

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Année Académique

2021-2022

Numéro d'ordre :

057/2022...

MEMOIRE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

MASTER

BIOTECHNOLOGIE AGROALIMENTAIRE et BIOSECURITE ALIMENTAIRE

Option : BIOSECURITE ALIMENTAIRE

Par

ABOZUE Ariane Corine N'dri

Thème :

Isolement et caractérisation phénotypique des microorganismes totaux de l'eau et du sol du site d'orpillage de Kokumbo (Centre de la Côte d'Ivoire)

Soutenue, le 24 Septembre 2022

Jury :

M. KONE Tidiani,	Professeur Titulaire,	UJLoG, Président
M. KONATE Ibrahim,	Professeur Titulaire,	UJLoG, Directeur Scientifique
M. KOUASSI Kra Athanase,	Maître-Assistant,	UJLoG, Encadreur
M. AKRE Djako Sosthène Thierry,	Maître-Assistant,	UJLoG, Examineur

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à :

Mon très cher père KOFFI Abozué ;

Ma très chère mère KONAN Adjoua Jeannette.

REMERCIEMENTS

Les remerciements sont le moyen de montrer qu'un mémoire de master est le résultat d'un travail d'équipe qui aboutit, uniquement, parce qu'un grand nombre de personnes y ont contribué. C'est pourquoi, au terme de ce travail de mémoire, il me plait de témoigner ma reconnaissance aux personnes qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à sa réalisation. Le présent travail a été réalisé au sein de l'Université Jean Lorougnon GUEDE (Daloa). Ce manuscrit n'aurait pas été possible sans l'aide, l'encadrement, le soutien d'un nombre de personnes que je voudrais remercier. Je voudrais traduire mon infinie gratitude.

Tout particulièrement :

A l'éternel Dieu, omniscient, omnipotent pour sa bonté infinie, tu as toujours été omniprésent dans ma vie. Honneur, gloire et magnificence à toi qui m'illumine à chaque instant.

C'est avec un réel plaisir que j'exprime mon remerciement au :

- Professeur TIDOU Abiba Sanogo Epouse KONE, Présidente de l'Université Jean Lorougnon GUEDE (UJLoG) pour avoir accepté mon inscription en Master au sein de l'Université qu'elle préside ;
- Professeur KONE Tidiani, Vice President de l'Université Jean Lorougnon GUEDE (UJLoG) , pour l'intérêt qu'il accorde à la recherche scientifique et tous les efforts qu'il fait quotidiennement en vue de la bonne marche de l'institution ;
- Docteur TONESSIA Dolou Charlotte, Directrice de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) en Agroforesterie, pour la gestion de ladite UFR ;
- Docteurs ANGAMAN Djédoux Maxime et DIOMANDE Massé, respectivement Responsables de la filière et du Parcours Biotechnologie Agroalimentaire-Biosécurité Alimentaire. Je vous exprime toute ma reconnaissance et ma gratitude pour votre disponibilité, votre rigueur et votre grand dévouement à l'exécution des tâches qui vous sont confiées ;
- Professeur KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire pour avoir accepté la direction scientifique de mes travaux de Master. En me proposant ce thème, vous m'avez fait confiance. Malgré vos diverses occupations, vous avez été toujours disponible pour partager avec moi votre expérience, vos conseils, vos encouragements. Que grandissent la volonté et le pouvoir d'aider, avec rigueur, dans l'honnêteté, dont vous faites preuve. Soyez assurée de ma profonde gratitude ;

- Mes vifs remerciements également aux membres du jury, en particulier, Professeur KONE Tidiani et Docteur AKRE Djako Sosthène Thierry, respectivement Président et Examineur de ce document. Veuillez trouver ici l'assurance de ma sincère gratitude.

J'exprime toute ma profonde gratitude au Docteur KOUASSI Kra Athanase, Maître-Assistant à l'Université Jean Lorougnon GUEDE de Daloa, Encadreur de ce mémoire. Son soutien permanent, ses précieux conseils et ses efforts qu'il a consentis tout au long de notre rencontre m'ont permis d'achever ce mémoire. Ses charges académiques n'ont empêché ni amoindri son implication aussi bien dans la conception, le suivi et la correction de ce travail.

L'ensemble des enseignants de la filière « Biotechnologie Agroalimentaire et Biosécurité Alimentaire » à qui j'ai la plus grande gratitude, qui m'ont enseigné avec talent. Ils m'ont coachée avec tendresse et intelligence, je dis un grand merci pour ces différents enseignements.

L'ensemble des étudiants de Master 2 de la filière « Biotechnologie Agroalimentaire et Biosécurité Alimentaire » avec qui je garde un excellent souvenir de la parfaite collaboration et des échanges fructueux pendant ces moments vécus.

Toute ma reconnaissance à mon fiancé MAWUSSI Christophe et ABOZUE Aude à mes Aînés Doctorants KONAN Ahossi et KOUADIO Bertin, dont le soutien fut sans faille. Je remercie tous mes amis et amies des communautés rurales qui m'ont accueillie de bon cœur. Une mention toute particulière à mes frères, sœurs, amis et connaissances dont le sourire et la détermination ont nourri mon espoir. Ma seule ambition est que ce travail rende service et contribue à mettre en échec maladies et souffrances. Pour un avenir plus heureux et plus doux, dans le respect de la dignité de chacun.

Au risque d'oublier des noms, que tous et toutes reçoivent ma sincère gratitude. A vous dont les noms ont été omis par inadvertance et qui avez contribué à la réalisation de ce mémoire et à ma formation, que vous trouvez ici l'expression de ma profonde et infinie gratitude.

TABLE DES MATIERES

	Pages
DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
INTRODUCTION.....	1
1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE.....	3
2. ORPAILLAGE	4
2.1. Définition	4
2.2. Pratique de l'orpaillage	5
2.2.1. Extraction, Concassage et Broyage	5
2.2.2. Concentration et Amalgamation	5
2.2.3. Chauffage, Raffinage et fusion.....	5
2.3. Conséquences de l'orpaillage.....	6
2.3.1. Conséquences sur l'environnement	6
2.3.2. Conséquences sur la santé.....	7
2.4. Relation orpaillage et bio sécurité alimentaire	9
2.4.1. Situation actuelle des exploitations agricoles.....	9
2.4.2. Techniques d'exploitation nuisibles à l'agriculture.....	10
2.4.3. Indisponibilité des denrées alimentaires	11
3. MICROORGANISMES DU SOL ET DE L'EAU.....	12
3.1. Diversité des micro-organismes du sol.....	12
3.1.1. Bactéries.....	12
3.1.1.1. Pseudomonas	13
3.1.1.2. Bacillus	13
3.1.1.3. Clostridium	13

3.1.1.4. Staphylococcus	14
3.1.2. Champignons.....	14
3.1.3. Rôle des microorganismes dans le sol	15
3.1.4. Corrélation sol microorganisme	15
3.2. Diversité des microorganismes de l'eau	16
3.2.1. Genre Pseudomonas.....	16
3.2.2. Escherichia coli	16
3.2.3. Genre Bacillus	17
3.3. Corrélation eau microorganismes	17
1. MATERIEL.....	19
1.1. Matériel biologique.....	19
1.2. Matériel technique	19
1.2.1. Appareillage	19
1.2.2. Consommable	19
1.2.3. Milieux de culture.....	20
2. METHODES	20
2.1. Échantillonnage	20
2.1.1. Choix du site d'échantillonnage	20
2.1.2. Taille et répartition des échantillonnages.....	21
2.1.3. Prélèvement et transport des sols.....	21
2.2. Techniques d'analyse microbiologique	21
2.2.1. Préparation des milieux de culture	21
2.2.2. Préparation de la suspension mère et des dilution décimales.....	21
2.2.2.1. Préparation de la suspension mère	21
2.2.2.2. Réalisation des dilutions décimales	22
2.2.3. Ensemencement, incubation et dénombrement	22
2.3. Expression des résultats du dénombrement	23

2.4.	Isolement des microorganismes.....	23
2.5.	Purification et conservation des souches.....	23
2.6.	Caractérisation phénotypique des souches.....	24
2.6.1.	Caractérisations macroscopiques.....	24
2.6.2.	Caractérisation microscopique des souches	24
2.6.2.1.	Test oxydase	24
2.6.2.2.	Test catalase	24
2.6.2.3.	Coloration de Gram.....	25
2.6.3.	Caractérisation des isolats non-entérobactéries.....	25
2.6.4.	Identification biochimique des isolats présumés E. coli.....	25
2.6.4.1.	Mise en évidence de l'uréase (Gallaud 2012)	26
2.6.4.2.	Mise en évidence de la production d'indole	26
2.6.4.3.	Test de mobilité sur le milieu Mannitol Mobilité Nitrate.....	26
2.6.4.4.	Test à Lysine Fer	26
2.6.4.5.	Utilisation du Citrate comme seule source de carbone	27
2.6.4.6.	Recherche de la β -galactosidase (ONPG)	27
1.	RÉSULTATS	28
1.1.	Evaluation des charges microbiennes issues des sols contaminés par les résidus de l'activité minière	28
1.2.	Analyse macroscopique des colonies dénombrées sur les différents milieux de culture.....	29
1.3.	Isolats issus de résidus de cyanuration, du sol et des minerais après observation microscopique	31
1.4.	Caractères biochimiques des isolats présumptifs de E. coli issus du lac Balo	33
1.5.	Caractères biochimiques des isolats présumptifs de E. coli issus des résidus de cyanuration, du sol et des minerais	35
1.6.	Prévalence des isolats identifiés par le portoir réduit de Leminor	37
1.6.1.	Prévalence des isolats identifiés du lac	37

1.6.2. Prévalence des isolats identifiés du sol et des résidus de cyanuration	37
2. DISCUSSION.....	38
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	41
REFERENCES.....	42

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS

BG-	: Bacille Gram négative
BG+	: Bacille Gram positive
C, N, P	: Carbone, Azote, Phosphore
Ca, P, K	: Calcium, Phosphore, Potassium
Cat	: catalase
EMA	: Exploitation Minière Artisanale
EPT	: Eau Peptonée Tamponnée (EPT)
GAM	: <i>Germes Aérobie Mésophile</i>
Ind	: Indole
ONPG	: Orthonitrophényl-B-D-Galacto-pyranosid
LDA	: Lysine désaminase
LDC	: Lysine décarboxylase
OIT	: Organisation Mondiale du travail
ONP	: Orthonitrophényl-
Oxyd	: Oxydase
pH	: Potentiel Hydrogène
PIB	: Produit Intérieur Brut
PNUE	: Programme des Nations Unies pour l'Environnement
SIDA	: Syndrome D'Immunodéficience Acquise
TSN	: Tryptone Sulfite Neomycine
UFC	: Unité Format Colonie
UFC/g	: Unité Formant Colonie
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
VRBG	: Violet Red Bile Glucose

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I: Attitudes des exploitants minier face à l'activité agricole.	9
Tableau II: Isolats conservés après purification.....	24
Tableau III: Quelques tests effectués sur les isolats non-entérobactéries	25
Tableau IV: Lecture de orthonitrophényl- β -D-galacto-pyranoside (ONPG)	27
Tableau V: Charge microbienne de microorganismes par gramme de sol.....	28
Tableau VI: Description macroscopique des colonies dénombrées sur milieux de culture	30
Tableau VII: Tests d'orientation de quelques germes isolés du sol et des résidus de cyanuration et minerais.....	32
Tableau VIII : Identification par le Portoir réduit de Leminor des isolats présumptifs de Escherichia coli et autre coliformes du lac Balo	34
Tableau IX : Identification par le Portoir réduit de Leminor des isolats présumptifs de Escherichia coli	36

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1: Localisation de la zone d'étude (Kouassi & Yapo,2021)	4
Figure 2: Vue aérienne d'un site d'orpaillage (Département Sûreté & Hué Bi, 2018).	7
Figure 3: Lavage du minerai et rejet de sédiments dans le Cavally sur un site d'orpaillage (Département Sûreté & Hué, 2018).....	7
Figure 4: Vue d'un site d'occupation des terres par l'activité de l'orpaillage (Konan, 2017) .	10
Figure 5: Schéma des étapes de l'exploitation aurifère traditionnelle	11
Figure 6: Séance de lavage du minerai, une activité réservée aux femmes	11
Figure 7: Echantillon de sol utilisé pour réaliser l'étude.....	19
Figure 8: Exemple de site de prélèvement des échantillons	21
Figure 9: Schéma de réalisation des dilutions décimales	22
Figure 10: Répartition des isolats issus du Lac	37
Figure 11: Répartition des isolats issus du sol et des résidus de cyanuration.....	37

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'activité minière de l'Afrique, qui concentre près de 30 % des réserves minérales mondiales, est un pilier de l'économie de nombreux pays africains avec des ressources extractives représentant plus d'un quart de leur Produit Intérieur Brut (PIB). Ces ressources sont en constante augmentation, et sont passées par exemple d'environ 39,2 milliards de dollars dans les années 2000 à près de 240 milliards de dollars en 2008 (PNUD, 2014). L'Afrique de l'Ouest, est également l'une des plus grandes provinces aurifères au niveau mondial, située en volume juste après la Chine, l'Australie et la Russie et pourrait, selon certains auteurs détenir jusqu'à 10 000 tonnes d'or (Goldfarb *et al.*, 2017). Les gisements d'or les plus importants sont situés au Ghana, au Mali, au Sénégal, au Burkina Faso, en Côte d'Ivoire et en Guinée (Goldfarb *et al.*, 2017). Avec la hausse continue du prix de l'or observée ces dernières années, de nombreux pays de l'Afrique de l'Ouest connaissent une ruée vers ce métal précieux, ce qui a contribué à l'ouverture de très nombreux sites d'exploitation artisanaux et industriels dans toute l'Afrique de l'Ouest. Selon l'Organisation Mondiale du travail (OIT), l'orpaillage pourrait fournir environ 10 millions d'emplois directs en Afrique subsaharienne (Hentschel *et al.*, 2002).

En Côte d'Ivoire, les revenus miniers sont en constante progression depuis plusieurs années, l'or représentent près de 1% du PIB, soit 14 % des recettes de l'état. Bien qu'assez récent en Côte d'Ivoire et encore très peu documenté, l'orpaillage prend de l'ampleur très rapidement et touche de nombreuses régions comme Poro et Bagoue au nord, Belier et Marahoué au centre ou Bounkani et Gontougo à l'est (PNUD, 2014).

L'exploitation artisanale de l'or, généralement illégale et souvent mal maîtrisée, a cependant, des conséquences souvent désastreuses sur l'environnement, la société et la santé (Niane *et al.*, 2019). Il entraîne en effet la pollution de l'environnement par l'utilisation de produits chimiques toxiques pour extraire l'or comme le mercure, le cyanure, ou des acides, etc. Cette activité entraîne également la remobilisation de métaux toxiques associés à l'or comme l'arsenic, le plomb ou le thallium, qui peuvent polluer les sols ainsi que les eaux de surface et les eaux souterraines (Adewumi *et al.*, 2020). Cette activité entraîne également la dégradation des paysages, la déforestation, la pollution des sols, l'obstruction des cours d'eaux, etc., limitant les usages agricoles des terres qui est souvent l'une des seules ressources des villages à proximité (Hentschel *et al.*, 2002). Par ailleurs, l'ouverture du site minier dans la localité de Kokumbo a favorisé un bouleversement de l'ancien système dans lequel la main d'œuvre familiale était à la disposition des chefs de famille. Elle leur échappe désormais se tournant de plus en plus vers l'exploitation aurifère qui tout en prenant de l'ampleur grignote les terres agricoles ((PNUD, 2014). Bien que ces milieux soient très hostiles en raison des conditions extrêmes de vie en

termes de pH et de concentration en métaux et métalloïdes toxiques, de nombreux microorganismes (Bactéries, Archaea et Eucaryotes), naturellement présents, sont capables de s'y développer (Baker & Bandfiel, 2003 ; Jonhson & Hallberg, 2003). Ces microorganismes, adaptés à ces environnements extrêmes, jouent un rôle essentiel car ils sont impliqués dans les mécanismes biogéochimiques contrôlant le comportement des métaux et métalloïdes.

L'objectif général de ce travail est d'étudier les communautés microbiennes présentes dans le sol et l'eau du site d'orpaillage de Kokumbo qui ont une activité de bio-remédiation propice pour une agriculture durable.

Les objectifs spécifiques sont :

- ✓ Isoler les microorganismes du sol et de l'eau issus du site aurifère artisanal de Kokumbo ;
- ✓ Identifier les microorganismes isolés des sols et de l'eau contaminés par les résidus miniers.

Outre l'introduction, la conclusion, les perspectives et les références, le présent mémoire est subdivisé en trois parties. La première partie présente les généralités sur l'orpaillage clandestin, et leur relation avec l'agriculture. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce manuscrit. La dernière partie présente les principaux résultats obtenus au cours de cette étude, suivie de la discussion.

Première partie : Généralités

1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

Située dans la région du bélier, au centre de la Côte d'Ivoire, la localité de Kokumbo appartient au département de Djékanou. Elle se localise entre les latitudes 6°19 'et 6°34'N et les longitudes 5°6' et 5°20'W et est le chef-lieu d'une sous-préfecture comprenant 5 villages : Kpléssou, Konankro, Kokumbo, Akroukro et Kimoukro. Sa superficie est de 330 km² et sa population est estimée à 24650 habitants. La région est située dans le climat baouléen. C'est un climat humide, commun à la zone forestière dense. Il se caractérise par deux saisons des pluies séparées par deux saisons sèches. Les précipitations sont en moyenne de 1092 mm par an. La principale saison des pluies est de mars à juin et la mineure de septembre à octobre. La grande saison sèche est de novembre à février et la petite de juillet à août. La température annuelle moyenne est d'environ 27 °C. Le relief est plus ou moins accidenté, avec des plaines et plateaux peu prononcés et appartenant à la "chaîne Baoulé". Il est dominé à l'Est par le mont Alebouma (449 m) et à l'Ouest par le mont Kokumbo (510 m). Le fleuve Bandama arrose l'Ouest de la sous-préfecture depuis le village de Kimoukro. Plusieurs petits affluents Bandama (Bronzoué, Kpléssou et Kpossou) existent dans la localité. Le sol de la région repose sur de vastes massifs granitiques, des roches métamorphiques et des schistes. Les roches rencontrées sont généralement constituées de granitoïdes, de roches vertes, de roches volcano-sédimentaires et de schistes. On rencontre deux types d'aquifères (altération et fractures). La ville située au pied du Mont Kokum, à 30 km de Toumodi et à une quarantaine de kilomètres de Yamoussoukro, possède d'énormes gisements d'or encore inexploités (Kouassi & Yapo, 2021) (Figure 1).

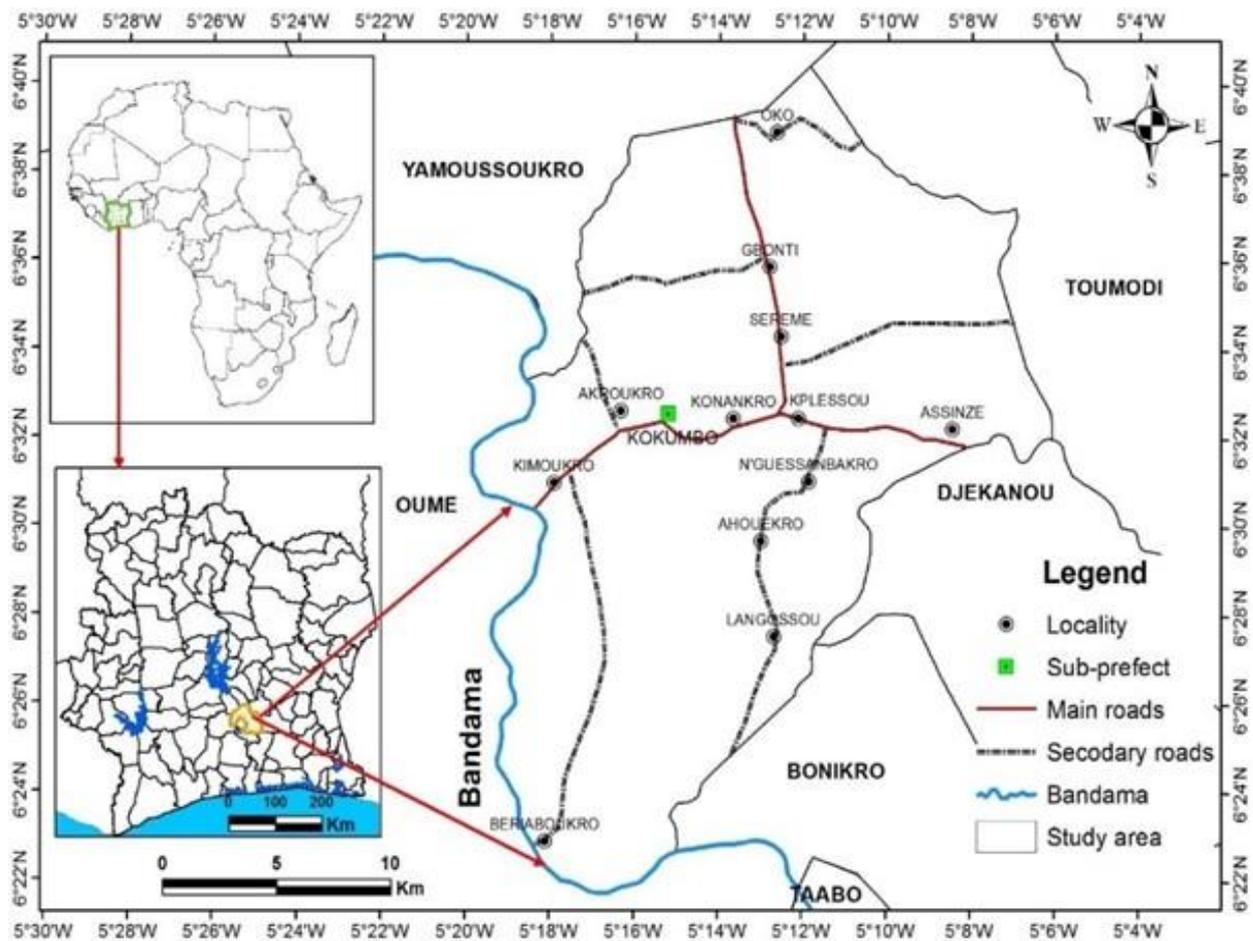


Figure 1: Localisation de la zone d'étude (Kouassi & Yapo, 2021)

2. ORPAILLAGE

2.1. Définition

L'exploitation minière artisanale et à petite échelle (EMA), aussi appelée orpillage, consiste en l'extraction du minerai d'or de façon artisanale, dans de petites opérations peu organisées ou mécanisées. L'EMA offre une source de revenus cruciale, particulièrement pour les communautés rurales de pays en voie de développement où les alternatives économiques sont souvent inexistantes ou extrêmement limitées. En général, ce secteur fonctionne de manière informelle ou même illégale, et n'est pas réglementé. Il est par contre très exigeant et demande beaucoup de main-d'œuvre. Le mercure est souvent utilisé dans les activités d'EMA, car son utilisation ne requiert que très peu de connaissance ou d'investissement en capital. De plus, le mercure est très facile à obtenir dans les sites d'orpillage. Malheureusement, cette situation, présente à travers le monde, rend l'EMA très nocive pour l'environnement. En 2012, le PNUE a estimé la présence de 10 à 15 millions d'orpilleurs répartis dans plus de 70 pays (Agbogidi & Ilondu, 2013). De ce nombre, environ 3 millions sont des femmes et des enfants. De plus,

80 à 100 millions de personnes dépendent indirectement de l'EMA comme moyen de subsistance. En Afrique subsaharienne, à part l'agriculture, l'EMA est l'activité économique rurale la plus importante. Au cours des dix (10) dernières années, le cours international de l'or a augmenté de plus de 300 %, soit de 400 USD \$. Cette augmentation du cours de l'or, atteignant plus de 1200\$ l'once, a contribué à la croissance rapide de l'EMA à l'échelle mondiale. Cette activité a la particularité d'impliquer une partie de la population active très pauvre vivant dans des zones rurales, peu éduquée et n'ayant souvent pas accès aux soins de santé primaires. Les orpailleurs choisissent de travailler dans le secteur pour plusieurs raisons (Grätz, 2009).

2.2. Pratique de l'orpaillage

Le procédé d'extraction du minerai le plus communément utilisé est présenté en détails ci-dessous (Grätz, 2009) :

2.2.1. Extraction, Concassage et Broyage

Le minerai contenant l'or est extrait de façon manuelle des puits et des tunnels souterrains dénommés galeries. Le minerai est concassé en gravier manuellement avec des marteaux ou à l'aide des moyens modernes telles des machines en occurrence des concasseurs à mâchoire. Le gravier est ensuite broyé en poudre fine soit par un broyeur utilisant une méthode humide avec de l'eau, soit par un broyeur à sec sans eau, ce qui génère de la poussière.

2.2.2. Concentration et Amalgamation

La poudre fine est ensuite lavée et tamisée à l'aide de slices et de batées afin d'éliminer certaines impuretés et aussi pour augmenter la concentration de l'or. Le mercure est ajouté au concentré afin d'extraire l'or par la formation d'un amalgame mercure-or (ratio de 1 :1 mercure-or) (Grätz, 2009).

2.2.3. Chauffage, Raffinage et fusion

L'amalgame est chauffé avec un chalumeau, souvent à air libre, ce qui cause l'évaporation du mercure et produit un or poreux, appelé or spongieux.

L'or spongieux est fondu à très haute température pour enlever certaines impuretés restantes, ce qui produit un or solide appelé doré, qui peut ensuite être raffiné à 24 carats dans les boutiques d'orfèvrerie (Grätz, 2009).

2.3. Conséquences de l'orpaillage

2.3.1. Conséquences sur l'environnement

L'orpaillage est une activité en plein essor en Côte d'Ivoire. Cependant au-delà de ces acquis, l'orpaillage est à l'origine de l'ensablement et du comblement des cours d'eau. L'exhaure des eaux gaspille d'importantes réserves d'eau souterraines sans aucune notion de préservation. La destruction de la flore et le décapage qu'il engendre met en place des aires dénudées qui favorisent l'érosion hydrique provoquant une réduction de l'infiltration d'eau qui assure la recharge des réservoirs hydriques. Les besoins énormes en eau de l'orpaillage, la destruction des ressources en eaux douces (eaux souterraines) et la contamination au mercure (métal lourd) qui est le principal agent d'attaque chimique conduisent à une réflexion sur la question de la gestion de la vulnérabilité de l'eau dans un environnement où l'orpaillage est en plein essor (Kadio *et al.*, 2020).

L'orpaillage est à l'origine de nombreuses dégradations environnementales. Les principaux problèmes sont liés à la déforestation et la pollution des eaux et des sols. Les arbres sont coupés et les troncs utilisés à étayer les galeries. Les sols, quand ils ne sont pas directement touchés par l'exploitation minière, sont pollués durablement par le rejet de substances toxiques comme le mercure ou le cyanure. Il en va de même des nappes phréatiques situées à proximité des sites miniers et contaminées aux métaux lourds. La dimension la plus visible est la dégradation des sols due l'excavation des terres agricoles à la progression de l'activité d'orpaillage au détriment de l'agriculture (Bohbot, 2017) (Figure 2).

Les rejets sédimentaires dans le fleuve Cavally sur ce site d'orpaillage ont modifié la couleur de l'eau (couleur trouble). Cette pollution organique et chimique constitue une véritable menace pour la vie aquatique, d'autant plus que les acteurs n'hésitent pas souvent à recourir à des produits toxiques comme le mercure ou le cyanure lors de cette phase du processus d'orpaillage (Hue Bi *et al.*, 2020) (Figure 3).



Figure 2: Vue aérienne d'un site d'orpaillage (Département Sûreté & Hué Bi, 2018).



Figure 3: Lavage du minerai et rejet de sédiments dans le Cavally sur un site d'orpaillage (Département Sûreté & Hué, 2018).

2.3.2. Conséquences sur la santé

Bien que les pratiques varient à travers le monde, il est reconnu que l'exploitation minière artisanale (EMA) engendre fréquemment des problèmes environnementaux, sociaux et de santé. Parmi ces risques pour la santé, l'utilisation généralisée du mercure est le plus connu. Cependant, il existe plusieurs autres problèmes plus méconnus, voire même négligés, tels que l'exposition à la poussière de silice, la prévalence de maladies infectieuses telles que le VIH/SIDA, la malaria et la tuberculose, ainsi que le taux de blessures professionnelles. Cela s'explique en partie par la nature informelle du secteur de l'EMA, où les standards nationaux

de santé et sécurité professionnelles ne peuvent souvent pas être implémentés et où les accidents et les maladies ne sont souvent que peu signalés aux autorités. Le mercure est un liquide argenté qui provient naturellement de sources non-anthropiques telles que les éruptions volcaniques, la dégradation et l'érosion des sols et les incendies de forêt. Les sources anthropiques (synthétiques) sont aussi répandues. En voici certains exemples les produits dérivés d'industries tels que la production de ciment, les centrales de charbon et de combustibles fossiles ; l'utilisation intentionnelle dans l'EMA, l'exploitation minière d'argent et la fabrication de produits comme les thermomètres et les piles ; la pratique d'autres activités économiques telles que l'incinération de déchets, l'ensevelissement des déchets miniers, la crémation (Hilson, 2010). Le mercure est souvent utilisé dans l'EMA pour extraire l'or, faisant de ce secteur, la plus grande source d'émission et de demande mondiale de mercure. L'utilisation du mercure dans l'EMA répond à de multiples raisons : la rapidité et la facilité d'utilisation, l'absence d'équipement spécialisé ou de connaissance particulière requis, l'efficacité relative pour capturer l'or ainsi que la possibilité d'une utilisation indépendante. La principale voie d'exposition a lieu par l'inhalation de vapeurs de mercure lorsque l'amalgame, un mélange d'or et de mercure, est chauffé. Malheureusement, de nombreux mineurs ignorent les risques liés à l'exposition au mercure. L'intoxication au mercure peut mener à de nombreuses pathologies, y compris des troubles neurologiques, rénaux et respiratoires. Lorsque le mercure est utilisé à proximité de communautés, la population générale peut également être exposée. Le mercure est particulièrement nocif pour les enfants et le développement des fœtus (Gibb & Leary, 2014). Plusieurs études ont documenté la contamination au mercure chez les orpailleurs, dans les communautés avoisinantes. Une étude récente au Burkina Faso a démontré que 69 % de la population minière avait un taux de mercure urinaire supérieur aux valeurs recommandées. Finalement, lorsque le mercure est rejeté dans l'environnement et atteint les cours d'eau, celui-ci peut être transformé en une molécule encore plus nocive, le méthylmercure, qui se concentre alors dans la chaîne alimentaire aquatique et met en danger la santé humaine (Tomicic *et al.*, 2011).

2.3.3. Problèmes de sécurité

Les problèmes de sécurité proviennent principalement des conditions difficiles de travail au sein des puits de mine. Par exemple pour les mineurs qui introduisent les dynamites dans les trous, une tentative d'accélérer le processus peut entraîner des accidents parfois mortels. Un autre exemple concerne l'effondrement des galeries lors du creusage des tunnels (Amutabi &

Lutta-Mukhebi, 2001). Les mineurs sont également exposés pendant la montée ou de la descente dans les puits de mine. Ceux-ci comptent un taux de mortalité élevé suite aux accidents de travail. Au Ghana, une recherche a mis en évidence plusieurs situations potentiellement mortelles telles que citées ci-dessus sur les sites miniers localisés à Kumasi dans le Sud du pays. Finalement, des situations dangereuses se produisent également lors du transport de cailloux hors du trou à l'aide de poulies faites de corde de nylon qui peuvent facilement céder (Telmer & Veiga, 2009).

2.4. Relation orpaillage et bio sécurité alimentaire

2.4.1. Situation actuelle des exploitations agricoles

Le développement actuel des activités aurifères a une incidence majeure sur ces activités agricoles. L'orpaillage est à la base d'une nouvelle approche économique qui se développe dans ce milieu. L'essor de cette activité a contribué à la mise en place de nouvelles catégories socio professionnelles qui en fonction de leurs attitudes vis-à-vis de l'agriculture impacte négativement celle-ci. Ces attitudes sont réparties dans le tableau I ci-dessous qui révèle que l'activité de l'orpaillage pratiquée principalement en milieu rural est une vraie menace pour l'agriculture familiale. Dans un contexte d'orpaillage, les exploitants adoptent en général plusieurs attitudes distinctes selon le cas. La première attitude adoptée est la réduction des superficies, qui représentent 41 % tandis que 19 % constitués d'agro orpailleurs ont réduit le temps consacré à l'agriculture. Par contre 28 % ont abandonné définitivement. Seuls 12 % d'entre eux ont abandonné certaines cultures en l'occurrence les cultures vivrières pour ne cultiver que les cultures pérennes nécessitant peu d'entretien (De Wever, 2022). Les terres abandonnées par les orpailleurs deviennent impropres à l'agriculture au regard des nombreux trous, galeries souterraines et de la pollution du sol par des produits chimiques et hydrocarbures utilisés lors de l'extraction de l'or (Konan *et al.*, 2017) (Figure 4).

Tableau I: Attitudes des exploitants minier face à l'activité agricole.

Professions	Attitude adoptées	Fréquence	Pourcentage
Agro-orpailleur	Diminution des superficies des champs	31	41%
	Réduction du temps agricole	14	19%
Orpailleur	Abandon de certains champs	9	12%
	Arrêt de toute activité agricole	21	28%
Total		75	100%



Figure 4: Vue d'un site d'occupation des terres par l'activité de l'orpaillage (Konan, 2017)

2.4.2. Techniques d'exploitation nuisibles à l'agriculture

Le type d'exploitation en vigueur est de type filonien se réalisant généralement en six (06) étapes dont certaines ont des incidences sur l'agriculture (Figure 5). En effet, l'extraction aurifère débute par le test du minerai qui est une opération pour vérifier la teneur en or des roches en présence. Lorsque le test n'est pas concluant, le puits est abandonné et la recherche est effectuée sur un autre terrain. L'agriculture n'est donc plus possible dans ces espaces abritant ces trous laissés à l'abandon. Cette phase est suivie par le fonçage qui consiste à faire des trous circulaires ou rectangulaires de 2,5 à 3 mètres conduisant le plus souvent à des galeries qui s'étendent parfois sur des dizaines de mètres (Locatelli, 2013). La profondeur des puits varie entre 10 et 25 m en moyenne en relation avec la durée de vie du site. Cette forme d'exploitation quoique réduite en surface est plus étendue dans le sous-sol en tenant compte des ramifications en profondeur. En conséquence, le site qui paraît plus réduit en surface, occupe une part non négligeable des terrains agricoles qui sont perforés dans le sous-sol. Ensuite, le concassage et le lavage du minerai correspond à l'opération de fragmentation des pierres dans

le but d'obtenir des petits morceaux alors que le lavage consiste à la séparation du minerai broyé avec les pépites d'or. L'opération réservée aux femmes et aux enfants se négocie à 2000 frs le sac. Cette opération détourne les femmes de la production des vivriers qui constituaient leurs sources de revenus et la source d'approvisionnement en denrées alimentaires des ménages. L'orpaillage implique plus en plus les femmes pour les tâches telles que le lavage des roches (Konan *et al.*, 2017). (Figure 6).

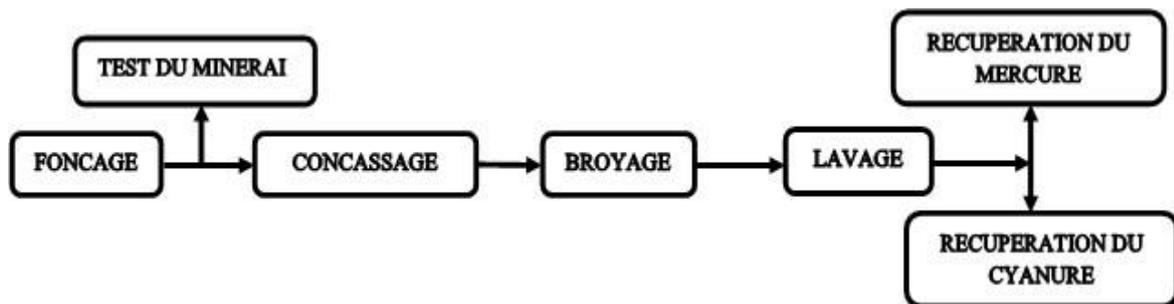


Figure 5: Schéma des étapes de l'exploitation aurifère traditionnelle



Figure 6: Séance de lavage du minerai, une activité réservée aux femmes

(Konan, 2018)

2.4.3. Indisponibilité des denrées alimentaires

Dans la plupart des localités rurales, l'essentiel des besoins alimentaires sont satisfaits à partir de la production locale. Cette production alimentaire locale vise deux objectifs. Une production destinée à l'autoconsommation et celle réservée à la vente qui sert de source de revenu aux ménages. Mais, depuis l'ouverture du site d'orpaillage, les superficies destinées aux cultures

vivrières se sont réduites quand les champs ne sont pas abandonnés. Quant à la disponibilité de la protéine animale, Kokumbo reste très dépendante de sa fourniture des localités voisines en viande. La pratique de l'élevage reste une difficulté avec le risque que courent les bêtes de tomber dans les trous abandonnés après l'extraction de l'or. Eu égard l'insuffisance de la production locale, la satisfaction des besoins alimentaires est tournée vers les villes environnantes (Konan *et al.*,2017).

3. MICROORGANISMES DU SOL ET DE L'EAU

3.1. Diversité des micro-organismes du sol

Trop souvent considéré comme un environnement minéral, le sol est aussi un lieu de vie. Il héberge une très forte diversité d'espèces (23 %), des vers de terre aux amibes qui participent à son fonctionnement et à la fourniture de services écosystémiques nécessaires à notre survie (production végétale, épuration des polluants etc.). Parmi ces espèces, les microorganismes sont, sans conteste, les plus nombreux et les plus divers. Composés de bactéries et de champignons, ils assurent des fonctions essentielles comme la biodégradation de la matière organique, la production de nutriments pour les plantes, la fixation d'azote, la dégradation des polluants, etc (Kawamura-Sato *et al.*,2005). Les microorganismes du sol sont le fondement de la biosphère de la Terre et jouent un rôle intégral et unique dans le cycle du carbone, d'azote, de soufre et de phosphore, ainsi que de divers métaux, et dans la décomposition de la litière. La densité des bactéries peut aller jusqu'à 10^9 UFC/par gramme de sol, les champignons microscopiques environ 10^5 par gramme de sol (Pambrun, 2005).

3.1.1. Bactéries

Les bactéries sont sûrement les êtres les plus nombreux sur terre. Elles jouent des rôles importants dans le cycle des éléments nutritifs ; beaucoup vivent en association symbiotique avec des plantes, favorisant leur croissance et augmentant la fertilité des sols. Les bactéries sont des cellules procaryotes donc de structure relativement simple. Leur taille ne dépasse généralement pas $2 \mu\text{m}$ (Doumbia, 2007). Le cytoplasme de toutes les bactéries est entouré par une membrane plasmique externe revêtue ou non d'une paroi cellulaire rigide dont le composant majeur est un polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé peptidoglycane, qui lui confère sa forme et sa rigidité. Suivant la forme du sac de peptidoglycane, on distingue trois grands groupes de bactéries: les bacilles, bactéries en forme de bâtonnets, souvent dotés de flagelles, structures filamenteuses qui font avancer l'organisme dans un mouvement de rotation et de bascule; les cocci, bactéries sphériques qui peuvent

s'agglutiner pour former des chaînes (comme les streptocoques, responsables d'une infection de la gorge), ou comme des grains de raisin (staphylocoques); et enfin les spirilles ou spirochètes, bactéries en forme de spirale ou de virgule (*Treponema pallidum*, à l'origine de la syphilis), ou incurvée, les vibrions (*Vibrio cholerae*). D'autres bactéries, les mycoplasmes, sont dépourvues de parois rigides, et par conséquent n'ont pas de forme déterminée. Certaines bactéries ont besoin d'oxygène, elles sont dites aérobies (*Bacillus*, *Pseudomonas*...); d'autres ne peuvent pas survivre en milieu oxygéné, elles sont dites anaérobies. Les bactéries sont classées en bactéries autotrophe, utilisation de carbone sous forme minéral, et bactéries hétérotrophes utilisation de carbone sous forme organique (Mathieu, 2020).

3.1.1.1. *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* appartiennent aux protéobactéries. Ce groupe englobe la majorité des espèces de bactéries phytopathogène : *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* (Schroth *et al.*, 2006) Le groupe de *Pseudomonas* se compose de bâtonnet, gram négatif mobile non sporulant elles aérobies obligatoires les *Pseudomonas* ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe. Il est ubiquitaire et saprophyte de l'eau, des végétaux et des matières en décomposition (Bossis *et al.*, 2000).

3.1.1.2. *Bacillus*

Les *Bacillus* sont des bactéries à Gram+, appartenant à la famille des Bacillacées. De forme bacilles, elles sont aérobies ou anaérobies facultatifs, et tirent leur énergie de la respiration ou de la fermentation. Ces bactéries produisent des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. Elles jouent un rôle dans les cycles du carbone et de l'azote. L'espèce *Bacillus thuringiensis* se distingue des autres bacilles du groupe *cereus* par sa capacité à synthétiser et excréter des cristaux mortellement toxiques pour certains insectes. Ces cristaux agissent en détruisant les cellules de l'intestin moyen des larves des insectes atteints par ces toxines (Kang *et al.*, 2005).

3.1.1.3. *Clostridium*

Clostridium est un genre bactérien regroupant des bacilles gram positifs anaérobies strictement Et sporulés. Ils assurent généralement leur mobilité par des flagelles péritriches. Les cellules reproductives, dites forme végétative, ont la forme d'un bacille. Leurs endospores ont une forme de quille ou de bouteille, ce qui les distingue des autres endospores bactériennes,

généralement de forme ovoïde. Les différentes espèces de *Clostridium* vivent dans les sols ou le tube digestif des animaux, humains inclus (Kang *et al.*, 2005).

3.1.1.4. *Staphylococcus*

Staphylococcus aureus est une bactérie de la famille des *Micrococcaceae* de forme sphérique (coque), de 0,5 µm à 1,5 µm de diamètre. Ces coques à Gram positif se présentent généralement en grappes, par paires ou en cellules individuelles compte tenu de l'âge de la culture. C'est une bactérie non mobile, asporulée et aérobie facultatif possédant une catalase. Les staphylocoques trouvés dans l'eau et sol proviennent principalement de la peau, de la bouche, du nez et de la gorge des baigneurs et occasionnellement d'une pollution fécale (Chantigny & Angers 2005)

3.1.2. Champignons

Ils se développent entre 10° C et 40°C. Les champignons supportent généralement bien les pH acides et, dans de telles conditions, sont plus compétitifs que les bactéries pour l'exploitation d'un substrat. On ne doit cependant pas, pour autant, les considérer comme des organismes acidophiles. En fait, ces organismes semblent pouvoir se développer dans des intervalles de pH environnementaux assez larges. Beaucoup possèdent, d'ailleurs, une gamme d'enzymes capables d'attaquer un même substrat à des pH différents (Belgarbi-Dutron, 2012). Un champignon se détermine par son mode de sporulation. Les spores servent à la multiplication du champignon. Elles ont une forme définie, ronde ou ovale plus ou moins allongée. Leur taille varie de 2µm à plusieurs dizaines de µm. Elles se forment soit à l'intérieur d'un élément filamenteux plus ou moins renflé, soit à l'extérieur, fixées à l'extrémité ou sur les ramifications d'un filament ; elles peuvent encore être formées par des organes particuliers. Le genre *Aspergillus* est constitué de plus de 300 espèces. Ces champignons sont ubiquitaires. Sur les matières organiques, les cultures se couvrent de spores qui se détachent et sont véhiculées par les vents, les courants d'air aussi bien au niveau du sol que de la haute atmosphère. Le foin ou les grains moisissés sont très riches en spores. Le compost peut contenir 170 000 spores par gramme de matière. Dans les étables, la manipulation de foin moisissé produit un véritable aérosol de spores d'*Aspergillus* et de *Penicillium* pouvant dépasser 12.106 spores par m³. Les champignons du sol ou mycètes sont des levures, des champignons supérieurs et surtout des moisissures des genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Trichoderma*, mais à la différence des bactéries, ils sont toujours hétérotrophes et aérobies. Les champignons résistent mieux que les bactéries à la sécheresse et à l'acidité (Soltner, 2005 ; Bize *et al.*, 2010).

3.1.3. Rôle des microorganismes dans le sol

Les microorganismes jouent un rôle important à la fois dans la formation du sol et dans son fonctionnement (Robert & Chenu, 1992). Parmi les rôles de la microflore dans les sols arides on peut citer les suivants :

-L'activité biologique est un facteur important de la genèse et la formation des sols ;
-L'amélioration de la structure des sols, c'est ainsi que les champignons sont efficaces dans la stabilisation des agrégats de sol, car ils ont la capacité de lier les particules du sol via plusieurs mécanismes ;

- ✓ Les bactéries interviennent plutôt dans la stabilisation des particules de la taille des argiles et des limons ;
- ✓ Certains microorganismes (algues), forment de véritables croûtes protectrices contre l'érosion et l'évaporation, et favorisent l'installation des plantes ;
- ✓ La solubilisation des éléments minéraux indispensables à la vie des végétaux supérieurs (Ca, P, K) ;
- ✓ La fixation de l'azote et du carbone atmosphériques ;
- ✓ Les microorganismes sont à la base de la production du carbone organique dans les écosystèmes, lorsque la biomasse végétale est faible.

3.1.4. Corrélation sol microorganisme

De nombreux organismes vivants sont présentes dans le sol, mais ils ne sont pas tous connus. Ils assurent diverses fonctions parmi lesquelles le recyclage des éléments minéraux par décomposition des fragments les plus fins de matières organiques restitués au sol. Cette fonction est principalement assurée par les micro-organismes de type bactéries ou champignons. Les microarthropodes (la mésofaune) transforment de la matière organique fraîche en de la matière organique plus évoluée. Le carbone des matières organiques est libéré sous forme de gaz carbonique, l'Azote sous forme d'ammoniaque, de nitrites et de nitrates, le Phosphore sous forme de phosphates, le soufre sous forme de sulfates, etc. Les Bactéries sont donc des organismes destructeurs et minéralisateurs de la matière organique vivante. Dans le cycle de la matière vivante, elles sont le chaînon essentiel situé entre le mécanisme constructeur, c'est-à-dire la synthèse organique, et l'ensemble des substances minérales nécessaires à cette synthèse. Si elles n'existaient pas, si elles ne poussaient pas le mécanisme de destruction jusqu'à la minéralisation, les matières premières (Carbone, Azote, Phosphore, Soufre) feraient défaut et le mécanisme constructeur par les Plantes ne serait pas possible. Si l'on ajoute à ce rôle essentiel

des Bactéries, celui de servir encore accessoirement de nourriture à certains Animaux, on peut bien répéter ma phrase du début et affirmer que sans le règne bactérien, il n'y aurait ni règne animal, ni règne végétal, c'est-à-dire pas de vie dans les eaux. Quant aux vers de terre, ils permettent notamment de maintenir la structure et la porosité du sol. Parmi les autres fonctions, on peut citer la régulation des populations de bioagresseurs. Les organismes prédateurs vont permettre de maintenir des équilibres au sein du sol entre les différentes espèces (Pambrun 2005).

3.2. Diversité des microorganismes de l'eau

Il existe tout un ensemble d'organismes adaptés à la vie aquatique. Ces êtres constituent la flore (végétale et bactérienne) et la faune des eaux. Ils jouent chacun leur rôle dans l'équilibre complexe qui régit les biotopes aquatiques, où coexistent les producteurs primaires (autotrophes) et les consommateurs d'organismes ou de molécules organiques (hétérotrophes). Inversement, leur prolifération sous l'effet de certaines pollutions peut entraîner des nuisances pour les usagers de l'eau, en particulier, lorsque les conditions optimales sont réunies, les algues et les plantes aquatiques peuvent ériger par photosynthèse des masses énormes de substances organiques à partir des éléments nutritifs simples (C, N, P), avec des répercussions sur les chaînes alimentaires et la qualité des eaux. Il s'agit des bactéries du genre *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et du genre *Bacillus* etc... (Vital *et al.*, 2010)

3.2.1. Genre *Pseudomonas*

Ces bactéries, largement répandues dans l'environnement, vivent dans le sol et les eaux douces, salées et saumâtres, superficielles et souterraines, et sont y compris retrouvées vivantes pour certaines souches dans les brumes, dans la pluies ou dans les nuages jusqu'à plus de 10 km d'altitude. Elles se retrouvent sur les plantes, dans les matières organiques non vivantes (denrées alimentaires), entraînant, parfois, leur altération organoleptique. L'homme en a accru les habitats, dont via le transport aérien, maritime et fluvial et jusque dans le sous-sol via la fracturation hydraulique car on la retrouve aussi dans les boues de forages et fluides de fracturation (Weldhagen *et al.*, 2003 ; Kang *et al.*, 2005)

3.2.2. *Escherichia coli*

La présence de *E. coli* dans l'eau témoignent d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que

leur présence rend l'eau impropre à la consommation. Ainsi, l'absence d'*E. coli* n'est pas une assurance absolue d'absence de microorganismes pathogènes. Il est l'indicateur d'hygiène idéal pour l'analyse microbiologique des eaux. Certaines souches pathogènes d'*E. coli* sont connues comme des agents responsables de gastroentérites infantile ou de la diarrhée du voyageur (Cristian, 2008).

3.2.3. Genre *Bacillus*

Ce sont des bacilles à coloration de Gram positive, ou à coloration de Gram variable, aérobies mais optionnellement aéro-anaérobies facultatifs. La forme végétative mesure de 2 à 5 µm de long sur 1 à 2 µm de diamètre. Ce sont des bactéries sporulées. Le genre *Bacillus* peut aussi être associé à la présence d'un indicateur de contamination tel qu'*Escherichia coli*. Le genre *Bacillus* tire son pouvoir pathogène de sa capacité d'adaptation aux conditions environnementales et de sa capacité à sécréter des toxines (Kawamura-Sato *et al.*, 2005)

3.3. Corrélation eau microorganismes

En dehors de ce rôle fondamental de destructeurs de matière organique, et de minéralisateurs, les Bactéries peuvent également jouer un rôle dans la nutrition des Animaux microscopiques du Plancton, et des Animaux qui pullulent à la surface ou dans la vase. L'activité des Bactéries se résume en une remise en circulation des éléments nutritifs de l'eau. Les micro-organismes sont toujours présents dans l'eau, en plus ou moins grande quantité. Dans ces milieux naturels, ils jouent souvent un rôle d'épurateur qui dégrade aussi bien les déchets organiques que les polluants qui s'y trouvent. De tous les micro-organismes présents dans l'eau, seul un petit pourcentage est nuisible pour la santé. Pour la consommation humaine, l'eau provenant des lacs et des rivières doit donc être filtrée et décontaminée afin d'éliminer tout microbe pathogène. Les micro-organismes sont particulièrement abondants dans les zones marécageuses. En plus de servir de nourriture à de nombreux animaux qui à leur tour seront mangés par de plus gros, ils « digèrent » les matières polluantes présentes dans l'eau, les transformant ainsi en particules que les végétaux pourront absorber. Au sortir du marais, l'eau est ainsi plus propre que lorsqu'elle y est entrée. Comme c'est le cas pour tous les autres environnements terrestres, les étendues d'eau contiennent une grande variété et une grande quantité de micro-organismes. On y trouve des représentants de chaque type de micro-organismes : protozoaires, algues, bactéries, champignons et même des virus ! Heureusement pour nous, ces micro-organismes sont en grande majorité inoffensifs pour les humains. Probablement que vous avez déjà entendu parler

de la « chaîne alimentaire » dans laquelle les plantes sont mangées par les herbivores, puis les herbivores par les carnivores. Dans les milieux aquatiques, les micro-organismes sont à la base de cette chaîne alimentaire. C'est leur présence dans l'eau qui permet l'existence des poissons. Les bactéries et les champignons sont très importants dans la chaîne alimentaire. Ils vont se nourrir de tous les autres organismes ! Véritables nettoyeurs du système, ils décomposent la majeure partie des organismes morts qui s'y trouvent (Hammes *et al.*, 2010, Lautenschlager *et al.*, 2010)

Deuxième partie : Matériel et Méthodes

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique était composé de sols et de l'eau contaminés provenant de la zone aurifère de Kokumbo (Figure 7).



Figure 7: Echantillon de sol utilisé pour réaliser l'étude

1.2. Matériel technique

1.2.1. Appareillage

L'appareillage est constitué d'une balance de type KERN pour les différentes pesées, un autoclave de type NÜVE model OT012 a été utilisé pour réaliser les stérilisations et aussi un bain marie (Fisher Scientific Polytect 12) pour le refroidissement des milieux de cultures à 50°C. Les différents incubateurs ayant servi aux analyses sont : Memmert Model Uf750, Memmert Beschickung/ Loading-Modell 100-800 Et Neo-Tech Sa.

1.2.2. Consommable

Le consommable utilisé est composé de boîtes de Pétri stériles (90 mm de diamètre), des flacons avec bouchon autoclavable pour la préparation des milieux de culture, des pipettes stériles de 1ml et de 5ml, une pipette Pump, des tubes à essai à vice pour les dilutions décimales, des erlenmeyers pour les suspensions mères. Une anse de platine, des étaleurs, une bouteille de gaz avec bec bunsen, des béchers, des éprouvettes graduées, des sachets stomacher ainsi que tout le matériel classique d'un laboratoire.

1.2.3. Milieux de culture

Les milieux de culture ayant servi à la réalisation de cette étude sont les suivant :

- ✓ Le bouillon Eau Peptonée Tamponnée (EPT) (**Difco**)TM est utilisé dans les phases d'enrichissement et de pré enrichissement des échantillons pour les analyses ;
- ✓ La gélose Sabouraud au Chloramphénicol (Alpha Biosciences) est utilisée pour le dénombrement des levures et moisissures ; dans les aliments et autres produits.
- ✓ Le milieu Rapid Staph pour la sélection et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*
- ✓ Le milieu Rapid *E. coli*2 est utilisée pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* dans les denrées alimentaires, l'eau et autres produits ;
- ✓ La gélose mossel est utilisée pour la recherche et le dénombrement de *Bacillus* dans les denrées alimentaires, l'eau et autres produits
- ✓ La gélose cétrimide est utilisée pour la recherche et le dénombrement *Pseudomonas* dans les eaux et autres produits
- ✓ La gélose PCA est utilisée pour le dénombrement la flore totale des microorganismes dans divers produits

2. METHODES

2.1. Échantillonnage

2.1.1. Choix du site d'échantillonnage

Le choix du site de prélèvement des échantillons a porté sur le site des activités minières de Kokumbo. Située dans la région du bélier, au centre de la Côte d'Ivoire, la localité de Kokumbo appartient au département de Djékanou. Elle se localise entre les latitudes 6°19 'et 6°34'N et les longitudes 5°6' et 5°20'W. Le sol de la région repose sur de vastes massifs granitiques, des roches métamorphiques et des schistes. Les roches rencontrées sont généralement constituées de granitoïdes, de roches vertes, de roches volcano-sédimentaires et de schistes. On rencontre deux types d'aquifères (altération et fractures). La ville située au pied du Mont Kokum, à 30 km de Toumodi et à une quarantaine de kilomètres de Yamoussoukro, possède d'énormes gisements d'or encore inexploités (Kouassi & Yapo, 2021). Un site d'extraction d'or clandestin, artisanal avec des moyens extrêmement rudimentaires (Figure 8).



Figure 8: Exemple de site de prélèvement des échantillons

2.1.2. Taille et répartition des échantillonnages

Au cours de ce travail 21 échantillons ont été collectés pour la réalisation de cette étude. Ils sont composés de 19 échantillons de sol et deux échantillons d'eau provenant des lacs contaminés par les résidus toxiques des activités minières.

2.1.3. Prélèvement et transport des sols

Les échantillons ont été prélevés aseptiquement à une profondeur d'environ 15 cm. Les sols ont été placés dans des sachets stériles et l'eau dans des tubes. Tous les échantillons collectés ont été transportés de manière aseptique au laboratoire pour effectuer les différentes analyses microbiologiques.

2.2. Techniques d'analyse microbiologique

2.2.1. Préparation des milieux de culture

Les différents milieux de cultures qui ont servis aux analyses microbiologiques ont été préparés selon les prescriptions des fabricants mentionnées sur les différentes boîtes.

2.2.2. Préparation de la suspension mère et des dilution décimales

La préparation de la suspension mère et des dilutions décimales a été réalisée selon la norme NF EN ISO 6887-1, 2017 qui définit les règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales en vue d'examen microbiologiques.

2.2.2.1. Préparation de la suspension mère

Une quantité de 10 grammes de chaque échantillon de sol et de 10 ml d'eau est pesée aseptiquement à l'aide d'une balance (KERN) puis déposés dans un Erlenmeyer. Un volume de 90 ml d'Eau Peptonée Tamponnée y est ajouté pour la revivification. Le mélange a été

homogénéisé pendant 1 minute pour obtenir la suspension mère. Cette suspension est laissée au repos pendant 30 minutes afin de permettre aux microorganismes de revivifier à la température du laboratoire.

2.2.2.2. Réalisation des dilutions décimales

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de l'échantillon en micro-organismes, d'abord à 1/10 puis à 1/100 et ainsi de suite jusqu'à réduire la concentration microbienne de la suspension mère au facteur de 10^n . Pour se faire, une quantité de 1 ml de suspension mère est prélevée puis introduit dans premier tube à essai contenant neuf (9) ml d'eau distillée préalablement préparée et stérilisée. Une autre quantité de 1mL est prélevée de nouveau dans le tube précédent et introduite dans un second tube contenant aussi 9 ml d'eau distillée stérile. Ainsi, cette opération va se poursuivre jusqu'à obtention de la dilution souhaitée pour la réalisation du travail (Figure 9).

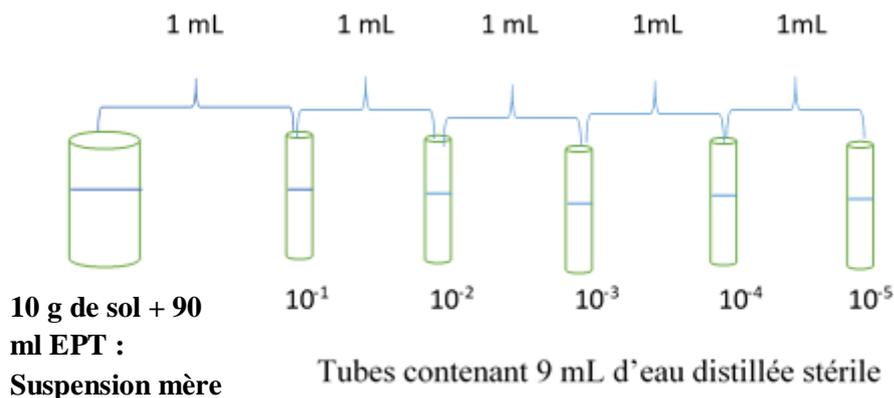


Figure 9: Schéma de réalisation des dilutions décimales

2.2.3. Ensemencement, incubation et dénombrement

- Au cours de travail, un ensemencement a pris en compte la flore fongique et la flore totale. Pour ce faire, un millilitre de chaque dilution obtenue est introduit dans les boîtes de Pétri. Une quantité de 20 ml de milieu préalablement préparé est coulée dans la boîte de Pétri. L'ensemble est bien homogénéisé. Les boîtes ensemencées sont laissées sur la paillasse pour la solidification de la gélose. Les boîtes ainsi solidifiées sont incubées à 25 °C pendant 7 jours pour les dénombrements des levures et moisissures, et 30 °C pendant 3 jours pour les dénombrements des germes aérobies mésophiles.

- Une autre quantité de 0,1 ml de chaque dilution décimale concernée est déposée dans une boîte de Pétri contenant 20 ml de gélose préalablement préparée et coulée. Puis les 0,1 ml

sont étalés à la surface de la gélose à l'aide d'un étaleur stérile. Les boîtes ensemencées sont incubées à 45 °C pendant 24 h pour la recherche et le dénombrement de *E. coli*, à 30 °C pendant 24 à 48 H pour la recherche et le dénombrement des *Bacillus* et à 37°C pendant 24 à 48 heures pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas*.

- Pour la recherche des spores de clostridies une quantité de 20 ml de l'inoculum est traitée à 80°C pendant 10 min puis refroidie immédiatement à l'eau contenant de la glace. L'inoculum traité est ensemencé par strie à l'aide de l'anse de platine sur le milieu TSN préparé et coulé en boîtes de Pétri. Une deuxième couche de milieu TSN est coulée à la surface de la première pour maintenir l'anaérobiose. Les boîtes de Pétri ensemencées sont toutes incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

2.3. Expression des résultats du dénombrement

Le nombre N qui représente l'estimation de la population microbienne a été calculé selon l'équation suivante

$$N \text{ (UFC / g)} = \frac{\sum C_i}{(N_1 + 0,1N_2) d.V}$$

N (UFC/g) : Nombre de germes par gramme de produit ;

$\sum C_i$: Somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de dilutions successives ;

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte (en ml) ;

n1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution considérée ;

n2 : Nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution considérée ;

d : Facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.

2.4. Isolement des microorganismes

Cette étape consiste à isoler les microorganismes de sol et d'eau après dénombrement. Les milieux utilisés pour l'isolement sont des milieux sélectifs pour chaque microorganisme recherché. Il s'agit des milieux Mossel, Cétrimide, Rapid *E. coli* et Rapid staph.

2.5. Purification et conservation des souches

Les isolats obtenus sont ensemencés par strie sur la gélose nutritive jusqu'à l'obtention des cultures pures. Les souches pures sont conservées à -20°C dans du glycérol pour la suite des

travaux (Lemriss *et al.*, 2003). Les souches purifiées et conservées pour la suite des travaux sont mentionnées dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II: Isolats conservés après purification

Origine	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	TOTAL
Lac	10	0	0	0	0	10
Sol et Cyanuration	19	10	12	24	5	70
TOTAL	29	10	12	24	5	80

2.6. Caractérisation phénotypique des souches

2.6.1. Caractérisations macroscopiques

Cette technique consiste à examiner les colonies par la loupe binoculaire (ZEISS 475022 G x10) et à l'œil nu (Williams & Cross, 1971). Les caractéristiques macroscopiques sont basées sur la taille, la forme, la texture, l'observation des mycéliums (substrat et aérien) et les pigmentations diffusibles sur les milieux de culture (Wei *et al.*, 2014).

2.6.2. Caractérisation microscopique des souches

2.6.2.1. Test oxydase

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinone rose-violacées. Sur un disque d'oxydase une colonie pure est déposée. La présence de l'oxydase se manifeste par une coloration violette au bout de 10 secondes.

2.6.2.2. Test catalase

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



Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) sur une lame porte objet propre. La présence des bulles d'air traduit une réaction positive.

2.6.2.3. Coloration de Gram

C'est une coloration différentielle de paroi bactérienne qui permet la distinction entre deux groupes bactériens, Gram positif et Gram négatif. Le frottis coloré se réalise sur des bactéries mortes. Sur une lame propre, une goutte d'eau distillée stérile est déposée. Les bactéries Gram positif retiennent la coloration violette du violet de gentiane tandis que les bactéries Gram négatif peuvent être décolorées par l'alcool et sont ensuite colorées en rose avec la safranine.

2.6.3. Caractérisation des isolats non-entérobactéries

Pour l'identification biochimique des isolats non-entérobactéries tels *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, certains tests discriminants ont été réalisés (Tableau III).

Tableau III: Quelques tests effectués sur les isolats non-entérobactéries

Microorganismes non-entérobactéries	Tests discriminants
<i>Pseudomonas</i>	<ul style="list-style-type: none">▪ Frottis coloré▪ Test à l'oxydase▪ Test à la catalase▪ Test à l'indole▪ Dégradation du glucose▪ Test à la mobilité▪ Production du gaz▪ Utilisation du citrate comme seule source de carbone
<i>Staphylococcus</i>	<ul style="list-style-type: none">▪ Frottis coloré▪ Test à l'oxydase▪ Test à la catalase▪ Fermentation du glucose sans gaz▪ Fermente ou pas le mannitol
<i>Bacillus</i>	<ul style="list-style-type: none">▪ Frottis coloré▪ Test à l'oxydase▪ Test à la catalase▪ Test à la mobilité▪ Utilisation du citrate comme seule source de carbone

2.6.4. Identification biochimique des isolats présumés *E. coli*

Pour l'identification des isolats présomptifs de *E. coli*, le portoir réduit de Leminor a été utilisé. Plusieurs caractères biochimiques ont été réalisés. Il s'agit entre autres :

2.6.4.1. Mise en évidence de l'uréase (Gallaud, 2012)

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions d'ammonium et carbonate. La technique consiste à ensemencer un milieu urée-Tryptophane par une colonie bactérienne, incubé à 37°C pendant 24 h. En cas de réaction positive, la décomposition de l'urée produit un dégagement d'ammoniac, faisant virer le rouge de phénol présent dans le milieu au rose puis au rouge foncé.

2.6.4.2. Mise en évidence de la production d'indole

Le réactif Kovacs est destiné à la mise en évidence de la production d'indole par les bactéries qui possèdent un tryptophane. Le milieu urée est ensemencé à partir des colonies jeunes de 24 heures issues de la gélose nutritive. Après incubation du milieu urée pendant 24 heures à 37°C, une goutte du réactif Kovacs est ajoutée dans le tube contenant l'urée. Si la réaction est positive c'est à dire indole (+), il y a présence d'un anneau rouge vif bien marqué à la surface de l'urée

Fermentation des sucres sur le milieu Kligler Hajna

Ce milieu permet d'étudier la fermentation du glucose, du lactose, d'apprécier la production ou non d'H₂S et la production ou non de gaz à partir du glucose. Ce milieu est coulé en pente et en culot. La technique consiste à ensemencer le culot par piqûre puis la pente par des stries serrées. La lecture se fait après 18 h à 24 h d'incubation à 37 °C.

2.6.4.3. Test de mobilité sur le milieu Mannitol Mobilité Nitrate

Ce test est réalisé sur le milieu Mannitol Mobilité qui est coulé uniquement en culot. C'est un milieu semi-solide. Il est ensemencé par piqûre centrale. Les germes immobiles ne poussent qu'au niveau de la piqûre centrale alors que les germes mobiles diffusent dans le milieu. Le virage du milieu du rouge au jaune traduit que les bactéries utilisent le mannitol.

2.6.4.4. Test à Lysine Fer

Ce test se réalise sur le milieu Lysine Fer qui est coulé en pente et en culot. Son nom découle de sa composition enrichie en fer. La technique consiste à ensemencer le culot par piqûre puis la pente de la gélose par stries serrées, la lecture se fait après 18 h à 24 h d'incubation à 37 °C.

Pour la lecture, les résultats seront interprétés en fonction de la coloration comme suit :

Culot jaune : LDC – : S'il y'a acidification du milieu par fermentation du glucose ;

Culot violet : LDC + : Si la bactérie fermente le glucose, et que le milieu a été réalcalinisé suite à la décarboxylation de la lysine ;

Pente violette : LDA – : S'il y'a absence d'acide cétonique ;

Pente jaune : LDA + : S'il y'a présence d'acide cétonique provenant de la désamination de la lysine.

2.6.4.5. Utilisation du Citrate comme seule source de carbone

Ce test est effectué sur le milieu citrate de Simmons qui contient le bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Ce milieu est coulé uniquement en pente. La pente du milieu estensemencée avec une strie longitudinale puis incubé à 37 °C pendant 24 h. Seules les bactéries capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone peuvent se cultiver sur ce milieu en l'alcalinisant. Le virage du milieu qui était vert au départ, au bleu ou la présence des colonies sur la pente signifie que les bactéries utilisent le citrate.

2.6.4.6. Recherche de la β -galactosidase (ONPG)

Ce test est réalisé lors de l'identification de très nombreuses bactéries (Gram + et Gram -). La β -galactosidase est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes :

- la lactose perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie
- la β -galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.

La recherche de la β -galactosidase ne présente d'intérêt que pour les bactéries lactose -. En effet, toutes les bactéries lactose + possèdent une β -galactosidase. A l'aide de la pente du milieu Kligler Hajna contenant du lactose, une suspension très dense est réalisée en prélevant des colonies puis en les introduisant dans un tube a hémolyse contenant de l'eau distillée stérile. Un disque d'ONPG est introduite dans la suspension. Elle est incubée à 37 °C pendant 30 minutes (Tableau IV).

Tableau IV: Lecture de orthonitrophényl- β -D-galacto-pyranoside (ONPG)

Observation	Interprétation	Conclusion
Coloration jaune	La bactérie a hydrolysé l'ONPG en ONP (produit coloré jaune)	La bactérie possède la β -galactosidase elle est dite ONPG +
Incolore	Il n'y a pas d'ONP dans le milieu, la bactérie n'a pas hydrolysé l'ONPG	La bactérie ne possède pas la β -galactosidase elle est dite ONPG -

Troisième partie : Résultats et Discussion

1. RÉSULTATS

1.1. Evaluation des charges microbiennes issues des sols contaminés par les résidus de l'activité minière

Les charges moyennes au niveau de la flore fongique sont variables selon les échantillons analysés. Ses charges sont comprises entre $5,9.10^3$ ufc/g de sol et $2,8.10^4$ ufc/g de sol. Il est à noter que les autres charges des bactéries telles que *Pseudomonas*, *Bacillus* et les germes Aérobie Mésophiles sont inférieures à 10^9 FC/g de sol. Les charges des *Pseudomonas* dans les échantillons sont comprises entre $1,1.10^4$ ufc/g et $8,3.10^4$ ufc/g de sol, respectivement entre $2,3.10^2$ ufc/g et $2,1.10^3$ ufc/g de sol pour *Bacillus*. Quant à la flore totale, les charges sont comprises entre $8,8.10^2$ ufc/g et $7,1.10^3$ ufc/g de sol (Tableau V).

Tableau V: Charge microbienne de microorganismes par gramme de sol

Echantillons	Levures et Moisissures	<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>	GAM
E1	$2,2.10^4$	$1,9.10^4$	$4,4.10^2$	$6,7.10^3$
E2	$8,6.10^3$	$1,8.10^4$	$9,2.10^2$	$6,8.10^3$
E3	$7,0.10^3$	$2,1.10^4$	$7,9.10^2$	$7,0.10^3$
E4	$2,0.10^4$	$2,1.10^4$	$2,1.10^3$	$7,1.10^3$
E5	$1,9.10^4$	$1,6.10^4$	$1,7.10^3$	$4,5.10^3$
E6	$1,1.10^4$	$1,2.10^4$	$4,4.10^2$	$1,0.10^3$
E7	$5,9.10^3$	$1,4.10^4$	$2,3.10^2$	$2,6.10^3$
E8	$1,5.10^4$	$1,8.10^4$	$1,2.10^3$	$2,6.10^3$
E9	$6,6.10^3$	$1,1.10^4$	$5,6.10^2$	$2,4.10^3$
E10	$7,0.10^3$	$8,3.10^4$	$1,6.10^3$	$1,9.10^3$
E11	$2,0.10^4$	$1,8.10^4$	$4,9.10^2$	$9,8.10^2$
E12	$2,0.10^4$	$1,3.10^4$	$9,1.10^2$	$1,4.10^3$
E13	$1,2.10^4$	$2,0.10^4$	$2,5.10^2$	$1,0.10^3$
E14	$9,5.10^3$	$1,8.10^4$	$3,7.10^2$	$1,2.10^3$
E15	$2,2.10^4$	$2,8.10^4$	$4,0.10^2$	$2,5.10^3$
E16	$3,3.10^4$	$3,4.10^4$	$5,9.10^2$	$2,8.10^3$
E17	$2,7.10^4$	$2,8.10^4$	$7,1.10^2$	$2,6.10^3$
E18	$1,9.10^4$	$2,4.10^4$	$1,0.10^3$	$1,7.10^3$
E19	$2,8.10^4$	$1,4.10^4$	$1,3.10^3$	$8,8.10^2$
Charge microbienne dans le sol (norme)	10^5 UFC/g dans le sol (Morel, 1996)	10^9 UFC/g de sol (Balasubramanian & Rangaswami, 1978)		

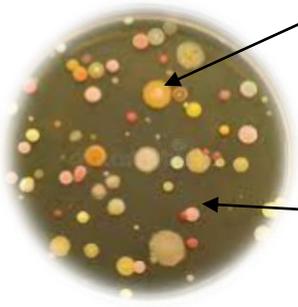
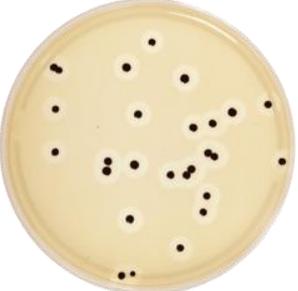
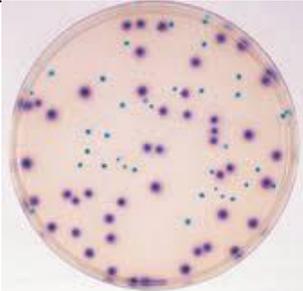
GAM : Germes Aérobie Mésophiles

1.2. Analyse macroscopique des colonies dénombrées sur les différents milieux de culture.

L'examen macroscopique des colonies dénombrées au travers des milieux de culture sélectives utilisés a permis de connaître de manière provisoire quelques genres et espèces de bactéries. Ainsi, Sur le milieu *Pseudomonas*, certaines colonies de *Pseudomonas* sont de petites tailles mesurant environ 1 mm de diamètre, lisses, bombées à bord régulier. D'autres par contre sont de tailles moyenne mesurant 2 à 3 mm de diamètre avec des formes rondes, à bord irrégulier bombée et produisant un pigment jaune vert. Par ailleurs sur la gélose Rapid staph, les staphylocoques dorés sont des bactéries de petites tailles ou de tailles moyennes circulaires, plates, variant de 0,7 à 2 mm de diamètre. Elles sont noires avec un halo translucide autour de la colonie caractéristique de la production de lécithinase grâce au jaune d'œuf au tellurite de potassium incorporé dans la gélose de base après préparation. Il y a aussi production de la lipase qui se caractérise par une zone opaque autour de la colonie.

Par ailleurs, les colonies de *Bacillus* se présentent sur le milieu Mossel sous forme de taille moyenne avec un halo blanchâtre au centre. Il y a production de lécithine due au jaune d'œuf émulsionné incorporé dans la gélose de base. Sur la gélose sélective Rapid *E. coli* 2, Les colonies de *E. coli* sont des bleues violettes à roses avec des tailles moyennes et des formes rondes. Les colonies de clostridies sont de grosse taille allant de 3 à 4 mm de diamètre. Elles sont noires formant parfois un halo clair autour de la colonie caractéristique de la production d'une lécithinase due au jaune d'œuf incorporé dans la gélose. Elles dégagent une odeur très intense (Tableau VI).

Tableau VI: Description macroscopique des colonies dénombrées sur milieux de culture

Milieu de culture	Germe recherché	Boîte de Pétri	Caractères observés
Gélose <i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> spp		Colonies de 2 à 3 mm de diamètre à bord irrégulier bombée, pigment jaune-vert Colonies plus petites lisses bombées à bord régulier,
Gélose Rapid <i>Staph</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		Colonies de taille moyenne, circulaire, noires formant des halo translucides autour, plates, production de lecithinase
Gélose Mossel	<i>Bacillus</i>		Colonies moyennes roses à contour irrégulier, gluante, surface brillante et marge dentelée
Gélose Rapid <i>E. coli</i> 2	<i>E. coli</i>		Colonies violettes à roses, taille moyenne
Gélose TSN	<i>Clostridium</i> spp		Colonies de grosse taille, 3 à 4 mm de diamètre, produisant une odeur très intense

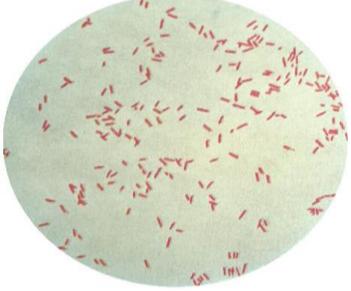
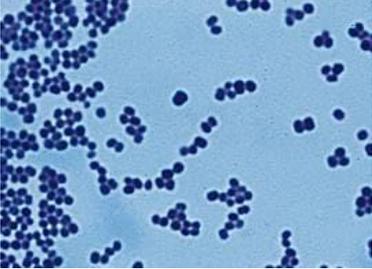
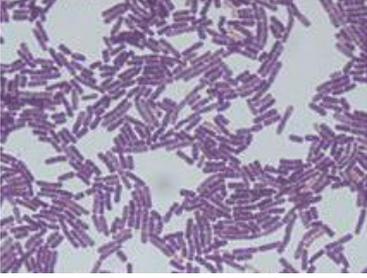
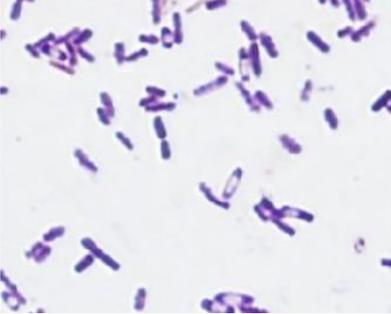
1.3. Isolats issus de résidus de cyanuration, du sol et des minerais après observation microscopique

Des caractères biochimiques diverses ont été observés au cours de ce travail. Il s'agit de quelques tests d'orientation qui ont permis d'affirmer le genre et souvent l'espèce des germes avant d'autres tests complémentaires qui permettront de les confirmer. Ainsi, parmi les caractéristiques biochimiques de *Pseudomonas*, il y a la production d'un cytochrome C oxydase et de la catalase positive. Il est mobile par ciliature et fermente le glucose en produisant du gaz. C'est une bactérie gram négative ne produisant pas d'indole. Cette bactérie n'utilise pas le mannitol et le lactose. Cependant elle utilise le citrate comme seule source de carbone. En observant le frottis coloré, il est à noter qu'elles apparaissent la plupart du temps isolées ou en diplobacilles. La coloration de Gram effectuée sur les isolats de staphylocoques a montré que ce sont des coques à Gram positif arrondis, groupés en diplocoque, en chaînette ou souvent en amas. Ses bactéries sont immobiles et dépourvues de spores. la décomposition de l'eau oxygénée montre qu'elle dispose d'une catalase, il y a absence d'oxydase.

Les souches de *Bacillus* ne produisent pas de cytochrome C oxydase, mais la catalase est positive. Ce sont des bacilles Gram positive utilisant le citrate comme seule source de carbone. Ils sont généralement mobiles.

Concernant les *Clostridium*, les tests d'orientation réalisés ont révélé qu'il y a production de gaz et d'acide sulfurique. Il y a eu utilisation du glucose et la fermentation du mannitol et le test de mobilité a été négative. Elle est dépourvue d'une cytochrome C oxydase et ne produit pas de catalase non plus. Il y a production de la lécithine due à la présence du jaune d'œuf additionné au milieu de base la coloration de gram a permis de voir que ses bactéries sont en chaînette ou en diplobacilles formant des spores terminales ou subterminales (Tableau VII).

Tableau VII: Tests d'orientation de quelques germes isolés du sol et des résidus de cyanuration et minerais

Isolats présumptifs de	Coloration de Gram	Tests de confirmation effectués	Confirmation du genre
<i>Pseudomonas</i>	 <p>BG-</p>	<p>Gluc + mob + indol- cat+ oxy +, lact-, gaz+, ureé -, citrate +, man-,</p>	<i>Pseudomonas</i> spp
<i>Staphylococcus</i>	 <p>CG+</p>	<p>Cat+, oxyd-, man- Glc+</p>	<i>Staphylococcus</i> spp
<i>Bacillus</i>	 <p>BG+</p>	<p>Cat+, oxyd-, cit+, mob+<i>Bacillu</i></p>	<i>Bacillus</i> spp
<i>Clostridium</i>	 <p>BG+</p>	<p>Lécithinase +, mob-, gluc+, Man+, H2S+, gaz+, cat-, oxyd-</p>	<i>Clostridium</i> spp

1.4. Caractères biochimiques des isolats présomptifs de *E. coli* issus du lac Balo

Les isolats présomptifs de *E. coli* issus du lac Balo ont été identifiés à l'aide du portoir réduit de Leminor. L'analyse des différents caractères étudiés renseigne que tous les isolats issus du lac Balo ne sont pas des souches de *E. coli*. Il y a des souches de du genre *Shigella* retrouvées dans ce lac. Toutes ses bactéries sont des BG-, catalase positive et ne produisent pas du cytochrome C oxydase. L'analyse du Tableau VIII montre que tous les isolats fermentent le mannitol et produisent du gaz. Par ailleurs certains isolats de *Escherichia coli* sont mobiles tandis que d'autres ne le sont pas. Il est à noter aussi que toutes les souches de *Escherichia coli* possèdent la β -galactosidase signe que les bactéries ont hydrolysées l'ONPG en ONP. Par ailleurs l'analyse du tableau révèle que toutes les souches de *Escherichia coli* n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone et n'hydrolysent pas le sulfate en sulfure d'hydrogène. A l'exception des souches de *Shigella* qui sont citrate positive et qu'elles ne possèdent pas la β -galactosidase (Tableau VIII).

Tableau VIII : Identification par le Portoir réduit de Leminor des isolats présomptifs de *Escherichia coli* et autre coliformes du lac Balo

Isolats	Gram	Cat	Oxyd	Urée	Ind	Gluc	Lac	Gaz	H ₂ S	Man	Mob	LDA	LDC	Cit	ONPG	Nom
1	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
2	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i>
3	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
4	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i>
5	Bg-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
6	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
7	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i>
8	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
9	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	<i>Shigella</i>
10	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>

Cat : catalase, Oxyd : Oxydase, Ind : Indole, Gluc : Glucose, Lac : Lactose, Man : Mannitol, LDA : Lysine désaminase, LDC : Lysine décarboxylase, Cit : Citrate, ONPG : orthonitrophényl-B-D-galacto-pyranosid

1.5. Caractères biochimiques des isolats présomptifs de *E. coli* issus des résidus de cyanuration, du sol et des minerais

Les isolats présomptifs de *E. coli* issus des résidus de cyanuration, du sol et des minerais ont été identifiés à l'aide du portoir réduit de Leminor. L'analyse des différents caractères étudiés renseigne que tous les isolats ne sont pas des souches de *E. coli*. Par ailleurs plusieurs genres ont été donc été identifiés. Il s'agit des genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia* et *Citrobacter*. Toutes ses bactéries sont des BG-, catalase positive et produisent du cytochrome C oxydase. L'analyse du tableau montre que tous les isolats fermentent le mannitol et produisent du gaz. A l'exception des souches de *Serratia*, toutes les autres souches sont positives au test dev l'ONPG. Aucune souche n'est productrice d'acide sulfurique. Par ailleurs hormis les souches de *Klebsiella* toutes les autres sont urée négative. Il est aussi à noter que à part le genre *Serratia*, les autres genres trouvés sont des coliformes donc fermentent le lactose. Toutes les autres souches utilisent le citrate comme seule source de carbone à l'exception de celles de *E. coli* qui n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone et n'hydrolysent pas le sulfate en sulfure d'hydrogène (Tableau IX).

Tableau IX : Identification par le Portoir réduit de Leminor des isolats présomptifs de *Escherichia coli*

Isolats	Gram	Cat	Oxyd	Urée	Ind	Gluc	Lac	Gaz	H ₂ S	Man	Mob	LDA	LDC	Cit	ONPG	Nom
1	Bg-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	<i>Klebsiella</i>
2	Bg-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	<i>Klebsiella</i>
3	Bg-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	<i>Klebsiella</i>
4	Bg-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	<i>Klebsiella</i>
5	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
6	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
7	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
8	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
9	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
10	Bg-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter</i>
11	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Serratia</i>
12	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
13	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
14	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
15	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
16	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Serratia</i>
17	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Serratia</i>
18	Bg-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli</i>
19	Bg-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Serratia</i>

Cat : catalase, Oxyd : Oxydase, Ind : Indole, Gluc : Glucose, Lac : Lactose, Man : Mannitol, LDA : Lysine désaminase, LDC : Lysine décarboxylase, Cit : Citrate, ONPG : orthonitrophényl-B-D-galacto-pyranosid

1.6. Prévalence des isolats identifiés par le portoir réduit de Leminor

1.6.1. Prévalence des isolats identifiés du lac

Deux espèces de bactéries ont été identifiées à l'aide du portoir réduit de Leminor. Il s'agit de *Escherichia coli* avec un taux estimé à 60 % contre un taux de 40 % pour le genre *Shigella* (Figure 10).

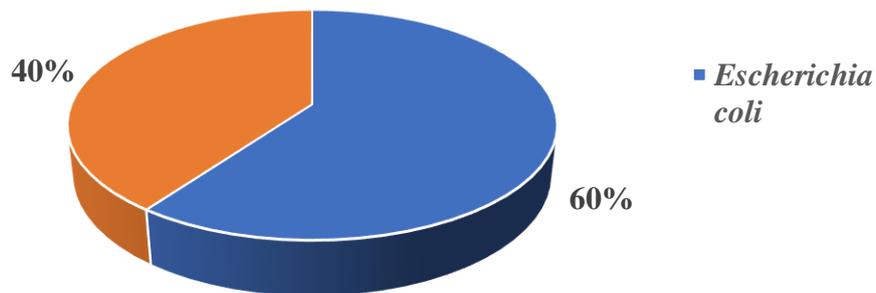


Figure 10: Répartition des isolats issus du Lac

1.6.2. Prévalence des isolats identifiés du sol et des résidus de cyanuration

L'identification des isolats issus du sol et des résidus de cyanuration par le portoir réduit de Leminor révèle quatre genres de bactéries avec une prédominance du genre *Enterobacter* (31,58 %). Il est suivi par *E. coli* (26,32) et du genre *Klebsiella* et *Serratia* avec un taux de 21,05 % chacun (Figure 11).

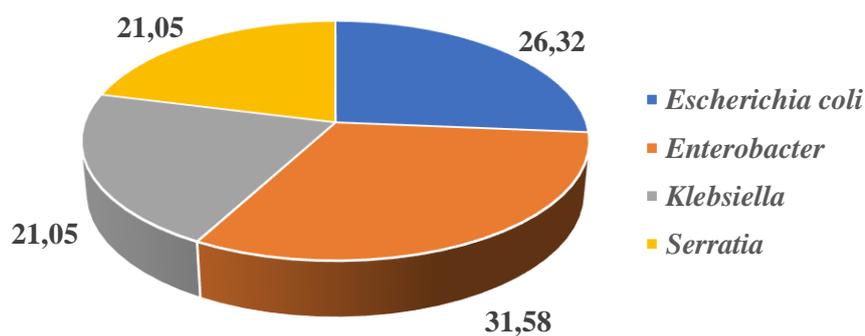


Figure 11: Répartition des isolats issus du sol et des résidus de cyanuration

2. DISCUSSION

L'objectif général de ce travail est d'étudier les communautés microbiennes présentes dans le sol et l'eau du site d'orpaillage de Kokumbo qui ont une activité de bio-remédiation propice pour une agriculture durable. En effet, la fertilité du sol dépend de diverses communautés de microorganismes présente dans le sol.

L'analyse est essentiellement microbiologique et les résultats sont comparables à ceux d'autres auteurs, avec quelques différences pour certains paramètres liés probablement à des critères biologiques. Au cours de ce travail, les charges trouvées après les différentes analyses sont inférieures à 10^5 UFC/g dans le sol pour les levures et à 10^9 UFC/g pour les bactéries. Selon les travaux réalisés par Morel (1996) la charge normale en flore fongique que devrait contenir 1g de sol pour qu'il soit propice à l'agriculture est 10^5 UFC/g dans le sol. L'activité enzymatique reflète la biomasse microbienne seulement métaboliquement active tandis que le nombre de microorganismes reflètent à la fois la population active et inactive de micro-organismes (Rogers *et al*, 2001). A travers ces résultats, il faut souligner que, les microorganismes occupent une place importante dans la fertilité du sol. Les résultats obtenus au cours de ce travail sont semblables à une étude réalisée par Bertschinger *et al* (2003). Ces auteurs ont révélé après analyses que la population microbienne d'un sol constitue le maillon final de la chaîne trophique par laquelle transite le carbone et les éléments nutritif des matières organiques avant de redevenir disponible pour la plante et on considère un sol fertile lorsque qu'il contient 10^5 UFC/g dans le sol pour les levure et moisissures et 10^9 UFC/g pour les bactéries dans le sol. Par ailleurs selon les travaux de Soltner, (2005), les bactéries constituent l'essentiel de la microflore du sol et sont extrêmement nombreuses avec des charges comprises entre 10^6 et 10^9 ufc/g de sol. Dommergues & Manganot (1970), ont également affirmé lors des travaux antérieurs, que les sols soumis à des conditions écologiques très endommager pas les produits chimiques, les densités bactériennes sont évidemment beaucoup plus faibles. Quant à la faible teneur de microorganisme sur le sol contamine elle se justifie par les activités minières occasionnées par l'utilisation de produits chimiques toxiques tels que le mercure et le plomb qui dégrade l'environnement et le sol. Ils sont également à l'origine de la pollution du sol de l'eau. Les microorganismes ont donc une grande influence dans la fertilisation du sol ils améliorent ses propriétés physiques (stabilité structurale, capacité de rétention en eau,) et chimiques par la libération progressive des éléments nutritifs et l'augmentation de leur pouvoir absorbant en éléments minéraux (Callot *et al.*,1982). L'analyse macroscopique et microscopique a permis de connaitre de manière provisoire quelques genres et espèces de

bactéries. Ainsi, parmi les caractéristiques biochimiques de *Pseudomonas*, il faut noter la production d'un cytochrome C oxydase et de la catalase est positive. Certaines colonies de *Pseudomonas* sont de petites tailles mesurant environ 1 mm de diamètre, lisses, bombées à bord régulier et ses résultats sont sensiblement identique avec ceux de Abdou (2002), qui a affirmé dans des études passées que certaines colonies de *Pseudomonas* sont de grande taille (1 à 3 mm), à bords irréguliers et d'autres plus petites (1 à 2 mm), lisses, régulières, bombées. Les staphylocoques dorés sont des bactéries de petites tailles ou de tailles moyennes circulaires, plates, variant de 0,7 à 2 mm de diamètre et la coloration de Gram effectuée sur les isolats de staphylocoques a montré que ce sont des coques à Gram positif arrondis, groupés en diplocoque, en chaînette ou souvent en amas. Ces résultats sont semblables à ceux de Benchouk, *et al* (2017) qui affirme que les staphylocoques dorés se présentent comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée. Les souches de *Bacillus* ne produisent pas de cytochrome C oxydase, mais la catalase est positive. Par ailleurs, les colonies de *Bacillus* se présentent également sur le milieu Mossel sous forme de taille moyenne avec un halo blanchâtre au centre. Ce sont des bacilles Gram positive utilisant le citrate comme seule source de carbone. Ils sont généralement mobiles. Ces résultats sont semblables aux études antérieures réalisées par Chantigny *et al* (2005) et Clément & Pieltain (2009).

Concernant les *Clostridium*, les tests d'orientation réalisés ont révélé qu'il y a production de gaz et d'acide sulfurique. En ce qui concerne leur caractérisation macroscopique les colonies de clostridies sont de grosse allant de 3 à 4 mm de diamètre. Elles sont noires formant parfois un halo clair autour de la colonie caractéristique de la production d'une lécithinase due au jaune d'œuf incorporé dans la gélose (ES-Skalli, 2015). Par ailleurs, sur la gélose sélective Rapid E. coli 2, les colonies de *E. coli* sont des bleues violettes à roses avec des tailles moyennes et des formes rondes. Ces résultats sont semblables à l'étude réalisée par Colas, (2012). Cela se confirme par les écrits de Djerbaoui (2011) qui affirme que les colonies de *E. coli* se développent sous forme de colonies rouge sombre au contour fortement marqué, bleues violettes à roses avec un reflet métallique vert chatoyant. La morphologie de ces microorganismes est fortement influencée par la composition du milieu de culture et le temps d'incubation. L'action des micro-organismes peut aller dans le sens de la solubilisation (production d'acide et de composés complexant etc.) ou de l'insolubilisations (formation de sulfures métalliques insolubles, bioaccumulation et bio sorption par les micro-organismes) des métaux lourds (Djerbaoui, 2011).

De manière globale, les métaux exercent une pression sélective augmentant la tolérance de base de certains microorganismes, mais diminuent la biodiversité des microorganismes retrouvés dans ces sols en comparaison avec des sols non pollués. La sensibilité des microorganismes peut se traduire par une diminution de l'expression protéique alors qu'une augmentation de l'expression protéique signifierait une tentative d'adaptation au nouveau contaminant (Piquette & Wintz, 2009). Chez les bactéries, les gènes codant pour l'expression des protéines impliquées dans ces mécanismes sont principalement plasmidiques, bien que quelques-uns soient chromosomiques (Romdhane, 2011).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

▪ Conclusion

L'étude menée au niveau du site d'orpaillage de Kokumbo consiste à évaluer la qualité du sol et de l'eau par la caractérisation de la microflore pour une bioremédiation. Au terme de ce travail de recherche, nous avons constaté qu'il existe une diversité de microorganismes dont la charge varie selon leur habitat (l'eau ou sol). Les résultats du dénombrement des différents groupes microbiens montrent une variation de la biomasse microbienne en fonction du sol, la charge microbienne recommandée pour une meilleure fertilisation du sol et une bonne productivité des cultures était en dessous de la norme recommandée.

Les résultats des analyses des échantillons d'eau prélevée montrent la présence d'*Escherichia coli* et de *Shigella spp.* D'une manière générale l'activité microbienne au niveau des sites d'orpaillage de Kokumbo présente un risque sanitaire pour l'eau et une menace pour la productivité des cultures.

▪ Perspectives

Il serait plus important de prendre en compte les autres sites d'orpaillage de Côte d'Ivoire pour approfondir cette étude à savoir : la réalisation d'une analyse comparative entre la microflore sur les sites d'orpaillages et les sites de cultures, la connaissance du rôle des champignons dans la dégradation des hydrocarbures et leurs relations avec les bactéries et également la valorisation de cette méthode à grande échelle et favoriser les technologies « in situ » dont la bioremédiation.

REFERENCES

REFERENCES

- Abdou F.K. (2002). Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du point G. These de Doctorat, UFR Médecine, Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, Bamako, 95 p.
- Adewumi A. J.P. & Laniyan A.T. (2020). Ecological and Human Health Risk associated with metals in water from Anka Artisanal Gold Mining Area, Nigeria. *Human and Ecological Risk Assessment : An International Journal*, 20 : 1549-7860 .
- Agbogidi O. M & Ilondu E. (2013). Effects of spent engine oil on the germination and seedling growth of *Moringa oleifera* (Lam.). *Journal of Agricultural Science*, 3(6) :39-243.
- Amutabi M & Lutta-Mukhebi M. (2001). Gender and mining in Kenya : The case of the mukibira mines in the Vihiga district. *Jenda : A Journal of Culture and African Women's Studies*, 1(2) :1-23.
- Baker B.J. & Banfield J.F. (2003). Communautés microbiennes dans le drainage minier acide. *FEMS Microbiology Ecology*, 44 : 139-152 .
- Balasubramania A. & Rangaswami G. (1978). Influence of seed and root exudation in rhizosphere effect in *sorghum vulgare* and *crotalaria juncea*. *Folia, Microbiologica*, 23 : 481-488.
- Belgarbi-Dutron, L. (2012). Morphologie de la levure *Alternaria alternata*, *journal biologie Université de Lyon*, 3: 5-27.
- Benchouk A. (2017). Bio remédiation des sols pollués de pétrole par les micro-organismes et amélioration génétique de leurs pouvoirs. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem, microbiologie appliquée, 199 p.
- Bertschinger L., Christian G., Ryser J.P., Häseli A., Neuweiler R., Pfammatter W., Schmid A. & Weibel F. (2003). Données de base pour la fumure en arboriculture fruitière, Fruits à pépins, fruits noyau, kiwis, baies d'arbustes. *Postfach*, 185 :48-52.
- Bize A., Forterre P & Prangishvil D. (2010). Les archéovirus. *Virologie*, 14 (2) : 101-17.
- Bohbot J. (2017), L'orpaillage au Burkina Faso : une aubaine économique pour les populations, aux conséquences sociales et environnementales mal maîtrisées. *Open edidion journals*, 42 :150-151.
- Bossis E., Lemanceau P., Latour X. & Gardan L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas flueoresscens* and *Pseudomonas putida* : current status ans need for revision. *Agronomie*, 20 : 51-53.
- Callot G., Chamagou H., Maertens C & Salsac L. (1982). Mieux Comprendre les interactions entre sol-racines, incidences sur la nutrition minérale., INRA, Paris, France, 325 P.

- Chantigny M. & Angers D. (2005). Activité microbiologique et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds. *CRAAQ Journal*, 2 : 2-10.
- Clément, M., & Pieltain, F. (2009). Analyse chimique des sols. Edition TEC et DOC, 387 p.
- Colas D. (2012). Etude de la bioraffinerie des plantes vertes : Application au fractionnement des protéines de luzerne par extraction bi-vis et chromatographie hydrophobe. Thèse de doctorat, Université, Sciences des agroressources, Toulouse, France, 279 p.
- Cristian C. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Edition Technologie et Document Lavoisier, Paris, France, pp. 76-86.
- De Wever P. & Gaumont R. (2022). Actinopodes. *Encyclopædia Universalis* 4 :10-23.
- Djerbaoui A. (2011). Utilisation de souches bactériennes autochtones dans la production de biosurfactant et la bioremédiation des sols de Hassi Messaoud contaminés par les hydrocarbures. Diplôme de Magister, département de science de la nature et de la vie, microbiologie appliquée, Ouargla, 133 p.
- Dommergues Y & Mangenot F. (1970). Ecologie microbienne du sol. Paris : Masson, 769 p.
- Doumbia A.N. (2007). Diagnostic sur la fertilité des sols dans la zone cotonnière du Mali études sur les matières organiques du sol. Mémoire de fin d'études pôle de compétences en partenariat gestion des écosystèmes de savanes, UFR Agronomie, Institut polytechnique rural de formation et de recherche appliquée (ipr/ifra) de Katibougou, 64p.
- ES-Skalli A. (2015). Analyse physico-chimique des sols Agricoles. Mémoire de Master en sciences technique, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Tunis, Tunisie, 43 p.
- Gallaud J. (2012). Etude des réseaux d'interactions protéiques impliqués dans le trafic du nickel et de l'ammoniac et de leurs rôles dans la virulence chez *Helicobacter pylori*. *Bactériologie*, 7(3) : 196-203.
- Gibb H., & Leary K. G. O. (2014). Mercury Exposure and Health Impacts among Individuals in the Artisanal and Small-Scale Gold Mining Community : A Comprehensive Review. *Environmental Health Perspectives*, 7(4) : 2745–2772.
- Goldfarb R J., André-Mayer A.S., Jowitt S.M. & Mudd G.M. (2017). West Africa : The World's Premier Paleoproterozoic Gold Province. *Economic Geology*, 112 : 123–143.
- Grätz, T. (2009). Moralities, risk and rules in West African artisanal gold mining communities. A case study of Northern Benin. *Resources Policy*, Paris, France : pp. 12–17.
- Hammes F., Berger C., Köster O. & Egli T. (2010). Assessing biological stability of drinking water without disinfectant residuals : A case-study of the Zurich water supply system. *Journal of Water Supply : Research and Technology*, 59 (1) : 31–40.

- Harwood V. J., Delahoya N. C., Ulrich R. M., Kramer M. F., Whitlock J. E., Garey J. R. & Lim D. V. (2004). Molecular confirmation of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* from clinical, faecal and environmental sources. *Letters in Applied Microbiology* 38, 476-482.
- Hentschel S.J., Coudouel A. & Wodon T.W. (2002). Mesure et analyse de la pauvreté. *Munich Personal RePEc Archive*, 23 :93-105.
- Hilson, G. (2010). Child Labour in African Artisanal Mining Communities : Experiences from Northern Ghana. *Development and Change*, 41(3) : 445–473.
- Hue-Bi. B.F., Kambire B. & Alla D. A. (2020). Mutations environnementales liées à l’orpaillage à Ity (Ouest de la Côte d’Ivoire). *aflash-revue-mdou* 7(2) : 131-153.
- Johnson D.B & Hallberg K.B. (2003). La microbiologie des eaux de mine acides. *Recherche en microbiologie*, 154 : 466-473.
- Kadio H. N., Kôkôh R. E., Brou E. N., Krazoua F. G & Yei M-S.O. (2020). Caractérisation des paramètres physiques et du taux de mercure des eaux dans un environnement d’orpaillage : cas de Kouaméfla dans le département d’Oumé (Centre de la Côte d’Ivoire). *Journal of Applied Geology and Geophysics*, 8(1) : 48-55
- Kang C.I., Kim S.H., Park W.B., Lee K.D., Kim H.B., Kim E.C., Oh M.D. & Choe K.W. (2005). Risk factors for antimicrobial resistance and influence of resistance on mortality in patients with bloodstream infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbial Drug Resistance*, 11 (1) : 68-74
- Kawamura-Sato K., Hiramata Y., Agata N., Ito H., Torii K., Takeno A., Hasegawa T., Shinomura Y. & Ohta M. (2005). Quantitative analysis of cereulide, an emetic toxin of *Bacillus cereus*. *Microbiology and Immunology*, 49 : 25-30.
- Konan K. H., Kra K. J., Kesse B. A & Yéo D. (2017). L’après-orpaillage à Fodio au Nord de la Côte d’Ivoire : entre l’espoir et désillusion, *Revue Africaine de Migration et Environnement*, 1(1) : 95- 117.
- Kouassi E. A. & YAPO A.P. (2021). Étude de la minéralisation des eaux de surface en éléments traces métalliques (ETM) des zones d’orpaillage de la sous-préfecture de Kokumbo, Centre-Ouest de la Côte d’Ivoire. *Afrique Science*, 19(4) : 36-50
- Labanowski J. (2004). Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences et Techniques, Université de Limoges, (Limoges France), 209p
- Lautenschlager K., Boon N., Wang Y., Egli T. & Hammes F. (2010). Overnight stagnation of drinking water in house-hold taps induces microbial growth and changes in community composition. *Water Research* 44 (17) : 4868-4877.

- Locatelli A. (2013). Prévalence de pathogènes humains dans les sols français, effet des facteurs pédoclimatiques, biologiques et du mode d'utilisation des sols. Thèse de Doctorat, UFR Sciences agricoles, Université de Bourgogne, Bourgogne, France, 188 p.
- Mathieu C. (2020). Le sol, l'épiderme vivant de notre planète. *Planet vie*, 195 : 15-28.
- Morel R. (1996). Les sols cultivés, 2 éd. Paris : Tech. Doc, Paris, France, 389 p.
- Niane B., Guédron S., Feder F., Legros S., Ngom P.M. & Moritz R. (2019). Impact of recent artisanal small-scale gold mining in Sénégal : Mercury and methylmercury contamination of terrestrial and aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, 669 :185-193.
- Pambrun V. (2005). Analyse et modélisation de la nitrification partielle et de la précipitation concomitante du phosphore dans un réacteur à alimentation séquentielle. Thèse de Doctorat, UFR Génie des Procédés et de l'Environnement, L'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, Toulouse, France, 287p
- PNUD. (2014). Le rapport sur le développement humain 2014 du PNUD coordonné à l'échelle mondiale. Texte et annexes. Rapport, 73 p.
- Piquette E.1& Wintz M. (2009). L'eau : ressource unique et gestion éclatée. *Économie rurale*, 310 :74-91.
- Ramseier M.K., Von Gunten U., Freihofer P. & Hammes F. (2011). Kinetics of membrane damage to high (HNA) and low (LNA) nucleic acid bacterial clusters in drinking water by ozone, chlorine, chlorine dioxide, monochloramine, ferrate (VI), and permanganate. *Water Research*, 45 (3) : 1490-1500.
- Rogers P & Garcia J.L. (2001). Introduction à La Microbiologie Du Sol. *Journal Université de Provence*, 94 :184-193.
- Romdhane M. (2011). Immobilisation des bactéries isolées à partir des zones minières sur des supports polymériques pour la bio remédiation. Mémoire de Master Professionnel Développement Industriel Des Produits De Sante, UFR Biotechnologie, Université de la Manouba, Tunisie, 49 p.
- Schrorth M., Hildebrand D & Panopoulos N. (2006). Phytopathogenic Pseudomonas and Related Plant –Associated Pseudomonas. *Prokaryote*, 6 :714-740.
- Siheme S. (2009). Détection et caractérisation de bactériocines produites par des souches de rhizobia contre des souches de Pseudomonas (*P. savastanoi* et *P. syringa* phytopathogènes. Mémoire de Master en Biotechnologie, UFR Science, Université d'Oran ES-Senia, Algérie, 80 p.
- Simon M. (2009). L'eau, de l'absorption à la transpiration. *Biologie végétale*, 6 :64-71.

- Soltner D. (2003). Les bases de la production végétale. Tome I. Le sol et son évolution. *Collection Sciences et Techniques Agricoles*. 23e Edition, Paris, France, 472 p.
- Soltner D. (2005). Les bases de la production végétale, ti : le sol et son amélioration., 22e Edition, Editions Sciences et techniques agricoles "Le Clos Lorelle"- 49130 Saint-Gemmes-Sur-Loire, France, 472 p.
- Telmer K. H & Veiga M. M. (2009). World emissions of mercury from artisanal and smallscale gold mining. *In Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere*, 90 :131–172.
- Tomicic C., Vernez D., Belem T., & Berode M. (2011). Human mercury exposure associated with small-scale gold mining in Burkina Faso. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 84(5) : 53-80.
- Vital M., Stucki D., Egli T. & Hammes F. (2010). Evaluating the growth potential of pathogenic bacteria in water. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (19) : 6477-6484.
- Weldhagen G.F., Poirel L. & Nordmann P. (2003). Ambler class A extended-spectrum betalactamases in *Pseudomonas aeruginosa* : novel developments and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(8) : 2385-2392.

RESUME

En Côte d'Ivoire, les revenus miniers sont en constante progression depuis plusieurs années, l'orpaillage prend donc de l'ampleur très rapidement et touche de nombreuses régions. Cependant même si l'orpaillage participe au développement économique, son impact sur l'environnement est indéniable. L'objectif général de ce travail est d'étudier les communautés microbiennes présentes dans le sol et l'eau du site d'orpaillage de Kokumbo qui ont une activité de bio-remédiation propice pour une agriculture durable. Après l'isolement des, les souches ont été caractérisées et identifiées par des méthodes phénotypiques et biochimiques. Les résultats ont montré la présence de genres *Bacillus*, *Clostridium*, *staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* avec dominance du genre *Escherichia coli* et d'autres type de souche bactérienne. Pour terminer, le défi le plus important serait de valoriser ces souches afin de les utiliser pour effectuer une activité de bio-remédiation propice pour l'agriculture durable.

Mots clés : Orpaillage, microorganismes, bioremédiation, agriculture

ABSTRACT

In Côte d'Ivoire, mining revenues have been steadily increasing for several years, so gold panning is expanding very rapidly and affecting many regions. However, even if gold panning contributes to economic development, its impact on the environment is undeniable. The general objective of this work is to study the microbial communities present in the soil and water of the Kokumbo gold mining site which have a bio-remediation activity conducive to sustainable agriculture. After isolation of the microorganisms, the strains were characterized and identified by phenotypic and biochemical methods. The results showed the presence of *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* with dominance of the genus *Escherichia coli* and other types of bacterial strains. Finally, the most important challenge would be to valorize these strains in order to use them to perform a bio-remediation activity suitable for sustainable agriculture.

Keywords: Gold panning, microorganisms, bioremediation, agriculture