origine est le tractus intestinal humaine ou animal à sang chaud, leurs concentrations initiales ne restera pas constantes mais tend progressivement à disparaître. Ce phénomène a été appelé le **pouvoir auto-épurateur de l'eau** [221].

D'après plusieurs études faites au laboratoire, il est admis que des facteurs physico-chimiques variés (lumière, température, pH, toxicité des métaux lourds...) ont un impact significatif sur la mortalité bactérienne, alors que Campanille [29] ainsi que Guelin [81] considèrent que le pouvoir bactéricide des eaux terrestres est essentiellement dévolu aux facteurs microbiologiques. Les mécanismes biotiques (compétition, allélopathie, prédation..) constituent le foyer des recherches récentes et qui sont largement impliqués dans le pouvoir bactéricide des eaux naturelles [131, 170].

II.1. Mécanismes d'auto-épuration:

II.1.1. Quelques mécanismes physico-chimiques d'auto-épuration de la pollution bactérienne:

A. La lumière:

Les radiations solaires sont un facteur très important responsable de l'inactivation microbienne, cette dernière est proportionnelle avec l'intensité des radiations, le temps d'exposition à celles-ci [65], dont l'effet létale augmente avec l'intensité [236]. Plusieurs auteurs ont déduit que la lumière a un effet négatif sur les cellules d' *E. coli* dans les eaux douces [11, 12, 13, 64, 131] dont elle cause des effets sublétales du système enzymatique du catalase d'*E.coli* en le rendant autrement sensible à des concentrations de peroxyde qui sont normalement inoffensives [105].

B. La température:

L'effet de température dépend étroitement de l'organisme testé. Certaines bactéries ou virus tel *Salmonella thyphi* et certain coliphages sont plus sensibles aux températures élevées que d'autres tel *Shigella sp.* L'espèce de *vibrio cholera* est généralement plus sensible aux basses températures dont elle est généralement indétectable dans l'environnement marin à des températures au dessous de 15 à 18 ° C [134, 236]. Du même, la survie d' *E.coli* dans les eaux est très limitée à des températures variantes de (5 à 15 ° C), et plus prolongée dans les eaux chaudes (>25 ° C) [194].

C. Les métaux lourds:

Généralement le pourcentage de la survie des bactéries hétérotrophes diminue proportionnellement avec l'augmentation de concentrations en métaux lourds (Sn, Cd, Cu, Ni, Pb, Hg, Mn, Zn) en raison de leur toxicité spécifique sur de nombreux organismes [101, 102, 147]. Selon Savage [171] les métaux lourds constituent l'un des facteurs contribuant au processus de purification des eaux car ils sont capables d'inactiver les systèmes enzymatiques des organismes cibles. Dans les conditions naturelles, l'existence des substances organiques, l'absorption des métaux lourds tel le cadmium sur les particules, la formation des ligands et la chélation sont des facteurs qui peuvent réduire leur toxicité [9].

D. Les conditions nutritionnelles:

La quantité des nutriments disponibles est un autre facteur influant le phénomène d'auto-épuration. L'eau de mer est un milieu oligotrophe dont la matière organique constitue un facteur limitant la croissance des micro-organismes. La présence de matière organique dans l'eau dont l'origine est l'eau d'égout stimule la croissance des bactéries, par conséquence elle compense partiellement l'effet bactéricide des autres facteurs négatifs [188].

E. Autres facteurs:

Il est à noter que la dilution, la sédimentation, la pression jouent un rôle très mineur ainsi que l'influence du pH et de l'oxygénation des eaux est encore discutée [8].

II.1.2. Quelques mécanismes biologiques d'autoépuration de la pollution bactérienne:

A. Phénomènes de lyse et d'antibiose:

Après leur croissance dans un milieu favorable les bactéries meurent puis disparaissent sous l'action des enzymes autolytiques: c'est l'autolyse. De nombreuses espèces bactériennes produisent des enzymes glucidolytiques ou protéolytiques actifs vis à vis d'autres bactéries. De même, de nombreuses espèces bactériennes aquicoles produisent des antibiotiques [122].

En effet, certains antibiotiques synthétisés par la biomasse phytoplanctonique servent pour maintenir l'activité bactériostatique ou bactéricide dans l'eau [8].

B. Phénomènes de parasitisme:

B.1. Bactériophages:

Les bactériophages sont considérés aussi comme des facteurs biotiques affectants l'élimination des bactéries dans l'environnement naturel. Il peuvent être responsables du déclin des bactéries entériques et autochtones [130, 183].

Les phages causent généralement la mort des cellules bactériennes, en produisant des plages de lyse sous les conditions optimums nécessaires pour la croissance bactérienne. Il est difficile de spécifier le degré de contribution des bactériophages dans le processus de purification de l'eau [18].

C. Phénomène de prédation:

La prédation a l'importance extrême dans la balance écologique et le transfert d'énergie. Ce phénomène est bien étudié dans le règne animal mais moins décrit au niveau microbien. En effet les recherches sur la prédation bactérienne sont préformées avec les phages, les protozoaires et les métazoaires prédateurs des bactéries [184]. Maintenant il est admis que la prédation des bactéries est un facteur majeur dans le maintien de la biodiversité des procaryotes et dans l'écologie microbienne en général [218].

C.1. Protozoaires:

Les protozoaires ont un rôle efficace soit directement ou indirectement dans les processus de purification, en éliminant la matière organique et les bactéries dans l'environnement [126, 130, 139].

Il a été montré que les protistes flagellés ou ciliés ingèrent et digèrent certaines bactéries entériques dans les eaux douces et marines [74].

Les ciliés à leur tour sont d'excellents exemples de prédateurs qui englobent leur proies bactériennes, dont un seul cilié peut ingérer de 60 à 70 bactéries par heure [152].

C.2. Les bactéries prédatrices:

Un ensemble intéressant de bactéries prédatrices est actif dans la nature tel *Bdellovibrio*, *Vampirococcus* et *Daptobacter*. Chacun de ceux-ci a sa technique spécifique pour attaquer une bactérie sensible [121].

C.2.1. *Bdellovibrio bacteriovorus*:

C'est une bactérie qualifiée de parasite obligatoire ou micro-prédatrice capable de se multiplier aux dépens des bactéries aquicoles. Elle fut considérée par de nombreux auteurs comme l'agent auto-épurateur par excellence [121]. Shilo suggère que cette bactérie joue un rôle significatif dans la dynamique écologique des populations microbiennes dans la nature [184].

III. *Bdellovibrio bacteriovorus* :**III.1. Position taxonomique:**

Sur la base des caractères morphologiques, *Bdellovibrio bacteriovorus* peut appartenir à deux familles, soit à la famille des Vibrionacées au genre *Vibrio* [178, 179]; soit à la famille des Spirillacées, genre *Campilobacter* [180].

Il a été montré d'après les analyses des oligonucléotides 16 SRNA de ce prédateur, une parenté étroite de *Bdellovibrio bacteriovorus* avec les bactéries sulfate-réducteurs et les Mixobactéries. De ce fait, ils ont proposé le classifie dans le groupe de Deltaprotéobactéries et

la famille des Spirilaceae avec les Mixobactéries et les sulfato-réducteurs [91, 103, 230].

Récemment les *Bdellovibrio* sont reclassés dans la famille de Bdellovibrionaceae sous l'ordre de Bdellovibrionales [10].

III.2. La découverte de *Bdellovibrio*:

La première bactérie prédatrice connue est découverte accidentellement en 1962 à Berlin par STOLP et HEINZ. C'est au cours d'un essai d'isoler les bactériophages du sol, qu'ils ont noté la présence d'une bactérie attaquant *Pseudomonas* au bout de trois jours, puis ils ont classé dans un nouveau genre qui est celui de *Bdellovibrio*. Les études sur cette minuscule bactérie et leur interaction avec les bactéries hôtes ont été effectuées ultérieurement en 1963 par Stolp et Starr [205]. Le nom *Bdellovibrio* vient du grec dont la signification est comme suit (*Bdello*: sangsue, *Vibrio*: incurvé, *bacterio*: bactérie, *Vorus*: mangeur [128]).

III.3. Caractères morphologiques de *Bdellovibrio*:

Ce sont des organismes Gram négatif mesurant 0.1 à 0.3 μm de diamètre et 0.4 μm de longueur, aérobies strictes, cependant il est possible de noter des écarts légers dans la forme et la grandeur.

Le caractère le plus significatif de cette bactérie est l'existence d'une phase de croissance particulière qui s'effectue dans l'espace périplasmique des bactéries hôtes [27, 166, 230].

Il est démontré par Abram et Shilo [2] que *Bdellovibrio* présente plusieurs fibres rigides émergents ressemblant à des ongles dans l'extrémité antérieure et qui sont impliqués dans le processus d'attache à la cellule hôte. Le matériel nucléaire occupe les deux tiers du volume bactérien et l'enveloppe cellulaire apparaît limitée à l'extérieur par trois couches: deux feuillets denses séparés par un feuillet clair qui présentent un aspect très tourmenté [30, 199].

En effet, la bactérie prédatrice *Bdellovibrio bacteriovorus*, se déplace rapidement par rotation d'un seul flagelle polaire avec une vitesse atteignant jusqu'au 35 $\mu\text{m s}^{-1}$ pour la souche 109J et 160 $\mu\text{m s}^{-1}$ pour la souche HD100 [159].

Ce flagelle sera perdu pendant la phase d'attache ou immédiatement avant l'entrée à la cellule de la proie [214].

La largeur du flagelle est généralement uniforme (d'approximativement 28 μm) [156].

En effet, le flagelle a comme origine la paroi cellulaire. Il a une forme morphologique ondulée tendue complexe et constituée de deux portions: l'une est centrale et l'autre est un fourreau externe composé à leur tour de deux majeures bandes de protéines du flagelline, dont l'un est d'approximativement 29.5 Kdalton et l'autre d'approximativement 28 Kdalton. L'épaisseur du fourreau est d'approximativement 7.5 μm [2, 95, 179, 215].

III.4. Mécanisme de prédation:

Pour que le *Bdellovibrio* infecte la proie, il doit y pénétrer la membrane cellulaire externe de la paroi ainsi que la couche de peptidoglycane. La pénétration est assurée par une action mécanique due au mouvement rapide du flagelle de *Bdellovibrio* accompagnée de réactions enzymatiques variées. Ces dernières jouent un rôle significatif dans le processus de pénétration [55, 96, 214].

Les enzymes impliqués sont :

- ✓ Lipopolysacharidase.
- ✓ Glycanase (solubilise rapidement 10% N-acetyl glucosamine durant la pénétration).
- ✓ Déacetylase (déacetylation de peptidoglycane en le rendant plus loin insensible à l'attaque par glycanase).
- ✓ Péptidase: il est exhibé par toutes les souches de *Bdellovibrio* et sert à casser les chaînons croisés de peptidoglycane [221].

La mort rapide de la cellule proie et la capacité de *Bdellovibrio* de vivre dans l'espace périplasmique a fait pousser les recherches sur les mécanismes de ces phénomènes. En effet, il est admis que *Bdellovibrio* provoque la mort de la cellule hôte, en implantant sa protéine membranaire dans la membrane cytoplasmique de la cellule proie [220], ou en

provoquer immédiatement la chute du potentiel membranaire de la cellule cible permettant ainsi l'écoulement du cytoplasme dans la partie périplasmique afin de faire nourrir le prédateur [219].

III.5. Ecologie du *Bdellovibrio*:

Cette bactérie est abondante dans la nature [75]. Elle se retrouve typiquement dans le sol, les eaux d'égout, les eaux douces, les mers et les sédiments [48, 63, 103, 110, 230].

Bdellovibrio joue un rôle très important dans le processus écologique d'autoépuration en diminuant le nombre des bactéries pathogènes dans les systèmes aquatiques [117, 161, 195].

En effet, la colonisation des surfaces par les biofilms présente une stratégie importante dans l'écologie de *Bdellovibrio* et un mécanisme important pour la survie dans les écosystèmes aquatiques [106, 107, 239, 240]. Comparativement à d'autres bactéries, elle s'y trouve à des concentrations relativement moindres dans la nature.

Bragimov a trouvé que les vaches, chevaux, cochons, et les canards hébergent cette bactérie dans leurs intestins. De même les gents présentant un bon état sanitaire peuvent porter cette bactérie dans les intestins [21, 50, 51].

III.6. Cycle biologique du *Bdellovibrio* :

Le cycle de vie de *Bdellovibrio bacteriovorus* est résumé dans la figure 01.

III.6.1. La phase d'attaque:

Dans cette phase, le prédateur se déplace rapidement et peut faire jusqu'au 100 rotations par seconde (équivalent à une distance d'un mètre par deux heures afin de chercher la proie [167]). Au cours de cette phase, il n'existe aucune croissance ou réplication d'ADN [219]. La connaissance et l'invasion de la cellule hôte par *Bdellovibrio* est un processus complexe nécessitant des cascades de multiples signaux [132, 211]. Le chimiotactisme et la rapidité du déplacement du prédateur constituent des points critiques pour la survie de celui-ci dans les habitats naturels [207].

La rapidité du déplacement est générée par un seul long flagelle polaire fourré [114].

La phase d'attaque tire profit d'un large répertoire de protéines responsables du phénomène de chimiotactisme servant à sentir les différents signaux chimiques pour pouvoir localiser la proie. Les recherches récentes ont montré que la souche *Bdellovibrio bacteriovorus* 109 J possède au moins 13 mcp (Chemotaxis Protein récepteur of Methyl) [59].

III.6.2. La phase d'attache:

Cette étape suit la phase de reconnaissance et dure de 15 à 30 minutes [1] et peut être réversible [28]. En effet pour effectuer une liaison irréversible, le prédateur doit former une jonction très forte avec la cellule proie, puis la cellule cible commence à tourner autour d'elle même. Ensuite les deux cellules: prédateur-proie tournent comme une seule unité, et à ce moment le prédateur propulse le microbe en avant à la vitesse maximale [76].

Il est montré que le prédateur attaque la proie par l'extrémité antérieure qui est opposée à celle du flagelle dont plusieurs fibres rigides émergent de cette extrémité et servent à s'accrocher sur la couche extérieure de la proie, par suite la membrane cytoplasmique sera détruite [2, 174].

III.6.3. La phase de pénétration:

Dans cette étape le prédateur commence à percer le site gonflé de l'enveloppe cellulaire de l'hôte [28], et forme un pore en appliquant une pression [197] et en sécrétant des enzymes qui servent à casser la membrane externe et la couche de peptidoglycane de l'hôte [217]. Ces enzymes sont probablement associés avec des mésosomes antérieures et servent à relâcher la jonction entre les deux couches permettant au prédateur d'entrer sans entraîner la couche de la paroi de l'hôte avec lui [229]. Ceci est suivi d'une désorganisation complète de l'organisation interne de la cellule hôte [197].

La violente collision suivie des mouvements rotatifs sont suggérés comme des facteurs responsables de la formation de pore [203, 206]. Dernièrement, il a été suggéré que le pili constitue un autre moyen pour l'entrée de *Bdellovibrio* [159].

L'étape de pénétration sera suivie automatiquement par l'inactivation du métabolisme cellulaire de l'hôte et par la perte de sa viabilité [184]. Le prédateur demeure ensuite dans l'espace périplasmique de la cellule envahie [164].

III.6.4. La phase de croissance:

Pendant la phase de croissance, le *Bdellovibrio* reste immobile et utilise des enzymes pour digérer le périplasme de la cellule hôte en le dégradant à des composants macromoléculaires. Cette digestion assure l'énergie nécessaire pour la croissance et la réplication du prédateur [93, 201].

La croissance se manifeste par l'élongation d'un filament spiral [199, 181, 204], qui est un caractère commun avec la famille des spiralés [1]. L'extension de ce filament se développe généralement en cinq à dix fois la longueur de la cellule infectée, et peut même atteindre jusqu'au 20 fois la taille initiale. Elle se produit à l'extrémité non flagellaire du *Bdellovibrio* [27, 169].

Généralement la cellule infectée gonfle et perd l'intégrité osmotique, cette forme se nomme sphéroplaste ou bdelloplaste [187, 193]. Le bdelloplaste est limité par une seule membrane lisse qui est la couche généralement associée avec le lipopolysaccharide de la paroi cellulaire de l'hôte. Cette couche offre la protection contre les dommages induits par la photo-oxydation, l'attaque des phages ainsi qu'elle augmente la résistance contre les polluants et assure la rétention des nutriments disponibles [61].

III.6.5. La phase de segmentation et libération:

Le mécanisme de division consiste en une division asymétrique d'un long filament se traduisant par des phénomènes de dépression de la paroi cellulaire dans les régions de division [34, 202]. Les flagelles sont formés au cours de la régénération de la paroi cellulaire mais avant la fragmentation du filament [100].

Les mésosomes jouent un rôle important dans le processus de division [170]. Une fois que la cellule envahie est pleine avec la nouvelle génération de prédateurs, la paroi du bdelloplaste sera lysée pour libérer les nouvelles cellules jeunes qui sont prêtes à attaquer d'autres bactéries [115, 167]. Le cycle de vie dure généralement de trois à quatre heures [136].

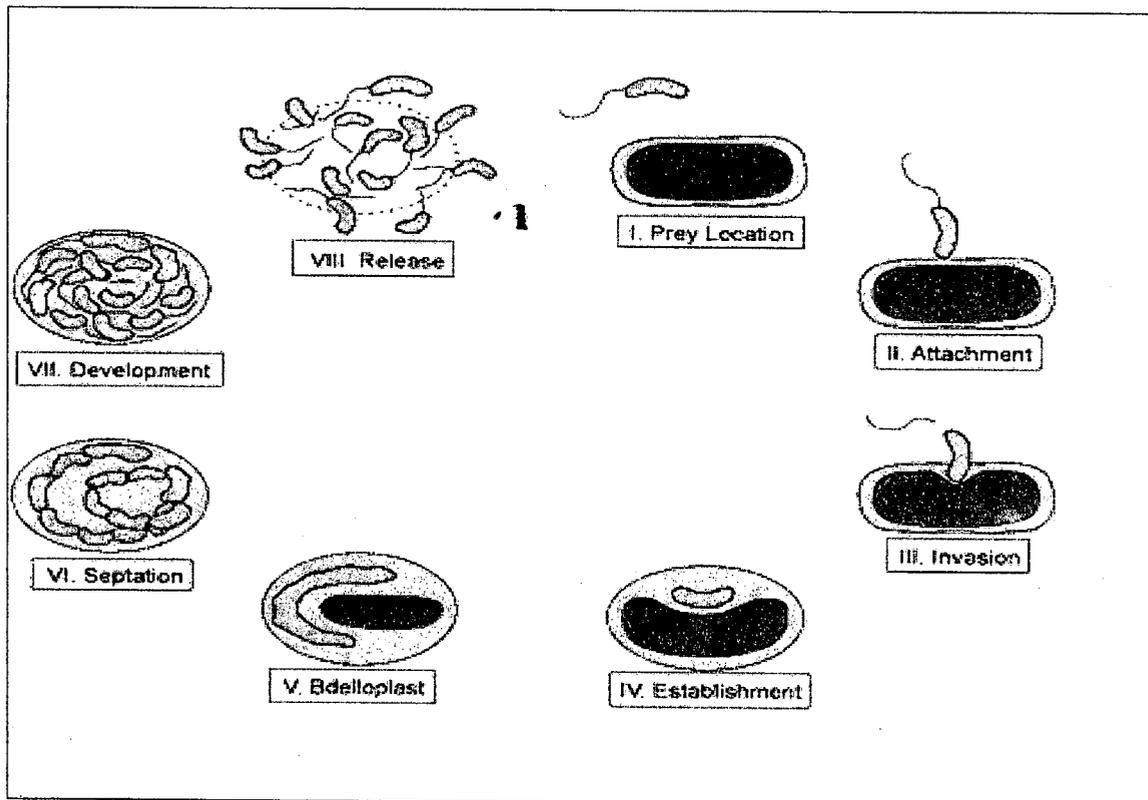


Fig 01. Cycle de vie de *Bdellovibrio bacteriovorus* [115].

IV. Présentation de la zone d'étude:

La zone marécageuse appelée communément **Ghedir Beni-Hamza** (zone humide) se situe à une vingtaine de kilomètres à l'Est de la ville de Jijel dans la Daïra de Chekfa, dans le secteur de Faza au sud du village d'El-Kennar et auquel elle est rattachée administrativement.

El-Kennar est limité au nord par la mer méditerranéenne, à l'Est par la commune de Sidi Abdel Aziz, au Sud et à l'Ouest par la commune de Chekfa.

Ce marais est localisé dans la partie orientale de la plaine alluviale de Oued-Nil, qui fait partie des plaines côtières qui s'étendent le long du littoral et qui appartiennent au bassin néogène de Jijel. Ces plaines sont entourées dans ses secteurs méridionaux de reliefs de la petite Kabylie.

La plus grande partie des sols des plaines, proprement dites, sont soumises à des excès d'eau d'origines diverses. Les fortes précipitations arrosant ces plaines sont à l'origine de l'engorgement des sols peu perméables.

En aval de la plaine alluviale, les fortes précipitations contribuent par ruissellement à engorger les zones basses, les vallées, les dépressions fermées tel Ghedir Beni-Hamza [123].

Dans le centre de ce Ghedir, l'eau persiste pendant la plus grande partie de l'année.

La surface planimétrique du marécage obtenue à partir de la carte topographique de la région (NJ-31-VI-24 Est) est de 50 ha dont les coordonnées Lambert sont:

- Longitude : 5° 55' 00"-6° 00' 00" Est.
- Latitude : 36° 47'30"-36° 50'00" Nord.
- Altitude : 25-30 m.

IV.1. Etude géologique

Les données des forages et celles des sondages mécaniques géophysiques du secteur sud d'El-Kennar, ont révélé la connaissance des différents termes lithologiques du marais étudié et leur dispositions structurales qui peuvent être synthétiser comme suit:

-**Une mince couche** de terre végétale (0-2 m).

- **Les alluvions récentes** qui sont représentées pour l'essentiel de débris de schistes, de galets, de graviers, de sables et d'argiles. Ces alluvions forment l'aquifère de la nappe superficielle de la plaine d' Oued Nil.

- **Les marnes bleues du Miocène terminal (Sahélien)** particulièrement exprimés dans la partie méridionale de la vallée d'Oued-Nil d'une épaisseur variante de 20 et 30 mètres [50].

-**Les formations détriques du Miocène supérieur (Pontien)** comprenant de cailloutis, des galets et des argiles. Ces formations d'une épaisseur variante entre 30 et 50 mètres (données de sondage).

-**Les marnes grises du miocène inférieur (Burdigalien)** qui représentent le substratum de la nappe aquifère de la vallée de Oued Nil et qui reposent en discordance sur les formations de l'oligo-Miocène Kabyle d'une épaisseur variant entre 300 et 500 mètres.

-Les formations de l'oligo-Miocène Kabyle (l'O-M-K) qui forment la couverture sédimentaire transgressive du socle Kabyle [19, 157, 158] et qui sont constituées par des formations détritiques comportant trois termes:

- Un terme de base, formé de conglomérats reposant en discordance sur le socle.
- Un terme médian, comportant des grès micacés à débris de socle associés à des pélites micacées.
- Un terme sommital formé de sillexites.

- Les formations métamorphiques du socle Kabyle qui forment la limite méridionale de la zone étudiée. Elles sont représentées par des schistes et des psammites comme elles forment la plus basse unité géologique de la région [50].

IV. 2. Etude géomorphologique:

Le bureau d'étude FANDASIOL nous a permis de distinguer que le site Faza présente une configuration topographique assez contraignante. Le Nord étant une zone où dominant les pentes les plus faibles, notamment inférieures à 21%, les zones à pente inférieures à 5% se localisent surtout à l'extrême Nord [56].

Les pentes très fortes se localisent dans la partie Est de Faza. Elles coïncident avec les massifs élevés constitués des formes métamorphiques très altérées. La contraignante ici est liée à la rupture des formations superficielles et aussi à la pente élevée.

D'une manière générale, le site Faza présente une disparité nette entre le Nord à faibles pentes favorables donc aux actions d'aménagement, la condition qui s'impose est le drainage des eaux qui pourraient stagner au niveau du fond de la plaine (marais).

À cette disparité topographique se greffe une disparité morphologique. La première zone correspond à une morphologie de glaciaires et de plaines alors que la seconde étant des monts plus ou moins élevés présentant parfois des versants à pentes très abruptes [56].

IV.3. Aperçu hydrologique:

Les principaux cours d'eaux proches de la région étudiée sont situés à l'Ouest, qu'ils s'agissent de l'oued Nil et de son affluent Oued Saayoud.

La partie orientale du marécage est connectée aux Chaâbet à l'écoulement temporaire qui viennent y déverser leurs eaux (Chaâbet Toussel, Chaâbet El-Bechir et Chaâbet Boutata).

IV .4. Etude hydrogéologique:

La région de Jijel est riche en ressources hydriques. En général le bilan hydrique des plaines côtières peut être réparti en: ruissellement (42%), précipitations et évaporations réelles (53%).

Les données de la campagne de prospection géophysique réalisé par Algeo [4] dans la plaine alluviale de Oued Nil ont permis la détermination de trois types d'aquifères:

- Un aquifère superficiel formé par les horizons sableux et graveleux des alluvions récentes et dont le substratum est formé par les marnes bleues imperméables du sahélien.

Cet aquifère comporte une nappe perchée temporaire. Cette nappe est dans son ensemble libre et son épaisseur varie de 2 à 10 mètres. Le niveau piézométrique de cette nappe superficielle est fonction des précipitations. Le niveau statique est d'environ 2.5 mètres dans la partie orientale.

- Un aquifère formé par les dépôts continentaux grossiers du Pontien. D'après les données géologiques, cet aquifère est représenté par des alluvions anciennes d'environ 35 mètres.
- Un aquifère dans les formations métamorphiques. En effet, les formations métamorphiques les plus souvent fracturées par les accidents tectoniques présentent une certaine perméabilité.

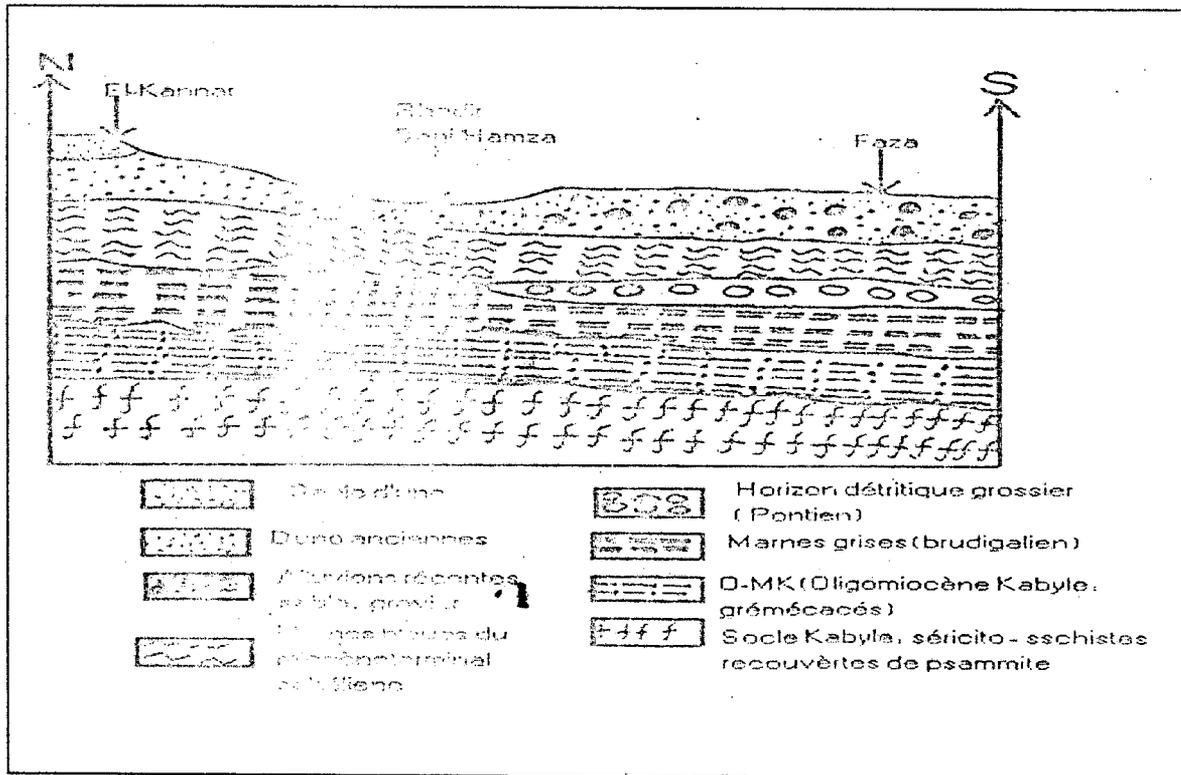


Fig 02. Coupe Schématique Nord- Sud de la partie Sud d'El-Kennar (Région Faza) [56].

IV. 5. Aspect socioéconomique:

La région d'El-Kennar est essentiellement à vocation agricole. Elle participe pour une grande part à la production de la wilaya de Jijel. Entre autre, nous pouvons observer des activités de pâturage autour du marais.

IV.6. Etude Climatologique:

Les conditions climatiques plus que d'autres facteurs jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau et des écoulements de surface et de profondeur [36].

L'analyse climatique réalisée à partir des données de la région de Jijel établie par l'office national de météorologie (O.N.M), nous donne un climat du type méditerranéen, (un été chaud et sec et un hiver doux et humide), avec des précipitations annuelles entre 1000 et 1400 mm, ce qui qualifie la région d'être une des plus arrosées d'Algérie.

IV.6.1. Pluviométrie:

Dans le tableau N°01, nous avons regroupé les moyennes des précipitations mensuelles de dix années consécutives soit de 1996 à 2006.

Tab. 01. Répartition mensuelle en moyennes des précipitations de la wilaya de Jijel (1996-2006).

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Moy
Période 96-06	160.2	107.3	45.8	73.8	49.5	13.77	4.85	20.22	89.5	63.7	172.6	191.2	99.4

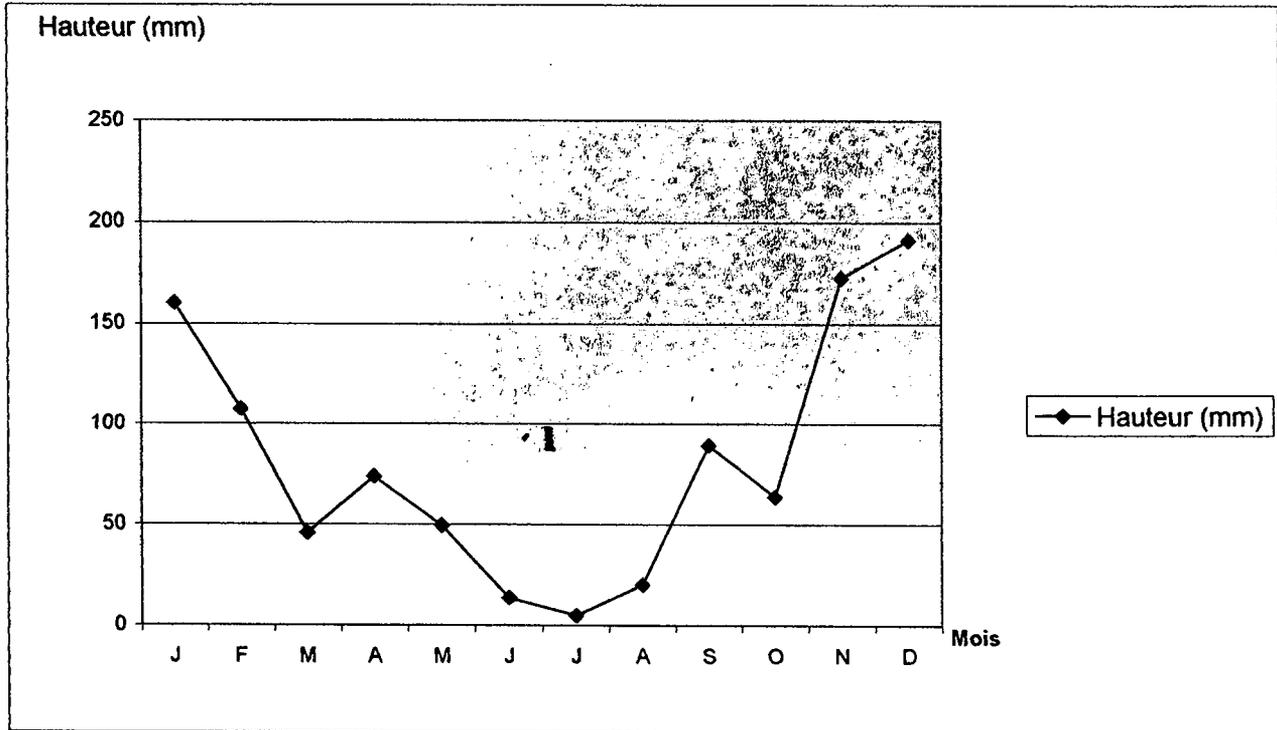


Fig. 03. Répartition mensuelle en moyennes des précipitations de la wilaya de Jijel (1996-2006).

IV.6. 2. Température:

La température de l'air est un facteur ayant une grande influence sur le bilan hydrologique car elle conditionne le déficit d'écoulement (évapotranspiration).

Le tableau N°02 donne la répartition mensuelle des températures enregistrées par la station de Jijel pour la période 1996-2006.

Tab. 02. Répartition mensuelle en moyennes des températures de la wilaya de Jijel (1996-2006).

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Moy
Période 96-06	11.34	11.26	13.61	15.35	18.66	21.77	24.97	26.03	23.55	20.82	15.73	12.37	17.95

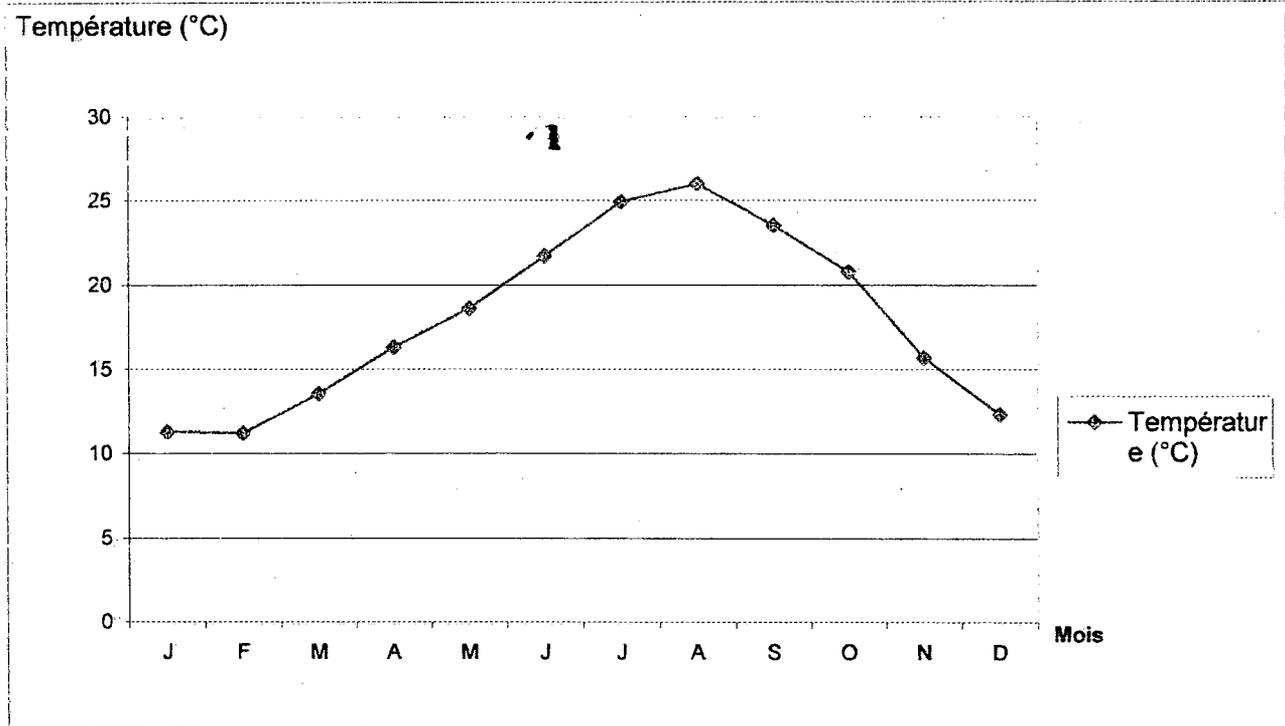


Fig. 04. Répartition mensuelle en moyennes des températures de la wilaya de Jijel (1996-2006).

IV.6. 3. Le vent:

La région de Jijel est connue par des vents NNW → SSE. Ces rafales touchent toute la côte.

IV.6. 4. Humidité-évaporation:

D'après les données récoltées dans la station de Jijel, la moyenne mensuelle de l'humidité relative est égale à 73 %, et la moyenne mensuelle de l'évaporation est de 81mm.

IV.6. 5. Diagramme ombrothermique de Gaussen:

Ce diagramme représenté par Gaussen et Bagnoule en 1953 permet de caractériser les saisons d'une région méditerranéenne et d'avoir une idée sur la durée et l'intensité de la période de sécheresse.

D'après les mêmes données, nous pouvons constater une période sèche qui s'étale du mois de mai au mois d'août, soit 3 à 4 mois.

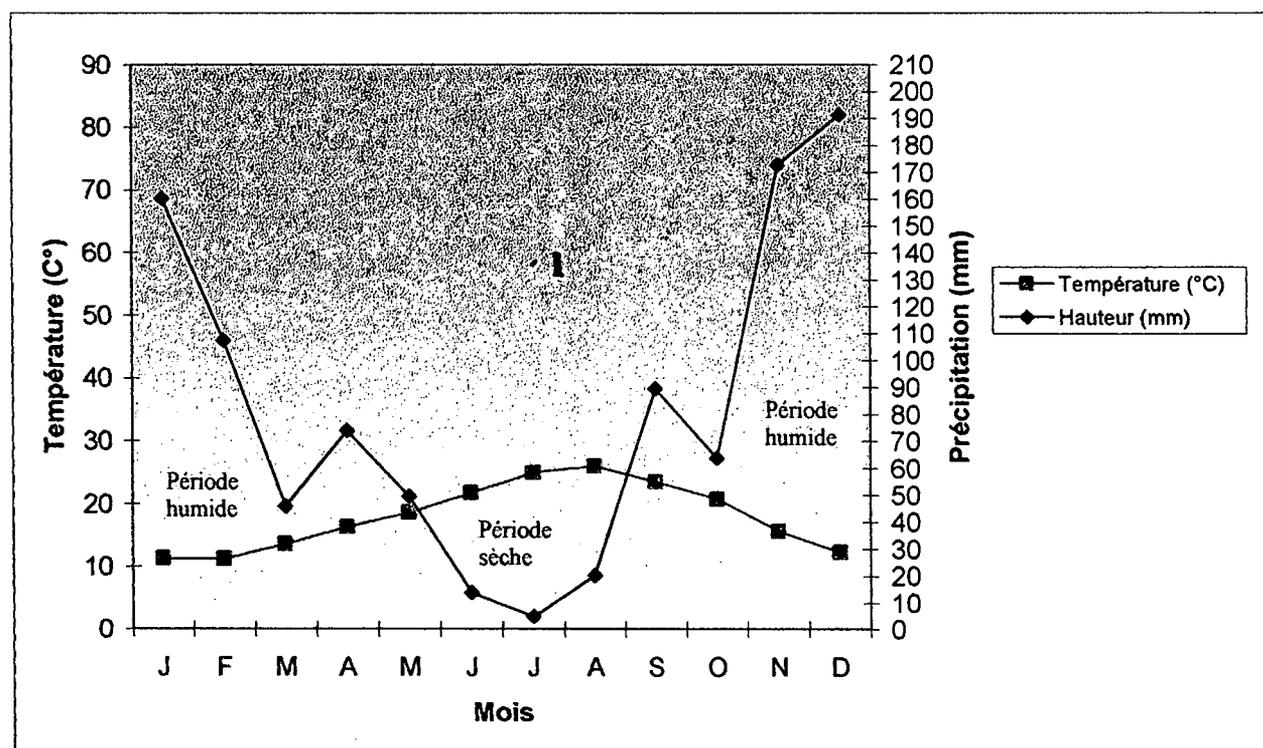


Fig. 05. Diagramme ombrothermique de Bagnoule et Gaussen.

IV.7. Faune remarquable:

Le marais d'El-Kennar joue un rôle important pour l'accueil des oiseaux d'eau. C'est un site de nidification du *Grèbe castagneux*, de la *Cigogne blanche*, du *Fuligule nyroca*, de la *poule d'eau*, la *Foulque macroule*, et de la *poule sultane*. Les hivernants sont représentés principalement par: le *grand cormoran*, la *grande aigrette*, le *canard souchet*, le *canard pilet*, le *canard siffleur*, le *canard chipeau*, la *sarcelle d'hiver*, le *fuligule milouin*, le *fuligule morillon*, le *petit gravelot*, le *grand gravelot*, le *vanneau huppé*, le *bécasseau au minute*, le *bécasseau variable*, le *bécasseau au cocorli* et la *barge à queue noire*. Il abrite aussi des estivant non nicheur tel que la *grèbe à cou noir*, le *héron cendré*, le *héron pourpré*, en plus de nombreuses espèces de passage tel que la *bécassine des marais*, la *barge à queue noire*... etc (Tab. 03).

De nombreuses espèces de mammifères, de reptiles, d'amphibiens et de poissons sont notées régulièrement dans le marais; les plus importants sont le *sanglier* *Suscrofa* *Gambusia affinis*, *Rana saharica*, *Mauremys leprosa*. La classe des adonates est représentée principalement par *Anax imperator*, *Ischnura graellsii* et *Aeshna mixta* [39].

Tab. 03. Inventaire des espèces animales de la zone humide de Jijel –El-Kennar- [39].

Mammifères	
	<i>Known suscrofa</i>
oiseaux	
	<i>Ardea cinerea</i>
	<i>Egretta garzetta</i>
	<i>Bubulcus ibis</i>
	<i>Anas crecca crecca</i>
	<i>Anas clypeata</i>
	<i>Aythya ferina</i>
	<i>Aythya nyroca</i>
	<i>Buteo rufinus</i>
	<i>Fulica will atra</i>
	<i>Tachybaptus ruficollis</i>
	<i>Gallinago gallinago</i>
Poissons	
	<i>Gambusia affinis</i>
Amphibiens	
	<i>Rana saharica</i>
Reptiles	
	<i>Mauremys leprosa</i>
Insectes/Odonates	
	<i>Light virens</i>
	<i>Ischnura graellsii</i>
	<i>Aeshna mixta</i>
	<i>Anax imperator</i>
	<i>Sympetrum striolatum</i>
Hémiptères	
	<i>Naucoris maculatus</i>
	<i>Notonecta obliqued</i>
	<i>Plea minutissima</i>

IV.8. Flore remarquable:

Le marais d'El-Kennar est un étang très riche en végétation. Il est bordé de *Juncus actus* et *Juncus maritimus* et de nombreuses espèces vivaces tel *Renanculus fucaria*, *Renanculus sardous*, *Asphodelles aestirus*, *Cyndon dactylon* et *Paspalum distichum*. Dans le plan d'eau, nous observons *Numphaea alba*, *Phragmites australis*, *Tamarix gallica*, *Typha augustefolia* et *Renanculus baudofii*. Cet herbier aquatique joue un rôle important pour le maintien de la faune et principalement l'avifaune nicheuse qui l'utilise comme abris pour la construction de leurs nids.

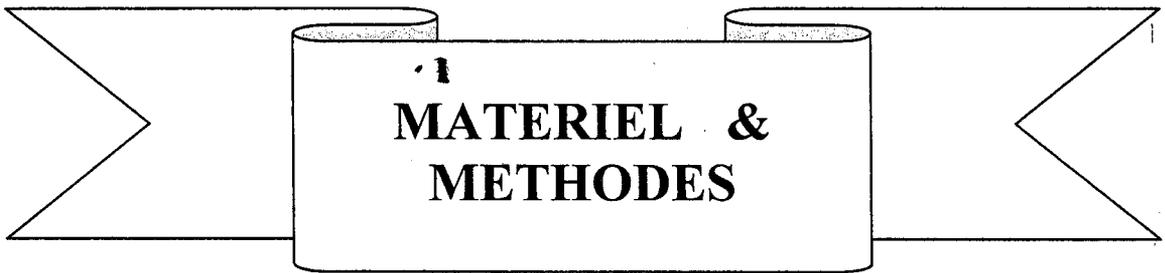
D'une manière globale, des travaux sont en cours pour recenser et inventorier toutes les espèces animales et végétales (**Mayache in prep, Bouldjedri in prep**).

·1

·1

·1

1



1

MATERIEL ET METHODES:

I. Prélèvement des échantillons d'eau:

Les échantillons sont prélevés au moyen des flacons en verre d'une contenance de 250 ml fermés hermétiquement et préalablement bien stérilisés dans un four Pasteur à une température de 175°C pendant 2 heures.

Les flacons de prélèvements sont plongés dans l'eau du marais fermés. Nous les ouvrons à une profondeur de 25 cm et nous les rinçons 2 à 3 fois avec l'eau de marais avant de les remplir et les fermer dans l'eau [88]. Ils sont transportés directement au laboratoire dans des glacières de 4 à 6° C pour éviter toute prolifération bactérienne [163].

Nous avons débuté l'échantillonnage à partir du mois de Janvier jusqu'au mois de Juin, ainsi que nous avons réalisé des dizaines de prélèvements.

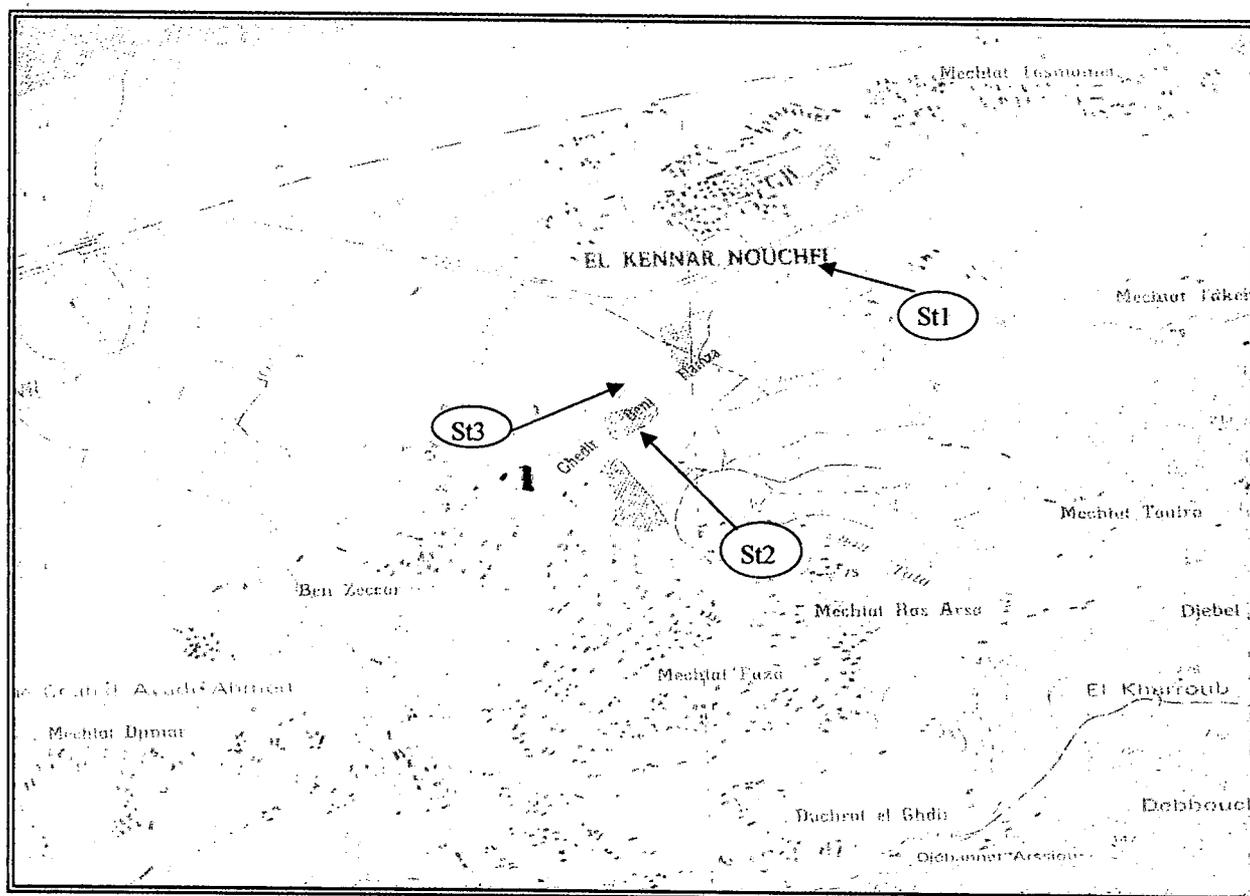


Fig. 06. Localisation des stations échantillonnées au niveau de la zone d'étude.

II. Analyse bactériologique:

Les analyses microbiologiques ont pour objectif de mettre en évidence la présence ou l'absence des bactéries ou des micro-organismes eucaryotes qui modifient la qualité organolytique d'une eau.

En effet, notre travail repose largement sur la numération des cellules bactériennes selon deux techniques: la première repose sur la mesure directe de turbidité, alors que la deuxième repose sur une estimation indirecte des cellules bactériennes en milieu liquide (**méthode du NPP: nombre le plus probable**). Ces deux techniques sont utilisées pour le dénombrement des micro-organismes aquatiques du marais et dans l'étude du pouvoir auto-épurateur de l'eau pour déterminer le rôle du micro-prédateur *Bdellovibrio bacteriovorus*.

II.1. La méthode du nombre le plus probable:

Elle représente l'une des plus anciennes applications des statistiques à la microbiologie, puisqu'elle a donné lieu à des publications dès 1908 par Phlps et 1915 par McCrady [133, 50]].

II.1.1. Principe:

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'eau de manière parfaitement aléatoire (loi de poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. En cas de présence, l'ensemble du milieu liquide inoculé vire à la "positivité" (trouble ou virage de l'indicateur). Un jugement quantitatif est possible en jouant sur les volumes de la prise d'essai [163].

Cette méthode sera donc utilisée pour des eaux contenant une quantité de microorganismes plus importante que les eaux de consommation [158], comme elle est utilisée pour la recherche des micro-organismes en petit nombre ou ayant subi un stress empêchant leur croissance sur milieux gélosés sélectifs [175]. Dans le cas de l'eau, il s'agit essentiellement de la détection des coliformes fécaux [143].

En pratique, suite à l'utilisation des milieux sélectifs ou des réactions biochimiques spécifiques, on peut mettre en évidence la présence ou l'absence d'une bactérie appartenant à un groupe particulier: coliformes, streptocoques fécaux, entérocoques, ... etc [163]. Cette méthode

présente l'avantage de ne prendre en compte que les germes vivants (ou révivables) et aptes à se développer dans le milieu sélectif choisi [88].

II.1.2. Lecture:

Après incubation, on compte les tubes positifs (apparition d'un trouble, virage de colorant, dégagement gazeux) dans les dilutions successives et on retient le nombre caractéristique constitué par les trois chiffres écrits dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs [19].

II.1.3. Expression des résultats:

Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Grady au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en compte. Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées [19].

De MAN a estimé en appliquant la méthode de calcul de PARNOW [40,148] les probabilités associées aux différents nombres caractéristiques et a construit ainsi des tables indiquant pour chaque nombre caractéristique:

- Le NPP;
- Les limites de confiance à 95% et 99%;
- La catégorie de probabilité.

II.2. La mesure directe de la croissance bactérienne:

II.2.1. Principe:

Une culture bactérienne se comporte comme une suspension colloïdale absorbante et réfléchissant la lumière qui passe à travers elle. Dans certaines limites, la lumière absorbée ou réfléchi par la suspension bactérienne peut être directement proportionnelle à la concentration des cellules dans la culture évidemment pour une longueur d'onde donnée.

II.2.2. Procédure et lecture:

Nous mesurons le pourcentage de la lumière absorbée (la turbidimétrie) par une suspension bactérienne. Pour de telles déterminations, on utilise un spectrophotomètre qui exprime le plus couramment ces valeurs sous forme de densité optique (D.O) définie comme suit:

Si I: intensité de la lumière incidente.

I_0 : intensité de la lumière transmise.

La transmission $T=I/I_0$.

$$D.O = \log. I_0/I$$

La longueur d'onde choisie est celle correspondante au minimum d'absorption pour le milieu de culture soit 546 μm . L'échantillon à cette longueur d'onde est analysé pour son contenu total en protéines [119].

II.3. Dénombrement des micro-organismes dans l'eau:

II.3.1. Dénombrement des germes totaux:

Après avoir bien agité l'eau échantillonnée, nous avons préparé des dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) de l'eau du marais d'El-Kennar en utilisant l'eau physiologique stérile (0.9‰ Na Cl) puis ensemencé en masse dans la gélose PCA deux séries de boîtes de Pétries dont la première est placée à 22 C° pendant 72 heures est l'autre à 37C° pendant 48 heures selon les normes internationales ISO 6222 [98].

La gélose PCA est utilisée pour le dénombrement de la flore totale et ne présente pas d'exigences particulières. Elle est recommandée par "American Health Association" [120].

❖ **Lecture:**

Chaque colonie étant par convention considérée comme ayant été engendrée par un seul micro-organisme. Les résultats sont calculés par la moyenne de deux boîtes de la même série de dilution (incubées à 37° C ou à 22° C).

❖ **Expression des résultats:**

Les résultats sont exprimés en nombre de micro-organismes révivables par millilitre.

II.3.2. Dénombrement des germes de contamination fécale:

II.3.2.1. Dénombrement des coliformes totaux et thermotolérants:

❖ **Principe:**

Selon l'organisation internationale de standardisation (ISO) le terme "coliforme" correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence des sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires et capables de fermenter le lactose (mannitol) avec production d'acides et d'aldéhydes et présentant une réaction négative vis-à-vis de l'oxydase.

Selon la norme internationale ISO 9308-3 sont considérés comme coliformes totaux les microorganismes capables de croître en aérobiose à 37° C ± 1° C soit en milieu liquide bilié au vert brillant (BLBVB) soit dans un bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) avec production d'acide et de gaz en 48 heures à partir de la fermentation du lactose présent dans les milieux déjà cités [99].

Selon la norme internationale ISO 9308-3, les coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux sont des coliformes qui fermentent le lactose à 44° C ± 0.5° C [99].

❖ **Procédure:**

La colimétrie permet de déceler et de dénombrer les germes coliformes parmi ces germes *Escherichia coli* dont seule l'origine de contamination fécale. Le test original de mise en évidence des coliformes utilisé pour répondre aux définitions précédentes comporte le test de présomption et de confirmation.

○ **L'étape présomptive:**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois tubes par dilution à partir de l'échantillon en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile selon la norme NFT 90-400 [160], puis à partir de la suspension mère et de chacune de ses dilutions, nous avons inoculé trois tubes de milieu à raison d'un millilitre par tube. Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol avec cloche à simple concentration [16].

Le BCPL sert à mettre en évidence la fermentation du lactose par le virage d'un indicateur de pH au jaune.

Nous avons incubé les tubesensemencés dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures. Pour une réaction négative nous laissons les tubes dans l'étuve pendant 48 heures.

○ **L'étape de confirmation:**

En effet dans le test présomptif peuvent se produire des faux résultats en présence d'autres germes autres que les coliformes tel *Bacillus* et *Aeromonas*. Pour la recherche des coliformes nous avonsensemencé chaque tube de BCPL positif dans un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant et incubé à 37° C \pm 1° C pendant 48 heures et dans un tube contenant le milieu de Schubert à 44° C \pm 0.5° C pendant 24 heures selon la norme internationale ISO 9308-3. Ce dernier milieu sert à mettre en évidence les coliformes thermotolérants [99].

❖ **Lecture:**

Pour les coliformes totaux sont considérés positifs les tubes BLBVB dans lesquels nous observons un trouble dû au développement bactérien et un dégagement gazeux dans la cloche de Durham. La production d'indole par les coliformes thermotolérants peut nous orienter vers *E.coli*.

Nous pouvons la mettre en évidence par ajout de réactif de Kowacs dans le milieu de Schubert positif après incubation. La production d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge qui se rassemble à la surface du tube.

- ✓ S'il y a fermentation du lactose avec production de gaz à 44° C et production d'indole, conclure à la présence d'au moins un *E.coli* dans le tube initial.

- ✓ S'il y a fermentation du lactose avec production de gaz à 44° C sans production d'indole, conclure à la présence d'au moins un coliforme thermotolérant dans le tube initial.
- ✓ S'il y a fermentation du lactose avec production de gaz à 37° C mais pas à 44° C, conclure à la présence d'au moins un coliforme dans le tube initial.

❖ **Expression des résultats:**

On utilise la méthode du NPP à trois tubes par série, en ne prenant en compte que les résultats positifs des milieux confirmatifs.

II.3.2.2. Dénombrement des streptocoques fécaux:

❖ **Principe:**

Les streptocoques fécaux sont des cocci Gram positif, formant quand ils sont cultivés en milieu liquide des diplocoques, des chaînettes. Ils sont catalases négatives et possédant un antigène de groupe D. Cet antigène correspond au polysaccharide C pariétal, caractéristique des streptocoques et support de la spécificité du groupe.

Dans la norme ISO 9308-3, sont considérés comme streptocoques D, les microorganismes donnant une réaction positive après 48 heures de culture dans un bouillon glucosé à l'azoture à 37° C et une réaction positive après 24 heures ou 48 heures sur milieu Litsky [99]. La technique de cette recherche se fait en deux étapes:

○ **L'étape présomptive:**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution à partir de l'échantillon en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile, puis à partir de la suspension mère et de chacune de ses dilutions, nous avons inoculé trois tubes de milieu à raison d'un millilitre par tube.

Le dénombrement est réalisé en milieu liquide sur bouillon glucosé à l'azoture (Rothe) avec cloche à simple concentration.

Nous avons incubé les trois tubesensemencés dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures si la réaction est négative les tubes sont laissés séjournés pendant 48 heures.

❖ **Lecture:**

Les tubes considérés comme positifs sont les tubes pour lesquels nous observons un trouble due à une croissance bactérienne.

○ **L'étape confirmative:**

À partir de chaque tube positif nous avonsensemencé à l'aide d'une anse calibrée un milieu de Litsky que nous l'avons incubé à 37° C pendant 24 heures ou 48 heures selon le cas.

❖ **Lecture:**

Dans le milieu Litsky, la présence de streptocoques D se caractérise par l'apparition d'un trouble dû au développement bactérien avec ou sans dépôt violet.

❖ **Expression des résultats:**

On utilise la méthode du NPP à trois tubes par série, en ne prenant en compte que les résultats positifs des milieux confirmatifs.

II.4. Détermination de la qualité microbiologique de l'eau (recherche microbienne et isolement des micro-organismes pathogènes):

II.4.1. Principe:

Les milieux utilisés afin d'isoler les microorganismes sont la gélose nutritive qui est un milieu ordinaire permettant à la culture de la majorité des bactéries. Aussi nous avons utilisé la gélose de Mac Conkey qui est un milieu différentiel utilisé pour la détection des coliformes et des Entérobactéries pathogènes et dont elle permet leur croissance. Le développement des bactéries n'appartenants pas à la famille des Entérobactéries est inhibé par les sels biliaires. Elle est utilisée pour séparer les Entérobactéries fermentant le lactose (Lac⁺) de celles ne le fermentant pas (Lac⁻).

La fermentation du lactose conduit à la production des acides qui affectent l'indicateur de pH présent dans ce milieu avec l'apparition d'un halo (sel biliaires) [191]. Les bactéries (Lac⁺) donnent des colonies rouges tandis que les bactéries (Lac⁻) forment des colonies incolores [89].

Enfin nous avons utilisé la gélose de Chapman qui est un milieu sélectif pour isoler les staphylocoques et empêche la croissance des germes Gram négatif.

II.4.2. Procédure:

Nous avons stérilement prélevé par une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis ensemencé par des stries à chaque fois les géloses déjà citées (gélose nutritive, Mac Conkey et Chapman) et incubé à 37° C pendant 24 heures.

II.4.3. Isolement et purification des souches fermentant le lactose (Lac⁺):

Sur les trois géloses mises en culture, nous avons choisi les colonies suspectes ou désirées et les repiqué dans des nouvelles boîtes géloses afin de vérifier la pureté des souches. Le repiquage sur milieu Mac Conkey permet aussi de vérifier si la fermentation du lactose est effective ou non. Ces milieux gélosés sont ensemencés en surface par stries et incubés à 37° C pendant 24 heures.

II.4.4. Identification:

II.4.4.1. Caractéristiques morphologiques:

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques [191].

Nous avons noté pour chaque type des colonies distinctes les caractères suivants (diamètre, contour, élévation, couleur, surface).

II.4.4. 2. La coloration de Gram

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement des bactéries. Sur des lames dégraissées et à partir de chaque milieu d'isolement, nous avons prélevé par l'anse de platine une colonie bactérienne et l'étalé sur une goutte d'eau physiologique déposée sur la lame que nous avons laissé sécher à l'air libre puis fixé par simple passage sur la flamme de bec benzen .

Chaque frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de gentiane, il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par la solution de Lugol et de nouveau rincé rapidement.

Nous soumettons alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'alcool. C'est l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant une à trois secondes. Celui-ci est alors rincé immédiatement à l'eau courante. À ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives restent

violettes. Nous soumettons ensuite le frottis à une contre coloration de trente secondes à la fushine pour recolorer les cellules Gram négatives présentes. Après un bref rinçage, nous séchons le frottis au papier buvard et nous examinons à l'objectif à immersion×100.

Nous avons appliqué la coloration de Gram sur des jeunes cultures (18 heures) préalablement bien isolées.

II.4.4.3. Identification biochimique

Seul les colonies qui sont apparues sur Mac Conkey ont été identifiées biochimiquement. Ces colonies sont conservées sur gélose inclinée avant d'être identifiées.

a. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes:

a. 1. Test du mannitol-mobilité:

❖ Principe:

Le milieu utilisé est celui de mannitol-mobilité. Ce milieu faiblement gélosé en culot met en évidence la fermentation du mannitol par certaines bactéries qui entraînent l'acidification du milieu, indiqué par le virage d'un indicateur coloré de pH, le rouge de phénol devient jaune à pH acide et rose à pH alcalin.

Ce milieu permet simultanément d'établir la mobilité éventuelle des bactéries matérialisée lors par leur diffusion autour de la piqûre centrale d'ensemencement du milieu.

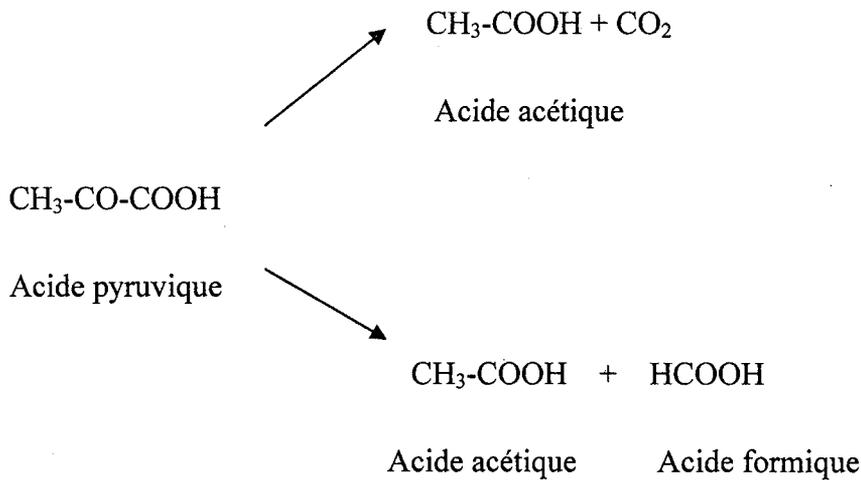
❖ Procédure:

Nous avons ensemencé ce milieu par piqûre centrale à l'aide d'une anse de platine pointue à partir des boîtes d'isolement et incubé à 37° C pendant 24 heures.

a. 2. Test au rouge de méthyle (RM):

❖ Principe:

C'est un test qualitatif qui permet de distinguer les Entérobactéries productrices de fortes concentrations d'acides (RM⁺) des bactéries faiblement productrices (RM⁻), par l'acidification finale d'un milieu peptoné glucosé tamponné au phosphate après fermentation du lactose. Le rouge de méthyle est l'indicateur de cette acidification, il vire au jaune à un pH >6.3 et au rouge à un pH <4.2.



❖ Procédure:

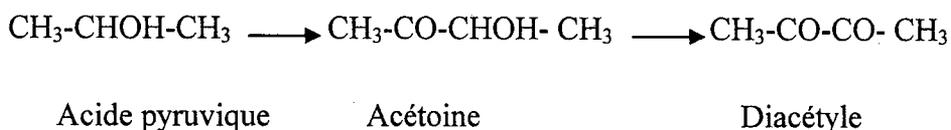
La réaction est étudiée dans le bouillon Clark et Lubs qui permet de mettre en évidence cette caractéristique. L'ensemencement se fait par inoculation à partir de boîtes de repiquages et l'incubation se fait dans les conditions habituelles. Après incubation, ajouter une à deux gouttes de rouge de méthyle et la réaction est instantanée.

a. 3. Le test de Voges-Proskauer (VP):

❖ Principe:

Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoïne par un micro-organisme (acétyl méthyle carbinol) qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP⁺), elle-même caractéristique de certains Entérobactéries.

Dans un milieu bien aéré et fortement alcalinisé (par addition de NaOH), il se produit une auto oxydation de butanediol en acétoïne et en diacétyl.



L'acétoïne réagit avec le réactif VPI (soude au potasse) pour former le diacétyl; ce dernier après addition du VPII va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose.

❖ **Procédure:**

Nous avons ensemencé le milieu Clarck et Lubs et incubé à 37 °C pendant 24 heures, puis ajouté 1ml de la solution potasse à 16% et 0.5ml d' α naphthol. Maintenir le tube couché pour favoriser l'oxydation. L'apparition de la couleur rose ou rouge au bout de 30 minutes traduit une réaction dite VP⁺.

a. 4. Le test de décarboxylase:

❖ **Principe:**

Ce test permet de détecter la production d'enzymes de décarboxylation: la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase et l'arginine deshydrolase qui décarboxylent respectivement la lysine, l'ornithine et l'arginine en cadaverine, putrescine et agmatine par ordre successif [191].

❖ **Procédure:**

Nous avons ensemencé trois tubes contenant chacun un des trois acides aminés dissous dans du bouillon de Moeller (glucose-peptone) par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Initialement, les bactéries métabolisent en priorité le glucose, le milieu est alors acidifié et vire au jaune grâce au virage d'un indicateur de pH. Si les acides aminés sont à leur tour décarboxylés, le milieu est alors alcalinisé et devient pourpre [21].

a. 5. Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI:

❖ **Principe:**

Le milieu TSI est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries et qui permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H₂S) et la production de gaz [26]. Ce milieu est composé d'un culot et une pente, et contient le rouge de méthyle comme indicateur de pH.

Si les bactéries utilisent le glucose, le culot se colore en jaune, alors que si elles utilisent le saccharose et le lactose c'est la pente qui se colore en jaune. La production du gaz se traduit

par la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose alors que la production d' H₂S se traduit par un noircissement du milieu.

❖ **Procédure:**

Nous avonsensemencé le milieu TSI à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Nous avons incubé les tubesensemencés à 37°C pendant 24 heures. La lecture est réalisée après 24 heures.

a. 6. Le test de l'uréase:

❖ **Principe:**

Les uréases sont des enzymes qui hydrolysent l'urée (NH₂)₂CO en dioxyde de carbone et ammoniac qui se lient entre eux pour donner le complexe du carbonate d'ammonium (composé alcalin).

Le milieu urée indole permet de mettre en évidence ce caractère dont le virage de l'indicateur au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu indique l'utilisation de l'urée par la bactérie.

❖ **Procédure:**

Nous avonsensemencé 1ml du milieu Urée-Indole par l'anse de platine stérile et incubé à 37°C pendant 24 heures.

a. 7. Le test de l'indole:

❖ **Principe:**

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seuls les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kowacs (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (nitrose indole).

❖ **Procédure:**

Nous avonsensemencé 1ml du milieu Urée- Indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux à trois gouttes de réactif Kowacs-Erlisch en assurant une légère agitation des tubes.

a. 8. Le test de réduction du nitrate:

❖ **Principe:**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-).

❖ **Procédure:**

Nous avonsensemencé le bouillon nitraté permettant de mettre en évidence, ce caractère par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase I (solution naphthol à 6% dans l'alcool à 60%) et deux gouttes du réactif nitrate réductase II.

Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.

Si le milieu reste incolore, ici on a deux éventualités:

- Ou bien les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.
- Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc, et si la couleur apparaît, la bactérie est dite nitrate réductase négative.

a. 9. La recherche du citrate perméase:

❖ **Principe:**

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie qui possède l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilisé.

Le milieu citrate de Simmons permet de mettre en évidence ce caractère, ainsi qu'il possède un indicateur de pH " le bleu de bromothymol" dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin).

❖ **Procédure:**

Nous avons ensemencé le milieu citrate de Simmons par des stries longitudinales de bas en haut et incubé à 37 C° pendant 24 heures.

a. 10. La recherche de l'enzyme tryptophane désaminase (TDA):

❖ **Principe:**

L'enzyme TDA agit sur l'acide aminé tryptophane en formant l'acide indole pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration rouge grisâtre.

❖ **Procédure:**

Nous avons ensemencé 1ml du milieu Urée- Indole et incubé à 37C°. Après incubation nous avons ajouté 2 gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer).

a. 11. La recherche de l'enzyme B-galactosidase:

❖ **Principe:**

Cette enzyme permet de scinder la molécule du lactose après leur pénétration dans la cellule bactérienne en glucose et galactose.

La présence de la B-galactosidase est mise en évidence à l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (orthonitrophényl B-D-galactoside) qui diffuse librement à l'intérieur des bactéries où il est alors dégradé par B-galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive).

❖ **Procédure:**

Nous avons préparé une suspension dense d'une culture de la bactérie étudiée dans 0.25 ml d'eau physiologique, et ajouté un disque ONPG Pasteur. L'incubation est faite à 37°C° pendant 24 heures.

a. 12. La recherche du catalase:

❖ **Principe:**

C'est une enzyme qui élimine dès sa formation chez les bactéries, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en l'hydrolysant en eau oxygénée.

❖ **Procédure:**

Sur une lame, nous avons déposé une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) et nous avons ajouté la colonie étudiée. S'il y a un dégagement gazeux (O_2), le test est considéré comme positif.

a. 13. La recherche d'oxydase:

❖ **Principe:**

Ce test permet de mettre en évidence l'existence du cytochrome oxydase, enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire.

La présence de cet enzyme est réalisée par le disque oxydase qui se constitue de l'oxalate de diméthyle puruphénylène diamine et qui est incolore à l'état réduit et coloré en rouge à l'état oxydé.

❖ **Procédure:**

Nous avons déposé sur une lame propre un disque oxydase que nous l'avons imbibé d'eau distillée stérile et ajouté la colonie de bactérie à étudier puis l'étalé à l'aide d'une anse de platine. Les bactéries oxydases positives donnent une coloration violette au disque en quelques minutes.

b. Galeries d'API 20 E:

❖ Principe:

C'est une galerie multi-tests, formée d'une vingtaine de cupules, contenant chacune un milieu de culture déshydraté spécifique, correspondant à l'identification d'un caractère métabolique, dont il permet en totalité d'étudier ces caractères biochimiques avec plus de fidélité.

Le principe d'utilisation repose sur la comparaison de profils biochimiques d'espèces préalablement établies et répertoriées.

Avec cette galerie plus performante, l'identification est considérée comme acceptable au delà d'un degré de probabilité de 80% et une signification statistique d'autant plus grande que l'on se rapproche des 100% [21].

❖ Procédure:

Nous avons bien isolé deux bactéries (Lac+) à étudier sur le milieu Mac Conkey pour les Entérobactéries, puis reconstitué selon les indications du catalogue les différents micro-tubes de la galerie par la suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique qui sert à la fois d'inoculum et d'un agent de réhydratation du milieu.

Après incubation pendant 24 heures, le test positif se manifeste par une coloration directe ou après coloration après ajout du réactif correspondant.

c. Profil biochimique pour *Staphylococcus aureus*:

Les tests qu'on a pu réalisé pour les staphylocoques sont:

c. 1. La recherche d'une catalase:

La recherche d'une catalase est un test important pour différencier les staphylocoques des streptocoques. Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives.

c. 2. Dégradation du mannitol:

Nous avons ensemencé chaque tube du milieu mannitol par piqûre centrale à partir du milieu d'isolement Chapman.

Après 24 heures d'incubation, le test positif (dégradation du mannitol) se traduit par virage au jaune du milieu.

c. 3. Recherche d'une staphylocoagulase:

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénécité d'un staphylocoque. Les staphylocoques pathogènes secrètent une enzyme dite " la staphylocoagulase" qui a la propriété de coaguler le plasma [124].

❖ Procédure:

Nous avons prélevé une colonie ayant fermenté le mannitol de chaque milieu Chapman et la mettre dans 0.5 ml du bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté 0.5 ml du plasma et incubé à 37 °C et nous avons examiné les tubes toutes les demi heures pendant 6 heures.

Le test est considéré positif s'il y a une formation de coagulum au fond des tubes [57].

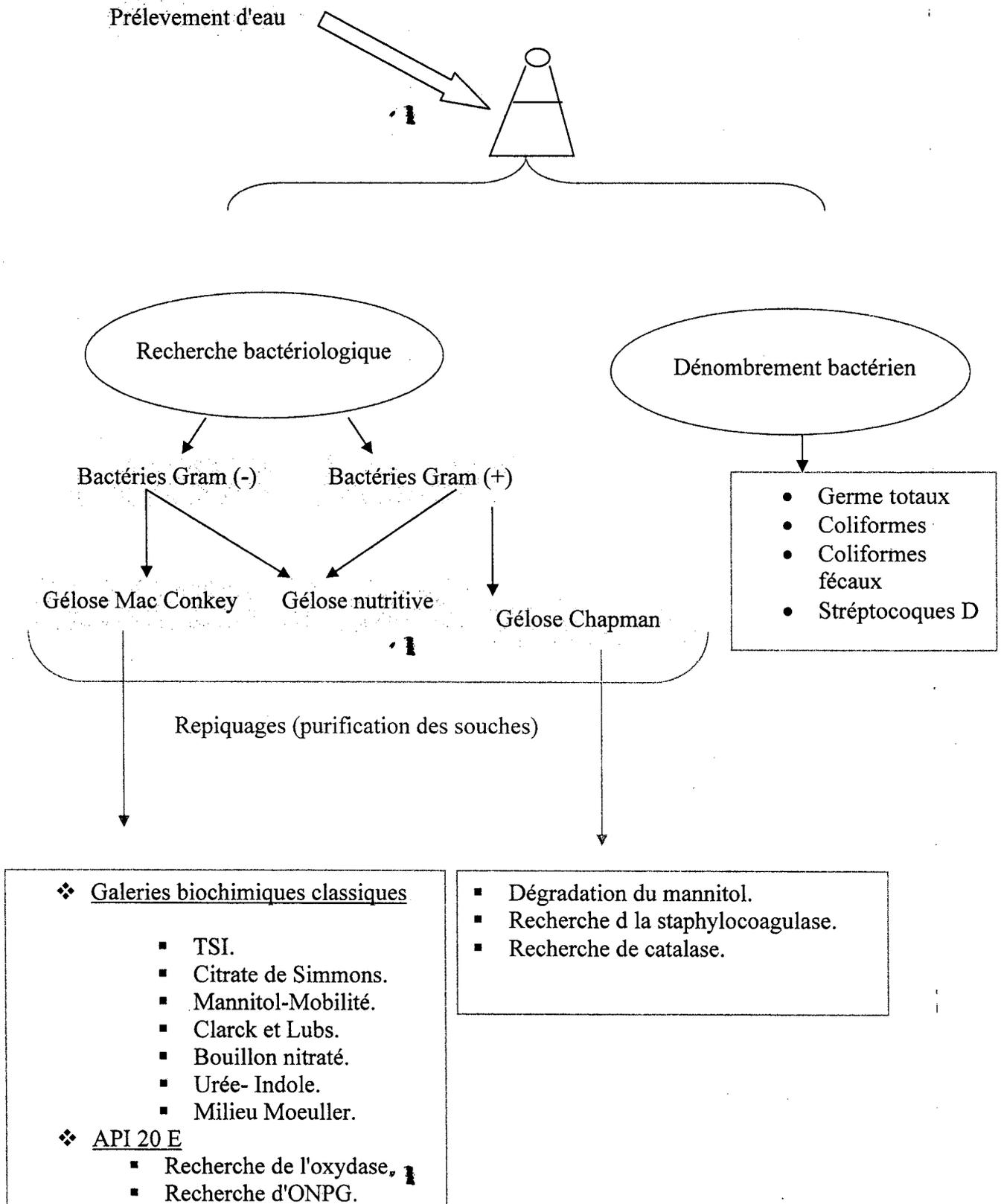


Fig 07. Mode opératoire de l'analyse bactériologique de l'eau du marais d'El-Kennar.

III. Détermination du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du marais d'El-Kennar:

Pour mettre en évidence ce pouvoir, nous avons coulé dans deux tubes stériles l'eau du marais de chaque station. Un des deux tubes est pris comme témoin, le deuxième est autoclavé à 120° C pendant 2 heures.

Refaire la même procédure mais avec l'eau du marais filtrée sur membranes filtrantes 0.45 µm. Les tubes sont alors abandonnés dans le laboratoire pendant deux semaines à la température ambiante. Concernant l'estimation directe, nous avons effectué les expériences sur deux échantillons de chaque station.

Nous avons évalué pour chaque tube la densité optique (à 546nm) ainsi que le nombre de coliformes en calculant l'indice NPP successivement après une semaine et deux semaines dont le NPP est calculé uniquement pour l'eau non filtrée.

IV. Détermination du facteur bactéricide:

IV.1. En milieu liquide:

Parmi les espèces d'Entérobactéries préalablement isolées et bien identifiées, nous avons choisis trois germes appartenants aux coliformes

Nous avons prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile une culture pure de chaque germe étudié puis nous l'avons ensemencé dans deux tubes contenant chacun 5 ml de bouillon nutritif. Le premier est qualifié de tube témoin alors que dans le deuxième est additionné 0.5 ml d'eau du marais filtré sur membranes filtrantes 0.45µm de chaque station des trois stations étudiées.

Les tubes sont ensuite incubés à 37° C pendant 72 heures. Durant l'incubation nous avons procédé à deux techniques de numération des cellules bactériennes:

- L'estimation directe (turbidimétrie) en lisant la densité optique de la suspension bactérienne à 546nm. Pour cette estimation, nous avons répété l'expérience une deuxième fois.
- L'estimation indirecte en calculant l'indice NPP après inoculation dans le bouillon lactosé au pourpre de bromocresol avec cloche de Durham à simple concentration. Le NPP est calculé uniquement pour l'échantillon de la troisième station.

IV.2. En milieu solide:

IV.2.1. Isolement de Bdellovibrio:

La méthode utilisée pour isoler ce microprédateur correspond à la technique de la double couche décrite par Stolp et Starr (1963) [207].

IV.2.1.1. Procédure:

Nous avons débuté par l'ensemencement de quelques bactéries (préalablement bien isolées et identifiées) dans 5 ml de bouillon nutritif et incubé à 37 C° pendant 12 heures.

Après avoir couler et solidifier la couche inférieure de milieu YP en boites Pétri, nous avons étalé 0.5 ml de la suspension bactérienne de chacune des germes précédents dans une boite Pétri. Puis nous avons déposé séparément avec une pipette Pasteur stérile jusqu'au 10 gouttes de l'eau du marais dans chacune des boites (bien homogénéisée l'eau préalablement dans le flacon). Après environ 15 min du dépôt, nous avons coulé une autre fois le milieu YP (avec une hauteur moins importante que la couche inférieure) pour recouvrir le tout (couche supérieure). L'ensemble est alors incubé à 37 C° durant plusieurs jours.

Durant l'incubation, nous avons procédé à déterminer chaque fois les diamètres des plages de lyse apparues.

À noter que le milieu YP a été préparé par nous même au niveau de laboratoire de recherche (Annexe 3).

IV.2.3. La purification de *Bdellovibrio*:

Pour réaliser la purification de ce microprédateur, nous avons prélevé une plage de lyse par une lame bistouri stérile et nous l'avons mis en suspension dans 5 ml de bouillon nutritif. Après filtration sur membranes filtrantes (0.45µm de diamètre), nous ensemencions une autre fois *Bdellovibrio* selon la technique de la double couche préalablement décrite.

Stolp et Starr estiment qu'après trois cultures successives, les *Bdellovibrio* obtenues peuvent être considérées comme descendantes d'une même cellule, c'est un clone [207].

A noter que les ensemencements ultérieurs de *Bdellovibrio* sont réalisés avec la même bactérie hôte initialement additionnée durant l'étape d'isolement.

V. Etude du rôle de *Bdellovibrio* dans la lyse des principaux coliformes:

Nous avons commencé par choisir trois souches d'Entérobactéries appartenants aux coliformes et qui sont préalablement utilisées pour isoler et purifier *Bdellovibrio* et sur lesquelles nous allons déterminer l'effet de notre micro-prédateur. Ainsi, afin de mettre en évidence l'effet de *Bdellovibrio* sur ces Entérobactéries, nous avons évalué la croissance bactérienne de chacune de ces souches en présence et en absence de celui-ci.

À cette fin deux techniques de mesures ont été effectuées: une estimation directe et une estimation indirecte.

V.1. Estimation directe:

À l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur préalablement stérilisée, nous avons prélevé chaque germe à étudier en culture pure et l'ensemencé dans deux Erlene Meyer contenant chacun 50 ml de bouillon nutritif. L'ensemble est incubé à 37° C pendant 12 heures dans une étuve.

L'un de ces deux Erlene Meyer constitue le témoin alors que dans l'autre, nous avons additionné trois plages de lyse (issues de la troisième purification dont chacune est d'environ deux millimètres de diamètre) qui ont été bien purifiées et sélectionnées à partir du milieu YP contenant la même bactérie qui a été inoculée dans l'Erlene Meyer témoin.

L'ensemble des deux Erlene Meyer est placé cette fois ci dans un bain Marie avec agitation durant les quatre premières heures, puis placé à l'étuve à 37° C. Des échantillons de 1 ml de chaque Erlene Meyer sont prélevés approximativement toute les heures puis chaque deux heures (à partir de la dixième heure) de façon à suivre le devenir des cultures pendant 50 heures.

Pour chaque germe nous avons répété l'expérience ci décrite pour la deuxième fois.

Dès l'ajout des plages de lyse, la densité des suspensions bactériennes est estimée à chaque fois que nous mesurons l'absorbance (la turbidimétrie) ce qui nous permet de tracer des courbes correspondant à chacune des bactéries.

V.2. Estimation indirecte:

Dans deux Erlene Meyer contenant chacun 50 ml de bouillon nutritif, nous avons ensemencé avec une anse de platine ou une pipette Pasteur stérile le germe étudié à partir de sa culture pure. L'ensemble est incubé à 37° C pendant 12 heures dans une étuve.

L'un de ces deux Erlene Meyer constitue le témoin, alors que l'autre est additionnée après 12 heures d'incubation de trois plages de lyse de *Bdellovibrio* (issues de la troisième purification dont chacune est d'environ deux millimètres de diamètre) qui ont été bien purifiées et sélectionnées à partir du milieu YP contenant la même bactérie qui a été inoculée dans l'Erlene Meyer témoin.

A chaque fois le nombre de cellules viables est estimé par la méthode de colimétrie, car les espèces choisies pour les étudiées appartenant aux groupes de coliforme. Ce qui nous permet de suivre l'évolution de leurs courbes de croissances correspondantes.

Des échantillons de 1 ml sont prélevés de chaque Erlene Meyer dès l'ajout des plages de lyses (t_0), approximativement toute les 24 heures pendant dix jours successifs

Chaque millilitre prélevé sert à réaliser jusqu'au onze dilutions décimales successives en utilisant des tubes de 9 ml d'eau distillée stérile. Puis à partir de chaque suspension mère et ses dilutions nous avons inoculé trois tubes de bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol avec cloche à simple concentration.

L'ensemble est incubé à 37° C pendant 24 heures ou 48 heures selon le cas.

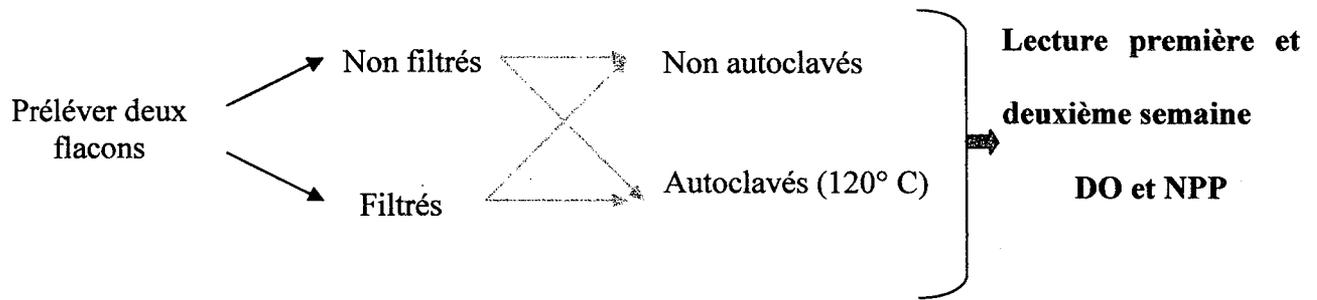


Fig. 08. Détermination du pouvoir bactériolytique de l'eau d'El-Kennar.

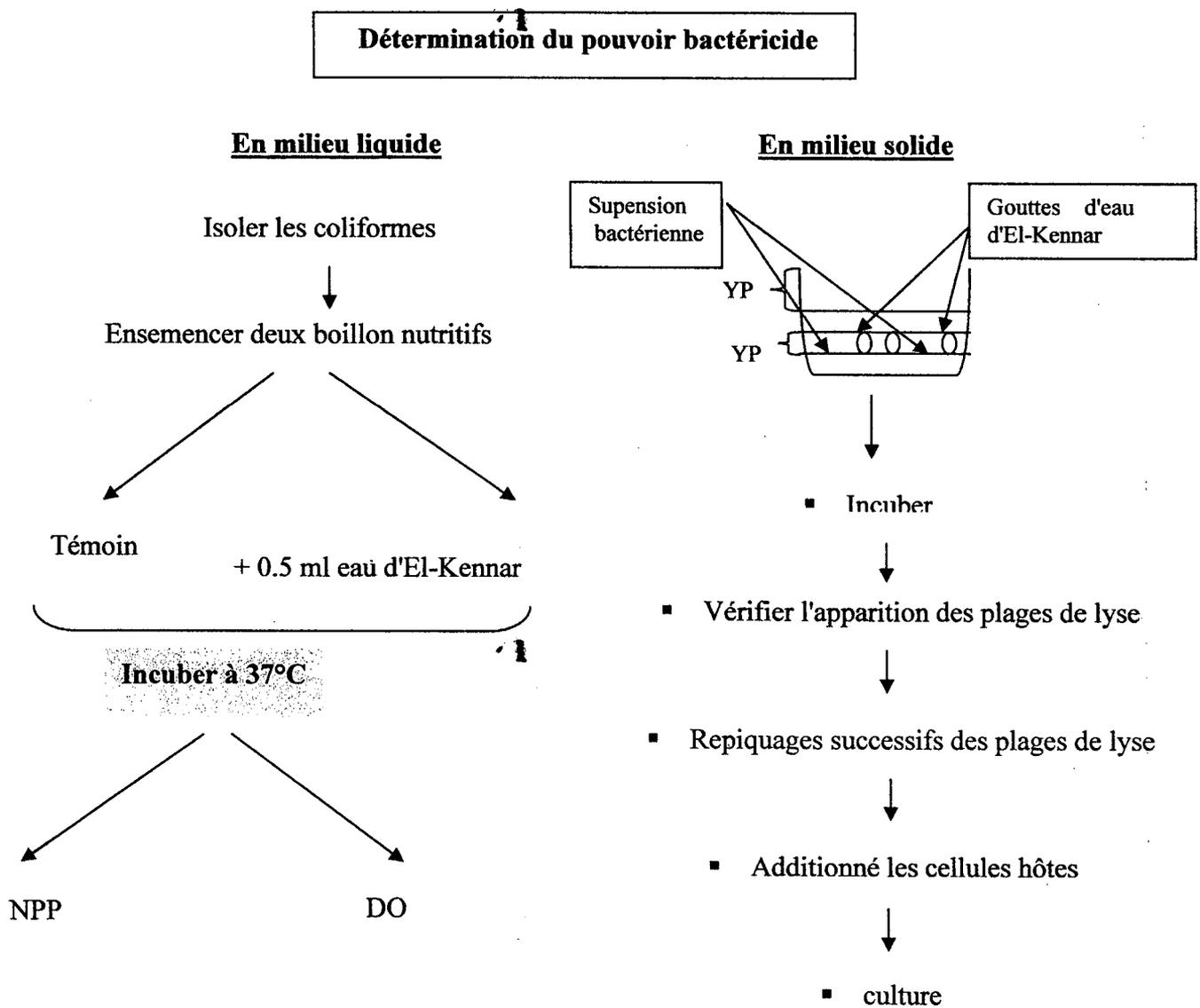


Fig. 09. Détermination du pouvoir bactéricide.

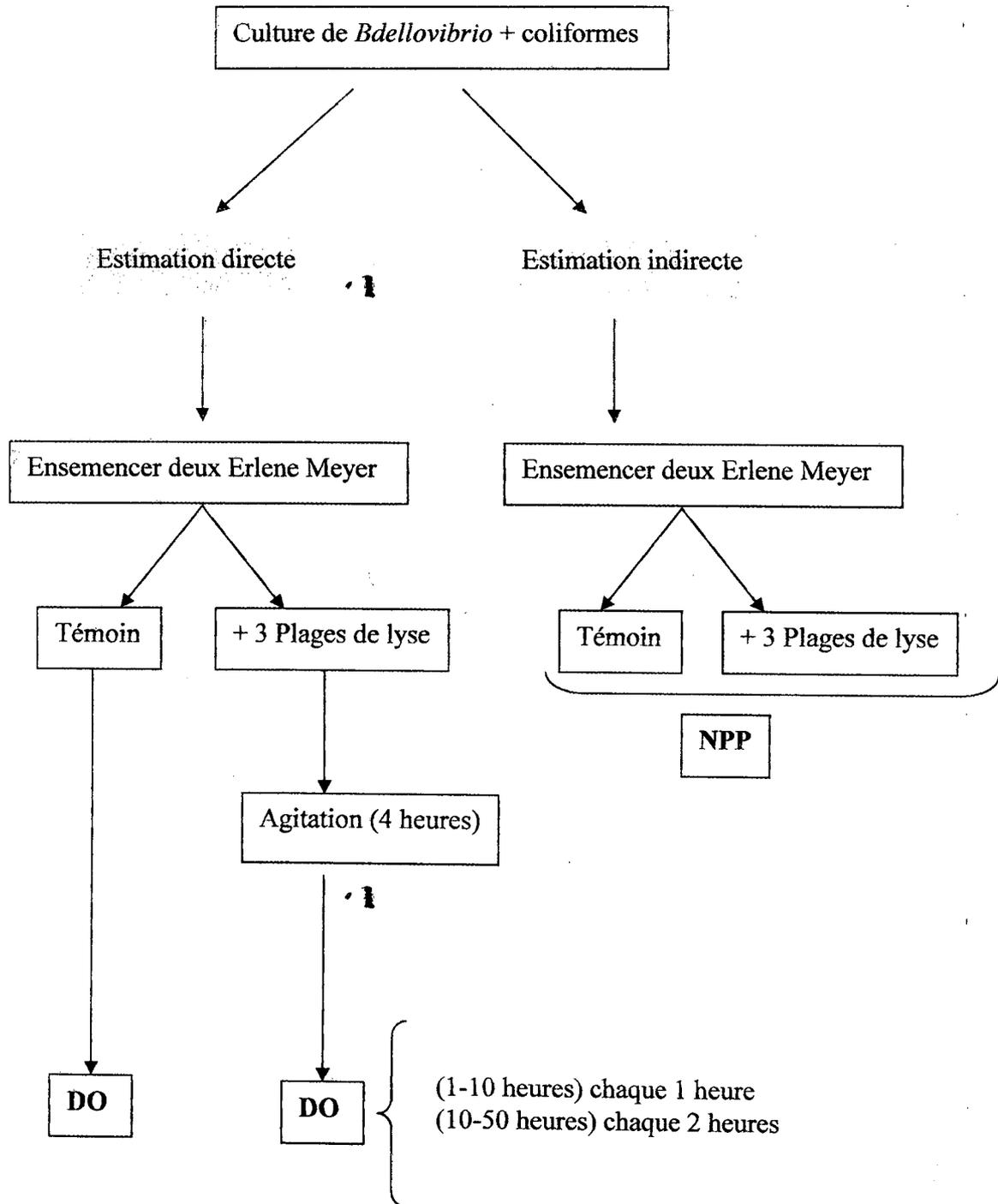


Fig. 10. Etude du rôle de *Bdellovibrio* dans la lyse des Entérobactéries.

VI. Etude statistique:

Pour le calcul des statistiques élémentaires et pour une meilleure illustration des résultats nous avons procédé au calcul des moyennes, d'écart-types. L'analyse statistique proprement dite est effectuée en faisant appeler au test de Student. Tous les calculs ont été effectués en utilisant les logiciels STATISTICA (Version 6.0). Pour illustrer nos résultats nous avons réalisé des histogrammes.



**RESULTATS &
INTERPRETATION**

RESULTATS ET INTERPRETATION:

I. Résultats de la qualité microbiologique de l'eau du marais d'El-Kennar:

I.1. Résultats des dénombrements des microorganismes de l'eau:

Les résultats de dénombrement des microorganismes de l'eau du marais nous montre d'une part que l'eau est impropre à la consommation et à l'irrigation.

En effet, dans les trois points de prélèvements (Tab 4, Fig 11), la FTAM à 25° C est très importante, le minimum dénombré est de 130800 CFU/ml. La station 2 est cependant la plus riche en microorganismes.

Pour ce qui est de la flore totale à 37° C, les dénombrements restent élevés et c'est la station 3 qui renferme les nombres les plus importants. Cette dernière compte aussi les effectifs les plus élevés pour les coliformes et les coliformes fécaux et pour les streptocoques fécaux.

Tab 04. Résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) de l'eau du marais.

Bactéries/ml	Station		
	Station1	Station2	Station3
FTAM (25° C)	130800	151200	142400
FTAM (37° C)	35500	61320	76400
Coliformes totaux	16000	28000	35000
Coliformes fécaux	1500	2100	2100
Streptocoques	11000	15000	20000
Streptocoques fécaux	1600	2300	2400

Les résultats sont exprimés en CFU/ml.

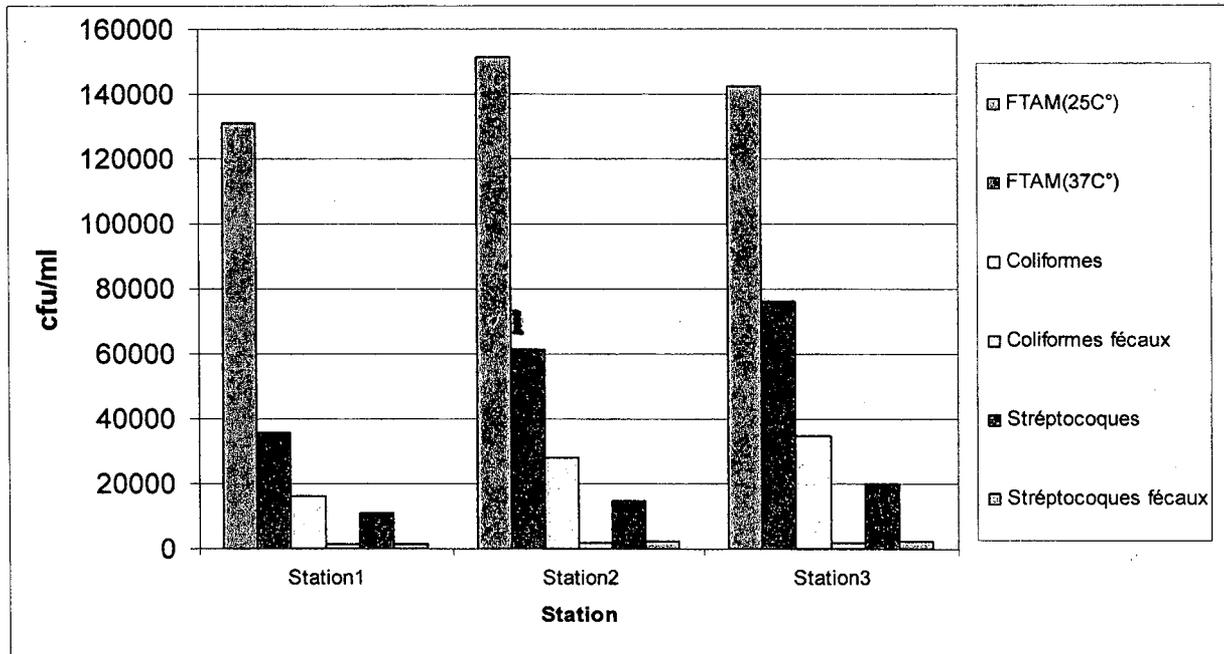


Fig 11. Résultats de dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) de l'eau du marais.

I.2. Résultats de l'identification des souches bactériennes:

I.2.1. Résultats des Caractères morphologiques et coloration de Gram:

Le repiquage successif des colonies utilisées dans le seul but de purifier les colonies nous a permis de distinguer les différents caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement.

Ces données sont résumées dans le tableau 5 et les photos 12, 13, 14, 15 exposent quelques caractéristiques de certaines colonies isolées de l'eau de cet marais.

Du point de vue microscopique, l'examen cytologique nous révèle une grande part de bâtonnet Gram (-). Les cocci Gram (+) sont cependant faiblement représentés.

Tab 05. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées de l'eau du marais.

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Station 1		
Gélose nutritive (GN)	<p>-Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 2mm de diamètre.</p> <p>-Dentelée, lisse, plate, opaque, blanche, 2mm de diamètre.</p> <p>-Irrégulière, lisse, plate, jaune 1mm de diamètre.</p>	<p>-Bacilles isolés ou en chaînettes, Gram négatif.</p> <p>-Cocci isolés, Gram positif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p>
MacConkey	<p>-Rose élevée, lisse brillante, circulaire, 1 mm à 2 mm de diamètre.</p> <p>-Bambée à contour irrégulier, d'aspect rigoureux, et de couleur blanchâtre.</p>	<p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p>
Chapman	<p>-Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche.</p> <p>-Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les couloires au jaune brillant.</p>	<p>-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p> <p>-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p>
Station2		
Gélose nutritive (GN)	<p>-Ponctiforme, lisse, brillante, transparente.</p> <p>-Bambée à contour irrégulier, d'aspect rigoureux, et de couleur blanchâtre.</p> <p>-Bambée, lisse, brillante, à contour régulier, de couleur jaune.</p>	<p>-Bacilles isolés, Gram négatif</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif, regroupés et isolés,</p>

<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">MacConkey</p>	<p>-Irrégulière, lisse brillante, plate 5 mm de diamètre, transparente.</p> <p>-Circulaire, ondulés, bossue, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre.</p> <p>-Rose, élevée, lisse brillante, circulaire, 1 mm à 2 mm de diamètre.</p> <p>-Rose clair, demi bambée, lisse, brillante, circulaire, 1 mm de diamètre</p> <p>-Rose clair, bambée, lisse, brillante, circulaire, 1 mm de diamètre.</p>	<p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacille, isolées ou en chaînettes.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Chapman</p>	<p>-Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche.</p> <p>-Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les couloires au jaune brillant.</p>	<p>-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p> <p>-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</p>
<p>Station 3</p>		
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Gélos nutritive (GN)</p>	<p>-Plate, d'aspect rigoureux, avec un centre surlevé, à contour régulier, de couleur jaune.</p> <p>-Grande, lisse, brillante, à contour irrégulier et de couleur jaunâtre.</p> <p>-Assez grande, plate, à contour dentelé, blanche légèrement transparente</p>	<p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, ou en chaînette, Gram négatif.</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">MacConkey</p>	<p>-Ponctiforme, lisse brillante, transparente.</p> <p>-irrégulière, transparente, lisse brillante, plate de 3 à 5 mm de diamètre.</p> <p>-Rose, lisse, brillante, élevée, circulaire, 1 mm à 2 mm de diamètre.</p> <p>-Rose clair demi bambée, lisse, brillante, circulaire, 1 mm de diamètre.</p>	<p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p> <p>-Bacilles isolés, Gram négatif.</p>

Chapman	-Petite, opaque, lisses, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche.	-Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.
	-Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les couloires au jaune brillant.	-Cocci, groupés en grappe de raisin, Gram positif.

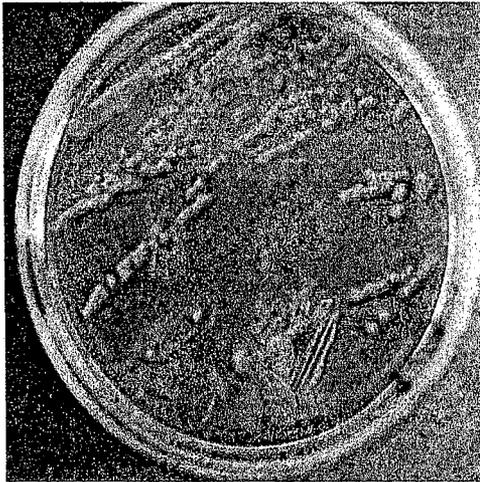


Fig 12. Souche d'*Escherichia coli* isolée sur Mac Conkey.

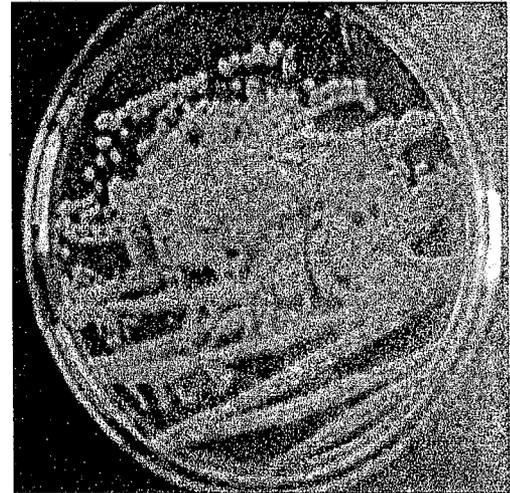


Fig 13. Souche d'*Enterobacter agglomerans* isolée sur Mac Conkey.



Fig 14. Souche de *Klebsiella oxytoca* isolée sur Mac Conkey.

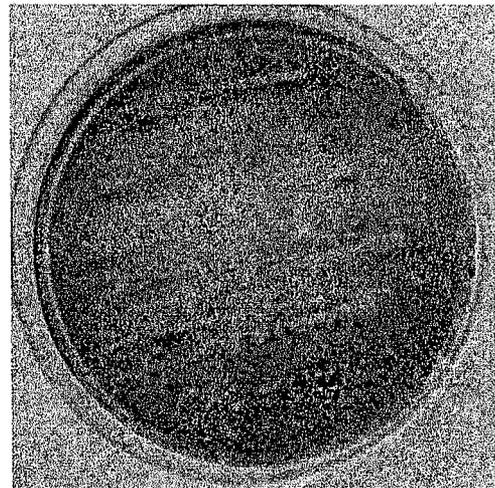
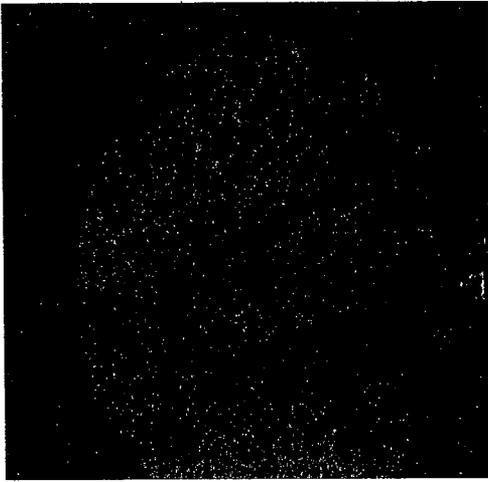
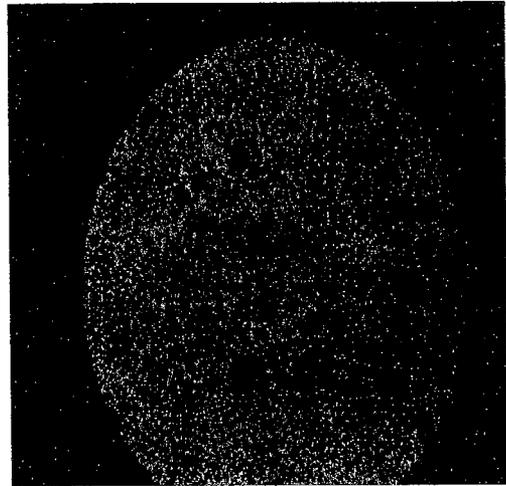


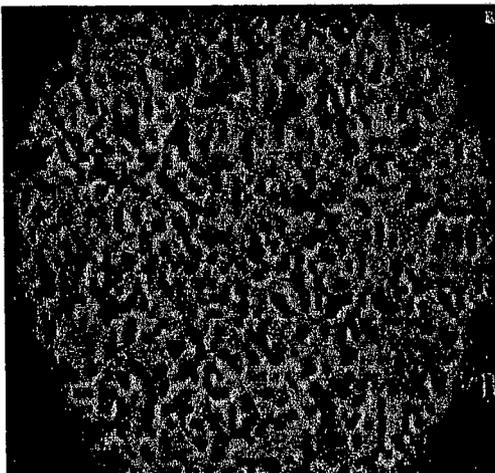
Fig 15. Souche de *Staphylococcus aureus* isolée sur Chapman.



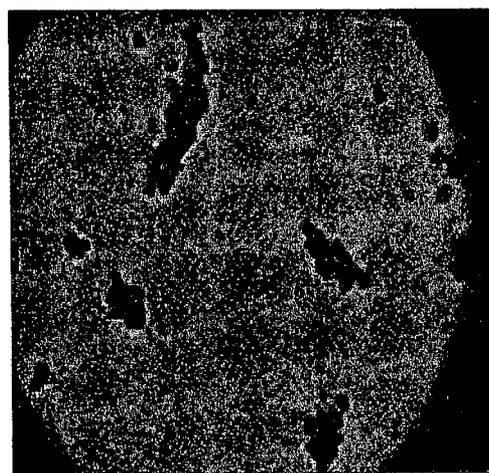
Souche d'*Escherichia coli*.



Souche d'*Enterobacter agglomerans*.



Souche de *Klebsiella oxytoca*.



Souche de *Staphylococcus aureus*.

Fig 16. Vue sous le microscope optique de la coloration de Gram de quelques souches bactériennes isolées.

I.2.2. Résultats de l'identification biochimique

Les germes qui ont été identifiés biochimiquement sont les germes (Lac+) isolés sur Mac Conkey et présentant des formes bacillaires, Gram (-) et qui sont par conséquent suspectés d'être pathogènes.

L'identification biochimique nous a permis de détecter la présence de trois bactéries appartenantes à la famille des Entérobactéries et plus précisément aux coliformes dont on note la présence majoritaire d'*Escherichia coli* dans les trois stations (1, 2,3), suivie par la détection

d'*Enterobacter agglomerans* dans les stations 2 et 3 alors que *Klebsiella oxytoca* n'a été révélé que dans la station 2.

Alors que le test biochimique des staphylocoques a permis de mettre en évidence la présence dans tous les prélèvements effectués les deux genres de staphylocoques pathogènes et non pathogènes.

Les figure 17 et 18 représentent respectivement les résultats de l'identification biochimique des deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans*) par l'API20 E.

Tab 06. Résultats de l'identification par la galerie biochimique classique.

Station	Espèces bactériennes
Station 1	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Station 2	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Station 3	<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Escherichia coli</i>

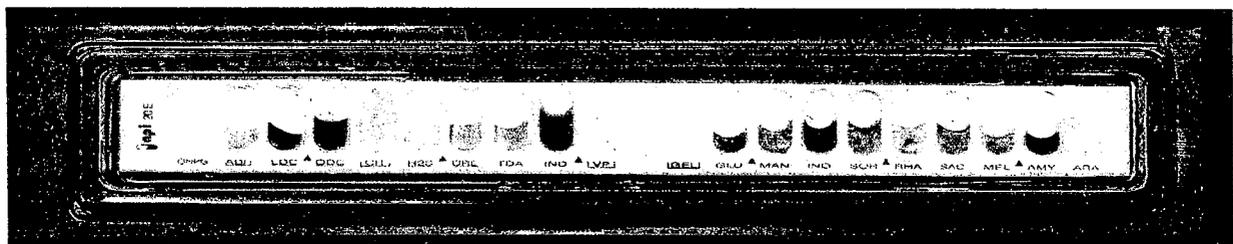


Fig 17. L'identification biochimique d'*Escherichia coli* par l'API 20 E (*Escherichia coli* : ATCC 25922).

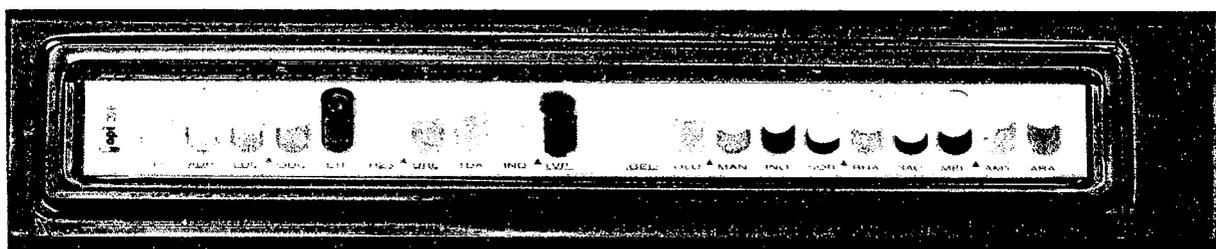


Fig 18. L'identification biochimique d'*Enterobacter agglomerans* par l'API 20 E (*Enterobacter agglomerans* : ATCC 12022).

II. Résultats d'appréciation du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du marais d'El-Kennar:

II.1. Lecture de la densité optique:

Afin de vérifier la contribution des bactéries dans le pouvoir bactéricide de l'eau, nous avons filtré les échantillons sur des membranes filtrantes $0.45\mu\text{m}$ qui ne laissent passer que les microorganismes dont leurs tailles sont inférieures à ce diamètre. Cette fraction représente les bactéries seulement.

En effet, nous avons constaté pour l'eau non filtrée et filtrée ($0.45\mu\text{m}$) que les échantillons non autoclavés laissés abandonnés sont devenus plus limpides (vision par l'œil nu) après quelques jours estimés d'environ 7 jours pour les échantillons des stations 2 et 3 et d'environ 8 jours pour la station 1, alors que l'eau autoclavée a gardé son trouble initial durant les deux semaines d'étude.

Les résultats du variation du densité optique d'eau du marais non filtrée et filtrée ($0.45\mu\text{m}$) sont représentés respectivement dans les tableaux (7, 8) et dans les figures (19 et 20).

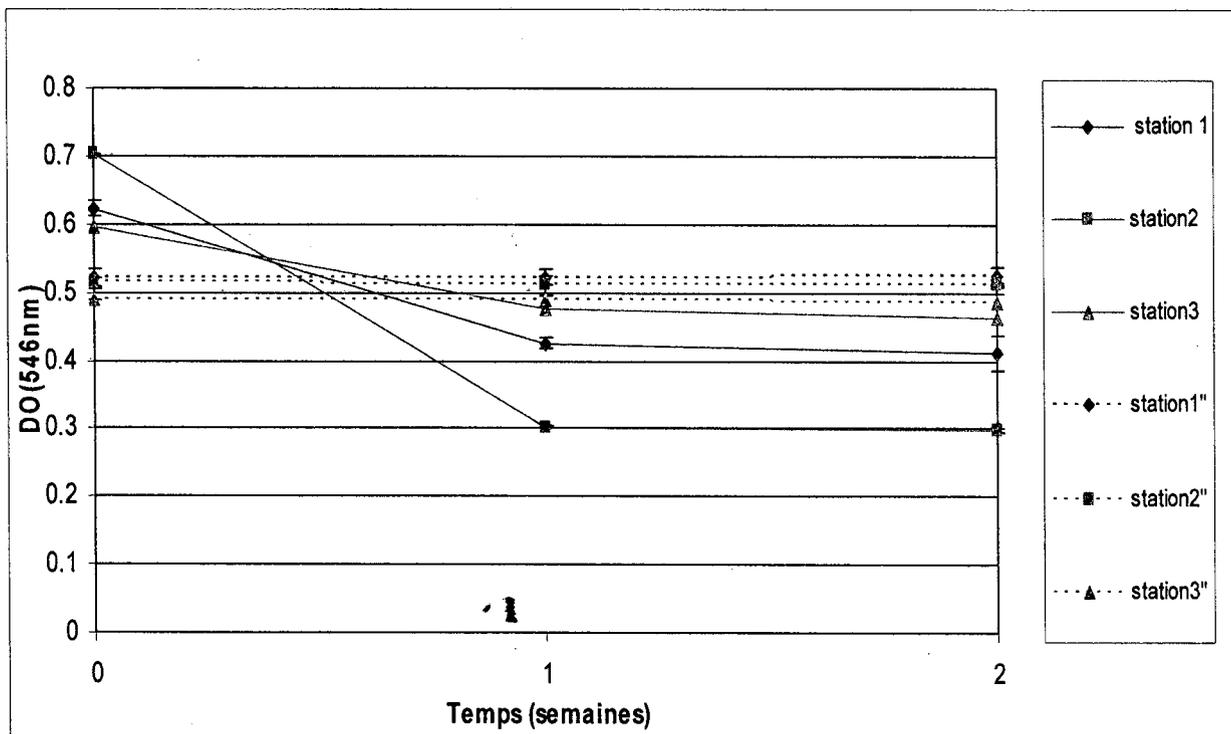
D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les densités optiques des tubes non autoclavés dans les deux cas (filtrés et non filtrés) diminuent considérablement après la première semaine avec des taux rapprochés pour l'eau non filtrée estimés de (31.79 % pour st1, 56.99 % pour st2 et de 20.63 % pour st3), alors que celles relatives à l'eau filtrée, les diminutions sont estimées de (12.55 % pour st1, 33.96 % pour st2, et de 17.38 % pour st3).

En effet, les densités optiques ne cessent à diminuer durant la deuxième semaine, mais les diminutions notées cette fois sont moins faibles par rapport à la première semaine. Les taux de diminutions estimés après deux semaines à partir du t_0 sont pour l'eau non filtrée de l'ordre de (33.87 % pour st1, 57.7 % pour st2, et de 22.45 % pour st3), alors que pour l'eau filtrée sont estimés de (19.48 % pour st1, 38.31% pour st2, 25.87 % pour st3). Par contre les densités optiques des échantillons autoclavés n'ont pas vraiment changé durant les deux semaines.

Tab 07. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station 1	Station 2	Station3	Station 1"	Station 2"	Station 3"
0	0.623±0.012	0.702±0.002	0.597±0.012	0.521±0.015	0.514±0.007	0.488±0.002
1	0.425±0.008	0.302±0.001	0.476±0.024	0.523±0.011	0.511±0.014	0.490±0.007
2	0.412±0.026	0.297±0.003	0.463±0.027	0.525±0.012	0.512±0.003	0.486±0.012

Les résultats sont exprimés en moyennes ± SEM. Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1",2" et 3") désignent les échantillons d'eau autoclavés.



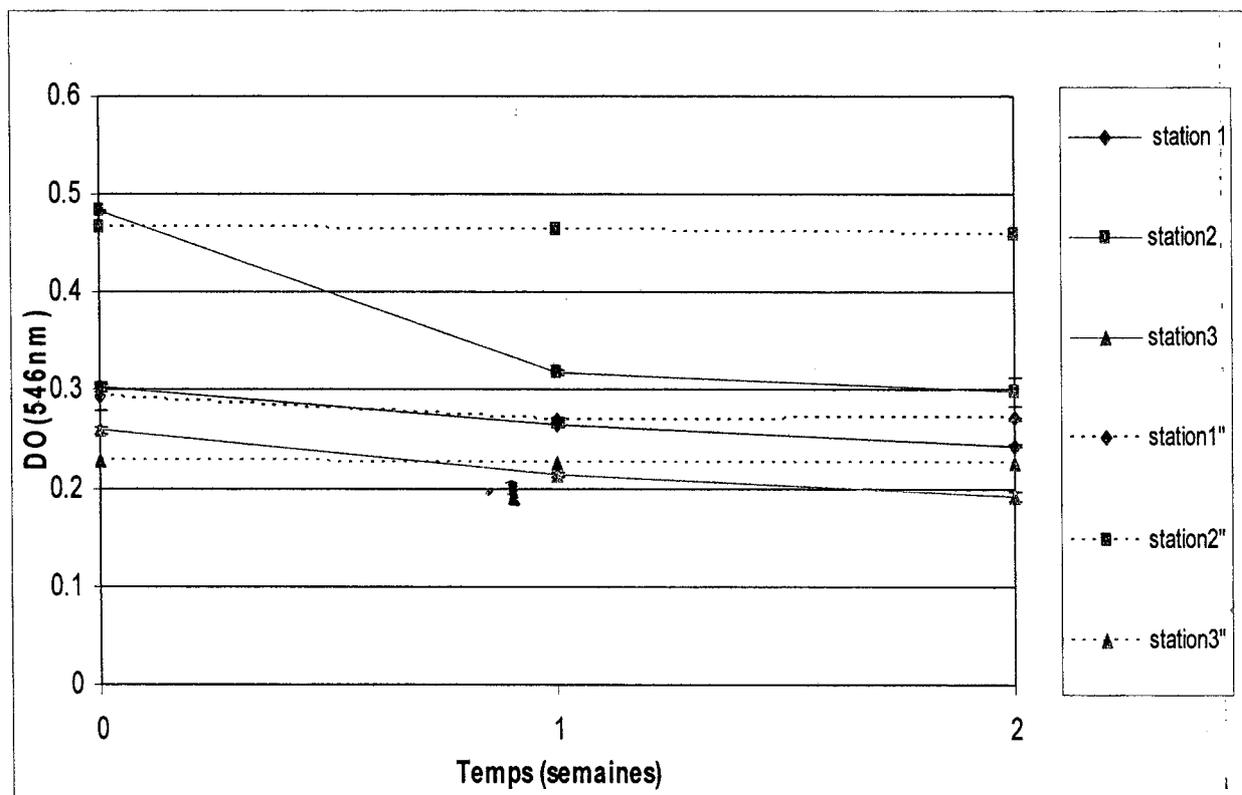
Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1",2" et 3") désignent les échantillons d'eau autoclavés.

Fig 19. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Tab 08. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45 µm) du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station 1	Station 2	Station 3	Station 1''	Station 2''	Station 3''
0	0.303±0.003	0.483±0.001	0.259±0.004	0.294±0.015	0.466±0.007	0.228±0.004
1	0.265±0.003	0.319±0.002	0.214±0.003	0.27± 0.001	0.463±0.001	0.226±0.001
2	0.244±0.002	0.298±0.015	0.192±0.004	0.271±0.002	0.459±0.002	0.225±0.002

Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés



Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés

Fig 20. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane de 0.45µm du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

II.2. Lecture du NPP:

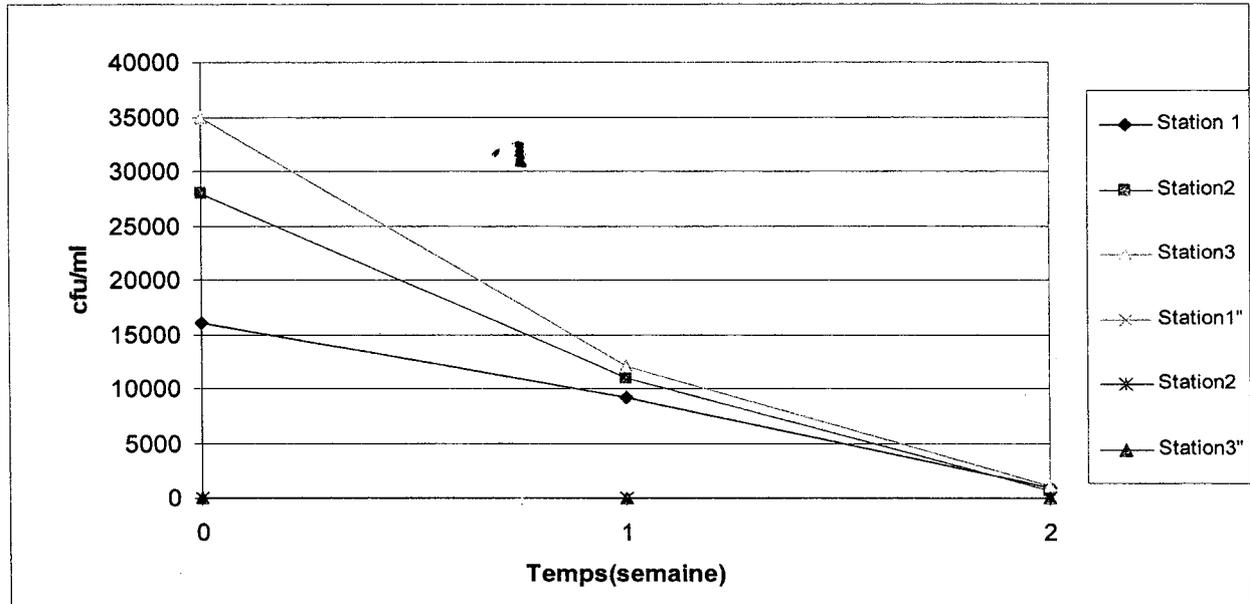
Les variations des nombres des cellules viables en coliformes dans les échantillons (autoclavés et non autoclavés) des trois stations laissés abandonnés durant les deux semaines sont représentées dans le tableau 9 et la figure 21.

Comparant ces résultats, nous avons enregistré que dans tous les échantillons autoclavés les coliformes sont nulles alors que les coliformes dénombrés au niveau des trois autres échantillons non autoclavés diminuent largement durant la première semaine avec des taux de 42.5 %, 60.72 % et de 65.72 % respectivement pour les échantillons des stations 1, 2 et 3. Le nombre des cellules viables en coliformes ne cesse à diminuer lors de la deuxième semaine des échantillons des trois stations 1, 2, et 3 respectivement avec des taux de 94.18 %, 97.32 %, 96.85 %.

Tab 09. Variation des nombres en cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station1	Station2	Station3	Station1''	Station2''	Station3''
	0	16000	28000	35000	0	0
1	9200	11000	12000	0	0	0
2	930	750	1100	0	0	0

Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés



Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés

Fig 21. Variation des nombres en cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

III. Résultats de la détermination du facteur bactéricide:

III.1. Résultats en milieu liquide:

III.1.1. Résultats de la lecture de la densité optique:

Les résultats obtenus concernant les variations du densité optique de chaque suspension bactérienne à 546 nm des trois bactéries isolées qui sont *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*, en présence et en absence d'eau du marais de chaque station des trois stations étudiées sont représentés respectivement dans les tableaux 10, 11, 12 et dans les figures 22, 23, 24.

L'étude comparative de ces résultats nous a permis de conclure le pouvoir bactéricide naturel existant dans cette eau. Nous avons constaté d'un côté en appliquant le test de Student une diminution hautement significative ($p < 0.001$ pour $n=3$) du densité optique de toutes les cultures bactériennes en présence d'eau du marais des trois stations pendant les deux premiers jours comparativement à leurs témoins (en absence d'eau du marais) dont leurs densités optiques ne cessent à augmenter pendant ces deux premiers jours. Mais les pourcentages de

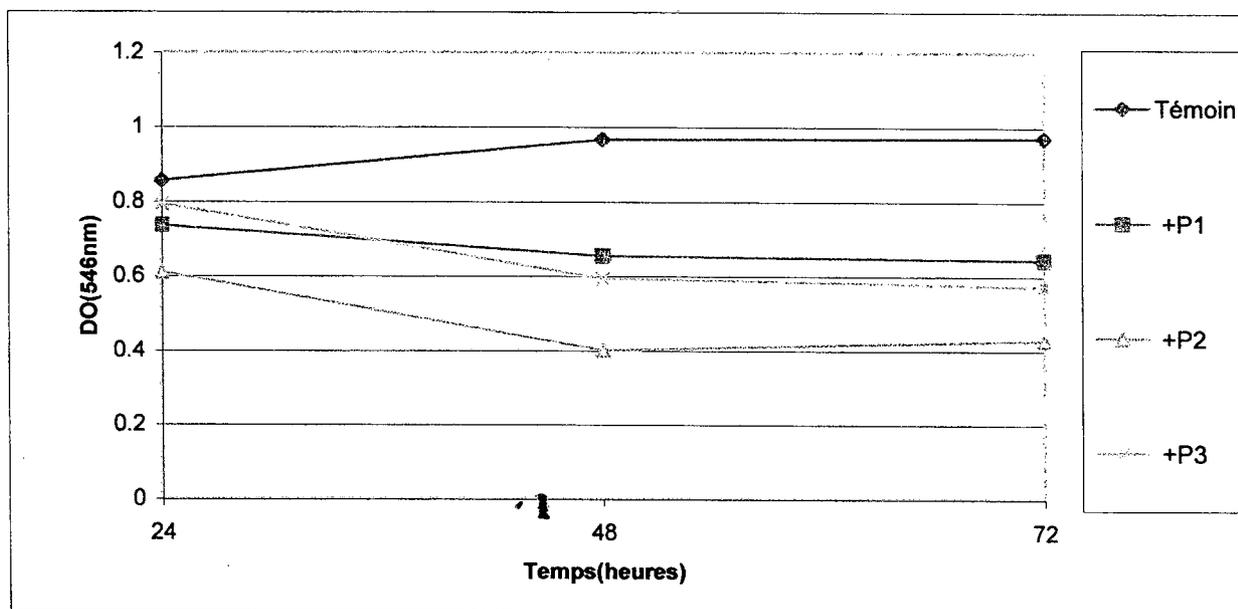
diminutions se diffèrent d'une culture bactérienne à l'autre et les pourcentages de diminutions enregistrées après 72 heures sont représentés dans le tableau 13 et la figure 25.

D'un autre côté, nous avons noté que les densités optiques de tous les échantillons sont presque stables après la 48^{ème} heure.

Tab. 10. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Cultures Temps (heures)	Témoin	+ P1	+ P2	+ P3
24	0.856 ± 0.015	0.736 ± 0.001	0.612 ± 0.001	0.794 ± 0.001
48	0.965 ± 0.001	0.655 ± 0.002	0.401 ± 0.004	0.594 ± 0.002
72	0.971 ± 0.003	0.645 ± 0.002	0.429 ± 0.001	0.537 ± 0.003

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



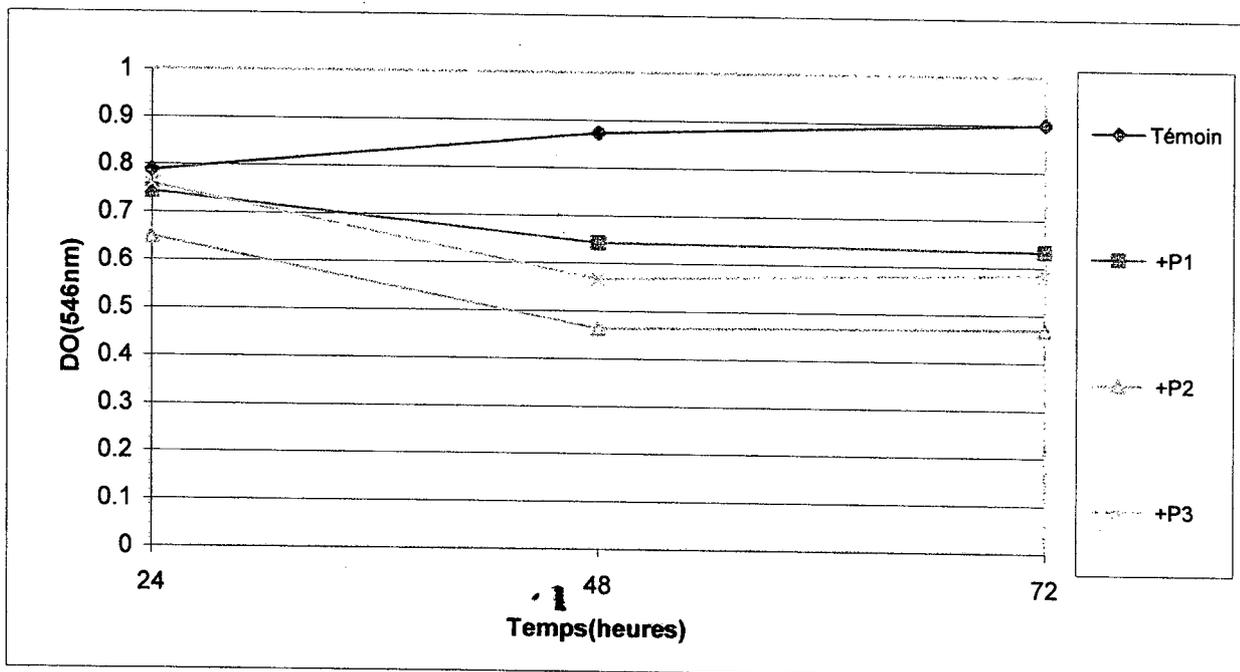
P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 22. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Tab.11. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Enterobacter agglomerans* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps

Culture \ Temps (heures)	Témoin	+ P1	+ P2	+ P3
24	0.788 ± 0.002	0.744 ± 0.005	0.649 ± 0.003	0.759 ± 0.001
48	0.873 ± 0.001	0.643 ± 0.002	0.462 ± 0.002	0.566 ± 0.003
72	0.899 ± 0.004	0.633 ± 0.001	0.469 ± 0.002	0.583 ± 0.003

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtré du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



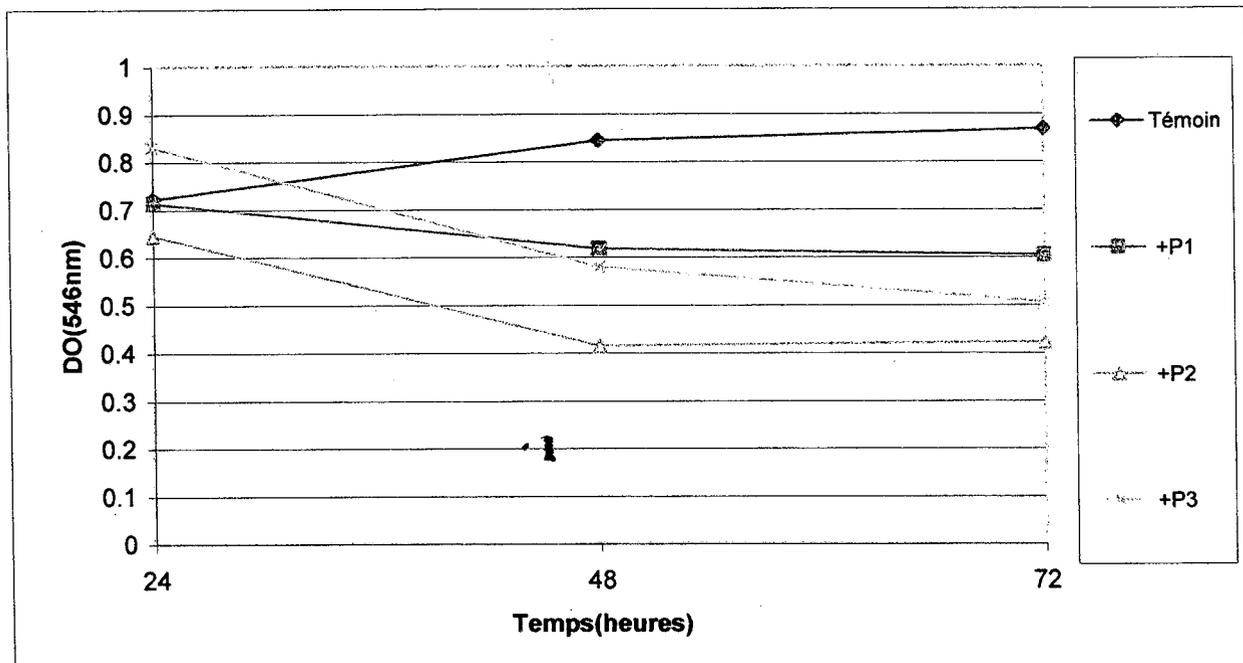
P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 23. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Enterobacter agglomerans* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Tab. 12. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de *Klebsiella oxytoca* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Culture \ Temps(heures)	Témoin	+ P1	+ P2	+ P3
24	0.722 ± 0.002	0.714 ± 0.015	0.645 ± 0.003	0.831 ± 0.004
48	0.844 ± 0.002	0.618 ± 0.001	0.415 ± 0.001	0.579 ± 0.003
72	0.868 ± 0.006	0.605 ± 0.001	0.423 ± 0.002	0.506 ± 0.003

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



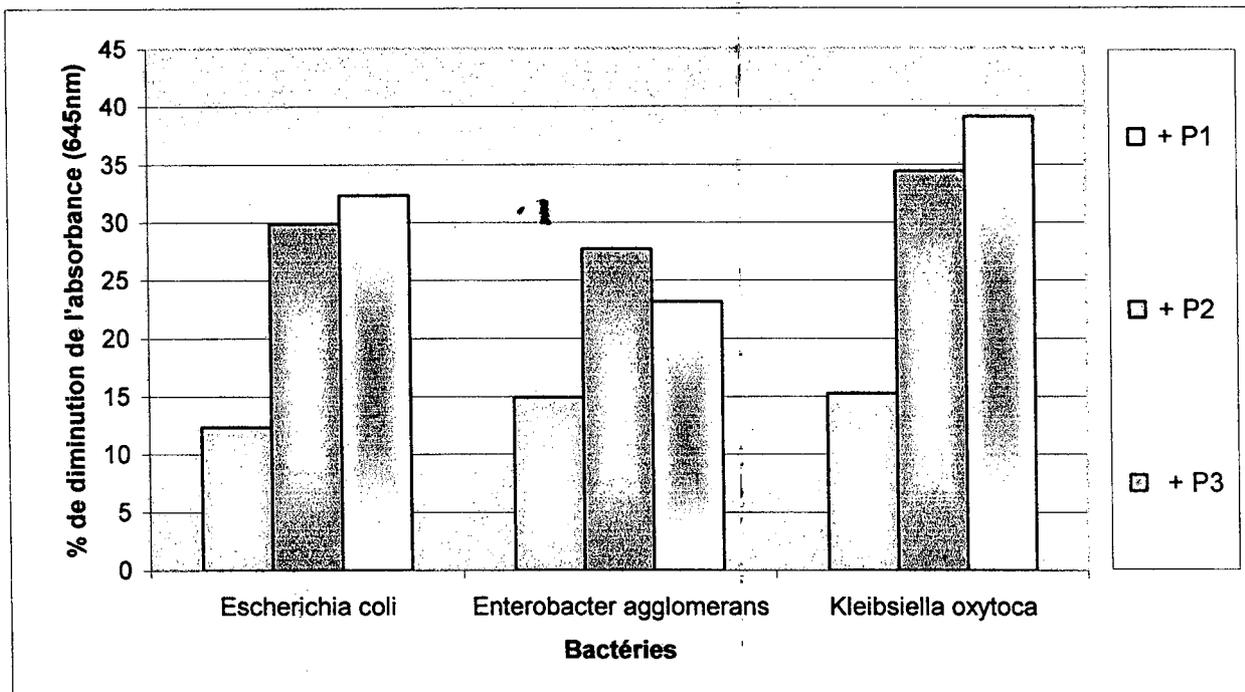
P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 24. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes de *Klebsiella oxytoca* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps

Tab. 13. Variation des pourcentages de diminution l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca* ajoutées à 0.5 ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations.

Culture	+ P1	+ P2	+ P3
Bactéries			
<i>Escherichia coli</i>	12.36 %	29.90%	32.36%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	14.91%	27.73%	23.18%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	15.26%	34.41%	39.10%

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 25. Variation des pourcentages de diminution de l'absorbance des suspensions bactériennes d'*Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais chacune des trois stations.

III.1.2. Résultats de la lecture du nombre le plus probable (NPP) :

Afin d'évaluer le pouvoir bactéricide d'eau du marais plus précisément, nous avons recours à estimer le nombre moyen des cellules viables appartenantes au groupe des coliformes existants dans les échantillons étudiés. En raison du manque de BCPL, nous n'avons estimé ce pouvoir bactéricide que pour l'échantillon de la troisième station.

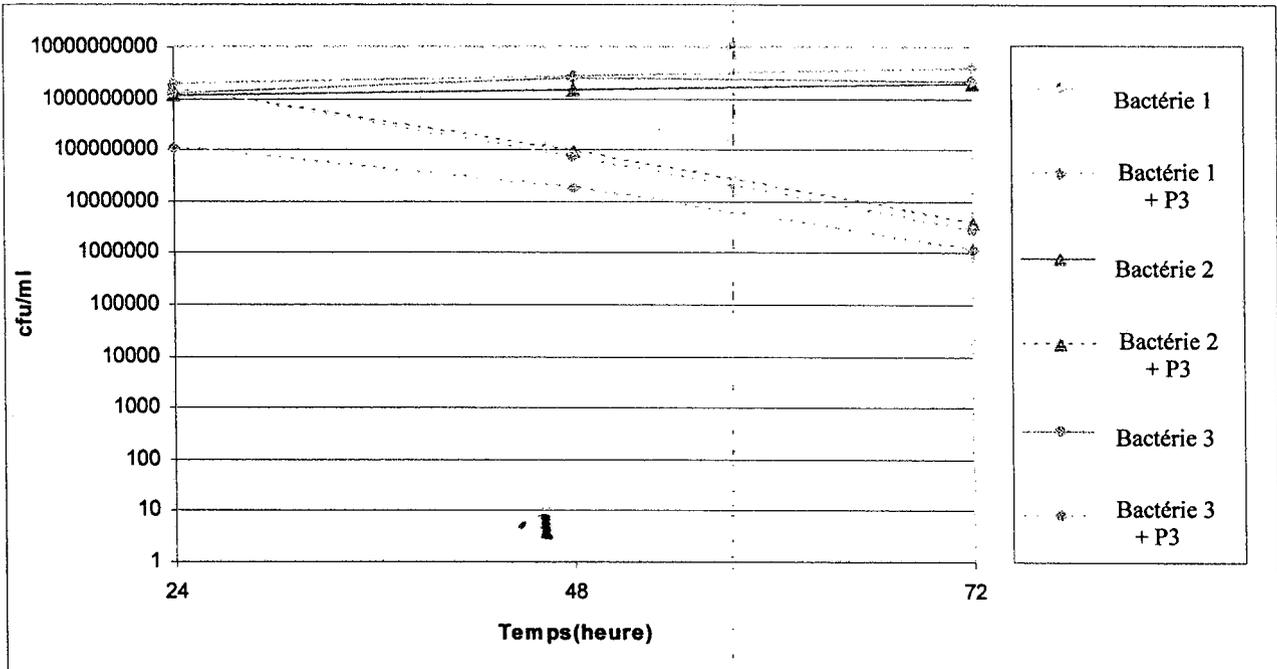
Les résultats exprimant les variations du nombre des cellules viables des coliformés en absence et en présence d'échantillon de la troisième station sont représentés dans le tableau 14 et la figure 26.

L'ajout de l'eau des prélèvements de la troisième station a provoqué une diminution du nombre en cellules viables des coliformes dans toutes les cultures bactériennes, mais cette diminution varie d'une culture à une autre. Nous avons enregistré en appliquant le test de Student une diminution très significative ($p < 0.01$, $n=3$) après 72 heures autrement dit une diminution estimée de (2.6 Log) pour *Escherichia coli* et de (2.58 Log) pour *Enterobacter agglomerans*. La diminution a été par leur tour très significative estimée de (2.63 Log) pour *Klebsiella oxytoca* ($p < 0.01$, $n=3$).

Tab. 14. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondantes aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) ajoutées chacune à 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la troisième station (P 3) en fonction du temps.

Culture Temps (heures)	Bactérie 1	Bactérie 2	Bactérie 3	Bactérie 1 + P3	Bactérie 2 +P3	Bactérie 3 +P3
	24	$2 \cdot 10^{10}$	$11 \cdot 10^9$	$12 \cdot 10^8$	$11 \cdot 10^8$	$15 \cdot 10^8$
48	$27 \cdot 10^{10}$	$15 \cdot 10^{10}$	$26 \cdot 10^{10}$	$18 \cdot 10^5$	$97 \cdot 10^6$	$75 \cdot 10^6$
72	$38 \cdot 10^{10}$	$21 \cdot 10^{10}$	$21 \cdot 10^{10}$	$28 \cdot 10^4$	$39 \cdot 10^4$	$28 \cdot 10^6$

Bactérie 1: *Escherichia coli*. Bactérie2: *Enterobacter agglomerans*. Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*. P3: 0.5ml d'échantillon filtré de la station 3.



Bactérie 1: *Escherichia coli*. Bactérie2: *Enterobacter agglomerans*. Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*. P3: 0.5ml d'échantillon filtré de la station 3.

Fig. 26. Variation du nombre de cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) ajoutées chacune à 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la troisième station (P3) en fonction du temps.

III.2. Résultats en milieu solide:

III.2.1. Résultats d'isolement et de purification de *Bdellovibrio bacteriovorus*:

Dans la littérature relative au *Bdellovibrio*, les résultats relatifs aux formations des plages de lyse sont exprimés à partir de la mesure des diamètres de ces zones d'inhibition en millimètres [184]. Nous n'avons pris en compte que les résultats issus après la troisième purification.

Les figures 27, 28, 29 représentent successivement l'évolution de la formation des plages de lyse sur les tapis bactériens, d'*Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca*.

Les résultats relatifs aux mesures de l'évolution des diamètres des plages de lyse formées sur les tapis bactériens des trois bactéries déjà citées en fonction du temps sont représentés dans le tableau 15 et la figure 30.

D'une part, nous avons constaté que les plages de lyse formées sur le tapis d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter agglomerans* ne se développent qu'après la 48^{ème} heure, alors que celles formées sur le tapis de *Klebsiella oxytoca* ne se développent qu'après le troisième jour dès l'ensemencement.

Et d'un autre part, nous avons noté que les plages de lyse atteignent leurs diamètres maximaux après 6 à 7 jours avec *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* respectivement avec des diamètres de 3.36mm et de 2.16 mm. Alors que les plages formées sur *Klebsiella oxytoca* sont plus petites par rapport à celles formées sur les deux autres bactéries et n'atteignent que 1.54 mm après 5 à 6 jours.

II. Résultats d'appréciation du pouvoir bactériolytique spontané de l'eau du marais d'El-Kennar:

II.1. Lecture de la densité optique:

Afin de vérifier la contribution des bactéries dans le pouvoir bactéricide de l'eau, nous avons filtré les échantillons sur des membranes filtrantes $0.45\mu\text{m}$ qui ne laissent passer que les microorganismes dont leurs tailles sont inférieures à ce diamètre. Cette fraction représente les bactéries seulement.

En effet, nous avons constaté pour l'eau non filtrée et filtrée ($0.45\mu\text{m}$) que les échantillons non autoclavés laissés abandonnés sont devenus plus limpides (vision par l'œil nu) après quelques jours estimés d'environ 7 jours pour les échantillons des stations 2 et 3 et d'environ 8 jours pour la station 1, alors que l'eau autoclavée a gardé son trouble initial durant les deux semaines d'étude.

Les résultats du variation du densité optique d'eau du marais non filtrée et filtrée ($0.45\mu\text{m}$) sont représentés respectivement dans les tableaux (7, 8) et dans les figures (19 et 20).

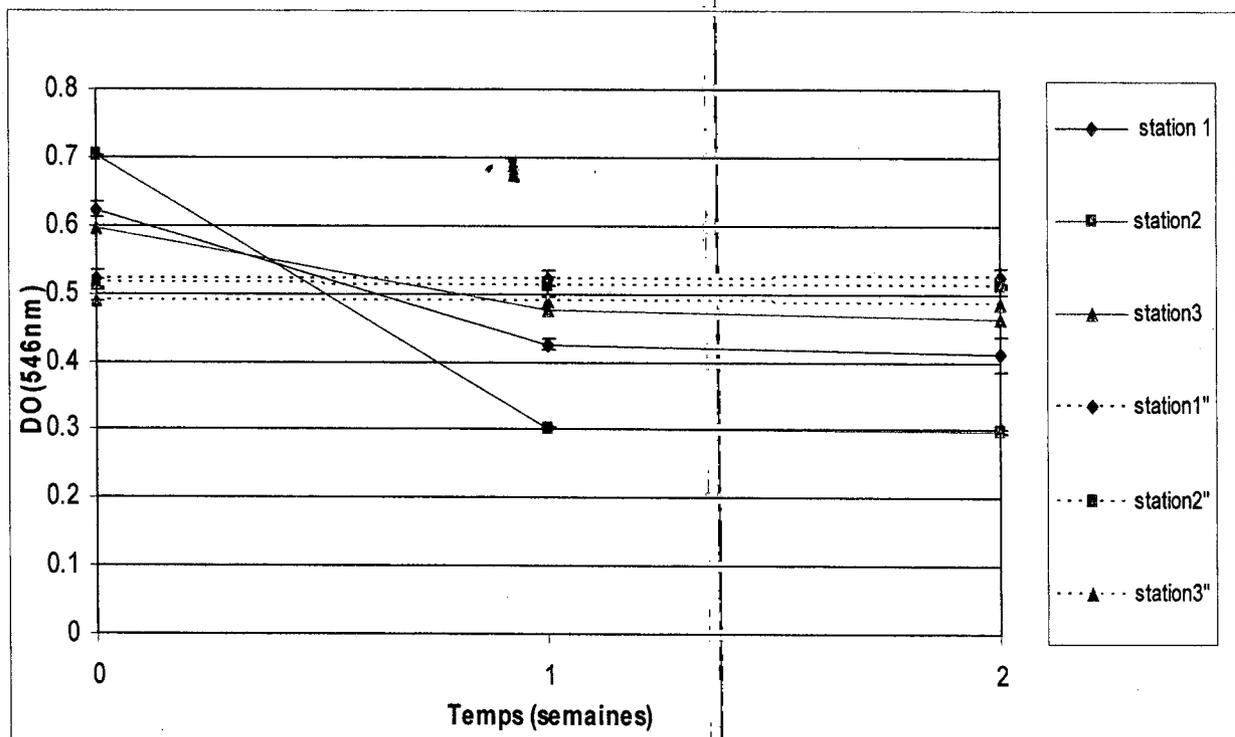
D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les densités optiques des tubes non autoclavés dans les deux cas (filtrés et non filtrés) diminuent considérablement après la première semaine avec des taux rapprochés pour l'eau non filtrée estimés de (31.79 % pour st1, 56.99 % pour st2 et de 20.63 % pour st3), alors que celles relatives à l'eau filtrée, les diminutions sont estimées de (12.55 % pour st1, 33.96 % pour st2, et de 17.38 % pour st3).

En effet, les densités optiques ne cessent à diminuer durant la deuxième semaine, mais les diminutions notées cette fois sont moins faibles par rapport à la première semaine. Les taux de diminutions estimés après deux semaines à partir du t_0 sont pour l'eau non filtrée de l'ordre de (33.87 % pour st1, 57.7 % pour st2, et de 22.45 % pour st 3), alors que pour l'eau filtrée sont estimés de (19.48 % pour st1, 38.31% pour st 2, 25.87 % pour st 3). Par contre les densités optiques des échantillons autoclavés n'ont pas vraiment changé durant les deux semaines.

Tab 07. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station 1	Station 2	Station 3	Station 1''	Station 2''	Station 3''
0	0.623±0.012	0.702±0.002	0.597±0.012	0.521±0.015	0.514±0.007	0.488±0.002
1	0.425±0.008	0.302±0.001	0.476±0.024	0.523±0.011	0.511±0.014	0.490±0.007
2	0.412±0.026	0.297±0.003	0.463±0.027	0.525±0.012	0.512±0.003	0.486±0.012

Les résultats sont exprimés en moyennes ± SEM. Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés.



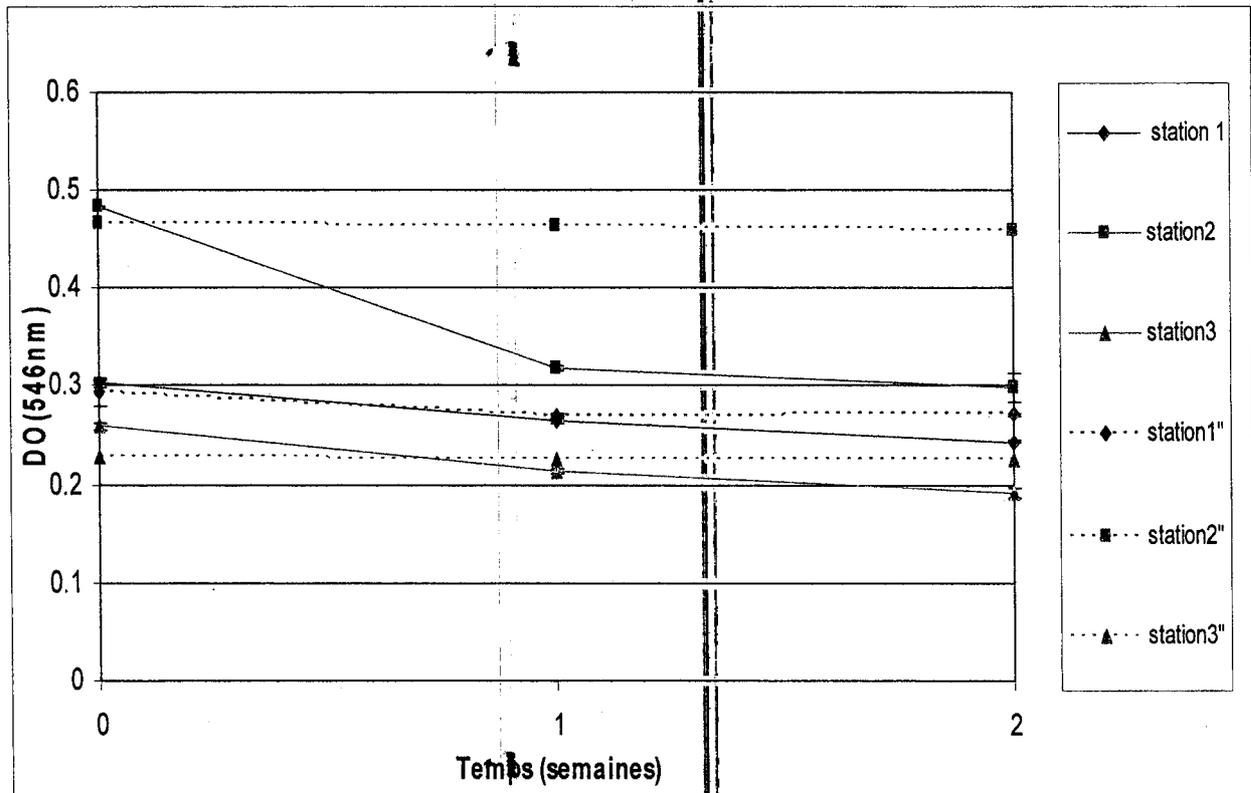
Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés.

Fig 19. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Tab 08. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane (0.45 µm) du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station 1	Station 2	Station 3	Station 1''	Station 2''	Station 3''
0	0.303±0.003	0.483±0.001	0.259±0.004	0.294±0.015	0.466±0.007	0.228±0.004
1	0.265±0.003	0.319±0.002	0.214±0.003	0.27± 0.001	0.463±0.001	0.226±0.001
2	0.244±0.002	0.298±0.015	0.192±0.004	0.271±0.002	0.459±0.002	0.225±0.002

Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés



Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés

Fig 20. Variation de l'absorbance des échantillons d'eau filtrés sur membrane de 0.45µm du marais autoclavés et non autoclavés à la longueur d'onde 546nm en fonction du temps.

II.2. Lecture du NPP:

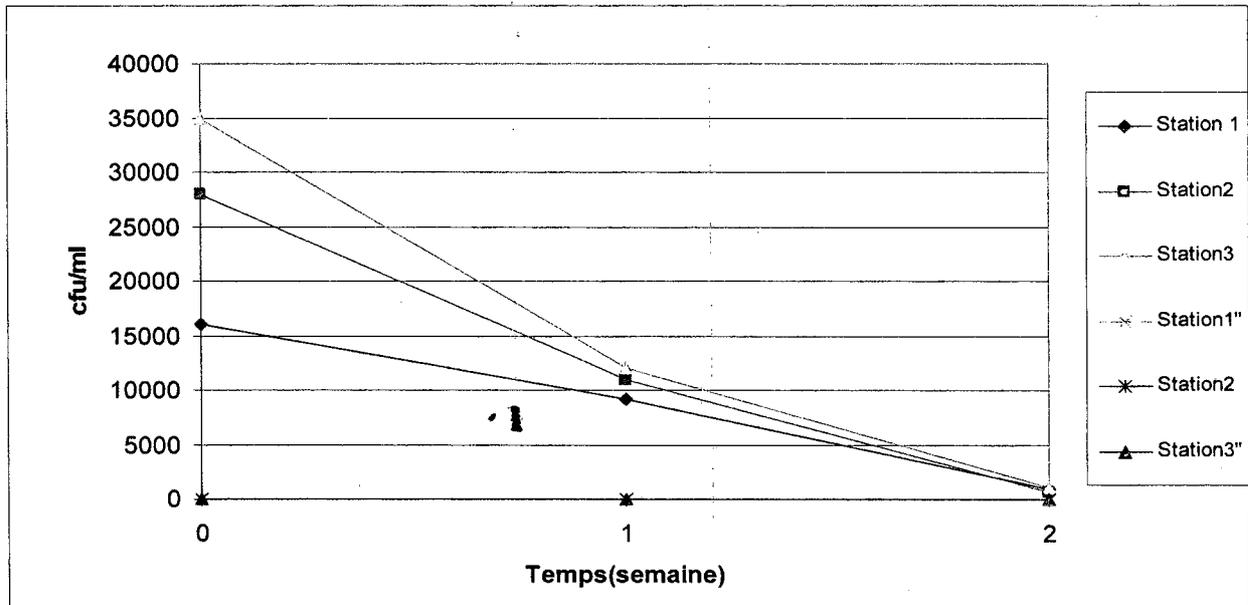
Les variations des nombres des cellules viables en coliformes dans les échantillons (autoclavés et non autoclavés) des trois stations laissés abandonnés durant les deux semaines sont représentées dans le tableau 9 et la figure 21.

Comparant ces résultats, nous avons enregistré que dans tous les échantillons autoclavés les coliformes sont nulles alors que les coliformes dénombrés au niveau des trois autres échantillons non autoclavés diminuent largement durant la première semaine avec des taux de 42.5 %, 60.72 % et de 65.72 % respectivement pour les échantillons des stations 1, 2 et 3. Le nombre des cellules viables en coliformes ne cesse à diminuer lors de la deuxième semaine des échantillons des trois stations 1, 2, et 3 respectivement avec des taux de 94.18 %, 97.32 %, 96.85 %.

Tab 09. Variation des nombres en cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

Stations Temps (semaines)	Station1	Station2	Station3	Station1''	Station2''	Station3''
0	16000	28000	35000	0	0	0
1	9200	11000	12000	0	0	0
2	930	750	1100	0	0	0

Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés



Stations (1,2 et 3) désignent les échantillons d'eau non autoclavés. Stations (1'',2'' et 3'') désignent les échantillons d'eau autoclavés

Fig 21. Variation des nombres en cellules viables (coliformes) des échantillons d'eau non filtrés du marais autoclavés et non autoclavés en fonction du temps.

III. Résultats de la détermination du facteur bactéricide:

III.1. Résultats en milieu liquide:

III.1.1. Résultats de la lecture de la densité optique:

Les résultats obtenus concernant les variations du densité optique de chaque suspension bactérienne à 546 nm des trois bactéries isolées qui sont *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*, en présence et en absence d'eau du marais de chaque station des trois stations étudiées sont représentés respectivement dans les tableaux 10, 11, 12 et dans les figures 22, 23, 24.

L'étude comparative de ces résultats nous a permis de conclure le pouvoir bactéricide naturel existant dans cette eau. Nous avons constaté d'un côté en appliquant le test de Student une diminution hautement significative ($p < 0.001$ pour $n=3$) du densité optique de toutes les cultures bactériennes en présence d'eau du marais des trois stations pendant les deux premiers jours comparativement à leurs témoins (en absence d'eau du marais) dont leurs densités optiques ne cessent à augmenter pendant ces deux premiers jours. Mais les pourcentages de

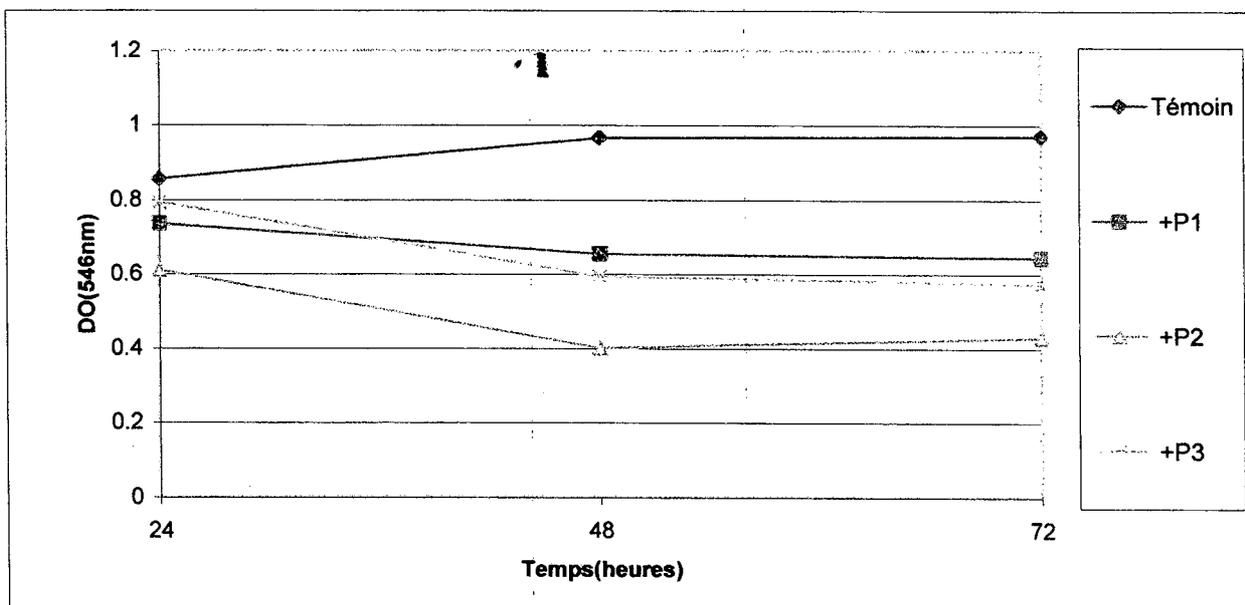
diminutions se diffèrent d'une culture bactérienne à l'autre et les pourcentages de diminutions enregistrées après 72 heures sont représentés dans le tableau 13 et la figure 25.

D'un autre côté, nous avons noté que les densités optiques de tous les échantillons sont presque stables après la 48^{ème} heure.

Tab. 10. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Cultures Temps (heures)	Témoin	+ P1	+ P2	+ P3
24	0.856 ± 0.015	0.736 ± 0.001	0.612 ± 0.001	0.794 ± 0.001
48	0.965 ± 0.001	0.655 ± 0.002	0.401 ± 0.004	0.594 ± 0.002
72	0.971 ± 0.003	0.645 ± 0.002	0.429 ± 0.001	0.537 ± 0.003

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



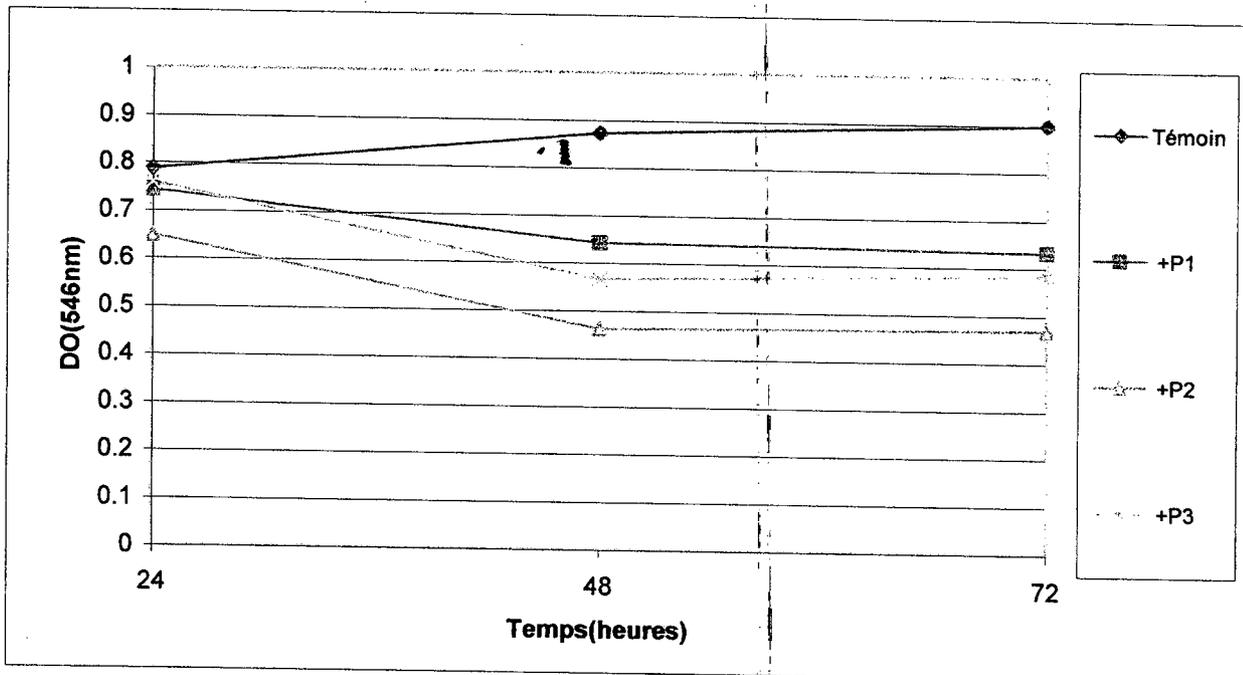
P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 22. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

Tab.11. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Enterobacter agglomerans* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps

Culture \ Temps (heures)	Témoin	+ P1	+ P2	+ P3
24	0.788 ± 0.002	0.744 ± 0.005	0.649 ± 0.003	0.759 ± 0.001
48	0.873 ± 0.001	0.643 ± 0.002	0.462 ± 0.002	0.566 ± 0.003
72	0.899 ± 0.004	0.633 ± 0.001	0.469 ± 0.002	0.583 ± 0.003

P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtré du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.



P1 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 1, P2 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 2, P3 désigne: 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la station 3.

Fig. 23. Variation de l'absorbance des suspensions bactériennes d' *Enterobacter agglomerans* ajoutées à 0.5ml d'eau filtrée du marais de chacune des trois stations en fonction du temps.

III.1.2. Résultats de la lecture du nombre le plus probable (NPP) :

Afin d'évaluer le pouvoir bactéricide d'eau du marais plus précisément, nous avons recours à estimer le nombre moyen des cellules viables appartenantes au groupe des coliformes existants dans les échantillons étudiés. En raison du manque de BCPL, nous n'avons estimé ce pouvoir bactéricide que pour l'échantillon de la troisième station.

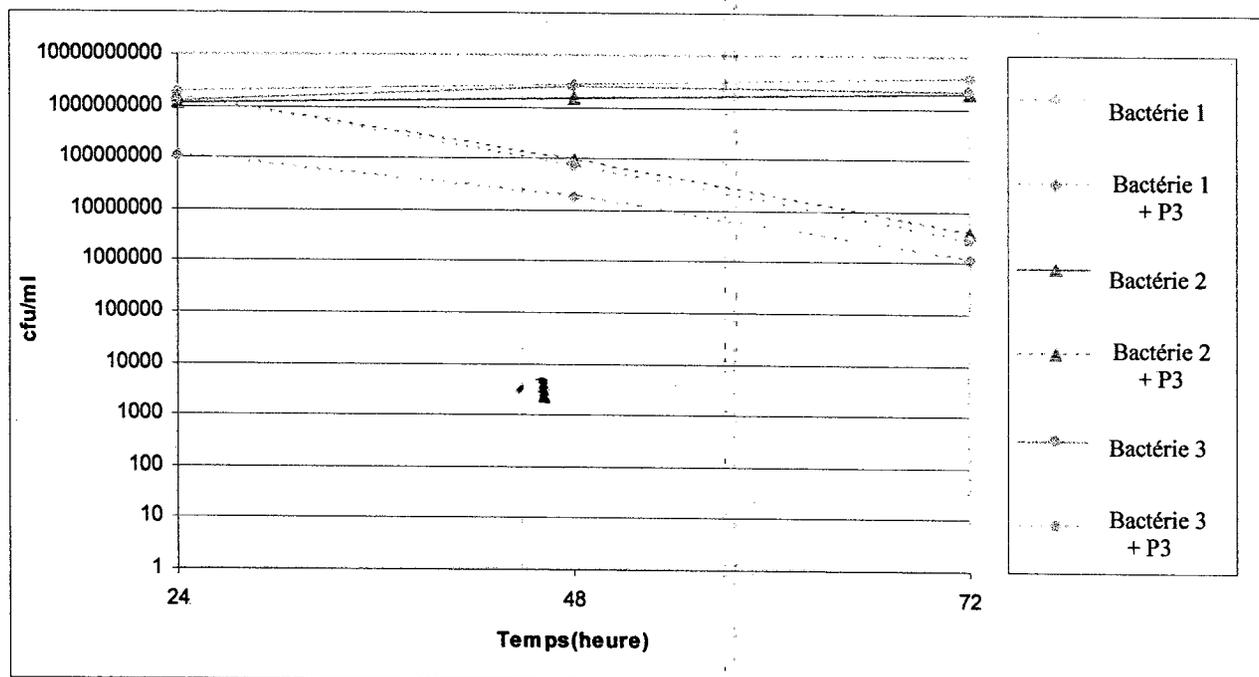
Les résultats exprimant les variations du nombre des cellules viables des coliformes en absence et en présence d'échantillon de la troisième station sont représentés dans le tableau 14 et la figure 26.

L'ajout de l'eau des prélèvements de la troisième station a provoqué une diminution du nombre en cellules viables des coliformes dans toutes les cultures bactériennes, mais cette diminution varie d'une culture à une autre. Nous avons enregistré en appliquant le test de Student une diminution très significative ($p < 0.01$, $n=3$) après 72 heures autrement dit une diminution estimée de (2.6 Log) pour *Escherichia coli* et de (2.58 Log) pour *Enterobacter agglomerans*. La diminution a été par leur tour très significative estimée de (2.63 Log) pour *Klebsiella oxytoca* ($p < 0.01$, $n=3$).

Tab. 14. Variation du nombre des cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondantes aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) ajoutées chacune à 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la troisième station (P3) en fonction du temps.

Culture Temps (heures)	Bactérie 1	Bactérie 2	Bactérie 3	Bactérie 1 + P3	Bactérie 2 +P3	Bactérie 3 +P3
	24	$2 \cdot 10^{10}$	$11 \cdot 10^9$	$12 \cdot 10^8$	$11 \cdot 10^8$	$15 \cdot 10^8$
48	$27 \cdot 10^{10}$	$15 \cdot 10^{10}$	$26 \cdot 10^{10}$	$18 \cdot 10^5$	$97 \cdot 10^6$	$75 \cdot 10^6$
72	$38 \cdot 10^{10}$	$21 \cdot 10^{10}$	$21 \cdot 10^{10}$	$28 \cdot 10^4$	$39 \cdot 10^4$	$28 \cdot 10^6$

Bactérie 1: *Escherichia coli*. Bactérie2: *Enterobacter agglomérans*. Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*. P3: 0.5ml d'échantillon filtré de la station 3.



Bactérie 1: *Escherichia coli*. Bactérie2: *Enterobacter agglomerans*. Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*. P3: 0.5ml d'échantillon filtré de la station 3.

Fig. 26. Variation du nombre de cellules viables dans les trois suspensions bactériennes correspondant aux trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*) ajoutées chacune à 0.5 ml d'eau filtrée du marais de la troisième station (P3) en fonction du temps.

III.2. Résultats en milieu solide:

III.2.1. Résultats d'isolement et de purification de *Bdellovibrio bacteriovorus*:

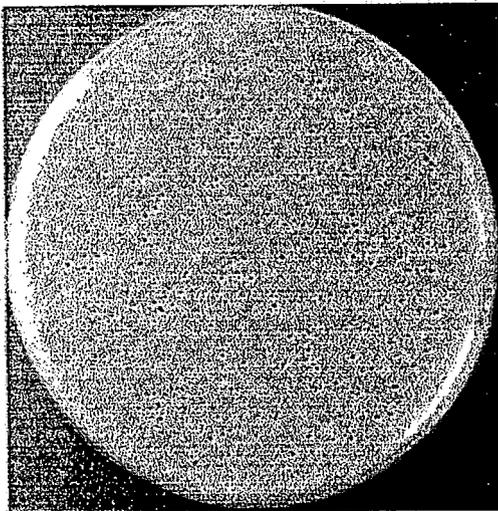
Dans la littérature relative au *Bdellovibrio*, les résultats relatifs aux formations des plages de lyse sont exprimés à partir de la mesure des diamètres de ces zones d'inhibition en millimètres [184]. Nous n'avons pris en compte que les résultats issus après la troisième purification.

Les figures 27, 28, 29 représentent successivement l'évolution de la formation des plages de lyse sur les tapis bactériens d' *Escherichia coli*, d' *Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca*.

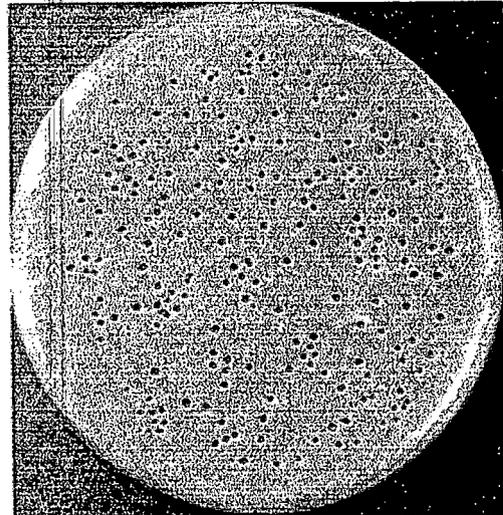
Les résultats relatifs aux mesures de l'évolution des diamètres des plages de lyse formées sur les tapis bactériens des trois bactéries déjà citées en fonction du temps sont représentés dans le tableau 15 et la figure 30.

D'une part, nous avons constaté que les plages de lyse formées sur le tapis d' *Escherichia coli* et d' *Enterobacter agglomerans* ne se développent qu'après la 48^{ème} heure, alors que celles formées sur le tapis de *Klebsiella oxytoca* ne se développent qu'après le troisième jour dès l'ensemencement.

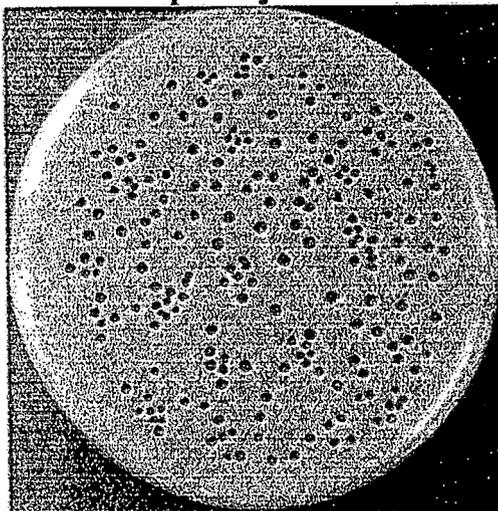
Et d'un autre part, nous avons noté que les plages de lyse atteignent leurs diamètres maximaux après 6 à 7 jours avec *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* respectivement avec des diamètres de 3.36mm et de 2.16 mm. Alors que les plages formées sur *Klebsiella oxytoca* sont plus petites par rapport à celles formées sur les deux autres bactéries et n'atteignent que 1.54 mm après 5 à 6 jours.



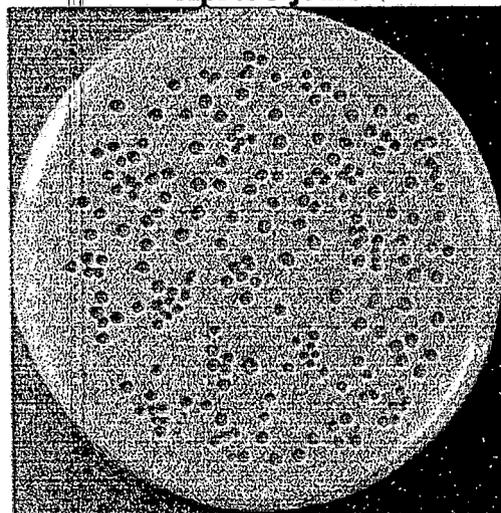
Après 2 jours



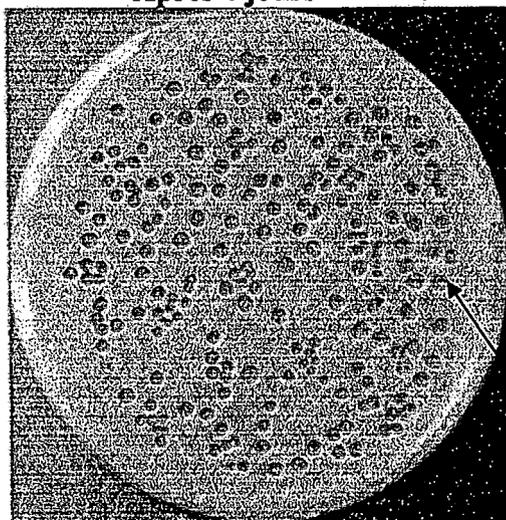
Après 3 jours



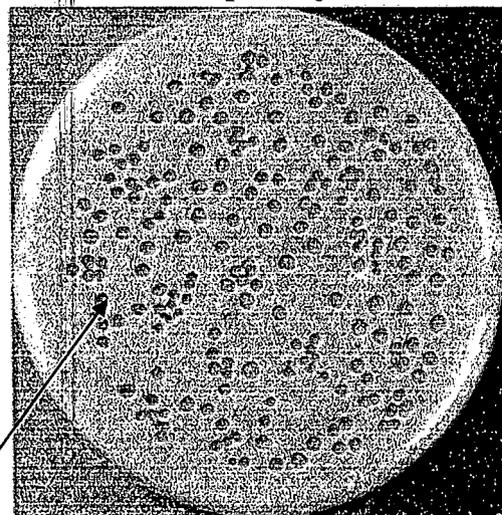
Après 4 jours



Après 5 jours



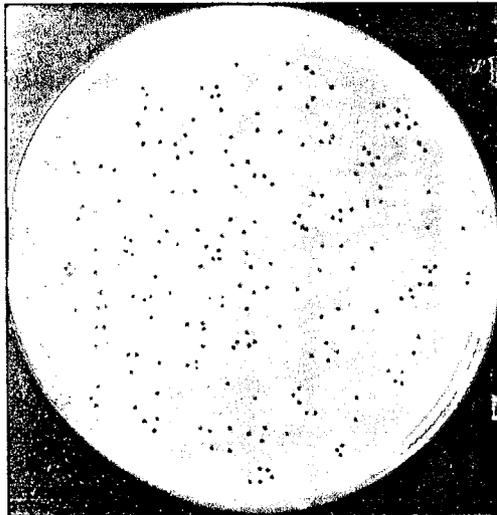
Après 6 jours



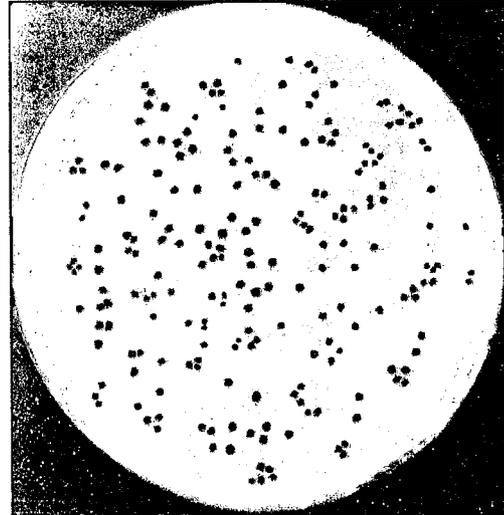
Après 7 jours

plages de lyse

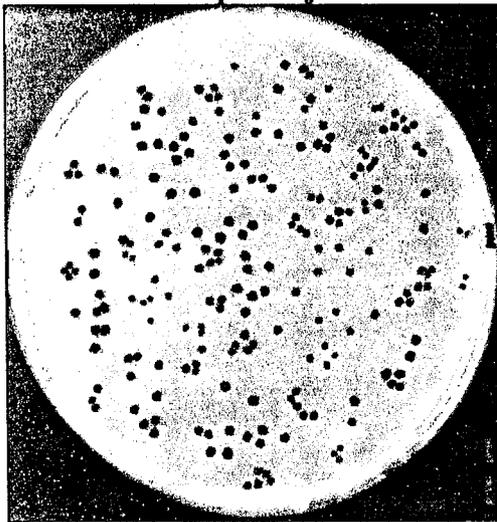
Fig. 27. Formation des plages de lyse sur le tapis d'*Escherichia coli* durant les sept jours (la troisième purification).



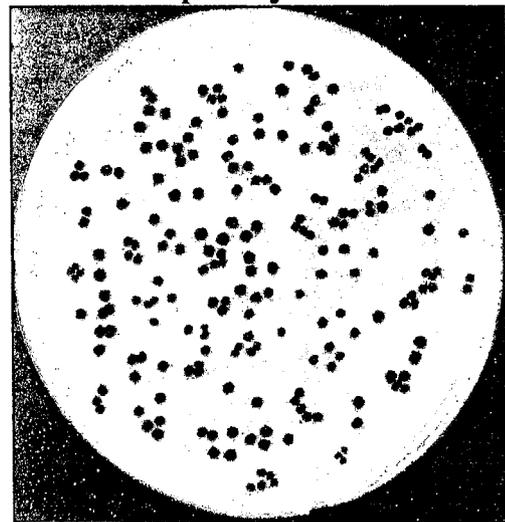
Après 2 jours



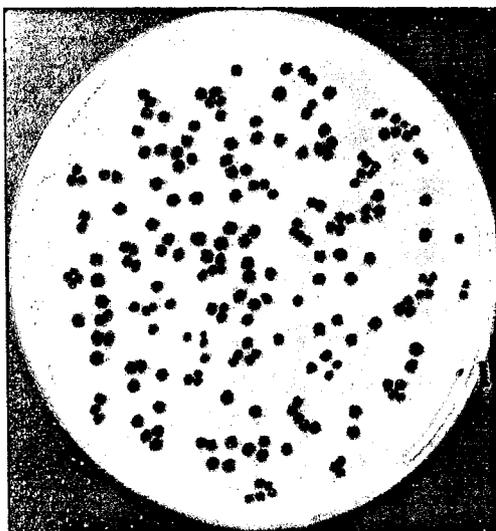
Après 3 jours



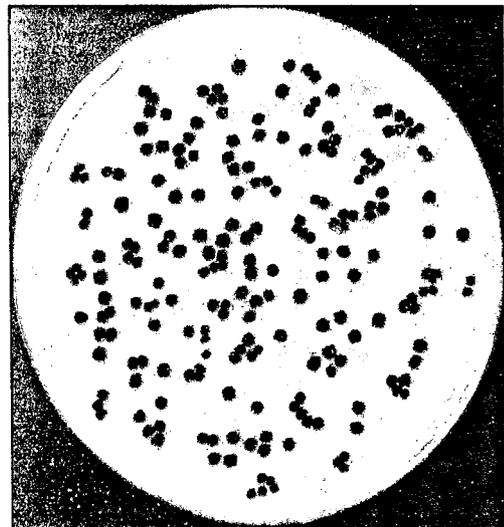
Après 4 jours



Après 5 jours

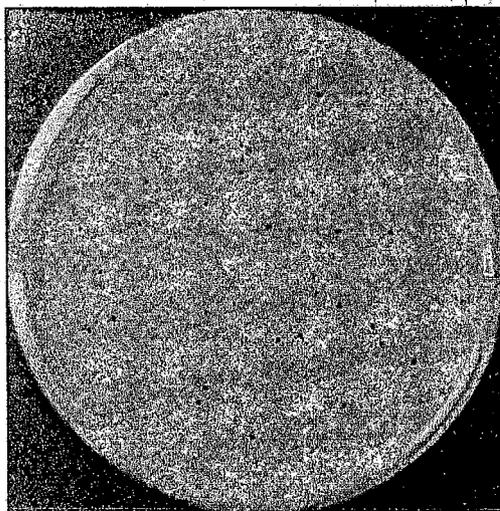


Après 6 jours

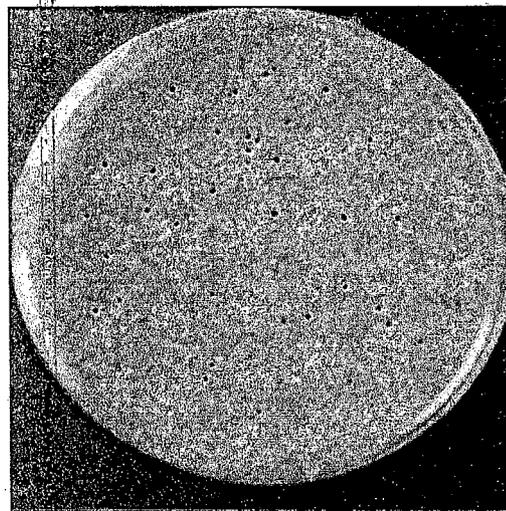


Après 7 jours

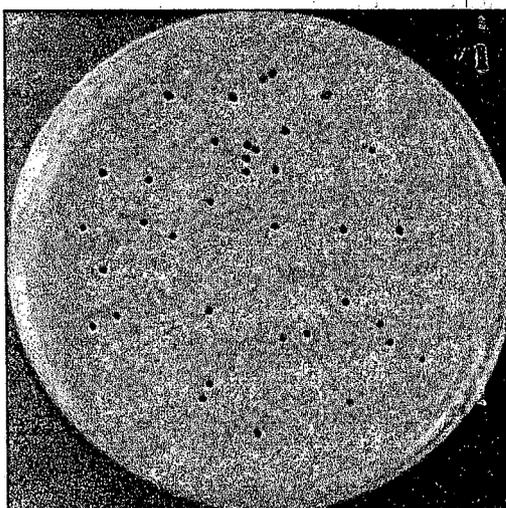
Fig 28. Formation des plages de lyse sur le tapis d' *Enterobacter agglomerans* durant les sept jours (la troisième purification).



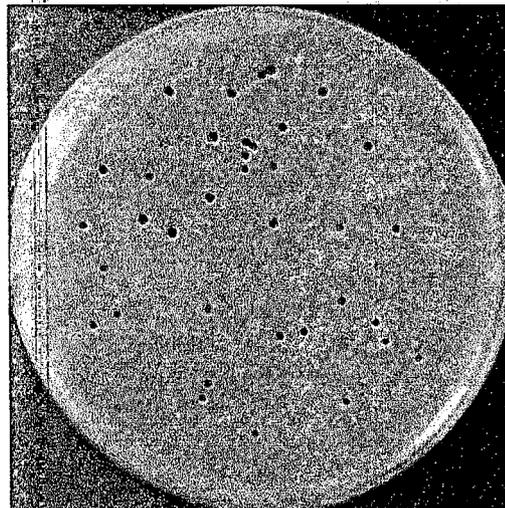
Après 3 jours



Après 4 jours



Après 5 jours



Après 6 jours

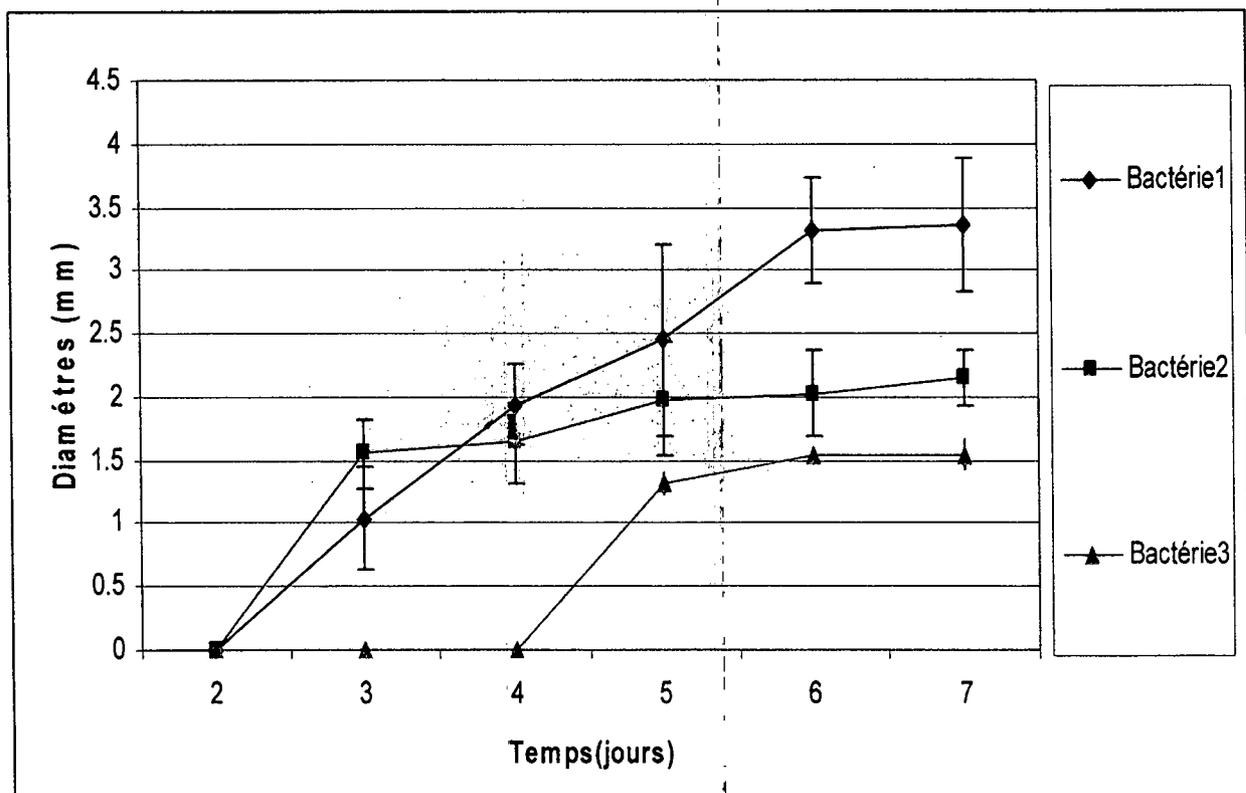
Fig 29. Formation des plages de lyse sur le tapis de *Klebsiella oxytoca* durant les six jours (la troisième purification).

Tab 15. Le suivi des variations des diamètres moyens des plages de lyse formées par *Bdellovibrio bacteriovorus* sur les tapis bactériens des trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) en fonction du temps.

Bactérie \ Temps (jours)	Bactérie1	Bactérie2	Bactérie3
2	<1mm	<1mm	-
3	1.04 ± 0.40	1.55 ± 0.28	<1mm
4	1.94 ± 0.32	1.64 ± 0.32	<1mm
5	2.45 ± 0.75	1.98 ± 0.45	1.31 ± 0.09
6	3.32 ± 0.42	2.03 ± 0.35	1.53 ± 0.05
7	3.36 ± 0.53	2.16 ± 0.22	1.54 ± 0.12

Bactérie1: *Escherichia coli*. Bactérie2: *Enterobacter agglomerans*. Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*

Les résultats sont exprimés en moyennes ±SEM, n₁= 206, n₂= 213, n₃=36.



Bactérie1: *Escherichia coli*, Bactérie2: *Enterobacter agglomerans*, Bactérie3: *Klebsiella oxytoca*.

Fig 30. Le suivi des variations des diamètres moyens des plages de lyse formés par *Bdellovibrio bacteriovorus* sur les tapis bactériens des trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) en fonction du temps.

IV. Résultats de l'étude du rôle de *Bdellovibrio bacteriovorus* dans la lyse des principaux coliformes isolés à partir du marais d'El-Kennar:

IV.1. Résultats d'estimation directe:

Les résultats des variations des densités optiques des suspensions bactériennes relatifs à l'effet du *Bdellovibrio bacteriovorus* sur les trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) sont résumés dans le tableau 16 et respectivement dans les figures 31, 32, et 33.

L'analyse statistique en appliquant le (Test de Student) (chaque 6 heures à partir de t=0 heure et n= 8 : c'est à dire de 0 heure à la 48^{ème} heure) de chaque suspension bactérienne en absence et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus*, nous a permis de constater que le traitement des suspensions bactériennes de ces trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) par *Bdellovibrio bacteriovorus* entraîne une diminution hautement significative ($P < 0.001$) des densités optiques des suspensions traitées.

Les pourcentages de diminutions des absorbances de chaque suspension bactérienne après 24 heures dû à l'effet unique de *Bdellovibrio*, calculés de chacune par rapport à son témoin convenable sont estimés de 65.75 %, 54.62%, 27.6% respectivement pour *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*. Après 48 heures, les taux des diminutions enregistrés dues à l'activité de *Bdellovibrio* sur les trois bactéries sont respectivement de l'ordre de 60.87 %, 54.59%, 24.78% pour *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et pour *Klebsiella oxytoca*.

Tab. 16. Variation de la densité optique des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

Bactéries Temps (heures)	<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterobacter agglomerans</i>		<i>Klebsiella oxytoca</i>	
	Témoin	+ plages de lyse	Témoin	+ plages de lyse	Témoin	+ plages de lyse
0	0.825± 0.002	0.795± 0.003	0.886±0.012	0.906±0.003	0.676± 0.012	0.688±0.003
1	0.841± 0.001	0.808±0.002	0.901±0.009	0.911± 0.002	0.679±0.009	0.703±0.002
2	0.845± 0.003	0.799±0.001	0.903±0.002	0.895±0.003	0.681±0.002	0.698±0.003
3	0.849± 0.001	0.791±0.005	0.924±0.009	0.886±0.001	0.699±0.009	0.683±0.001
4	0.841±0.004	0.680±0.004	0.917±0.005	0.779±0.003	0.701±0.005	0.679±0.003
5	0.853±0.002	0.646±0.003	0.907±0.005	0.722±0.005	0.704±0.005	0.627±0.005
6	0.849±0.015	0.607±0.006	0.903±0.003	0.701±0.006	0.711±0.003	0.583±0.006
7	0.841±0.006	0.548±0.002	0.906±0.003	0.643±0.006	0.708±0.33	0.548±0.006
8	0.82±0.001	0.51±0.005	0.914±0.008	0.611±0.005	0.718±0.008	0.544±0.005
9	0.825±0.001	0.486±0.002	0.897±0.009	0.568±0.007	0.723±0.009	0.534±0.007
10	0.846±0.002	0.427±0.004	0.917±0.009	0.548±0.002	0.729±0.009	0.512±0.002
12	0.856±0.002	0.388±0.004	0.899±0.001	0.522±0.004	0.719±0.001	0.502±0.004
14	0.846±0.004	0.347±0.002	0.897±0.005	0.476±0.004	0.706±0.005	0.498±0.004
16	0.859±0.007	0.289±0.003	0.895±0.004	0.419±0.008	0.698±0.004	0.506±0.008
18	0.841±0.003	0.283±0.005	0.886±0.005	0.417±0.009	0.681±0.005	0.499±0.009
20	0.819±0.001	0.235±0.001	0.867±0.005	0.369±0.004	0.684±0.005	0.486±0.004
22	0.815±0.002	0.226±0.002	0.849±0.001	0.362±0.001	0.676±0.001	0.488±0.001
24	0.779±0.005	0.228±0.004	0.836±0.007	0.360±0.007	0.670±0.007	0.492±0.007
26	0.765±0.001	0.224±0.003	0.832±0.007	0.366±0.002	0.668±0.007	0.488±0.002
28	0.763±0.004	0.221±0.004	0.819±0.002	0.361±0.001	0.67±0.002	0.484±0.001
30	0.761±0.002	0.219±0.009	0.822±0.001	0.36±0.003	0.663±0.001	0.479±0.003
32	0.759±0.003	0.215±0.005	0.817±0.004	0.355±0.003	0.659±0.004	0.483±0.003
34	0.746±0.002	0.217±0.002	0.819±0.002	0.358±0.005	0.656±0.002	0.486±0.005
36	0.744±0.009	0.22±0.004	0.812±0.001	0.352±0.005	0.651±0.001	0.489±0.005

36	0.744±0.009	0.22±0.004	0.812±0.001	0.352±0.005	0.651±0.001	0.489±0.005
38	0.737±0.002	0.218±0.003	0.816±0.015	0.359±0.002	0.649±0.015	0.49±0.002
40	0.729±0.005	0.216±0.001	0.809±0.004	0.356±0.003	0.647±0.004	0.493±0.003
42	0.731±0.001	0.214±0.001	0.823±0.004	0.357±0.008	0.649±0.004	0.489±0.008
44	0.728±0.006	0.21±0.006	0.821±0.003	0.354±0.004	0.652±0.003	0.491±0.004
46	0.732±0.005	0.212±0.003	0.823±0.003	0.351±0.004	0.655±0.003	0.487±0.004
48	0.719±0.002	0.209±0.005	0.825±0.003	0.349±0.012	0.648±0.003	0.489±0.012
50	0.722±0.008	0.211±0.004	0.822±0.001	0.347±0.005	0.651±0.001	0.487±0.005

Les résultats sont exprimés en moyennes ±SEM

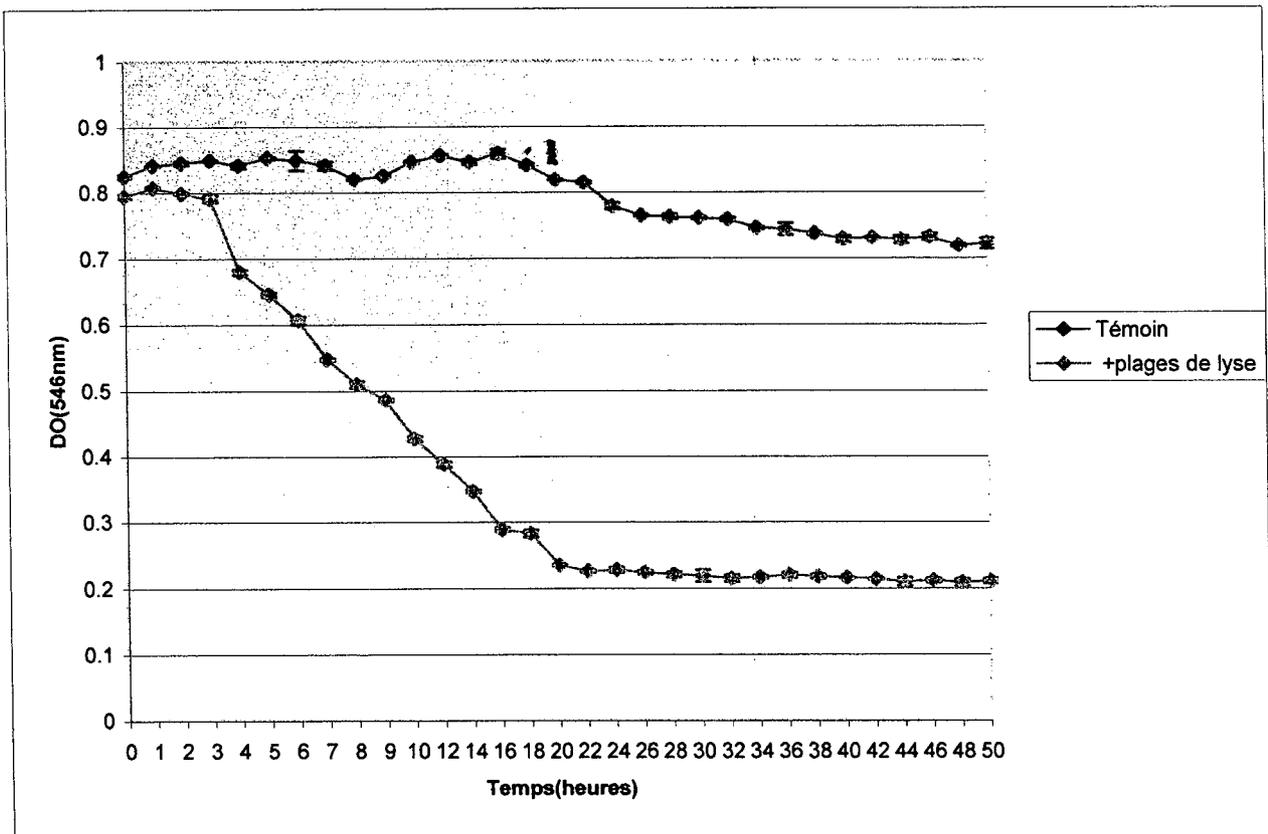


Fig 31. Variations des densités optiques de deux suspensions bactériennes d' *Escherichia coli* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

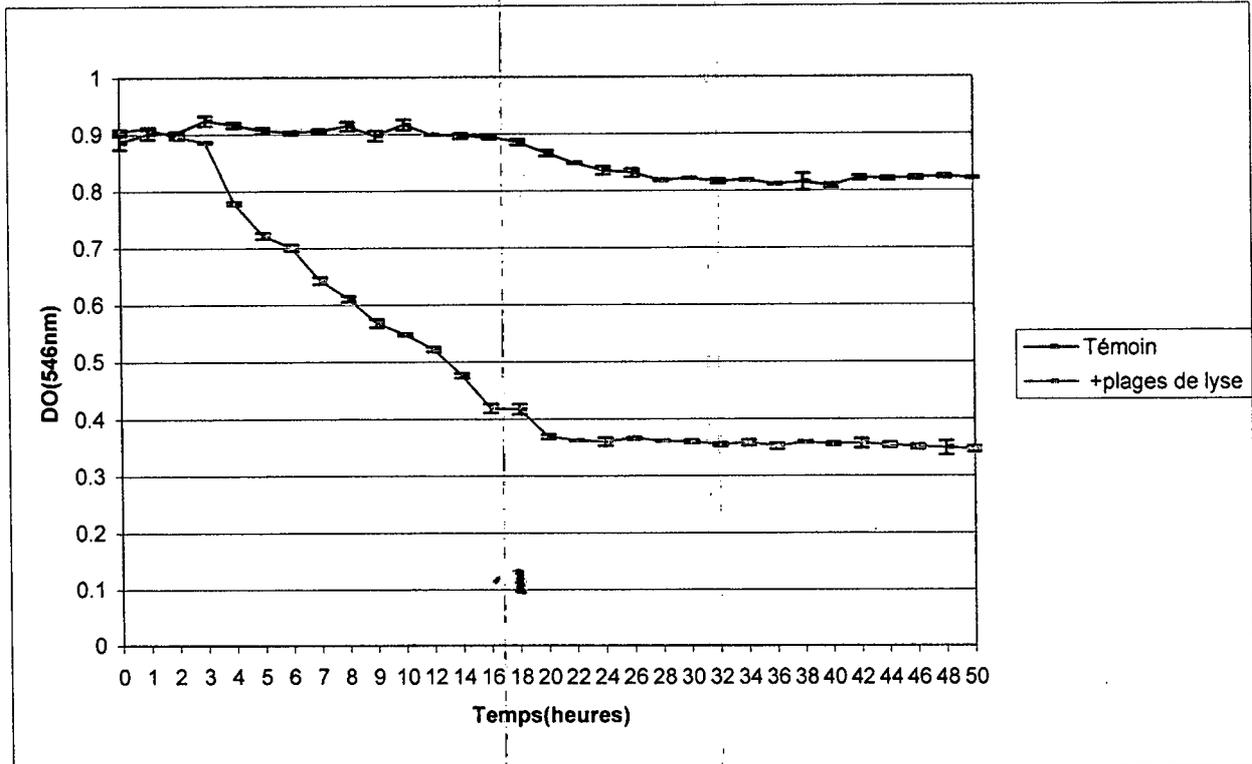


Fig 32. Variation des densités optiques des deux suspensions bactériennes d' *Enterobacter agglomerans* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction temps.

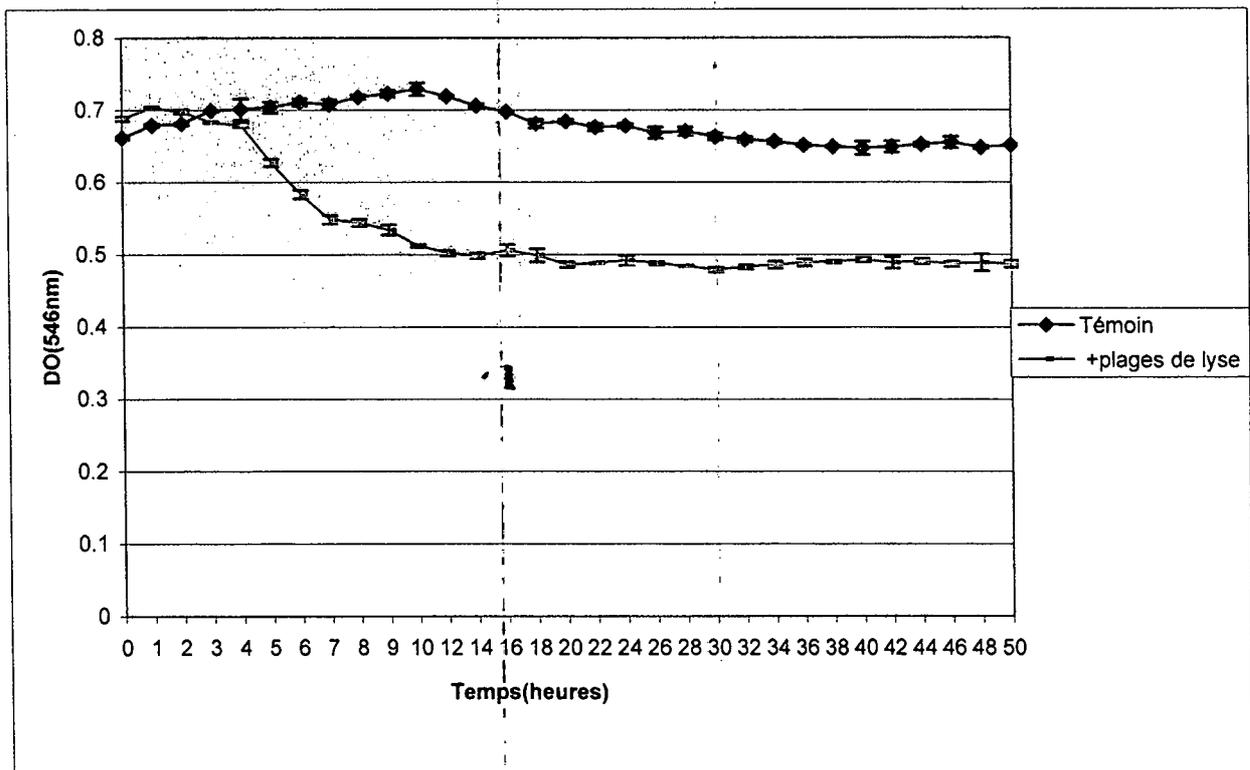


Fig 33. Variation des densités optiques des deux suspensions bactériennes de *Klebsiella oxytoca* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

IV.2. Résultats d'estimation indirecte:

Les résultats de l'effet de *Bdellovibrio bacteriovorus* sur la viabilité cellulaire des trois bactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) sont résumés respectivement dans les tableaux 17,18 et 19 et dans les figures 34, 35 et 36. Les résultats sont exprimés à l'échelle logarithmique dans les figures.

L'étude statistique (Test de Student) de chacune des suspensions bactériennes en absence et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus*, nous a permis de révéler que la viabilité cellulaire moyenne des bactéries étudiées (*Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*) se trouve effondrer de façon hautement significative ($p < 0.001$) suite au traitement de ces dernières par *Bdellovibrio bacteriovorus*.

Le traitement des suspensions d' *Escherichia coli*, d'*Enterobacter agglomerans* et de *Klebsiella oxytoca* par *Bdellovibrio* a conduit à des réductions différentes en nombre moyen de cellules viables des trois bactéries. Les taux de réductions sont respectivement de l'ordre de 48.9 % et de 37.47 % pour *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* après 10 jours. Alors que le taux de diminution dans la viabilité cellulaire estimé pour *Klebsiella oxytoca* par ce prédateur n'est que de 14.93 % durant la même période.

Tab. 18. Variation de la viabilité cellulaire d' *Enterobacter agglomerans* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

Temps (jours)	Bactérie	<i>Enterobacter agglomerans</i>	
		Témoin	+ Plages de lyse
0		$11 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^8$
1		$16 \cdot 10^7$	$43 \cdot 10^4$
2		$93 \cdot 10^6$	$16 \cdot 10^4$
3		$93 \cdot 10^6$	$14 \cdot 10^4$
4		$64 \cdot 10^6$	$11 \cdot 10^4$
5		$64 \cdot 10^6$	$93 \cdot 10^3$
6		$43 \cdot 10^6$	$93 \cdot 10^3$
7		$36 \cdot 10^6$	$43 \cdot 10^3$
8		$35 \cdot 10^6$	$43 \cdot 10^3$
9		$29 \cdot 10^6$	$38 \cdot 10^3$
10		$28 \cdot 10^6$	$38 \cdot 10^3$

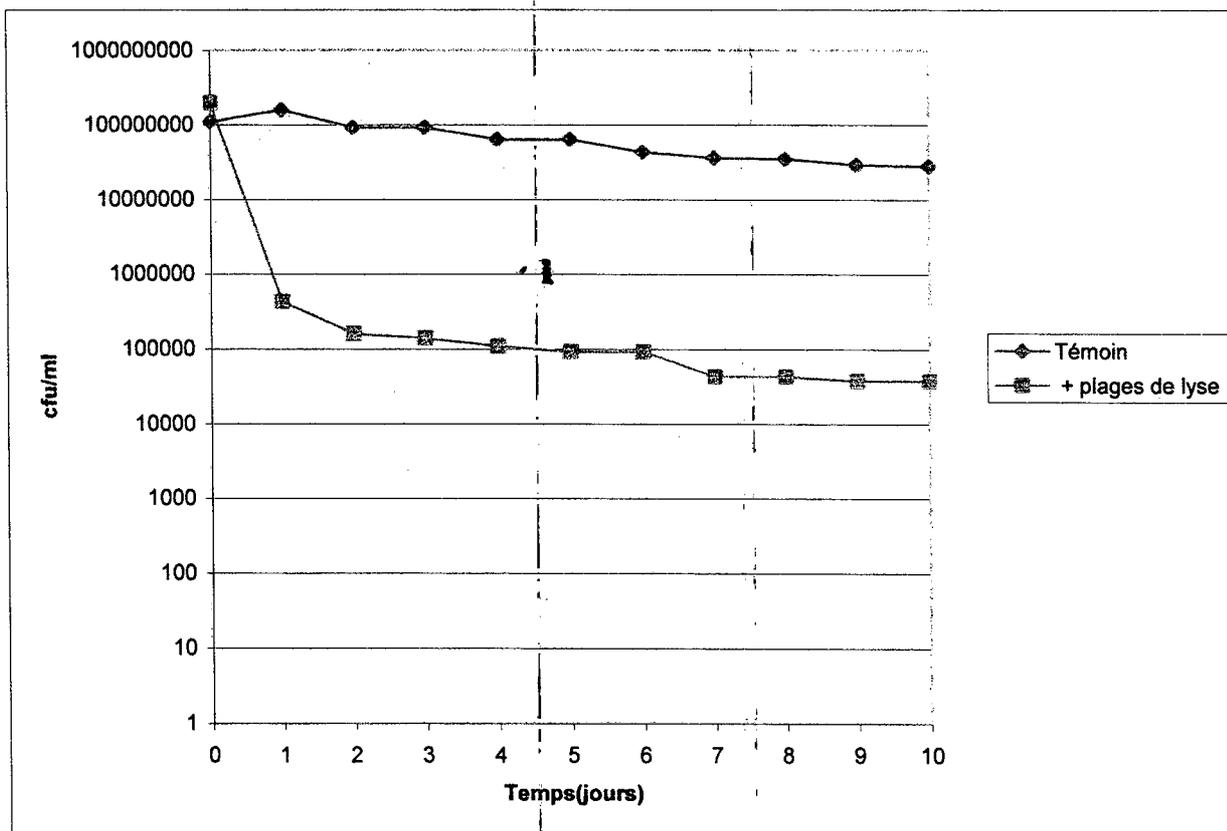


Fig. 35. Variation de la viabilité cellulaire d' *Enterobacter agglomerans* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

Tab. 19. Variation de la viabilité cellulaire de *Klebsiella oxytoca* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

Temps (jours)	Bactérie	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
		Témoin	+ Plages de lyses
0		$43 \cdot 10^7$	$38 \cdot 10^7$
1		$38 \cdot 10^7$	$93 \cdot 10^5$
2		$2 \cdot 10^8$	$75 \cdot 10^6$
3		$14 \cdot 10^7$	$43 \cdot 10^6$
4		$75 \cdot 10^6$	$35 \cdot 10^6$
5		$46 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^6$
6		$38 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^6$
7		$28 \cdot 10^6$	$14 \cdot 10^6$
8		$21 \cdot 10^6$	$11 \cdot 10^6$
9		$16 \cdot 10^6$	$75 \cdot 10^4$
10		$16 \cdot 10^6$	$75 \cdot 10^4$

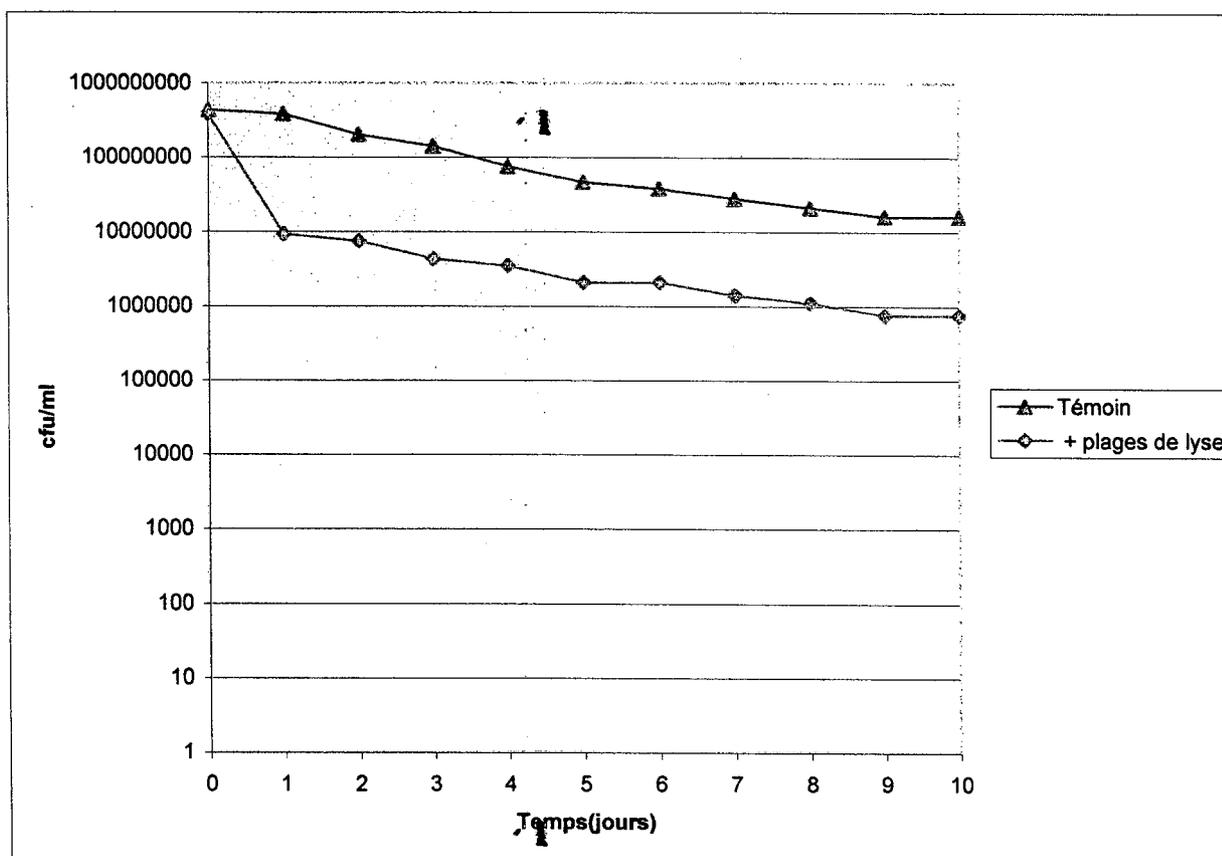
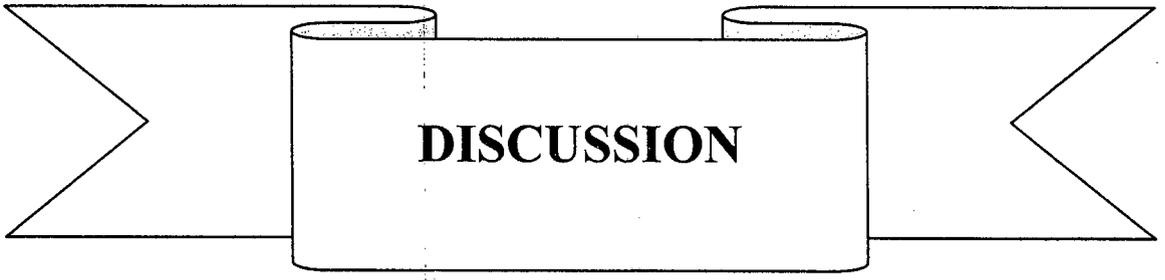


Fig. 36. Variation de la viabilité cellulaire de *Klebsiella oxytoca* en absence (témoin) et en présence de *Bdellovibrio bacteriovorus* en fonction du temps.

1

1



1

Discussion:

La flore bactérienne concernée dans cette étude est la flore totale hétérotrophe, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques totaux et fécaux et les staphylocoques récupérés respectivement sur milieu gélose nutritive, Mac Conkey et Chapman.

Selon les résultats de notre travail, la flore totale récupérée sur PCA consiste en une variété de bactérie à Gram (-) et à Gram (+). La flore BG-L+ isolée sur Mac Conkey est constituée uniquement de coliformes totaux. *E.coli* occupe une part importante dont elle existe dans tous les prélèvements effectués, suivie par la présence irrégulière de *Klebsiella oxytoca* (dans la deuxième station) et *Enterobacter agglomerans* (dans la deuxième et la troisième station).

Les densités de la flore bactérienne aérobie totale notées sur PCA sont plus élevées à 25° C qu'à 37° C, dont la densité maximale à 25° C est estimée de 151200 CFU/ml et de 76400 CFU/ml respectivement au niveau de la troisième et la deuxième station. La densité maximale en coliformes totaux est de 35000 CFU/ml enregistrée au niveau de la troisième station. La température de 25° C est la température optimale pour une récupération efficace des flores totales hétérotrophes BG-L-. Ainsi qu'il est à noter que certaines espèces bactériennes cultivent sur une large gamme de température et seront ainsi comptabilisées à 25° C et à 37° C [14].

La différence des numérations entre la flore totale et les coliformes laisse supposer qu'elle correspond essentiellement à la présence de microflore hétérotrophes BG-L- qui constituent normalement la composante majeure de la flore totale [5, 120, 69], et qui seraient composés d'espèces Gram (+), dont les plus importantes sont les streptocoques et les staphylocoques.

Les données de la littérature relatives à la pollution des eaux laissent supposer que les bactéries Gram (+) sont surtout dominées par le genre *Bacillus* [31, 100]. Par contre d'après les normes de l'OMS relatives à la qualité des eaux superficielles, il devrait y avoir une absence absolue des germes pathogènes, et des streptocoques fécaux dans 50 ml d'eau. Les nombres des coliformes tolérés sont 10 et inférieur à 10 par 100 ml pour une eau destinée à la consommation [87].

Ainsi nous pouvons déduire que l'eau que nous avons analysé est fortement contaminée.

Cependant, la recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs de la première importance [48, 69, 126].

Certains coliformes sont ubiquistes et vivent aussi bien dans le tube digestif que dans les milieux extérieurs (eau, sol) tel le cas de *Klebsiella oxytoca* et d' *Enterobacter agglomerans* que nous avons isolé. Par contre, *E.coli* ne peut vivre que dans le seul habitat fécal. La présence de ce dernier dans une eau est la preuve majeure que l'eau a subi une contamination par les matières fécales [6].

La présence des streptocoques fécaux dans les eaux indique généralement une pollution fécale [17]. La recherche de ce groupe de bactéries dans l'eau constitue un complément justifié à celle des coliformes thermotolérants [160]. Ils ne sont pas aussi ubiquitaires mais toujours présents dans les fèces d'animaux à sang chaud [53,72], comme ils témoignent d'une contamination fécale ancienne et de ce fait ils sont plus fiables que les coliformes [68, 243]. Ainsi, l'estimation du rapport coliformes fécaux / streptocoques fécaux (CF/SF) est considéré comme un indicateur de contamination par les bactéries fécales humaines ou animales [69, 110, 243]. De ce fait, pour les trois stations cet indicateur donne des valeurs variant entre 0.7 et 1 (0.94 pour St 1, 0.91 pour St 2 et 0.87 pour St 3). Donc, on peut conclure que la pollution enregistrée est un mélange de pollution humaine et animale avec une prédominance des fèces animales.

Nous pouvons ainsi conclure que l'eau du marais d'El-Kennar est contaminée principalement par les rejets des riverains (regroupements d'habitations isolés, d'élevages, d'ovins, de bovins, de poulets,...), des fermes avoisinantes qui directement ou indirectement rejettent les déchets dans le marais ainsi que les différentes espèces animales qui fréquentent régulièrement ce marais pour s'abreuvoir.

Le degré de contamination peut être expliqué par l'importance de ces rejets et des saisons chaudes qui favorisent la multiplication des bactéries. Ce qui rend, le système d'auto-épuration délicat.

L'épuration des eaux douces apparaît ainsi comme un phénomène très complexe. En effet, il résulte de l'influence de plusieurs facteurs: physiques, chimiques, biologiques et c'est uniquement ainsi qu'intervient les facteurs physico-chimiques (température, dilution, irradiation, oxydation, etc...). Wuhurmann a émis l'hypothèse selon laquelle l'élimination des coliformes des eaux est fonction des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du système aquatique considéré [242]. Ces coliformes survivent *in situ* durant un temps plus ou moins long et qui dépend de tout un ensemble de facteurs environnants, puis quoiqu'il en soit leur destinée est l'élimination du système sous l'influence des facteurs précédents [36].

Dans notre étude, nous avons essayé de voir, vérifier puis quantifier le pouvoir auto-épuration biologique de l'eau de notre zone d'étude.

En effet, la lecture des densités optiques des échantillons d'eau non filtrés nous a montré clairement que l'eau non autoclavée s'éclaircit naturellement et devient plus limpide (fig19 et 20). Cela est confirmé par la diminution de densité optique des échantillons au bout d'une semaine alors que les échantillons témoins (eau autoclavée) gardent leur trouble initial. D'autre part, le dénombrant des cellules en coliformes restant viables pendant la même période d'étude nous a montré une diminution considérable dans la viabilité cellulaire de ces dernières. Brisou a effectué des expériences identiques et a observé des résultats similaires[24].

La turbidité de l'eau peut être causée principalement par la présence de nombreux microorganismes (bactéries, protozoaires, métazoaires...etc.), d'algues, de la matière organique et des différents nutriments. La diminution de la turbidité de l'eau signifie que le contenu total en protéines absorbants à 645 nm diminue. Ceci peut être expliqué par la disparition des impuretés et des bactéries existantes dans cette eau. Plusieurs facteurs peuvent être évoqués quant à la cinétique de l'auto-épuration naturelle de l'eau qu'il s'agissent de la dégradation de la matière organique en présence de micro-organismes dont certains sont aussi minéralisés par les bactéries après leur mort [104]. Cette fraction bactérienne est alors éliminée à leur tour [121]. Des facteurs physico-chimiques illustrés essentiellement dans notre cas par l'épuisement continu en nutriments et l'accumulation des déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre des cellules viables [148, 152]. D'autres auteurs expliquent la disparition d'une partie des bactéries par processus physiologique où le titre bactérien diminue normalement dans n'importe quel milieu à plus forte raison dans l'eau non autoclavée [83]. Ce phénomène est connu sous le nom d'autolyse.

n'importe quel milieu à plus forte raison dans l'eau non autoclavée [84]. Ce phénomène est connu sous le nom d'autolyse.

Ainsi, sans nier le rôle joué par ces différents facteurs, ainsi que par les divers agents biologiques tel les levures, les champignons, les algues, les virus, les métazoaires et les protozoaires, d'autres chercheurs considèrent que le pouvoir bactéricide des eaux terrestres est essentiellement dévolu aux facteurs microbiologiques [30, 82, 143, 145]. Parmi les facteurs biologiques la lutte entre les espèces chez les microorganismes qui est une arme des plus efficaces [62, 85, 154, 162].

L'antagonisme microbien permet donc d'entretenir au sein des nappes d'eau l'équilibre nécessaire entre les différentes espèces mais l'afflux massif de nouveaux germes perturbe cet équilibre et alors les possibilités défensives de l'eau sont dépassées. Ainsi, nous pouvons cependant conclure que l'eau non autoclavée est douée naturellement d'un pouvoir auto-épurateur.

L'éclaircissement de l'eau du marais non autoclavée se reproduit indéfiniment après filtration sur membrane filtrante de diamètre 0.45 μm . L'hypothèse d'un facteur physique est à écarter d'emblée comme le facteur lytique est filtrable. Les suspensions s'orientent vers la mise en cause d'un facteur biologique. La lyse des bactéries ne peut être imputée à des protozoaires (qui font plus de 0.45 μm de diamètre). Ceci conduit à conclure que l'eau d'un écosystème aquatique a un pouvoir bactéricide naturel.

Quant aux essais sur les trois bactéries déjà prélevées du même eau et qui sont introduites dans des cultures riches "bouillons nutritifs", nous avons enregistré une augmentation considérable du nombre ou de la masse cellulaire des trois bactéries précédentes, de même le bouillon nutritif est devenu plus trouble. Cette augmentation est un résultat logique issu de la multiplication des bactéries au détriment du milieu nutritif qui sans cesse va devenir plus dense. Cependant il est important de noter que la croissance bactérienne et sa vitesse de multiplication varient d'une bactérie à une autre.

En répétant le même essai mais avec l'addition de l'eau du marais filtrée, nous avons constaté que le nombre de bactéries a quand même augmenté mais de façon ralentie par rapport aux milieux de cultures témoins correspondants (fig. 26). De même, les densités enregistrées cette fois sont moins importantes par rapport à leurs témoins. Ceci peut être expliqué par le fait

Ainsi, nous avons constaté que l'eau de la deuxième station qui semble être plus contaminée par rapport aux autres s'éclaircit mieux et plus rapidement que les deux autres stations. La troisième station s'éclaircit à son tour plus rapidement que la première station la moins contaminée. Ces expériences qui ont pour but de mettre en évidence le pouvoir bactéricide des eaux polluées, permettent de supposer que plus une eau est polluée, plus elle est riche en facteurs bactéricides, car plus vite est obtenue la lyse des bactéries. Ces résultats sont en accord avec ceux de Guelin et Lamblin [81].

Des expériences faites sur des eaux prélevées dans des endroits apparemment sains (sources, puits) montrent que ces eaux n'ont absolument aucun pouvoir lytique. En effet des germes introduits dans une telle eau restent intacts et la turbidité qu'ils confère à l'échantillon persiste comme dans le cas de l'eau autoclavée.

Ces expériences permettent d'une part de confirmer le pouvoir bactéricide naturel de l'eau et la répartition variable du facteur bactéricide selon le lieu du prélèvement et d'autre part de suspecter le rôle de micro-organismes infimes ($<0.45\mu\text{m}$) dans l'éclaircissement des échantillons.

Il reste cependant à déterminer la nature du facteur bactéricide responsable du processus d'autoépuration.

Les premières connaissances sur l'épuration des eaux douces remontent à la fin du 19^{èmes} siècle. A cette époque on a cherché à doter l'eau d'un pouvoir bactéricide. La découverte du bactériophage par Hérelle semblait fournir une explication concrète de ce pouvoir bactéricide[90].

Ainsi, dans notre étude et pour la première fois, nous avons confus l'activité de *Bdellovibrio* à celle des bactériophages dans cet éclaircissement. Afin de vérifier ces suppositions, nous avons eu recours à la méthode utilisée pour isoler ces microorganismes s'ils sont vraiment présents. La méthode correspond à la technique de la double couche décrite par Stolp et Starr [205]. Le liquide filtré est mélangé à la souche indicatrice, autrement dit aux bactéries qui serviront de proies aux prédateurs que nous avons isolé. Les cellules hôtes utilisées pour le titrage du parasite sont: *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca* ce qui nous donne un caractère épidémiologique à l'expérimentation.

L'étalement du mélange sur un milieu nutritif gélosé forme un tapis continu. Les plages de lyse apparaissent au bout d'un certain temps.

Nous avons noté l'apparition des plages de lyse après deux jours sur *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* et après trois jours sur *Klebsiella oxytoca*. Après leurs apparitions, nous avons noté que les plages s'élargissent avec le temps à des vitesses différentes d'un tapis bactérien à l'autre (fig. 27, 28 et 29).

Ainsi, nous pouvons conclure tout d'abord que le processus de bactériolyse n'est pas dû à un processus de bactériophage. Actuellement nous savons que le rôle joué dans l'auto-épuración par les bactériophages est très faible [30, 69, 173, 217, 237]. Sa fixation exige la présence dans l'eau d'une quantité élevée de bactéries. Au dessus de 100 millions de germes/millilitres, le taux de virions fixés reste insignifiant [81].

Les plages de lyse formées par le prédateur se distinguent facilement des celles qui sont causées par les phages. Les plages de lyse formées au cours de 24 heures sont le plus souvent causées par des bactériophages, alors que celles qui sont dues à *Bdellovibrio* apparaissent au bout de plusieurs jours [149]. Il a été estimé que les plages de lyse dues au développement de *Bdellovibrio* ne prennent naissance en général qu'après 48 heures [116].

Entre autre, dans le premier cas qui est celui des virus, les plages des phages cessent de s'épaissir lorsque les cellules sont en phase stationnaire après avoir cessé de se diviser car les bactériophages n'attaquent que des bactéries vivantes en pleine croissance, tant que les plages dues au *Bdellovibrio* continuent à s'agrandir même lorsque le tapis bactérien a cessé de se développer [83, 217, 229, 233, 234].

Il nous reste donc à envisager l'action de ce micro-organisme inconnu pour la plus part, susceptible de s'attaquer aux Entérobactéries introduites. Ce microorganisme est de très petite taille appelé *Bdellovibrio bacteriovorus* que Stolp et Starr dès sa découverte, prévoiaient son rôle exclusif dans la destruction des bactéries des eaux polluées et qui aussi a été suspecté par plusieurs autre auteurs [57, 58, 187].

Le *Bdellovibrio* est largement distribué dans l'environnement aquatique dont certains le qualifie d'agent auto-épurateur [152]. Jusqu'au ce jour, on connaît une seule espèce appartenant au genre *Bdellovibrio* qui est *Bdellovibrio bacteriovorus* [10, 192].

L'ensemble des recherches faites sur ces micro-organismes fascinants sont peu nombreuses pendant les années 90. Ainsi que la majorité des études écologiques sur la prédation bactérienne dans l'environnement aqueux a été effectuée sur la colonne d'eau [63, 209, 238]. Ceci peut être dû essentiellement à des raisons techniques: l'isolement de *Bdellovibrio bacteriovorus* n'est pas toujours une tentative couronnée de succès. C'est une procédure délicate incluant des filtrations successives et par fois des centrifugations de l'échantillon ainsi qu'une méthode de culture spéciale selon la technique de la double couche. Entre autre, en raison que le nombre de prédateurs bactériens connu est faible et que leur affiliation phylogénétiques est largement inconnu, la prédation à ce niveau est peu étudiée et comme ces prédateurs ne forment pas des colonies standards sur les milieux de culture, cette catégorie de micro-organismes a été le plus souvent négligée par les microbiologistes [182].

En effet nous avons essayé des dizaines de fois d'isoler ce micro-prédateur mais en vain et cela nous a été possible uniquement en été. La densité en *Bdellovibrio* dans les eaux est plus importante en été autrement dit de moment où les températures optimisent leur développement et leur croissance [187].

Dans notre étude, les plages de lyse semblent arriver à leur tailles maximales au bout de 7 jours avec *Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans* et au bout de 5 jours avec *Klebsiella oxytoca*. Les tailles des plages produites avec les deux premières bactéries sont plus grandes que celles obtenues avec *Klebsiella oxytoca*. Ces résultats sont en accord avec celles obtenus par Shemesh qui ont montré que la cinétique de la formation des plages de lyse et leur croissance diffèrent d'une souche bactérienne à une autre [182]. Cela montre la grande spécificité d'attaque et de prédation de *Bdellovibrio bacteriovorus* des différentes espèces bactériennes.

Ceci peut être expliqué en partie du fait que l'efficacité dans la formation des plages de lyse semble être liée à la capacité des prédateurs de former un attachement irréversible avec leurs cellules proies car cette capacité paraît être le premier pas vers une prédation avec succès [76].

Le milieu YP est le milieu sélectif le plus souvent utilisé pour isoler *Bdellovibrio bacteriovorus*. En effet cette technique a un avantage double: d'une part c'est elle qui permet d'isoler ce micro-prédateur à partir des milieux naturels lorsque la concentration des échantillons en *Bdellovibrio* est faible. Et d'un autre part, elle permet de titrer *Bdellovibrio* dont chaque plage est normalement engendrée par une seule cellule prédatrice.

Il a été noté l'existence d'une spécificité d'action entre les souches de *Bdellovibrio bacteriovorus* isolées dans une eau et les micro-organismes hôtes[37]. Catteau et al en étudiant le spectre d'activité du *Bdellovibrio*, ont noté la variabilité de la croissance du micro-prédateur selon les bactéries hôtes utilisées. Ils ont constaté que *Bdellovibrio bacteriovorus* donne des plages de lyse confluentes avec certains germes parallèlement à une multiplication intense du prédateur, alors que les plages de lyse sont plus ou moins nombreuses avec d'autres germes[30]. Cette variation étant conjuguée à une variation de la multiplication de *Bdellovibrio bacteriovorus*. Des résultats similaires ont été notés par Staples et Fry [196].

Les recherches sur la bactériolyse spontanée, avaient déjà étudié dans les années soixante dix la distribution des germes responsables de la lyse des bactéries dans les eaux [77]. Les observations effectuées jusqu'alors avaient mis en évidence leur répartition générale dans les eaux douces provenant de toutes les parties du monde. Ainsi que dans les eaux marines prélevées le long du littoral [81].

Ainsi dans notre étude nous pouvons conclure que le nombre de *Bdellovibrio bacteriovorus* isolés en utilisant *Escherichia coli* comme bactérie hôte est en moyenne de 9 à 12 prédateurs /ml (respectivement au niveau de la première et la deuxième station) et de 14 cellules prédatrices /ml au niveau de la troisième station. Ce nombre est souvent légèrement sous estimé car certains ont été probablement éliminés par la technique de filtration [196, 229].

Le nombre de *Bdellovibrio* estimé généralement dans les eaux d'égout est très élevé, mais nos résultats sont proches de ceux trouvés par Dias et Bhat dans les eaux d'un lac qualifié de pollué et renfermant des bactéries pathogènes [42].

Dans le même sens, une étude faite par le département d'environnement et le service des eaux en 1971 a démontré que la qualité d'eau influe sur la présence et sur le nombre de *Bdellovibrio*, dont les eaux non polluées renferment un nombre très faible (0 à 3 *Bdellovibrio* /ml) alors que les eaux excessivement polluées renferment un nombre assez élevé (18 à 51 *Bdellovibrio* /ml) [41].

Ainsi, l'étude que nous avons réalisé sur l'eau du marais d'El- Kennar confirme tout en la démontrant l'idée de Guélin et Cabioche qui ont suggéré d'avoir recours au phénomène de bactériolyse afin de qualifier la qualité de l'eau[80].

Le nombre de micro-organismes dans l'eau à 37° C varie de 35500 à 76400 par millilitre avec une moyenne de 57740 germes/ml. Les coliformes sont présents dans tous les échantillons, mais avec des taux variables selon les lieux de prélèvements. Il faut cependant noter que le taux de coliformes des échantillons d'eau n'est que rarement fonction de la capacité polluante des différents points, autrement dit qu'il est rarement proportionnel à l'aptitude à polluer des zones considérées. Ce qui implique que les bactéries disparaissent assez rapidement sous l'influence de certains facteurs parmi lesquels les parasites bactériens.

C'est pour cette raison que Lambina et al ont proposé trois indices de contamination de l'eau par les germes pathogènes, à savoir: le nombre total de micro-organismes, le titre en coliformes et la concentration de *Bdellovibrio* dans l'eau. Le dernier étant représenté comme le meilleur critère sachant qu'il est un bon témoin de pollution et qu'il participe activement à l'auto-épuration[116]. Bien que l'identification des bactéries isolées ne constitue pas un but en lui-même, mais il est intéressant de noter les genres bactériens probables caractérisant le biotope dans lequel vit *Bdellovibrio* pour déduire plus tard son effet sur ces derniers.

L'identification a été faite par l'utilisation de la galerie biochimique classique avec confirmation de l'identification de deux bactéries (*Escherichia coli* et *Enterobacter agglomerans*) en utilisant la galerie d'API 20 E qui est un système rapide, plus fiable pour diagnostiquer un nombre d'organismes en étudiant plusieurs substrats [210, 235].

Les bactéries pathogènes ainsi identifiées dans nos échantillons sont par ordre décroissant: *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *klebsiella oxytoca*.

Depuis la découverte de la bactérie parasitaire *Bdellovibrio* en 1962 par Stolp et Petzold, la majorité des recherches se sont intéressées à élucider leur caractéristiques physiologiques, biochimiques et génétiques [185, 198, 199, 204]. D'autres ont plutôt essayé de déterminer son rôle au niveau des milieux habituels d'isolement [111, 205]. Et suite à certaines études, plusieurs théories ont avancé le rôle de bio-contrôle que doit jouer *Bdellovibrio* dans la nature [82, 138, 186].

Afin de vérifier le rôle de *Bdellovibrio bacteriovorus* dans l'épuration des eaux, nous avons contribué à estimer l'effet de cette bactérie dans l'éclaircissement des suspensions bactériennes troubles et à étudier son comportement vis à vis des bactéries pathogènes les plus rencontrées dans les prélèvements. Son développement dans les cultures liquides nous informe

sur la concentration des cellules bactériennes viables. Ainsi, le système cellulaire constitué de *Bdellovibrio*-substrat cellulaire peut être qualifié comme une relation "parasite- hôte "ou comme une relation "prédateur-proie" [53, 100, 137, 182].

Les tubes incubés à 37° C pendant 12 heures et exposant des suspensions troubles à jour J₀ début de l'expérience montrent au bout de 2 à 3 jours après addition des plages de lyse un mince éclaircissement correspondant à une lyse bactérienne. Des résultats identiques ont été obtenus par Guelin, Lépine et Lamblin [84].

Il apparaît donc que la réduction ou l'élimination de la majorité des cellules bactériennes des trois espèces bactériennes étudiées survient surtout durant les premières 24 heures d'attaque (après l'ajout des plages de lyse). Cette lyse correspond probablement à une croissance de *Bdellovibrio bacteriovorus*.

Tout d'abord rappelons que de nombreux auteurs ont suivi au microscope électronique la pénétration de *Bdellovibrio bacteriovorus* à l'intérieur des Entérobactéries, et il est rapporté que la lyse de ces derniers se manifeste parallèlement avec la prolifération de *Bdellovibrio bacteriovorus* (fig.1). En plus, par collection et quantification de *Bdellovibrio bacteriovorus* après 48 heures, il paraît que ces prédateurs ne se contentent pas seulement de survivre dans ces suspensions, mais ils se nourrissent, prolifèrent et s'échappent pour réaliser un nouveau cycle de prédation [83, 124, 183, 197].

Selon Shilo la pénétration s'effectue en 20 minutes. Après ce délai, même une agitation ne provoquera pas la séparation de deux bactéries [186]. Au bout de 45 minutes les cellules hôtes sont si endommagées qu'elles deviennent sphériques, ou tout au moins, il apparaît des ballonnements de ces cellules hôtes [78, 85]. Ce qui peut nous donner des explications sur la lyse continue de plus en plus intense en fonction du temps.

La mort de la cellule ciblée se manifeste rapidement car la phase d'attaque est automatiquement suivie par l'inactivation du métabolisme cellulaire de cette dernière et par la perte de sa viabilité cellulaire [243].

L'attachement de *Bdellovibrio* à sa cellule hôte est très fragile dans les minutes qui suivent le contact hôte- parasite et par conséquent, c'est essentiellement au niveau de la phase d'attachement de *Bdellovibrio bacteriovorus* à son hôte et au niveau de la phase de pénétration

que les paramètres du milieu jouent leur plus grand rôle. En effet la moindre d'une variation brutale du milieu engendre une séparation du *Bdellovibrio bacteriovorus* de sa cellule hôte.

Ainsi une agitation est exercée durant 4 à 5 minutes qui suivent ce contact, un détachement du prédateur de l'hôte peut se produire [225]. Par contre si elle est exercée 20 à 30 minutes après la rencontre des deux microorganismes, la liaison est si forte que l'agitation n'engendre aucun effet sur ce complexe: bactérie- prédateur.

Dans le travail que nous avons réalisé, le traitement avec trois plages de lyse de *Bdellovibrio bacteriovorus* a réduit remarquablement la viabilité des trois espèces bactériennes, ce qui veut dire que toutes les Entérobactéries étudiées ont été sensibles envers ce micro-prédateur.

Il ressort ainsi que *Bdellovibrio bacteriovorus* n'est pas un prédateur spécifique d'une bactérie mais peut s'attaquer à de nombreuses espèces d'Entérobactéries. Au début, l'idée de Stolp et Petzold est que l'activité lytique de *Bdellovibrio bacteriovorus* été limitée uniquement au genre *Pseudomonas*[204], puis en 1963, Stolp et Starr découvrent que son spectre d'activité est plus large et s'étend sur 34 souches bactériennes Gram (-)[205]. Plus tard ils ont montré que cette susceptibilité est hautement variable [127, 176, 209].

Taylor et al observent que 40 à 76% parmi 42 souches bactériennes de référence isolées de l'océan sont facilement prédatées par 13 souches de *Bdellovibrio*[209]. Schoeffield et al [176], l'ont évalué à 74 - 84 %. Le test généralement utilisé pour mesurer est basé sur plusieurs techniques dont la culture par incorporation comme elle est décrite par Williams et col [240]. Pineiro dans une autre étude a montré que *Bdellovibrio* de Great Salt Lake présente une préférence des bactéries isolées du même biotope que ceux importées des autres milieux[151].

Nous avons ainsiensemencé selon la même méthode une souche de Staphylocoque et une autre souche pure de bactérie Gram (+) (non identifiée) mais aucune plage de lyse n'a été formée, ce qui signifie qu'aucune bactérie Gram (+) n'est lysée par *Bdellovibrio*. Ceci est dû probablement à la différence de structure et de composition des parois cellulaires des Gram (+) et des Gram (-). En effet, la paroi des bactéries à Gram négatif est composée de deux éléments: le péptidoglycane et une membrane externe qui est absente chez les Gram positif. Cette membrane surmonte le péptidoglycane et comporte deux feuilletts: un interne et un autre externe. Ce dernier est composé d'un complexe appelé: le lipopolysaccharide (LPS) ainsi

qu'elle comporte certains protéines membranaires (Omp), qui d'après la littérature scientifique, sont à l'origine de la fixation de *Bdellovibrio* [44, 146, 201, 208].

Le suivi de l'effet de *B. bacteriovorus* sur les espèces étudiées révèle une réduction remarquable dans l'absorbance des suspensions bactériennes d' *E.coli* et d'*Enterobacter agglomerans* après la troisième heure dont les taux de réductions estimés sont respectivement de l'ordre de 14.03 % et de 12.07 %. Pour *Klebsiella oxytoca*, la diminution de la densité optique a été remarquablement notée après la quatrième heure de contact et estimée avec un taux de 7.65%.

Cette chute brutale de l'absorbance peut être expliquée par le fait que *B. bacteriovorus* a terminé son premier cycle de vie et les nouvelles générations commencent à attaquer de nouveau les cellules cibles. Ainsi nous pouvons suggérer que *B. bacteriovorus* complète approximativement son cycle de vie après 3 heures pour *E.coli* et *Enterobacter agglomerans*, et après 4 heures pour *Klebsiella oxytoca*. La différence des taux de diminution de l'absorbance dans les trois suspensions bactériennes après 3 heures reflète le pouvoir de sélection initial du prédateur entre les différentes proies. Cette différence de prédation n'est pas due au fruit du hasard mais il semble que certaines proies sont nettement et constamment plus attaquées par *Bdellovibrio* ce qui la différencie des bactériophages qui peuvent se multiplier aussi bien dans les germes morts ou vivants [37, 226, 227].

Nous pouvons conclure ainsi qu' *Escherichia coli* est la bactérie préférée de *B. bacteriovorus*. Elle est suivie d'*Enterobacter agglomerans* et enfin de *Klebsiella oxytoca*. Ceci rejoint les résultats de Fratamico et al qui ont montré que le *Bdellovibrio* pris isolément réduit efficacement le niveau de biofilm d' *E. coli* par rapport aux autres bactéries [61].

Idem, l'estimation indirecte (NPP) des cellules révivables après ajout de *Bdellovibrio* nous confirme les mêmes résultats obtenus par l'estimation directe.

La majorité des recherches faites sur le cycle de vie de *Bdellovibrio* a été effectuée en utilisant *E.coli* comme modèle d'expérimentation. Certains ont examiné le niveau de susceptibilité d'autres bactéries pour *Bdellovibrio bacteriovorus* [103, 151], et qui sont arrivés aux mêmes conclusions, c'est que *Bdellovibrio bacteriovorus* préfère certaines bactéries et les attaque plus rapidement que d'autres [62, 72, 176, 223].

Certes, l'activité de *Bdellovibrio* a été étudiée par plusieurs auteurs [164], mais l'interaction entre *Bdellovibrio* avec ses proies a été décrite comme très complexe [1, 34, 43, 176, 179, 201, 208, 213, 214, 219]. Il est bien admis même que ces prédateurs ont un champ d'attaque plus vaste, ils sont cependant spécifiques dans leurs infections et ils sont inoffensifs envers les organismes eucaryotes [193].

Néanmoins les raisons pour lesquels ce micro-prédateur préfère s'attaquer à quelques bactéries par rapport à d'autres restent peu claires.

Les observations visuelles de *Bdellovibrio bacteriovorus* mélangé avec des bactéries non susceptibles tel *Neisseria gonorrhoeae*, révèlent que ce parasite se colle rarement à cette espèce. Plus récemment, il a été montré que *B. bacteriovorus* circule autour de ces cellules en cherchant à trouver un site d'attachement, ce qui laisse suggérer que l'attachement de ce prédateur à sa proie ne s'effectue pas au hasard [45, 46, 160]. La littérature scientifique nous montre que *Bdellovibrio bacteriovorus* se colle sur des récepteurs spécifiques existant sur la paroi cellulaire de la cellule hôte dite "récepteurs protéiques de méthyle" [164].

Selon Varon et Shilo l'attachement de *Bdellovibrio* à la paroi cellulaire des espèces de *Salmonella* mutés et d'*Escherichia coli* varie selon la composition de la paroi cellulaire ce qui révèle que l'acceptabilité des récepteurs existant sur la paroi cellulaire peut expliquer la différence d'attache entre les différentes espèces bactériennes. L'examen des couches superficielles des cellules proies a révélé que la couche S et non la capsule forme une protection contre la prédation par *Bdellovibrio* [226, 227]. Koval et al ont aussi indiqué que les couches S peuvent bloquer l'accès du *Bdellovibrio* au récepteurs de la paroi cellulaire de la cellule cible. Ainsi, le taux d'abattage réduit de *Klebsiella oxytoca* par ce prédateur par rapport aux deux autres bactéries est dû principalement à la présence de cette couche S [112, 113].

Le chimiotactisme pariétal peut aussi jouer un rôle dans la localisation des proies cellulaires conduisant à une prédation différentielle. Lambert et al ont montré que la perte des protéines chimiotactiques correspondantes au récepteurs de méthyle fait réduire la prédation par *Bdellovibrio bacteriovorus* et l'arrangement séquentiel du génome de ce micro-prédateur a montré l'existence des gènes codants pour 20 protéines chimiotactiques réceptives et des gènes codant pour deux systèmes régulateurs du chimiotactisme de ce prédateur [115, 159].

La taille de la proie peut conditionner le taux de mortalité bactérienne du fait qu'une taille plus importante engendre un nombre plus important en *Bdellovibrio* de la nouvelle génération issue durant le cycle de multiplication [231].

D'autres facteurs peuvent aussi influencer le degré d'attaque à savoir l'âge des cultures bactériennes [223]. L'âge de *Bdellovibrio* peut aussi influencer la relation dans le sens où les jeunes prédateurs sont plus actifs que les vieilles cellules [93].

L'éclaircissement complet des suspensions bactériennes n'est pas obtenu, il persiste toujours un léger trouble dans toutes les suspensions bactériennes contenant les plages de lyse. Ces troubles sont dues normalement aux divers éléments bactériens dont certains demeurent encore en vie et capables de se multiplier. Ces résultats sont en corrélation avec ceux obtenus par Keya et al et celles de Varon qui ont montré que *Bdellovibrio* n'élimine pas complètement les proies bactériennes planctoniques [108, 222].

Ceci peut être expliqué par le fait que la composition cellulaire de *Bdellovibrio* sera rapidement altérée ainsi que sa viabilité sera rapidement réduite dans une suspension pauvre en bactéries proies [93, 126]. Ainsi, l'effet du prédateur a été ralenti après 3 à 4 jours et afin d'expliquer ce phénomène nous pouvons suggérer que notre prédateur se développe surtout dans un premier temps sur des concentrations nécessaires pour assurer sa survie et sa multiplication mais avec le temps le nombre sera diminué au dessous de ces exigences, ce qui provoquera une altération cellulaire des bactéries prédatrices. Cette altération engendre logiquement une diminution voir même une suppression de l'activité prédatrice de *Bdellovibrio*.

Le nombre de cellules proies nécessaire soit pour assurer la survie ou la maintenance de l'équilibre de population constitue le sujet de quelques débats. Hespell et al estiment qu'une densité de $1.5 \cdot 10^5$ de cellules hôtes /ml est nécessaire pour avoir 50% de chance durant 10 heures. D'autres concluent que la survie des prédateurs dans l'eau non polluée est improbable [93]. En appliquant des modèles mathématiques basés sur certaines suppositions et théories de l'écologie et du comportement de *Bdellovibrio*, Varon et Zeigler estiment qu'une densité minimale de 10^6 de cellules proies /ml est nécessaire pour la survie de ces micro-organismes et 10^7 pour la croissance de sa population [231].

Dans les conditions de laboratoire, une densité élevée de proies est nécessaire afin de garantir la survie de *Bdellovibrio*. Plusieurs auteurs ont rapporté qu'une concentration minimale de 10^5 à 10^6 CFU.g⁻¹ sol ou ml⁻¹ est nécessaire [107, 220]. Varon et Zeigler estiment la chance à 50 % pour que *Bdellovibrio* survivent et elle est assurée par la présence d'au moins 3.10^6 de cellules proies [231]. Par contre Varon et al estiment que quelques fois *Bdellovibrio* survivent en laboratoire avec une seule espèce bactérienne à une densité de 2 à 5.10^4 cellules /ml[224] .

À l'état naturel, *Bdellovibrio* sont exposés directement aux conditions externes et de ce fait ils sont menacés par la famine et la mort sauf dans le cas de présence de concentrations convenables des bactéries hôtes [93, 116].

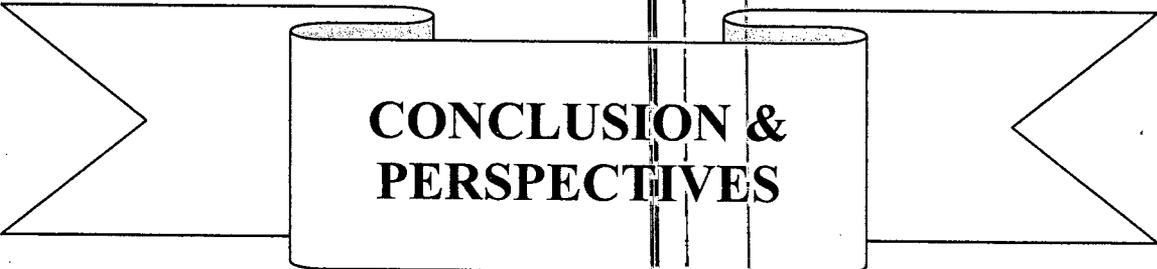
Si nous revenons au nombre de bactéries révivables récupérées de nos échantillons d'eau, il ressort qu'elles sont largement au dessous du seuil nécessaire pour maintenir en vie le prédateur. Du même une étude faite par Daniel [37], Fry a montré que *Bdellovibrio* peuvent y survivent des longues périodes dans un environnement pauvre en nutriments[63], et qu'il est possible de les isoler à partir des sol longuement stockés [72]. Ainsi la survie et la multiplication de ce micro-prédateur sont toujours maintenues et sa présence n'est jamais à écarter [224, 231].

Des explications possibles sont alors émises. D'abord le nombre de bactéries hétérotrophes récupérées par des cultures typiques représente une toute petite proportion du nombre actuelle rapporté par les méthodes directes de quantification totale [226]. En prend en considération le nombre nécessaire de proies pour *Bdellovibrio*, il est rapporté que ce prédateur peut se nourrir sur des cellules non viables, sous certaines circonstances [228]. Aussi il a été démontré que *Bdellovibrio* peut parasiter des cellules viables non cultivables.

D'un autre contexte, il est suggéré que l'hétérogénéité des populations bactériennes [3, 231, 172], la résistance des bdelloplastes [169] et la formation des bdellocystes [227] pourraient donner des explications à la survie de *Bdellovibrio*. Ainsi, nous pouvons donc affirmer que *Bdellovibrio* est un micro-destructeur des bactéries et en même temps un agent responsable de l'épuration des eaux. Il est donc impératif de signaler qu'il n'intervient pas seul car d'autres micro-organismes nettement les bactériophages jouent aussi le même rôle.

La destruction totale des bactéries sensibles n'a jamais lieu et il s'établit donc un équilibre au niveau de l'écosystème et l'élimination totale des germes pathogènes doit être imputer à de nombreux facteurs qui complètent l'action du *Bdellovibrio* [79, 89] .

Il apparaît donc que l'équilibre de ces milieux aquatiques est assuré, sur le plan biologique, tout d'abord par un antagonisme bactérien complété par l'action des micro-prédateurs parmi lesquels *Bdellovibrio bacteriovorus* semble avoir une place primordiale [84] même si ce rôle reste limité selon l'avis de Brisou [23, 24].



**CONCLUSION &
PERSPECTIVES**

CONCLUSION :

Si les humains prennent de plus en plus conscience du danger de la pollution chimique qui se manifeste généralement par des effets spectaculaires. Ils n'ont pas pris conscience du péril microbien, qui est plus insidieux encore. Il est pourtant impératif de limiter au maximum la contamination microbienne du milieu extérieur, dont on discerne difficilement toutes les conséquences et parallèlement de favoriser les processus d'auto-épuration de ces milieux et en particulier les eaux.

Bdellovibrio bacteriovorus s'avère ainsi un microprédateur redoutable, capable de jouer un rôle important au niveau des écosystèmes aquatiques, dont il intervient très activement dans leur auto-épuration.

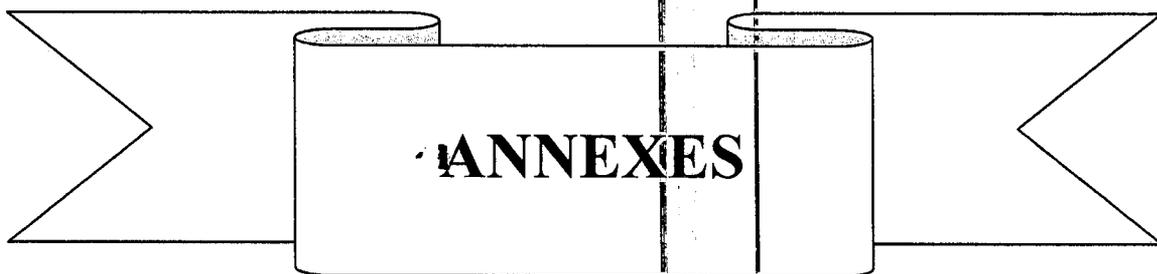
Le rôle de *Bdellovibrio* dans la nature et spécifiquement son impact sur la mortalité bactérienne est polémique et insaisissable.

Collectivement, nos résultats emphasent la prédation non fortuite, améliore nos connaissances sur *Bdellovibrio* et suggère que *Bdellovibrio* ne suffit pas à lui seul à éliminer les germes pathogènes hôtes dans la nature. Il y exerce une action bactériolytique vraisemblablement très importante en limitant les populations de germes cependant le mécanisme de destruction totale de ces derniers est très complexe. Toutes les expériences faites au laboratoire pour tenter de mieux évaluer le rôle éventuel de *Bdellovibrio* dans l'épuration des eaux montrent que ce micro-prédateur intervient certainement dans l'épuration naturelle des eaux, mais dans la nature les conditions réunies au laboratoire ne sont jamais rassemblées. Pour cette raison il reste toujours nécessaire d'approfondir les études sur les différents mécanismes d'auto-épuration des eaux pour bien situer et délimiter le rôle joué par ces micro-prédateurs dans ces processus

Pour des applications réelles de *Bdellovibrio*, nous pensons que la cause d'absence d'éradication totale des cellules proies dans les cultures liquides doit être étudiée. Ainsi que l'influence du rapport prédateur-proie sur la survie des cellules cibles (bactéries pathogènes) doit être aussi étudiée dans des conditions naturelles ou il y aura d'autres bactéries susceptibles ou non.

Comme il est nécessaire d'étudier *in situ* l'efficacité de prédation et des facteurs qui la limitent ou l'améliore dans les conditions naturelles.

Sous un autre angle, il est possible d'envisager des utilisations de *Bdellovibrio* dans le traitement des affections animales, humaines ou végétales. Dans le même sens, nous espérons que de tels micro-prédateurs pourraient être appliqué sur les blessures afin de consommer les bactéries infectieuses, ou pour renforcer les dispositifs médicaux et les systèmes d'irrigation agricoles.



ANNEXES

ANNEXE 01. Numération en milieu liquide: méthode de Mac GRDY (la table de Mac GRDY)
Table NPP pour 3 x 1 mL, 3 x 0,1 mL, 3 x 0,01 mL.

Nombre de résultats positifs			NPP	Limites de confiance	
1	0,1	0,01		95%	95%
0	0	0	<0,30	0,00	0,94
0	0	1	0,30	0,01	0,95
0	1	0	0,30	0,01	1,00
0	1	1	0,61	0,12	1,70
0	2	0	0,62	0,12	1,70
0	3	0	0,94	0,35	3,50
1	0	0	0,36	0,02	1,70
1	0	1	0,72	0,12	1,70
1	0	2	1,1	0,4	3,5
1	1	0	0,74	0,13	2,00
1	1	1	1,1	0,4	3,5
1	2	0	1,1	0,4	3,5
1	2	1	1,5	0,5	3,8
1	3	0	1,6	0,5	3,8
2	0	0	0,92	0,15	3,50
2	0	1	1,4	0,4	3,5
2	0	2	2,0	0,5	3,8
2	1	0	1,5	0,4	3,8
2	1	1	2,0	0,5	3,8
2	1	2	2,7	0,9	9,4
2	2	0	2,1	0,5	4,0
2	2	1	2,8	0,9	9,4
2	2	2	3,5	0,9	9,4
2	3	0	2,9	0,9	9,4
2	3	1	3,6	0,9	9,4
3	0	0	2,3	0,5	9,4
3	0	1	3,8	0,9	10,4
3	0	2	6,4	1,6	18,1
3	1	0	4,3	0,9	18,1
3	1	1	7,5	1,7	19,9
3	1	2	12	3	36
3	1	3	16	3	38
3	2	0	9,3	1,8	36,0
3	2	1	15	3	38
3	2	2	21	3	40
3	2	3	29	9	99
3	3	0	24	4	99
3	3	1	46	9	198
3	3	2	110	20	400
3	3	3	>110		

Indice NPP pour 100 mL d'échantillon et limites de confiance à 95% pour diverse combinaisons de résultats positifs avec trois prises d'essai de trois dilutions successives.

ANNEXE 3: milieux de culture

Milieu YP

A. Gélose Y.P (pour la couche inférieure)

Extrait de levure.....	5g
Bacto-peptone.....	5g
Agar.....	12g
Eau distillée.....	1000ml
NaoH.....	2ml
pH.....	7.4.
Autoclavé 15 minutes à 120 °C.	

B. Gélose YP (pour la couche supérieure)

Extrait de levure.....	5g
Bacto-peptone.....	5g
Gélose.....	6g
.....	1000ml
Eau distillée.....	2ml
NaoH.....	7.4.
pH.....	
Autoclavé 15 minutes à 120 °C.	

Gélose Chapman

Peptone pepsique ou trypsique	2g
Extrait de viande.....	1 g
Proteose peptone.....	9 g
NaCl	75 g
Mannitol.....	10 g
Agar	15 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Eau distillée	1000 ml
pH.....	7,4.

Gélose Mac Con Key

Peptone trypsique de gélatine.....	17 g
Peptone de viande et de caséine	3 g
Lactose.....	10 g
Sels biliaires.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g

Rouge neutre.....	40 mg
Gélose	13 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH.....	7,4.

Gélose nutritive

Peptone.....	5 g
Extrait de viande.....	3 g
Lactose.....	10 g
Bromocrésol pourpre.....	0,025g
Gélose.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH.....	7

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abram, D., Castroe Melo, J. 1974.** Penetration of *Bdellovibrio bacteriovorus* into host cells. *J Bacteriol.* 11, 82: 663-80.
2. **Abram, D., Shilo, M. 1967.** Untersuchungen zu Vorkommen und Bedeutung von *Bdellovibrio bacteriovorus* in bakteriell besiedelten Körperhöhlen von Tieren und in der Umwelt. *Bacteriol. Proc.*, p41.
3. **Afigenova, A.V., Ratner, E.N., Lambina, V.A. 1978.** Variations in the numbers of *Bdellovibrio bacteriovorus* and the bacterial host in a two-component system, *Mikrobiologiya* 2: 265-269.
4. **Algeo, A. 1979.** Etude géophysique dans les plaines alluviales des Oued Nil El Kebir et Mencha. p16.
5. **Amann, R., Ludwi, W., Schleifer, K.H. 1995.** Phylogenetic identification and in situ detection of individual cells without cultivation, *Microbiol. Rev.* 59: 143-169.
6. **Apha, A. 1985.** Standard methods for examination of water and wastewater. 16eme ed. American Public Health Association. Inc. New York.
7. **Aubert, M. 1968.** Equilibre biologique et pouvoir autoépurateur de la mer. p :117.
8. **Aubert, M., Aubert, J. 1969.** Océanographie Médicale. Gauthier Villars, Paris. p 28
9. **Azenka, M., Vasconcelos, M.T., Cabral, J.P.S. 1995.** Organic ligands reduce copper toxicity in *Pseudomonas syringe*. *Environ. Toxicol. and Chemistry.* 14, 369, *Wcisło R., Chróst R.J.* 220.
10. **Baer, M.L., Ravel, J., Chun, J., Hill, R.T., Williams, W.N. 2000.** A proposal for the reclassification of *Bdellovibrio stolpii* and *Bdellovibriostarrii* into a new genus, *Bacteriovorax stolpii* comb. nov. and *Bacteriovorax starrii* comb. nov., respectively, *Int. J. System. Evol. Microbiol.* 50: 219-224.
11. **Bailey, C.A., Neihof, R.A., Tabor, D.S. 1983.** Inhibitory effect of solar radiation on amino acid uptake in Chesapeake Bay bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 46, 44.
12. **Barcina, J.M., Arana, J., Iriberry, J., Egea, L. 1986.** Factors affecting the survival of *Escherichia coli* in a river. *Hydrobiologia.* 141, 249.
13. **Barcina, I.J.M., Gonzalez, J., Iriberry, J., Egea, L. 1989.** Effects of visible light on progressive dormancy of *Escherichia coli* cells during the survival process in natural fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 246.
14. **Beverly, M.G., Snell, E.E. 1984.** Biochemical factors in growth. P220-224. *In* manual of Methods General Bacteriology. ed. American Society for Microbiology.

15. **Biomérieux, S.A. 1998.** Brochure technique. Informations biologiques pour logiciels d'identification.
16. **Bonde, G.J. 1966.** Bacteriological methods for estimation of water pollution Health. Lab. Sci.3: 124-128.
17. **Borrego, J.J. 1982.** Estudio de los bacteriofagos de *Escherichia coli* en el agua de mar. Su relacion con la polución de dicho medio. Doctoral thesis, University of Malaga.
18. **Bouillin, J. P. 1979.** La transversale de Collo et d'El Milia (petite kabyle): une région clef pour l'interprétation de la tectonique Alpine de la chaîne littorale d'Algérie.Mem. SOCgéol.france.
19. **Bourgeois, C.M., Leveau, J.Y. 1980.** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires.volume 3.2^{ème} édition .Lavoisier TEC & DOC.p36.
20. **Bousseboua, H. 2005.** Eléments de Microbiologie.ed.Compus-clubs. Alger.p180.
21. **Bragimov, F. K. H. 1980.** Dissemination of *Bdellovibrio bacteriovorus* in animals and their interaction with the agentsof acute intestinal infections. Zh. Microbio. Epidemiol. Immunobiol. 5:97-99.
22. **Brisou, M. J. 1976.** An environmental sanitation plan for the Mediterranean seaboard; Pollution and human health. Public Health Papers, No. 62. World Health Organization, Geneva.
23. **Brisou, M. J. 1968.** A propos de l'autoépuration des eaux par *Bdellovibrio bacteriovorus*. Bull. Acad. Nat. Médecine, 28-29., 502-505.
24. **Brisou, M.J. 1969.** La pollution des eaux littorales. La Tec. De l'eau et de l'assainissement, 10-69, 60-62.
25. **Bugnicourt, M.1983.** Dictionnaire de microbiologie générale ' la vie racontée par les bactéries. Ellipses. p, 699.
26. **Burger, A., Drews, G., Ladwig, R. 1968.** Wirkkreis und Infektionszyklus eines neu isolierten *Bdellovibrio bacteriovorus*-StammesArchiv Mikrobiol.61:261-79.
27. **Burnham, J.C., Conti, S.F. 1984.** Genus *Bdellovibrio*. In: Krieg NR, Holt JG, editors. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins; S. 118-23.
28. **Burnham, J. C., Hashimoto, T., Conti, S. F. 1968.** Electron microscopic observations on the penetration of *Bdellovibrio bacteriovorus* into gram-negative bacterial hosts. J. Bacteriol. 96:1366-1381.
29. **Campanille, E., Ferro,V., Simone, E., de Grasso,S., de Fusco, R. 1970.** Souches bactériolytiques dans l'eau de mer. Rev. Int. Océanogr. Méd., 18-19, 117-124.

30. **Catteau, M., Petitprez, A., Leclerc, H., Vivier, E. 1969.** Contribution à l'isolement et à l'étude de *Bdellovibrio bacteriovorus*, Ann. Inst. Pasteur Lille, 1969, 20; 141-154.
31. **Collins, C. H., Lyne, M. P. 1985.** Microbiological methods. Butter worth 5^{ème} ed. London P.331-339.
32. **Collins, V.E., Stoltzky, G. 1989.** Factors affecting the toxicity of heavy metals to microbes. (In): Metal ions. (ed), Paris. p278
33. **Conti, S. F., Gettner, M. E. 1962.** Electron microscopy of cellular division in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 83:544-550.
34. **Cotter, T. W., Thomashow, M. F. 1992.** Identification of a *Bdellovibrio bacteriovorus* genetic locus, hit, associated with the host-independent phenotype. J Bacteriol 174, 19: 6018-24.
35. **Dajos, A. 1984.** Précis d'écologie. Dunod. 312 p.
36. **Daley, R.J. 1979.** Direct epifluorescence enumeration of native aquatic bacteria: Uses, limitations and comparative accuracy. In: Native Aquatic Bacteria: Enumeration, Activity and Ecology. ASTM STP 695, pp 29-45.
37. **Daniel, S. 1969.** Etude de l'influence de *Bdellovibrio bacteriovorus* dans l'autoépuration marine. Rev. Int. Océanogr. Méd, 15-16, 61-98.
38. **Davenport, C.V., Sparrow, E.B., Gordon, R.C. 1976.** Fecal indicator bacteria persistence under natural conditions in an icecovered river. Appl. Environ. Microbiol. 32, 527,
39. **De Belaïr., Samouraoui. 2000.** Checklist des espèces animales de la zone humide de Jijel-El-Kennar-.
40. **De Man, J. 1975.** The probability of most probable numbers. European Journal of Applied Microbiology, 1: 67-78.
41. **Département de l' environnement et le service des eaux. 1971.** Report of a river pollution survey of England and Wales 1970. H.M.S.O., London.
42. **Dias, F. F., Bhat, J. V. 1965.** Microbial ecology of activated sludge. II. Bacteriophages, *Bdellovibrio*, coliforms, and other organisms. Appl. Microbiol. 13:257-261.
43. **Diedrich, D. L. 1988.** *Bdellovibrios*: recycling, remodelling and relocalizing components from their prey. Microbiol Sci 5, 4: 100-3.
44. **Diedrich, D. L., Duran, C. P. 1984.** Acquisition of *Escherichia coli* outer membrane proteins by *Bdellovibrio* sp. strain 109D. J Bacteriol 159, 1: 329-34.
45. **Diedrich, D. L., Portnoy, C. A., Conti, S. F. 1983.** *Bdellovibrio* possesses a prey-derived OmpF protein in its outer membrane. Curr. Microbiol. 8:51-56.

46. **Drutz, D.J.** 1976. Response of *Neisseria gonorrhoeae* to *Bdellovibrio* species. *Infect Immun* 13:247-251.
47. **Duffour, A.P.** 1977. *Escherichia coli*: the faecal coliform p.48-58. in A.W. Hoadley and B.J. Dukta (eds).
48. **Duineveld, B. M., Rosado, A. S., van Elsas, J. D., van Veen, J. A.** 1998. Analysis of the dynamics of bacterial communities in the rhizosphere of the chrysanthemum via denaturing gradient gel electrophoresis and substrateutilization pattern. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4950-4957.
49. **Delga, M.** 1955. Etude géologique de l'ouest de la chaîne numidique. *Bull.Serv. Cart. Géol. Algérie*,(2).
50. **Edao, A.** 2000. Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bedeutung von *Bdellovibrio bacteriovorus* im Magen-Darm-Trakt von Tieren und Menschen sowie in der Umwelt. Veterinärmedizinische Fakultät. Leipzig, Universität Leipzig.
51. **Edao, A., KRÜGER, M., GEUE, L.** 1998. Untersuchungen zu Vorkommen und Bedeutung von *Bdellovibrio bacteriovorus* in bakteriell besiedelten Körperhöhlen von Tieren und in der Umwelt. Tagung der Fachgruppe "Bakteriologie" S. 218-229, Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V., Gießen ISBN 3-930511-55-X.
52. **El zanfaly, H. T., El Tonssy, J.** 1989. Studies of the bacteriological water quality for intakes of differnts water treatment plants in Greay Cairo. *Zbl. Hyg.*188: 303-310.
53. **Epton, H. A. S., Walker, N. M., Sigeo, D. C.** 1989. *Bdellovibrio*: a potential control agent for soft rot and black leg of potato, p. 207-212. *In* Z. Klement (ed.), *Plant pathogenic bacteria: part A.* Akademia Kiado, Budapest, Hun-gary.
54. **Fackrell, H.B, Robinson, J.** 1973. Purification and characterization of a lytic peptidase produced by *Bdellovibrio bacteriovorus* 6-5-S. *Can. J. Microbiol* 19:659-66.
55. **FANDASIOL (bureau d'étude à Constantine).** 2003. Etude géotechnique du POS 1et 2 de Faza. Partie sud d'El-kennar, Jijel.
56. **Feron, A.** 1994. *Bactériologie médicale des étudiant en médecine.* Dunod. 348 p.
57. **Ferro, U., de Simone, E., Campanille, E., de Fusco, R., Grasso, S.** 1970. Recherche de *Bdellovibrio bacteriovorus* dans la mer, les fleuves et les eaux d'égouts. *Rev. Int. Océanogr. Méd.* 18-19: 109-115.
58. **Ferro, U., de Simone, E., de Fusco, R.** 1971. Sui fattori biologica di autoperurazione della acque inquinate ricerca di ceppi batteriolotici nel mare ed in alcuni fiumi della campania. *Nuovi. Ann. Ig. Micriobio*, 22: 1-10.
59. **Flannagan, R. S.** 2003. The identification and characterization of motility and chemotaxis genes in *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J, pp. 1-150. MSc thesis, University of Western Ontario.

60. Forsberg, C. W., Costerton, J. W., MacLeod, R. A. 1970. Quantitation, chemical characteristics, and ultrastructure of the three outer cell wall layers of a gram-negative bacterium. *J. Bacteriol.* 104:1354-1368.
61. Fratamico, P.M., Cooke, P.H. 1996. Isolation of bdellovibrios that prey on *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella* species and application for removal of prey from stainless steel surfaces, *J. Food Saf.* 16:161-173.
62. Fratamico, P.M., Whiting, R.C. 1995. Ability of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J to lyse gram-negative food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *J. Food Prot.* 58:160-164
63. Fry, J.C., Staples, D.G. 1976. Distribution of *Bdellovibrio bacteriovorus* in sewage works, river water, and sediments, *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 469-474.
64. Fujijoca, R.S., Hashimoto, H.H., Siwak, E.B., Yprng, R.H.T. 1981. Effects of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 690.
65. Gameson, A.H.L., Gould, D.J. 1975. Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 209-219. Pergamon Press, London.
66. Gauthier, M.J. 1980. Polución en el medio marino. In Péres, J.M. (Ed): *La Polución de las aguas marinas*. pp. 127-141. Omega S.A.. Barcelona.
67. Geldreich, E.E. 1972. Buffalo lake recreational water quality: A study in bacteriological data interpretation. *Wat. Res.* 6: 913-924.
68. Geldreich, E.E. 1978. Bacterial populations and indicator concepts in faeces, sewage, stormwater and solid waste. In Berg, G. (Ed): *Indicators of viruses in water and food*. pp. 51-97. Ann Arbor Science, Michigan.
69. Geldreich, E.E. 1982. Microbiology: Water. Microbiol indicators of pollution. *Wat. Pollut:* 931-943.
70. Geldreich, E.E. 1990. Microbiological quality of source waters. pp. 3-18. In A. GORDONFETE+RS (ed), *Drinking water microbiology*. BROCK, Springer series in contemporary bioscience.
71. Geldreich, E.E., Kenner, B. A. 1969. Concepts of faecal streptococci in stream pollution. *J. Wat. Pollut. Control. Fedn.* 4: 336-352.
72. Germida, J.J. 1987. Isolation of *Bdellovibrio* spp. that prey on *Azospirillum brasilense* in soil, *Can. J. Microbiol.* 33: 459-461.
73. Giaxa. 1889. Ueber das Verhalten einiger pathogener Microorganismen im Meerwasser. *Zentralbl. f. Hyg.*, 6: 162-164.

74. Gonzalez, J.M., Sherr, E.B., Sherr, B.F. 1990. Size selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1851,
75. Gray, K.M., Ruby, E.G. 1990. Prey-derived signals regulating duration of the developmental growth phase of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Bacteriol.* **172**:4002-7
76. Gray, K.M., Ruby, E.G. 1991. Intercellular signalling in the bdellovibriodevelopmental growth cycle, in: Dworkin M. (Ed.), *Microbial Cell-Cell Interactions*, ASM. Washington DC, pp. 333-366.
77. Guelin, A., Bichovskaja, I., Lepine, P., Lamblin, D. 1970. Distribution des germes pathogènes dans les eaux mondiales. *Rev. Int. Océogr. Méd.*, **1819**: 77-83.
78. Guelin, A., Cabioche, L., Lepine, P. 1972. Bactériolyse spontanée et pouvoir bactéricide des eaux douces et marines, isolement d'un nouveau microprédateur. *C. R. Acad. Sc. Paris, Série D*, **274**: 3317-3319.
79. Guelin, A., Cabioche, L., Lepine, P. 1974. Caractères dynamiques de l'interaction entre le microprédateur *Bdellovibrio bacteriovorus* et la bactérie- Hôte en fonction de leurs densités initiales respectives. *C. R. Acad. Sc. Paris, Série D*, **278**: 1293-1396.
80. Guelin, A., Cabioche, L., Teissier. 1970. Sur l'utilisation du phénomène de bactériolyse spontanée pour la connaissance de l'état sanitaire des eaux douces et marines. *C. R. Acad. Sc. Paris, Série D*, **271**: 137-140.
81. Guelin, A., Lamblin, D. 1966. Sur le pouvoir bactéricide des eaux. *Bull. Acad. nat. Méd.*, **150**: 526-532.
82. Guelin, A., Lepine, P., Lamblin, D. 1967. Pouvoir bactéricide des eaux polluées et rôle de *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Ann. Inst. Pasteur.* **113**: 660-665.
83. Guelin, A., Lepine, P., Lamblin, D. 1968. Pollutions et peuplements marins -Sur l'autoépuration des eaux-. *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, **10**:221-227.
84. Guelin, A., Lepine, P., Lamblin, D. 1969a. Microorganismes responsables du pouvoir bactéricide des eaux. *Int. Vereinig. Theor. Angew. Limool. Verh.*, **17**: 744 -746.
85. Guelin, A., Lepine, P., Lamblin, D., Petitprez, A. 1969b. Rôle des germes parasites des bactéries pathogènes dans l'auto-épuration des eaux. *Bull. Franç. Pisciculture*, **233**: 101-107.
86. Guerrini, F.V., Romano, M., Valenzi, Di Giulio, M. 1982. Molecular parasitism in the *Escherichia coli*-*Bdellovibrio bacteriovorus* system: translocation of the matrix protein from the host to the parasite outer membrane. *EMBO J.* **1**:1439-1444. of its *Escherichia coli* prey. *J. Bacteriol.* **169**:694-698.
87. Guiraud, J., Galzy, P. 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine nouvelle, p: 5,019.
88. Guiraud, J.P. 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris. p55.

89. Hendricks, C. W. 1974. Enteric bacterial growth rates in river water. *Appl. Microbiol*, 24: 168-174.
90. Herelle, A . 1917. The origin and phylogeny of the bdellovibrios. *C. R.Acd.Sci*,165-373.Hespell, R. B., Paster, B. J., Macke, T. J. & Woese, C. R. (1984). *Syst Appl Microbiol* 5,196-203.
91. Hespell, R. B., Paster, B. J., Macke, T. J., Woese, C. R. 1984. The origin and phylogeny of the bdellovibrios. *Syst Appl Microbiol* 5,196-203.
92. Hespell, R.B., Rosson, R.A., Thomashow, M.F., Rittenberg, S.C. 1973. Respiration of *Bdellovibrio bacteriovorus* strain 109J and its energy substrates for intraperiplasmic growth. *J Bacteriol* 113:1280-8.
93. Hespell, R.B., Thomashow, M.F., Rittenberg, S.C. 1974. Changes in cellcomposition and viability of *Bdellovibrio bacteriovorus* during starvation, *Arch. Microbiol.* 97: 313-327.
94. Huang, J. C. C., Robinson, J., Murray, R. G. E. 1966. *Proc. Soc. Can. Microbiol.*,p. 45.
95. Huang, J. C. C., Starr, M. P. 1973. Possible enzymatic bases of bacteriolysis by *Bdellovibrios*. *Arch. Mikrobiol.* 89:147-167.
96. Hurst, C. J. 1997c. Overview of water microbiology as it relates to public health, *Manual of environmentalmicrobiology*, C. J. Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach, and M. V. Walter, ed.,ASM Press, Washington, DC, 133-135
97. ISO. 1988. International Organisation for Standarization Microbiology-Dénombrement des micro-organismes révivifiables-Comptage des colonies par inoculation dans ou sur un milieu de culture nutritif gélosé..ISO 6222.
98. ISO.1999. International Organisation for Standarization Microbiology-Méthode par ensemencement en milieu liquide du NPP.ISO 9308-3.
99. Jeffrey, C., Burnham, T., Hashimoto, S. F., Conti. 1969. Ultrastructure and Cell Division of a Facultatively Parasitic Strain of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Bacteriol.*3:997-1004.
100. Jones, M. *Centralbl. Bkt.Parasit.*, 11,14,459.
101. Jones, G.E. 1971. The fate of freshwater bacteria in the sea. *Developments in Industrial Microbiology*, 12: 141-151.
102. Jones, G.E., Cobet, A.B. 1975. Heavy metal ions as the principal bactericidal agent in Caribbean seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 199-208. Pergamon Press, London.
- 103.Jurkevitch, E., Minz, D., Ramati, B., Barel, G .2000. Prey rangecharacterization,ribotyping,and diversity of soil and rhizosphere *Bdellovibrio* spp.isolated on phytopathogenic bacteria.*Appl Environ Microbiol* 66:2365 -2371.

104. Kahler, A. 1964. Analytische hissmittel zur venschambichung der biologeschen in fliessern. G. W. F. 104: 276-278.
105. Kapuschinski, R.B., Mitchell, R. 1981. Solar radiation induces sublethal injury in *Escherichia coli* in seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(3):670-674.
106. Kelley, J. L., Turng, B. F., Williams, H. N., Baier, M. L. 1997. Effect of temperature, salinity, and substrate on the colonization of surfaces in situ by aquatic bdellovibrios. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:84-90.
107. Kelley, J. I., Williams, H. N. 1992. Bdellovibrios in *Callinectes sapidus*, the blue crab. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1408-1410.
108. Keya, S.O., Alexander, M. 1975. Regulation of parasitism by host den-sity:the *Bdellovibrio-Rhizobium* interrelationship, *Soil Biol. Bio-chem.* 7: 231-237.
109. Khalaf, S.H., Muhammad, A.D. 1989. Studies of faecal streptococci in the river Tigris. *Microbios.* 57: 103-109.
110. Kim, J.S., Sakai, M., Hosoda, A., Matsuguchi, T. 1999. Application of DGGE analysis to the study of bacterial community structure in plant roots and in nonrhizosphere soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45:493-497.
111. Klein, D.A., Casida, L.E. 1967. Occurrence and enumeration of *Bdellovibrio bacteriovorus* in soil capable of parasiting *E.coli* and indigeneous soil bacteria. *Canad. J. Microbiol.* 13: 1235-1241.
112. Koval, S. F., Bayer, M. E. 1997. Bacterial capsules: no barrier against *Bdellovibrio*. *Microbiology* 143:749-753.
113. Koval, S.F., Hynes, S.H. 1991. Effect of paracrystalline proteinsurface layers on predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *JBacteriol* 173:2244 -2249.
114. Lambert, C., Katy, J. E., Till, R., Hobley, L., Capeness, M., Rundulic, S., Shuster, S.C., Aizawa, S., Sockett, R.E. 2006. Characterizing the flagellar filament and the role of motility in bacterial prey- penetration by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Molecular Microbiology* 60(2), 274-286.
115. Lambert, C., Smith, M.C.M., Sockett, R.E. 2003. A novel assay to monitor predator-prey interactions for *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J reveals a role for methyl-accepting chemotaxis proteins in predation. *Environ Microbiol* 5:127 -132
116. Lambina, V.A., Chuvil'skaya ,N.A., Lrdova, L.A., Afenogenova, A.V ., Averborg, I.V. 1974. quantitative distribution of *Bdellovibrio bacteriovorus* in river water. *Mikrobiologiya, S.S.S.R.*, 43, 4: 715-720.

117. Lambina, V. A., Lebowa, L.A., Tschurkina, L.G. 1987. Importance of *Bdellovibrio* in regulating microbial cenoses and self-purification processes in domestic sewage. *Mikrobiologiya* 56: 860-864.
118. Larpent, J. P., Larpent, G. 1970. *Microbiologie pratique*.(ed) HERMANN, Paris.p97.
119. Larpent, J. P., Larpent, G. 1985. *Manuel pratique de microbiologie*, Herman.
120. Leclerc, H., Buttiaux, R.,Guillaume, J ., Wattre, P. 1977. *Microbiologie appliquée*.P.Doin (ed).Paris.
- 121.Leclerc, H., Mossel, D.A.A. 1989. *Microbiologie"Le tube digestif, l'eau et les aliments"*.DOIN editeurs.
122. Lehtihet, A . 1983. Etude hydrogéologie de la plaine alluviale de l'Oued Nil (Jijel), thèse d' ingénieur hydrologue d'état.Université des sciences de la technologie HOUARI BOUMEDIENE.
123. Leminor, L., Veron, M. 1994. *Bactériologie médicale*. Flammarion medecine sciences.845 p.
124. Lepine, P., Geulia, A., Sisman, S., Lamblin, D. 1967. étude au microscope électronique de la lyse de *Salmonella* par *Bdellovibrio bacteriovorus*. *C. R. Acad. Sci*,164: 2957-2960.
125. Lopez-Torres, A. J., Prieto, L., Hazen, T.C. 1988. Comparison of the coliforms in situ survival and activity of *Klebsiella pneumoniae* and *E.coli* in tropical marine environments. *Micro. Ecol*.15:4.
126. Mallory, L.M., Yuk, C.S., Liang, L.N ., Alexander, M. 1983. Alternative prey: A mechanism for elimination of bacterial species by protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 46: 1073-1079.
127. Marbach, A., Varon, M., Shilo, M . 1976. Properties of marine bdellovibrios. *Microb Ecol* 2:284-295.
128. Martin, M.O. 2002. *J Mol Microbiol Biotechnol*;4:467-477.
129. Martinez, J., Garcialara, J., Vivesrego, J. 1989. Esti mation of *Escherichia coli* mortality in seawater by the de crease in H-label and electron transport system activity. *Microb. Ecol*. 17, 219.
130. McCambridge, J., Mcmeekin, T.A. 1980. Relative effects of bacterial and protozoan predators on survival of *Escherichia coli* in seawater samples. *Appl. Environ. Microbial*. 40, 907,
131. McCambridge, J., Mcmeekin, T.A. 1981. Effects of solar radiation and predations microorganisms on survival of fecal and other bacteria. *Appl. Environ. Microbial*. 41, 1083.

132. McCann, M. P., Solimeo, H. T., Cusick, F., Panunti, B., McCullen, C. 1998. Developmentally regulated protein synthesis during intraperiplasmic growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *Can J Microbiol* 44, 50-55.
133. Mc Crady, M.H. 1915. The numerical interpretation of fermentation tube results. *J. Infect. Dis.*, 17,183-212.
134. Mcfeters, G.A., Stuart, D.G. 1972. Survival of coliform bacteria in natural field and laboratory studies with membrane filters chambers. *Appl. Microbiol.* 24, 805,
135. Megan, E.N., Mark, M, Martiny Lin, K., Duong, Elaine Ly., Eileen, M., Spain . 2003. Investigations into the Life Cycle of the Bacterial Predator *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J at an Interface by Atomic Force Microscopy. *Biophysical Journal* 84 3379-3388.
136. Metcalf ., Eddy. 1991. Wastewater engineering: Treatment, disposal, and reuse. Revised by G.Tchobanoglous and F. L. Burton. Third ed., McGraw-Hill, Inc., New York.
137. Meyer, A.F., Sockett, R.E., Schuster, S.C. 2004. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science* 303:689-692.
138. Mitchell, R., Yankofsky, S., Jannasch, W. 1967. Lysis of *Escherichia coli* by marine microorganisms. *Nature (London)*. 215: 891-893.
139. Mitchell, R, Yankofsky, S., Jannasch, W. 1971. Destruction of bacteria and viruses in seawater. *Journal of Sanitary Engineering*, 97: 425-432.
140. Mitchell, R., Yankofsky, S., Jannasch, W. 1975. Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea: An overview. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 231-251. Pergamon Press, London.
141. Moe, C. L. 1997. "Waterborne transmission of infectious agents," *Manual of Environmental Microbiology*, C.J.Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach, and M. V. Walter, ed., ASM Press, Washington, DC, 136-152.
142. Mujeriego, R., Bravo, J.M., Feliu, M.T. 1983. Recreation in coastal waters - Public Health implications. *Proceedings of the VIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cannes, France, 2-4 December 1982*. pp 585-594, International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
143. Munoz, E.F., Melvin, P.S. 1979. Rapid, single-step most probable-number method for enumerating fecal coliforms in effluents from sewage treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*, vol.37, n°3, 527-530.
144. Nakamura, M. 1972. Alteration of *Shigella* pathogenicity by other bacteria. *Am. J. Clin. Nutr.* 25:1441-1451.
145. Namour, Ph. 2006. L'autoépuration: processus "naturel" complémentaire des systèmes de traitement des eaux usées. 2èmes rencontres nationales de l'Eau, Aix-les-Bains.

146. Nelson, D. R., Rittenberg, S. C. 1981. Incorporation of substrate cell lipid A components into the lipopolysaccharide of intraperiplasmically grown *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Bacteriol* 147(3): 860-8.
147. Niewolak, S., Kopij, H., Chomutowska, H. 1996. Influence of some heavy metals on the survival of heterotrophic bacteria in bottom sediments of eutrophic lake. *Poř. J. Environ. Stud.* 5, 21.
148. Parnow, R.J. 1972. Computer program estimates bacterial densities by means of the most probable numbers. *Food. Technol.*, 7, 56-62.
149. Pelement, J. 1995. Bactérie et environnement-adaptation physiologique-.Vol.1, office des publications universitaires.p82
150. Phelps, E.B. 1908. A method for calculating the number of *E.coli* from the results of dilution tests. *Amer. J. Pub. Hyg.*, 4, 141-145.
151. Pineiro, S.A., Sahaniuk, G.E, Romberg, E., Williams, H.N. 2004. Predation pattern and phylogenetic analysis of *Bdellovibrionaceae* from the Great Salt Lake,Utah.*Curr Microbiol* 48:113 –117.
152. Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. 2003. Microbiologie. Edition De boeck..2^{ème} édition .France.p608, 654.
153. Proctor, L.M, Fuhrman, J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343:60–62.
154. Ramade, F. 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau: biochimie et écologie des eaux continentales et littorales, Ediscience international,paris.p496
155. Ramon, J.S., Mortimer, P.S. 1968. Structure of the flagellum of *Bdellovibrio bacteriovorus*.*J Bacteriol*95:1952-1955.
156. Raoult, J. F. 1974 . Géologie du centre de la chaîne numidique,Nord de Constantine, Algérie.Thèse, Sc, Paris, Mem, Soc. Géol. ER.NS. LIII, Mem.N^o21,Paris.
157. Raoult, J. F. 1975. Evolution paléogéographique et structural de la chaîne Alpine entre le Golf de Skikda et Constantine(Algérie orientale).Bull. SOC. Géol. Fr. XVII, Paris.
158. Rejsek, F. 1999 . Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques. Série Sciences et techniques de l'environnement. Services culture (ed).
159. Rendulic, S., Jagtap, P., Rosinus, A., Eppinger, M., Baar, C.,Christa, I., 2004. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science* 303: 689–692.

160. Rice, T.D., Williams, H.N., Turng, B.F. 1998. Susceptibility of bacteria in estuarine environments to autochthonous bdellovibrios, *Microbiol. Ecol.* 35:256–264.
161. Richardson, I. R. 1990. The incidence of *Bdellovibrio* spp. in man-made water systems: coexistence with legionellas. *J. Appl. Bacteriol* 69(1): 134-40.
162. Rittenberg, S. C., Shilo, M. 1970. Early host damage in the infection cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Bacteriol.* 102:149–160. Stolz, M., D. Stoffler, U. Aebi, and C. Goldsbury 2000 Monitoring
163. Rodier, J. 1996. L'analyse de l'eau naturelles, eaux résiduaires et eau de mer. 8^{ème} éd Dunod, P.
164. Rogosky, A. M., Moak, P.L., Emmert, E.A. 2005. Differential predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109 J. *Current Microbiology* .Vol 52, pp,81-85.
165. Ronald, S., Flannagan., Miguel, A., Valvano., Susan, F., Koval, A. 2004. Downregulation of the motA gene delays the escape of the obligate predator *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J from bdelloplasts of bacterial prey cells. *Microbiology* .150, 649–656.
166. Ruby, E. G. 1991. The genus *Bdellovibrio*. In: Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editors. *The procaryotes*. 2 nd ed. New York: Springer Verlag; p.3400-15.
167. Ruby, E. G. 1992. The genus *Bdellovibrio* and differential predation. In: A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, and K.H.
168. Ryter, A. 1968. Association of the nucleus and membrane of bacteria: a morphological study. *Bacteriol. Rev.* 32:39-54.
169. Sanchez., Amat, A., Torrella, F. 1990. Formation of stable bdelloplasts as a starvation-survival strategy of marine bdellovibrios, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 2717–2725.
170. Sanders, R.W., Porter, K.G. 1986. Use of metabolic inhibitors to estimate protozooplankton grazing and bacterial production in a monomictic eutrophic lake with an anaerobic hypolimnion *Appl Environ Microbiol* 52, 101.
171. Savage, H.P., Hanes, N.B. 1971. Toxicity of seawater to coliform bacteria. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 43: 854-861.
172. Scherff, R. H. 1973. Control of bacterial blight of soybean by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Phytopathology* 63:400–402.
173. Scherff, R. H., DeVay, J. E., Carroll, T. W. 1966. Ultrastructure of host-parasite relationships involving reproduction of *Bdellovibrio bacteriovorus* in host bacteria. *Phytopathology* 56:627-632.
174. Scheffer R. H., DeVay, J. E., Carroll, T. 1971. *The Prokaryotes*, 2nd Edition. Springer-Verlag, New York. pp. 3400 – 3415

175. Scheffer, D.J., Long, M.C., Janardini, K.G. 1974. Statistical analysis of the recovery of coliform organisms on Gelman and Millipore membrane filters. *Appl. Microbiol.*, 38,605-607.
176. Schoeffield, A.J., Williams, H.N. 1990. Efficiencies of recovery of bdellovibrios from brackish-water environments y using various bacterial species as prey. *Appl Environ Microbiol* 56:230 -236.
177. Seidler, R. J., Starr , M.P. 1967. *Bacteriol. Proc.*p.42.
178. Seidler, R. J., Starr, M. P. 1969a. "Factors affecting the intracellular parasitic growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* developing within *Escherichia coli*." *J Bacteriol* 97(2): 912-23.
179. Seidler, R.J., Starr, M.P. 1969b. Isolation and characterization of host-independent *Bdellovibrios*. *J Bacteriol* .100:769-85.
180. Seidler, R.J., Starr.M.P., Mandel, M. 1969a. Desoxyribonucleic acid characterization of *Bdellovibrios*. *J.Bact.*,100,786-790.
181. Servais, P., Billen, G., Rego, J.V. 1995. Rate of bacterioplankton mortality in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1448.
182. Shemesh, Y., Davidov, Y., Koval, S., Edouard, J. 2003. Small eats big: ecology and diversity of *Bdellovibrio* and like organisms, and their dynamics in predator-prey interactions. *Agronomie* 23:4333-439.
183. Shilo, M. 1965. Lysis of Gram négative bacteria by host- independent ectoparasite *Bdellovibrio bacteriovorus* isolates. *J. gen. Microbiol*, 40: 317-328.
184. Shilo, M. 1966. Predatory bacteria. *Sci.J.* 2:33-59.
185. Shilo, M. 1969. Morphological and physiological aspects of the interaction of *Bdellovibrio* with host bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol.*50:174-204.
186. Shilo, M. 1973. Rapports entre *Bdellovibrio* et ses hôtes. Nature de la dependance. *Bull. Inst. Pasteur.*71: 21-31.
187. Sidorenko, G. I., Bagdasar'yan, G.A., Talajeva, J. G. 1973. Un facteur naturel d'autoépuration des eaux de surfaces. *Ceskol. Hyg*, 20, 2: 54-57.
188. Sinclair, J.L., Alexander, M. 1984. Role of resistance to starvation in bacterial survival in sewage and lake water. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 410-415.
189. Singleton, P. 1999. *Bactériologie*, 2^{ème} cycle, 4^{ème} édition, ed Dunod, paris, p305.
190. Smith J, J., Howington, J.P, McFetters, G.A. 1994. Survival, physiological response, and recovery of enteric bacteria exposed to a polar marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2977.

191. Snellen, J.E, Starr, M.P. 1974. Ultrastructural aspects of localized membrane damage in *Spirillum serpens* VHL early in its association with *Bdellovibrio bacteriovorus*. Arch Microbiol;100:179-95.
192. Snyder, A.R., Williams, H.N., Baer, M.L., Walker, K.E., Colin Stine, O. 2002. 16S rDNA sequence analysis of environmental *Bdellovibrio* and like organisms (BALO) reveals extensive diversity, Int. J. Sys-tem.Evol. Microbiol. 52:2089–2094.
193. Sockett, R. E., Lambert, C. 2004. Opinion: *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance. Nat. Rev. Microbiol. 2:669–675.
194. Sorracoo, R.J., Tison, D.L., Popel. 1975. Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol. 43, 170.
195. Sprung, J. 2006. Probitics, predatory bacteria, and bacteria phages.maison :Vieux syndrome de reservoir.
196. Staples, D. G., Fry, G. C. 1973. Factors which influence the enumeration of *Bdellovibrio bacteriovorus* in servage and river water. J. appl. Bact, 36: 1-11.
197. Starr, M.P, Baigent, N.L. 1966. Parasitic interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with other bacteria. J Bacteriol;91:2006-2017.
198. Starr, M.P., Huang, J.C.C. 1972. Physiology of the *Bdellovibrios*. Adv. Microbiol. Phisiol. 8: 215-261.
199. Starr, M. P., Seidler, R.J. L. 1971. The *Bdellovibrios*. Ann. Rev. Microbiol,25: 649-678.
200. Steed, P., Murray, R. G. E. 1966. The cell wall and cell division of gram-negative bacteria. Can. J. Microbiol.2:263-270.
201. Stein, M. A., McAllister. 1992. "Acquisition of apparently intact and unmodified lipopolysaccharides from *Escherichia coli* by *Bdellovibrio bacteriovorus*." J Bacteriol 174(9): 2858-64.
202. Stolp, H. 1967. Lysis von Bakterien durch den Parasiten *Bdellovibrio bacteriovorus*. Film C972. Göttingen, Institut für den wissenschaftlichen FilmBegleittext in Publikationen Wissenschaftlicher Film, Bd. A II: 695-706.
203. Stolp, H. 1968. *Bdellovibrio bacteriovorus*-einriuberischer Bakterienparasit. Naturwissenschaften 55 :57-63.
204. Stolp, H., Petzold, H. 1962. Untersuchungen uber einen obligat parasitischen mikroorganismus mit lytischer Activitat fur *Pseudomonas* Bkterien. Phytopathologische Zeitschrift, 45: 362-390.
205. Stolp, H ., Satrr, M.P. 1963. *Bdellovibrio bacterivorus* gen.et sp.n.,a redatory ectoparasite, and bacteriolytic microorganism,Antonie van Leueuwenhowek,29,217-248.

206. Stolp, H., Starr, M. P. 1965. Bacteriolysis. *Ann. Rev. Microbiol.* 19:79-104.
207. Straley, S. C., Conti, S. F. 1977. Chemotaxis by *Bdellovibrio bacteriovorus* toward prey. *J Bacteriol* 132, 628-640.
208. Talley, B. G., McDade, R. L. 1987. "Verification of the protein in the outer membrane of *Bdellovibrio bacteriovorus* as the OmpF protein of its *Escherichia coli* prey." *J Bacteriol* 169(2): 694-8.
209. Taylor, V.I., Baumann, P., Reichelt, J.L., Allen, R.D. 1974. Isolation, enumeration and host range of marine bdellovibrios. *Arch Microbiol* 98:101-114 26:1355-1369.
210. Tearle, P.V., Richard, K.J. 1987. Ecophysiological grouping of Antarctic environmental bacteria by API 20 NE and fatty acid finger prints. *J Appl Bacteriol* 63:497-503
211. Thomashow, M. F., Cotter, T. W. 1992. *Bdellovibrio* host dependence: the search for signal molecules and genes that regulate the intraperiplasmic growth cycle. *J Bacteriol* 174, 5767-5771.
212. Thomashow, M. F., Rittenberg, S. C. 1978. Intraperiplasmic growth of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J: solubilization of *Escherichia coli* peptidoglycan. *J. Bacteriol.* 135:998-1007.
213. Thomashow, L.S., Rittenberg, S.C. 1985a. Isolation and composition of sheathed flagella from *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *J Bacteriol.* 163:1047-1054.
214. Thomashow, L.S., Rittenberg, S.C. 1985b. Waveform analysis and structure of flagella and basal complexes from *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *J Bacteriol*, 163:1038-1046.
215. Toranzos, G. A., McFeters, G. A. 1997. Detection of indicator microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters, C. J. Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach, and M.
216. Torsvik, V., Ovreas, L., Thingstad, T. F. 2002. Prokaryotic diversity – magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science*. 296, 1064-1066.
217. Tudor, J. J., Conti, S. F. 1977. Characterization of Bdellocysts of *Bdellovibrio* spp. *J. Bacteriol.* 131:314-322.
218. Tudor, J. J., Karp, M. A. 1994. Translocation of an outer membrane protein into prey cytoplasmic membranes by bdellovibrios. *J. Bacteriol.* 176:948-952.
219. Tudor, J. J., McCann, M. P., Acrich, I. A. 1990. A new model for the penetration of prey cells by bdellovibrios. *J. Bacteriol.* 172:2421-2426.
220. Uematsu, T. 1980. Ecology of *Bdellovibrio* parasitic to rice bacterial leaf blight pathogen, *Xanthomonas oryzae*. *Rev. Plant. Protec. Res.* 13:12-26.

221. UNEP/WHO. 1991. Biogeochemical cycles of specific pollutants. Survival of pathogens. Final reports on research projects (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, (71 pages) (parts in English or French only).
222. Varon, M. 1979. Selection of predation-resistant bacteria in continuous culture, *Nature*, 277: 386-388.
223. Varon, M. 1981. Interaction of *Bdellovibrio* with its prey in mixed microbial populations. *Microb Ecol* 7:97-105.
224. Varon, M., Fine M., Stein, A. 1984. The maintenance of *Bdellovibrio* at low prey density. *Microb Ecol* 10:95-98.
225. Varon, M., Shilo, M. 1962. Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* and host bacteria. I. Kinetics studies of attachment and invasion of *Escherichia coli* by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Bacteriol*, 97: 744-753.
226. Varon M., Shilo, M. 1969a. Attachment of *Bdellovibrio bacteriovorus* to cell wall mutants of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 97:977-979.
227. Varon, M., Shilo, M. 1969b. Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* and host bacteria. II. Intracellular growth and development of *Bdellovibrio bacteriovorus* in liquid cultures. *J Bacteriol* 99:136-141.
228. Varon, M., Shilo, M. 1970. Methods for separation of *Bdellovibrio* from mixed bacterial population by filtration through millipore filters or by gradient differential centrifugation. *Rev. Int. Oceanogr. Med.* 18-19:145-152.
229. Varon, M., Shilo, M. 1978. Ecology of aquatic bdellovibrios, in: Droop M.R., Jannash H.W. (Eds.), *Advances in microbial ecology*, Academic Press, London, pp. 1-48. c la mem 80
230. Varon, M., Shilo, M. 1981. Inhibition of predatory activities of *Bdellovibrio* by various environmental pollutants. *Microb Ecol*;7:107-111.
231. Varon, M., Ziegler, B.P. 1978. Bacterial predator-prey interaction at low prey density. *Appl Environ Microbiol* 36:11-17.
232. Walkler, J., Leclerc, H. 1973. Traitement expérimental d'épuration d'une eau de surface par lagunage: aspects chimiques et microbiologiques. *Wat.Res*:707-728.
233. Walter, V. 1980. *Manual of Environmental Microbiology*, ASM Press, Washington, DC, 184-194.
234. Weistergaard, J. M., Kramer, T. T. 1977. *Bdellovibrio* and the intestinal flora of vertebrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 34:506-511.

235. **Weiner, R.M., Hussong, D., Colwell, R.R. 1980.** An estuarine agar medium for enumeration of aerobic, heterotrophic bacteria, associated with water, sediment and shellfish. *Can J Microbiol* 26:1355-1369.
236. **WHO(Organisation mondiale de la santé). 1991.** Health impact of human exposure to fresh and saline recreational waters. Report on a WHO Working Group, Rimini, 27 February - 2 March 1990. Document ICP/RUD153. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
237. **Wilkinson, M. 2000.** Predation in the presence of decoy: an inhibitory factor on pathogen control by bacteriophages or bdellovibrios in dense and diverse ecosystems, *J. Theor. Biol.* 208: 27-36.
238. **Williams, H.N., Falkler, J.r. 1984.** Distribution of bdellovibrios in the water column of an estuary. *Can J Microbiol* 30:971-974.
239. **Williams, H. N., Kelley, J. I. 1991.** The association of *Bdellovibrio* (Bd) with surfaces in aquatic environments, abstr. N-22, p. 249. *In* Abstracts of the 91st General Meeting of the American Society for Microbiology 1991. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
240. **Williams, H. N., Schoeffied, H. N., Guether, D., Kelley, J., Shah, D., Falkler, W. A. 1995.** Recovery of bdellovibrios from submerged surfaces and other aquatic habitats. *Microb. Ecol.* 29:39-48.
241. **Wright, R.C. 1989.** The survival patterns of selected faecal bacteria in tropical fresh waters. *Epidem. Inf.* 103: 603-611.
242. **Wuhrmann, K. 1972.** Stream purification, *In*: Water pollution microbiology. R. Mitchell (éd.) Wiley Interscience, New York, 119-151.
243. **Young, M.C., Guinness World Records . 2002.** *in*: Cunningham A.(Ed.), Mass Market Paperback.

Thème

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DU POUVOIR AUTO-ÉPURATEUR DE L'EAU : CAS DU MARAIS D'EL-KENNAH-JIJEL-

Présenté par : Hasna BOULKROUNE

Date de soutenance : 25 / 06 / 2008 .

RESUME

L'eau est l'élément constitutif majeur de la biosphère mais malheureusement elle sert généralement d'exécutoire aux divers rejets de l'être humain. En effet, la stabilité biologique des eaux superficielles repose sur une qualité spécifique de l'eau appelée le pouvoir auto-épurateur. Notre étude réalisée sur l'eau du marais d'El-Kennar "zone humide" au niveau de la wilaya de Jijel vise à déterminer ce pouvoir auto-épurateur. Suite au dénombrement des bactéries peuplants l'eau, il est montré que cette eau souffre d'une pollution microbienne importante, ainsi que la recherche microbienne nous a permis de mettre en évidence la dominance des bactéries Gram négatif et l'existence des bactéries pathogènes "entérobactéries" tel *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca* ainsi que d'autres germes ou les entérobactéries tel *Staphylococcus aureus*. L'étude au niveau de laboratoire des échantillons d'eau prélevés à partir des trois stations différentes montre que cette eau est douée d'un pouvoir bactéricide naturel important. L'essai d'isolement des bactéries prédatrices selon la technique de la double couche nous a conduit à isoler les *Bdellovibrio bacteriovorus*. Afin de vérifier le rôle de ce microprédateur, nous avons suivi la survie des populations des bactéries les plus rencontrées dans l'eau du marais en présence de trois plages de lyse de *Bdellovibrio bacteriovorus*. Le traitement par *Bdellovibrio bacteriovorus* a montré l'action bactériolytique très importante en réduisant considérablement les populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter agglomerans*, et dans une moindre mesure la population de *Klebsiella oxytoca*, mais l'élimination n'a été pas totale dans tous les essais.

Mots clef: biosphère, zone humide, pouvoir auto-épurateur, pollution microbienne, bactéries Gram négatif, entérobactéries, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, pouvoir bactéricide, *Bdellovibrio bacteriovorus*.

SUMMARY

The water was the major element constitutional of biosphere, but unlucky it serve generally to execute the diverse throwing of the human. In effect, the biological stability of superficial water put back on a specific quality of water called self-purification power. Our study is realised on the water from the marsh of El-Kennar "humid zone" site in Wilaya of Jijel and aim to determine this self-purification power. After the enumeration of of bacteria populating the water, it was demonstrated that this water suffer from an important microbial pollution, thus the microbial search has allow to demonstrate the domination of Gram negative bacteria and the existence of pathogenic bacteria "enteric bacteria" like *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* and *Klebsiella oxytoca*, thud other bacteria or the enteric bacteria like *Staphylococcus aureus*. The study in laboratory of samples of water taken from three different stations demonstrates that this water is endowed with an important natural bactericide power. The essay for isolation of predator bacteria according to technique of double layer was succeeded by isolation of *Bdellovibrio bacteriovorus*. In order to verify the role of this micro-predator, we have steaded the survival of populations of the most finding bacteria in the water of this marsh in presence of three lysés areas of *Bdellovibrio bacteriovorus*. The treatment by *Bdellovibrio bacteriovorus* has demonstrated the very important bacteriolytical action by considerable reduction of population of *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, and in less measure the population of *Klebsiella oxytoca*, but the elmination was not total in all tests.

Key words: biosphere, humid zone, self-purification power, microbial pollution, Gram negative bacteria, enteric bacteria, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, bactericide power, *Bdellovibrio bacteriovorus*.

ملخص

الماء هو العنصر الغالب المكون للمحيط الحيوي، لكن لسوء الحظ فهو عادة ما يشكل منفذاً لمختلف نفايات الإنسان. بالواقع، فإن الثبات البيولوجي للمياه السطحية تركز على خاصية مميزة للماء تدعى قدرة التصفية الذاتية. إن الدراسة التي أجريت على مستوى "المنطقة الرطبة" بحيرة القنار بجيجل تهدف إلى تحديد هذه القدرة على التصفية الذاتية. بعد تعداد البكتيريا المتواجدة بالماء، أتضح أن هذا الماء يعاني من تلوث بكتيري كبير، أيضاً فإن عملية البحث عن البكتيريا بينت هيمنة البكتيريا غرام سالب وكذا تواجد بكتيريا ضارة متشكلة خصوصاً من بكتيريا معوية مثل إشريشيا كولي، أونترو باكتر أغلومرنس، كليسيالا أوكستوكا وكذا جرثوم أخرى غير البكتيريا المعوية مثل ستافيلو كوكس أوريس. إن الدراسة المجراة بالمخبر لمختلف العينات المأخوذة من مختلف المحطات الثلاث تبين أن هذا الماء يتمتع بقدرة ذاتية طبيعية هامة في قتل البكتيريا. إن المحاولة المتعلقة بعزل البكتيريا المفترسة بواسطة تقنية الطبقة المضاعفة أدت إلى عزل بديلو فيريو بكتيريو فوريس. من أجل التحقق من دور هذه البكتيريا المجهرية، قمنا بمتابعة البكتيريا الأكثر تواجداً بماء البحيرة والباقية على قيد الحياة في حضور ثلاث بقع تحليلية لبديلو فيريو بكتيريو فوريس. إن المعالجة بواسطة بديلو فيريو بكتيريو فوريس بينت فعلها التحليلي البكتيري الهام جداً من خلال التقليل الجذري للمعبر لخلايا إشريشيا كولي، أونترو باكتر أغلومرنس، وبصفة ثانوية خلايا كليسيالا أوكستوكا، لكن تحديداً الخلايا لم تكن كلية.

الكلمات المفتاح: المحيط الحيوي، المنطقة الرطبة، القدرة على التصفية الذاتية، تلوث بكتيري، البكتيريا غرام سالب، بكتيريا معوية، إشريشيا كولي، أونترو باكتر أغلومرنس، كليسيالا أوكستوكا، ستافيلو كوكس أوريس، القدرة ذاتية على قتل البكتيريا، بديلو فيريو بكتيريو فوريس.