



Cit this: *JOWSET*, 2020 (04), N° 02, 507-512

Evaluation of the Bacteriological pollution of the Mazafran Wadi Waters and Study of the Resistance Profile of *Escherichia Coli*

Hamaidi-Chergui Fella¹, Kouba Raihana¹, Ouahchia Célia^{1*} and Demiai Afafe¹

^[1] Laboratoire de Biotechnologies, Environnement et Santé. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département BPC. Université Blida 1.

*Corresponding Author: e-mail: ouahchiacelia@yahoo.fr

In order to assess the state of pollution of the Mazafran wadi, a bacteriological study was conducted on water. Samples are taken at three stations, with a particular interest of studying the resistance profile of *Escherichia coli*. The results showed the prevalence of total and fecal coliforms. The antibiotic resistance of 18 strains of *Escherichia coli* has shown that there is a very low resistance against antibiotics.

It was inferred that the Mazafran wadi is polluted and its aquatic biota is bacteriologically contaminated and unsafe for human and animal consumption.

Received: 03 December 2018

Accepted: 24 February 2020

Available online: 24 February 2020

Keywords:

Oued Mazafran
bacteriological analysis
Escherichia coli
antibiotic resistance

Introduction

Par suite de l'accroissement de la population, les déchets de l'activité humaine sont de plus en plus abondants et ce sont malheureusement les milieux aquatiques tels que les oueds et les rivages marins qui en sont les lieux de décharge. Ainsi, ces milieux reçoivent quotidiennement des rejets domestiques et industriels et sont par conséquent transformés en des sites de concentration de la pollution aussi bien chimique que biologique [1].

Selon Wenzel et Edmond [2], la présence de micro-organismes pathogènes entériques dans les milieux aquatiques peut être une source de maladie lorsque l'eau est utilisée pour boire, pour des activités récréatives ou pour l'irrigation. Le risque sanitaire est augmenté si les bactéries entériques pathogènes présentes dans les eaux sont résistantes aux antibiotiques car les infections humaines causées par ces bactéries pourraient être difficiles à traiter avec des médicaments.

Dans le but d'évaluer l'état de pollution de l'oued Mazafran, une étude bactériologique a été menée sur des échantillons d'eau prélevés au niveau de trois stations, avec un intérêt particulier pour l'étude du profil de résistance d'*Escherichia coli* sur une période s'étalant du mois de Janvier jusqu'au mois de Juin 2015.

Matériel et méthodes

Cadre d'étude

Le cours d'eau Mazafran, est un oued appartenant au réseau hydrographique de la plaine de la Mitidja. Il prend naissance à la confluence des oueds Chiffa, Djer et Bou Roumi, traverse le massif du Sahel et de la plaine de la Mitidja avant de se jeter dans la Méditerranée, au Nord-Est de Koléa, au lieu-dit Douaouda (Figure 1). Cet écosystème aquatique est sérieusement menacé dans son existence. En effet il reçoit de multiples rejets de polluants de toutes sortes (industriels, urbains et agricoles) provenant des agglomérations urbaines : Chiffa, Attatba, Berbessa, Oued El-Alleug et Koléa.

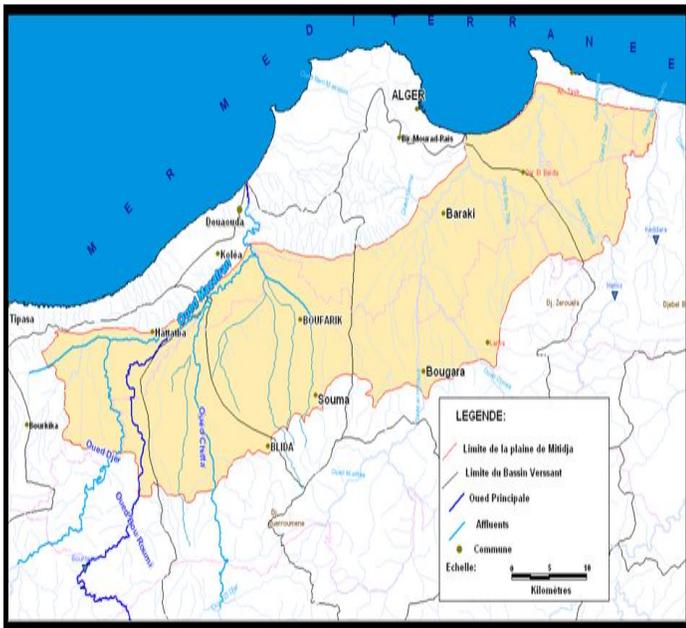


Fig. 1 : Situation géographique de la zone d'étude (ANRH, 2015).

Cette étude est réalisée sur une période de six mois de Janvier 2015 à Juin 2015 à raison d'un prélèvement par mois, et a porté sur la caractérisation de la qualité bactériologique des échantillons d'eau provenant de trois stations situées tout le long de l'Oued Mazafran (en amont S1, au milieu S2 et en aval S3) (Figures 2 et 3).

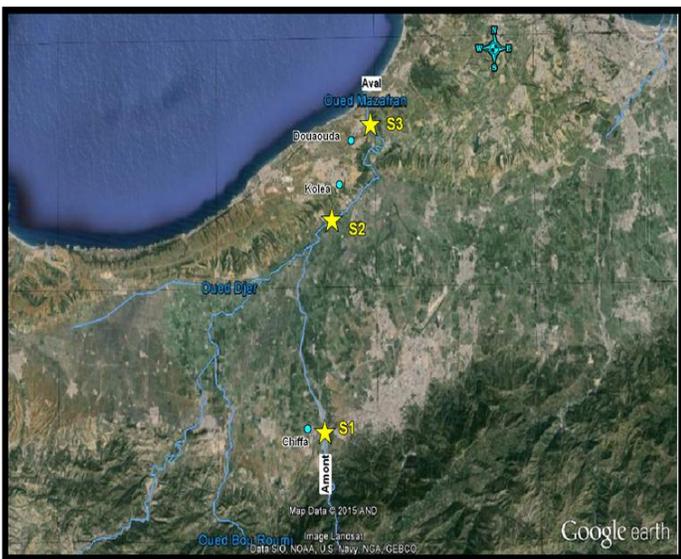


Fig. 2 : Situation géographique des stations au niveau de l'Oued Mazafran (Google Earth)



Fig.3 : Oued Mazafran (Station 1 (S1) «Chiffa», Station 2 (S2) «Koléa» et Station 3 (S3) «Douaouda»)

Colimétrie par filtration sur membrane

La filtration sur membrane permet de compter les coliformes en faisant passer à travers un filtre à pores suffisamment petits ($0,45 \mu\text{m}$) un volume connu d'échantillon d'eaux (ou d'une dilution de cet échantillon). Ce filtre est ensuite placé sur un tampon absorbant saturé d'un milieu de culture (gélose au Tergitol). Le dénombrement d'*Escherichia coli* a été réalisé par la méthode Colilert-18. Ce test est basé sur la combinaison de substrats chromogénique et fluorogénique qui permet la détection de la quantité totale de coliformes et la présence d'*E. coli*.

Le dénombrement des Entérocoques a été réalisé par la méthode alternative IDEXX / Entérolert-E.

Recherche et dénombrement des spores *Clostridium sulfito-réducteurs* (ASR)

La recherche de *Clostridium Sulfito réducteurs* est basée sur la recherche des formes sporulées. Pour cela, on détruit les formes végétatives par chauffage puis on refroidit rapidement. L'incubation se fait sur gélose viande foie additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et de sulfite de sodium.

Recherche de Salmonelles

La recherche des salmonelles s'effectue en 4 étapes par enrichissement sur milieu SFB puis isolement sur gélose Hektoen. Les boîtes de gélose Hektoen subiront une lecture qui se limite à la présence ou l'absence de colonies spécifiques.

Recherche des vibrions cholériques

La recherche des vibrions cholériques s'effectue en 3 étapes par enrichissement sur milieu EPA (eau peptonée alcaline) puis isolement sur gélose GNA. La lecture se limite à la présence ou l'absence de colonies spécifiques.

La recherche des microorganismes est résumée dans le tableau suivant :

Tab 1 : Dénombrement des germes

| Germes | Milieux et méthodes utilisés | Température et temps d'incubation |
|---|---|-----------------------------------|
| Coliformes Totaux(CT) | Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7 | 37°C/24h |
| Coliformes Fécaux (CF) | Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7 | 44°C/24h |
| <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) | Méthode Colilert-18 | 36°C ± 2 /18 h ± 4 |
| Streptocoques Fécaux (SF) | Méthode Entérolert-E | 36°C ± 2 /18 h ± 4 |
| <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> (ASR) | Gélose viande foie additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et de sulfite de sodium. | 37°C/24 h et 48 h |
| Salmonella | Enrichissement sur milieu SFB puis isolement sur gélose Hektoen. | 37°C/24 h |
| Vibron cholérique | Milieu eau peptonée alcalin (EPA) et le repiquage sur milieu GNAB (gélose nutritive alcaline biliée). | 37°C/ 24 h. |

Antibiorésistance d'*Escherichia coli*

L'examen bactériologique de quelques souches d'*Escherichia coli* isolées des eaux de l'oued Mazafran a permis l'isolement, la purification sur milieu Hektoen, l'identification biochimique par la mini-galerie classique de cette bactérie. Pour l'étude de l'antibiorésistance, la méthode la plus employée est celle de la diffusion Mueller Hinton. Le résultat de l'antibiogramme indique si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés. La BLSE se traduit le plus souvent par une image de synergie (bouchon de champagne) entre un disque de céphalosporine de troisième génération, et un disque d'amoxicilline + ac.clavulanique. La sécrétion de BLSE

sera suspectée devant toute diminution de diamètre d'inhibition autour des céphalosporines C3G : CTX < ou = 27mm, CAZ < ou = 22mm, CRO < ou = 25mm, AMC < ou = 27mm.

Résultats et discussion

Les eaux de l'Oued Mazafran sont caractérisées par une présence importante en coliformes totaux comprise entre 5500 et 45500 UFC/100 ml dans la station 1 et entre 4200 et 38000 UFC/100 ml dans la station 2. Dans la station 3, leur nombre est compris entre 5000 et 47000 UFC/100 (Figure 4). Ces teneurs élevées restent inférieures aux normes fixées par le JORA (2011, 1992) [3,4] < 50000 UFC/100ml.

Les concentrations en CF des eaux de l'oued Mazafran sont importantes. Elles oscillent entre 900 et 7500 UFC/100 ml dans la station 1 et entre 1100 et 8500 UFC/100 ml dans la station 2. Dans la station 3, leur nombre est compris entre 1500 et 9500 UFC/100. Ces valeurs restent conformes aux normes des eaux de surface fixées par le JORA [3,4] < 20000 UFC/100ml.

Les concentrations des Streptocoques fécaux sont moins importantes que celles notées pour les coliformes totaux et fécaux. Les valeurs varient entre 1010 et 7215 UFC/100 ml dans la station 1, entre 775 et 6585 UFC/100 ml pour la station 2 et entre 1210 et 8297 UFC/100 dans la station 3 (Figure 5).

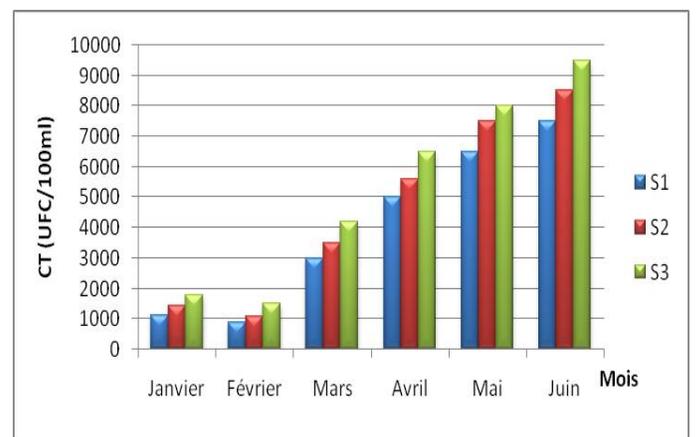
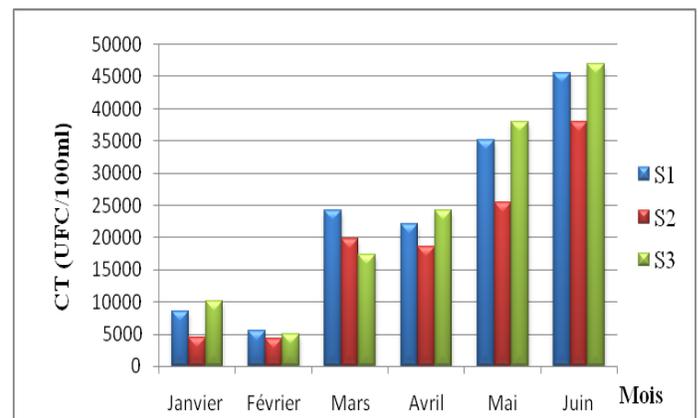


Fig.4 : Variation mensuelle des coliformes totaux (CT) et Coliformes fécaux (CF)

Ces valeurs restent conformes aux normes des eaux de surface fixées par le JORA [3,4] <10000 UFC/100ml. Toutefois, les stations présentent des concentrations plus importantes pendant les derniers mois où une diminution du débit d'eau a été constatée au cours de nos sorties sur terrain.

Les résultats de la recherche et du dénombrement des ASR ont montré que le nombre de spores dans les eaux de l'oued oscillent entre 20 et 560 spores/20 ml dans la station 1 et entre 30 et 620 spores/20 ml dans la station 2. Dans la station 3, les valeurs sont comprises entre 60 et 850 spores/20 ml (figure 5). Ces valeurs sont nettement supérieures aux normes des eaux de surface fixées par le JORA [3,4] qui est de 0 spores/20ml.

Les concentrations élevées en ASR durant la période pluviale et leur chute en période sèche sont dues aux eaux de ruissellement qui mobilisent les dépôts sur les sols et peuvent aussi être à l'origine d'un phénomène de lessivage [5] [6].

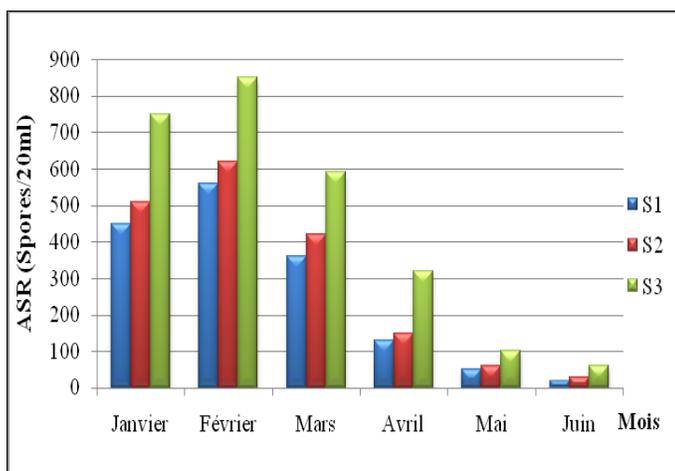
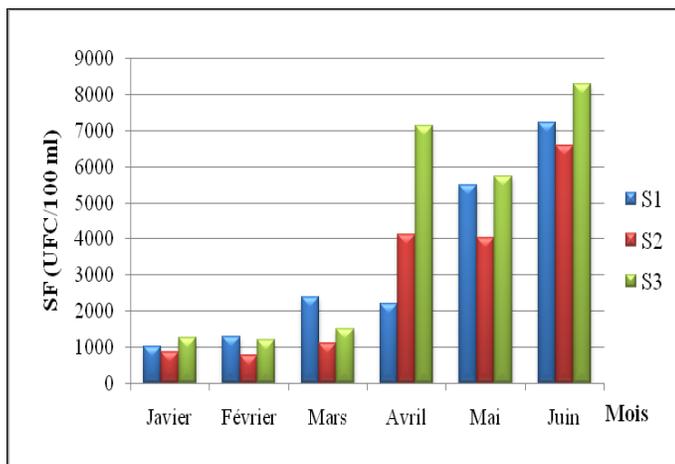


Fig.5 : Variation mensuelle des Streptocoques fécaux (SF) et ASR

Durant cette étude, aucun prélèvement ne s'est révélé positif ni pour les bactéries du genre *Salmonella* ni pour l'espèce

Vibrio cholerae. Selon ABOULKACEM et al., [7], ceci peut être expliqué soit par l'absence des porteurs asymptomatiques dans la population habitante dans cette région, soit par la difficulté de recherche de ces germes du fait que leur nombre est très faible par rapport aux germes banals.

Les eaux de l'Oued Mazafran sont caractérisées par une présence importante en coliformes totaux et fécaux. La charge bactérienne est due à l'enrichissement des eaux par la matière organique, à l'abondance de l'oxygène dissous et à la température modérée qui rendent le milieu favorable au développement bactérien [8].

Les plus fortes concentrations sont obtenues à partir du mois de Mars. Ce qui pourrait être expliqué par l'augmentation de la température et la durée de l'ensoleillement. Ces facteurs favorisent la multiplication des bactéries et leurs enrichissements par les phénomènes physiques adsorption, activation biologique, dilution, dispersion et sédimentation [5].

Ils sont peu ou pas pathogènes, sont révélateurs de contamination fécale et entraînent par leur abondance la présomption de contamination plus dangereuse [9]. Les figures suivantes montrent que les CF sont supérieures aux SF car les CF sont influencées par les facteurs abiotiques.

Le suivi de l'analyse des paramètres biologiques a fait l'objet d'un traitement de données par l'établissement d'une carte de contamination fécale des eaux naturelles de la région, qui nous renseigne sur l'influence des rejets et la qualité des eaux par le biais d'un indice de qualité microbiologique (IQM) qui se calcule selon la méthode de Bovesse et Depelchin [10]. Les résultats sont consignés dans le Tableau 2.

Tab. 2 : Grille de qualité IQM

| Classe n° | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
|--------------------------|---------|-----------|-------------------------------------|--------------|-------------|
| CT/mL | <2000 | 2000-9000 | 9000-45000 | 45000-360000 | >360000 |
| CF/mL | <100 | 100-500 | 500-2500 | 2500-20000 | >20000 |
| SF/MI | <5 | 5-10 | 10-50 | 50-500 | >500 |
| IQM | 4,3-5,0 | 3,5-4,2 | 2,7-3,4 | 1,9-2,6 | 1,0-1,8 |
| Contamination fécale | Nulle | Faible | Modérée | Elevée | Très élevée |
| Résultats de cette étude | | | Station 1 Station 2 Station 3 | | |

La détermination de l'origine de la contamination fécale selon les critères définis par Borrego et Romero [11], la contamination est d'origine animale si le rapport (R) coliformes fécaux (CF)/ streptocoques fécaux (SF) est inférieur à 0,7, et d'origine humaine si ce rapport est supérieur à 4. L'origine de la contamination est mixte à prédominance animale si R est compris entre 0,7 et 1. Cette origine est incertaine si R est compris entre 1 et 2. L'origine de la

contamination est mixte à prédominance humaine si R se situe entre 2 et 4.

Au cours de la période d'étude, la variation spatiotemporelle du rapport coliformes fécaux sur streptocoques fécaux au niveau de la surface des eaux de l'oued a montré que :

Au mois de Janvier : la contamination est d'origine incertaine dans les trois stations. Au mois de Février, la contamination est mixte à prédominance animale à la S1 et d'origine incertaine aux stations 2 et 3. Au mois de Mars, la contamination est d'origine incertaine à la S1 et une contamination mixte à prédominance humaine aux stations S2 et S3. Au mois d'Avril, la contamination est mixte à prédominance humaine à la station S1 et mixte à prédominance animale dans la station 3. Du mois de Mai au mois de Juin, la contamination est d'origine incertaine aux trois stations (Tab.3).

Tab.3. Origine de la pollution selon le rapport coliforme fécaux/streptocoques fécaux (CF/SF)

| Date de prélèvement | S1 R= CF/SF | Origine de la contamination | S2 R= CF/SF | Origine de la contamination | S3 R= CF/SF | Origine de la contamination |
|---------------------|-------------------|--|----------------|--|-------------------|--|
| 10/01/2015 | 1,10 | Origine incertaine | 1,65 | Origine incertaine | 1,43 | Origine incertaine |
| 14/02/2015 | 0,70 | Contamination est mixte à prédominance animale | 1,41 | Origine incertaine | 1,23 | Origine incertaine |
| 14/03/2015 | 1,26 | Origine incertaine | 3,18 | Contamination est mixte à prédominance humaine | 2,78 | Contamination est mixte à prédominance humaine |
| 14/04/2015 | 2,27 | Contamination est mixte à prédominance humaine | 1,35 | Origine incertaine | 0,91 | Contamination est mixte à prédominance animale |
| 10/05/2015 | 1,18 | Origine incertaine | 1,85 | Origine incertaine | 1,39 | Origine incertaine |
| 10/06/2015 | 1,03 | Origine incertaine | 1,29 | Origine incertaine | 1,14 | Origine incertaine |

La quantification de la flore de contamination fécale a permis de suivre l'évolution du rapport (R) au niveau des eaux des trois stations étudiées. Globalement, les valeurs trouvées oscillent entre 0,70 et 3,18 indiquant que la pollution est d'origine parfois incertaine, parfois mixte à prédominance animale ceci peut être expliqué par la présence d'engrais phytosanitaires d'origine animal qu'utilise les agriculteurs sans compter le phénomène de lessivage des sols apporté par les fortes précipitations pendant la saison d'hiver ou mixte à prédominance humaine due à l'urbanisation de la région, ce qui fait qu'il y a des rejets domestiques.

La contamination de ce milieu par la pollution fécale ne peut qu'accentuer le risque sanitaire lié à ces germes. En effet, plusieurs auteurs ont démontré la capacité de multiplication de ces germes en présence de la matière organique. Suite à cela l'utilisation de ces eaux doit être effectuée avec beaucoup de précaution.

Sur les 25 isolats recueillis, 18 isolats se sont révélés des *E. coli* (72%) et 2 autres genres appartiennent aux coliformes fécaux, il s'agit d'*Enterobacter* et de *Klebsiella* (28%) (Figure 6).

Nous avons noté que les 18 souches d'*E. coli* isolées sont très sensibles (100%) vis-à-vis des antibiotiques suivants : Amikacine (AK 30), Céfotaxime (CTX 30), Céfoxitine (FOX 30), et Impipénème (IMP 10). Un faible taux de résistance de 5,55 % est observé vis-à-vis de la Céfalotine (CZN 30) et 11,11 % vis à vis de la Ciprofloxacine (CIP 5) et du Chloramphénicol (CHL 30).

Un pourcentage de résistance plus au moins élevée est obtenu vis à vis de la Colistine (CL 25) (44,44 %), Amoxicilline + Acide Clavulanique (AMC 20/10) et Ampicilline /Amoxicilline (AMP 10) (39,88 %) par rapport aux autres antibiotiques (Figure 7). Aucune souche n'a montré une image de synergie traduisant ainsi une BLSE négative (BLSE⁻).

L'absence de souches résistantes dans cette d'étude peut être expliquée par l'absence totale de rejets d'effluents des eaux usées hospitaliers dans l'oued qui sont l'une des sources de contamination en antibiotiques et en bactéries fécales résistantes. La zone est également pauvre en industries pharmaceutiques responsables de rejets de nombreux antibiotiques dans les cours d'eau récepteur. En effet, selon Larsson et *al.*, [12] et Kummerer [13], les sources d'antibiotiques et autres agents antimicrobiens dans l'environnement sont les eaux usées humaines (principalement les effluents hospitaliers), l'élevage intensif, et les déchets de la fabrication de produits pharmaceutiques.

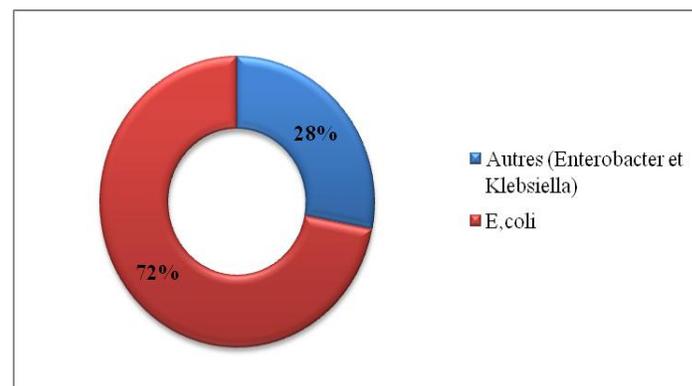


Fig.6 : Répartition d'*E. coli*

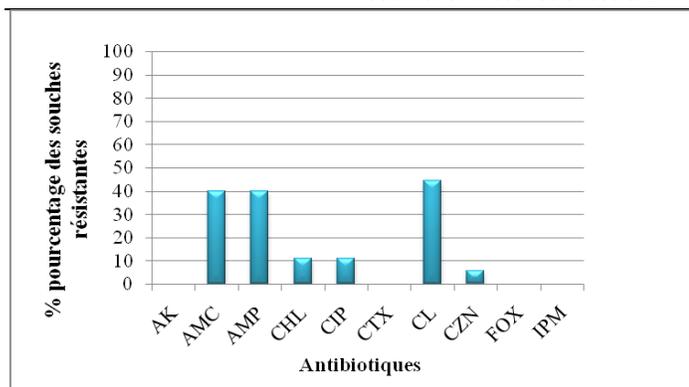


Fig.7 : Prévalence de la résistance

Conclusion

Les eaux de l'oued Mazafran présentent des signes de dégradation dues notamment aux agglomérations urbaines qui génèrent des quantités importantes d'eaux usées rejetées sans aucun traitement préalable et des déchets solides qui sont éparpillés sur les rives de l'oued. L'étude de l'antibiorésistance de 18 souches d'*Escherichia coli* a permis de montrer l'existence d'une très faible résistance vis-à-vis des antibiotiques.

Du point de vue nature de germes isolés et quantités de microorganismes, nous pouvons conclure que l'eau de cet oued est polluée. Ce qui peut engendrer des nuisances importantes que ce soit pour l'irrigation, pour la production d'eau potable ou pour les baigneurs de la plage Colonel Abbes située à Douaouda qui est très fréquentée.

Références

1. M J. Hammer, Water and Wastewater Technology. 5th ed. Practice-Hall Inc., Upper Saddle River, NJ, USA. **2004**, 139.
2. R P. Wenzel, MB Edmond.. Managing antibiotic resistance. Journal of Medicine, **2009**, 343, 196.
3. JORA, Décret exécutif n° 11-219 du 10 Rajab 1432 correspondant au 12 juin **2011** fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations, **2011**.
4. JORA, Journal Officielle de la République Algérienne, Décret exécutif n° 92-434 du 30 novembre 1992 gestion et distribution de l'eau potable, **1992**.
5. J Rodier, C Bazin, J.P Broutin, P Chambon, H Champsaur, L Rodier, L'Analyse de l'Eau, Eaux Naturelles, Eaux Résiduaires, Eaux de Mer (8th edn). Dunod : Paris, **1996**, 1384.

6. J Rodier, B Legube, N Merlet, R Brunet, L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8ème édition. Paris : DUNOD. **2005**, 1383.
7. A Aboukacem, A Chahlaoui, A Soulaymani, F Rhazi-Filali, D Benali, Etude comparative de la qualité bactériologique des eaux des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès (Maroc), Remise, **2007**, 1, 1, 10.
8. J Sevrin Reyssac, J De La Noue, D Proulx, Le recyclage du lisier de porc par lagunage. Edition Technique et Documentation Lavoisier, **1995**, 118.
9. A Kacar, Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. Ecological Indicators, **2011**, 11, 1360-1365.
10. M Bovesse, A Depelchin, Cartographie de la pollution des cours d'eau de la province de Namur: analyses bactériologiques. Rapport final (janvier 1979-janvier 1980), **1980**, 25
11. A.F Borrego, P Romero, Study of microbiological pollution of malaga littoral area II, Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci, VIème journée études. Pollution Cannes. **1982**, 561.
12. D.G.J Larsson, C De Pedro, N Paxeus, Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. Journal of Hazardous Materials. **2007**, 148, 751.
13. K Kummerer, Resistance in the environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. **2004**, 54, 311.