

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR ANNABA

Faculté des sciences

Département des Sciences de la Mer

جامعة باجي مختار عنابة

Laboratoire d'Ecobiologie des
Milieux Marins et Littoraux



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Magistère en Sciences de la Mer

Thème

**Moule *Perna perna* peuplant le golfe
d'Annaba : croissance, reproduction et qualité
bactériologique**

Présenté par :

Mlle Kerdoussi Asma

Devant le jury :

Président : M. TAHAR Ali

Pr.Université Annaba

Promoteur : M. BENSOUILAH Mourad

Pr.Université Annaba

Examineurs : M^{me} BELDI Hayet
Annaba

MC. Université

M. OUALI Kheireddine
Annaba

MC. Université

Remerciements

Année 2010

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à Monsieur TAHAR Ali, professeur à l'université d'Annaba, qui malgré ses nombreuses responsabilités, m'a permis de mener à bien l'étude statistique et m'a fait l'honneur de présider mon jury.

Mes respectueux remerciements vont à Monsieur BENSOUILAH Mourad, professeur au département des sciences de la mer de l'université d'Annaba et directeur du laboratoire d'Ecologie des Milieux Marins et Littoraux (EMMAL), qui a dirigé avec attention ce travail. Grâce à sa grande expérience, il m'a fait bénéficier de ses remarques constructives et de ses connaissances scientifiques, qu'il trouve dans ces quelques mots, le témoignage de mon estime et de ma profonde gratitude et reconnaissance.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame BELDI Hayet, maître de conférence à l'université d'Annaba, qui a eu l'amabilité d'examiner ce modeste travail et de participer à mon jury.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur OUALI Kheireddine, maître de conférence à l'université d'Annaba, qui a patiemment répondu à mes questions en statistiques et m'a fait honneur de sa présence dans mon jury.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur MERAD Tarek maître de conférence à l'université d'Annaba, qui m'a honoré en acceptant de porter un regard expert sur mon travail.

Mes vifs et sincères remerciements, s'adresse à Monsieur KADRI Skander pour son aide précieuse, ses encouragements et ses conseils.

En fin, mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidés, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail, en particulier Imane, Mina, Nadira, Imène meriem, Nadira, Sandra, Achwak et toute l'équipe du laboratoire EMMAL.

Sommaire :

Introduction	1
Matériel et méthodes	5
1. Présentation de la zone d'étude	5
1.1. Le Golfe d'Annaba	5

1.2.	Sites d'échantillonnages.....	6
2.	Présentation de l'espèce étudiée (la moule <i>Perna perna</i>).....	9
2.1.	Identification, biologie et morphologie du modèle biologique.....	9
2.2.	Position systématique de la moule <i>Perna perna</i>	10
2.3.	Intérêt.....	11
3.	Stratégie d'échantillonnage.....	11
3.1.	Prélèvement de l'eau.....	11
3.2.	Récolte des bivalves.....	12
4.	Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau.....	13
5.	Traitement des échantillons.....	13
5.1.	Analyse bactériologique des échantillons.....	13
5.1.1.	Préparation des échantillons.....	14
5.1.2.	Analyse bactériologique de l'eau.....	14
1.	Préparation des dilutions décimales.....	14
2.	Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et recherche d' <i>Escherichia coli</i>	15
3.	Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des Streptocoques de groupe sérologique D de Lancefiel.....	18
5.1.3.	Analyse bactériologique des bivalves.....	20
1.	Préparation des dilutions décimales.....	20
2.	Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et recherche d' <i>Escherichia coli</i>	21
3.	Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des <i>Streptocoques</i> du groupe sérologique D de Lancefield.....	23
5.1.4.	Détermination de la source probable de la contamination.....	26
5.1.5.	Recherche de Salmonella (eau et bivalves).....	26
5.2.	Etude biométrique des bivalves.....	30
1.	Mesures et pesés de la moule <i>Perna perna</i>	30
2.	Distribution de fréquence de taille.....	32
3.	Etude des paramètres biologiques de la moule <i>Perna perna</i>	32
3.1.	Etude de l'âge.....	32
3.2.	Etude de la croissance.....	33
3.2.1.	Croissance linéaire.....	33
3.2.2.	Croissance relative (relation taille-poids).....	34
3.3.	Indice de condition et périodes de ponte.....	35
3.4.	Détermination du Sex-Ratio (SR).....	35
3.5.	Etude de la reproduction.....	35
1.	Maturation des gonades.....	35
2.	Stades de maturité sexuelle.....	36
3.	Etude histologique.....	38
6.	Biomarqueurs (GSH et GST).....	39
6.1.	Collecte du matériel biologique.....	39
6.2.	Préparation de la fraction post-mitochondriale (S9).....	39
6.3.	Dosage des protéines.....	40
6.4.	Dosage de l'activité du Glutathion-S-Transférase (GST).....	41
6.5.	Dosage de l'activité du Glutathion réduit (GSH).....	41
7.	Analyses statistiques.....	41
7.1.	Introduction.....	41
7.2.	Méthodes statistiques univariées.....	42
7.2.1.	Description des données.....	42
7.2.2.	Comparaison entre stations des caractéristiques moyennes : test de l'analyse de la variance.....	42

Résultats	45
1. Les paramètres physico-chimiques de l'eau.....	45
1.1. La Température.....	45
1.2. La Chlorophylle a.....	46
1.3. Les matières en suspension.....	47
1.4. L'oxygène dissous.....	48
1.5. La salinité.....	49
1.6. Le pH.....	50
2. Les paramètres bactériologiques (Eau et Bivalves).....	51
2.1. Distribution des germes pathogènes (eau et moules).....	51
2.2. Distribution des germes indicateurs de pollution fécale (eau et bivalves).....	52
2.2.1. Distribution des germes dans l'eau de mer.....	52
1. Les Coliformes totaux.....	52
2. Les Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>).....	53
3. Les Streptocoques totaux.....	54
4. Les Streptocoques fécaux.....	55
2.2.2. Distribution des germes chez les moules.....	55
1. Les Coliformes totaux.....	56
2. Les Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>).....	57
3. Les Streptocoques totaux.....	58
4. Les Streptocoques fécaux.....	59
2.3. Origine de la contamination de l'eau.....	60
3. Les paramètres biométriques.....	61
3.1. Sex-ratio.....	61
3.2. Indice de condition.....	62
3.3. La croissance linéaire.....	63
3.4. Croissance relative.....	68
3.5. Distribution des fréquences de taille.....	73
4. Etude du cycle de reproduction.....	77
5. Biomarqueurs.....	78
5.1. Glutathion réduit (GSH).....	78
5.2. Glutathion-S-transférase (GST).....	80
Résultats statistiques	81
1. Paramètres physico-chimiques de l'eau.....	81
2. Paramètres bactériologiques.....	82
3. Paramètres de croissance (biométrie).....	83
4. Biomarqueurs (GSH et GST).....	84
Discussion	85
Conclusion	100
Références bibliographiques	102
Annexes	122
Résumé	

Listes des figures

Figure	Titre	Page
01	Représentation du Golfe d'Annaba	05
02	Positionnement des sites d'étude	07

03	Image satellitaire montrant le site 1 : Cap de Garde	07
04	Image satellitaire montrant le site 2 : Rezgui Rachid	08
05	Image satellitaire montrant le site 3 : Sidi Salem	08
06	Image satellitaire montrant le site 4 : Hnaya	09
07	<i>Perna perna</i> (linnaeus,1758)	10
08	Préparation des dilutions	15
09	Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (Test présumé)	17
10	Identification des coliformes thermotolérants et <i>E. coli</i> présumé dans l'eau (test confirmatif).	17
11	Recherche et dénombrement des Entérocoques totaux dans l'eau (test présumé)	19
12	confirmation de la recherche des Streptocoques.	20
13	Préparation des dilutions des échantillons à analyser	21
14	Recherche et dénombrement des coliformes totaux chez les bivalves (test présumé).	22
15	Recherche des coliformes thermotolérants et d' <i>Escherichia coli</i> présumé chez les bivalves, (test confirmatif)	23
16	recherche et dénombrement des Entérocoques totaux chez les bivalves (test présumé).	24
17	Recherche des Salmonelles	28
18	isolement de colonie suspecte et réalisation de suspension bactérienne (Biomérieux, 2006)	29
19	Inoculation de la galerie API 20 E (Biomérieux, 2006).	30
20	Les différents paramètres linéaires mesurés	31
21	Différenciation des gonades males et femelles chez la moule <i>Perna perna</i> .	36
22	Variations mensuelles de la température de l'eau du littoral d'Annaba	45
23	Variations mensuelles de la Chlorophylle « a » de l'eau du littoral d'Annaba	46
24	Variations mensuelles de la matière en suspension de l'eau du littoral d'Annaba	47
25	Variations mensuelles de l'oxygène dissous de l'eau du littoral d'Annaba	48
26	Variations mensuelles de la salinité de l'eau du littoral d'Annaba	49
27	Variations mensuelles du potentiel d'hydrogène de l'eau du littoral d'Annaba	50
28	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux dans l'eau du littoral d'Annaba	52
29	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes fécaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba	53
30	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba	54
31	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba	55
32	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba	56
33	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes fécaux	57

	relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba	
34	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba	58
35	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba	59
36	Variations spatio-temporelles de l'origine de la contamination des eaux du littoral d'Annaba	60
37	Variations spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées à Hnaya et au Cap de garde	61
38	Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules récoltées au Cap de Garde et à Hnaya	63
39	Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P.perna</i> provenant de Hnaya	64
40	Estimation de la longueur maximale de <i>P.perna</i> de Hnaya	64
41	Estimation du coefficient de croissance (K) de <i>P.perna</i> de Hnaya.	65
42	Tracé de la courbe de croissance, de <i>P.perna</i> récoltée à l'Hnaya, réalisé à partir des paramètres de croissance calculés.	65
43	Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P.perna</i> provenant du Cap de Garde	66
44	Estimation de la longueur maximale de <i>P.perna</i> du Cap de Garde.	66
45	Estimation du coefficient de croissance (K) de <i>P.perna</i> du cap de Garde.	67
46	Tracé de la courbe de croissance, de <i>P.perna</i> récoltée au Cap de Garde, réalisé à partir des paramètres de croissance calculés.	67
47	Régression entre la longueur totale et la largeur chez la moule <i>P.perna</i> provenant du littoral d'Annaba.	69
48	Régression entre la longueur totale et l'épaisseur chez la moule <i>P.perna</i> provenant du littoral d'Annaba	70
49	Régression entre la largeur et l'épaisseur chez la moule <i>P.perna</i> provenant du littoral d'Annaba.	71
50	Régression entre la longueur totale et le poids total chez la moule <i>P.perna</i> récoltée à Hnaya	72
51	Régression entre la longueur totale et le poids total chez la moule <i>P.perna</i> provenant du Cap de Garde.	73
52	Distribution des fréquences de taille des moules récoltées dans le Cap de Garde	73
53	Distribution des fréquences de taille des moules récoltées à Hnaya	74
54	Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade male chez la moule <i>Perna perna</i> .	76
55	Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade femelle chez la moule <i>Perna perna</i>	77
56	Taux de glutathion en μM GSH/mg de protéines dans les Branchies et les glandes digestive de <i>Perna perna</i> prélevée aux quatre sites d'étude de Février 2009 à janvier 2010	78
57	Activités de la GST en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines dans les branchies (Br) et la glande digestives (GD) de <i>Perna perna</i> prélevée au niveau des quatre sites d'échantillonnage durant 12 mois d'étude.	80
58	<i>Escherichia coli</i> (E.coli) en coloration Gram	129

59	Les <i>Streptocoques</i> germes indicateurs d'une contamination fécale (wikipedia, 2008).	132
60	Salmonelles (<i>Salmonella typhimurium</i>), en rouge, sur une culture de cellules humaines (Wikipédia)	133
61	<i>Citrobacter freundii</i> (Wikipédia)	135
62	<i>Proteus vulgaris</i> , a gram-negative bacterium is demonstrated by the red/pink colouration from the gram stain. Its bacillus (rod) shape is revealed along with its peritrichous flagella.	136
63	Structure et anatomie d'une moule.	140
64	Disposition des insertions musculaires sur la coquille de <i>Perna perna</i> (A) et <i>Mytilus galloprovincialis</i> (B)	143
65	Charnière de la valve gauche.	144

Liste des tableaux :

Tableau	Titre	Page
01	Le calcul du nombre probable de germes (exemple d'échantillon d'eau).	24
02	Le calcul du nombre probable de germes (exemple de la moule).	25
03	Résultat des tests confirmatifs destinés à la recherche et l'identification des Salmonelles dans l'eau et les bivalves prélevés à Sidi Salem	50
04	Variations mensuelles de l'indice de condition ($m \pm s$, $n=10$) chez <i>P. perna</i> récoltée au Cap de Garde et à Hnaya	61
05	Paramètres de croissance de la moule <i>Perna perna</i> provenant du Cap et de Hnaya.	62
06	Équation de régressions reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule <i>P. perna</i> récoltée dans le littoral d'Annaba.	67
07	Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez <i>P. perna</i> provenant du littoral d'Annaba.	70
08	Résultats des différents stades sexuels de la moule <i>Perna perna</i> observe en histologie pour chaque site et par sexe.	74
09	Modèle linéaire généralisé appliquée pour l'ensemble des sites en fonction de facteurs physicochimique (O ₂ dissous, pH, MES, chlorophylle a, température, salinité) chez la moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba.	81
10	Résultats d'AV2 appliquée sur les paramètres linéaires et pondéraux de la moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba en fonction des sites et des mois	82
11	Résultats de AV2 applique dans la comparaison de l'indice de condition (IC) de moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba en fonction des sites et des mois	83
12	Résultats d'AV2 appliquée pour la comparaison de la sex-ratio (S/R) en fonction des mois et des sites	83
13	Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des sites chez la moule <i>P. perna</i> du littoral Nord Est Algérien.	84

14	Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des saisons chez la moule <i>P. perna</i> du littoral Nord Est Algérien.	84
15	Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production (Communauté Européenne, 1991).	91
16	Parametres de croissance de Von Bertalenffy de la moule <i>P.perna</i> et d'autres especes de moules dans la literature dans differentes regions .	95
17	Principaux agents pathogènes pour les animaux à sang chaud et pour l'homme, fréquents dans les eaux polluées (Creteur, 1998)	124
18	Comportement de quelques groupes microbiens en fonction du milieu (Guiraud, 2003)	127
19	Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport de Bourgeois (1980).	131
20	Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF. Borrego et Romero (1982).	131
21	Caractères distinctifs entre la musculature de <i>M. galloprovincialis</i> et de <i>Perna perna</i> (Linneaus, 1758)	140
22	réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines	146
23	préparation pour l'analyse de l'activité du glutathion S-tranférase	147
24	Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (Eau).	154
25	Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (bivalves).	154
26	Normes de la qualité requise des eaux de baignades (directive européenne du 8 décembre 1975 , reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991. J.Off.Comm.Europ et par le décret exécutif N° :93-164 du 10 juillet 1993. JORA N° 46.	155
27	Normes de la qualité des eaux conchylicoles (Communauté Européenne, 1991).	155
28	Critères microbiologiques pour les coquillages bivalves (arrêté européen du 23 mars 1993).	156
29	Principale industrie déversant dans le Golfe d'Annaba (DEWA, 2002).	156
30	Représentations des rejets domestiques de la wilaya D'Annaba et de leurs milieux récepteurs (DEWA, 2002).	157
31	Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d'Annaba DHWA (2008).	157
32	protocole pour l'histologie ; d'hydratation et inclusion des tissus gonadiques	158
33	Protocole pour l'histologie, d'hydratation et inclusion des tissus gonadiques.	159
34	ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour l'eau	167
35	ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour les bivalves	168
36	ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour les biomarqueurs.	169
37	ANOVA pour l'analyse bactériologique : par saison	170

38	ANOVA pour l'analyse bactériologique de l'eau : par site	172
39	ANOVA pour l'analyse bactériologique des bivalves : par site	172
40	ANOVA : biomarqueurs par sites	172
41	ANOVA : biomarqueurs par saison	173
42	AV2 pour les paramètres pondéraux et linéaires	173
43	AV2 pour IC	173
44	AV2 pour SR	173
45	Corrélation pour les paramètres bactériologiques de l'eau	174
46	Corrélation pour les paramètres bactériologiques des bivalves	175
47	Corrélation pour les biomarqueurs	176
48	Corrélation pour les paramètres de croissance des bivalves	177
49	Corrélation (Cap de Garde) : Lt CG; La CG; Ep CG; Wt CG	178
50	Corrélation (Hnaya) : Lt H; La H; Ep H; Wt H	178

Liste des symboles

Symboles	Définitions
T°C	Température (en degré Celsius)
h	Heure
mn	Minute
O ₂	Oxygène dissous
fig	Figure
tab	Tableau
g	Gramme
mg	Milligramme
ml	Millimètre
cm	Centimètre
<i>et al</i>	Et collaborateurs
SR	Sex-ratio
K	Coefficient de croissance
L _∞	Longueur asymptotique
Wt	Poids total
La	Largeur
Lt	Longueur total
Ep	Epaisseur
CT	Coliformes totaux

CF	Coliformes fécaux
ST	Streptocoques totaux
SF	Streptocoques fécaux
Chl a	Chlorophylle a
MES	Matières en suspension
IC	Indice de condition
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathione S-Transférase
Gd	Glande digestive
Br	Branchies

Introduction

Introduction :

L'introduction et l'accumulation des polluants dans le milieu naturel constituent une préoccupation majeure dans la surveillance de l'environnement du fait que celui-ci subit en permanence des séries de contraintes liées aux activités humaines.

Croyant aux propriétés purificatrices sans limite de l'environnement aquatique, l'homme l'a utilisé sans crainte comme poubelle ou déchetterie du monde, déversant dans les eaux littorales par négligence tous les rejets, toxiques ou non, radioactifs ou pétroliers, aussi bien dans les estuaires qu'à proximité des côtes. Mais la vérité, c'est que l'océan lui-même n'est plus considéré officiellement comme un réservoir infini (Lacaze et Ramade, 1993).

Pour les mers fermées, les menaces sont inversement proportionnelles à leur dimension (Lacaze et Ramade, 1993), leurs surfaces et leurs volumes sont limités et les brassages par les courants y sont faibles (Arrignon, 1991). Le milieu marin méditerranéen est particulièrement exposé au déversement de déchets agricoles, de particules en suspension dans l'air et d'eaux de ruissellement chargées d'agents pathogènes, de métaux lourds, de matières organiques polluantes, d'huiles et de substances radioactives, (MeHSIP, 2008), dont l'origine sont les activités industrielles, les transports maritimes (30% du trafic maritime mondial) et les activités domestiques avec des rejets en mer estimés à 6.10^5 tonnes chaque année, soit l'équivalent de 30 catastrophes de type "Erika" (Gallini, 2008).

Le golfe d'Annaba connaît au même titre que le reste du littoral Algérien, les mêmes problèmes environnementaux; Il est exposé aux risques des différents types de pollutions d'origine anthropique qui ont un impact sur les organismes qui y vivent et sur l'homme.

A tout cela s'ajoute le changement climatique qui a des répercussions sur la qualité de l'eau, en particulier sur la pollution bactériologique; les taux d'acidité des mers et océans qui ne cessent d'augmenter à cause des gaz à effets de serre, ne sont pas les seules manifestations. Le changement climatique se manifeste par un réchauffement global, et donc une augmentation de la température des eaux de surface (cours d'eaux, lacs, mers). Or une augmentation de la température de l'eau modifie les conditions de vie des microorganismes qui y vivent. En particulier, une augmentation de quelques degrés peut favoriser la prolifération d'amibes, de bactéries (comme vibrio), d'algues et phytoplancton toxiques, et la libération de toxines. La qualité des eaux de baignades et la salubrité des produits de la mer sont ainsi altérées.

Les poissons et les fruits de mer sont la deuxième source de protéines animales derrière la viande. L'exploitation des statistiques sur les produits de la pêche dans le monde,

montre que les mollusques et les crustacés constituent la principale ressource d'invertébrés marins (Laubier, 1987).

Les moules sont sans doute le moyen le plus efficace de convertir la matière organique produite par l'organisme marin autotrophe situé au premier niveau de la chaîne alimentaire (phytoplancton) en une nourriture humaine agréable et riche.

En raison de leur capacité de filtration et d'accumulation importante des particules et polluants du milieu, les moules ont été retenus comme bio-indicateur de la contamination, par excellence (Jorgensen, 1960). Elles sont, en effet, utilisées comme indicateurs biologiques dans des programmes de biosurveillance afin de mesurer le degré de pollution environnementale.

La consommation des bivalves contaminés, expose le consommateur à un risque de toxi-infection : Fièvre typhoïde, Salmonellose, Shigellose, Campylobactériose, Choléra, Gastro-entérite virale et Hépatite A (Smith De Waal *et al.* , 2001). En France, des épidémies de gastro-entérites liées à la consommation de coquillage, ont été enregistrées en 1983 (4000 cas) et en 1992 (huîtres de l'étang de Thau). Aux USA, entre 1990 et 2000, il a été répertorié 66 sortes d'épidémies, dont 3299 cas ont pour origine l'ingestion de mollusques bivalves (Smith De Waal *et al.*, 2001).

Pour préserver le consommateur, la communauté européenne (1991) à tout d'abord édictée des normes de concentration en coliformes fécaux, pris comme indicateur de contamination potentielle des eaux par des germes pathogènes : 10^2 *E. coli* /100ml dans les eaux de baignades et $2.3 \cdot 10^2$ *E. coli* /100ml dans les eaux de conchyliculture.

Par la suite, la directive européenne 91/492/EC (Communauté européenne, 1991) définit les critères microbiologiques pour les bivalves; cette dernière établit que la qualité microbiologique de ces aliments doit être contrôlée en mesurant les Coliformes fécaux (moins de 300 pour 100g), *Escherichia coli* (230 pour 100g), et les *salmonelles* (absence).

La moule *Perna perna* est depuis longtemps signalée sur les cotes d'Afrique du Nord, sous les noms de *Mytilus africanus* (Chemnitz) ou *Mytilus pictus* (Born). Lubet (1973) n'a pu trouver de différences entre les espèces *Perna perna* d'Amérique du sud et *Mytilus Africanus* d'Afrique. Ces populations semblent donc appartenir à une seule espèce *Perna perna* (Linnaeus, 1758) ; cette espèce est largement répandue dans le monde puisqu'on la rencontre sur les côtes Est et Ouest de l'Atlantique tropical et subtropical : Mauritanie, Sénégal, Congo,

Angola, Amérique du Sud (Antilles, Guyanne, Brésil) et sur les bords de la Méditerranée (côtes d'Afrique du Nord : Tunisie, Maroc, Algérie).

Les moulières naturelles d'Algérie comportent fréquemment deux espèces de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) et *Perna perna* (Linné). «Ces deux espèces si distinctes peuvent se cueillir ensemble attachées sur le même support » (Pallary, 1921). Il ne semble pas qu'il s'agisse d'une particularité des moulières d'Algérie, puisque Zaouali (1973) signale que ces deux espèces coexistent dans les moulières de la région sud de Bizerte.

Mytilus galloprovincialis a fait l'objet de nombreux travaux en Méditerranée, alors que *Perna perna* a été peu étudiée mis à part l'étude sur son écologie par Siddal, (1980), sur sa reproduction et la structure de ses populations à Bordj el kiffan par Boukroufa (1987) et dans le golfe d'Annaba par Chaoui (1993). D'une manière générale, l'étude des moulières naturelles du Maghreb a été négligée. Pourtant, Gruvel (1926) signalait que leur exploitation pouvait entraîner une mytiliculture fructueuse.

L'étude de la biologie et de la dynamique des populations de bivalves de cette espèce présente un intérêt scientifique indéniable; Les connaissances de leur cycle de reproduction et des paramètres environnementaux pouvant l'influencer peuvent constituer des données de base nécessaires pour toute exploitation commerciale de ce mollusque, ainsi que pour son utilisation dans la biosurveillance du littoral. Ces espèces sont depuis longtemps considérées comme sentinelles, à cause de leur immobilité relative et de leur sédentarité qui leur fait acquérir un large spectre de sensibilités à la pollution (Carpenter, 1924).

L'étude de la biologie de ces bivalves est utile à plus d'un titre du fait qu'elle représente le reflet d'une réponse plus globale de l'organisme et rendrait mieux compte des effets de la contamination sur l'organisme et potentiellement sur la population (Amiard et Amiard-Triquet, 2008).

Cette étude comporte plusieurs volets :

- ❖ Un suivi de l'évolution des paramètres physico-chimiques (Température, pH, Oxygène dissous, salinité, matières en suspensions et Chlorophylle a) de l'eau de mer.
- ❖ Détermination de la qualité bactériologique de l'eau et des bivalves par la recherche et le dénombrement des indicateurs de contamination et leur distribution spatio-temporelle ; Détermination de la source probable de la contamination.

- ❖ Un suivi de l'indice de condition de la moule *Perna perna* provenant du littoral d'Annaba.
- ❖ Une étude de la croissance des moules de l'espèce *Perna perna* provenant de deux moulières naturelles ;
- ❖ Une étude histologique des gonades des moules *Perna perna* et l'impact des paramètres physico chimiques sur le cycle de la reproduction.
- ❖ Un suivi de l'évolution de la teneur de la GSH et de l'activité de la GST chez l'espèce étudiée.

Matériels et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Le Golfe d'Annaba

Situé dans le littoral Est Algérien, est limité à l'Est par le Cap Rosa ($8^{\circ} 15' E$ $36^{\circ} 58' N$) et à l'Ouest par le Cap de Garde ($57^{\circ} 16' E$ et $36^{\circ} 58' N$). La distance séparant les deux caps est d'environ 21.5 milles (40Km). La profondeur maximale des eaux est de 65m. Le plateau continental est accidenté et nettement restreint au nord du Cap de Garde (4.5 milles), puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 1405 milles (27km) pour se rétrécir légèrement à l'Est au voisinage du Cap Rosa (Vaissiaire et Fredj, 1963) (figure 1).

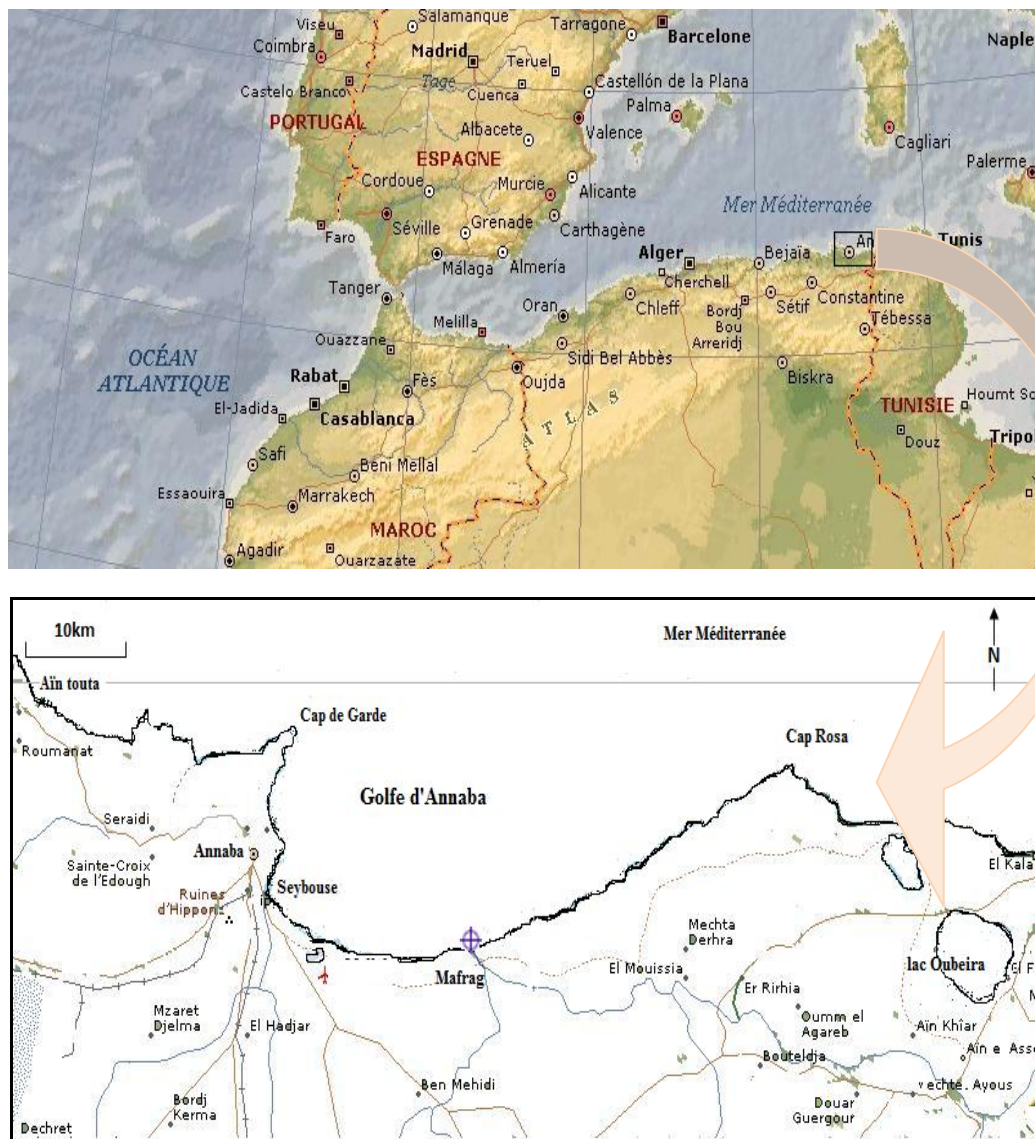


Figure 1 : Représentation du Golfe d'Annaba.

Du point de vue sédimentologie, le fond marin débute par du sable fin dans le secteur Ouest puis ce sable se mélange avec de la vase fine dans le secteur Est. Une chaîne d'herbiers de posidonies, installées sur des substrats rocheux qui se continuent par des vases terrigènes molles mélangées à du sable ou des débris coquilliers (Maurin, 1961).

La température varie entre 16°C en hiver et 28.8°C en été avec une amplitude de 12.8°C (Frehi, 1998) ; la température joue un rôle important dans les variations de densité de l'eau. Ounissi et al. (1998) rapportent que l'écart de la température, entre l'eau de surface et celle se trouvant à 50m, dépasse 4°C ; quant à la salinité, la différence entre l'eau de surface et celles des profondeurs, n'excède pas 1‰.

Dans le golfe d'Annaba, il existe trois groupes de vents dominant : des vents de Nord-Ouest qui peuvent atteindre 9 nœuds, et provoquent une hauteur de vague de l'ordre de 9m. Des vents de Nord Nord-est, de 5 à 8 nœuds qui peuvent engendrer des tempêtes de courte durée. Des vents d'Est, de 9 nœuds qui peuvent perturber la navigation et engendrer des avaries et des dégâts dans le port du fait de son ouverture orienté vers l'Est.

Les courants dans le golfe d'Annaba, présentent à son ouverture, après le Cap de Garde, une circulation orientée vers l'Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons pouvant atteindre 0.5 à 1m/s. ce courant part de la face Sud Est du Cap de Garde en direction de l'embouchure de l'Oued Mafragh (Anonyme, 1976).

La baie d'Annaba reçoit des rejets directs de plusieurs industries installées sur la côte, en particulier celle des produits phytosanitaires (Asmidal). Elle reçoit également les eaux usées urbaines qui subissent qu'un traitement sommaire au niveau de station de Sidi Brahim. Les autres stations sont destinées à la collecte des eaux usées. De nombreuses autres sources d'eaux usées sont réparties tout le long du littoral (Oued Seybousse, Oued Bedjima, Rizamor).

1.2. Sites d'échantillonnages:

Du fait de certains problèmes (difficultés d'accès, absence de moules, etc.), le choix des sites étudiés a été basé sur leur emplacement par rapport aux différents rejets de la source de pollution (rejets des Oueds et des zones industrielles). Quatre sites de prélèvement de moules et d'eau ont été choisis, de l'Ouest vers l'Est (figure 2).



Figure 2: Positionnement des sites d'étude (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 1 : Cap de Garde:**

Il se situe à l'Ouest de la zone d'étude ($36^{\circ}57'59.94''$ N $7^{\circ}47'38.30''$ E), il est supposé n'être exposée à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets, mis a part la présence de quelque habitations, non reliées au réseau d'assainissement ainsi que son accessibilité en saison estivale (fig.3).



Figure 3: Image satellitaire montrant le site 1 : Cap de Garde (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 2 : Rezgui Rachid (Ex St Cloud) :**

Il est situé dans la zone côtière centre ($36^{\circ}55'2.68''\text{N}$ $7^{\circ}46'4.83''\text{E}$). Il reçoit les rejets urbains des quartiers centre et Ouest d'Annaba sans traitement préalable ainsi que les eaux de pluie. Il est, par ailleurs, très fréquenté en période estivale (fig.4).



Figure 4: Image satellitaire montrant le site 2 : Rezgui Rachid (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 3 : Sidi Salem :**

Il se situe à l'Est de la ville d'Annaba ($36^{\circ}52'18.13''\text{N}$ $7^{\circ}46'8.32''\text{E}$) dans la commune d'El Bouni entre oued Seybouse et Bedjimâa, il reçoit les rejets industriels du complexe d'engrais phosphatés de Fertial ainsi que les rejets urbains d'une grande partie de la ville d'Annaba par le biais de oued Bedjimâa et des agglomérations situées dans le bassin versant de oued Seybouse. Bien que non autorisé à la baignade, il est très fréquenté en période estivale (fig.5).



Figure 5: Image satellitaire montrant le site 3 : Sidi Salem (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 4 : Hnaya :**

Il se situe à l'Est du Golfe d'Annaba ($36^{\circ}53'6.59''\text{N}$ $8^{\circ}4'8.70''\text{E}$), il est supposé n'être exposé à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets; il est fréquenté par les pêcheurs et les animaux ainsi que quelques estivants en été (fig.6).



Figure 6 : Image satellitaire montrant le site 4 : Hnaya (Google, 2008 modifiée).

2. Présentation de l'espèce étudiée (la moule *Perna perna*)

2.1. Identification, biologie et morphologie du modèle biologique :

La moule africaine *Perna perna* (Lamarck, 1758) est un mollusque bivalve de forme allongée qui possède une charnière munie d'une ou deux dents ; fréquemment une dans la valve gauche et 2 dans la valve droite (fig. 7). Les muscles rétracteurs du pied et muscles rétracteurs du byssus forment une empreinte médiodorsale sur la coquille, le muscle rétracteur postérieur du byssus a une empreinte bien visible et adjacente à celle de l'adducteur postérieur, l'intérieur des valves est nacré, blanc rosé. En méditerranée la taille maximale des moules est de 90mm, avec une taille moyenne de 50 à 60mm (Fisher et al., 1987). Elle peut atteindre une longueur maximale de 18cm. La couleur du manteau permet de distinguer les deux sexes en effet, elle est blanchâtre chez les males et rose saumon à orange chez les femelles.



Figure 7: *Perna perna* (Linnaeus, 1758)

On la rencontre sur les substrats durs de l'étage infralittoral et jusqu'à 100m de profondeur. *Perna perna* est une espèce largement répandue dans le monde puisqu'on la rencontre sur les côtes Est et Ouest de l'Atlantique tropical et subtropical, en Amérique du Sud et sur les bords de la Méditerranée (Afrique du Nord : Algérie, Tunisie, Maroc), elle vit en mélange avec *Mytilus galloprovincialis* (Abada-Boudjema et Dauvin, 1995 ; Abada-Boudjema, 1996) et se distingue de cette dernière par la coloration verte, mélangé de brun, de la face externe de ses valves (au lieu de brun foncé), par la coloration blanc jaunâtre de la face interne des valves (au lieu de bleuté à presque noir), par la séparation d'une des trois empreintes musculaires (au lieu que les trois empreintes soient contiguës), et enfin par sa charnière à une seule dent sur chaque valve (au lieu de trois dents sur chaque valve) (Abada-Boudjema, 1996)(figure annexe). Elles sont largement rencontrées dans les eaux saumâtres des lagunes côtières. Ce sont des espèces caractérisées par une forte tolérance vis-à-vis des conditions du milieu, ainsi elles supportent des températures de 13°C en hiver et entre 27 et 28°C en été et des salinités comprise entre 7 et 40 ‰ (Lubet et Chappuis, 1966).

Les bivalves sont des microphages et se nourrissent par filtration de particules en suspension comprenant le phytoplancton, le zooplancton et les résidus organiques ou seston (les moules filtrent jusqu'à 4 litres d'eau /heure). Ils disposent d'un système digestif, d'un système circulatoire ouvert, d'organes reproducteurs et d'un système nerveux élémentaire.

2.2. Position systématique de la moule *Perna perna*

- Embranchement. Mollusques
- Classe. Bivalves
- Sous-classe. Ptériomorphia (Beurle, 1944)
- Ordre. Mytiloïda (Férussac, 1822)

- Famille. Mytilidae (rafinesque,1815)
- Genre. *Perna* (philipsson, 1788)
- Espèce. *perna* (linnaeus,1758).

2.3. Intérêt :

La moule est une espèce modèle en écophysiologie. Elle résiste plus de 12 jours à l'émersion et est capable de résister à des modifications du métabolisme, à l'anoxie et l'hypercapnie. Considérant plusieurs critères biologiques et écotoxicologiques, comme leur mode de vie sédentaire et leur mode de nutrition par filtration, les moules sont considérées comme espèces sentinelles d'écosystèmes côtiers anthropisés. En effet, elles sont utilisées comme indicateurs biologiques dans des programmes de biosurveillance, afin de mesurer le degré de pollution environnementale vue leur capacité de concentrer dans leurs tissus de fortes teneurs en polluants chimiques, métaux lourds et contaminants organiques par filtration de l'eau. De plus, leur sédentarité leur interdit toute possibilité de fuite face à une pollution chronique ou fugitive. Les principaux programmes de biosurveillance utilisant des moules sont le « Mussel Watch » (Goldberg et al., 1978), (Goldberg et al., 2000) et le Réseau National d'Observation (RNO) (Claisse et al., 1992), développés pour surveiller la qualité des eaux côtières.

3. Stratégie d'échantillonnage :

3.1. Prélèvement de l'eau

Les prélèvements d'eau destinée aux analyses bactériologiques sont effectués mensuellement durant la période s'étalant de février 2009 à février 2010.

Les flacons stériles en verre d'une capacité de 250ml sont plongés à une profondeur d'environ -50cm de la surface de l'eau puis ouverte à contre courant ; une fois remplis, ils sont refermés sous l'eau pour éviter la formation de bulles d'air et tout risque de contamination lors du transport.

Pour la surveillance des eaux côtières, l'analyse au laboratoire débute dans un délai maximum de 8 heures après le prélèvement de l'échantillon selon les recommandations de (Rodier, 1984).

Les prélèvements d'eau destinés à l'analyse de la chlorophylle a et à la matière en suspension seront effectués mensuellement durant la même période d'étude des moules, à l'aide d'une bouteille d'échantillonnage de 1,5 litres, conservées à l'abri de la lumière à basse température dans une glacière.

Tout prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignement sur laquelle on note :

- Lieu de prélèvement
- Date et heure de prélèvement
- L'état de la mer
- Le vent (la direction).

3.2. Récolte des bivalves :

L'espèce de bivalves utilisée dans la présente étude est la moule *Perna perna* ; Un échantillonnage mensuel est réalisé dans les 4 sites (Cap de garde, saint Cloud, Sidi Salem et Hnaya) durant la période s'étalant de février 2009 jusqu'à février 2010. La récolte de la moule *P. perna* est effectuée à la main à raison de 50 individus par mois et par site.

Les moules sont immédiatement transportées dans des glacières à T°C de $\pm 4^{\circ}\text{C}$ jusqu'au laboratoire pour être triées, nettoyées et débarrassées de leurs épibiontes ; elles sont ensuite pesées et mesurées.

L'étude bactériologique a nécessité l'utilisation de 4 à 7 individus (selon la taille); les moules destinées à cette étude sont recueillies dans des sacs de congélation propres et étiquetés (date, site, espèce) puis entreposés dans une glacière maintenue à une température comprise entre 4°C à 10°C (A.C.I.A, 2004) jusqu'à leur traitement (le jour même).

4. Mesure des paramètres physico-chimiques :

Les paramètres physico-chimiques étudiés sont : la température, le pH, la salinité, l'oxygène dissous, la matière en suspension et la chlorophylle a.

Les mesures de la température (T°C), le PH, la salinité et l'oxygène dissous ont été réalisés «*in situ*» mensuellement à l'aide de multiparamètres (Consort 525 pour le pH ; Radiomètre analytique (Pionner 20) pour l'oxygène dissous et la température). Chaque appareil doit être calibré avant d'effectuer les mesures ; L'utilisation de ces appareils consiste à : - Faire plonger la sonde dans l'eau ; - Attendre quelques secondes la stabilisation de l'affichage sur l'écran ; - Lire le résultat de la mesure sur l'écran avec son unité de mesure.

Le résultat affiché est reporté sur des fiches préalablement préparées. Dans le but d'éviter que les résultats ne soient erronés, les sondes sont rincées à l'eau distillée puis tamponnées avec du papier absorbant après chaque mesure et pour chaque échantillon.

La détermination de la matière en suspension dans l'eau a été réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration d'échantillon sur un filtre en fibre de verre WHATMAN GF/C 47µm de porosité. Le filtre a été pesé avant et après filtration. La différence de poids permet de connaître le poids sec total de la matière en suspension dans le volume filtré correspondant (Annexe) (Aminot et Chaussepied, 1983).

L'analyse des principaux pigments chlorophylliens (chlorophylles a, b, c et leurs phéopigments) et celle des caroténoïdes nécessite l'extraction. La chlorophylle « a » est facilement et rapidement transformée en phéophytine par acidification, ce qui entraîne une diminution de l'absorption alors qu'aucune modification n'intervient pour la phéophytine acidifiée. La différence d'absorbance avant et après acidification permet donc de déterminer la teneur en chlorophylle « a ». (Méthode monochromatique de LORENZEN (1967) solvant : acétone à 90%)(Annexe).

5. Traitement des échantillons :

5.1. Analyses bactériologiques :

Dans cette étude, nous avons recherché les bactéries indicatrices de pollution fécale (coliformes, streptocoques), puis les bactéries pathogènes strictes (Salmonelles).

En ce qui concerne les bactéries indicatrices de pollution fécale, nous avons procédé à un dénombrement en utilisant une méthode simple, qui est la colimétrie (Annexe). Celle-ci désigne « la technique de numération en tubes multiples »(TNTM) avec détermination du nombre de germes le plus probable (NPP) à partir de la table de Mac Grady extraite de la norme NF T90-413, préconisée par l'unité de coordination de PAM (Plan d'Action pour la

Méditerranée) (Anonyme, 1987). C'est l'examen le plus pratiqué dans les analyses de l'eau ou de fruit de mer, répondant à des préoccupations sanitaires (Rodier, 1978)

Quant aux bactéries pathogènes (Salmonelles) la recherche a été faite par la méthode présence /absence conformément à la norme AFNOR V 08 013. (Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA.)

5.1.1. Préparation des échantillons :

Quelle que soit la nature initiale du produit, l'analyse microbiologique s'effectue toujours à partir d'une suspension. Après ouverture aseptique, l'échantillon sera "homogénéisé" (liquide) ou broyé dans un volume connu de diluant stérile (solide) ce qui constitue en fait la première dilution.

Les dénombrements sur l'eau ont été réalisés sans aucune préparation.

Les moules ont été débarrassées des byssus et des épizoaires présents sur leurs coquilles, puis brossées sous l'eau du robinet, et enfin désinfectées superficiellement par un jet d'alcool et flambage rapide.

Après ouverture aseptique, le contenu entier : chair et liquide intervalvaire est recueilli stérilement, puis dilué, et soumis au broyage par un broyeur homogénéisateur, Ultra-Turrax, préalablement nettoyé (15000 tr/mn pendant 30secondes), afin d'obtenir un broyat homogène considéré comme la dilution mère de l'échantillon à tester (OMS, 1983). L'analyse porte donc sur la chair et le liquide intervalvaire. (Plusquellec et al., 1986 ; Guiraud, 2003).

5.1.2. Analyses bactériologiques de l'eau :

1. Préparation des dilutions :

Conformément aux normes AFNOR NF VO8-010 et ISO 6887-1, on effectue des dilutions décimales pour chaque échantillon à l'aide d'eau distillée stérile; ou tampon phosphate. Elles doivent être effectuées dans des conditions aseptiques et minutieuses. Les dilutions suivent des séries logarithmiques dont les termes sont en progression géométriques : 0.1 ; 0.01 ; 0.001 ;...etc.

***Les dilutions :**

- Dilution 10° : consiste à la prise directe de la solution mère.

- Dilution 10^{-1} : dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1 ml d'eau à analyser (10°).

- Dilution 10^{-2} : dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1 ml de la dilution 10^{-1} à 9 ml d'eau distillée stérile (**fig.8**).

NB : l'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer chaque dilution.

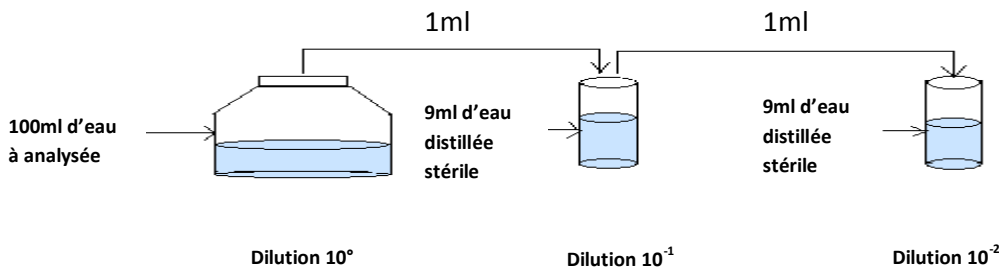


Figure 8 : Préparation des dilutions

2. Dénombrement des coliformes totaux et recherche d'*E. coli* (Dénombrement en milieu liquide :

Conformément à la norme NF T90- 413, La numération des coliformes est réalisée par ensemencement de 1 ml de l'aliment (ou de sa suspension mère) et de ses dilutions dans un bouillon lactosé bilié au vert brillant simple concentration S/C (BLBVB), dans des tubes munis de cloches de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par :

- Un virage de couleur dans toute la masse liquide.
- Un dégagement de gaz dans les cloches.

Mode opératoire : la colimétrie comporte deux tests : - Un test présomptif. et un test confirmatif.

Le dénombrement est effectué suivant la méthode du nombre le plus probable (NPP) de la table de Mac Grady.

***Test présomptif : dénombrement des coliformes totaux**

- ✓ On prépare 3 séries de 3 tubes chacun contenant 9 ml de bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) simple concentration S/C munis de cloches de Durham.
- ✓ Chacun des 3 tubes de la première série reçoit 1 ml de la dilution 10^0 (solution mère). Les tubes de la deuxième et troisième série reçoivent respectivement 1 ml de la dilution 10^{-1} et 1 ml de la dilution 10^{-2} .
- ✓ Nous agitons pour homogénéiser, sans faire pénétrer l'air dans la cloche de Durham.
- ✓ L'ensemble des tubes ainsi préparés est incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures (**fig.9**).

Remarque : Cette phase de la colimétrie se base sur la propriété commune des coliformes pour fermenter le lactose tout en produisant du gaz ; elle ne permet que de présumer de la présence des coliformes dans l'eau à analyser. De ce fait, l'application du test confirmatif s'impose.

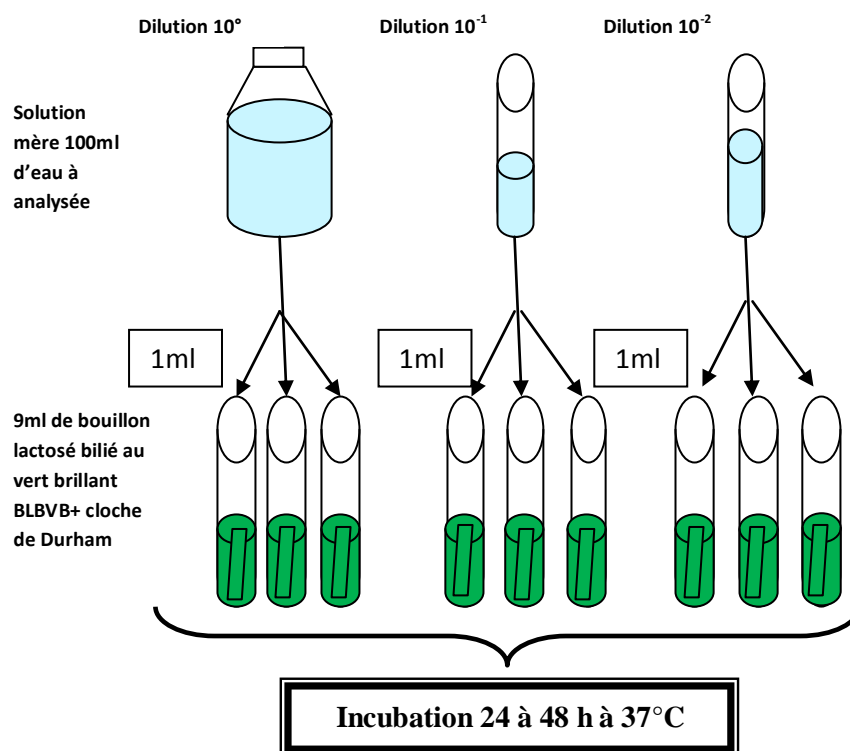


Figure 9 : Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (Test présomptif)

***Test confirmatif (Test de Mac KENZIE) Identification des Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli* présomptifs) :**

Une öse d'un tube positif est inoculée dans un tube de BLBVB avec cloche, et une autre dans un tube d'eau peptonée puis les deux tubes incubés à 44.5°C pendant 48h (**fig.10**).

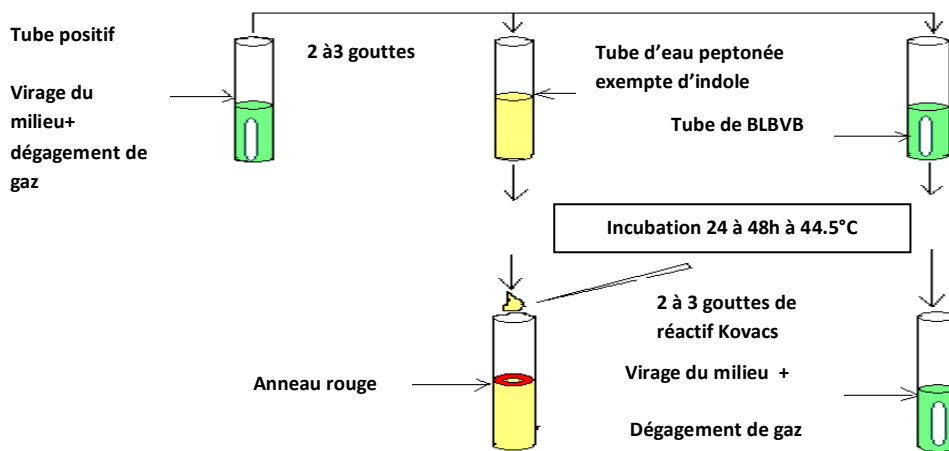


Figure 10 : Identification des coliformes thermotolérants et *E. coli* présomptif dans l'eau (test confirmatif).

***Lecture :**

Si après incubation à 44.5°C pendant 48h il y a production de gaz (BLBVB) et d'indole (mis en évidence par addition de réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée) on peut soupçonner la présence d'*E. coli*. Ces recherches peuvent être confirmées par l'isolement et l'identification des bactéries productrices de gaz (isolement sur EMB par exemple).

La formation d'anneau rouge à la surface des tubes d'eau peptonée après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de kovacs témoignant de la production d'indole par *E. coli*, suite à la dégradation de la Tryptophane grâce à la Tryptophanase.

Nous notons le nombre de tubes positifs et nous exprimons le nombre le plus probable de germes dans 100 ml d'échantillon d'eau, selon la table de Mac Grady (Annexe).

3. Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des Streptocoques de groupe sérologique D de Lancefield:

La recherche des Entérocoques Streptocoques est associée à celle des coliformes fécaux d'où la nécessité de les combiner ensemble (Rodier, 1978).

*Principe de la numération en milieu liquide :

Conformément à la norme NF T 90-411, le principe se résume à la recherche et au dénombrement des Streptocoques du groupe D en milieu liquide (Rothe et Litzky). Le milieu de ROTHE (surtout pour l'analyse de l'eau : circulaire du 21 janvier 1960) contient de l'azide de sodium (NaN_3) qui inhibe la plupart des microorganismes (inhibiteur des phénomènes respiratoires). Ce milieu est peu favorable à la croissance des Streptocoques fécaux et la plupart des autres bactéries n'y cultivent pas. Le milieu de ROTHE est cependant moins sélectif que le milieu de LITZKY, ce qui le fait utiliser d'abord, les germes "adaptés" à l'effet inhibiteur de l'azide étant ensuite à même de s'adapter à la présence d'éthyl violet.

*Test présomptif :

On prépare 3 séries de 3 tubes contenant chacun 9 ml de milieu Rothe (simple concentration). Dans la première série de tubes nous rajoutons 1 ml de la solution mère (10^0). On réalise la même opération avec les 2 autres séries en ajoutant aux 3 premiers 1 ml de la dilution 10^{-1} et aux 3 autres 1 ml de la dilution 10^{-2} , l'ensemble des tubes ainsi préparés sont incubés à 37°C pendant 24 à 48h (**fig.11**). Les tubes présentant un trouble bactérien sont considérés comme positifs. Ces tubes sont soumis au test confirmatif.

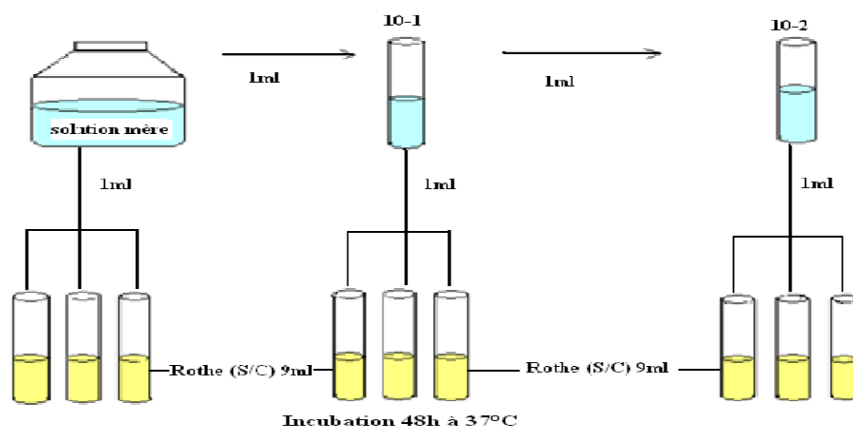


Figure 11 : Recherche et dénombrement des Entérocoques totaux dans l'eau (test présomptif)

*Test confirmatif : Identification des Streptocoques du groupe sérologique D.

Le milieu Litzky est ensemencé à partir d'une ose prélevée dans les milieux de Rothe positifs présentant un trouble bactérien. Après 24 h d'incubation (ou 48 h) à 37°C , on considère comme positif tout tube présentant un louche bactérien avec parfois formation d'un

culot violet (dans le cas où il se forme un culot violet, le trouble peut être très léger) (Rodier, 1975).(Fig.12)

Pour identifier l'espèce, procéder à un isolement à partir d'une ôse prélevée sur milieu de Litzky ou de Rothe sur un milieu de BARNES.

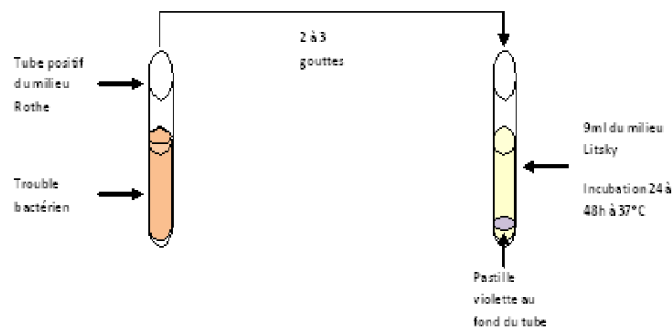


Figure 12 : confirmation de la recherche des Streptocoques.

5.1.3. Analyse bactériologique des bivalves :

L'analyse des échantillons de bivalves doit se faire dans les heures qui suivent afin d'éviter une prolifération et une modification de la communauté bactérienne. Aucun échantillon ne doit être conservé pendant plus de 24h (ACIA, 2004).

1. Préparation des dilutions décimales :

Conformément à la norme NF VO8-010

- Dilution 10^0 : dilution mère (25 g de chair et de liquide intervalvaire+ 225ml d'eau distillée stérile+ broyage et homogénéisation).
- Dilution 10^{-1} : dans un deuxième tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml du broyat (10^0).
- Dilution 10^{-2} : dans un troisième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution précédente (10^{-1}) à 9ml d'eau distillée stérile (**fig.13**).

NB : l'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer chaque dilution.

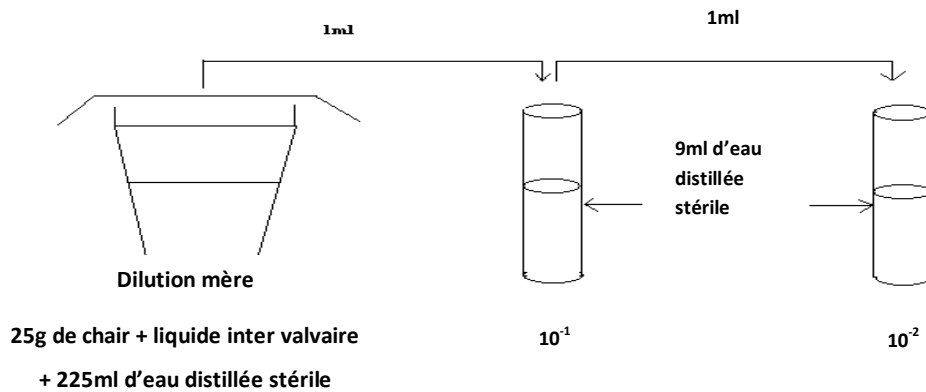


Figure 13: Préparation des dilutions des échantillons à analyser

2. Dénombrement des coliformes totaux et recherche d'*Escherichia coli* :

***Principe :**

Conformément à la norme NF T90- 413 et comme pour l'eau la recherche consiste à utiliser des milieux liquides de bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB), dans des tubes munis de cloches de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par le virage de la couleur avec dégagement de gaz.

***Test présomptif : Dénombrement des coliformes totaux**

On prépare 3 séries de 3 tubes chacun contenant 9ml de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB) S/C, munis de cloches de Durham. Chacun des 3 tubes de la première série reçoit 1ml de la dilution 10⁰ (dilution mère). Les tubes de la deuxième et troisième série reçoivent respectivement 1ml de la dilution 10⁻¹ et 1ml de la dilution 10⁻².

Nous agitons pour homogénéiser, sans faire pénétrer l'air dans la cloche de Durham. Le tout est incubé à 37°C pendant 24 à 48h (**fig.14**).

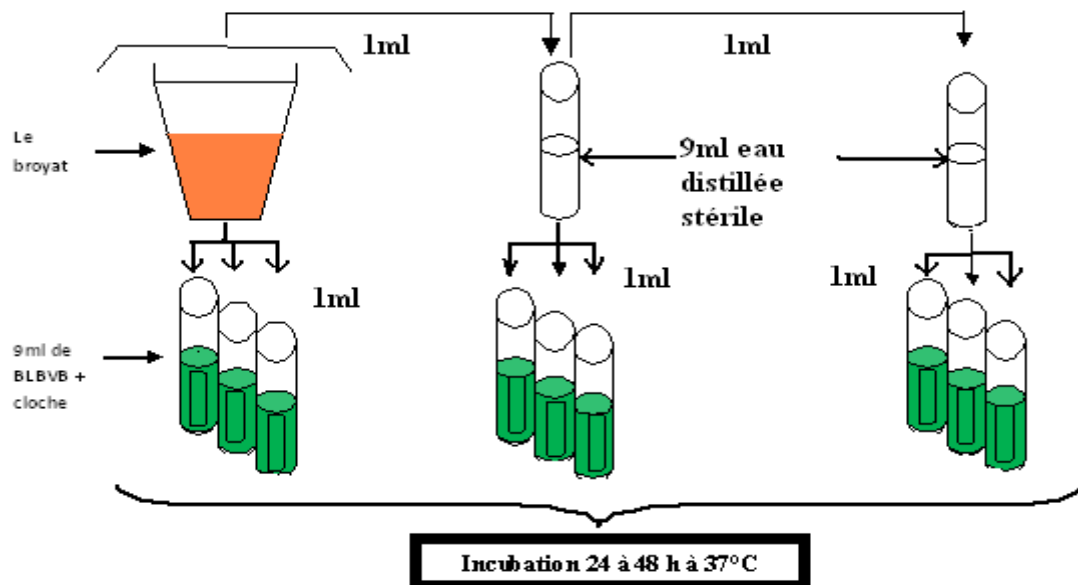


Figure 14 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux chez les bivalves (test présumé).

***Test confirmatif: Identification des coliformes thermotolérants et E. coli présumé (test de Mac KENZIE)**

Nous prélevons 2 à 3 gouttes des tubes positifs présentant un virage de couleur, ainsi qu'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham, que nous rajoutons à un tube contenant 9ml de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB) et 2 à 3 gouttes que nous additionnons à un tube contenant 9ml d'eau peptonée exempte d'indole. Les tubes ainsi préparés sont incubés à 44.5°C pendant 24 à 48h (**fig.15**).

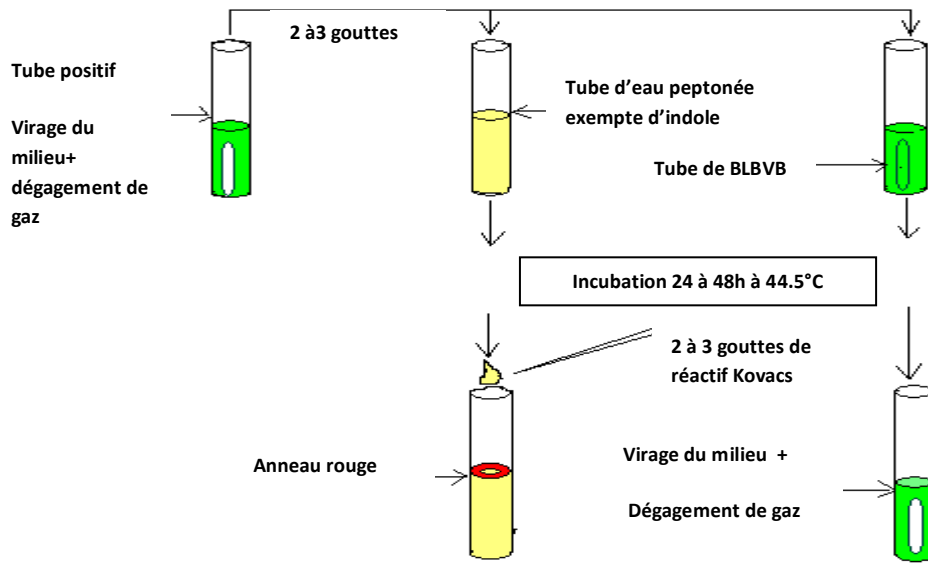


Figure 15: Recherche des coliformes thermotolérants et d'*Escherichia coli* présumptif chez les bivalves, (test confirmatif)

3. Recherche et dénombrement des Entérocoques et identification des Entérocoques fécaux :

*Test présumptif : Recherche et dénombrement des Entérocoques totaux

Conformément à la norme NF T 90-411 et comme pour l'eau. Nous ensemençons 3 séries de 3 tubes contenant 9ml de bouillon de Rothe simple concentration (**fig.16**) :

- ✓ Une première série de 3 tubes avec 1ml de broyat à analyser de dilution mère.
- ✓ Une deuxième série de 3 tubes avec 1ml de la deuxième dilution (10^{-1}).
- ✓ Une troisième série de 3 tubes avec 1ml de la troisième dilution (10^{-2}).
- ✓ Nous homogénéisons par agitation du contenu des tubes de façon à ce que les bactéries et la concentration en inhibiteurs soient identiques en tout point.
- ✓ Nous incubons les tubes pendant 24 à 48h à 37°C, les tubes présentant un trouble bactérien sont présumés contenir des streptocoques et sont soumis à un test confirmatif.

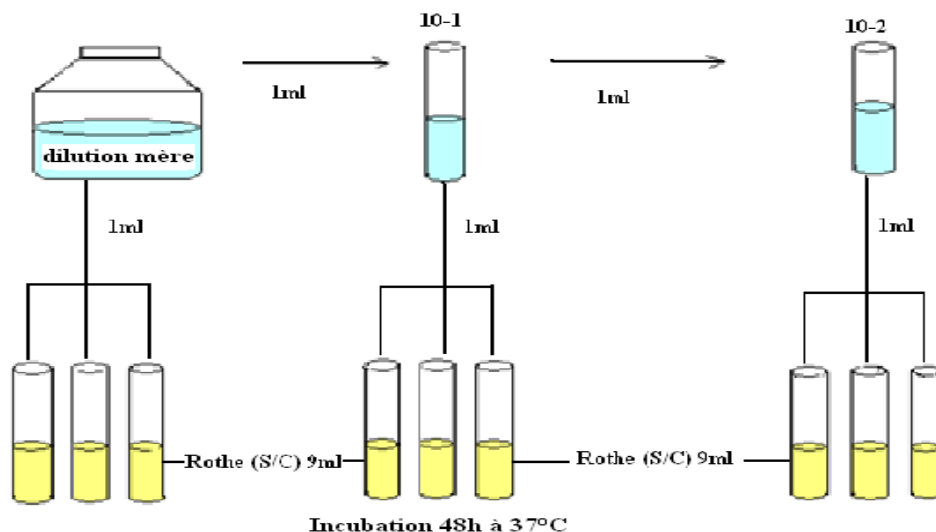


Figure 16 : recherche et dénombrement des Entérocoques totaux chez les bivalves (test présomptif).

***Test confirmatif : Identification des Streptocoques du groupe sérologique D.**

Après agitation des tubes positifs nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif, et nous les repiquons dans un tube contenant du milieu Litsky ; nous incubons à 37°C pendant 24 à 48h (**fig.12**). Nous notons le nombre de tubes positifs et nous exprimons le nombre le plus probable de germes dans l'échantillon selon la table de Mac Grady.

Expression des résultats :

Les résultats des quatre étapes d'identification des germes sont exprimés sous forme de nombre le plus probable des coliformes totaux, E. coli, streptocoques totaux, streptocoques fécaux présumé par 100ml d'échantillon. La lecture, qui se fait à partir du tableau de Mac Grady, consiste à relever le nombre des tubes positifs et de se référer à la table.

- 1- Cas de l'inoculation de chaque dilution d'eau dans 3 séries de 3 tubes de milieu de culture :

Tableau 1 : Le calcul du nombre probable de germes (exemple d'échantillon d'eau).

	Dilutions
--	-----------

Tubes	1/10	1/100	1/1000
Tube 1	+	+	-
Tube 2	+	+	-
Tube 3	+	+	-
Résultat	3	3	0

(+) : Tube positif, (-) : Tube négatif.

- Si nous avons 3 tubes positifs dans la première série 1/10 et 3 tubes positifs dans la deuxième série 1/100, et aucun tube positif dans la troisième 1/1000, alors nous lisons "3.3.0".
- D'après la table de Mac Grady (annexe), "330" correspond à 240 germes /100ml d'eau (tab.1).

2-Cas de l'inoculation de chaque dilution de bivalves dans 3 séries de 3 tubes de milieu de culture :

Tableau 2 : Le calcul du nombre probable de germes (exemple de la moule).

Tubes	Dilutions		
	1/10	1/100	1/1000
Tube 1	+	-	-
Tube 2	-	-	-
Tube 3	-	-	-
Résultat	1	0	0

- D'après la table de Mac Grady (Annexe), le nombre caractéristique 100 correspond à 0.4 germes dans la dilution 10^{-1}
- Multipliant 0.4 par le facteur de dilution (10), donc on aura comme résultat 4 germes/g de broyat
- Donc 400 germes/100ml de broyat dans la dilution 10^{-1} (Brissou et Denis ; 1978)

5.1.4. Détermination de la source de contamination :

Selon Bourgeois (1980), lorsque le rapport *Coliformes fécaux* (CF)/*Streptocoques fécaux* (SF) est supérieur à 1, la pollution est essentiellement d'origine humaine, dans le cas

inverse, la contamination est d'origine animale, si le rapport est égale à 1 la contamination est d'origine mixte.

5.1.5. Recherche de *Salmonella* (eau et bivalves) :

Cette étude qui porte sur la recherche et le dénombrement des Coliformes et des Streptocoques fécaux, a été complétée par la recherche des germes pathogènes chez les bivalves présents dans le site 3 présumé le plus pollué (Sidi Salem) (Dahel, 2009).

La mise en évidence des *Salmonella* par la méthode "traditionnelle" nécessite plusieurs phases:

- un pré-enrichissement (revivification) qui est facultatif pour les produits non soumis à certains types de traitements technologiques susceptibles de "stresser" les bactéries
- un enrichissement sélectif (obligatoire)
- un isolement sélectif
- une identification biochimique
- un sérotypage

- **Pré-enrichissement (AFNOR 1973) :**

Conformément à la norme NF EN ISO 6579 et à la norme AFNOR V 08 013 :

Pour les moules : X g de la masse molle et du liquide intervalvaire de chaque'un des cinq moules prisent au hasard sont broyés dans 10 fois (c à d au 1/10) leur volume ((X*9) ml) d'eau peptonée tamponnée pendant 2 minutes.

Pour l'eau de mer : 25ml d'eau de mer diluée en 225ml d'eau peptonée tamponnée.

L'incubation est réalisée pendant 16 h au moins et 24 h au plus à 37°C.

- **Enrichissement :**

Bouillon au sélénite et à la cystine (milieu mieux adapté au contrôle des aliments). 10 ml de milieu de pré-enrichissement sont ajoutés à 100 ml de bouillon au sélénite. Deux tubes sont réalisés, l'un étant incubé à 37°C l'autre à 43°C pendant 24 à 48 h.

- **Isolement :**

A partir d'une ôse ou d'une goutte d'un des milieux d'enrichissement on réalise un isolement sur milieu **SS** ou milieu gélosé sulfite bismuth ou sur **gélose au vert brillant et au rouge de phénol** ou sur DCL selon HYNES. La gélose SS (gélose Salmonella – shigella) est un milieu utilisé pour l'isolement des salmonelles et des shigelles. Le développement de la

flore secondaire est par le vert brillant, les sels biliaires, les fortes concentrations en thiosulfates et en citrates, le lactose, sucre réactif du milieu, permet de déceler la croissance éventuelle des coliformes (colonies rouges).

En outre, les bactéries capables de produire de l' H_2S par réduction du thiosulfate donnent en présence des ions de fer des colonies à centre noir.

L'ensemencement sur gélose SS se fait par stries dans des boîtes de Pétri. Après 24 h d'incubation à $37^\circ C$, les colonies se présentent sous les aspects suivants:

- **colonies rouges lactose +** (*Enterobacter*, *Klebsiella*)
- **colonies incolores lactose-** (*Salmonella* à H_2S^- , *Shigella*, *Serratia*, *Proteus morganii*, *E. hafniae*)
- **colonies à centre orangé** (*Proteus rettgeri*, *Providencia*)
- **colonies à centre noir** (*Salmonella* à H_2S^+ , *Citrobacter*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*).
- **Des colonies rouges à centre noir** : *Citrobacter freundii* (en réalité seul le centre noir est visible d'où la confusion avec *Salmonella*)

Pour plus de certitude on procède à un deuxième ensemencement sur gélose SS d'une colonie suspecte (colonie incolore ou incolore à centre noir) et après incubation de 24h à $37^\circ C$ on commence une série de test pour l'identification de notre bactérie recherchée. (Fig.17)

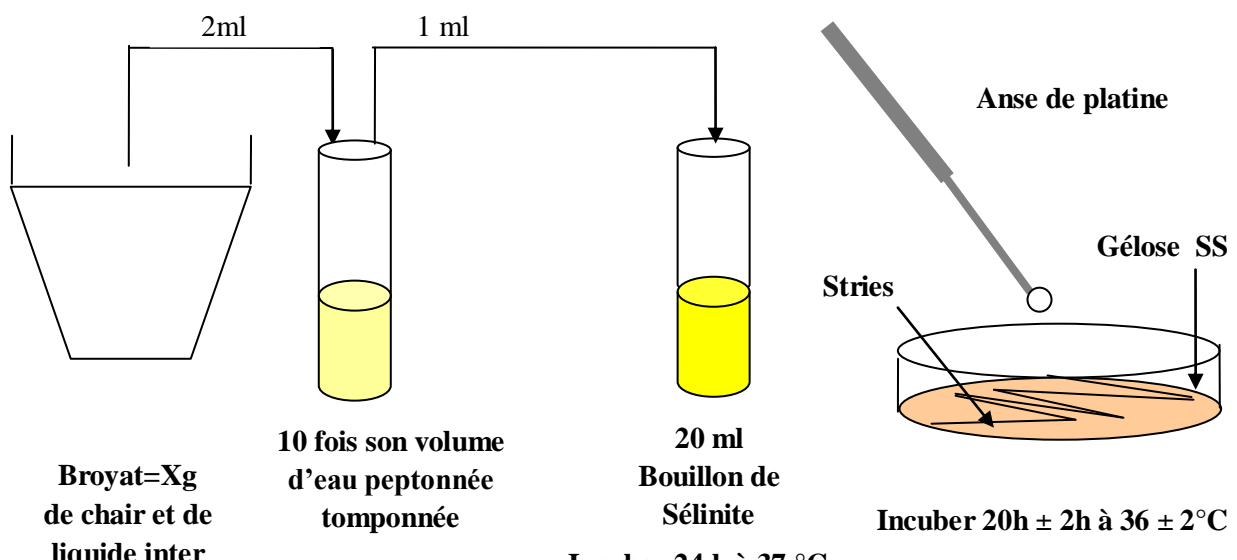


Figure 17 : Recherche des Salmonelles

*Tests d'identification :

Coloration de Gram : On fait une coloration de Gram (annexe) à partir des colonies suspectes développées sur la gélose SS (bâtonnet Gram négatif).

Identification sur milieu TSI : (gélose – glucose – saccharose – H₂S ou gélose aux trois sucres et de fer)

Ce milieu est utile pour différencier les bactéries donnant des colonies lactose négatives et apparaissent donc comme suspectes sur les milieux d'isolement pour la recherche des salmonelles et des shigelles. Ces bactéries fermentent rapidement le saccharose ; l'indication principale est la différenciation des *Salmonella* avec (culot jaune, pente rouge, gaz) après 24 heures d'incubation à 37°C des *shigella* et des *Proteus mirabilis* et *vulgaris*.

Test d'oxydase :

On effectue un isolement d'une colonie incolore à centre noir et une autre incolore à l'aide d'une anse de platine stérile, on l'étale sur une pastille d'oxydation (disque d'oxydase) et on lui ajoute une goutte d'eau physiologique.

On laisse quelques secondes puis on observe :

- ✓ S'il y a pas de coloration violet => la colonie est oxydase (-).
- ✓ S'il y a coloration violet => la colonie est oxydase (+).

Les derniers stades de la respiration cellulaire font intervenir une chaîne de métalloprotéines : les cytochromes dont le dernier maillon, le cytochrome oxydase qui réagit directement et instantanément avec l'oxygène.(Dr Lebres – IPA).

Test Catalase :

- ✓ On prélève une colonie suspecte sur la gélose puis on l'ensemence dans un tube de H_2O_2 ; s'il y a formation de mousse blanche, la colonie est dite catalase (+).

Tests biochimiques miniaturisés (la Galerie API 20 E) :

- ✓ Isoler une colonie suspecte (colonie incolore à centre noir et/ou colonie incolore) sur la gélose SS à l'aide d'une anse de platine stérile ou une pipette Pasteur. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18 à 24h).
- ✓ Inoculer la colonie dans un tube à essai contenant 5ml d'eau physiologique, d'API NaCl Medium, ou Api Suspension Medium
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément (**Fig.18**).

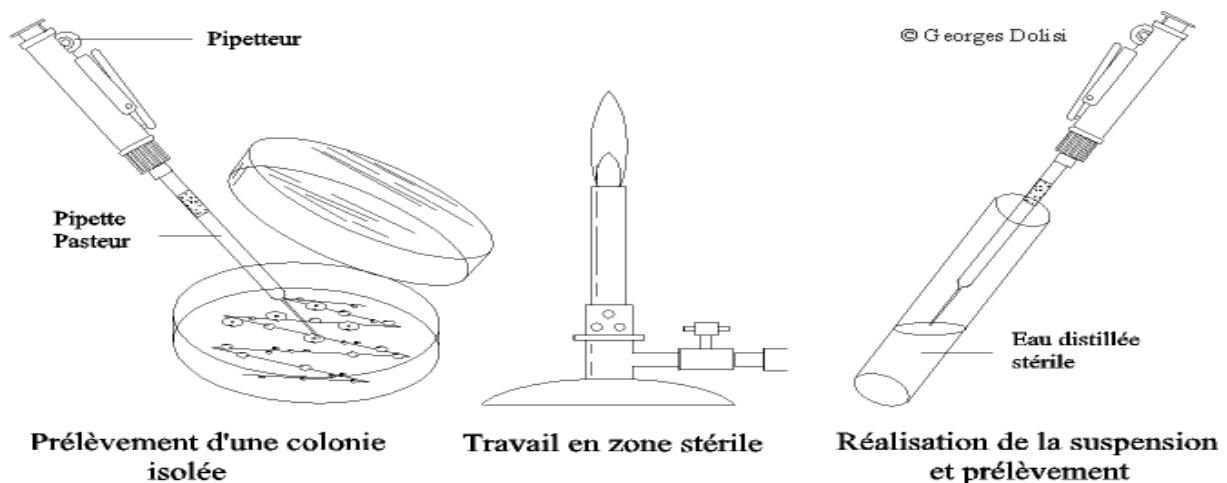


Figure 18 : isolement de colonie suspecte et réalisation de suspension bactérienne
(Biomérieux, 2006)

- ✓ Inoculation de la galerie :

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) (Fig.19) :

- Pour les tests CIT, VP, et GEL, remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules)

- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- ✓ Refermer la boîte d'incubation.
- ✓ Incuber à 36°C ±2°C pendant 18 à 24h.

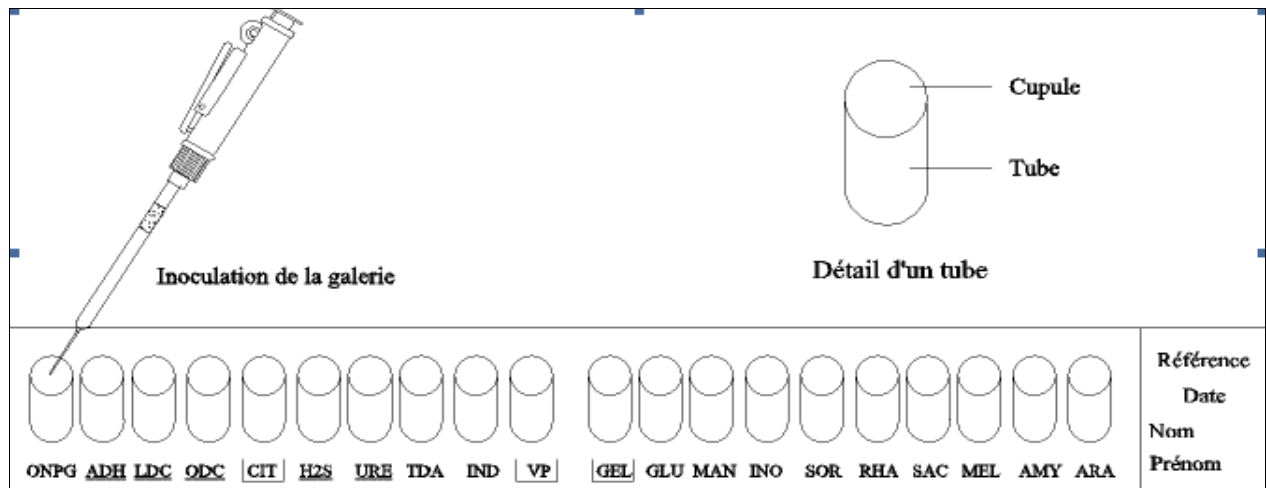


Figure 19: Inoculation de la galerie API 20 E (Biomérieux, 2006).

Lecture et interprétation : voir la notice des API 20 E.

5.2. Etude biométrique des bivalves :

1. Mesures et pesés de la moule

Dans le but de comparer les lots stationnels de bivalves prélevés dans deux sites au niveau du Golfe d'Annaba, il a été entrepris sous forme d'équations mathématiques une étude ponctuelle (février 2009, Février 2010) des relations existant entre les divers paramètres linéaires et pondéraux des animaux. Ceci permet d'avoir une idée, même partielle, sur la croissance relative d'organismes provenant de différents sites et par suite sur la croissance d'animaux soumis à des conditions abiotiques dissemblables (Trigui-El Menif, 1995). Cette méthode qui consiste à mettre en évidence les relations d'allométries globale liant les paramètres métriques et pondéraux, pris deux à deux, constitue l'une des méthodes les plus utilisées pour étudier la croissance relative chez la moule (Hamon, 1983 ; Aloui-Bejaoui, 1998).

Pour chacun des deux sites de prélèvement (Cap de Garde, et Hnaya), les lots de moule collectés ont été constitués de 50 individus par mois. Les mesures ont été réalisées le

jour même du prélèvement pour éviter l'effet du jeûne et émission éventuelle des gamètes, due au stress, ces phénomènes biologiques diminuant le poids de la masse molle totale et par la suite l'indice de condition (Beninger et Lucas, 1984).

Après avoir nettoyé les moules on mesure les trois paramètres linéaires suivants à l'aide d'un pied à coulisse à 0,5 mm de précision afin d'étudier la croissance (Fig.20) :

- La longueur totale (Lt) correspondant à la plus grande distance, séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille.
- La largeur (Lg) qui va de charnière dorsale au bord ventral.
- L'épaisseur maximale (Ep) qui est la largeur maximale de la convexité des deux valves réunies.

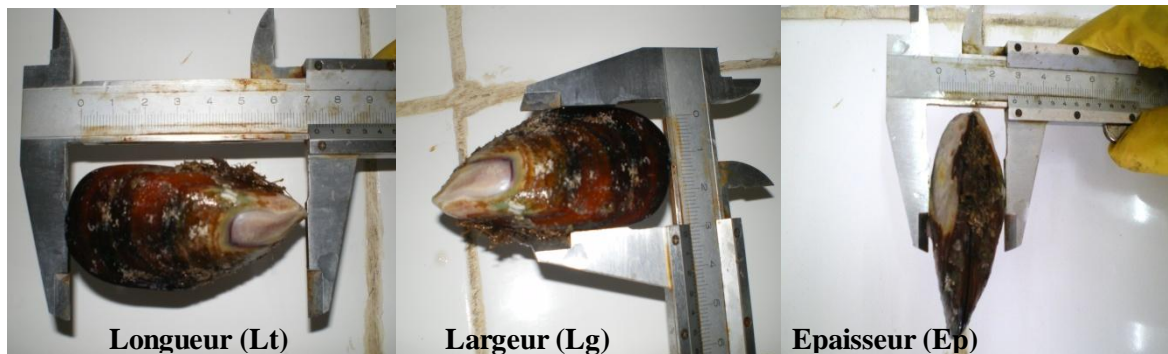


Figure 20: Les différents paramètres linéaires mesurés

Par ailleurs les individus ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (KERN 440-33, précision 0,01g) afin de déterminer les paramètres pondéraux suivants :

- Poids total (Wt) : qui correspond au poids de la moule débarrassé de son épibionte, et dont les valves sont essuyées par un linge.
- Poids de la chair (Wh) : c'est le poids des parties molles de l'animal après les avoir détaché de la coquille et débarrasser de l'eau intervalvaire subsistante. L'ensemble de la masse viscérale fraîche égouttée est ensuite pesé.
- Poids sec de la chair (Wsh) : il est obtenu après séchage de la masse molle à l'étuve pendant 24 heures à 100°C.

2. Distribution des fréquences de taille :

Les longueurs totales des moules récoltées au niveau des deux sites ont été regroupées en classe de taille à 0,5 cm d'intervalle qui a permis de déterminer le nombre d'individu de chaque sexe dans chaque classe de taille. Cette même distribution est utilisée pour l'étude des paramètres de croissance de Von Bertalanffy.

3. Etude des paramètres biologiques :

3.1. Etude de l'âge :

L'âge est une donnée indispensable pour l'étude de la démographie et de la dynamique d'une population exploitée (Panifili, 1992). Son estimation peut se faire par deux méthodes à savoir :

- *La méthode directe* : elle est basée sur la lecture des structures squelettiques (otolithes, écailles, vertèbres et os operculaires).
- *La méthode indirecte* : elle consiste soit à analyser les résultats de marquage des poissons et leurs recaptures, soit par la décomposition des fréquences de tailles, telles que la méthode de Petersen (1891), Harding (1949), Bhattacharya (1976).

Dans la présente étude la détermination de l'âge a été faite par la méthode de Bhattacharya (Fisat, 1997) comme l'explique Gayanilo et al., (1996).

Principes de la méthode :

Cette méthode est basée sur le fait qu'une distribution ne comportant pas de classe vide peut être transformée en droite de pente négative, en portant à l'ordonnée, pour chaque abscisse les centres de classe (C.C) la quantité $\Delta \ln Z$ étant la différence des logarithmes de fréquences consécutives dans la distribution (in Oliver et al, 1992).

L'équation de Bhattacharya (1976) s'écrit comme suit :

$$\Delta \ln Z = \ln Z(x+h) - \ln Z(x)$$

Z : effectifs

h : intervalle de classe.

X : centre de classe.

3.2. Etude de la croissance :

3.2.1. Croissance linéaire :

Les paramètres de croissance ont été déterminés par le logiciel FISAT II il est expliqué par Gayanilo et al., (1996). La longueur asymptotique L_{∞} et le coefficient de croissance K de l'équation de Von Bertalanffy (1938) ont été estimés par le biais d'ELEFEN 1 (Pauly et David, 1981).

Pour Von Bertalanffy, la croissance est considérée comme étant l'action simultanée de facteurs anaboliques, proportionnels à la surface et de facteurs cataboliques, proportionnels au niveau du volume du corps ; la loi de croissance linéaire s'exprime par la relation :

$$L_t = L_{\infty} (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

L_t : longueur à l'instant t (mm)

L_{∞} : longueur asymptotique (mm)

K : coefficient de croissance de croissance (an^{-1})

t_0 : âge que la moule aurait eu à la taille 0 (mm).

3.2.2. Croissance relative (relation taille-poids) :

La relation d'allométrie qui permet d'interpréter les changements de la forme des moules en fonction de la taille est exprimée par la formule suivante :

$$W_t = b \cdot L_T^a$$

W_t : le poids total (g).

L_T : longueur totale (cm).

b : indice d'origine.

a : coefficient d'allométrie.

Par transformation logarithmique, cette équation est linéarisée et s'écrit comme suit :

$$\ln W_t = a \cdot \ln L_T + \ln b$$

A partir de cette équation les paramètres a et b sont déterminés, fixant, ainsi le type d'allométrie, à partir des relations entre :

- Deux variables de dimensions différentes :

$a < 3$: l'allométrie est minorante, le poids croît moins vite que le cube de la longueur

$a = 3$: la croissance est dite isométrique, le poids croît proportionnellement au cube de la longueur

$a > 3$: l'allométrie est majorante, le poids croît plus vite que le cube de la longueur.

- Deux variables de même dimension :

$a < 1$: l'allométrie est minorante, le poids croît moins vite que la longueur.

$a = 1$: la croissance est dite isométrique, le poids croît proportionnellement à la longueur

$a > 1$: l'allométrie est majorante, le poids croît plus vite que la longueur.

3.3. Indice de condition et périodes de ponte :

L'indice de condition nous donne une idée de l'état physiologique des individus d'une population (Bodoy et Massé, 1979; Bodoy, 1980; Lucas et Beninger, 1985) et permet d'estimer la part de la matière organique émise lors de la reproduction (Bodoy et Massé, 1979). Selon Pellerin-Massicotte (1994) il est aussi un indicateur général de stress et de la santé des organismes.

L'indice de condition (IC) choisie pour décrire le cycle de reproduction est celui proposé par Pellerin-Massicotte et al., (1989), car il est nécessaire lors de suivi environnemental et permet de connaître les étapes de la gamétogénèse et les périodes des émissions gamétiques, le calcul de l'indice de condition en chair a été comme suit :

$$\text{IC} = (\text{Poids sec de la masse mole} / \text{poids humide total}) \cdot 100$$

3.4. Détermination de la sex-ratio :

La distinction des sexes est relativement aisée notamment durant la période de gamétogénèse avancée ; en effet, elle est basée sur la couleur du manteau qui est blanchâtre chez les mâles et rose saumon à orange chez les femelles. Pour ce faire, les moules sont nettoyées, ouvertes et sexées d'après l'observation macroscopique de la coloration du manteau. Le sex-ratio ou (SR) défini par le rapport suivant :

$$\text{SR} = (\text{nombre de mâle} / \text{nombre de femelle})$$

5.3. Etude de la reproduction :

1. Maturation des gonades :

Chez les moules en générale, la gonade est un tissu diffus dans le manteau et la masse viscérale. Elle est formée par des acini qui aboutissent à des gonoductes constitués par un épithélium cilié uni stratifié. Les gonoductes issus des différents follicules forment dans le manteau trois troncs principaux qui confluent dans la région dorsale du corps, au niveau de la partie inférieure du péricarde. Ce tronc commun reçoit alors un canal qui draine le côté correspondant de la masse viscérale. Le gonoducte terminal suit la paroi latérale du corps et aboutit au processus génital qui débouche un peu au dessus et avant par rapport à l'orifice rénal.



Figure 21 : Différenciation des gonades mâles et femelles chez la moule *Perna perna*.

2. Stades de maturité sexuelle :

Dans notre étude les stades du cycle sexuel sont identifiés selon la classification de Lubet, (1959) reprise par Wilson et Seed, (1975) qui comporte 7 stades :

Stade 0 : (repos sexuel)

Le sexe est indéterminé. Cette phase est caractérisée par l'accumulation de réserves constituées par des cellules adipogranuleuses et des cellules vésiculeuses. Le manteau est alors homogène et transparent.

Stade I : (reprise de l'activité génitale)

Le développement commence par les premiers stades de la gamétogénèse, les jeunes groupes de cellules germinales étant éparpillés dans le manteau. Une lignée de spermatogonies et d'ovogonies apparaît sur le mur folliculaire.

Stade II :(gamétogénèse)

On y trouve tous les stades de la gamétogénèse. Une grande partie du manteau est occupée par des follicules. Dans ceux des femelles, les ovocytes continuent de croître en accumulant du vitellus. Dans les follicules mâles apparaît une large bande centripète de spermatogonie, spermatocytes et spermatides avec quelques spermatozoïdes libres dans le lumen.

Stade IIIA : (maturité génitale)

Le manteau est envahi par des follicules qui occupent presque toute la surface gonadique recouvrant ainsi le tissu conjonctif. Chez les mâles, une bande étroite des produits gamétogéniques apparaît du côté de l'ouverture des follicules, les spermatozoïdes sont disposés en lamelles. Chez les femelles, les ovocytes sont bien développés et présentent une forme polygonale due à leur forte densité dans le follicule. A ce stade, les animaux sont facilement excitables et libèrent leurs gamètes sous l'action des stimuli externes.

Stade IIIB : (émission des gamètes)

La ponte et l'éjaculation peuvent être totale ou partielles, un très grand nombre de follicules sont vidés, et ne renferment que des gamètes résiduels. L'arrangement laméllique

des spermatozoïdes disparaît et la densité des follicules diminue, on observe donc une réduction générale de la surface du manteau occupée par le tissu germinatif.

Stade III C : (restauration de la gonade)

C'est le stade de redéveloppement. Le renouvellement gamétogénétique a lieu à partir de ce stade. La bande qui correspond aux premiers stades gamétiques est apparente dans les follicules mâles. Chez les femelles, les jeunes ovocytes attachés au pourtour folliculaire sont abondants. Ce stade pourrait être confondu avec le stade II puisque dans le même follicule on trouve des gamètes pondus et des gamètes en développement. Cependant, quand le redéveloppement est maximal (comme dans le stade III A), le paquet de follicules n'occupe plus toute la surface disponible du manteau, alors le tissu conjonctif devient plus qu'avant la ponte (stade III B).

Stade III D : (arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves)

Au cours de ce stade l'activité génitale s'arrête complètement. D'importants phénomènes ont lieu dans le manteau. Les follicules s'écroulent et dégèrent. Les amoebocytes attaquent les gamètes non pondus. On observe souvent, dans la lumière, follicules et cellules. L'animal se retrouve de nouveau au stade de repos sexuel.

3. Etude histologique :

Les étapes de préparations histologiques faites au cours de cette étude restent à la base les mêmes décrites par Martoja et Martoja (1967) (Annexe), mais notre choix s'est porté sur une technique les plus modernes ou les plus récentes de l'appareillage automatique « *Tissu Tech II* » utilisé par les laboratoires d'histologie.

- ✓ Après fixation des tissus gonadiques au liquide de Bouin, on met les pièces dans un appareil automatique à rotation appelé AUTOMATE « *Tissu Tech tissu Processor* » durant 24 heures où les tissus passent par une série de six bains d'alcool de concentration croissante (80° - 100°) et subissent une déshydratation, ensuite;
- ✓ L'éclaircissement par immersion dans trois bains de xylène afin de les rendre transparents (Headden et Williams, 1968 ; Buck, 1972).
- ✓ Imprégnation et inclusion à deux bains de paraffine.

- ✓ La coupe qui consiste à découper les blocs obtenus à une épaisseur de 2 à 3 μm à l'aide d'un microtome puis monté sur lames maintenues dans une petite goutte de gélatine et mise sur une platine chauffante à 60°C pour éliminer les plis avant la coloration par l'hématoxyline-éosine (Gabe, 1968) (Tableau 3)(Annexe).
- ✓ Les coupes sont déparaffinées pour hydrater les tissus. Ainsi elles subissent différents bains de xylène puis l'éthanol de degrés décroissants (100°, 95° puis 70°) et enfin d'eau distillée.
- ✓ Elles sont ensuite colorées par l'hématoxyline de Harris et l'éosine, avant d'être à nouveau déshydratées par des bains d'éthanol à degrés croissant et de xylène (Tableau 4)(Annexe). Cette coloration est reconnue comme standard chez les bivalves, contrastant clairement les différents tissus.
- ✓ Enfin les coupes différenciées sont prêtes pour l'observation microscopique en utilisant un microscope. Le protocole utilisé est une adaptation selon l'appareil de la procédure énoncée par le N.O.A.A (National Oceanic and Atmospheric Administration, US Department of Commerce).

6. Biomarqueurs (GSH et GST) :

De nombreux biomarqueurs biochimiques et cellulaires ont été étudiés chez les organismes aquatiques, et particulièrement chez les poissons et les mollusques bivalves. Depuis le début des années 1990, plusieurs revues de synthèse et ouvrages ont été publiés sur les biomarqueurs en écotoxicologie (Huggett et al., 1992 ; Lagadic et al., 1997 ; Kammenga et al., 2000) et les mécanismes moléculaires mis en cause ont été relativement bien décrits.

Parmi ces biomarqueurs, on peut citer le glutathion S-transférase (GST), le glutathion réduit (GSH).

6.1. Collecte du matériel biologique :

Afin d'étudier les variations mensuelles de deux biomarqueurs à savoir le GSH et le GST, il a été collecté mensuellement durant la période allant de février 2009 à février 2010 des échantillons spécifiques comprenant 5 individus/station/mois. Les bivalves ont été collectés au hasard **sans tenir compte du sexe**, Serafim et al., (2001) ayant démontré, chez la palourde, que la réponse d'un biomarqueur (comme les métallothionéines) ne varie pas avec le sexe.

6.2. Préparation de la fraction post-mitochondriale (S9) :

- ✓ Les bivalves prélevés in situ ont été détachés de leurs coquilles.
- ✓ Mesurés et sexés puis égouttés sur papier absorbant.
- ✓ Les branchies et les glandes digestives sont prélevées, pesées séparément.
- ✓ Chaque organe est repris dans un volume trois fois son poids de tampon phosphate pH 7.
- ✓ 50µl de DTT et 50µl de cocktail anti-protéase sont rajoutés.
- ✓ Le tout a été broyé et homogénéisé à l'aide d'un broyeur Ultra-Turrax.
- ✓ 1ml de l'homogénat de chaque organe est pris dans un tube épendorf et mis au frigo à T°C (-20°C) pour dosage ultérieur des GSHs
- ✓ L'homogénat restante a été centrifugée à 9000g pendant 30mn à 4°C.
- ✓ Le surnageant (S9) a été ensuite récupéré {contenant le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les protéines cytosoliques} pour le dosage des protéines ou des activités enzymatiques recherchées.
- Toutes les opérations à savoir dissection des animaux, broyage et centrifugation se sont déroulées à 4°C (dans la glace). Il faut noter qu'un échantillon décongelé n'est jamais congelé par la suite et qu'il est utilisé le jour même (Najimi, 1997).

6.3. Dosage des protéines :

La quantité de protéines présentes dans les fractions S9 a été déterminée avant la mesure des activités enzymatiques, grâce à la méthode de Bradford (1976), en utilisant le bleu Brillant de coomassie (G 250, Mreck[®]) comme réactif (50µl de la gamme étalon ou de l'échantillon avec 1.5ml du bleu de coomassie). Ce dernier réagit avec les protéines en donnant des complexes de couleur bleu qui absorbent la lumière à une longueur d'onde de 595 nm ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des protéines présente dans chaque échantillon (la couleur bleu résulte de l'interaction des groupements anioniques du colorant avec les groupements aminés des protéines). Le complexe ainsi formé est stable pendant environ 1 heure.

La gamme étalon a été réalisée avec de l'albumine bovine sérique (BSA, fraction V de Merck®) comme protéine standard (Tab.6 Annexe 2)

6.4. Dosage de l'activité du Glutathion-S-Transférase (GST) :

Les glutathions S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèses intracellulaires (George, 1990). Les GSTs représentent une importante famille enzymatique dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit GSH à des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther. Les produits sont ensuite métabolisés en mercaptures puis excrétés dans les déchets liquides (bile, urine).

Une grande variété de composés chimiques induisent l'activité des GSTs, dont certains sont inducteurs des cytochromes P450 comme les hydrocarbures polycycliques aromatiques et les PCB.

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig et al., (1974) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans le cytosol sur un mélange GSH+ CDNB à 37°C et à pH 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée chaque 15 secondes pendant 1 mn à 340nm. (Annexe 2)

6.5. Dosage de l'activité du Glutathion réduit (GSH) :

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique (par un spectrophotomètre) de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion.

Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0,25%) afin de protéger les groupements -SH du glutathion. Après centrifugation le surnageant est utilisé pour le dosage par spectrophotométrie avec le réactif DTNB à 0.01M, la lecture se fait à 412nm suivant la méthode simple de Weeckbeker et Cory, (1988). (Annexe 2)

7. Analyses statistiques :

7.1. Introduction :

Toute étude statistique peut être décomposée en deux phases au moins : le rassemblement ou la collecte des données, d'une part, et leur analyse ou leur interprétation, d'autre part.

La collecte des données a été effectuée sur un cycle de 12 mois pour toutes les données ; Au niveau des quatre sites pour les paramètres physico-chimiques, analyses bactériologiques et le dosage des biomarqueurs. Quant aux études biométriques des moules, elles ont été faites pour deux sites uniquement.

L'analyse statistique peut être décomposée en deux étapes, l'une déductive ou descriptive et l'autre inductive.

La statistique descriptive a pour but de mesurer et de présenter les données observées d'une manière telle qu'on puisse en prendre connaissance aisément, par exemple sous la forme de tableaux ou de graphiques.

L'inférence statistique permet d'étudier ou de généraliser dans certaines conditions les conclusions ainsi obtenues à l'aide de tests statistiques en prenant certains risques d'erreur qui sont mesurées en utilisant la théorie des probabilités.

Concernant notre travail, tous les calculs ont été réalisés pour chaque variable et pour chacune des 4 stations, à l'aide de logiciels d'analyse et de traitement statistique des données Minitab version 14.1 (X, 2003), XLSTAT, FiSAT.II.

7.2. Méthodes statistiques univariées :

7.2.1. Description des données :

Pour mieux décrire les différentes caractéristiques obtenues par station pour l'ensemble des 12 mois, nous avons calculés certains paramètres statistiques de base tels que la moyenne arithmétique (\bar{X}), qui est un paramètre de position et de tendance centrale, l'écart-type (s) qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne, les valeurs minimales (X_{\min}) et maximales (X_{\max}) qui donnent toutes les deux une idée sur l'étendue des données, et enfin l'effectif (n) qui nous renseigne sur l'importance des données traitées.

7.2.2. Comparaison entre stations des caractéristiques moyennes : test de l'analyse de la variance :

Pour comparer entre les quatre stations, les moyennes de chacune des caractéristiques ou paramètres mesurés, nous avons utilisé le test d'analyse de la variance à un critère ou à un facteur de classification modèle fixe. Ce test consiste à comparer les moyennes de plusieurs populations à partir de données d'échantillons aléatoires, simples et indépendants (Dagneli, 1970 et 2006).

La réalisation du test se fait, soit en comparant la valeur de F_{obs} avec la valeur théorique $F_{1-\alpha}$ correspondante, extraite à partir de la table F de Fisher pour un niveau de signification $\alpha = 0.05$ ou 0.01 ou 0.001 et pour k_1 et k_2 degrés de liberté, soit en comparant la valeur de la probabilité p avec toujours les différentes valeurs $\alpha = 5\%$ ou 1% ou 0.1% .

Selon que cette hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée au niveau $\alpha = 0.05$, 0.01 ou 0.001 , on dit conventionnellement que l'écart observé entre les moyennes est significatif, hautement significatif ou très hautement significatif. On marque généralement ces écarts d'un, deux ou trois astérisques (Dagneli, 1970 et 2006).

Ce test a été utilisé pour comparer, d'une part, entre les 4 stations les moyennes de chacune des variables pour chaque mois séparément et d'autre part, pour comparer entre les stations, les moyennes des variables étudiées pour l'ensemble des mois d'étude.

Les calculs sont réalisés à l'aide de la procédure GLM du logiciel Minitab 14 (X, 2003) pour chacune des variables des 4 stations.

Le modèle linéaire généralisé (GLM) est une technique descriptive permettant d'analyser la variance, la covariance et la régression ; il repose sur la réponse et la comparaison des différents paramètres choisis au cours d'une expérimentation (Dagneli, 2000).

P : c'est la probabilité qui met en évidence les différences significatives entre la valeur du coefficient de corrélation « r » et la valeur zéro.

- Si $P \leq 0.05$: il y a une corrélation significative entre les deux caractères.
- Si $P \geq 0.05$: il n'y a pas de corrélation significative entre les deux caractères.

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne plus au moins l'écart type ($m \pm s$).

Pour la comparaison des effets mois, sites, paramètres physico-chimique et paramètres de croissance ainsi que les paramètres bactériologiques, nous procédons à une analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA).

Résultats

1. Les paramètres physico-chimiques de l'eau du littoral

1.1. La Température:

La température présente des variations similaires dans l'ensemble des sites. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées durant la saison estivale avec un maximum en juillet et août (29°C) au niveau de Sidi Salem (fig.22).

Dés le début de l'automne (Septembre), on assiste à une baisse progressive de la température de l'eau qui atteint sa valeur minimale (7°C) en février et mars à Hnaya (fig.22).

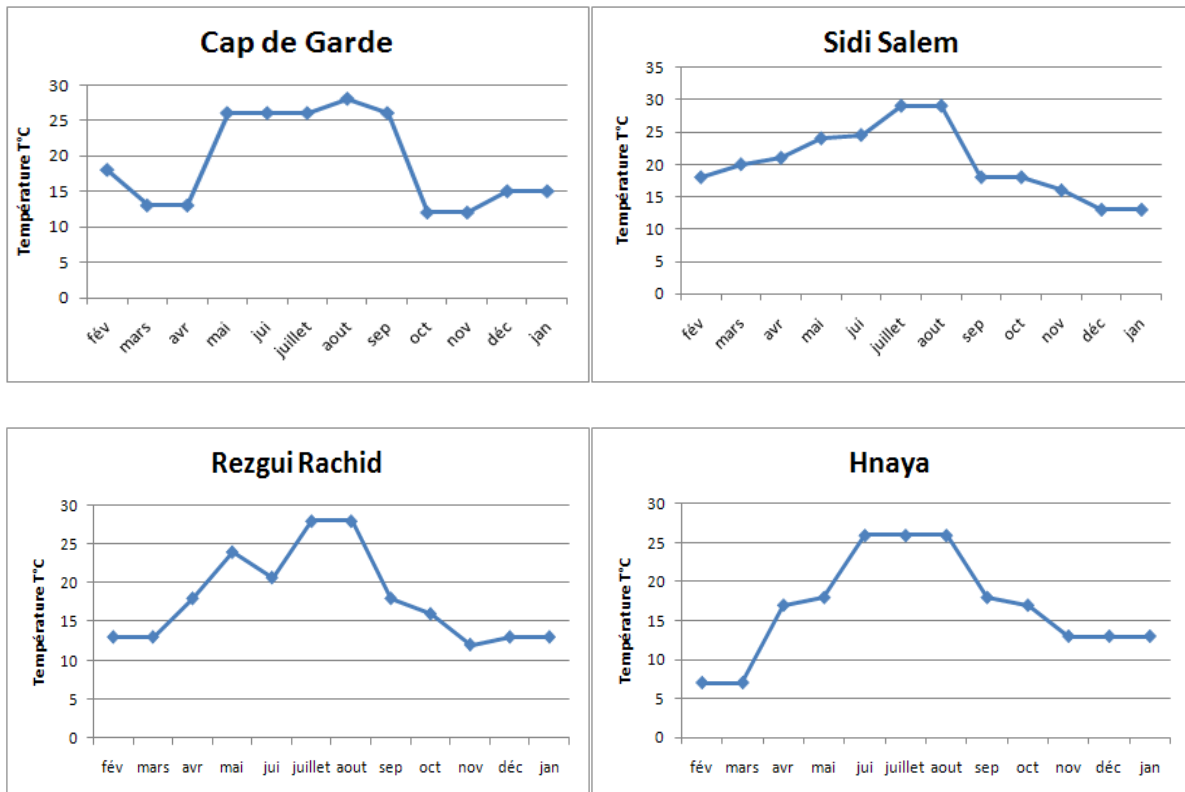


Figure 22 : Variations mensuelles de la température de l'eau du littoral d'Annaba

1.2. La Chlorophylle a :

Les teneurs en chlorophylle a montrent, des variations qui diffèrent d'un site à l'autre et d'un mois à l'autre ; les valeurs maximales sont relevées en juillet au Cap de Garde (202.92 $\mu\text{g/l}$) et à Hnaya (72.09 $\mu\text{g/l}$) en août à Rezgui Rachid (200.25 $\mu\text{g/l}$) et en novembre à Sidi Salem (176.22 $\mu\text{g/l}$). C'est à Hnaya que les teneurs en chlorophylle a sont les plus basses et au Cap de Garde qu'elles sont les plus élevées (fig. 23)

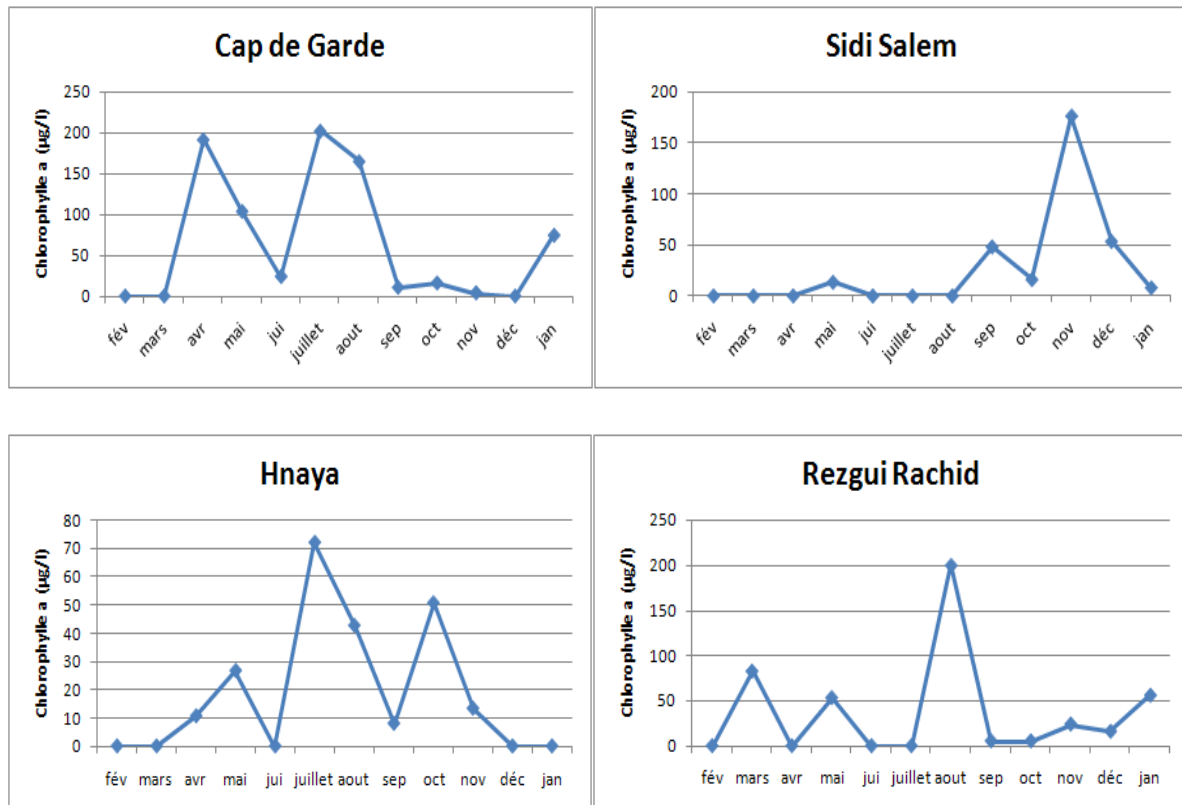


Figure 23 : Variations mensuelles de la Chlorophylle « a » de l'eau du littoral d'Annaba

1.3. La matière en suspension :

Les matières en suspension montrent des fluctuations d'un mois à l'autre et d'un site à l'autre. Des teneurs supérieures à 0,15mg/l sont notées à Rezgui Rachid pendant 10 mois sur 12, au Cap de Garde et Sidi Salem pendant 7 mois et à Hnaya pendant seulement 6 mois. C'est à Rezgui Rachid que la valeur maximale (proche de 0,3 mg/l) est enregistrée ; Par ailleurs, des teneurs en MES inférieures à 0,05mg/l sont notées au printemps et en automne au Cap de Garde, au mois d'août et en automne à Hnaya, mais seulement au mois de juin à Rezgui Rachid et Sidi Salem (fig. 24).

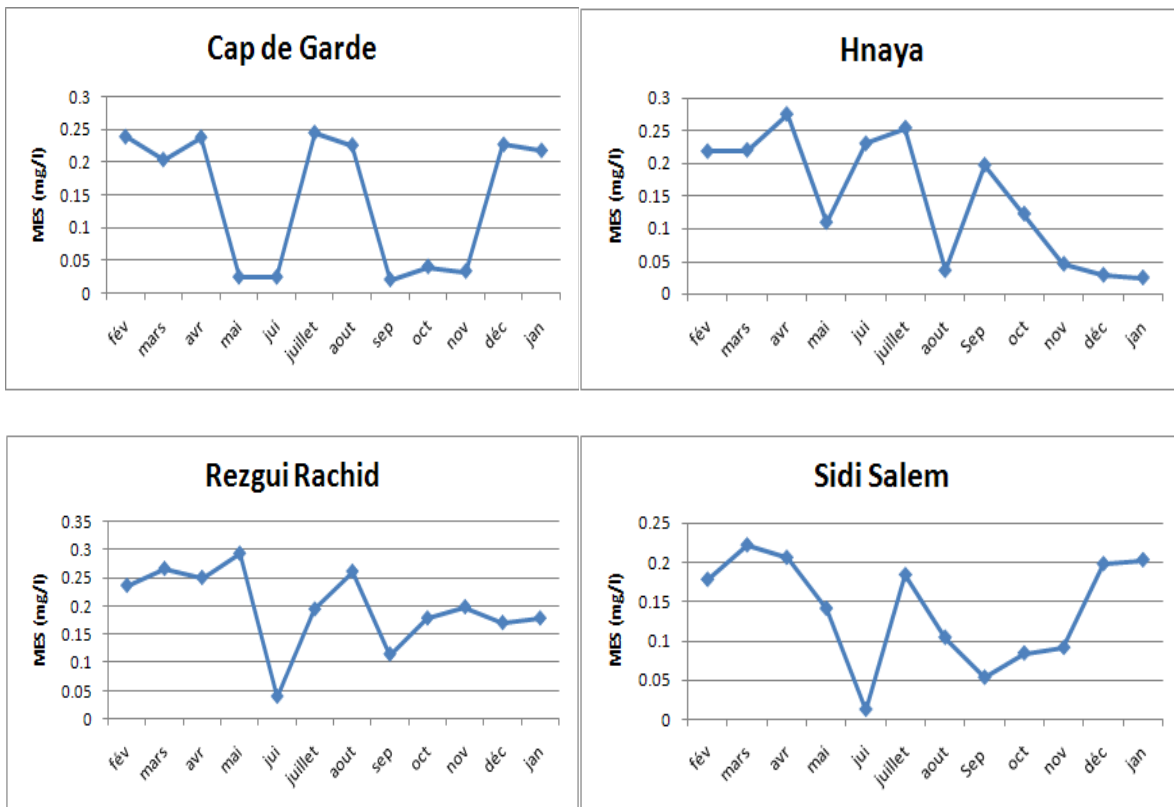


Figure 24 : Variations mensuelles de la matière en suspension de l'eau du littoral d'Annaba

1.4. L'oxygène dissous :

L'oxygène dissous montre des fluctuations similaires au niveau de tous les sites ; nous notons 2 pics de plus de 10mg/l en février et mars (au Cap de Garde, Sidi Salem, Rezgui Rachid et Hnaya), puis une chute au mois d'avril suivie d'un maintien des teneurs à 6mg/l en période estivale et une légère hausse à 8 mg/l en automne (fig. 25). C'est toutefois au mois de mars qu'une teneur en oxygène dissous de plus de 15mg/l est relevée à Rezgui Rachid.

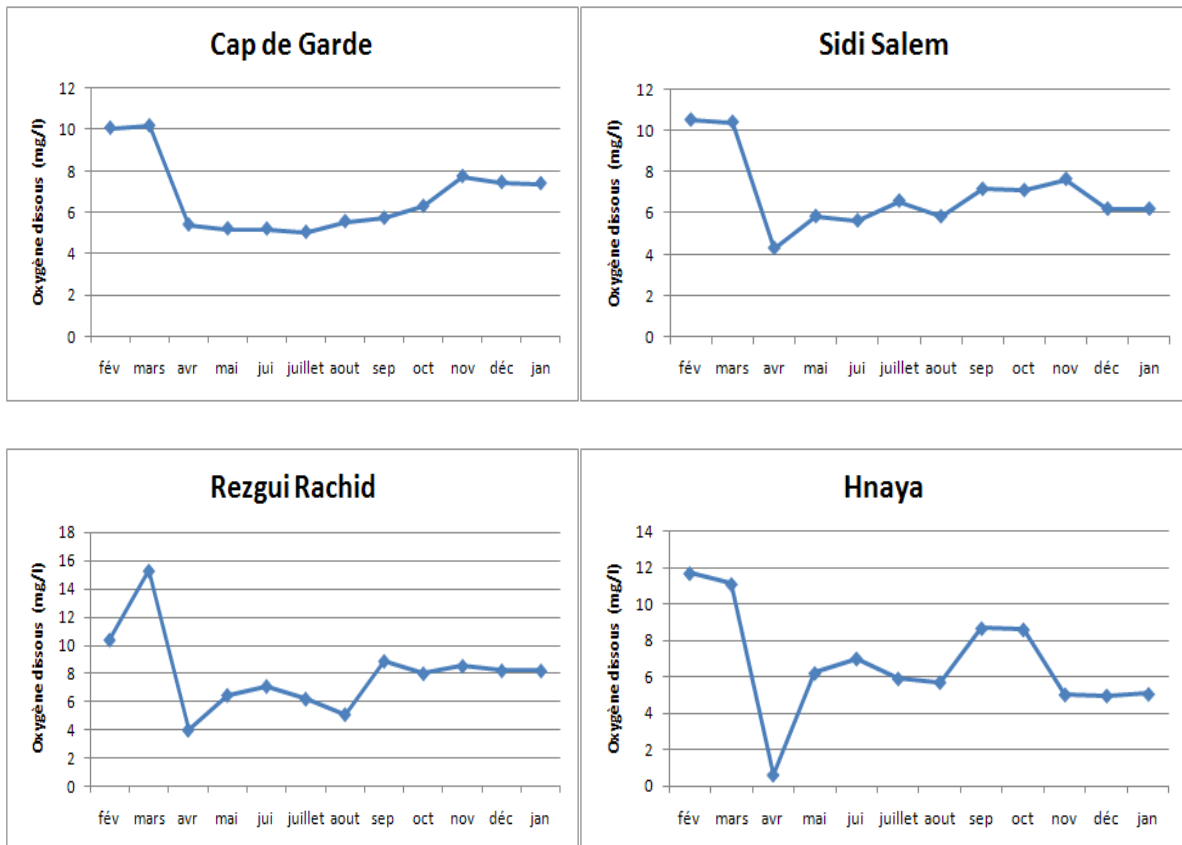


Figure 25 : Variations mensuelles de l'oxygène dissous de l'eau du littoral d'Annaba

1.5. La Salinité :

Dans l'ensemble des sites, ce paramètre montre des variations similaires illustrées par l'apparition d'un pic en juillet et des teneurs assez élevées en février. C'est, par ailleurs, au Cap de Garde que d'importantes fluctuations sont relevées d'un mois à l'autre. La salinité montre les fluctuations les plus faibles (de 36 à 37g/l) durant la période s'étalant d'août à janvier à Sidi Salem, Rezgui Rachid et Hnaya (fig.26).

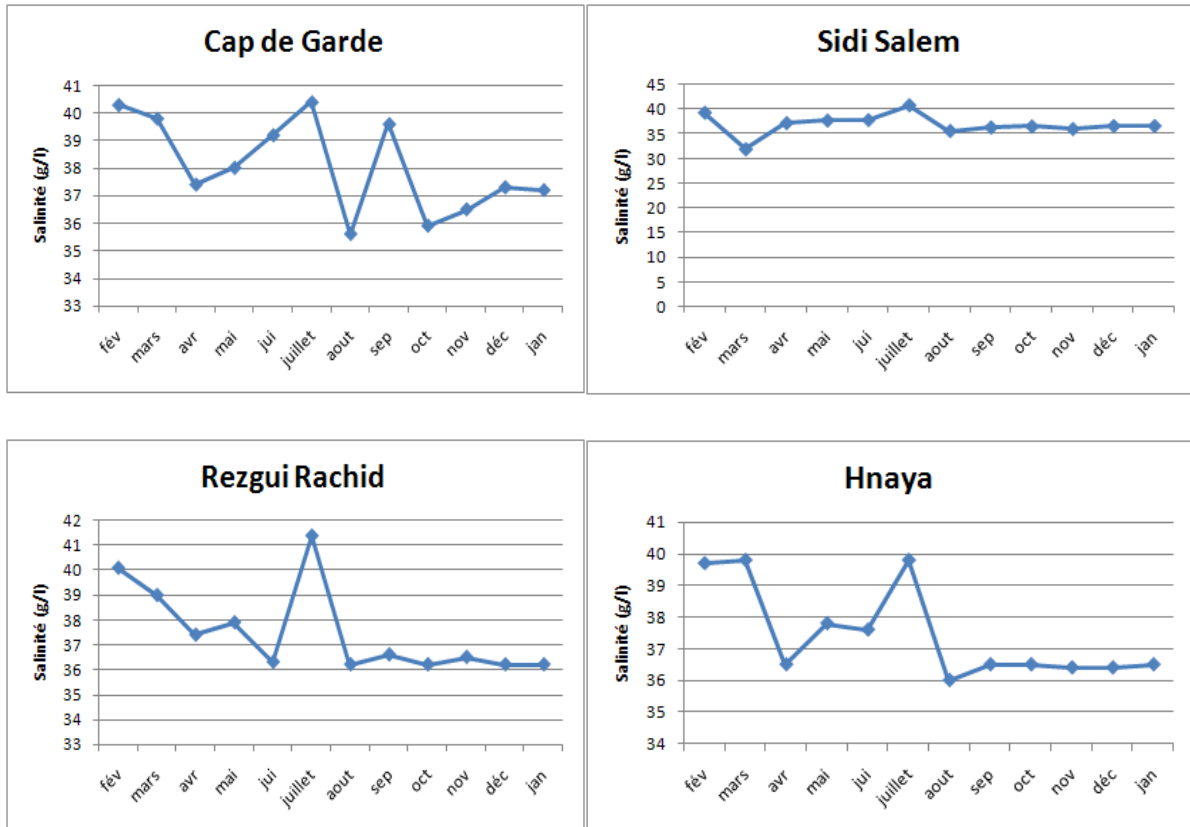


Figure 26 : Variations mensuelles de la salinité de l'eau du littoral d'Annaba

1.6. Le potentiel d'hydrogène :

Le pH est légèrement alcalin ; dans l'ensemble des sites, sa valeur varie entre 7,4 et 8,8. La valeur la plus basse (7,21) est enregistrée à Rezgui Rachid au mois de février ; c'est à Sidi Salem que la valeur la plus élevée (8,70 en novembre) est notée (fig.27).

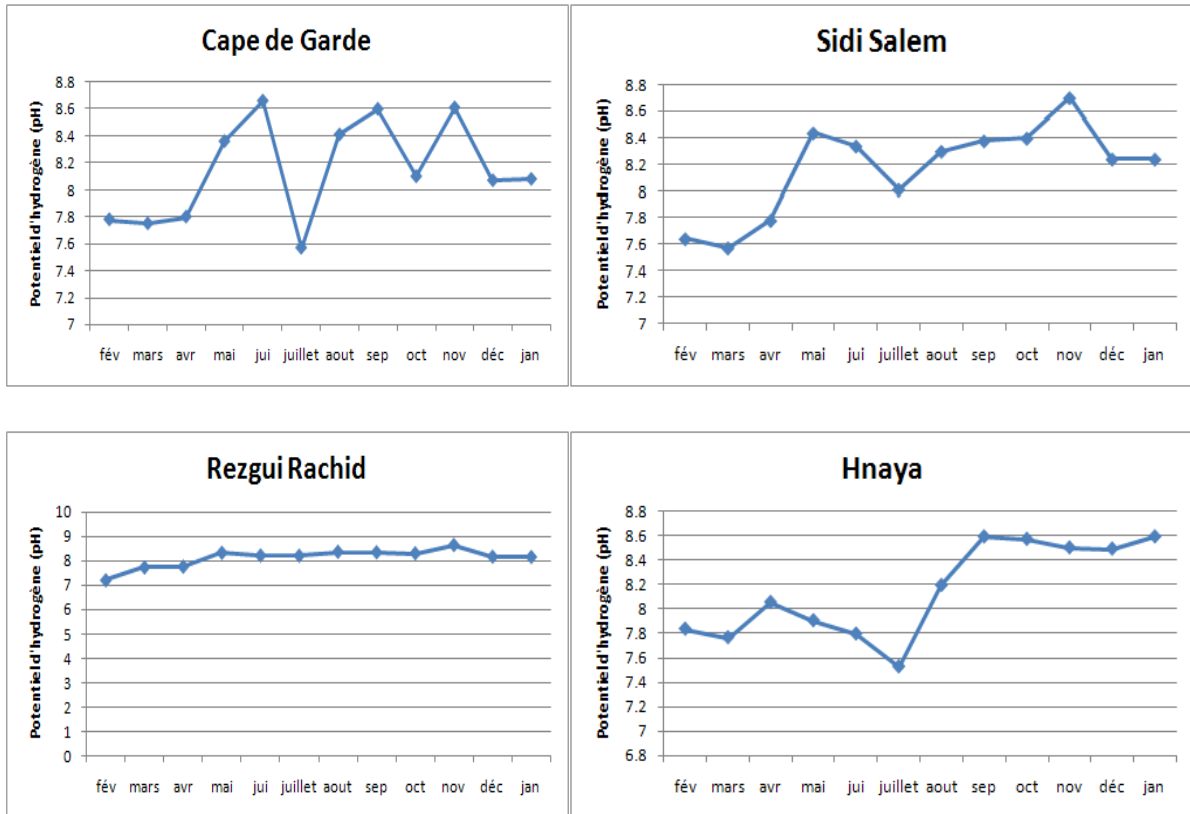


Figure 27 : Variations mensuelles du potentiel d'hydrogène de l'eau du littoral d'Annaba

2. Les paramètres bactériologiques (Eau et bivalves)

2.1. Distribution des germes pathogènes dans l'eau et les moules

L'utilisation de l'Api 20E comme test confirmatif pour la recherche et l'identification des Salmonelles dans l'eau et les moules de Sidi Salem nous a permis de mettre en évidence la présence, de *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii* (faible discrimination), de *Proteus vulgaris*, de *Salmonella arizonae*, *Salmonella spp* (faible discrimination) et *Salmonella paratyphi A* (faible discrimination), d'*Escherichia coli I*, et enfin de *Klebsiella ornithinolytica* (tab.3).

Tableau 3 : Résultat des tests confirmatifs destinés à la recherche et l'identification des Salmonelles dans l'eau et les bivalves prélevés à Sidi Salem

Bac	Salmonella arizonae		E.coli I		Proteus vulgaris		Citrobacter braakii		Citrobacter freundii		K. ornithinolytica		Salmonella spp		Salmonella paratyphi A	
	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE	EAU	MOULE
fév	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mars	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
avr	■	■	■	■	-	■	-	■	-	■	-	-	-	-	-	-
mai	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	■	-	-	-	-
jui	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
juillet	-	■	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
août	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sep	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
oct	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nov	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
déc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
jan	-	-	-	-	-	-	-	■	-	-	-	-	-	■	-	■

(+) : présence / (-) : Absence.

Il ressort du tableau 3 que les moules montrent une contamination par les germes pathogènes plus importante que celle de l'eau ; nous notons dans l'eau seulement la présence de *Salmonella arizona* et *E coli* mais en revanche dans les moules les 8 germes ont été retrouvés mais à des périodes différentes de l'année. Nous notons, en effet, la présence de *Salmonella arizonae* en avril et en juillet et celles de *Salmonella. spp.* et *Salmonella. paratyphi A* en janvier. Le germe *Citrobacter braakii* est rencontré en avril et en janvier et *Citrobacter freundii* seulement en avril. En ce qui

concerne les autres germes, *Klebsiella ornithinolytica* est isolée en mai et *Proteus vulgaris* et *E coli* en avril.

C'est en avril que le plus grand nombre de germes pathogène (5) est rencontré ; en janvier on en dénombre trois et en mai et juillet un.

2.2. Distribution des germes indicateurs de pollution fécale dans l'eau et les bivalves

2.2.1. Distribution des germes dans l'eau de mer

1. Les Coliformes totaux

Le dénombrement des Coliformes totaux montre que leur teneur varie d'un site à l'autre et d'un mois à l'autre.

Nous notons, des teneurs en Coliformes totaux, inférieures aux valeurs guides (500 germes/100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46), au Cap de Garde, Hnaya et Rezgui Rachid, pendant presque toute la période d'étude, à l'exception du mois de juin à Hnaya (un pic 2400germes/100ml), de janvier à Rezgui Rachid (2400germes/100ml) et de mai et juin au Cap de Garde(2400germes/100ml).

A Sidi Salem, durant presque toute l'année les teneurs dépassent le plus souvent la valeur guide ; elles sont de l'ordre de 1100 et 2400 germes/100ml. C'est seulement en avril, septembre et octobre que sont enregistrées des teneurs bien inférieures à la valeur guide de référence (fig. 28).

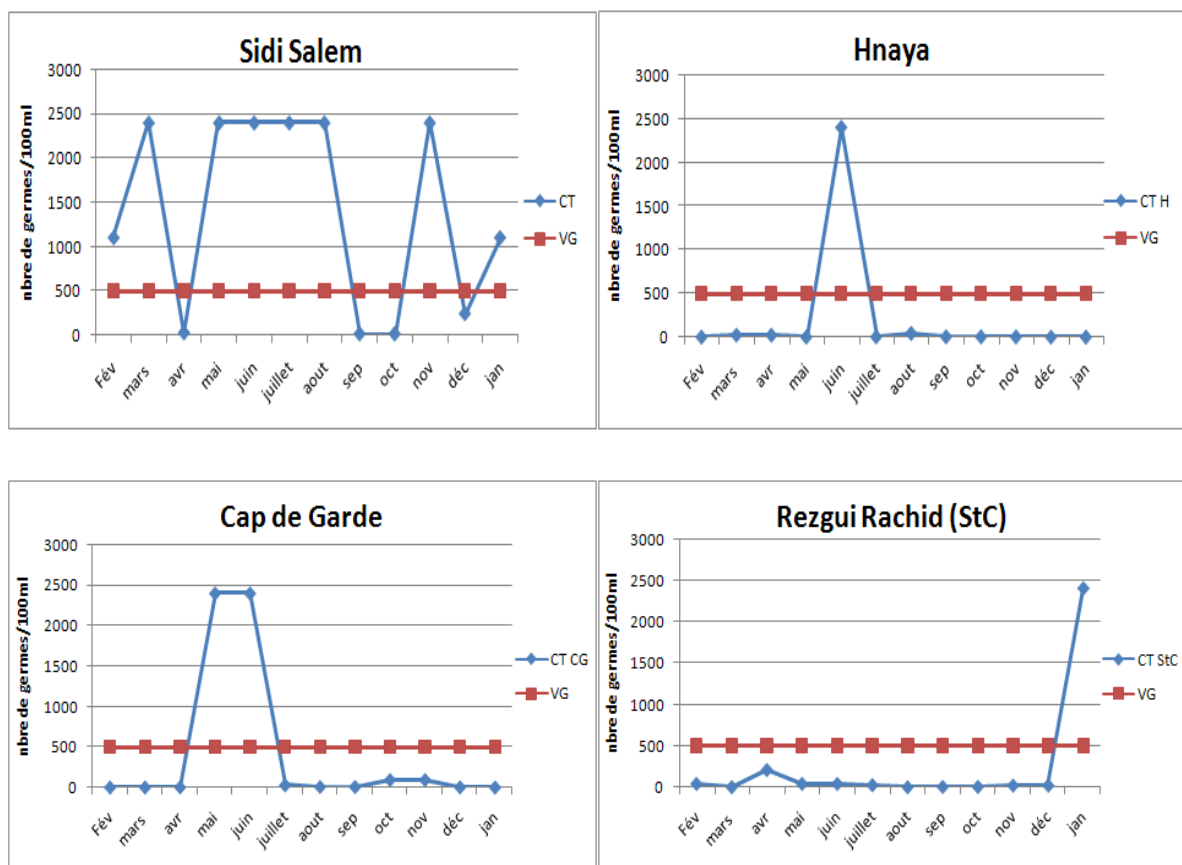


Figure 28 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux dans l'eau du littoral d'Annaba

2. Les Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*) :

Les concentrations en Coliformes thermotolérants (*E.coli*), enregistrées dans l'eau du Cap de Garde et de Hnaya, sont relativement faibles ; elles ne dépassent pas 20 germes/100ml ; et sont de ce fait inférieures aux valeurs guides fixées à 100germes/100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46.

A Sidi Salem, 3 pics de 460, 1100 et 2400 germes/100ml sont relevés respectivement en mars, mai et juin.

Au niveau de Rezgui Rachid, les teneurs restent inférieures aux valeurs guides durant presque toute l'année, à l'exception du mois d'avril où une valeur proche de la valeur guide (75germes/100ml) est atteinte (fig. 29).

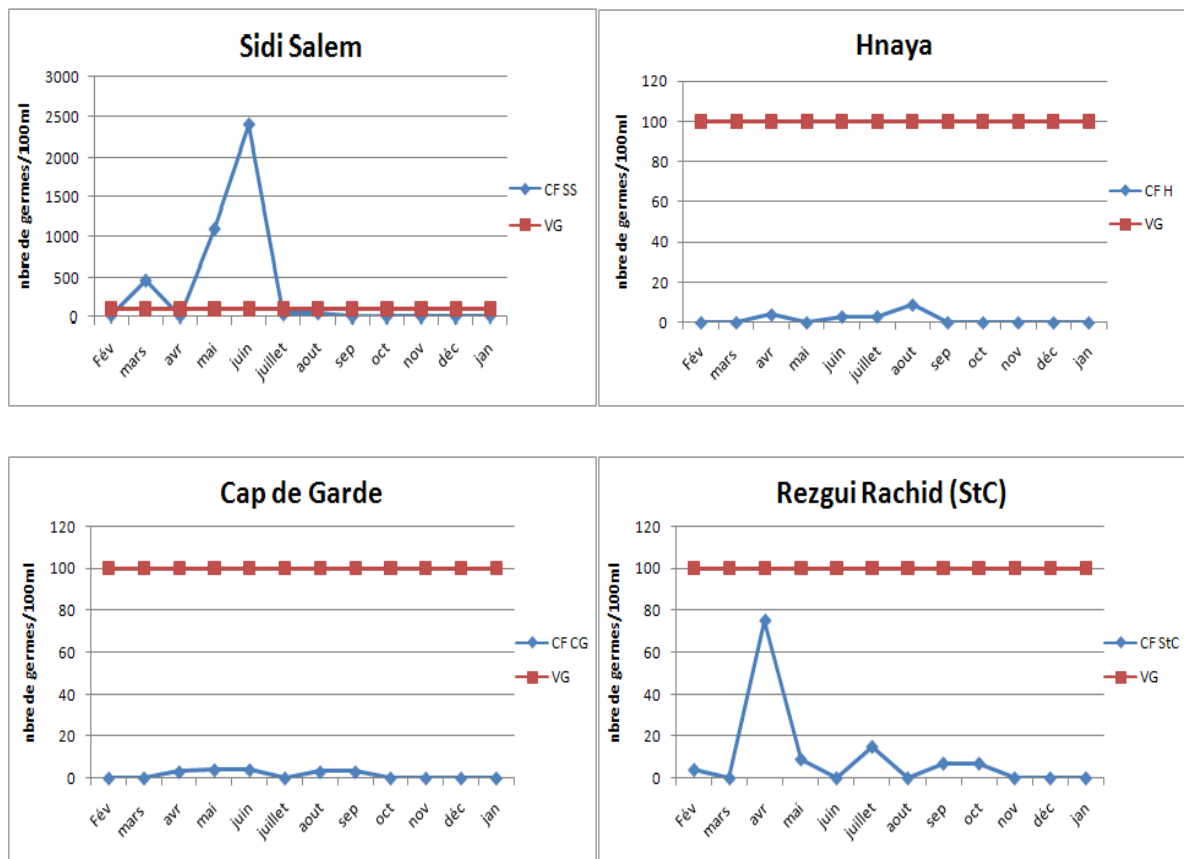


Figure 29 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes fécaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba

3. Streptocoques Totaux :

Les concentrations en Streptocoques totaux contenus dans l'eau, varient d'un site à l'autre et d'un mois à l'autre (fig.30).

Dans le Cap de Garde, les teneurs en Streptocoques totaux restent inférieures à la valeur guide (ne dépassent pas 23germes/100ml) durant toute la période de prélèvement.

A Rezgui Rachid et Hnaya les teneurs restent au dessous de la valeur guide admise pendant 11 mois sur 12, avec toutefois des valeurs proches de la valeur guide en avril (93germes/100ml) à Hnaya et en février, septembre et octobre (75, 93, et 93 germes/100ml) à Rezgui Rachid ; nous enregistrons, par ailleurs, un pic de 2400germes/100ml en juin à Hnaya et un pic de 460germes/100ml en avril à Rezgui Rachid.

A Sidi Salem, les teneurs enregistrées dépassent, durant presque toute l'année, la valeur guide, à l'exception des mois d'avril et janvier où des teneurs de l'ordre de 30 germes/100ml sont notées.

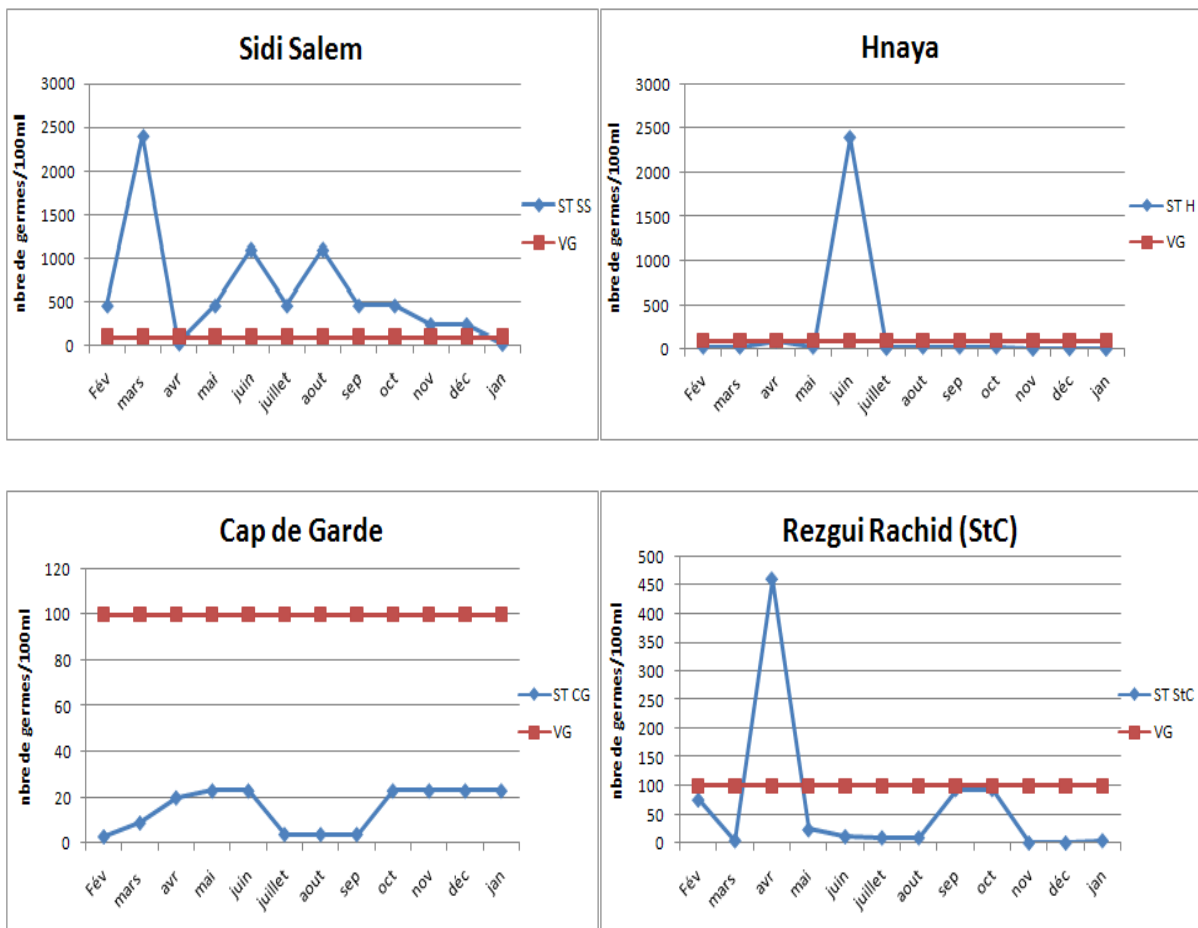


Figure 30 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba

4. Streptocoques fécaux :

Dans le Cap de Garde et Hnaya, les eaux présentent des teneurs en Streptocoques fécaux qui ne dépassent pas 23 germes/100ml (teneurs bien inférieures aux valeurs guides fixées à 100 germes /100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46) ; Cependant, une teneur proche de la valeur guide (93germes/100ml) est notée, à Hnaya, dans l'échantillon d'eau du mois d'avril (fig. 31).

Les eaux de Rezgui Rachid, montrent une importante contamination par les Streptocoques fécaux en avril (pic de 460 germes /100ml) et des teneurs proches des valeurs guides en février, septembre et octobre.

Quant aux eaux de Sidi Salem, les teneurs en Streptocoques fécaux relevées durant presque toute l'année sont nettement supérieures aux valeurs guides ; un maximum de 2400germes/100ml est noté en mars et en août ; seuls les mois d'avril, mai, novembre et janvier enregistrent respectivement des teneurs de 28, 43, 21 et 9 germes /100ml.

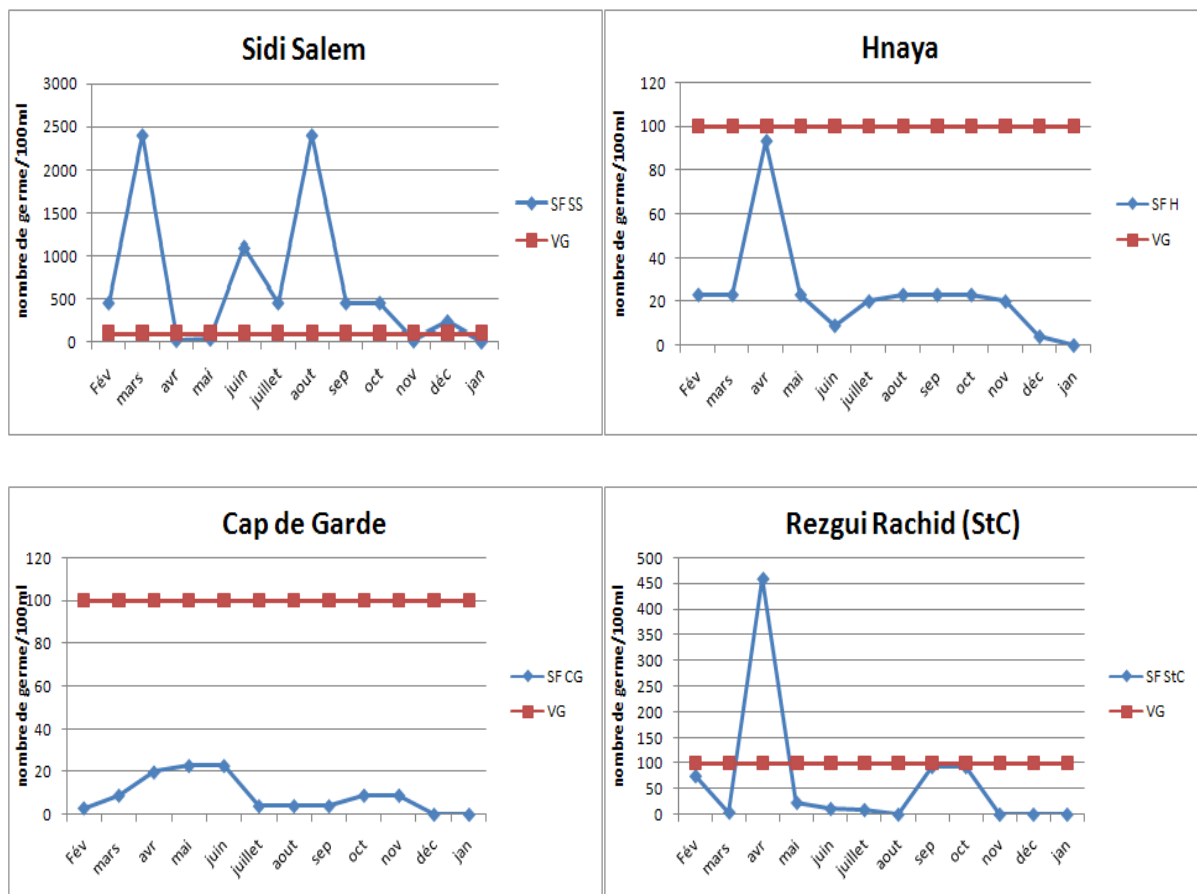


Figure 31 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux relevées dans l'eau du littoral d'Annaba

2.2.2. Distribution des germes chez les moules

1. Les Coliformes totaux

Les moules prélevées dans l'ensemble des sites hébergent, durant toute l'année, des coliformes totaux à des teneurs dépassant largement les valeurs guides fixées à 1000 germes/100ml de broyat selon la directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991(fig.32).

Des teneurs de 140000 germes/100ml de broyat sont, toutefois, enregistrées à Sidi Salem, pendant 7 mois de l'année, au Cap de Garde pendant 11 mois, à Rezgui Rachid, pendant 8 mois et à Hnaya durant seulement 3 mois.

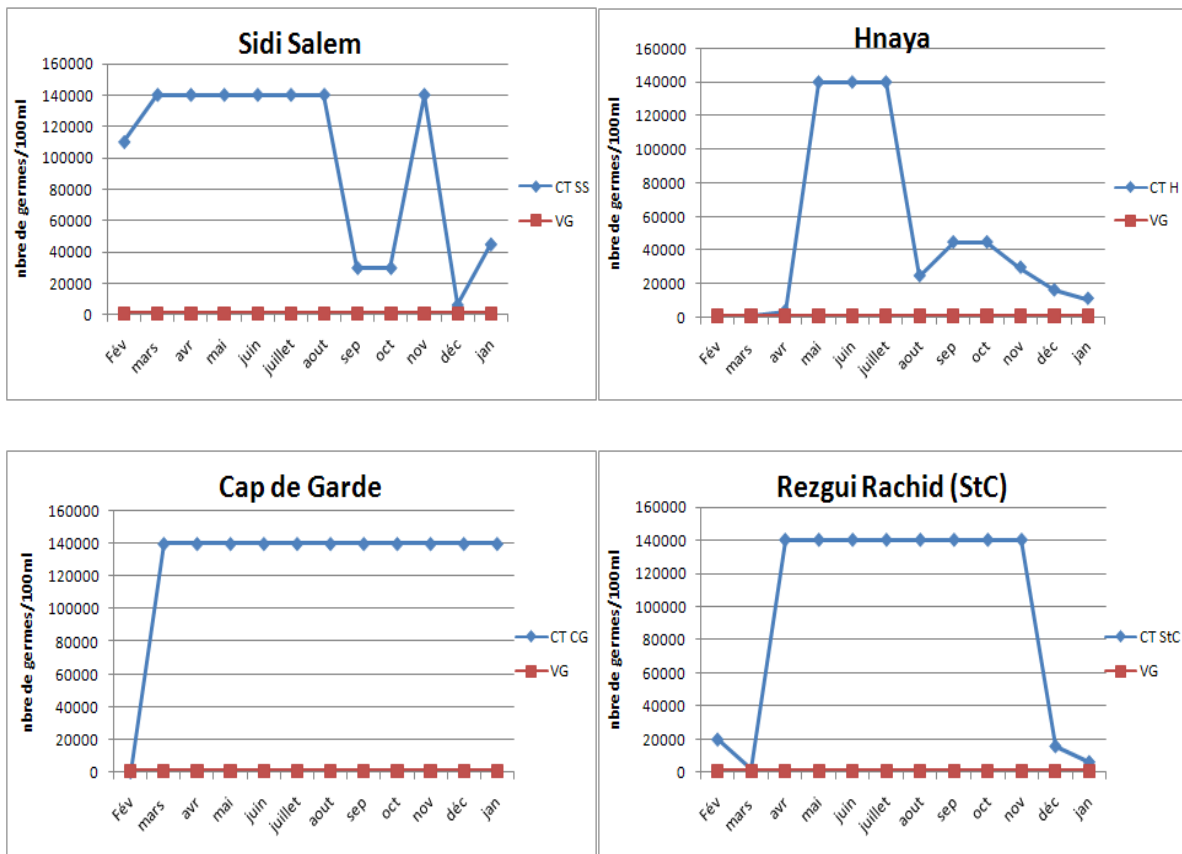


Figure 32 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba

2. Les Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*)

Les moules du Cap de Garde et de Rezgui Rachid hébergent des Coliformes thermotolérants, pendant 6 mois sur 12, à des teneurs variant respectivement de 300 et 140000 germes/100ml de broyat et de 400 à 11000germes/100ml de broyat; ces concentrations dépassent les valeurs guides fixées à 230 germes/100ml de broyat selon l'arrêté européen du 23 mars 1993.

A Sidi Salem, les moules abritent les coliformes thermotolérants durant 10 mois de l'année et à des taux supérieures aux valeurs guides ; des teneurs de l'ordre de 110000, 30000 et 11000 germes/100ml de broyat sont respectivement relevées en mars, mai et juillet (fig. 33).

En ce qui concerne, les moules de Hnaya, la contamination est assez marquée de juin à octobre ; durant cette période, les teneurs enregistrées varient de 2000 à 11500 germes/100ml de broyat.

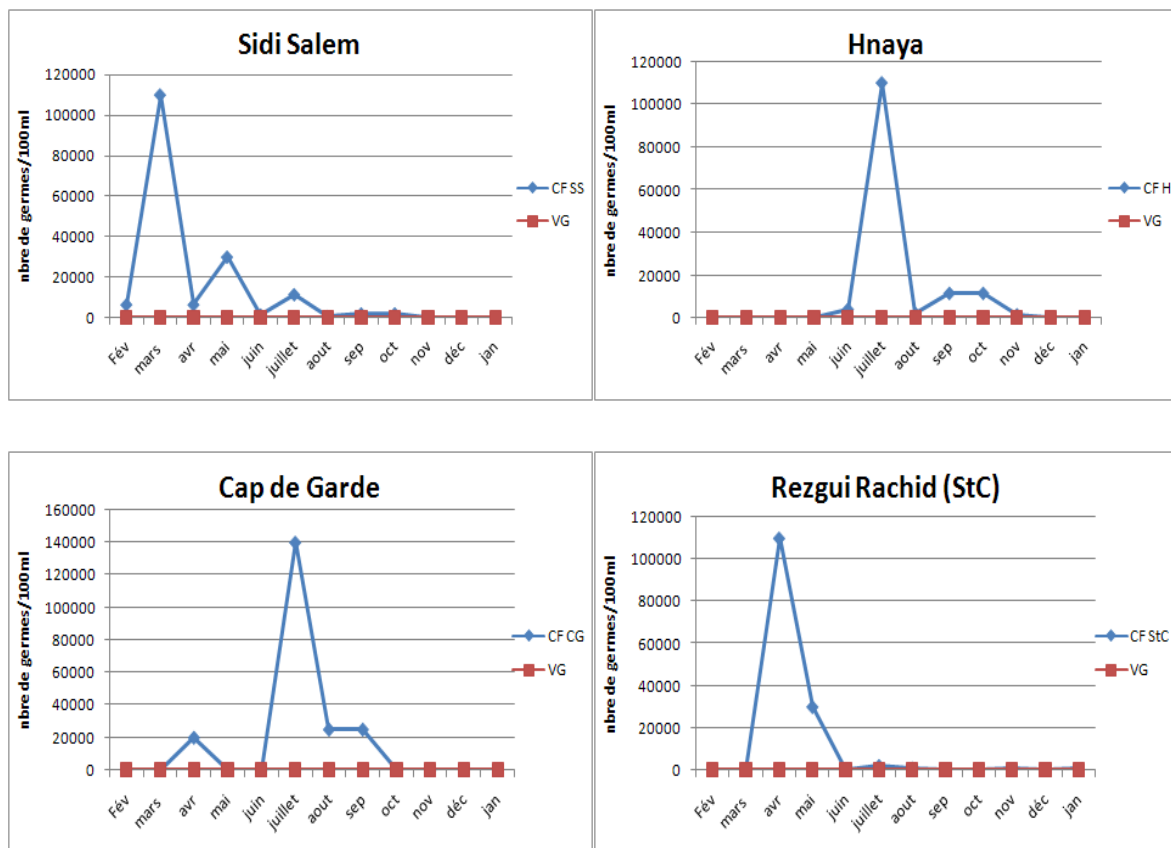


Figure 33: Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes fécaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba

3. Les Streptocoques totaux :

Les moules provenant de l'ensemble des sites (fig.34), montrent une forte contamination par les Streptocoques totaux, illustrée par des teneurs le plus souvent proche de 140000 germes/100 ml de broyat (dépassant largement la valeur guide admise, en référence à l'arrêté européen du 23 mars 1993). Des teneurs proche de 20 000 germes/100 ml de broyat sont enregistrées en février chez les moules de Sidi Salem, de Rezgui Rachid et du Cap de Garde ; Ce sont toutefois les moules de Hnaya du mois de juin, qui enregistrent la teneur en Streptocoques totaux la plus basse.

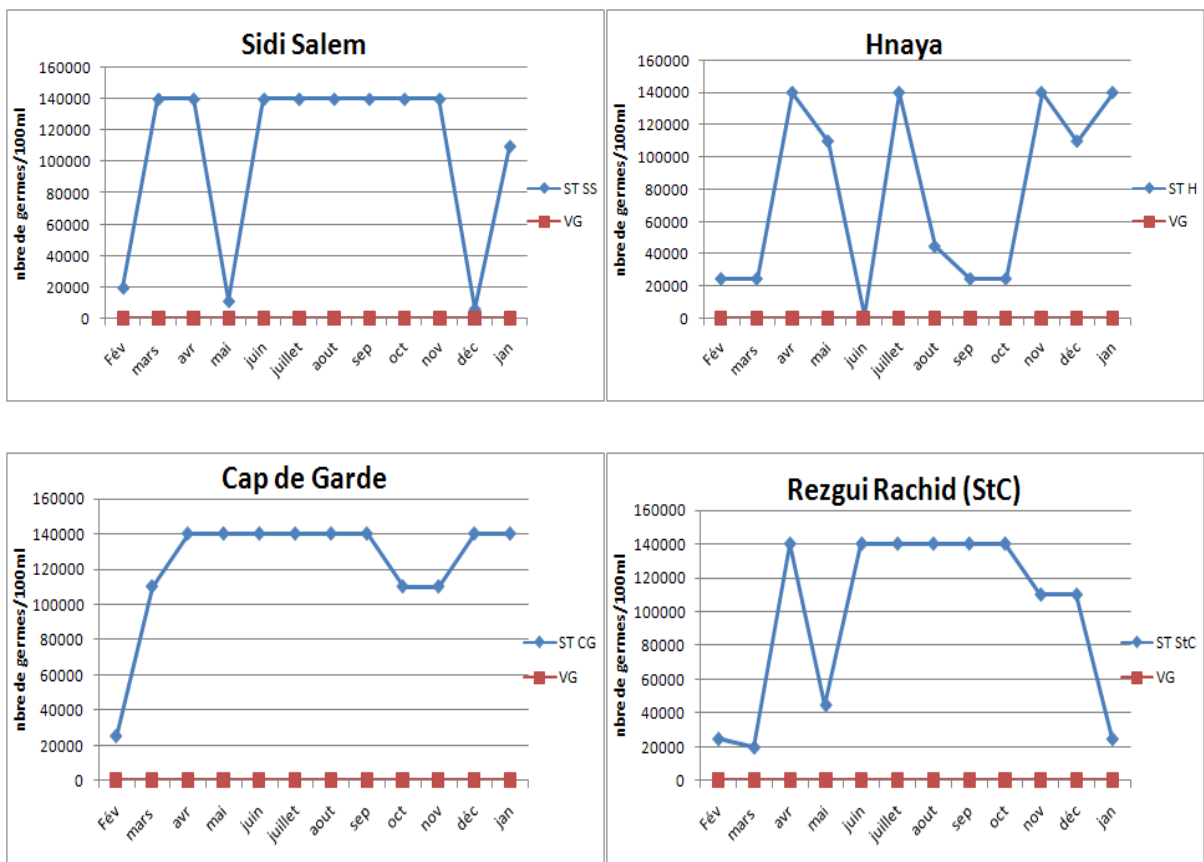


Figure 34 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba

4. Les Streptocoques fécaux

Les moules, de pratiquement l'ensemble des sites, présentent une forte contamination par les Streptocoques fécaux (fig. 35); les teneurs relevées, varient de 20 000 à 140000 germes/100 ml de broyat durant pratiquement toute l'année. C'est à Rezgui Rachid que des teneurs relativement basses (inférieures aux valeurs guides fixées à $2.5.10^3$ germes /100ml de broyat, selon arrêté européen du 23 mars 1993), sont enregistrées en septembre et octobre (1100 germes/100 ml de broyat).

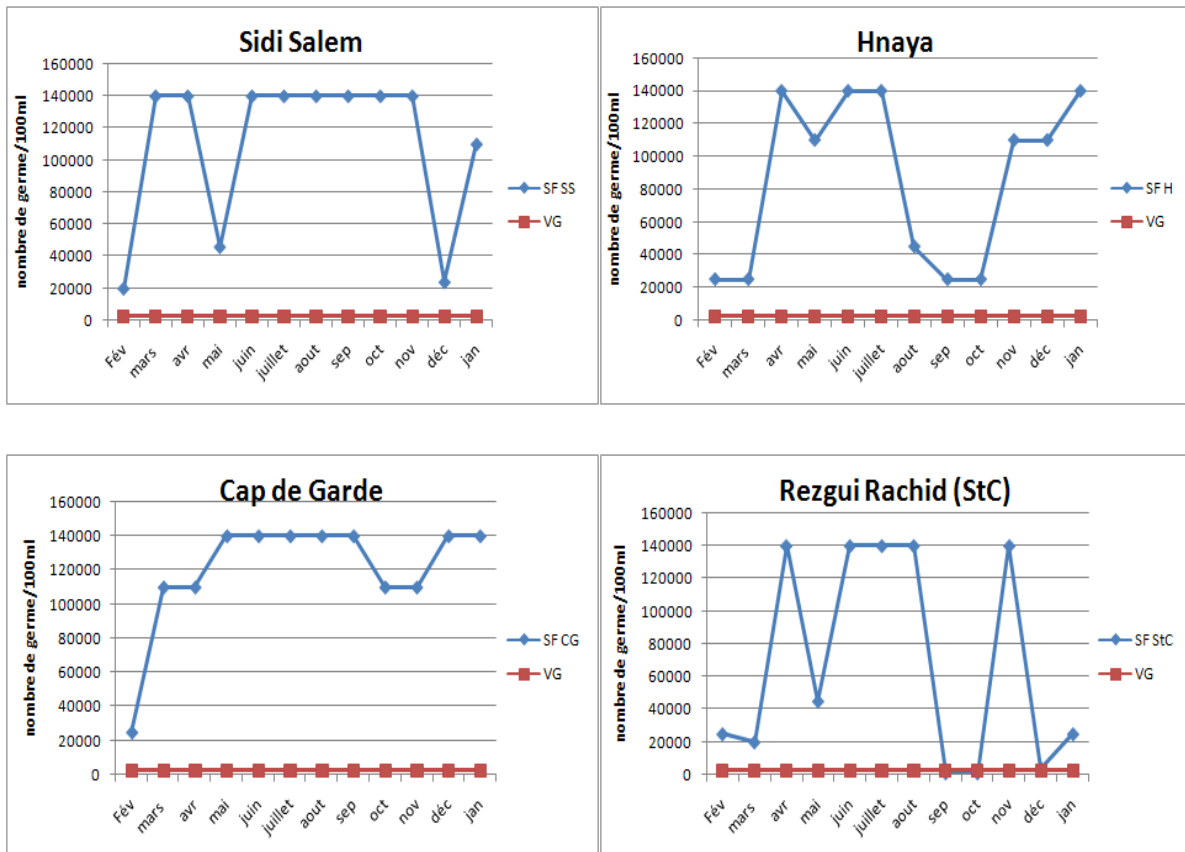


Figure 35 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux relevées dans les bivalves du littoral d'Annaba

2.3. Origine de la contamination de l'eau

Le calcul de l'indice de Bourgeois (1980), basé sur le rapport, Coliformes fécaux/Streptocoques fécaux (CF/SF), fait apparaître l'existence, le plus souvent, de contamination d'origine animale dans l'eau de l'ensemble des sites échantillonnés ; toutefois, une origine mixte de la contamination est notée aux mois d'août et septembre au Cap de garde, en juillet à Rezgui Rachid, en juin et janvier à Sidi Salem. Une contamination d'origine humaine est observée en mai à Sidi Salem. En ce qui concerne la contamination des eaux de Hnaya elle aurait une origine animale durant toute l'année (fig. 36).

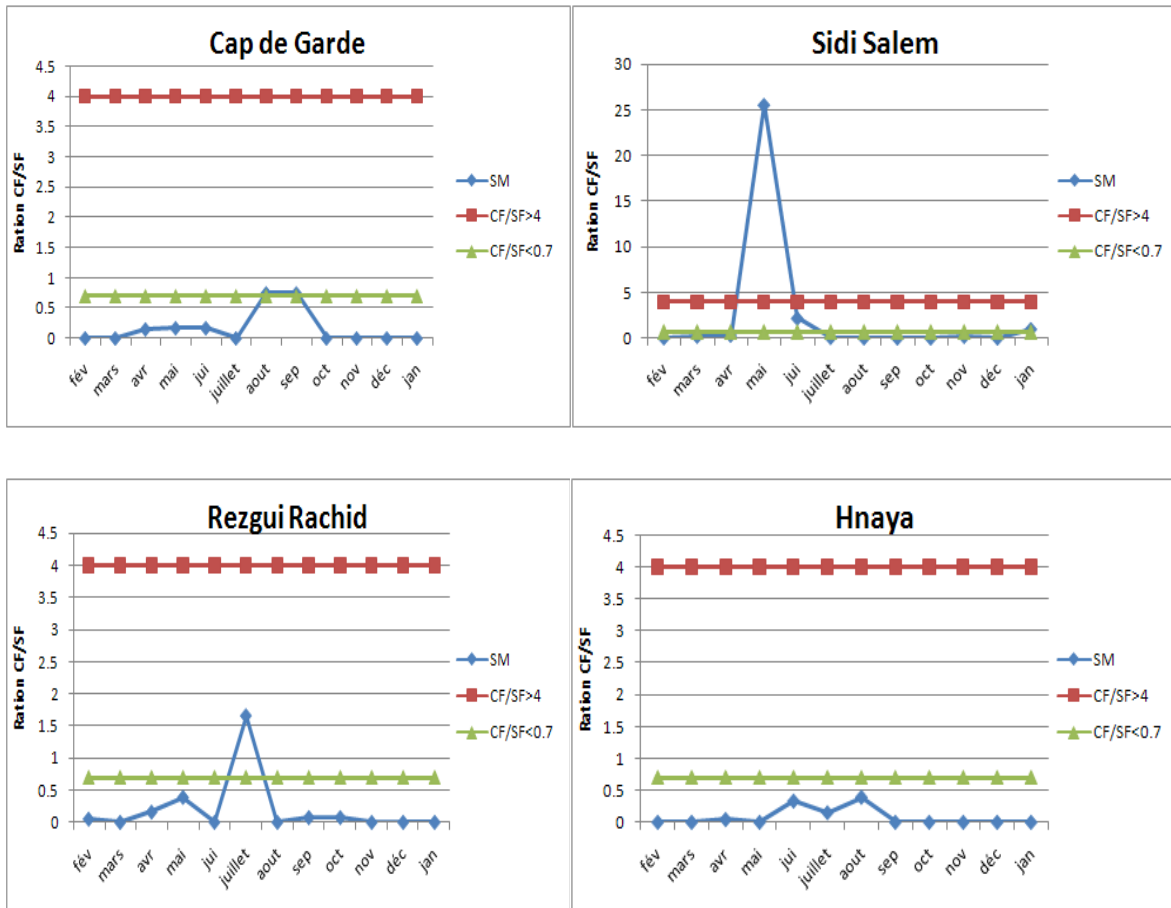


Figure 36 : Variations spatio-temporelles de l'origine de la contamination des eaux du littoral d'Annaba ($CF/SF < 0.7$ =Origine animale. $0.7 < CF/SF < 1$ =Origine mixte. $CF/SF > 4$ =Origine humaine ; selon Bourgeois (1980)).

3. Les paramètres biométriques :

3.1. Sex-ratio :

✚ Cap de Garde

Dans les échantillons de moules récoltées dans le Cap de Garde, nous notons une prédominance des individus de sexe mâle pendant 5 mois sur 12 (février, avril, août, octobre et décembre); une égalité entre les deux sexes durant 4 mois de l'année (mars, juin, juillet et septembre) et une légère prédominance des femelles durant les trois mois de l'année qui restent.

✚ Hnaya :

Sur les 12 échantillons de moules prélevés à Hnaya, les échantillons d'avril, mai, novembre et janvier (4) présentent une prédominance des individus de sexe mâles; ceux de juin juillet, août septembre et octobre (5) montrent une légère prédominance des individus de sexe femelle (du fait que les valeurs du sexe ratio soient assez proche de 1). Les échantillons de moules de février, mars et décembre présentent une égalité entre les deux sexes (fig. 37).

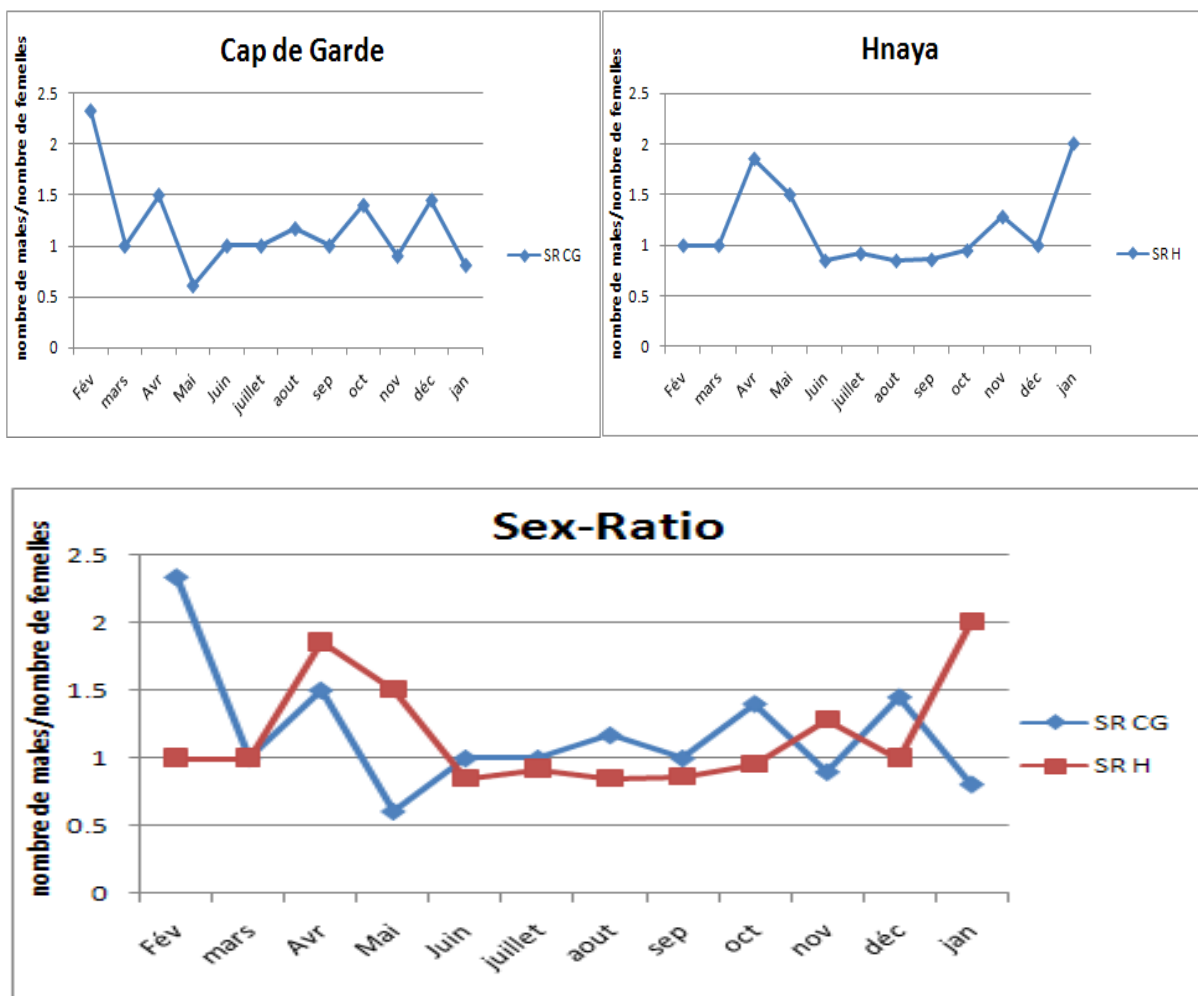


Figure 37: Variations spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées à Hnaya et au Cap de Garde

3.2. Indice de condition et périodes de ponte :

Les valeurs de l'indice de condition des moules provenant des deux sites montrent des fluctuations similaires ; elles sont élevées au printemps puis affichent une baisse progressive en été pour atteindre un minimum en septembre au Cap de Garde (2,50) et en octobre à Hnaya (2,55) ; ces valeurs marquent une légère hausse en octobre au Cap et en novembre à Hnaya puis rechutent à nouveau en novembre au Cap (2,08) et en décembre à Hnaya (2,42).

Si nous tenons compte des variations de l'IC pour déterminer les phases du cycle de reproduction des moules récoltées nous pouvons dire, compte tenu des valeurs obtenues, qu'il existe un décalage entre les différentes phases du cycle d'un site à l'autre.

Tableau 4 : Variations mensuelles de l'indice de condition ($m \pm s$, $n=10$) chez *P. perna* récoltée au Cap de Garde et à Hnaya

Mois	Cap de Garde	Hnaya
Fev.09	3.25±0.80	4.19±0.66
Mar.09	3.47±0.61	5.32±0.85
Avr.09	4.04±0.69	5.87±0.70
Mai.09	5.47±1.36	5.66±0.82
Juin.09	4.78±1.20	4.41±0.84
Juill.09	4.64±1.11	3.96±0.33
Aout.09	4.55±1.26	3.84±0.53
Sept.09	2.50±1.33	3.06±0.49
Oct.09	3.34±1.10	2.55±0.41
Nov.09	2.08±1.41	3.17±0.71
Dec.09	4.38±1.05	2.42±0.29
Jan.10	4.07±0.81	3.21±0.90

Si nous considérons que la chute de l'indice de condition des moules correspond à la perte de matière relative à l'émission de gamètes, nous pouvons dire que la phase de ponte se déroulerait en période automnale dans les deux moulières échantillonnées (fig. 38).

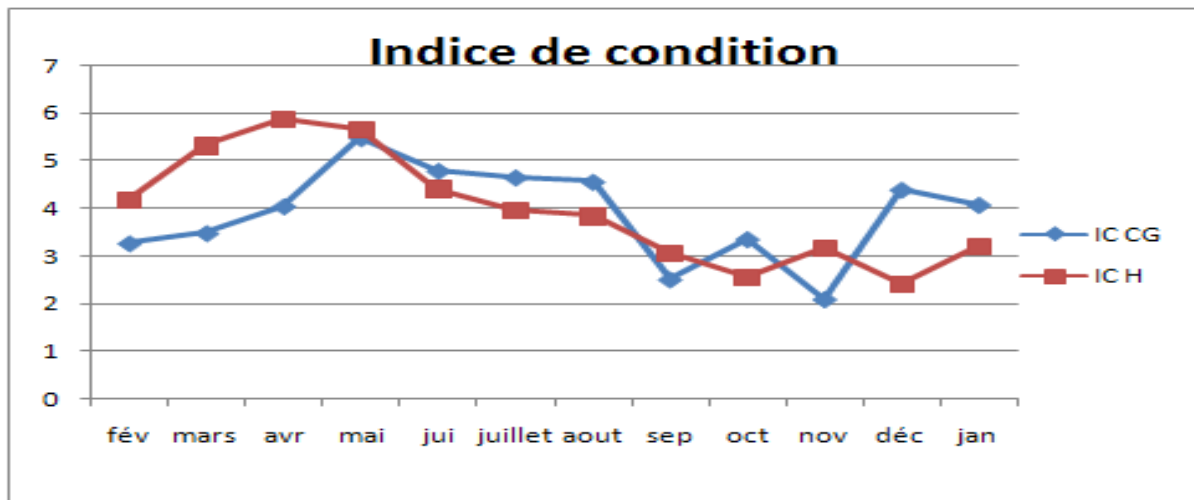


Figure 38 : Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules récoltées au Cap de Garde et à Hnaya

3.3. La croissance linéaire

L'analyse, à l'aide du logiciel FiSAT II, des données relative à la moule *P. perna* provenant des 2 moulières (Cap et Hnaya), nous a permis d'obtenir les valeurs des paramètres de croissance consignés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Paramètres de croissance de la moule *Perna perna* provenant du Cap et de Hnaya.

Paramètres de croissance	Cap de Garde	Hnaya
La longueur asymptotique L_{∞} en mm	80.33	127.58
Le coefficient de croissance K (ans^{-1})	0.85	0.48
La longueur maximale (mm)	76.50	121.50
Intervalle de confiance a 95% (mm)	73.32 – 86.43	111.5 – 145.36

✚ **Paramètres de croissance des moules récoltés à Hnaya :**

A Hnaya la longueur asymptotique L_{∞} atteint la valeur la plus élevée (127.58 mm) avec un coefficient de croissance (K) 0.48 ans^{-1} ; le tracé de la courbe de croissance réalisé à partir de ces paramètres est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 39.

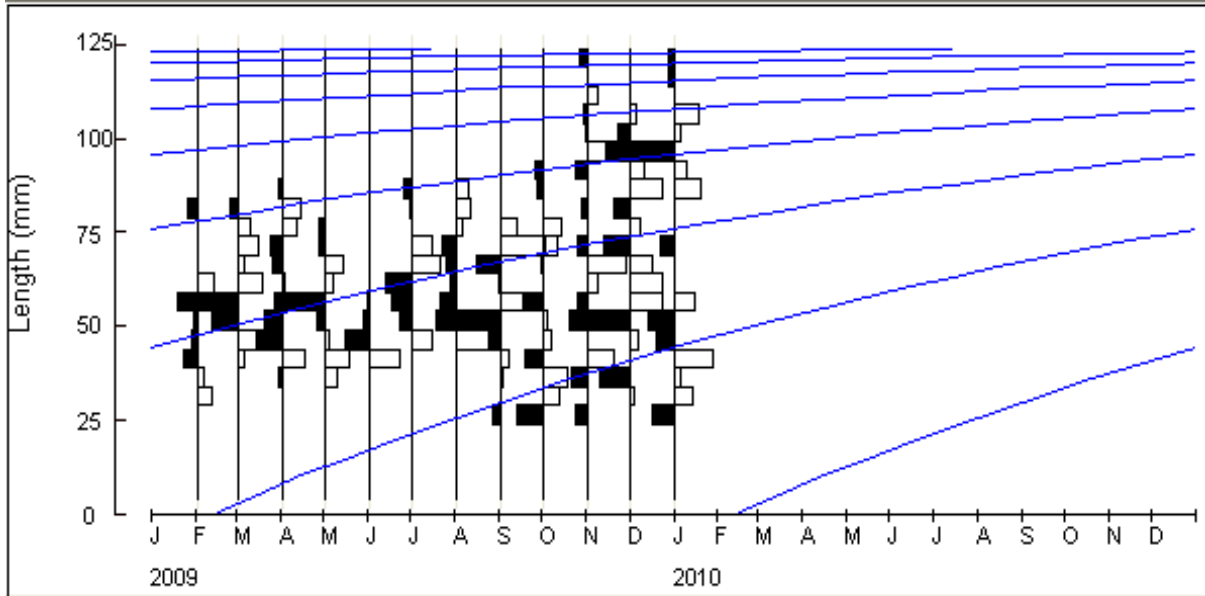


Figure 39 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P.perma* provenant de Hnaya (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=127.58 \text{ mm}$ et $K=0.480\text{ans}^{-1}$).

Chez les moules de Hnaya, la longueur maximale observée est de l'ordre de 121.50 mm et la longueur maximale estimée est de l'ordre de 128,43 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 111.5 – 145.36mm (fig.40)

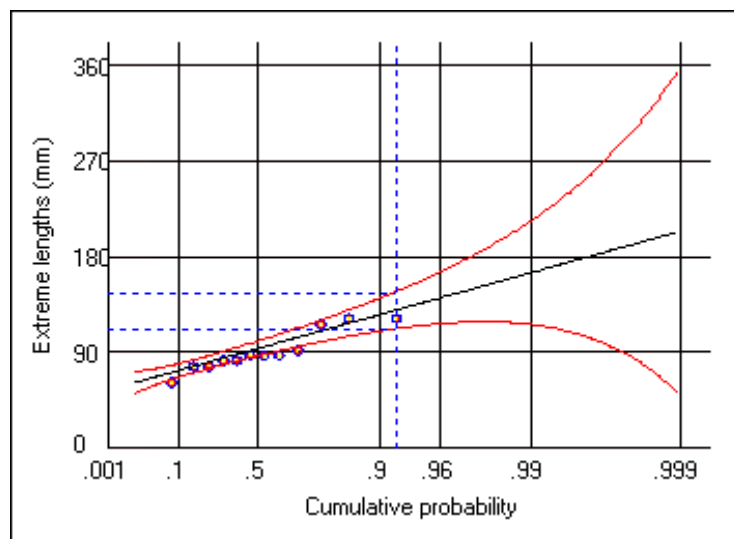


Figure 40 : Estimation de la longueur maximale de *P.perma* de Hnaya.

La meilleure valeur estimée du coefficient de croissance (K) des moules de Hnaya est égale à 0.48 ans^{-1}

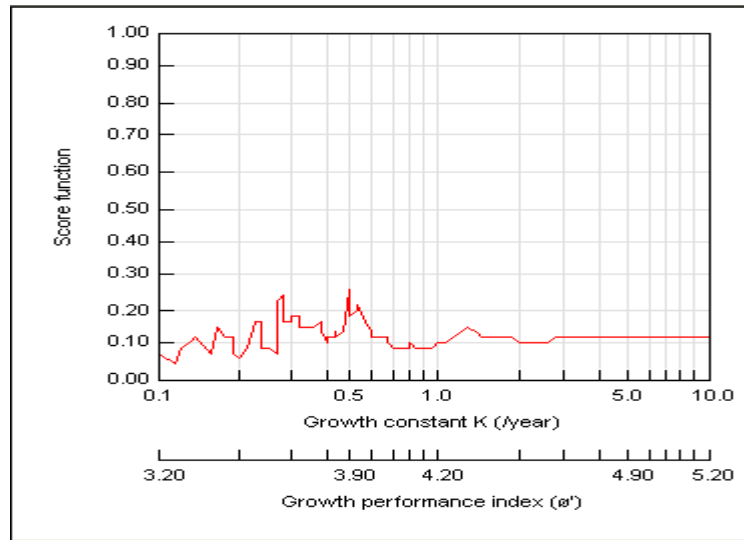


Figure 41 : Estimation du coefficient de croissance (K) de *P.perna* de Hnaya.

Il est admis dans l'analyse de l'âge et de la croissance que la valeur du 3^{ème} paramètre de l'équation de croissance de Von Bertalanffy t_0 est nulle (Pauly et David, 1981) ; De ce fait, les tailles atteintes par les moules de Hnaya seraient de 9.8 mm, 18.86 mm, 27.22 mm, 34.93 mm, 42.06 mm et 48.63 mm à la fin des mois de février, avril, juin, août, octobre et décembre (fig.42)

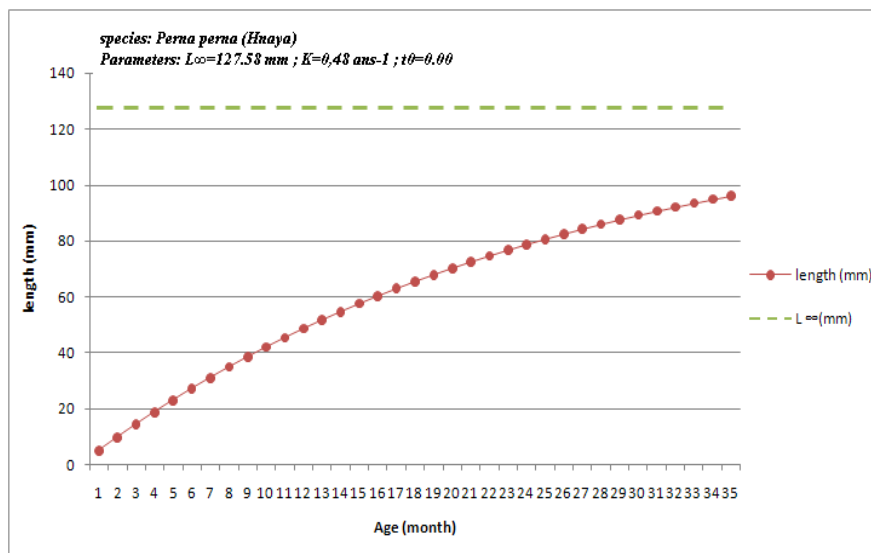


Figure 42 : Tracé de la courbe de croissance, de *P.perna* récoltée à l'Hnaya, réalisé à partir des paramètres de croissance calculés.

✚ Paramètres de croissance des moules récoltés au Cap de Garde

La longueur asymptotique L_{∞} atteinte par les moules du Cap de Garde est égale à 80.33mm avec un coefficient de croissance (K) de 0.850ans^{-1} ; le tracé de la courbe de croissance effectué à partir des paramètres calculés est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 43.

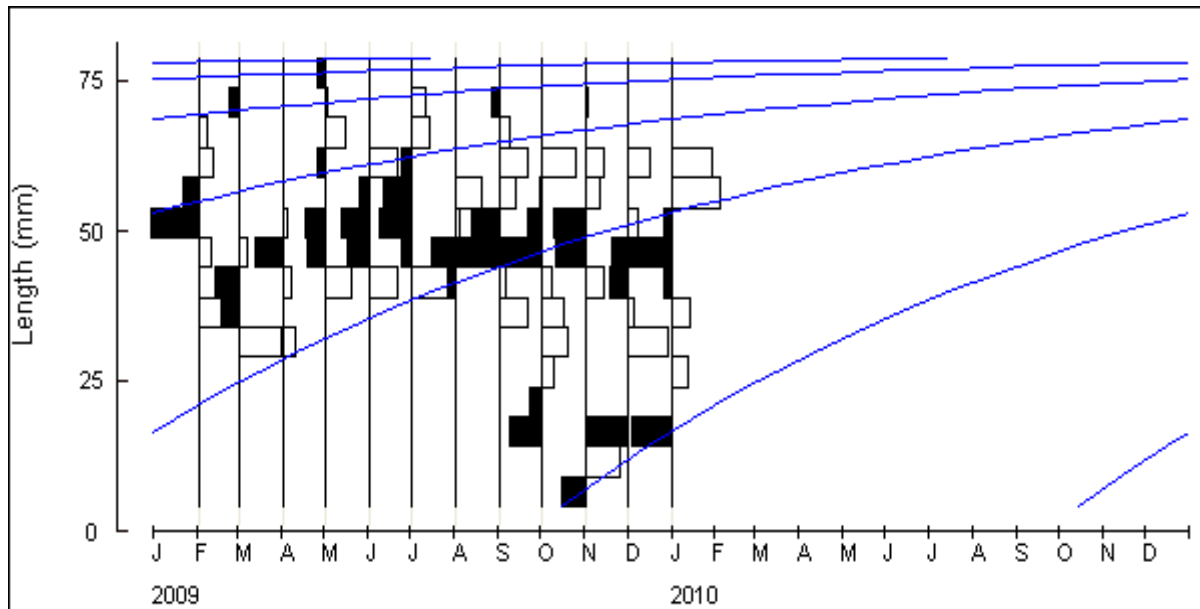


Figure 43 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P.perna* provenant du Cap de Garde (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=80.33\text{mm}$ et $K=0.850\text{ans}^{-1}$).

Chez les moules du Cap de Garde, la longueur maximale observée est de 76.50 mm et la longueur maximale estimée est de 79.87mm avec un intervalle de confiance à 95% de 73.32 – 86.43mm (fig.44)

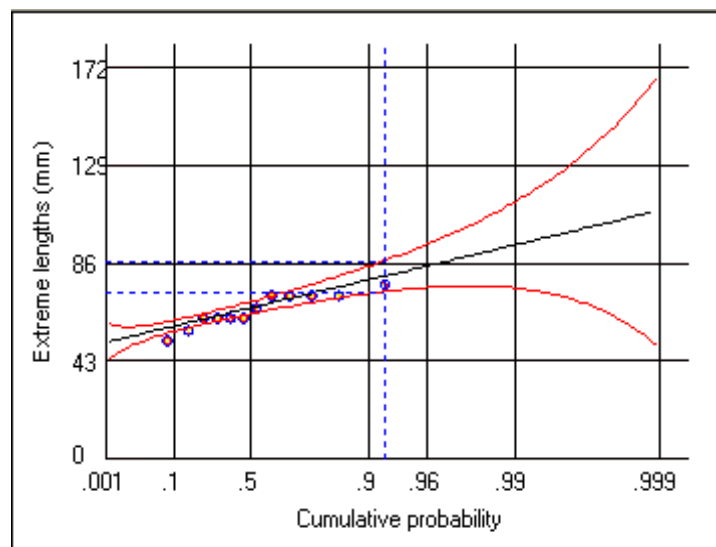


Figure 44 : Estimation de la longueur maximale de *P.perna* du Cap de Garde.

La meilleure valeur estimée du coefficient de croissance (K) des moules du Cap de Garde est de 0.850ans^{-1} (fig.45)

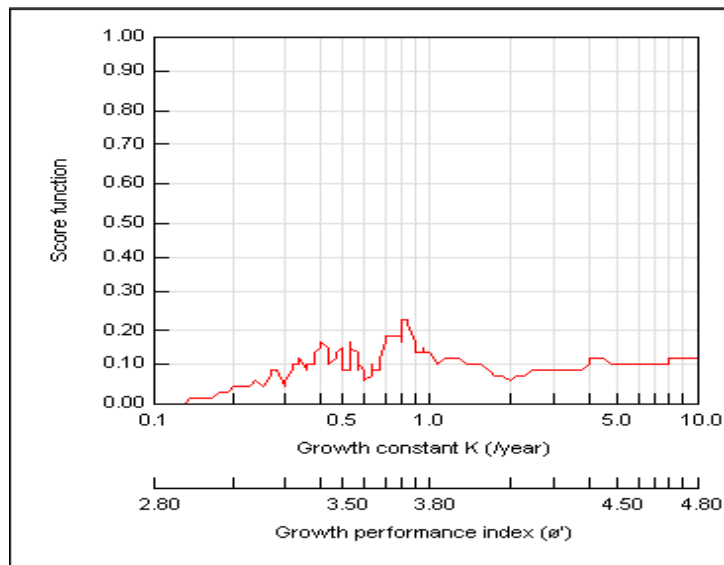


Figure 45 : Estimation du coefficient de croissance (K) de *P.perna* du cap de Garde.

Pour une valeur de t_0 nulle, l'équation de croissance de Von Bertalanffy appliquée aux données relatives aux moules du Cap de Garde donne les tailles de 10.60 mm, 19.64 mm, 27.81 mm, 34.49 mm, 40.65 mm et 45.99 mm pour les mois 2, 4, 6, 8, 10 et 12 (fig.46)

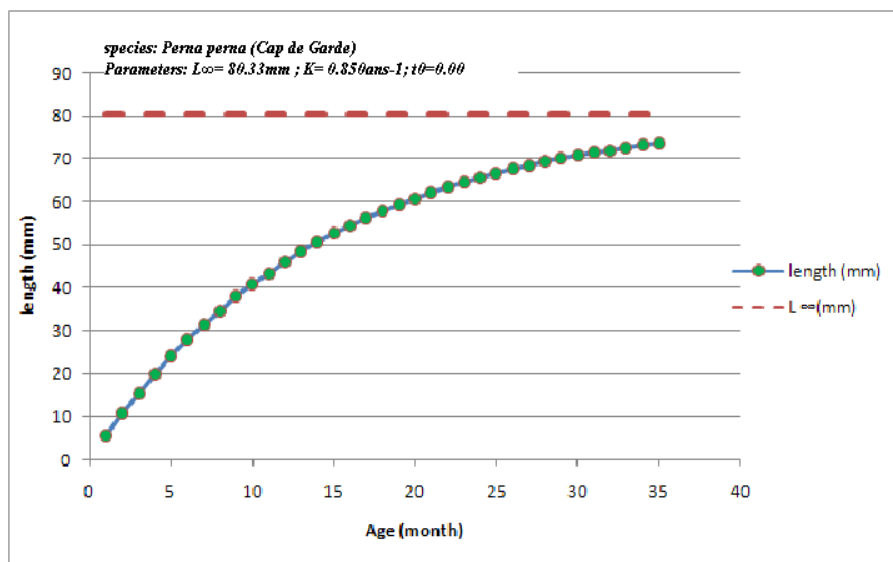


Figure 46 : Tracé de la courbe de croissance, de *P.perna* récoltée au Cap de Garde, réalisé à partir des paramètres de croissance calculés.

3.4. Croissance relative :

✚ Croissance relative à caractère métrique

Les résultats de l'équation de régression reliant les paramètres linéaires deux à deux (longueur totale (Lt) et largeur (La) ; longueur totale (Lt) et épaisseur (Ep) ; largeur (La) et épaisseur (Ep)) chez la moule *P. perna* récoltée dans le littoral d'Annaba (Cap de garde et Hnaya) sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Équation de régressions reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule *P. perna* récoltée dans le littoral d'Annaba.

Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R ²	Relation biométrique	Seuil de significativité
Hnaya	600	Longueur	Largeur	$La = 0.679 Lt^{0.307}$	84.6	Allométrie négative	0.000 ***
		Longueur	Epaisseur	$Ep = -0.116 Lt^{0.382}$	85.5	Allométrie négative	0.000***
		Largeur	Epaisseur	$Ep = -0.478 La^{1.051}$	72.1	Allométrie positive	0.000***
Cap de Garde	600	Longueur	Largeur	$La = 0.304 Lt^{0.378}$	81.3	Allométrie négative	0.000***
		Longueur	Epaisseur	$Ep = 0.025 Lt^{0.373}$	83.9	Allométrie négative	0.000***
		Largeur	Epaisseur	$Ep = 0.141 La^{0.785}$	65.5	Allométrie négative	0.000***

✚ Relation entre longueur totale et largeur:

Chez la moule *P. perna* prélevée dans les deux sites, l'analyse des résultats obtenus après détermination des différentes droites de régression montre l'existence de bonnes corrélations entre la longueur totale à la largeur, avec de bons coefficients de détermination R² (à Hnaya : 84,6 %, au Cap de Garde : 81.3%) témoignant de l'existence d'une différence très hautement significative (P = 0.000) entre l'évolution de la largeur et la longueur totale des individus. Cette allométrie négative fait

ressortir que, chez les moules provenant du littoral d'Annaba, la largeur croît moins vite que la longueur (Tab.6, fig. 47).

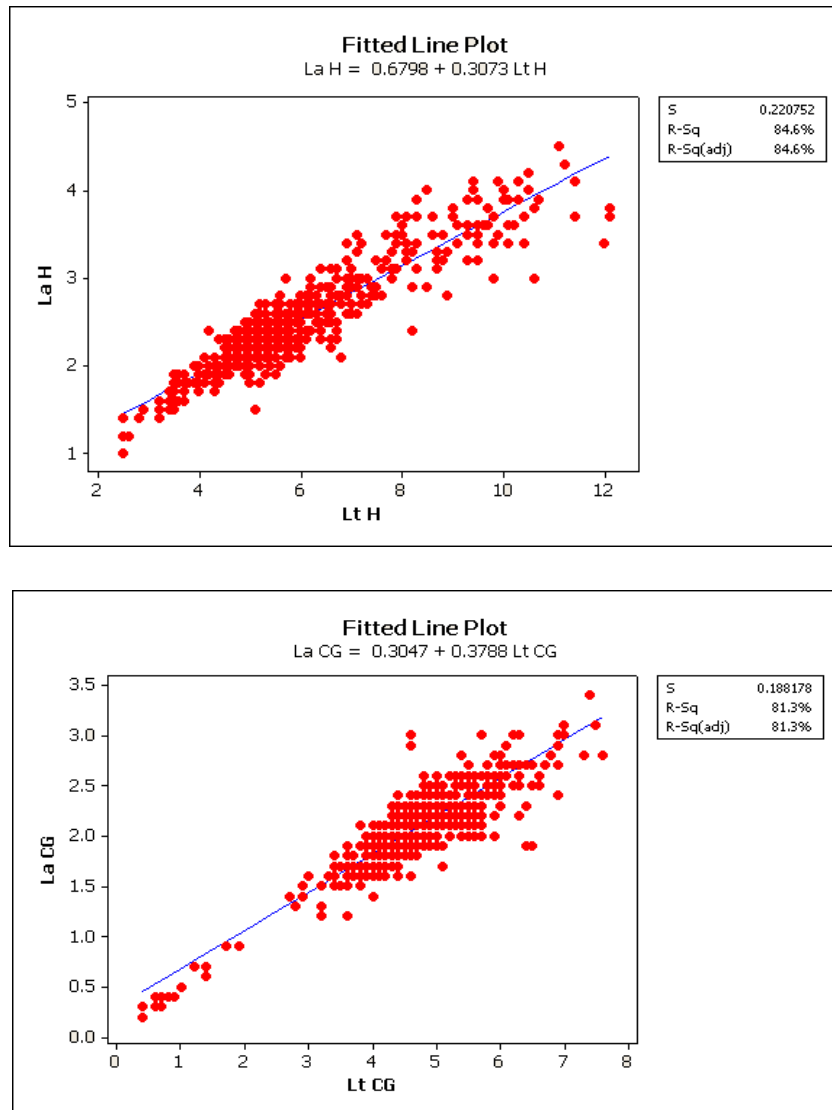


Figure 47 : Régression entre la longueur totale et la largeur chez la moule *P. perna* provenant du littoral d'Annaba.



Relations entre longueur totale et épaisseur

L'analyse des résultats obtenus après détermination des différentes droites de régression montre, chez les moules *P. perna* prélevées dans les deux sites, l'existence de bonnes corrélations entre la longueur totale et l'épaisseur avec de bons coefficients de détermination R^2 (à Hnaya : 85.5 %, au Cap de Garde : 83.9%) témoignant de l'existence d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution de l'épaisseur et la longueur totale des individus. Cette allométrie négative fait ressortir que, chez les moules provenant du littoral d'Annaba, l'épaisseur croît moins vite que la longueur (Tab.6, fig.48).

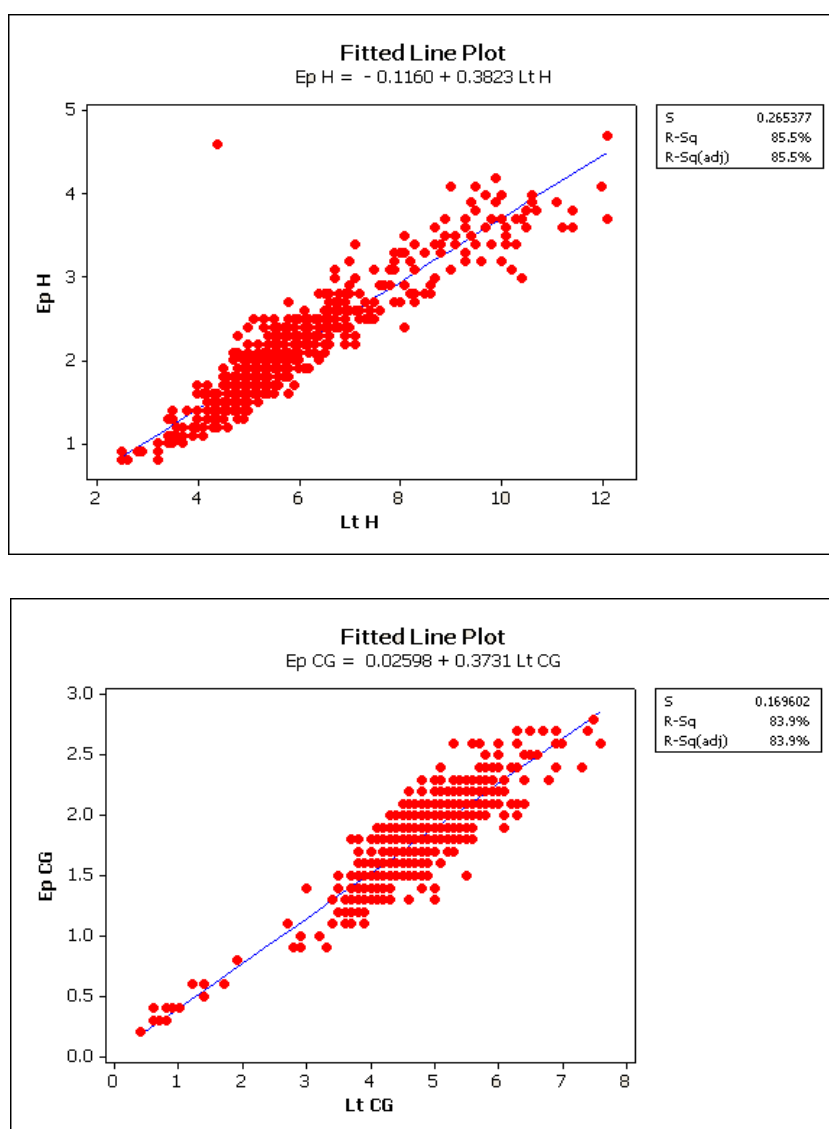


Figure 48 : Régression entre la longueur totale et l'épaisseur chez la moule *P. perna* provenant du littoral d'Annaba.

✚ Relations entre largeur et épaisseur

L'analyse des résultats obtenus après détermination des différentes droites de régression montre, les moules *P. perna* provenant des deux sites, l'existence de bonnes corrélations entre la largeur et l'épaisseur, avec de bons coefficients de détermination R^2 (à Hnaya : 72.1 %, au Cap de Garde : 65.5%) témoignant de l'existence d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution de la largeur et l'épaisseur des individus (Tab.6, fig.49). L'allométrie négative fait ressortir, chez les moules provenant du Cap de Garde, que l'épaisseur croît moins vite que la largeur (Tab.6, fig.49) ; chez les moules de Hnaya, il est noté l'existence d'une allométrie positive entre largeur et épaisseur, faisant ressortir que l'épaisseur croît plus vite que la largeur.

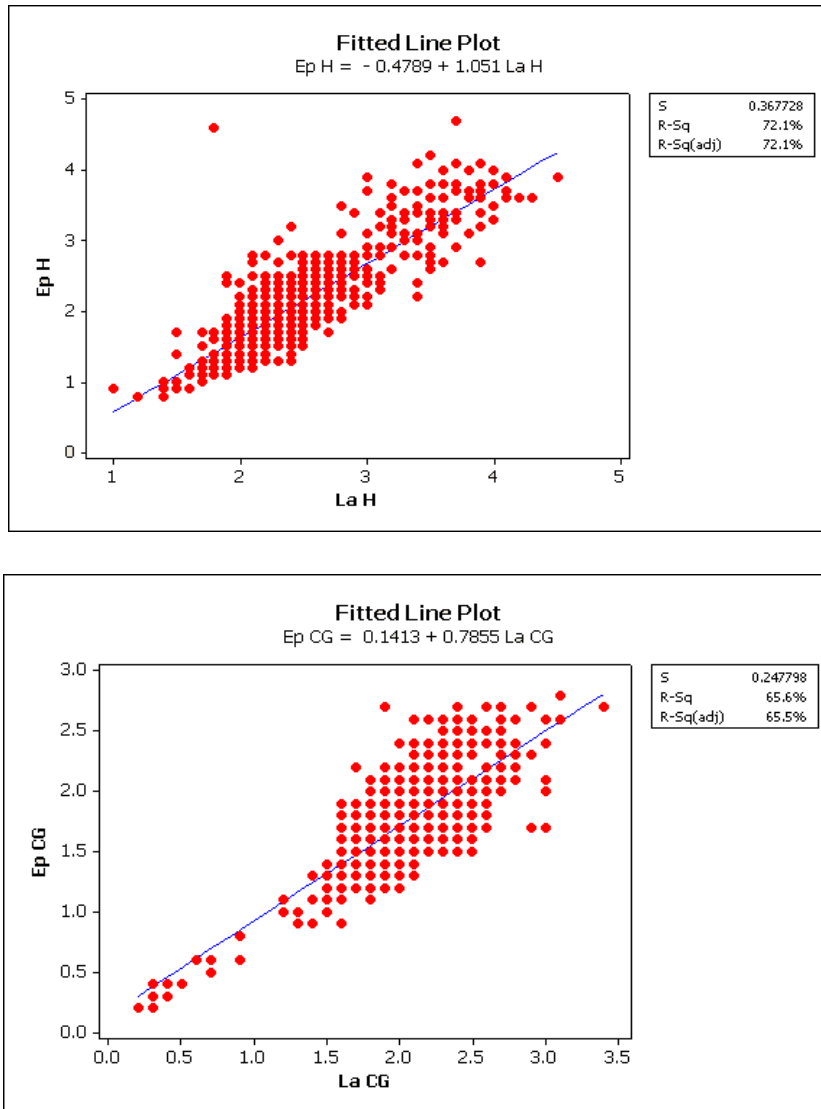


Figure 49 : Régression entre la largeur et l'épaisseur chez la moule *P. perna* provenant du littoral d'Annaba.

✚ Croissance relative (taille-poids)

Les résultats de l'estimation de la croissance relative de la moule *P. perna* par l'application de l'équation allométrique reliant la longueur totale au poids total sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez *P. perna* provenant du littoral d'Annaba.

Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R ²	Relation biométrique	Seuil de significativité
Hnaya	600	Longueur	Poids	$Pt = -30.39 Lt^{7.807}$	90.9	Allométrie	0.000***

Cap de Garde	600	Longueur	Poids	$Pt = -8.315 Lt^{3.728}$	78.5	positive Allométrie positive	0.000****
---------------------	-----	----------	-------	--------------------------	------	---	------------------

✚ Hnaya :

Chez la moule *P. perna* prélevée à Hnaya, la croissance relative estimée par l'équation reliant la longueur totale au poids total, à partir de 600 individus, montre l'existence d'une allométrie majorante avec un coefficient de détermination R^2 de 90.9 % témoignant d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution du poids et la longueur totale des individus. Cette allométrie fait ressortir que chez les bivalves de Hnaya le poids croît plus vite que la taille (Tab.7, fig.50).

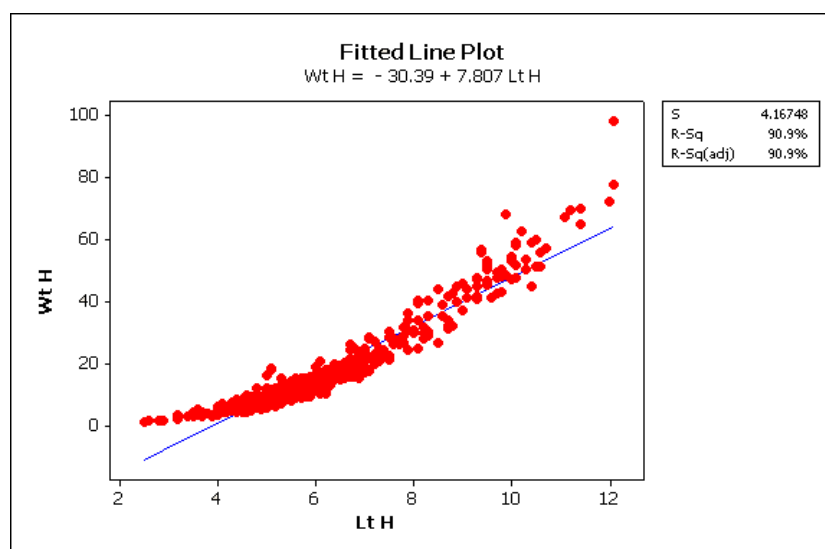


Figure 50 : Régression entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* récoltée à Hnaya

✚ Cap de Garde

La croissance relative estimée par l'équation reliant la longueur totale au poids total, à partir de 600 individus de l'espèce *P. perna* provenant du Cap de Garde, montre l'existence d'une allométrie majorante avec un coefficient de détermination R^2 de 78.5 % témoignant d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution du poids et la longueur totale des individus ; L'allométrie observée fait apparaître que le poids croît plus vite que la taille chez les bivalves du Cap de Garde (Tab.7, fig.51).

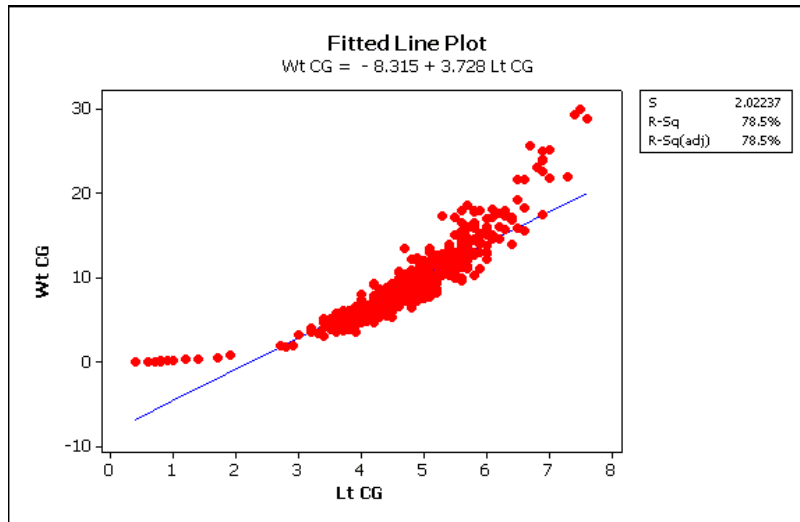


Figure 51 : Régression entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* provenant du Cap de Garde.

3.5. Distribution des fréquences de taille :

✚ Cap de Garde

Les individus récoltés dans le cap de Garde montrent des tailles variant de 6.5 à 76.5 mm. Les effectifs les plus faibles (moins de 20 spécimens) sont enregistrés dans les classes de taille inférieures à 36.5 mm et supérieures à 61.5 mm. Les individus dont la taille est comprise entre 41.5 et 56.5 mm représentent le plus gros des effectifs (de 71 à 176 spécimens/ classe) de la population de moules récoltées dans le Cap de Garde (fig.52).

En ce qui concerne le sexe des individus récoltés, nous notons une nette prédominance des mâles dans les classes de taille de 41.5 à 56.5 mm ; les individus de sexe femelles montrent une légère prédominance seulement dans les classes de taille de 26.5, 36.5, 61.5, et 66.5 mm. Les individus de sexe indéterminé sont rencontrés dans les classes de taille de moins de 26.5 mm.

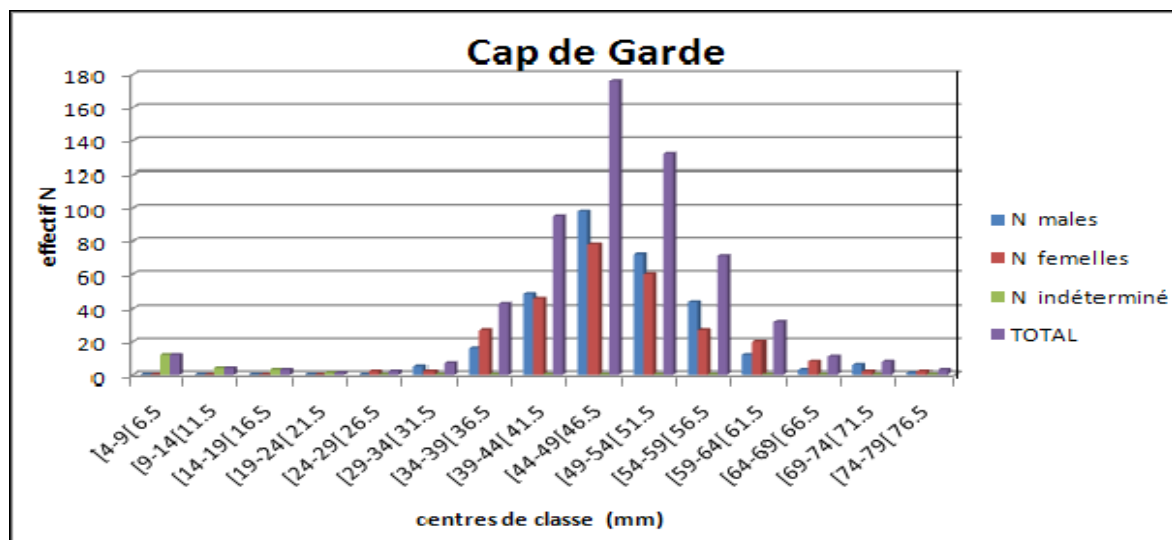


Figure 52 : Distribution des fréquences de taille des moules récoltées dans le Cap de Garde

✚ Hnaya

La moulière de Hnaya abrite des moules présentant une large fréquence de taille ; les tailles relevées sont comprises entre 6.5 mm et 121.5 mm (fig.53).

Les stades immatures sont enregistrés dans les classes de taille de moins de 31.5 mm ; ces dernières représentent de faibles effectifs (moins de 10 spécimens/classe). En ce qui concerne le stade de maturation, nous notons l'apparition d'individus matures de sexe mâle à partir de la classe de taille 29-34 mm ainsi que les individus femelles (fig.53). Nous relevons, par ailleurs, une nette prédominance des mâles dans l'ensemble des classes de taille (de 31.5 à 76.5 mm) à l'exception de la classe de taille de 61.5 et de 66.5 où nous notons respectivement une prédominance de femelles et une égalité entre les. Ce sont les classes de taille 36.5 à 71.5 mm qui abritent des effectifs de plus de 20 spécimens ; mais les effectifs de plus de 60 spécimens sont, surtout, rencontrés dans les classes de taille variant de 46.5 à 61.5 mm.

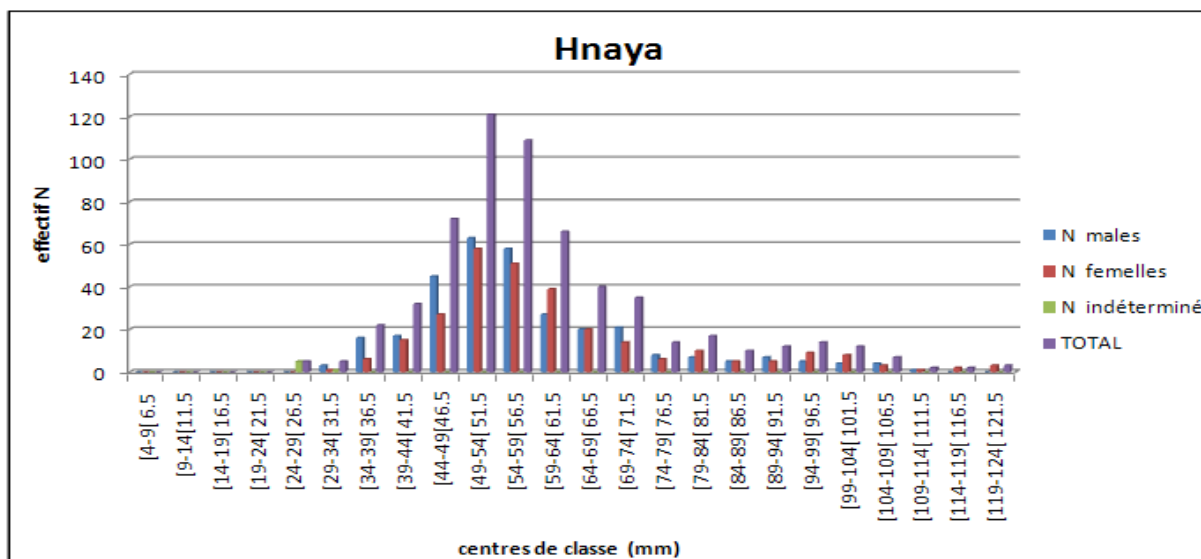


Figure 53 : Distribution des fréquences de taille des moules récoltées à Hnaya

4. Etude du cycle de reproduction:

✚ Hnaya :

Les moules femelles provenant de Hnaya montrent un processus de gamétogenèse et de maturité génitale de novembre à février (une phase de restauration des gonades est notée de mars à mai) ; l'émission des gamètes a lieu de novembre à décembre ; de janvier à mars, un processus de reconstitution des réserves fait suite à la phase d'émission des gamètes d'octobre (tab. 08 ; fig.55).

Les moules de sexe mâle de Hnaya sont en phase de gamétogenèse et de maturité génitale de janvier à février et de mars à mai ; l'émission des gamètes a lieu d'août à septembre, et en octobre à novembre. La reconstitution des réserves est observée de décembre à février ; une phase de restauration des gonades est relevée en février (tab.08 ; fig.54).

✚ Le Cap de Garde

Les moules femelles du Cap de Garde présentent des gonades en phase de gamétogenèse en avril et en phase de maturité génitale de mai à août et de décembre à février ; un processus d'émission des gamètes lui fait suite en septembre jusqu'au mois de novembre. Une phase de restauration des gonades précède en décembre (tab. 08 ; fig. 55).

Les moules de sexe mâle du Cap de Garde présentent des gonades en phase de restauration de novembre à décembre ; la gamétogenèse apparaît en mai et des phases de maturité génitale ont lieu en mai et en décembre. L'émission des gamètes se produit de septembre à novembre (tab.08 ; fig.54).

Tableau 08 : Résultats des différents stades sexuels de la moule *Perna perna* observés en histologie pour chaque site et par sexe.

Stades sexuels	Gonades des moules du Cap de Garde		Gonades des moules de Hnaya	
	male	femelle	male	femelle
Stade I (reprise de l'activité sexuel)	Mai	–	–	–
Stade II (gamétogenèse)	Mai	Avril	Janvier à février	Janvier à février
Stade IIIA (maturité génitale)	Mai Décembre.	Mai à aout Décembre à février	Mars à mai	Mars à mai
Stade IIIB (émission des gamètes)	septembre à novembre	Septembre à novembre	Août à septembre Octobre à novembre	Octobre à novembre
Stade IIIC (restauration des gonades)	Novembre à décembre	Novembre à décembre	Décembre à février	Janvier à mars
Stade IIID (arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves)	–	–	–	–

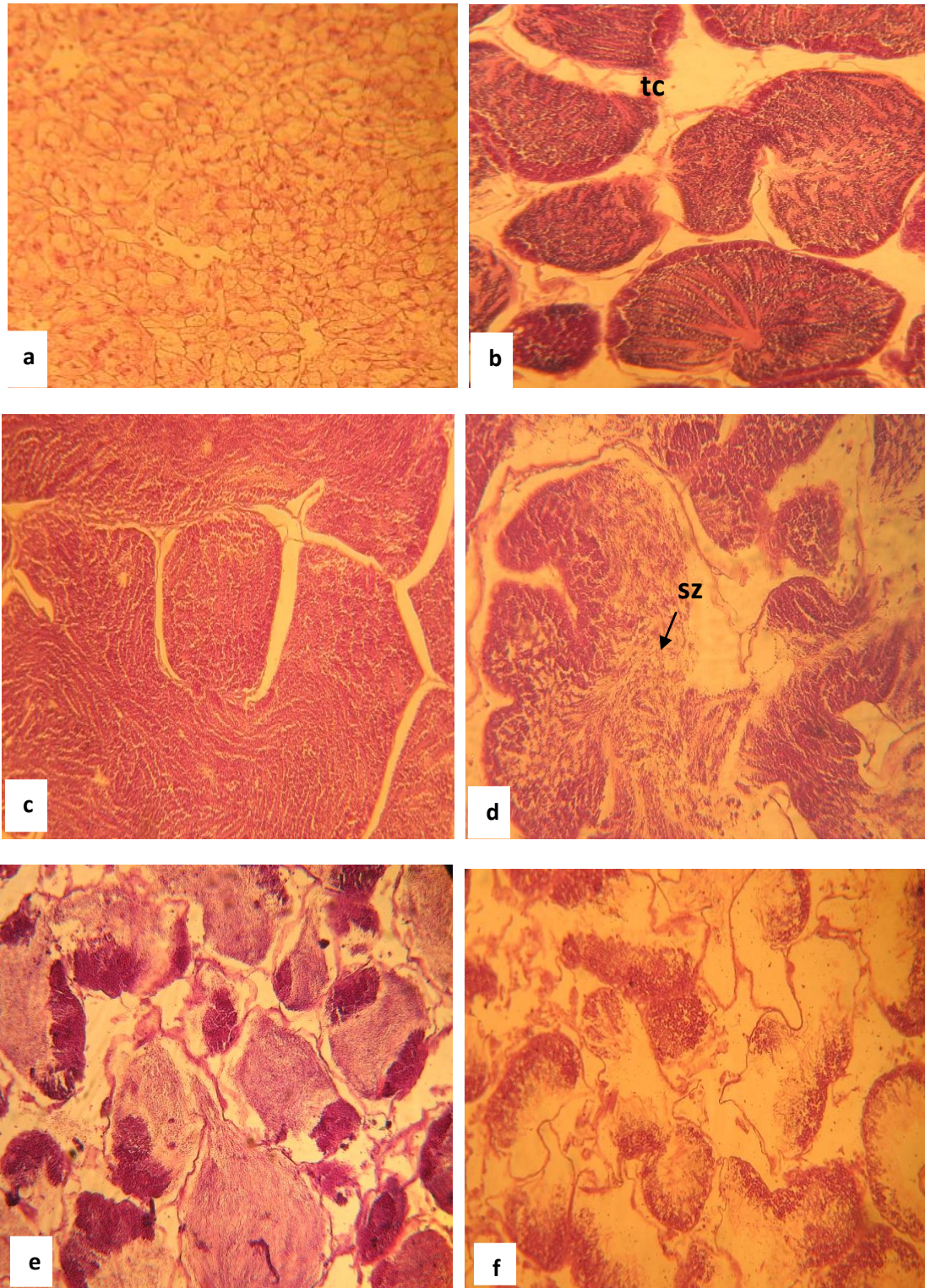


Figure 54 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade male chez la moule *Perna perna* . a: stade I reprise de l'activité génitale, b : Stade II Gamétogenèse, c : Stade IIIA Maturité sexuelle, d : Stade IIIB Emission des gamètes, e stade IIIC restructuration de la gonade, f : Stade IIID Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves. –fp=follicule primaire,tc=tissu conjonctif ,et sz=spermatozoïde.(GR×40 colorées par l'hématoxyline de Harris et l'éosine).

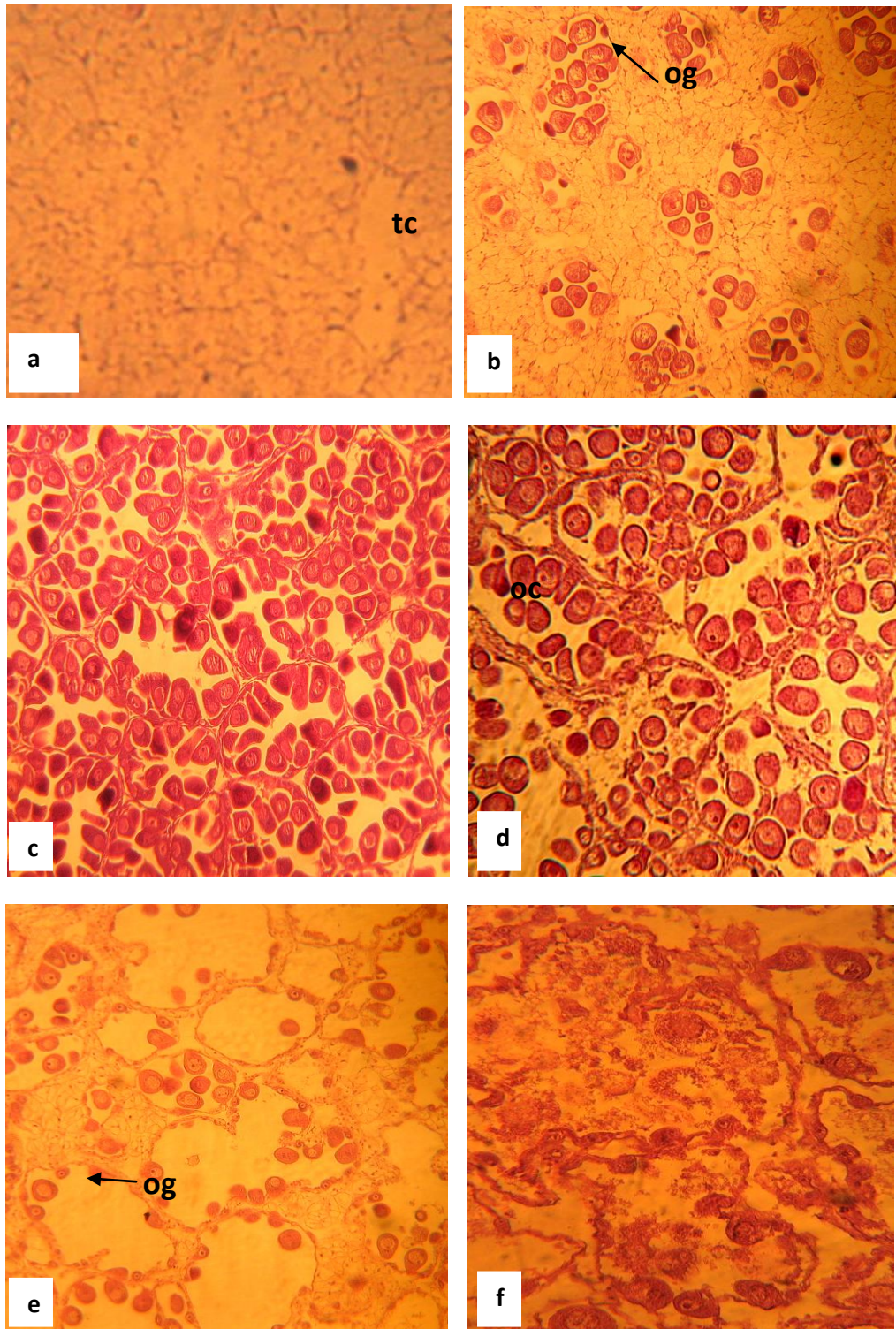


Figure 55 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade femelle chez la moule *Perna perna* . a : stade I reprise de l'activité génitale, b : Stade II Gamétogenèse, c : Stade IIIA Maturité sexuelle, d : Stade IIIB Emission des gamètes, e stade IIIC restructuration de la gonade, f : Stade IIID Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves.
 fp : follicule primaire, og : ovogonie, ov : ovocyte, Tc :tissu conjonctif.(GR×40 colorées par l'hématoxyline de Harris et l'éosine).

5. Biomarqueurs

5.1. Glutathion réduit (GSH):

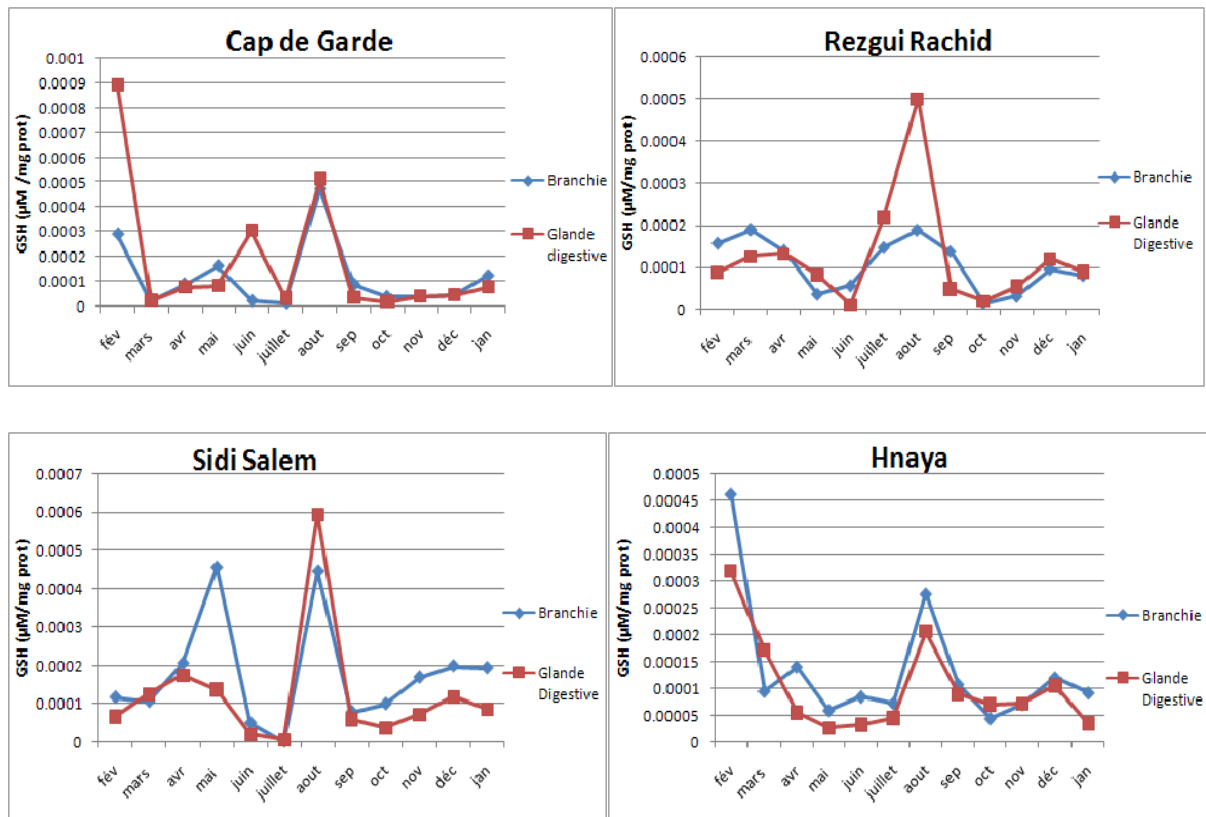


Figure 56 : Taux de glutathion en $\mu\text{M GSH/mg}$ de protéines dans les Branchies et les glandes digestive de *Perna perna* prélevée aux quatre sites d'étude de Février 2009 à janvier 2010

La concentration en GSH la plus faible est notée à Sidi Salem au mois de juillet dans les branchies ($1.50 \cdot 10^{-6}$) et dans la glande digestive ($7.44 \cdot 10^{-6}$ $\mu\text{M GSH/mg}$ protéine); la plus forte teneur en GSH est relevée dans le Cap de Garde au mois d'août dans les branchies ($4.72 \cdot 10^{-4}$ $\mu\text{M GSH/mg}$ protéine) et au mois de février dans la glande digestive ($8.93 \cdot 10^{-4}$ $\mu\text{M GSH/mg}$ protéine).

✚ Dans le Cap de Garde, les teneurs en GSH relevées dans les branchies sont le plus souvent inférieures à $0,0001 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines (fig. 56); Les 3 valeurs les plus élevées sont notées en février ($0,0003 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines), en mai ($0,00015 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines) et en août ($0,0005 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines). Dans la glande digestive, trois pics sont enregistrés, le premier en février ($0,0009 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines), le second en juin $0,0003 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines) et le troisième en août ($0,005 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines); durant le reste de l'année les teneurs en GSH restent inférieures à $0,0001 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines)

✚ A Rezgui Rachid, dans les branchies, les teneurs en GSH supérieures à $0,00015 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines sont relevées de février à avril et de juillet à septembre; des pics sont notés en mars et en août (valeurs proches de $0,0002 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines) durant les autres mois de l'année les valeurs relevées n'excèdent pas $0,0001 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines (fig. 56). Dans la glande digestive, les teneurs en GSH n'excèdent pas $0,00015 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines; un pic de l'ordre de $0,0005 \mu\text{M GSH/mg}$ de protéines est enregistré en août et des valeurs de plus de $0,0001$ sont notées en mars, avril

et décembre; durant le reste de l'année les teneurs en GSH ne dépassent pas la valeur 0,0001 μM GSH/mg de protéines (fig.56).

✚ A Hnaya, la GSH montre le plus souvent des teneurs de moins de 0,0001 μM GSH/mg de protéines au niveau des branchies ; Les teneurs les plus élevées sont enregistrées en février (0,00045 μM GSH/mg de protéines), en avril (0,00015 μM GSH/mg de protéines) et en août (0,00027 μM GSH/mg de protéines). En ce qui concerne la glande digestive, les teneurs en GSH les plus élevées sont enregistrées en février (0,00032 μM GSH/mg de protéines), en mars (0,00017 μM GSH/mg de protéines) et en août (0,0002 μM GSH/mg de protéines) ; durant la période s'étalant du mois d'avril au mois de juillet les teneurs n'excèdent pas 0,00005 μM GSH/mg de protéines et de septembre à décembre les teneurs varient entre 0,00005 et 0,0001 μM GSH/mg de protéines.

✚ A Sidi Salem, les teneurs en GSH obtenues dans les branchies sont le plus souvent supérieures à 0,0001 μM GSH/mg de protéines ; des teneurs proches de 0,0002 μM GSH/mg de protéines sont notées en avril, et de novembre à janvier et des teneurs de moins de 0,00005 μM GSH/mg de protéines sont enregistrées en juin et en juillet ; les valeurs maximales sont relevées en mai et en août (0,00045 μM GSH/mg de protéines). Dans la glande digestive, des teneurs de moins de 0,0001 μM GSH/mg de protéines sont le plus souvent notées ; Nous enregistrons, par ailleurs, des teneurs proches de 0,00015 μM GSH/mg de protéines en mars, avril et mai et un pic de l'ordre de 0,0006 μM GSH/mg de protéines en août (fig.56).

5.2. Glutathion-S-transférase (GST) :

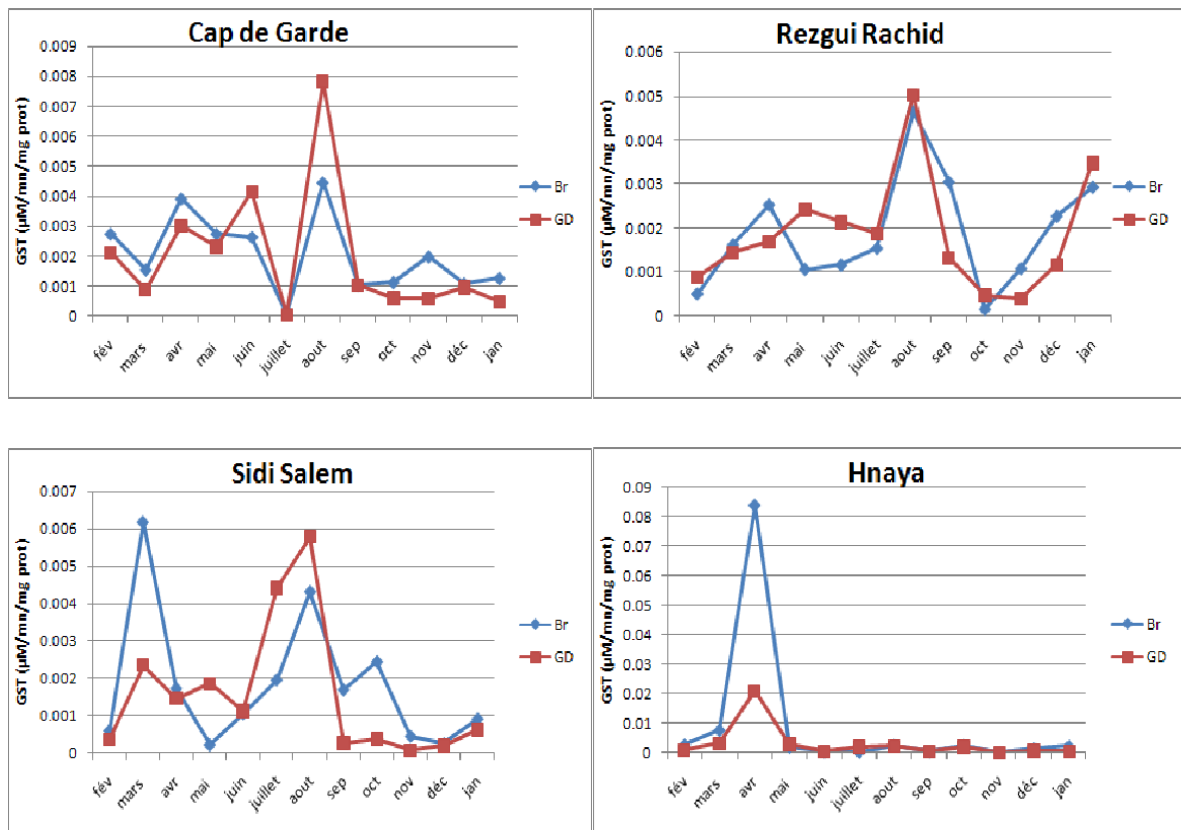


Figure 57 : Activités de la GST en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de *Perna perna* prélevée au niveau des quatre sites d'échantillonnage durant 12 mois d'étude.

✚ Dans le Cap de Garde, de février à juin, l'activité GST enregistrée dans les deux organes est plus élevée que celle notée de septembre à janvier; l'activité maximale étant relevée en août ($0,0045 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines dans les branchies et $0,0078 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines dans la glande digestive).

✚ A Rezgui Rachid, l'activité de la GST varie, généralement, entre $0,001$ et $0,003 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau des deux organes; elle présente un maximum en août (valeur proche de $0,005 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) et un minimum en octobre (dans les branchies) et en novembre (dans la glande).

✚ A Sidi Salem, l'activité de la GST montre de grandes variations d'un mois à l'autre. Dans les branchies, trois pics sont relevés, l'un en mars ($>0,006 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), l'autre en août ($>0,004 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) et le troisième en octobre ($>0,002 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines); les valeurs de l'activité les plus basses sont notées en février, en mai et de novembre à janvier (fig.57).

✚ A Hnaya, c'est en avril que la valeur de l'activité maximale de la GST est relevée ($0,08$ et $0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines respectivement dans les branchies et la glande digestive); à l'exception du mois de mars ou des valeurs dépassant $0,03 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines sont relevées dans les deux organes, durant le reste de l'année les valeurs de l'activité de la GST ne dépassent pas $0,0025 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (fig.57).

1. Paramètres physico-chimiques :

Le modèle linéaire généralisé, sites en fonction des paramètres physicochimique, montre l'existence d'une différence non significative pour tous les paramètres mesurés entre les quatre sites d'études.

L'analyse statistique des données montre ainsi l'existence :

- de corrélations négatives significatives entre l'oxygène dissous et le pH,
- de corrélations négatives hautement significatives entre la température-oxygène dissous et entre pH-salinité ;
- de corrélations négatives très hautement significative entre pH et matières en suspension.

Tableau 9 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour l'ensemble des sites en fonction de facteurs physicochimique (O₂ dissous, pH, MES, chlorophylle a, température, salinité) chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variabes	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	sites	3	82.73	27.58	0.72	0.544 NS
S%	sites	3	7.873	2.624	0.82	0.491 NS
pH	sites	3	0.0094	0.0031	0.02	0.995 NS
O2	sites	3	13.725	4.575	0.76	0.523 NS
Chlr	sites	3	15636	5212	1.61	0.201 NS
MES	sites	3	0.028146	0.009382	1.26	0.299 NS

NS: non significatif ($p < 0.05$)*: hautement significatif ($p < 0.01$)**;

très hautement significatif ($p < 0.001$ ***).

2. Paramètres bactériologiques :

Eau :

Le modèle linéaire généralisé, révèle l'existence d'une variation dans la distribution des contaminants, entre les eaux des différents sites.

Nous notons, en effet, l'existence d'une différence hautement significative entre les sites dans la distribution des Coliformes totaux ($P=0,004^{**}$); alors que la différence est non significative dans la distribution d'E. coli ($P=0,068^{ns}$).

De plus, cette analyse fait apparaître que les paramètres physico-chimiques ont un impact différent sur l'évolution de la contamination ; ceci est révélé, d'une part, par l'existence d'un coefficient de régression différent et, d'autre part, par l'existence d'un coefficient de détermination significatif; il est ainsi noté l'existence d'une corrélation positive hautement significative entre la température et la fréquence de la distribution des Coliformes totaux ($P=0.008^{**}$).

En ce qui concerne, les Streptocoques, la différence dans la distribution des Streptocoques totaux et des Streptocoques fécaux entre les sites est respectivement significative ($P=0.015^*$) et très hautement significative ($P=0.001^{***}$).

L'analyse statistique montre l'existence d'une corrélation négative significative ($P=0.033^*$) et hautement significative ($P=0.009^{**}$) entre la salinité et la fréquence de la distribution des Streptocoques totaux et Streptocoques fécaux respectivement.

Moules.

Le modèle linéaire généralisé, révèle l'existence d'une variation entre les différents sites dans la distribution des contaminants chez les moules.

- Nous notons l'existence d'une différence significative dans la distribution des coliformes totaux entre les sites ($P=0,01^*$) ; mais en ce qui concerne *E. coli*, la différence de distribution entre les sites est non significative ($P=0,972$ NS).

- Les paramètres physico-chimiques, ont également, un impact différent sur l'évolution de la contamination ; il est en effet, noté :

- l'existence d'une corrélation positive très hautement significative et significative entre la température et la fréquence de la distribution entre les sites des coliformes totaux ($P=0.000^{***}$) et des *E.coli* ($P=0.043^*$) respectivement.

- L'existence d'une corrélation négative hautement significative entre le pH et la distribution entre les sites de *E. coli* ($P=0.004^{**}$).

- L'existence d'une corrélation négative très hautement significative entre l'oxygène dissous et la distribution, entre les sites, des Streptocoques totaux ($P=0,000^{***}$) et des Streptocoques fécaux ($P=0,000^{***}$)

- L'existence d'une corrélation positive hautement significative ($P=0.004^{**}$) entre la température et la distribution entre les sites des Streptocoques fécaux ;

- L'absence de différence significative dans la distribution des Streptocoques totaux et fécaux entre les sites ;

- Les résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification appliquée aux paramètres bactériologiques mesurés, montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre les saisons dans les quatre sites aussi bien pour l'eau que pour les moules, sauf chez les moules de Rezgui Rachid dont les teneurs en coliformes totaux montrent une différence significative ($P=0.014^*$) d'une saison à l'autre.

1. Paramètres de croissance (biométrie) :

✚ L'analyse de la variance a deux critères relative aux paramètres linéaire (Lt, La et Ep) et pondéral (Wt) de la moule *P. perna* du littoral d'Annaba montre l'existence d'une différence très hautement significative de chaque paramètre linéaire et pondéral aussi bien entre les sites qu'entre les mois (tab.9).

Tableau 10 : Résultats d'AV2 appliquée sur les paramètres linéaires et pondéraux de la moule *P. perna* du littoral d'Annaba en fonction des sites et des mois

sources	paramètres	CM	Fobs	P
Sites	Lt	461.40	236.05	0.000***
mois	Lt	183.354	7.56	0.000***
Sites	La	53.088	209.86	0.000***
mois	La	26.3831	8.64	0.000***
Sites	Ep	42.300	127.63	0.000***
mois	Ep	36.2927	9.72	0.000***
Sites	Wt	13726	131.26	0.000***
mois	Wt	14615.3	12.69	0.000***

NS:non significatif ($p<0.05$)*: hautement significatif ($p<0.01$)**;

très hautement significatif ($p<0.001$) ***.

✚ Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères contrôlés révèlent l'existence de différences non significatives ($p> 0.05$) de l'indice de condition de la moule *P. perna* du littoral d'Annaba aussi bien entre les mois qu'entre les sites (tab.10).

L'analyse statistique des données montre, par ailleurs, l'existence d'une corrélation négative significative entre le pH et l'indice de condition ($P=0.027^*$)

Tableau 11: Résultats de AV2 applique dans la comparaison de l'indice de condition (IC) de moule *P. perna* du littoral d'Annaba en fonction des sites et des mois

sources	DDL	CM	Fobs	P
Sites	1	0.050	0.04	0.838 NS
mois	11	17.9587	2.53	0.063 NS

NS: non significatif ($p > 0.05$) ; significatif ($p < 0.05$)*: hautement significatif ($p < 0.01$)**;
très hautement significatif ($p < 0.001$)***.

✚ Les résultats de l'AV2 montrent l'existence d'une différence non significative des valeurs de la sex ratio entre les deux sites et entre les mois (tab.11).

Tableau 12: Résultats d'AV2 appliquée pour la comparaison de la sex-ratio (S/R) en fonction des mois et des sites

sources	DDL	CM	Fobs	P
Sites	1	0.0005	0.00	0.958 NS
mois	11	1.5874	0.72	0.702 NS

NS: non significatif ($p < 0.05$)*: hautement significatif ($p < 0.01$)**;

Très hautement significatif ($p < 0.001$)***.

2. Biomarqueurs (GSH et GST) :

✚ Le modèle linéaire généralisé, révèle l'existence d'une variation non significative des biomarqueurs mesurés entre les différents sites (tab.10)

Tableau 13 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des sites chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variabes	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
GSH Gd	sites	3	0.000	0.000	0.416	0.742 NS
GSH Br	sites	3	0.000	0.000	0.806	0.497 NS
GST Gd	sites	3	0.000	0.000	0.436	0.728 NS
GST Br	sites	3	0.000	0.000	0.996	0.403 NS

✚ Le modèle linéaire généralisé, révèle l'existence d'une variation non significative entre les différentes saisons pour l'ensemble des biomarqueurs mesurés, à l'exception de l'activité de la GST au niveau de la glande digestive où on note une différence significative (P=0.043*).

La matrice de corrélation appliquée sur les biomarqueurs mesurés au niveau des deux tissus (glande digestive et branchies) montre l'existence de corrélation positive très hautement significative entre glande digestive et branchies pour les deux biomarqueurs mesurés (GSH et GST).

Aussi nous notons en ce qui concerne l'impact des paramètres physico-chimiques, une corrélation négative significative entre GST Gd (glande digestive) et oxygène dissous (P=0.003*) et une corrélation négative hautement significative entre GST Br (branchies) et oxygène dissous (P=0.009**).

Tableau 14 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des saisons chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variables	variation	ddl	CM	Fobs	P
GSH Gd	saison	3	0.0000002	2.13	0.110 NS
GSH Br	saison	3	0.0000001	1.36	0.268 NS
GST Gd	saison	3	0.0000810	2.94	0.043*
GST Br	saison	3	0.0005676	1.37	0.266 NS

Discussion

Discussion :

Notre étude nous a permis d'évaluer l'action anthropique sur la qualité bactériologique des eaux du littoral d'Annaba et des moules de l'espèce *Perna perna* qui peuplent cette zone.

Paramètres physico-chimiques.

La mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau, montre que la température, la salinité, l'oxygène dissous, et le pH présentent des fluctuations saisonnières ; en ce qui concerne les teneurs en Chlorophylle a et en matières en suspension, ces dernières présentent des variations spatio-temporelles.

Les valeurs thermiques des eaux affichent des variations similaires dans l'ensemble des sites de prélèvement et montrent l'existence d'un cycle saisonnier avec deux périodes bien distinctes : l'une froide allant de novembre à avril, avec un minimum de 7°C enregistré en février et mars à Hnaya, et l'autre chaude, qui s'étale du mois de mai à octobre avec un maximum de 29°C enregistré en juillet à Sidi Salem; Cet écart de température est le reflet du caractère méditerranéen de la région où les contrastes entre saisons froide et chaude sont très sévères. Des résultats similaires sont rapportés dans le golfe d'Annaba par Chaoui, (1993) et Khati-Hadj Moussa, (2009). Selon Farhi (1995), la température de l'eau du golfe d'Annaba, varie entre 16°C, l'hiver et 28,8°C, l'été, avec une amplitude de 12,8°C. Les fluctuations de ce paramètre abiotique sont en relation avec les conditions climatiques locales et plus particulièrement avec la température de l'air.

En ce qui concerne la salinité, les fluctuations observées sont en relation avec les conditions climatiques, telles l'évaporation liée aux fortes températures estivales et les précipitations. La plus faible valeur (32 g/l) est mesurée au niveau de Sidi Salem en mars; ceci s'expliquerait par la forte dilution des eaux engendrée par les apports élevés en eau douce, ayant pour origine les fortes précipitations, combinée à la faible évaporation de l'eau. La valeur la plus forte (41.4 g/l) est relevée à Rezgui Rachid en juillet, du fait de l'action combinée des fortes températures engendrant de fortes évaporations et la baisse des précipitations à l'origine de la baisse des apports en eau douce. Ces chiffres montrent que les eaux côtières d'Annaba sont moins salées en période hivernale avec une exception pour le mois de février au niveau des quatre sites où on enregistre des valeurs élevées de salinité allant de 39.4 à 40.3 g/l ; ceci s'expliquerait par les températures un peu élevées auxquelles s'ajoutent les faibles précipitations durant cette période de prélèvement. Semroud (1983); De Casabianca-Chassany *et al.*,(1991) estiment, en effet, que le régime de la salinité est régi par celui des précipitations, d'où l'importance de ces dernières dans la régulation de la salinité.

La concentration en oxygène dissous est une variable d'état fondamental, qui intervient dans beaucoup de processus ; C'est également un bon indicateur de la santé d'un écosystème (Bourlange, 2000).

La forte oxygénation du milieu, relevée en période froide, est due, vraisemblablement, aux basses températures et aux agitations mécaniques provoquées par les vents; Les températures sont, selon Autoine & Bowker (1996), des facteurs dominants dans le contrôle de la concentration en oxygène dissous de l'eau. Selon Khattabi (2002), la teneur en oxygène dissous serait la résultante d'un grand nombre de facteurs biotique et abiotique ; elle dépendrait de l'activité biologique du milieu, c'est à dire l'équilibre photosynthèse-respiration, des vents et de la température.

La baisse du taux d'oxygène dissous relevées en période estivale serait, en revanche, liée non seulement à la forte élévation de la température et la salinité mais aussi à la respiration des organismes aquatiques vivants (faune, flore immergée) et au calme hydrodynamique, qui empêche le brassage de l'eau (Lacaze, 1996). A cela s'ajoute la dégradation bactérienne des détritux qui consomment énormément d'oxygène, à raison de 1 g d'O₂/Kg de matière sèche (Belaud, 1996). L'étude statistique vient conforter nos résultats avec une corrélation négative hautement significative entre la température et l'oxygène dissous. Des résultats similaires ont été apportés par Benchikh, (2009) et Dahel (2009).

En France, Beaupoil et Bornes (1997) ont fixés, après une étude concernant l'effet des hypoxies sur la faune, les seuils en oxygène dissous dans les estuaires bretons, comme suite: supérieurs à 5mg/l (qualité excellente à acceptable), de 3 à 5 mg/l (qualité moyenne à médiocre), de 2 à 3mg/l (qualité mauvaise à très mauvaise), de 1 à 2 mg/l (hors classe niveau 1), inférieur à 1 mg/l (hors classe niveau 2). Ce qui nous permet de dire que, durant la période d'étude, les eaux du littoral Nord- Est algérien, présentent une qualité excellente à acceptable (les teneurs en oxygène dissous dépassant 5 mg/l) sauf en avril où une baisse de la teneur est enregistrée (en dessous de 5 mg/l), ce qui a été démontré par Dahel (2009) et Benchikh(2009) pour les mêmes sites du golfe d'Annaba.

En ce qui concerne le pH des eaux des 4 sites, il est légèrement alcalin; il oscille entre 7,21 au mois de février à Rezgui Rachid et 8.7 au mois de novembre à Sidi Salem; des études récentes ont enregistrées les mêmes résultats pour les mêmes sites (Dahel, 2009) ; selon Barnabe (1991), les eaux côtières méditerranéennes ont un pH qui varie entre 7.9 et 8.3. La tendance basique du pH est rencontrée dans toutes les eaux, elle peut être expliquée par les rejets industriels, les rejets urbains et les apports des Oueds Bedjimâa et Seybouse.

Quant aux matières en suspensions (MES), les valeurs les plus basses sont enregistrées en juin (0.012mg/l) à Sidi Salem. Les valeurs les plus élevées, sont observées en février au Cap (0.238 mg/l, en mars à Sidi Salem (0.222mg/l), en avril à Hnaya (0.275mg/l), et en mai à Rezgui Rachid (0.294mg/l). L'apparition de blooms phytoplanctoniques importants pourrait engendrer des augmentations de la teneur en MES, ce qui pourrait être le cas dans notre

étude ; toutefois, les fluctuations de ce paramètre, seraient en relation avec les conditions climatiques et plus particulièrement les précipitations abondantes, qui seraient à l'origine des apports allochtones (Dakki, 2003). Les résultats statistiques montrent une corrélation négative très hautement significative entre le pH et les matières en suspension.

L'estimation de la chlorophylle a constitue vraisemblablement la mesure la plus accessible de la biomasse phytoplanctonique. Selon Izaguirre (2001), dans une logique d'étude de fonctionnement d'un écosystème, la teneur en chlorophylle a et les fluctuations relevées sont fortement influencées par la température et l'intensité lumineuse. La faible teneur en chlorophylle a, enregistrée en période froide, s'expliquerait par les basses températures et l'importance des apports en eau (fortes crues) à l'origine de la dilution qui affectent les communautés phytoplanctoniques (Zolocar de Domitrovie, 1992 ; Engel et Melck, 1993 ; Garcia de Emilliani, 2001 ; Huszar & Reynolds, 1971). Selon Dufour et Merle (1972), la forte amplitude des variations thermiques jouerait un rôle direct dans la succession des espèces planctoniques. Les efflorescences planctoniques représentent un apport alimentaire essentiel pour la moule; elles stimuleraient la maturation sexuelle, tant par leur importance que par la soudaineté de leur apparition (Cayre, 1976). Les résultats rapportés par Benchikh (2009), sur les eaux du golfe d'Annaba, sont similaires aux nôtres et sont appuyés par l'analyse statistique qui montre l'existence d'une corrélation positive significative entre la température et la Chlorophylle « a ».

Analyses bactériologiques des eaux.

Les analyses bactériologiques des eaux ont révélés, l'existence de pollution en rapport avec les sources de contaminations et les saisons dans l'ensemble des sites. Selon Dawe et Pentose, (1978), Gauthier et Pietri, (1989), la survie de ces microorganismes varie d'un site à l'autre et d'une saison à l'autre; de ce fait, la qualité intrinsèque du milieu récepteur joue un rôle important vis-à-vis du devenir des germes fécaux dans le milieu naturel. Ces derniers ont démontré qu'un prélèvement réalisé au niveau du sédiment après une crue, révèle une charge bactérienne plus importante (de l'ordre de 10^4 *E.coli* /ml ou par gramme). Il est aussi rapporté que la bactérie *Escherichia coli* a une bonne croissance à un pH proche de la neutralité (pH compris entre 6 et 8) et elle est capable de résister à des températures extrêmes allant de 8°C à 48°C (Nerdhadt *et al.*, 1994). De ce fait les eaux du littoral d'Annaba, semble offrir un milieu propice au développement de ces germes fécaux ; les valeurs des paramètres mesurés (température, salinité, pH, O₂ dissous et MES) ne constituent pas un frein à leur développement et leur croissance durant la période d'étude.

A cela s'ajoute l'effet du réchauffement climatique ; le changement climatique se manifeste par un réchauffement global et donc une augmentation de la température des eaux de surface (cours d'eaux, lacs, mers). Or une augmentation de la température de l'eau modifie les conditions de vie des microorganismes qui y vivent. En particulier, une augmentation de quelques degrés peut favoriser la prolifération d'amibes, de bactéries (comme vibrio), d'algues et de phytoplancton toxique. La qualité des eaux de baignades se trouve ainsi altérée, de même que la salubrité des produits de la mer.

Des pics de 2400 germes/100ml d'eau sont observés au niveau de Sidi Salem durant presque toute la période d'étude (à l'exception des mois d'avril, septembre, octobre, et décembre), Hnaya (en juin), Cap (en mai et juin) et Rezgui Rachid (en janvier) dépassant largement le seuil toléré fixé à 500 germes/100ml, la présence de ces pics peut s'expliquer par le phénomène de lessivage des sols par les pluies (Lebaron et al., 1990) et aussi par la forte affluence des estivants en période estivale.

En ce qui concerne, les concentrations des Coliformes thermotolérants (*E. coli*), elles sont moins importantes et restent relativement basses dans les eaux du Cap de Garde, Hnaya et de Rezgui Rachid ; quant aux fortes concentrations d'*E. coli*, elles sont enregistrées en mars, mai et juin à Sidi Salem (dépassent les valeurs guides, fixée à 100germes/100ml), traduisant ainsi une contamination récente (Rodier, 1996 ; CCME, 2002) qui peut s'expliquer par le rejet en continu des eaux usées qui ne subissent aucun traitement et les conditions climatiques favorables à la survie et à la prolifération de ces bactéries. Des résultats similaires ont été rapportés par Dahel (2009) pour les mêmes sites.

Les résultats du dénombrement des Streptocoques montrent que les teneurs en streptocoques totaux sont faibles durant toute la période d'étude au Cap de Garde, et ne montrent qu'un pic en avril à Rezgui Rachid et en juin à Hnaya ; ces pics peuvent être du à une période de crue précédant la date de prélèvement (Sophie et al., 1998). Alors qu'à Sidi Salem les teneurs dépassent le seuil toléré (fixé à 100germes/100ml d'eau) durant toute la période d'étude sauf en avril et janvier. Cela peut s'expliquer par les rejets urbains et industriels charriés par les oueds Seybouse et Bedjima ainsi que les crues.

Les Streptocoques fécaux, montrent un pic à Rezgui Rachid en avril et des teneurs supérieures à la valeur guide à Sidi Salem, durant 8 mois sur 12 ; ces fortes teneurs relevées à

Sidi Salem seraient la conséquence d'un lessivage des sols par les pluies en plus de la proximité de ce site des rejets urbains et industriels charriés par les oueds, Seybouse et Bedjima auquel s'ajoute, probablement, un hydrodynamisme particulier à cette partie du Golfe d'Annaba. En effet, d'après Gleeson et Gray (1997), comparativement aux Coliformes (incluant *E. coli*), les Streptocoques sont plus résistants aux conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau.

En comparant nos résultats avec ceux rapportés par Dahel (2009), nous nous rendons compte que la pollution par ces germes a augmenté cette année ; la forte concentration en germes dans l'eau de mer serait la résultante d'une pollution bactériologique élevée due à l'absence totale de traitement des eaux et pourrait aussi trouver son origine dans l'impact du changement global qui favoriserait la prolifération de ces germes suite à la hausse de température.

En référence aux normes de la qualité de l'eau édictées par la directive européenne (qui limite les seuils à 10^2 *E. coli* /100ml pour les eaux de baignade et $2.3 \cdot 10^2$ *E.coli* /100ml pour les eaux conchylicoles), il s'avère que les eaux du Cap de Garde, Hnaya et Rezgui Rachid sont de bonne qualité bactériologique aussi bien pour la pratique de la conchyliculture que pour la baignade. Mais en ce qui concerne, les eaux de Sidi Salem, elles se situent dans la catégorie C, et sont de ce fait de mauvaises qualités car elles sont soumises à des contaminations assez fréquentes. Nous remarquons, par ailleurs que selon les normes admises, le Cap de Garde et Hnaya représentent des sites potentiels pour la pratique d'une activité conchylicole, du fait de l'absence de contamination bactériologique de leurs eaux probablement liée à leur éloignement des principales sources de contaminations.

D'après le calcul de l'indice de Bourgeois (1980), basé sur le rapport Coliformes fécaux/Streptocoques fécaux (CF/SF), la source probable de la contamination de l'eau est principalement d'origine animale; en effet, ces zones sont régulièrement fréquentées par les animaux domestiques, surtout au niveau de la région de Hnaya; quant à Sidi Salem, les rejets émanant des abattoirs situés à proximité de la plage, expliqueraient cette origine animale de la contamination. D'après Bitton, 1999 ; Clausen *et al.*, 1977 ; Farow *et al.*, 1984, les Streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer les eaux sont typiques des déjections animales (*S. bovis* ; *S. equinus*); Ces espèces colonisent le bétail, les chevaux et les volailles bien qu'elles peuvent, parfois, être présentes chez l'humain (Devriese *et al.* , 1998 ;Ruoff *et*

al.,1989). Les contaminations humaine et mixte décelées à Rezgui Rachid, au Cap de Garde et à Sidi Salem, auraient pour origine, les rejets domestiques des riverains et des estivants en été.

Analyses bactériologiques des moules.

Les analyses bactériologiques des moules peuplant les sites d'étude, font apparaître des contaminations importantes par les Coliformes totaux avec des teneurs maximales pouvant atteindre 140000 germes/100ml de broyats.

En ce qui concerne les Coliformes thermotolérants (*E. coli*), les pics de contamination de l'eau relevés sont de moindre intensité par rapport à ceux relevés au niveau des bivalves ; ceci peut s'expliquer par la fragilité de ces germes et leur brève durée de vie dans l'eau de mer d'une part (Rodier, 1996 ., CCME, 2002) et le pouvoir bio-accumulateur des bivalves d'autre part.

Quant aux Streptocoques (totaux et fécaux), leur présence de façon continue à des taux dépassant le seuil toléré, peut s'expliquer par la résistance de ces indicateurs de pollution (Gleeson et Gray, 1997), et témoignerait aussi de possibles contaminations anciennes (Rodier.1996).

En référence aux normes de salubrité des fruits de mer, édictées par la communauté européenne en 1991 (tab.9), les bivalves peuplant les sites d'étude, seraient impropres à la consommation directe, du fait que les taux de contamination mesurés sont nettement supérieurs aux valeurs admises en Europe, préconisant moins de 230 *E.coli* / 100 g de chair et de liquide intervalvaire. Ces mêmes résultats sont rapportés par Dahel (2009) pour la même espèce et les mêmes sites d'étude avec toutefois des différences dans les fréquences de distribution des germes étudiés en fonction des sites et des mois.

Nous notons toutefois, qu'en fonction de la période de récolte chaque site présente des teneurs en bactéries différentes; de ce fait, nous pouvons classer le Cap de Garde, Hnaya et Rezgui Rachid comme zones de productions de la classe C et Sidi Salem comme zone de production de la classe D.

Tableau 15 : Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production (Communauté Européenne, 1991).

<i>E.coli</i> (<i>E.C</i>)/ 100g de chair et de liquide intervalvaire	Zones	Exploitation	Exploitation

Seuils microbiologiques	Classement	Elevage	Pêche professionnelle, gisement naturel
Au moins 90% des résultats <230 E.C. Aucun >1000 E.C.	A	Autorisé pour une consommation directe	Autorisé pour une consommation directe
Au moins 90% des résultats <4600 E.C. Aucun >4600 E.C.	B	Autorisé à être consommé après reparcage ou purification.	Autorisé mais après reparcage ou purification nécessaire avant commercialisation
Au moins 90% des résultats <46000 E.C. Aucun >46000 E.C.	C	Autorisé à la consommation après reparcage (sur une longue période) ou après purification intensive.	Autorisé à la consommation après reparcage (sur une longue période) ou après purification intensive
Au moins 90% des résultats >46000 E.C.	D	Impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.	Impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.

✓ En ce qui concerne les germes pathogènes, nous avons pu isoler, à partir des prélèvements d'eau et de moules de Sidi Salem, huit espèces : *Citrobacter frundi*, *Citrobacter braakii* (faible discrimination), *Proteus vulgaris*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella spp* (faible discrimination), *Salmonella paratyphi A* (faible discrimination), *Escherichia coli I*, *Klebsiella ornithinolytica*.

Le plus fort de la contamination est noté en avril ; les prélèvements, d'eau et de moules, analysés recèlent la présence de 5 espèces de germes pathogènes. La présence de ces germes s'expliquerait par la forte contamination de ce site par les autres indicateurs de pollution fécale (coliformes et streptocoques) que les oueds Seybouse et Bedjima et rejets domestiques charrient. La forte contamination des moules, comparée à celle de l'eau, témoignerait de la fragilité de ces germes dans le milieu aquatique mais surtout du pouvoir de filtration et d'accumulation que possèdent les moules.

Etude de la croissance :

L'évaluation de l'intensité de la liaison entre les mesures de la taille de la coquille a été employée pour déterminer les rapports morphométriques des axes de croissance en longueur, en largeur et en épaisseur de la moule *P. perna*.

Les valeurs de b concernant *P. perna* du Cap de Garde montrent une croissance plus rapide en longueur qu'en largeur et en épaisseur ; quant à celles de *P. perna* du site l'Hnaya, elles montrent une croissance rapide de la longueur ($b < 1$), suivie par l'épaisseur et enfin la largeur. Ce même type de relation est signalé par Bitar et El Hannach, (1987) qui l'expliquent par l'hétérogénéité morphologique de la coquille de cette espèce.

Le même type de croissance a été rapporté par de nombreux auteurs qui ont étudié la croissance de moules et d'huitres en élevage (Burgeot et Galgani, (1998) ; Grangney, (2001)) ; ces derniers montrent que la croissance en longueur serait en relation avec les variations des facteurs abiotiques tels que la température, l'habitat pélagique et benthique et des facteurs biotiques tels que l'âge, sexe ou encore le stade de maturité des gonades. Ce qui explique la forme allongée de la coquille selon l'axe antéropostérieur.

Il est généralement admis que la croissance est caractérisée par une augmentation de la taille et du poids en fonction du temps et des variables environnementales. Toutefois, chez les mollusques bivalves, et en particulier chez les moules, les processus liées à la reproduction perturbent ce schéma par une accumulation temporaire de réserves importantes qui sont par la suite converties en gamètes puis expulsées lors de la ponte, occasionnant une perte brutale de poids (Lubet *et al.* 1981).

L'évaluation de l'intensité de la relation entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* provenant des deux sites, révèle l'existence d'une allométrie majorante entre ces deux paramètres ($b > 3$) témoignant de l'augmentation du poids des individus plus rapide que celle de la taille. Selon Romeo *et al.*, (1993), ceci serait en relation avec les fluctuations mensuelles de l'état physiologique de l'animal.

Quelque que soit la période de l'année considérée, les relations allométriques reliant la masse pondérale du bivalve à la longueur de la coquille se sont révélées significatives pour les deux sites concernés ; il est aussi noté, qu'au cours de la phase d'activité sexuelle, les variations interindividuelles sont importantes et seraient, selon Dridi *et al.*, (2008) probablement générées par des changements d'ordre physiologique en rapport avec la gamétogenèse et l'émission des gamètes.

Chez les bivalves, plusieurs facteurs tels que l'état physique et nutritionnel du milieu (Askew, 1972 ; Utting, 1986) et les paramètres physiologiques (Bayne *et al.* 1999) auraient une influence sur leur vitesse de croissance linéaire et pondérale. Parache et Massé (1986)

soulignent en particulier l'influence de la valeur nutritive du seston sur la croissance linéaire et la production de tissus chez les moules. Ces mêmes auteurs (1987), montrent que les teneurs du matériel particulaire en protéines, glucides où la somme des constituants biochimiques élémentaires (protéines, glucides, lipides) favorise l'accroissement linéaire en période de prégrossissement et de grossissement, alors que les teneurs en glucides et lipides du matériel particulaire jouent un rôle positif dans le grossissement.

Pour la gestion des ressources des mollusques et la connaissance de divers paramètres relatifs à la dynamique de la population, l'outil le plus fréquemment utilisé pour estimer les paramètres de croissance est le FiSAT (Amin et al., 2001a ; Amin et al., 2001b ; Amin et al., 2002 ; Mendo Mancera, 1996 ; Tuaycharden et al., 1988 ; Vakily, 1992) .

L'application de l'équation de Von Bertalanffy nous a permis de déterminer les caractéristiques de chaque site. Nous notons, en effet, qu'à Hnaya les moules ont une longueur maximale de 121,50 mm et une longueur asymptotique élevée (égale à 127,58 mm) avec un taux de croissance moyen de l'ordre de $0,480\text{ans}^{-1}$; Quant aux moules du Cap de Garde, bien que les longueurs maximale observée et asymptotique soit respectivement égales à 76,50 mm et à 80,33mm, leur taux de croissance estimé serait plus élevé, de l'ordre de $0,850\text{ans}^{-1}$. Ces différences entre site seraient liées aux paramètres physico chimiques et éventuellement au stress environnemental.

Les tailles maximales de la moule *P. perna* relevées dans le cadre de la présente étude sont proches de celles enregistrées par Benchikh (2009) chez la même espèce et dans les mêmes sites (avec une longueur maximale observée de 120mm pour l'Hnaya et 85mm pour le Cap), mais bien supérieures à celles des moules de la même espèce récoltées par Abada-Boudjema (1983) dans la baie d'Alger (taille inférieure à 66 mm). En Tunisie, Zaouali (1973), rapporte que cette espèce atteint 100 mm dans les moulières artificielles saumâtres, alors qu'elle ne dépasse pas 35 mm en mer. Une taille de 120mm est signalée chez les moules *Perna perna* prélevées sur la jetée Nord du port d'Alger (Asso, 1982).

En ce qui concerne le taux de croissance, nos données sont proches de celles rapportées par Benchikh (2009) en Algérie, par Cayre (1976) au Congo et par Al Bawarni (2006) en Malaisie ; la première signale l'atteinte par *P. perna*, dans des conditions naturelles, d'une taille de 47.6 mm en 4 mois, le second l'atteinte d'une taille de 40 mm en 4 mois et demi et le troisième l'atteinte d'une taille de 40,28 mm en quatre mois. Selon Cayre (1976) la croissance se trouve encore accélérée par la mise en culture ; dans ces conditions les moules

atteignent 40mm en un peu plus de 2 mois. Les taux de croissance obtenus dans la présente étude seraient relativement très élevés quand on les compare à ceux rapportés, pour la même espèce *P. perna*, par Bouhaimi, (2000) au Maroc (41.97 en 12 mois), ou pour *M. edulis* par Ghersen,(1968) au Danemark (50mm en 16 mois), par Andreu,(1958) en Hollande (72mm en 36 mois, par Brienne,(1955) en France (40mm en 30 mois).

La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs sur d'autres espèces de bivalves de différentes régions (Tab.11) nous permet de constater que la croissance de nos moules se rapproche de celle rapportée par Lee (1985) à Hong Kong, par Al-Barwani *et al.*, (2006) en Malaisie pour la moule *P. viridis* (*P. perna*) et par Vakyli (1992) aux USA pour l'espèce *C. virginica*. Des divergences sont par ailleurs à soulever en ce qui concerne les résultats rapportés par Fernandes (1981), Marques *et al* (1998) au Brésil pour *P. perna* et Perez et Romeo (1979) en Espagne pour *M. edulis* (tab.3) ; ces divergences proviendraient essentiellement de l'espèce et de la méthode utilisée pour la détermination de l'âge ; mais pourraient être causées, selon Curry et Fontana, (1988), par les différences des conditions du milieu relevé d'un secteur à l'autre et plus particulièrement la température et la richesse des eaux. Selon Seed (1976) et Shafee (1992), le taux de croissance varie en fonction de la latitude et la température ; Gosling (1992) signale aussi que la croissance des moules varie en fonction de la température. Almada Villela *et al* (1982) montrent qu'entre 3 et 20°C, la croissance linéaire augmente d'une manière logarithmique. D'après Wilson, (1977) et Thompson,(1984) l'effet de la température est généralement combiné avec la nourriture. Page et Hubbart (1987) signalent qu'en Californie la croissance de *M. edulis* est étroitement liée à la variation de la densité du phytoplancton. Loo et Rosenberg (1983) rapportent que les températures inférieures à 5°C ne limitent pas la croissance quand elles coïncident avec les blooms phytoplanctoniques au printemps.

La croissance de *P. perna* est plus rapide dans les zones tropicales et en culture qu'en zone tempérée et dans les conditions naturelles ; ceci est probablement dû aux conditions physico-chimiques, mécaniques et trophiques plus convenables en milieu protégé qu'en milieu naturel (Abada-Boudjema, 1983).

Les résultats de l'évaluation de l'indice de condition des moules *Perna perna* montrent que cet indice est bien meilleur en période printanière; ces valeurs s'expliquent non seulement par l'apparition probable de blooms phytoplanctoniques et de ce fait par l'abondance de la nourriture mais aussi par l'atteinte probable de la température physiologique optimale qui

permettrait ainsi une meilleure métabolisation des produits de la digestion. Cette hausse de l'indice coïncide avec des teneurs élevées de la Chlorophylle « a ». Selon Romeo *et al.*, (2001), l'indice de condition serait associé à la température de l'eau et correspondrait au taux de remplissage de la coquille par les tissus mous et informerait, de ce fait, sur l'état nutritionnel et physiologique de l'animal. L'observation de valeurs assez élevées de l'indice en période hivernale s'expliquerait par l'accumulation de réserves dans les gonades qui entrent en phase de maturité sexuelle et que l'étude histologique confirme.

La diminution de l'indice de condition en période automnale correspondrait à une phase de ponte; les observations histologiques ont permis de confirmer cela par l'existence d'une phase d'émission des gamètes suivie de la restauration des gonades (Benchikh, 2009). D'autres auteurs expliquent la baisse de cet indice soit suite à de mauvaises conditions trophiques soit suite à une ponte qui a engendré un amaigrissement (Doange et al.,(1989) ; Paulet et al., (1992) ; Barille,(1996). Des résultats similaires ont été rapportés par Khaldoune (2009) pour la même espèce récoltée au niveau du littoral d'El Kala et par Benchikh (2009) dans le golfe d'Annaba.

L'évaluation de la sex - ratio révèle la dominance des femelles par rapport aux mâles à Hnaya et l'inverse au Cap de Garde ; Dans les mêmes sites Benchikh (2009) signale une prédominance des mâles, mais en revanche, Khaldoune (2009) trouve une prédominance des femelles dans les moulières naturelles de *P. perna* du littoral d'El Kala.

Tableau 16 : Paramètres de croissance de Von Bertalenffy de la moule *P.perna* et d'autres especes de moules peuplant differentes régions .

Pays	Especes	L_{∞} (mm)	K ans ⁻¹	References
Malaisie	<i>P.viridis</i>	89.4	0,17	Choo et Speiser (1979)
Malaisie	<i>P.viridis</i>	102.38	1.5	S.L.Al-Barwani <i>et al</i> (2006)
Hong Kong	<i>P.viridis</i>	101.9	0.3	Lee (1985)
Thailande	<i>P.viridis</i>	112	1	Twaychanden <i>et al</i> (1988)
Italy	<i>M.galloprovincialis</i>	81.9	0.1	Fabi <i>et al</i> (1985)
Brazil	<i>P.perna</i>	110.6	0.08	Fernandes (1981)
Brazil	<i>P.perna</i>	152.5	0.06	Idem
Brazil	<i>P.perna</i>	115	0.06	Idem
Inde	<i>P.viridis</i>	184.6	0.25	Narasimham (1981)
Inde	<i>P.viridis</i>	85	-	Rivonker <i>et al</i> (1993)

Espagne	<i>M..edulis</i>	90.7	0.11	Perez et Roman (1979)
Espagne	<i>M..edulis</i>	112.1	0.06	Idem
Espagne	<i>M..edulis</i>	101.1	0.07	Pilar (1979)
Espagne	<i>M..edulis</i>	86.8	0.08	Idem
Russie	<i>M.edulis</i>	144	0.09	Sukhotin et Kulakowski (1992)
Brazil (Autumn)	<i>P.perna</i>	73.9	0.13	Marques <i>et al</i> (1998)
Brazil (Hiver)	<i>P.perna</i>	71.3	0.16	Idem
Brazil (printemp)	<i>P.perna</i>	72.7	0.19	Idem
Brazil (été)	<i>P.perna</i>	73.8	0.11	Idem
USA	<i>C.virginice</i>	125.8	0.5	Vakyli (1992)
Korea	<i>C..gigas</i>	103.7	2.35	Vakyli (1992)
Colombie	<i>C.rhizophorae</i>	149	0.9	Manoera et Mendo (1996)
Venezuela	<i>P.perna</i>	76	3.96	Angell (1986)
Congo	<i>P.perna</i>	104.912	0.00594	Cayre (1976)
Algerie (Cap de Garde)	<i>P.perna</i>	91.82	0.61	Benchikh (2009)
Algerie (Hnaya)	<i>P.perna</i>	123.37	0.35	Benchikh (2009)
Algerie (Cap de Garde)	<i>P.perna</i>	80.33	0.85	Présente étude
Algerie (Hnaya)	<i>P.perna</i>	127.58	0.48	Présente étude

Cycle sexuel

Dans la littérature, le cycle de reproduction des moules présente, en fonction de la latitude, d'importantes variations; Celles-ci sont interprétées différemment par les auteurs ; Pour Lubet *et al* .(1986), le facteur essentiel, entre les limites thermiques compatibles à la reproduction de l'espèce, est la nutrition qui permet d'assurer un bon équilibre entre les réserves et les besoins énergétiques du cycle sexuel.

Dans l'ensemble de nos sites d'étude, l'étude histologique des gonades montre que la moule *P. perna* présente un cycle sexuel étalé sur toute l'année avec une seule période de ponte, en automne. Cette émission de gamètes coïncide avec la chute de l'indice de condition et la restauration des gonades. Au Congo, Cayre (1978) signale, pour *P. perna*, l'existence de deux périodes de ponte tout en précisant que la plus importante, se situe pendant la grande saison froide de juin a octobre et que la plus fugitive a lieu en décembre ; Cet auteur signale,

par ailleurs, que les variations de salinité associées à des variations de température jouent un rôle de stimulus dans l'émission des produits génitaux.

Selon Tortel (1978) *P. viridis* des Philippines présente deux périodes d'émission de gamètes, l'une intense en mars et avril et une seconde moins importante, en septembre. Au Brésil Lunetta (1969) a mis aussi en évidence deux périodes de ponte, pour *P. perna*, l'une en Avril-mai et juillet et l'autre en septembre.

Dans la moulière de Bordj el Kiffan, Abada-Boudjema (1983), signale l'existence d'une seule période de sédentarisation (en juin 1979) qu'il rapporte à une ponte printanière. Ceci diffère de la stratégie de reproduction qui prévaut, pour cette espèce, dans les eaux tropicales; Lubet (1970) estime que la reproduction de *P. perna* dans les eaux tropicales du Brésil a lieu tout au long de l'année avec un minimum en février. Selon Zaouali (1973), la reproduction de *P. perna* en mer se fait tout au long de l'année avec un maximum au début de l'automne et un minimum en été ; ce même auteur rapporte qu'en Tunisie *P. perna* ne peut se reproduire dans les eaux dont la salinité est plus faible que celle de l'eau de mer. Au Maroc, Shafee, (1989) montre que chez la moule *P. picta* (*P. perna*) le stade de la maturité sexuelle est observé de janvier à février et le stade de l'émission des gamètes et la reconstruction des gonades de Février à mai.

Les études du cycle sexuel et de la reproduction de *M. galloprovincialis* montrent au moins deux périodes importantes d'émission de gamètes, l'une située au début du printemps et l'autre située en automne (Renzoni,1963; Boucart & Lubet,1965). Dans les régions où la température de l'eau ne descend pas au dessous de 6°C les animaux matures sont susceptibles de pondre toute l'année (Boucart & Lubet,1965 ; Renzoni & Massa ,1970). Cette continuité du cycle sexuel a été mise en évidence dans le golfe de Trieste par Valli *et al.*, (1975) qui signale en outre l'existence de pontes intensives de décembre à février.

Biomarqueurs :

Nos résultats montrent un effet significatif des saisons et du site de prélèvement sur les teneurs des biomarqueurs dosés.

Les résultats obtenus, montrent des variations saisonnières, et ce pour les deux tissus étudiés. De nombreux travaux décrivent des modifications d'activités en liaison avec la saison

pour d'autres enzymes antioxydantes chez les bivalves marins *M. galloprovincialis* (Viarengo et al., 1991), *M. edulis* (Power et Sheehan, 1996) et le bivalve d'eau douce *C. fluminea* (Vidal et al., 2002b).

D'autre part, Livingstone et al., (1993) ont observé que les enzymes de détoxification de la phase 1 de *Mytilus edulis*, sont induites par des paramètres saisonniers indépendants de la présence de contaminants dans leur milieu de vie.

Les résultats de terrain révèlent des taux de glutathion réduit qui décroissent surtout en automne et au printemps. Cette variation étant plus marquée dans la glande digestive que dans les branchies. Cette différence de réponse inter organes a déjà été observée par Cossu et al., (2000), en faveur de la glande digestive à la même saison, cette dernière, est connue pour être l'organe majeur dans la détoxification des métaux (Marigomez et al., 2002 ; Moore et Allen, 2002).

Dans nos observations, l'effet des saisons est bien mis en évidence ; nous notons, en effet, que si en hiver les taux de GSH sont les plus élevés dans les branchies, ce sont les glandes digestives qui présentent les niveaux les plus forts en été. Ces variations ne sont malheureusement pas statistiquement significatives ; les seuls résultats vraiment significatifs sont ceux obtenus en hiver, au niveau du Cap de garde et Hnaya.

Contrairement aux variations des teneurs en GSH, l'activité GST ne présente pas de différences significatives entre les deux organes étudiés. Un maximum d'activité est noté en été.

L'analyse statistique des biomarqueurs en fonction des saisons montre une différence significative entre les saisons pour la GST dans la glande digestive. Nos résultats semblent en accord avec les travaux de Deviller et al., (2005), qui montrent, dans une étude de biosurveillance, des différences d'activité de la GST en fonction de la saison ; cette enzyme montre une activité maximale en mars et avril. Les altérations du taux et/ou de l'activité des enzymes de biotransformation sont les biomarqueurs d'effet les plus sensibles (Van der Oost et al., 2003). Ces enzymes peuvent être inhibés ou activés lors d'une exposition à un xénobiotique qui s'avère très fiables chez le mollusques (Cajaraville et al., 2000).

Les réponses antioxydantes observées chez *Perna perna* du littoral d'Annaba, peuvent être engendrées par les apports anthropiques et la charge polluante qui perturbent l'état physiologique des animaux et activent le système antioxydant. Les réponses enregistrées dans

le présent travail pourraient aussi être en rapport avec les évolutions temporelles et l'état nutritionnel, qui s'avèrent être des facteurs prépondérants dans la modulation des réponses enzymatiques.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Il ressort de cette étude :

- ✓ que la température, la salinité, l'oxygène dissous, et le pH présentent des fluctuations saisonnières ; la Chlorophylle a et les matières en suspension présentent des fluctuations mensuelles propres à chaque site ;

- ✓ que la forte concentration en germes dans l'eau de mer serait la résultante d'une pollution bactériologique élevée due à l'absence totale de traitement des eaux
- ✓ que les bivalves peuplant les sites d'étude, seraient impropres à la consommation directe, du fait que les taux de contamination mesurés sont nettement supérieurs aux valeurs admises en Europe, préconisant moins de 230 *E.coli* / 100 g de chair et de liquide intervalvaire.
- ✓ Que le plus fort de la contamination, en germes pathogènes, est noté en avril ; les prélèvements, d'eau et de moules, analysés recèlent la présence de 5 espèces de germes pathogènes ;
- ✓ que selon les normes admises, le Cap de Garde et Hnaya représenteraient des sites potentiels pour la pratique d'une activité conchylicole, du fait de l'absence de contamination bactériologique de leurs eaux probablement liée à leur éloignement des principales sources de contaminations ;
- ✓ que les fortes teneurs relevées à Sidi Salem seraient la conséquence d'un lessivage des sols par les pluies, en plus de la proximité de ce site des rejets urbains et industriels charriés par les oueds, Seybouse et Bedjima qu'un hydrodynamisme particulier à cette partie du Golfe d'Annaba favorise ;
- ✓ que l'évaluation de l'intensité de la relation entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* provenant des deux sites, révèle l'existence d'une allométrie majorante entre ces deux paramètres ($b > 3$) témoignant de l'augmentation du poids des individus plus rapide que celle de la taille ;
- ✓ que le coefficient de croissance le plus élevé est relevé chez les moules du Cap de Garde (0.85 ans^{-1}) ;
- ✓ Que la moule *P. perna* présente un cycle sexuel étalé sur toute l'année avec une période de ponte en automne.
- ✓ Que l'émission de gamètes coïncide avec la chute de l'indice de condition et la restauration des gonades
- ✓ que l'indice de condition est bien meilleur en période printanière et chute en période automnale lors de la phase de ponte des moules ;

- ✓ des différences de sensibilité des systèmes antioxydants entre la glande digestive et les branchies.

En perspectives, il serait intéressant :

- De poursuivre ce genre d'étude pour mieux suivre l'évolution de la pollution du littoral ;
- D'étaler ce genre d'étude à d'autres zones du littoral Est algérien (Skikda, El Kala, Jijel et Béjaia) ;
- D'approfondir l'étude du cycle de reproduction de *Perna perna* par une étude biométrique associée à une étude histologique des gonades étalée dans l'espace et dans le temps;
- De procéder à des dosages de biomarqueurs (GSH, GST, AchE...metalothioneine..)
- De mettre en application l'encagement des moules ;

Références bibliographiques

« A »

A.C.I.A., 2004. Manuel des opérations de contrôle de solubilité des mollusques.

Abada-Boudjema Y-M., 1996. Cinétique, croissance, production et composition biochimique de deux bivalves mytilidés, *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) du littoral algérois. Thèse Doct. Muséum National Hist. nat. Paris, Fr. : i-iv + 1-243.

Abada-Boudjema Y-M., Dauvin J-C., 1995. Recruitment and life-span of two natural mussel populations *Perna perna* (Linnaeus) and *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) from the Algerian coast. *J. Moll. Stud.*, 61 : 467-481.

Abada-Boudjema, Y.M., 1983. Etude dynamique de deux populations de moules *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Perna perna* (L) de Bordj-El-Kiffan (Baie d'Alger). Thèse Doctorat 3^{ème} cycle, Univ. Sci. et Technol. Houari Boumediène, Alger, 115 p.
Accessible à : w.w.who-int/water_sanitation_heath/GDWQ/Summary_tables/.

AFNOR V 08 013. Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA.

Aloui-Bejaoui N., 1998 b. La croissance absolue de *Mytilus galloprovincialis* dans le lac de Bizerte : relation Taille/âge dans les stations d'élevage. *Bull. Inst. Nat. Sci. Techn. Mer.* (25) : 51-66.

Amiard J-C., et Amiard-Triquet C., 2008. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 375p.

Amin S.M.N., Haroon A.K.Y., Alam M., 2001a. A study on the population dynamics of *Labeo rohita* (Ham) in the Sythet bassin In Bangladesh Indian L fish.48,291-296.

Amin S.M.N., Rahman M.A., Haldar G.C., Mazid M.A., 2001b. Studies on age and growth exploitation level of *Terudora ilisha* in the coastal region of Chittagong. Bangladesh J. Inland Fish. Soc. India 33.1-5.

Amin S.M.N., Rahman M.A., Haldar G.C., Mazid M.A., Mibon D., 2002. population dynamics and stock assessment of Hilsa stad, *Terudora ilisha* in Bangladesh .Asian Fish.Sci.4.342-344.

Aminot A., & Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO. Brest ,pp:395

Andreu B., 1958. Sobre et cultivo del mejillon en Galicia. Biologia, crecimiento y productioccion. Industrias Pesqueras, Vigo, 745-746:44-47.

Angell C.I., 1986. The biology and culture of tropical oysters. ICLARM Stud Rev. 12,37.

Anonyme, 1976. Extension du port d'Annaba. Etude générale des conditions naturelles dans le golfe (Synthèse finale du LCHF). 41 p.

Anonyme, 1987. Plan d'Action pour la Méditerranée.

Anonyme, 2005. Thèse de modélisation de la bioaccumulation de métaux lourds chez la moule en milieu méditerranéen, Toulon, 46 p.

Antoine Y-W-S., BOwker D., 1996. Hydrological and environmental characteristics of the River Taff, South Wales, U.K. *limnologica* ,26:217-233.

Arrêté européen, 1993. Arrêté du 21 décembre 1979 (modifié par les arrêtés des 17 septembre 1984, 5 mars 1985, 2 juin 1988, 13 mars 1989 et 23 mars 1993). Critères des denrées d'origine animale (poissons et autres produits de mer).

Arrignon J., 1991. Aménagement piscicole des eaux douces. 4^{ème} édition. pp34, 35, 36, 49,348.

Arrigo A-P., 1999. Gene expression and the thiol redox state. Free Rad. Boil. Med. 27: 936-944.

Askew CG., 1972. The growth of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* in Ensworth Harbour. Aquaculture, 1 :273-25.

« B »

Barillé A.L., 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchylicoles de Prthuis Breton. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille II, 243 pp.

Barillé A-L., 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchylicoles de Prthuis Breton. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille II, 243 pp.

Barthe C., Perron I., & Perron I-M-R., 1998. *Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail* (Version préliminaire). Ministère de l'environnement du Québec, 155p.

Bayne Bl., Svensson Svensson S et Nellja, 1999. The physiological basis for faster growth in the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*. Boil.bull.197 (3):377-387.

Beupoil C., et Bornens P., 1997. Oxygène dissous et toxicité de l'ammoniaque en zones estuariennes : seuils d'acceptabilité. Station de Biol. Mat. (Concarneau). Ed. Agence de l'Eau Loire-Bretagne, 48 p.

Belaud A., 1996. Oxygénation de l'eau en aquaculture intensive. Cépadués-Ed, collection POLYTECH, 207p.

Benchikh N., 2009. Etude de la croissance et du cycle de reproduction de la moule *Perna perna* dans le golfe d'Annaba et le littoral d'El Kala, 89 p.

Beninger P-A., et Lucas A., 1984. Seasonal variation in condition reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat : *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams et Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, (79): 19-37.

Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology., 1984. 9ème édition. Williams and Wilkins (Editor).

Bernabe, 1991. Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. Edition Lavoisier. Paris.500p.

Berry P-F., 1978. Reproduction, croissance, et production de la moule *Perna perna*, sur la côte Est de l'Afrique du Sud. Rapport d'investigation de l'Institut de Recherche d'Océanographie, Durban 48 :1 - 28.

Bertalanffy Von L., 1938. A quantitative theory of organic growth. Hum boil .10(2) :181-213p.

Bhattacharya C-G., 1976. A simple method of resolution of distribution into Gaussian components. *Biometrics*, 23, 1, pp. 115-135.

Biomérieux, 2006. Système d'identification des Entérobacteriaceae et autres bacillus à Gram négative non fastidieux, réf. 20100/20 160.

Bitar G., & Hannach A., 1987. Morphométrie et relations pondérales d'une moulière (*M.galloprovincialis* et *P.perna*) dans la région de Sidi R'bat (Maroc Atlantique). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat,11 :141 – 146.

Bitton G ., 1999. Wastewater Microbiologie. John Wiley et Sons, 578p.

Bodoy A., & Massé H., 1979. Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un Mollusque Bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publ. Sci. Tech. CNEXO*, Actes Coll. 7, pp. 753-766.

Bodoy A., & Massé H., 1979. Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un Mollusque Bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publ. Sci. Tech. CNEXO*, Actes Coll. 7, pp. 753-766.P17 – 23.

Bodoy A., 1980. Croissance et variation de la composition biochimique du bivalve *Spisula subtruntata* (Da Costa) dans le golfe de Marseille (Méditerranée occidentale). *Tethys*, 11 (1) : 57-66

Borrego A-F., et Romero P., 1982. Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II. Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci. VI^{ème} journée Etud. Pollutions Cannes (2-4 décembre): 561-569.

Bouchriti N., El Marrakchi A., et Fahim A., 1992. The microbiological contamination of an oyster growing area in Morocco., the Oualidia lagoon. *Hydroécol. Appl.* 4 (12): 189-202.

Bouhaimi A., 2006. Etude de la biologie des moules *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* et validation de certains biomarqueurs (acétylcholinestérase et peroxydation lipidique) pour l'évaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir. Thèse d'Etat., Univ. Ibn Zohr, Faculté des Sciences, Agadir, 2002, 187 p

Boukroufa F., 1987. Reproduction et structure des populations de la moule *Perna perna* (Lubet, 1973) sur la côte Algéroise. Thèse de Magistère, U.S.T.H.B. Alger .140 p.

Bourcart C. & Lubet P., 1965. Cycle sexuel et évolution des réserves chez *Mytilus galloprovincialis* Lmk. 5Mollusque Bivalve). Rapport de la commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer méditerranée, 18,155 – 15

Bourgeois C-M., Mexels J-F et Zuccas J., 1980. Aspect microbiologique de la sécurité de la qualité alimentaire. pp 3-51.

Bourlange S., 2000. Modélisation hydraulique et écologique d'une rivière amont :Le Grand Morin.DEA hydrogéologie , Géostatistique et Géochimie .Université Paris - Sud, Ecole des Mines de Paris & Ecole Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts. pp : 48.

Bradford M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principal of protein – dye binding. *Analytical biochemistry* 72: 248 – 254.

Brienne H., 1955. Les gisements de moules du boulonnaise *Rev.Tran.off. Pêche Marit.*,19(3) :389-414.

Brissou J-F., et Denis F-A., 1978. Techniques de surveillance de l'environnement maritime. Edition Masson, Paris.

Bucke D. 1972. Some histological technique applicable to fish tissues. In: Diseases of fish, proceeding of symposium. (L.E. MAWDESLEY – THOMAS, ed). Acad . Press and Zool. Soc., New York and London, 30:135 – 189.

Burgeot et Galgani, 1998. Application de l'EROD chez les poissons marins dans un programme pluridisciplinaire :surveillance de la mer du Nord in :Lagadic.,Carquet,T.,Amiard,J C et Ramade,F.(Eds) *Tec et Doc* Lavoisier,Paris.

« C »

Cajaraville M-P., Bebianno M-J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A., 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula : a partial approach. *Sci. of the Total Environ.* 247: 295-311.

Cayre P., 1976. Etude de la moule PERNA Perna et de l'Huitre GRYPHEA Gasar .Etude des possibilités de conchyliculture en république populaire du Congo. ORESTOM. Serie N° 45. Algani ,F

Cayre P., 1978. Etude de la moule *Perna perna* (L) et des possibilités de mytiliculture en République populaire du Congo. Cahiers ORSTOM série océanographique, 16 (1), 9 – 17.

CEAEQ., 2000. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24p.

Chaoui L., 1993. Etude de la reproduction de *Perna perna* (L) (*Mytilidae*) dans le golf de Annaba ; aspects écologique, histologique et biochimique. *Thèse de Magistère. Université Annaba.*

Chatterjée S., & Bhattacharya S., 1984. Detoxification of industrial pollutants by the glutathion S-transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (bloch). *Toxicol. Lett.*, 22 : 187 -198.

CIESM., 2002. Mediteranean mussel watch-disigning a regional program for detecting radionuclides and trace contaminants. *CIESM workshops series.* (15).136p.

Claisse D., Joanny M., Quintin J-Y., 1992. Le réseau national d'observation de la qualité du milieu marin. *Analysis* 20 : 19-22.

Clausen E-M., Green B-L., et Litsky W., 1977. Fécal Streptococci. Indicators of pollution. In : Hoadley AW. , Dutka BG, édit., Bacteriels ondicators /Health hazards associated of water. American Society for Testing of Materiels, ASTM STP 635,pp : 247-264.

Communauté européenne, 1991. Directive du conseil européen, fixant les règles régissant la production et la mise sur marché de mollusques bivalves vivants (91/492/CEE) du 15 juillet 1991, modifié par l'arrêté du 21 juillet 1995. *J.Off.Comm.Europ.*, 1-17. In China B., De Schaetzen M.-A., Daube G., 2003. Les mollusques bivalves, des aliments dangereux ?. *Ann. Méd. Vét.*, 147 : 413-422. Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Laboratoire de microbiologie des denrées alimentaires.Belgique.

Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A., et Vasseur P., 2000. Antioxidant biomarkers in the freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45 : 106-121.

Creteur X., 1998. Pollution microbienne des eaux ; origines et mécanismes, Université Picardie Jules Verne Amiens.60 p.

CSOMB., 1965. Comité Scientifique Officiel de la Maison-Blanche pour la protection de l'environnement.

Cury P et Fantana A., 1988. Competition et stratégie démographiques comparées de deux espèces de sardinelle (*Sardinella aurita* et *Sardinella Mederensis*) des cotes ouest africaines. Aqua living ressour, 1988, 1pp 165-180.

« D »

Dagneli P., 1970. Théories et méthodes statistiques : applications agronomique (Vol.2). Gembloux, presses agronomiques, 451 p.

Dagneli P., 2006. Statistique théorique et appliquée. Tome 2 : Inférence à une et à deux dimensions. Bruxelles – université DE BOECK et LARICIER : 659 p.

Dagnelie P., 1982. Théories et méthodes statistiques. Applications agronomiques. Vol. I et II. Nouvelle édition. Presses Agronomiques de Gembloux, 463 pp.

Dagnelie P., 2000. *Statistique théorique et appliquée*. Tome 2 : Inférence statistique à une et deux dimensions. Bruxelles-Université de Boeck et Lancier-659p.

Dahel, 2009. Analyse de la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bioindicateur la moule *Perna perna*. Mémoire de magister. Université Badji Mokhtar. 111p

Dakii M., 2003. Rapport : diagnostic pour l'aménagement des zones humides du nord-est du Maroc : 2. sebkhaBou Âreg (lagune deNador) *Institut Scientifique, Rabat*

Dawe L-L., et Pentose W-R., 1978. "Bactericidal" property of seawater: death or debilitation, Appl. Envir. Microbiol., 829-833.

De Casabianca-Chassany M-L., Semroud R., et Samson Kechacha F-L., 1991. Etude spatio-temporelle des sels nutritifs et des principales variables hydrologiques dans une lagune méditerranéenne : Le lac Mellah (Algérie). *Mésogée*, 51 : 15-23.

Deville G., Palluel O., Aliaume C., Asanthi H., Sanchez W., Franco Nava M-A., Blancheton J-P., Casellas C., 2005. Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metal accumulation. *Ecotoxicol. Environ. Saf*; 61 (1): 89-97.

Devriese et al., 1998. Differentiation between *Streptococcus gallolyticus* strains of human clinical and veterinary origins and *Streptococcus bovis* from the intestinal tracts of ruminants. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 3520-3523.

Directive européenne, 1975. Directive du conseil fixant les règles régissant les eaux de baignade, reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991. J.Off.Comm.Europ et par le décret exécutif N° :93-164 du 10 juillet 1993. JORA N° 46.

Dorange,G.,Paulet,Y.M.,LePnnec,M.,et Cochard,J.C.,1989. Criteres histologique de la qualite des ovocytes emis par *Pecten maximus*. C.R.Acad. Sci.Paris 309 serie 3 :113-a

Dr Lebres – IPA. Identification biochimique des micro-organismes. Dr Lebres. Maître de Recherche – Microbiologie (Institut Pasteur d'Algérie)

Dridi S., Romdhane M-S Et Cafsi M., 2008. Croissance et variations saisonieres de la Bizetre,Tunisie. Belg. J. Zool.,138(2) :158-169

Dufour P-H., & Merle j., 1972. Station côtière en Atlantique tropilcal. Hydroclimat et production et production primaire.Doc.Sci.Center ORSTON Pointe-Noire,N.S.25 :48p.

« E »

Edberg S-C., Rice E-W., Karlin R-J., & Allen M-J., 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public protection. *Journal of Applied Microbiology*, 64: 3079-3083.

Elmund G-K., Allen M-J., & Rice E-W., 1999. *Comparison of Eschirichia coli, total coliform and fecal coliform population as indicators of wastewater treatment efficiency.* *Waterenviron.res.*71:332-339.

Engle D-L., & Melack J-M., 1993. Consequences of riverine flooding for seston and periphyton of floating meadows in an Amazon floodplain Lake.Limnology and Oceanography,38:1500-1520.

Equinoxe, 1990. Le magazine des ressources vivantes de la mer "Environnement littoral", n° spécial. pp 32-54.

« F »

Fabi G., Fiorentini L., Giannini S., 1985. Osservazioni sull'insediamento di *Mytilus gallprovincialis* LamK. Su di un modulo sperimentale per miticoltura immenrso nella baia di Portonovo (Promontoria del Conero,Medio Adriatico).Oebalia N.S. 11(2),681-692.
Fernandes,F.C., 1981. Ecologia e biologia do mexilhao *Perna perna* na regio do Cabo frio,Brasil.PhD Thesis.Universite of Sao Paulo,145 pp.

Fankhauser D-B., 2005. '*Proteus vulgaris* flagella', David B. Fankhauser, Ph.D., viewed 6 April 2005,

Farrow J-A-E., et al., 1984. Taxoaomic shudies of *S. bavis* and *S. eqtmus*; description of *S. alactolyticus* sp. no. and *S. . Saccharollyticus* sp. *Nov Systematic and Applied Microbiology*, 5: 467-482.

Fernandes F-C., 1981. Ecologia e biologia do mexilhao *Perna perna* na regio do Cabo Frio, Brasil. Phd Thesis. University of Sao Paulo. 145p.

Ficher R-W., & Schneider M., & Bauchot M-L., 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37 –Révision 1:Végétaux et invertébrés. Publication préparée par le FAO. (Projet. GCP/JNT/422/EEC) Rome 1987. Vol 7. p317-

Fisat, 1997. Reference manual .F.A.O-Computerized information series fisheries n° 8. Rom, F.A.O:270p.

Frihi H., 1995. Etude de la structure et du fonctionnement du système phytoplanctonique dans un écosystème marin côtier. Eutrophisation de la baie d'Annaba. Mémoire de Magister. Université d'Annaba.

Frihi H., 1998. Etude de la structure et du fonctionnement du système phytoplanctonique dans un système marin côtier : eutrophisation de la baie d'Annaba. Thèse de magister. Université Badji Mokhtar, 99p.

« G »

Gabe M., 1968. Techniques histologiques. Paris, Masson et Cie, 1986, 1113 p.

Garcia G-M., & Holt J-G., 2001. The road map to the manual. In Bergey`s *manual of systematic bacteriology* D.R., Boone & R.w.Castenholz (eds) . 2nd edn. New York, USA, Springer-Verlag, pp.119.

Gauthier M-J., et Pietri C., 1989. Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Chap. 12,319- 339.

Gayanilo J-R., F-C., Soriano P., Pauly D., 1996. (The FAO –ICLARM STOCK. Assessment Tools (FiSAT) User Guide.FAO Computerised information Series (Fisheries) N° 8.FAO,Rome,p.266.

George G-S., et Bouchanan G., 1990. Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathion-S-transferase. Fish. Physiol. Biochem., 8(6): 437 – 449

George S-G., 1990. Biochemical and cytological assessments of metal toxicity in marine animals. In: Heavy metals in the marine environment. Furness, RW and Rainbow, PS. Eds. CRC Press, Boca Raton, 123-142.

Gleeson C., et Gray N., 1997. The coliform index and waterborne disease. E et FN Spoon, 194 p.

Goldberg E-D., Bertine K-K., 2000. Beyond the mussel Watch new directions for monitoring marine pollution. *The science of the Total Environment* 247: 165-174.

Goldberg E-D., Bowen V-T., Farrington J-W., Harvey G., Martin J-H., Parker P-L., Risebrought R-W., Robertson W., Schneider E., Gamble E., 1978. The mussel Watch. *Environmental Conservation* 5, 101-125.

Google, 2008. Google earth programme.

Gosling E., 1992. The mussel *Mytilus*. Ecology, physiology, genetics and culture. *Developments in aquaculture and fisheries Science* 25. Elsevier, Amsterdam, 565 pp.

Grangnery A., 2001. Etude et modalisation de la dynamique des population des principaux bivalves en élevage (*Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*) et des principaux epibiontes des étangs de Thau. Thèse de doctorat, 1999-2000.

Gruvel A., 1926. Les pêches maritimes en Algérie. *Société d'Ed Challamel*. 162 p.

Guallini P., 2008. La Méditerranée menacée par la pollution. Article de la Provence presse. Octobre 2008.

Guiraud P-J., 2003. Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, pp 15.

« H »

Habig W-H., Pabst M-J., & Jakoby W-B., 1974. Glutathione S- transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The journal of biological chemistry*. 249: 7130 – 7139.

Hamon P-Y., 1983. Croissance de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) dans l'étang de Thau et estimation des stocks de mollusques en élevage. *Thèse d'état. Univer. Sci. Techn. Languedoc* : 286 p.

Harding J-P., 1949. The use of probability paper for the graphical analysis of polymodal frequency distributions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 28, 141-153.

Headden, G-F., and M-C., Williams E., 1968. A comparison of embedding waxes. *J.Med. Lab. Technol.*, 25:250 – 262.

Huggett R-J., R-A., Kimerle P-M., Mehrle J-R & H-L., Bergman EDS., 1992. Biomarkers. Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic Stress. Boca Raton, Fla., Lewis Publishers, 347pp.

Huzar V-L., Reynolds C-S., 1971. Phytoplankton periodicity and sequences of dominance in Amazonian in flood-plain lake(lago Batata ,Para, Brazil);response to gradual environment change.Hydrobiologia ,346:169-181

« I »

Izaguirre I., Ofreil I., et Guillermo T., 2001. Variation in phytoplankton composition and limnological features in water-water ecotone of lower Parana Basin (Argentina).Freshwater Biology46:63-74.

« J »

Jorgensen C-B., 1960. Efficiency of particle retention and rate of water transport in indisturbed lamellibranchs./ *Cons. Perm. Int. Expl. Mer.*, 29 : 96-116.

« K »

Kabler P-W., et Clark H-F., 1961. Coliform group and organisms as indicators of pollution in drinking water. *J. Amer. Water Work Association.* 53, 1577-1579.

Kammenga J-E., Dallinger R., Donker M-H., Kohler H-R., Simonsen V., Triebkorn R., & Weeks J-M., 2000. Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 164. G. W. Ware (Eds.). 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, springer-verlag. 93-147.

Kattabi H., 2002. Interets de l`etude des parametres hydrobiologiques pour la comprehension du fonctionnement de la station de traitemem des lixiviats de la decharge d`ordure menagere d`Etueffont (Belfort,France).These de Doctorat 3^{em}Cycle.Universite d`Artois .France,pp :167.

Khaldoun L., 2009. Etude du cycle de reproduction de la moule *Perna perna* dans le littoral d'El Kala : Suivi biométrique et histologique 75 p.

Khati Hadj moussa W., 2009.Etude de la qualité des eaux du golfe d'Annaba par l'utilisation d'un mollusque sentinelle, la moule *Perna perna* : essai in vivo et in situ. Application a la biosurveillance de l'environnement marin. *Thèse de doctorat. Univ. Annaba. Laboratoire écosystème marins et littoraux.*87p

« L »

Lacaze J-C., 1996. *La dégradation de l'environnement côtier, conséquences écologiques.* Edition Masson. Paris. p 129.

Lacaze J-C., et Ramade F., 1993. La dégradation de l'environnement côtier, conséquences écologiques. Edition Masson. Paris. p129.

Lafaurie M., Narbonne J-F., Galganie F., 1992. Indication biochimique et contamination de l'environnement marin. Anal. Mag., V20, n°6 : 27-33.

Lagadic L., Caquet T., Amiard J-C., et Ramade F., 1997. Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement : 393-401. In : Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Edt. Masson. : 419p.

Larpen J-R., & Larpen M., Gourgaud, 1985. Eléments de Microbiologie. Collection Enseignement des sciences.

Laubiet A., 1987. Biologie de la reproduction et l'élevage des crevettes Penneides. Oceanis.(2) :217-232.

Laziac Tidal, 1986.The reproductive cycles of the intertidal bivalves *Crassostrea cucullata* (Borne,1978) and *Perna perna* (Linnaeus,1758) from the Transkei Coast, Southern Africa .29:226-230.

Le Pennec M., 1981. Les méthodes expérimentales induisant la ponte chez les mollusques bivalves marins. Haliotis, 11 :139 – 155..

Lebaron P., Trousselier M., Got P., et Baleux B., 1990. Distribution spatio-temporelle d'une population bactérienne allochtone (coliformes thermotolérants) dans un écosystème marin côtier (Bassin de Thau, France) *Can. J. Microbiol.* Vol. 36: 307-317.

Leclerc H., 1978. Le genre vibrio : Les vibrions cholériques.cours de microbiologie des denrées alimentaires. Inst. Pasteur-Lille.

Lee S-Y., 1985. The population dynamics of the green mussel, *Perna perna*(L) in Victoria Harbour,Hong Kong-dominance in a pollution environment *Asia Mar.Biol.*2,107-118.

[Linnaeus, 1758.](#) Gulf States Marine Fisheries Commission. Retrieved on 2007-12-15.

Livingstone D-R., Lemaire P., Matthews, Peters L., Bucke D., Law R-J., 1993. Pro-oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses in livers of dab (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Mar. Poll. Bull.* 26, 602-606.

Loo L-O. & Rosenberg R-m., 1983. *Mytilus edulis* culture :growth and production in Western Sweden. *Aquaculture* 35 :137 – 150.

Lorenzen C-J., 1967. Détermination of chlorophyll and pheopigments spectrométrie equation.*Limnol.oceanogr.*12:343-346.

- Lubet P., 1970.** Cycles et rythmes sexuels chez les mollusques pélecypodes. Influence de milieu et étude expérimentale. *Annales de l'institut Michel Pacha*, 3 :24 –50.
- Lubet P., 1959.** Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilidés et les pectinidés (Moll. Bival). *Rev. Trav. Inst. Pêche Marit.* 23, 4, pp. 389-548.
- Lubet P., 1973.** Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk., 1819). *Synop. F.A.O. Pêche* 88.
- Lubet P., 1981.** Action de la température sur le cycle de reproduction des lamellibranches. *Extrait Bull. Soc.Zool. France* 106, 3, pp. 283-291.
- Lubet P., Aloui N., Karanaukhovan. 1986.** Etude expérimentale de l'action de la température sur le cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* Lmk. Comparaison avec *Mytilus edulis* L. *C.R. Acad.Sci. Paris*; 1986, 303: 507-512.
- Lubet P., et Chappuis J-G., 1966.** Nutrition des Lamellibranches. *Océanis* 4(1), 23-24.Paris.158(II) : 2125-2128.
- Lucas A., et Beninger P-G., 1985.** The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44 :187 – 200.
- Lunetta J. E., 1969.** Reproduction physiology of the mussel *Mytilus perna* (Mollusca lamellibrachia). *Zool : Biol. Mar. Sci Paul.* 0,26 : 33 – 111.

« M »

- Mansera E., Mendo J., 1996.** Population Dynamics of the oyster *Crassostrea rhizophorea* from the Cienaga Grande de Santa Marta,Colombia.*Fish.Res.*26,139-148.charden.
- Marigomez I., Soto M., Cajaraville M-P., Angulo E., Giamberini L., 2002.** Cellular and Subcellular. Distribution of metals in Molluscs. *Microscopy Research and Technique* 56, 358-392.
- Marques A., Pereira R-T-L., Correa B-C., 1998.** Seasonal Variation in growth and yield of the brown mussel *Perna perna* (L.) cultured in Ubatuba,Brasil.*Fisheries Institute.Sao Paulo State Agriculture Departement,Sao Paulo ,SP,Bresil.Rev.ELSEVIER.*
- Martoja R., & Martoja Pierson M., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson : 345 p.
- Maurin, 1961.** Etude des fonds chalutables de la Méditerranée occidentale (écologie et pêche).Résultats des campagnes des navires océanographiques : Président-Théodore-Tissier p191-195p.
- MeHSIP., 2008.** Elaboration of a Mediterranean Hot Spot Investment Programme. Final report for contact reg/2006/02 fwc beneficiairies europeaid/11860/c/multi lot n°2: transport and infrastructures; horizon.
- Moore M-N., Allen J-I., 2002.** A computational model of the digestive gland epithelial cell of marine mussels and its simulated responses to oil-derived aromatic hydrocarbons. *Mar. Environ. Res.* 54, 579-584.

« N »

N.O.A.A. National Oceanic and Atmospheric Administration, US Department of Commerce.

Najimi S., 1997. Evaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir : Bioaccumulation métallique et réponses de deux biomarqueurs de pollution chez *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*. Université IBNOU ZOHR : 161 p.

Namour P., 1992. Les mono oxygénases de poissons, un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. Etudes du CEMAGREF, Sér. Res. Eau, n°6. 232p.

Nerdhardt F-C., Inggraham F-C., Schaechter M., 1994. Physiologie de la cellule bactérienne (une approche moléculaire).pp209-227.

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF V 08-010. Règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF EN ISO 6887-1. Suspension mère et dilutions décimales ; 1.Règles générales.

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF T90- 411. Recherche et dénombrement des streptocoques du groupe D. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide.

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF T90- 411. Recherche et dénombrement des streptocoques du groupe D. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide.

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF T90-413. Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants .Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF T90-413. Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants .Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

Norme de l'Agence de Normalisation Française (AFNOR) NF T90-413. Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants .Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

« O »

OMS., 1983. Détermination des coliformes fécaux dans les bivalves par le test des tubes multiples. N° 5. Rev.1.

OMS., 1994. *Directives de la qualité pour l'eau de boissons* ; Volume 1 recommandations organisation mondiale de la santé, 2^e édition, 202p

OMS., 1994. *Directives de la qualité pour l'eau de boissons* ; Volume 2- Critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la santé, 2^e édition, 1050p.

Ouinissi M., Frehi H., Khelifi M., et Touhami M., 1998. Composition et abondance du zooplancton en situation d'eutrophisation dans un secteur côtier du golfe d'Annaba(Algérie). *Ann.Ins.Oceanographie* .,Paris,74(1):13-28p

« P »

Pallary P., 1921. Histoire de la moule d'Afrique. Bull. de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord. 5 : 105 – 115.

PAM : Plan d'Action pour la Méditerranée

Papadakis J., 1982. Factors and problems concerning the bacteriological examination of sea-water. VI^{ème} journée. Etud. Pollution.Cannes. (2-4 décembre).545-550.

Paulet Y-M., Dorange, Cochard J-C., et Le Pennec ., 1992. Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. *Ann.Inst.Oceanogr* .Paris.68(1-2) :45-64

Pauly D., David N., 1981. ELEFEN-1 BASIC program for the objective extraction of growth parameters from length-frequency data *Mecresforschung* 28(4).205-211.

Pellerin – Massicote J-B., Vincent Y., & Pelletier E., 1989. Evaluation de la qualité d'estuaire du saint - laurent. Etudes spatiales. Rapport remis au ministère de l'environnement de Québec, 130 pp.

Perez C-A., Roman G., 1979. Estudio del mejillon y de sua epifauna en los cultivos flotantes de Aia de Arosa :II.Crecimiento,mortalidad y produccion del mejilon. *Boletin del instuto Espanol se Oceanografia* 5(1).21-41.

Petersen, 1891. Fiskeribiologiske forhold i holboek fjord 1890-1891. *Beretn. Minist. Landbr. Fisk. dan. biol. Stn.*, 1, 121-183.

Pilar A., 1979. Biología y producción del mejillon *Perna perna* de cultivo de la Ria de Vigo. *bolitin del instituto Espanol de oceanographia* 5(1).21-41.

Plusquellec A., Beucher M., Legal Y., 1986. Bivalves : indicateurs de pollution microbienne des eaux littorales

PNUE/OMS., 1983. Plusquellec A ; Beucher M ; Le Gal Y ; 1986- Bivalves : indicateurs de pollution microbienne des eaux littorales.

Polytech Département STIA. Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique.

Power A., Sheehan D., 1996. Seasonal variations in the antioxidant defense systems of gill and digestive gland of the blue mussel, *Mytilus edulis*. Comp. Biochem. Physiol. Part C Pharmacol. Toxicol. 114, 99-103.

« R »

Remeo M., Bennani, Gnassia-Barelli, Lafaurie M. et Giard J-P., 2000. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in The kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. Aquat Toxicol. 48(2-3):185-194

Robertson W., 1995. Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, pp179-193.

Rodier J., 1996. L'analyse de l'eau, , eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer. 8eme édition.. Paris. pp761

Rodier J., Georffroy G-H., Kovacs G., Laporte J., Verneaux J., et Vial J., 1978. L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires et eau de mer. 6eme édition. Paris. 1136 p

Rodier, 1975. Analyse de l'eau : eau naturelle, eau résiduaire, eau de mer. P : 58.

Rodier, 1984. L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer. 7eme édition. Paris. 1365 p.

Romeo M., Garcia-Barrelli J-P., Siddoumou Z., & Nguyen P-H., 1993. Variation spatiotemporelles des concentrations en métaux traces chez le mollusque *Donax rugosus* de la cote mauritanienne. Bull. Ecol., t.24(2-3-4) :83-86

Romeo M., Garcia-Barrelli J-P., Siddoumou Z., et Nguyen P-H., 1993. Variation spatiotemporelles des concentrations en métaux traces chez le mollusque *Donax rugosus* de la cote mauritanienne. Bull. Ecol., t.24(2-3-4) :83-86

Romero S-M-B., & G-S., Moreira, 1980. Les effets combine de la salinité et de la température sur la survie des embryons et des larves de viliger de *Perna perna* (Linne ,1758) (Mollusca : Bivalvia). Bol. Fisiol. Animal, University de San Paulo 5 : 45-58.

Ruoff K. et al., 1989. Bacteremia with *Streptococcus bovis* et *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 27.305-308.

« S »

S.M.AL-Barwani A., Archad S-M., Nurul, Amin S-B., Japar S-S., Siraj C-K., Yap, 2006. Population dynamique of green mussel *Perna viridis* from the high spat-fall coastal water of Malacca, Peninsular Malaysia.

Salamao L-C., Magalhaes M-De., A-R., & J-E., Lunetta, 1980. Survie de *Perna perna* (Mollusca : Bivalvia) dans différentes salinités. *Fisiol. Animal*, University de San Paulo 4:143 – 152.

Santé Canada, 1991. La qualité bactériologique. Document de support aux recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada. Accessible à www.hc-sc.gc.ca/chp/dhm/dpc_cau_qualité/cauguide.htm.

Schurink E., de C., et C-L., Griffiths, 1990. Moule marines de l'Afrique Australe- leur modèle de distribution, stocks, exploitation, et culture. *Journal de la recherche de mollusques et crustacés* 9 (1) : 75 – 85.

Seed R., 1973. Absolute and allometric growth in the mussel *Mytilus edulis* L. (Mollusca, Bivalvia). *Proc. Malac. Soc. Lond.*, 40:343 – 357.

Seed R., 1976. Ecology. In: B.L. Bayne (Editor), *Marine Mussels, their ecology and Physiology*. Cambridge University Press., Cambridge U. K., 13 - 65.

Semroud R., 1983. Contribution à l'étude écologique des milieux saumâtres méditerranéens (El Kala, Algérie). Thèse de troisième cycle USTHB. Alger 137 p.

Serafim M-A., and Bebianno M-J., 2001. Variation of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of the clam *Ruditapes decussatus*: sex and seasonal effects. *Environmental Toxicology and chemistry*, 20, 544-552.

Shafee M.S., 1989. Applications of some growth models to the black scallops *Chlamys varia* (L) from Lanveoc, Bay of Brest. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 43 :237 – 250.

Shafee M-S., 1992. Production estimate of a mussel population *Perna picta* (Born) on the Atlantic Coast of Morocco. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 163 :183-197.

Sharpe M-E., 1979. Identification of the lactic acid bacteria *Identification Methods for Microbiologists*. Skinner F.A and D.W, Lovelock (Edi). Academic Press (London). 1233-1255.

Siddall S-E., 1978. Le développement de Hingeline dans les larves tropicales de moule du genre *Perna*. *Démarche de l'association nationale* 68 :86 de mollusques et crustacés.

Siddall S-E., 1979. Effets de la température et de la salinité sur la métamorphose de deux moules tropicales. Démarche de l'association nationale 69 : 199 de mollusques et crustacés.

Siddall S-E., 1980. A clarification of the genus *Perna* (Mytilidae). *Buil. Mar. Sci.* 30 (4) : 858 – 870.

Sies H., 1999. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Boil. Med.* 27: 916-921.

Smith De Waal C., Barbon K., Alderton L., et Jacobson M-F., 2001. Out break alert: Center for Sciences in Public Interest (CSPI)/Washington, p48.

Sophie C., Evelyne J., Béatrice M., 1998. Quantification et survie des bactéries dans les eaux du Coët-Dan. Micromer, Technopôle Brest Iroise, 224 rue Charles Cadiou, 29200 Brest.

Stegeman J-J., Brouwer M., Digiulio R-T., Frin L., Fowler B-A., Sanders B-M., & Van Veld P-A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. R. Huggett, R. Kimerle, P mehrle and H. bergman, Lewis. 235-335.

Sukhotin A-A., Kulakowski E-E., 1992. Growth and population dynamics in mussels (*Mytilus edulis*.L) cultured in the White Sea. *Aquaculture* 101 (1-2).59-73.

« T »

Thompson R-J., 1984. Production, reproductive effort, reproduction value and reproduction cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a subarctic environment. *Marine Ecology Progress Series* 16 :249 – 257.

Tortell P., Orano C. E.,and Tabbu M., 1978. *World Fish.* 27 :50. In. Chad W. and De La Cruz., 1980. Studies on the reproductive cycle of *Modiolus philippinarum* (Bivalvia :Mytilidae). *KALIKASAN, philip. J. Biol.* 9(2-3) :121 –136(1980).

Trigui-El Menif N., 1995. La palourde *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) des côtes tunisiennes. Biométrie, reproduction et impact de l'environnement sur la bioaccumulation en métaux traces. *Thèse doct. Fac. Sci. Tunis* : 261 p.

« U »

Utting S-D.,1986. A Preliminary study on growth on *Crassostrea gigas* larvae and spat in relation to dietary protein. *Aquaculture*,56:123-138.

« V »

Vaillant J-R., 1973. Protection de la qualité des eaux et maîtrise de la pollution.

Vaissaire et Fredj, 1963. Contribution à l'étude de la faune benthique de plateau continental de l'Algérie. *Bull. Inst. Océanogr. Monaco*, 60: 38p; 5cartes.

Vakily J-M., 1992. Determination and comparaispon of bivalve growth, with emphasis on Thailand and other tropical areas. In:ILARM Tochnical Report 36.p.125.

Valli G .,Cerneca F.& Ferraantelli N., 1975. Caracteritiche dell'accrescimento e del periodo riproduttivo in un allevamento sperimentale di *Mytilus galloprovincialis* Lam., Bolletino di Pesca. Piscicoltura e Idrobiologia, 30, 2, 299-313.

Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N-P-E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 13: 57-149.

Viarengo A., Canesi L., Pertica M., livingstone D-R., 1991. Seasonal variations in the antioxidant defense enzymes and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Comp. Biochem. Physiol. Part C. Pharmacol. Toxicol.*, 100: 187-190.

Vidal M-L., Bassères A., Narbonne J-F., 2002b. Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of *Corbicula fluminea* (Muller). *Comparative Biochemistry and physiology Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 131: 133-151.

« W »

Weeckbeker G., & Cory J-G., 1988. Ribonucleotide reductase activity abd growth of glutathione – depleted mopuse leukaemia L 1210 cells *in vitro*. *Cancer Lettres*, 40, 257, 264.

Wilson J-h., & Seed R., 1975. Reproduction in *Mytilus galloprovincialis* LmK (Mollusca :Bivalvia) in Carlinh Ford Lough, Northern Ireland. *Irish Ficheriers Investigation, Series B (Marine)*, 15 :30 p.

Wilson J-H., 1977. the growth of *Mytilus edulis* from Calingford Lough. *Erish Fisheries Investigations. Serias B : Marine* 17 :1 – 15.

« X »

X., 2003. Minitab software statistique, version 14.1 pour windows.

« Z »

Zaouali J., 1973. Note sur la présence de *Perna perna* (L), *Mytilus africanus* (Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie). Etude comparative du peuplement. Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche, Salamboo, 2 (4) : 637 – 642.

Zolocar de Domitrovie Y., 1992. Filoplancton de ambientes inundables del Rio Parana (Argentina).Revue d'hydrobiologie Tropical, 25 :177-188.

Sites internet :

<http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Prepared_Slides/Proteus_vulgaris_flagella_P7311251.JPG>.

www.cfkeep.org/html/stitch.php?s=159967283867

[http://fr.wikipedia.org/wiki/Proteus_\(genre\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Proteus_(genre))

http://www.asef-asso.fr/attachments/457_Synthese_pollution_eau.pdf

http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Clostridium>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylocoque>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptocoque>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Salmonella>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Shigella>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Vibrio>

<http://pagesperso-orange.fr/gonzales.manuel/textes/la%20mer/Faune/moule.html>.

<http://www.ccme.ca/sourcetotap/ecoli.fr.html>.

Annexes

Annexe 1 : Généralités

❖ **La pollution:**

La pollution est un problème d'actualité affectant pratiquement tous les écosystèmes y compris l'environnement marin, qui apparaît en totalité ou en partie comme le sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects, altérant les modalités de répartition des flux d'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes. Selon le Comité Scientifique Officiel de la Maison-Blanche pour la protection de l'environnement (1965), ces modifications peuvent affecter l'homme directement ou à travers des ressources en produits agricoles, en eau, et autres produits biologiques. Elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques qu'il détient, les possibilités récréatives du milieu ou encore en enlaidissant la nature.

On peut distinguer deux grandes formes de pollution :

- Les pollutions ponctuelles, souvent relativement immédiates, qui proviennent de sources bien identifiées (rejets domestiques ou industriels par égouts, effluents d'élevage ...) et peuvent être traitées par des stations d'épuration.

- Les pollutions diffuses, comme celles dues aux épandages de pesticides et d'engrais sur les terres agricoles, qui concernent l'ensemble d'un bassin versant, Elles mettent plus de temps à atteindre les milieux aquatiques et ne peuvent être traitées qu'à la source en diminuant l'usage des substances responsables.

Ces pollutions peuvent être permanentes (rejets domestiques d'une grande ville, par exemples), périodiques (augmentation saisonnières des rejets liées au tourisme, aux crues ...),

ou encore accidentelles ou aiguës, à la suite du déversement intempestif de produits toxiques d'origine industrielle ou agricole, ou du lessivage des sols suite a de fortes pluies (Anonyme.2005).

1.Les principaux types de pollution marine.

Il existe plusieurs manières de classer la pollution marine. On peut parler de pollutions généralisées quand il y a un changement global qui affecte une partie ou la totalité de la biosphère tels que l'effet de serre, la couche d'ozone et les pluies acides et de pollution localisée quand il s'agit d'érosion, de destruction de la nature par le feu, de pollution par les pesticides, de pollution nucléaire...etc. on rencontre également des pollutions pélagiques et continentale, des pollution atmosphérique, ainsi que d'autres types de pollution.

Il existe aussi d'autres types de classifications de la pollution :

○ **Classification selon MARPOL.**

Pollution par les navires: Causée par immersion de matériaux ou rejets opérationnels ; il s'agit de trois catégories de déversements :

- rejets huileux particuliers aux pétroliers
- rejets huileux communs à tous les navires
- rejets non huileux communs.

Pollution terrigène : Ce sont des polluants apportés par le continent (apports de matières organiques et minérales, apports nutritifs d'origine agricole, ...etc.)

Pollution atmosphérique : Ce sont les gaz et les particules provenant de sources continentales naturelles (poussière de sols) ou anthropiques (zones urbaines et industrielles).

○ **Classification selon l'origine.**

Pollution urbaine : Due principalement aux rejets domestiques et elle est liée aux grandes concentrations urbaines.

Pollution industrielle : Liée au développement de l'industrie et aussi variée que les activités industrielles elles-mêmes

Pollution agricole : Due aux insecticides, pesticides, fongicides, engrais chimiques ou naturels utilisés pour la production agricole

○ **Classification selon le type.**

Pollution physique : On parle de ce type de pollution quand le milieu marin est modifié dans sa structure physique par divers facteurs

Pollution chimique : Due au déversement des rejets industriels apportant de grandes quantités de substances chimiques dont certaines sont non dégradables

Pollution biologique : C'est un phénomène naturel dû aux micro-organismes. Il s'agit de la contamination microbienne. (Equinoxe, 1990).

2. La contamination microbienne:

C'est la pollution biologique du milieu marin, caractérisée par la présence de microorganismes dans l'eau qui servent généralement de nourriture à de nombreux organismes marins ; favorisant la fixation d'algues ou de larves sur certains substrats, permettant également la dégradation de certains polluants ; cependant , elle est considérée comme dangereuse, si les agents présents sont pathogènes (tab.1) ; elle peut entraîner la propagation de certaines maladies infectieuses, ce qui limite la pratique d'activités récréatives (baignade) et la pêche notamment des mollusques bivalves. De plus, elle est souvent ponctuelle, par conséquent se prête difficilement à une identification précise. (Vaillant, 1973).

Tableau 17: Principaux agents pathogènes pour les animaux à sang chaud et pour l'homme, fréquents dans les eaux polluées (Creteur, 1998)

Germes	Maladie	Origine
Virus	Poliomyélite; Hépatite virale	Se trouve dans les effluents de stations d'épuration
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra	Transmis par les égouts et les eaux polluées
<i>Salmonella typhi</i>	Fièvre typhoïde	Fréquent dans les égouts et les effluents en période d'épidémies
<i>Shigella dysenteriae</i>	Dysenterie	Eaux polluées
<i>Bacillus anthracis</i>	Anthrax/ Charbon	Egouts. Spores résistantes aux traitements
<i>Brucella sp.</i>	Brucellose	Normalement transmise par le lait infecté. Egouts soupçonnés aussi
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose	Isolé dans les effluents de sanatorium
<i>Leptospira ictero-haemorrhagiae</i>	Leptospirose	Porté par les rats d'égout
<i>Entamoeba histolytica</i>	Dysenterie	Se répand par l'usage des eaux d'égout comme fertilisant ; commun dans les régions chaudes

3. Les facteurs d'environnement affectant la survie des microorganismes dans l'eau.

3.1. La température :

Il est important de connaître la température de l'eau avec précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels dissous, et elle agit sur le PH. Pour cela la température de l'eau est mesurée à l'aide d'un thermomètre immergé à environ 20 cm de profondeur.

3.2. Le potentiel d'hydrogène :

Il s'exprime par le pH, peut prendre une valeur située entre 0 et 14. Joue un rôle important sur la baisse ou l'augmentation de la concentration en gaz carbonique CO₂ et de l'ammonification. Le pH de l'eau de mer varie entre 7,5 et 8,7 (Bernabe, 1991)

3.3. L'oxygène dissous

La solubilité de l'oxygène dissous est fonction de la température, de la pression de l'atmosphère et de la salinité. La teneur de l'oxygène dans l'eau dépasse rarement 10 mg/l. elle a tendance à diminuer avec la profondeur.

3.4. La salinité :

C'est la concentration de corps chimiques qui, en solution dans l'eau, se dissocient sous forme de cations. Un litre d'eau de mer contient 35g de sel, dont 30g de chlorure de sodium. La salinité a une action sur la répartition des micro-organismes.

3.5. Les matières particulaires en suspension :

Les variations portent sur l'ensemble du matériel particulaire en suspension dans l'eau de mer, c'est à dire la majorité des organismes phytoplanctoniques susceptibles d'être filtrés par les Moules, auxquels il faut ajouter les particules minérales et les détritiques organiques enrobés de bactéries ainsi que certains agrégats bactériens.

Les agressions de l'environnement ont pour les cellules bactériennes un impact immédiat, aussi ne serons nous pas surpris d'apprendre que les bactéries possèdent des mécanismes qui les aident à s'accommoder d'un milieu changeant et parfois hostile. Certaines espèces de bactéries sont capables de croître dans des circonstances spectaculaires : au dessus du point d'ébullition de l'eau, ou au dessous de son point de congélation ; dans des saumures saturées ; à des pH atteignant des valeurs aussi basses que 1, ou aussi élevées que 11 ; et aux pressions hydrostatiques extrêmes du plus profonds des océans. Certaines bactéries ne sont capables de croître que si elles sont dans l'un de ces environnements extrêmes (Guiraud.2003)

Les bactéries ne croissent pas seulement de plus en plus lentement aux températures de plus en plus basses, ou de plus en plus élevées ; il existe des températures limites précises au dessus et en dessous des quelles la croissance d'une souche donnée ne peut plus avoir lieu. Le taux de croissance décroît rapidement au-delà de la température optimale. D'après Nerdhadt et al (1994), la température maximale de croissance d'*E. coli* est approximativement 48° C. Sa température optimale est de 39° C et sa température minimale de 8° C ; alors que son domaine normal de température s'étend de 21° C à 37° C.

Généralement, on classe les bactéries sur la base de la gamme de leurs températures de croissance, on distingue :

- Les psychrophiles ou psychrotrophes, capables de se développer en dessous de 15-20°C , parmi eux il y a les psychrophiles facultatifs, capables de se développer à 20°C, telles les bactéries de la flore Gram négatif saprophyte (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, etc.) et des pathogènes (*Listeria*, *Yersinia*).
- Les mésophiles qui comportent la majorité des micro-organismes, capables de se développer entre 15 à 45 °C.
- Les thermophiles, capables de se développer au dessus de 45°C et les thermophiles extrêmes jusqu'à 75-80°C, telles les bactéries lactiques (*Lactobacillus* « *thermobacter* », *Streptococcus thermophilus*), les propionibacterium shemanii et les sporulées (*Clostridium thermosaccharolyticum*).

NB : Ne pas confondre micro-organismes thermophiles et thermorésistant, la thermorésistance est l'aptitude à résister à un traitement thermique alors que la thermophilie est l'aptitude à se développer à température élevée.

Tout comme la température, la plupart des bactéries peuvent croître dans une large gamme de pH. Elles s'accommodent à de larges variations du pH de leurs milieux de croissance en maintenant leur pH interne au voisinage d'une valeur optimale.

Il faut signaler aussi que chez les bactéries sporulées, le taux de sporulation, la thermo résistance des spores et le taux de germination dépendent également du pH. La relation des micro-organismes avec le pH a des applications hygiénique : ainsi la plupart des bactéries pathogènes sont incapables de se développer a un pH inférieur à 4,5 (Guiraud, 2003).

La bactérie *Escherichia coli* a une bonne croissance à un pH proche de la neutralité, entre pH 6 et 8 ; elle peut croître, mais plus lentement à un pH d'environ une unité au dessus ou au dessous de ces limites (Nerdhadt et al., 1994), Compte tenu de ce comportement vis-à-vis du pH externe, le pH

intérieur de la cellule est maintenu à une valeur peu différente de 7,6. Les bactéries sont classées entre neutrophile (*E. coli* acidophile et basophile. L'espèce *Thiobacillus ferrooxidans* est acidophile, et croit le mieux à pH 2, tout en maintenant son pH interne proche de 6,5 sur toute la gamme de pH de croissance, qui s'étend de 2 à 8. A l'autre extrême le basophile, croit le mieux à pH 10,5 et maintenant son pH interne à 9. En conclusion, lorsqu'une bactérie croit à des valeurs de pH inférieur à son pH interne, son cytoplasme est plus basique que son environnement, et lorsqu'elle croit à des valeurs supérieures, son cytoplasme est plus acide.

Parfois des phénomènes d'antagonisme et de synergie peuvent être observés. Ainsi, un développement qui peut avoir lieu à un pH et à une température donnée (tab. 2). Peut être inhibé lorsque les deux conditions se cumulent (Guiraud, 2003).

Tableau 18 : Comportement de quelques groupes microbiens en fonction du milieu (Guiraud, 2003)

Germes	pH favorable	Température favorable
<i>Aeromonas</i>	4.5/9.0	2°/45°C
<i>Bacillus cereus</i>	4.5/9.3	5°/55°C
<i>Brucella</i>	4.5/8.8	6°/42°C
<i>Campylobacter</i>	4.9/9.0	32°/45°C
<i>Clostridium botulinum</i>	4.5/8.5	10°/50°C
<i>Clostridium perfringens</i>	5.5/8.0	15°/50°C
<i>Eschirichia coli</i>	4.4/9.0	7°/46°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.4/9.4	-0.4°/45°C
<i>Pseudomonas</i>	4.0/9.0	8°/45°C
<i>Salmonella</i>	3.8/9.5	5°/46°C
<i>Shigella</i>	5.0/9.2	7°/46°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0/9.8	7°/48°C
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	4.8/9.3	10°/45°C
<i>Vibrio cholerae</i>	5.0/9.6	10°/43°C
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8/11	5°/43°C
<i>Vibrio vulfinicus</i>	5.0/10	8°/43°C

<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.2/9.6	-1.3°/42°C
--------------------------------	---------	------------

Les exigences que manifestent les microorganismes vis-à-vis de la concentration en chlorure de sodium conduit à la distinction d'un certain nombre de germes:

- Les Sténotopes qui ne supportent pas les écarts de concentration salines et n'acceptent de se développer qu'entre des limites rapprochées : c'est le cas des bactéries halophiles faibles ou sténohalines.
- Les hyperhalophiles, leur croissance n'est possible qu'à de fortes concentrations salines.
- Enfin un groupe important est constitué de germes halophiles modérés, ou indifférent, halophiles préférentiels, halotolérant (croît de préférence dans des milieux peu ou modérément salés, mais qui acceptent de se développer à de fortes concentrations salines), halorésistant (indifférentes aux salinités, survivent dans des milieux salés et reprennent leurs vitalité à des salinités normales) ou non halophiles. (Nerdhardt et *al.*, 1994).

4. Les germes indicateurs de contamination fécale :

La majorité des micro-organismes pathogènes est d'origine fécale. En effet, pour contrôler ce type de pollution, on se base sur le choix de témoins nommés germes indicateurs ou germes tests.

Le choix de ces indicateurs microbiens doit répondre à certaines exigences (Leclerc, 1978; Papadakis, 1982) :

- Etre toujours présent et a plus grandes concentrations que les germes pathogènes à surveiller.
- Etre capable de se multiplier dans le milieu aquatique.
- Etre plus résistants que les germes pathogènes dans l'environnement aquatique et aux désinfectants.
- Etre mis en évidence, dénombrés et identifiés à l'aide de techniques simples.

Généralement, les indicateurs les plus spécifiques de la contamination fécale directe sont les coliformes fécaux (témoignant d'une contamination récente) et les streptocoques fécaux (témoignant d'une contamination ancienne) dont le dénombrement et l'identification sont associés ensemble (Rodier, 1996).

4.1. Les coliformes :

Ce sont des bactéries gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* qui sont capables de fermenter le lactose. Les coliformes sont rencontrés largement dans les fèces d'origine animale et humaine.

Ce groupe est constitué de deux catégories de bactéries : les coliformes totaux et les coliformes fécaux.

Puisque les coliformes meurent lors de leur séjour en eau de mer, leur présence indique une contamination récente par des matières fécales.

4.1.1. Les Coliformes totaux :

Ce sont des bacilles gram négatif, ne formant pas de spores, ne possédant pas d'oxydase, anaérobies facultatives et fermentant le lactose avec production de gaz en 48 h à 35°C (Kabler et Clark,1961).

Ils peuvent avoir d'autres sources à part la matière fécale à savoir les cours d'eau, les eaux de ruissellement et certains types d'effluents industriels. Ce groupe est présenté par les germes suivants : *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia*, *Rahnella*, et *Buttiauxella* (Larpen et Larpen, 1985).

4.1.2. Les Coliformes fécaux (thermotolérants) :

Les Coliformes fécaux ou Coliformes thermotolérants, sont un sous- groupe des coliformes totaux, capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (fig.1) et, dans un moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsielle* (Elmund et al., 199 ;Santé Canada,1991 ;Edberg et al.,2000).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90% des Coliformes thermotolérants détectés (Barthe et al., 1998 ;Edberg et al., 2000). Bien que la présence de Coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe et al., 1998 ;OMS ,2000).C'est pourquoi, il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « Coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS,1994 ; Robertson,1995).

L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de la pollution produite par les matières fécales (CEAEQ, 2000).

Par ailleurs, ce sont de bons indicateurs de l'efficacité du traitement de l'eau, mais comme leur nombre est moins élevé que celui des coliformes totaux, ces derniers leurs sont préférables pour cette fonction (Robertson, 1995).

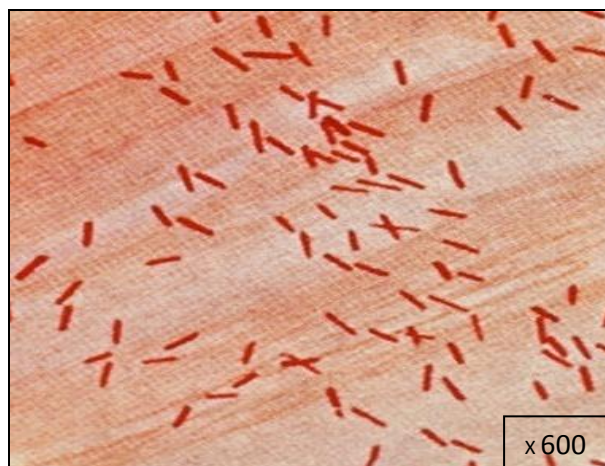


Figure 58 : *Escherichia coli* (*E.coli*) en coloration Gram (wikipedia, 2008).

4.2. Les Entérocoques.

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de LanceField (Sharpe, 1979). Elles sont définies comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, Gram positifs. Elles se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, se développent le mieux à 37°C et elles possèdent le caractère fermentaire avec production de l'acide lactique sans gaz (Manuel de Bergey, 1984).

Les streptocoques du groupe D ou streptocoques fécaux font partie de la flore intestinale de l'homme et des animaux ; leur nombre varie de 10^5 à 10^7 par g de matière fécale. Ces germes sont par ailleurs abondamment répandus dans la nature (végétaux etc.) et de ce fait leur présence dans un aliment n'indiquera pas forcément une contamination d'origine fécale. Ces germes ne sont pratiquement recherchés que dans les produits de la pêche et l'eau.

Parmi les streptocoques du groupe D on rencontre les espèces suivantes : *Streptococcus faecalis*, *S. faecalis* variété *liquefaciens*, *S. faecalis* var. *zymogene*, *S. faecium* et *S. durans*. Certains auteurs ont proposé d'inclure les espèces *S. bovis*, *S. equinus* et *S. mitis* dans le groupe des streptocoques fécaux.

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ces germes résistent mieux que les coliformes et *E. coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison, à la dessiccation et à un séjour dans l'eau. De ce fait ces bactéries peuvent se multiplier dans un grand nombre d'aliments (produits acides, salés, réfrigérés etc..) qu'elles peuvent ainsi altérer.

Les streptocoques fécaux sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Leur croissance est faible sur les milieux de culture (colonies de petit diamètre) ; elle est possible entre 0 et 50°C, entre pH 5 et 9,6, en présence de bile (40 %) et de chlorure de sodium (6,5 %). Ces germes sont microaérophiles. Le groupe des streptocoques D ne renferme pas d'espèce considérée pathogène au point de vue alimentaire.

Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, ces germes peuvent être à l'origine de toxi-infections bénignes qui sont toutefois exceptionnelles.

De ce fait on tolère en général moins de 10^3 streptocoques fécaux par g ou ml d'aliment, étant entendu que cette tolérance doit être ajustée à la nature de l'aliment et au type de consommateur.

Il est possible de connaître l'origine de la contamination fécale par l'utilisation du rapport (*Coliformes fécaux*/*Streptocoques fécaux*) CF/SF. Ce ratio est valable seulement quand la contamination est récente car les Streptocoques fécaux persistent plus longtemps que les Coliformes fécaux dans l'eau de mer (Bouchriti *et al.*, 1992).

Selon Bourgeois (1980), lorsque le rapport CF/SF est supérieur à 4, la contamination est essentiellement d'origine humaine, s'il est inférieur à 0.7, la contamination est d'origine animale et si le rapport est situé entre 0.7 et 4 la contamination est d'origine mixte (tab.3).

Tableau 19: Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport de Bourgeois (1980).

Ratio CF/SF	Source de Contamination
$R < 0.7$	Origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte
$R > 4$	Origine exclusivement humaine

En 1982, Borrego et Romero ont apporté des modifications au rapport de Bourgeois, permettant ainsi d'avoir un renseignement précis sur l'origine de la contamination (tab.4).

Tableau 20 : Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF.

Borrego et Romero (1982).

Ratio CF/SF	Source de Contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animale
$1 < R < 2$	Origine incertaine

$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine



Figure 59 : Les *Streptocoques* germes indicateurs d'une contamination fécale (wikipedia, 2008).

4.3. Salmonella :

Les **salmonelles** sont des entérobactéries du genre *Salmonella*, nommées ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon même si l'homme qui a découvert le genre était Theobald Smith, qui travailla sous la direction de Salmon au *Bureau of Animal Industry* (BAI) dès 1884.

Ce sont des entérobactéries bacilles à Gram négatifs, mobiles (ciliature péritriche), aéro-anaérobies facultatifs, oxydase -, nitrate réductase +, fermentative du glucose, lactose - H₂S +, uréase -, lysine décarboxylase +, utilisant la voie des acides mixtes, indole-, ne possédant pas la bêta-galactosidase, à forte contagiosité, responsables de gastro-entérites, toxi-infections alimentaires et des fièvres typhoïde et paratyphoïde (*S. typhi* et *S. paratyphi*) (fig 3).

Les salmonelles peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Elles se retrouvent donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les excréments d'animaux porteurs étant très importante. Les vertébrés aquatiques, notamment les oiseaux (Anatidés) et les reptiles (Chéloniens) sont d'importants vecteurs de salmonelles. Les volailles, les bovins et les ovins étant des animaux fréquemment contaminants, les salmonelles peuvent se retrouver dans les aliments, notamment les viandes et les œufs crus.

Il n'y a pas de dose infectieuse type, celle-ci dépendant :

1. de la pathogénicité de la souche (ou sérovar) considérée
2. de facteurs de sensibilité de l'hôte
3. de la concentration microbienne (dose en contact ou ingérée).



Figure 60 : Salmonelles (*Salmonella typhimurium*), en rouge, sur une culture de cellules humaines (Wikipédia)

4.4. Citrobacter :

Le genre *Citrobacter* (famille des *Enterobacteriaceae*) ainsi que les espèces *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii* et *Citrobacter koseri*, sont cités dans les *Approved Lists of Bacterial Names*.

Les souches du genre *Citrobacter* sont constituées de bacilles droits, isolés ou groupés en paire, d'environ 1,0 μm de diamètre sur 2,0 à 6,0 μm de longueur et présentant les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae*.

Classiquement, le genre *Citrobacter* rassemblait des entérobactéries mobiles, capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone, ONPG positive, LDC négative, phénylalanine désaminase négative et Voges-Proskauer négative.

L'absence de production d'acétyl-méthyl-carbinol, l'absence de phénylalanine désaminase et l'absence de lysine décarboxylase sont observées pour toutes les souches mais, la mobilité, la croissance sur le milieu au citrate de Simmons et l'ONPG sont des caractères variables. Dans ces conditions, il devient difficile de donner une définition phénotypique du genre *Citrobacter*.

Une réponse positive pour 95 p. cent des souches ou plus est notée pour les tests rouge de méthyl, fermentation du L-arabinose, du maltose, du D-mannitol, du D-mannose, du L-rhamnose, du D-sorbitol, du tréhalose et du D-xylose.

Toutes les souches donnent un résultat négatif pour les tests VP, tryptophane désaminase, phénylalanine désaminase, lysine décarboxylase, hydrolyse de la gélatine, lipase, Dnase et fermentation de l'érythritol.

A l'exception des souches de *Citrobacter koseri*, les *Citrobacter* sp. ne fermentent ni l'adonitol ni le D-arabitol et seules 5 p. cent des souches de *Citrobacter youngae* sont aptes à fermenter le myo-inositol.

La croissance des *Citrobacter* sp. est facilement obtenue sur gélose nutritive et les colonies sont généralement lisses, légèrement convexes, translucides ou opaques, à contour régulier et leur diamètre est de 2 à 4 mm après 24 heures d'incubation à 35 °C ou à 37 °C. Occasionnellement, les colonies peuvent avoir un aspect rugueux ou muqueux.

De nombreuses souches de *Citrobacter amalonaticus*, de *Citrobacter braakii*, de *Citrobacter farmeri*, de *Citrobacter freundii*, de *Citrobacter koseri*, de *Citrobacter sedlakii*, de *Citrobacter werkmanii* et de *Citrobacter youngae* sont aptes à cultiver dans des milieux d'enrichissement comme les bouillons au sélénite et au tétrathionate et sur des géloses sélectives comme la gélose Salmonella-Shigella, la gélose désoxycholate citrate ou la gélose au vert brillant. Sur ces milieux sélectifs, les colonies n'acidifiant pas le lactose (ou acidifiant tardivement le lactose) et/ou produisant de l'hydrogène sulfuré peuvent être confondues avec des colonies de salmonelles.

La majorité des souches de *Citrobacter* sp. cultivent abondamment sur le milieu cefsulodine-irgasan-novobiocine (CIN) en donnant des colonies à centre rouge et à bord translucide.

Compte tenu de la description récente de nouvelles espèces, préalablement incluses dans l'espèce *Citrobacter freundii*, les données concernant l'habitat et le pouvoir pathogène des *Citrobacter* sp. sont encore fragmentaires.

Les espèces du genre *Citrobacter* sont isolées des fèces de l'homme et des animaux (bovins, chevaux, chiens, chats, tortues, oiseaux...) et elles sont considérées comme des hôtes normaux du tube digestif. A l'exception de *Citrobacter braakii*, de *Citrobacter sedlakii* et de *Citrobacter rodentium*, les *Citrobacter* sp. sont également isolés du milieu extérieur (sol, eaux, eaux usées, aliments) et l'espèce la plus fréquemment retrouvée est *Citrobacter freundii*

(la première souche de *Citrobacter freundii* a d'ailleurs été isolée de l'eau d'un canal hollandais par Braak en 1928).

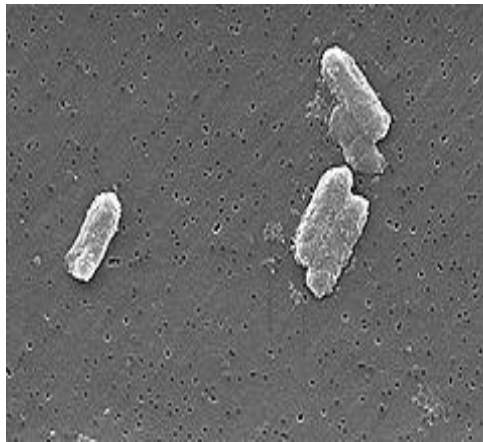


Figure 61 : *Citrobacter freundii*(Wikipédia)

4.5. Proteus:

Proteus est un genre de bactéries de la famille des enterobacteriaceae, commensal du tube digestif.

Il existe plusieurs espèces de proteus : *Proteus vulgaris*, *Proteus hauseri*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri* et *providencia*. Ce groupe de germes possède une désaminase vis-à-vis des acides aminés : ainsi la phénylalanine est transformée en acide phényl-pyruvique (APP).

Famille des Enterobacteriaceae. Germes commensaux du tube digestif en nombre généralement restreint, ONPG-négative, TDA-positive. Ils se multiplient rapidement dans les matières en voie de putréfaction et les aliments. Bacilles très mobiles, aéro-anaérobies, Gram négatifs, oxydase négatifs, nitrate positifs et qui fermentent le glucose. Les Proteus sont très polymorphes : formes longues et filamenteuses ou petits bacilles droits (Protée est un dieu de la mythologie grecque qui changeait de forme à volonté).

Les *Proteus hauseri* ont la propriété d'envahir la surface des milieux solides, d'où la difficulté d'isolement d'autres germes ; les milieux sélectifs employés dans la coproculture empêchent cet envahissement.

Les proteus sont souvent en cause dans des infections urinaires (10 % des infections urinaires en ville), infections de plaie, surinfections diverses : tumeurs, voies respiratoires, etc...

Les proteus ne sont pas des bactéries exigeantes. Elles poussent bien sur des milieux ordinaires tels que les géloses BCP, Drigalski, Mac Conkey et autres...

Les colonies diffusent sur les milieux riches et donnent un aspect en nappe. Ces bactéries présentent une odeur désagréable caractéristique

Principaux caractères biochimiques :

fermentation des sucres : glucose+ , réduction des nitrates en nitrites : NO₃+ (NR +),
métabolisme du tryptophane en indole : ind-, ONPG-, ornithine décarboxylase : ODC+,
H₂S+, uréase+, TDA+, VP- donc RM +, Lactose-, Saccharose -, PADA +, LDA +, LDC - .

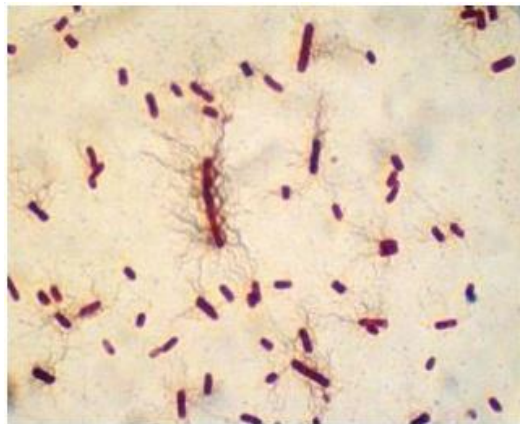


Figure 62: *Proteus vulgaris*, a gram-negative bacterium is demonstrated by the red/pink colouration from the gram stain. Its bacillus (rod) shape is revealed along with its peritrichous flagella.

4.6. *Klebsiella*

Les *Klebsiella* sont des Enterobacteriaceae bacilles gram négatif, immobiles et capsulées (sauf 6 % des souches de *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*). Elles font partie du groupe "KESH" (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia* mais rare.), elles fermentent le glucose par la voie du butan-2,3-diol avec production de gaz. ODC négative, ADH négative, TDA négative et PDA négative. VP positif caractère clé

Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des Hommes et des animaux en tant que bactéries commensales. Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale. Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique.

- *Klebsiella pneumoniae* détermine des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales. Elle est également responsable d'infections nosocomiales.

La capsule confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif en protégeant les bactéries de la phagocytose. Cette capsule volumineuse de nature polysaccharidique explique l'aspect gluant et bombé des colonies sur les milieux usuels.

- *Klebsiella ozaenae* n'est pas l'agent de l'ozène mais peut être pathogène dans les voies respiratoires et leurs annexes.
- *Klebsiella rhinoscleromatis* est l'agent spécifique du rhinosclérome.

Le genre *Klebsiella* compte 7 espèces : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. ornithinolytica*. En raison de parentés génomiques les taxonomistes considèrent les espèces *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* comme des sous-espèces de *Klebsiella pneumoniae*, soit respectivement *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* et subsp. *rhinoscleromatis*.

Elles peuvent avoir des origines très diverses : on les isole chez l'homme et les animaux, des eaux des effluents industriels, du sol, des végétaux, des aliments.

K. pneumoniae et *K. oxytoca* sont des bactéries ubiquistes, hôtes normaux quoiqu' en petit nombre de la flora respiratoire et surtout digestive de l'homme. Elles sont fréquemment isolées dans les infections urinaires mais aussi dans les infections de plaie et les bactériémies principalement lorsque ces infections sont nosocomiales. Certaines *K. pneumoniae* peuvent être en cause dans des pneumopathies aiguës.

K. ozaenae et *K. rhinoscleromatis* sont strictement adaptées au tractus respiratoire de l'homme. Isolées d'expectoration et de pus de sinus, ils sont souvent responsables d'affections sévères de l'arbre respiratoire, souvent chroniques. *K. ozaenae* peut être l'agent d'infections bronchiques chroniques dans les bronchiectasies ou la mucoviscidose. *K. rhinoscleromatis* est l'agent du rhinosclérome.

K. planticola et *K. terrigena* sont psychrophiles et dénuées de tout pouvoir pathogène pour l'homme.

K. pneumoniae et *K. oxytoca* présentent une résistance naturelle de nature chromosomique à l'ampicilline et à la carbenicilline. La majorité des souches isolées d'infections nosocomiales hébergent des plasmides de résistance multiple, en particulier aux aminosides et aux céphalosporines de troisième génération.

5. La colimétrie

Les **coliformes** sont des entérobactéries (bacilles gram(-)), asporulés, glucose(+)(F), oxydase(-), nitrate réductase(+), aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz à 30°C. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec les espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Les **coliformes fécaux**, donc d'origine intestinale, sont des coliformes qui fermentent le lactose avec production de gaz à 44°C (Tests de MAC CONKEY, 1901 ou d'EIJKMAN, 1904). On les assimile souvent aux **coliformes thermotolérants**.

Escherichia coli dont il existe de nombreux sérotypes, certains étant entéropathogènes, est identifiable dans le groupe des coliformes fécaux par le test de MACKENZIE (production d'indole à 44°C). Cette bactérie est le seul coliforme résistant au phénol à 0,85 %.

Le dénombrement des **coliformes "totaux"** est encore considéré comme un indice de contamination fécale. Or s'il s'avère que leur présence dans l'eau constitue un bon indice de contamination fécale récente, leur survie étant de courte durée dans ce milieu, il n'en est pas de même dans de nombreux aliments. Ainsi des coliformes ont été retrouvés dans d'autres sources que les matières fécales.

Le dénombrement des **coliformes fécaux (ou thermotolérants)** considérés comme des germes indicateurs de la qualité hygiénique de l'aliment, constitue par contre un bon indice de contamination à partir des matières fécales de l'homme et des animaux. Ces bactéries sont souvent associées à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella* et les *Shigella*. Ces coliformes représentent environ 1 % de la flore intestinale et ne provoquent généralement pas de maladie chez l'homme adulte ; leur nombre est voisin de 10⁸ par g de matière fécale. La croissance de certains de ces germes est possible sur un très grand nombre de milieux ou d'aliments entre -2 et 50°C, entre pH 4,4 et 9.

La **résistance** des coliformes et des coliformes fécaux aux conditions extérieures défavorables est faible (traitements technologiques divers, entreposage, etc.). Ainsi leur nombre au moment de l'analyse ou fourni par l'analyse n'est pas toujours proportionnel à l'importance de la contamination ; leur présence dans un aliment cuit ou pasteurisé signifie que la contamination est postérieure au traitement thermique. Il reste alors à trouver l'origine de la contamination (manipulateurs, plans et instruments de travail, contact avec des produits crus). De plus, ces germes peuvent se multiplier dans certains produits quand les conditions sont favorables.

La plupart de ces germes n'est généralement pas, sauf en cas de prolifération abondante, dangereuse au point de vue sanitaire (attention au type de produit et de consommateur). Leur présence peut être un bon indice des mauvaises conditions de manipulation ou de traitement des aliments (pasteurisation insuffisante par exemple). Le test de différenciation entre les coliformes totaux et les coliformes fécaux (Test de Mac Conkey ou d'Eijkman) repose sur l'incubation des milieux à deux températures (30 et 44,5°C). L'effet inhibiteur de la température sur la croissance et le métabolisme des coliformes (non fécaux) à 44,5°C implique des composants cellulaires du métabolisme fermentatif et aérobie du lactose ; la perméabilité membranaire est très diminuée chez ces coliformes à 44,5°C.

Dans la plupart des analyses systématiques, la numération des coliformes fécaux et la recherche d'*E. coli* par le test de MAC KENZIE sont réalisées. Il faut cependant signaler que la mise en évidence d'*E. coli* par cette méthode peut être erronée car certaines bactéries

(*Klebsiella oxytoca* et certaines espèces de *Citrobacter*) donnent une réaction positive. Il faut alors identifier *E. coli* par la recherche de son biotype (galerie classique ou système de type API 20E ou 40E) et de son sérotype.

La **numération d'*Escherichia coli*** est un bon indice de contamination fécale. Ce germe peut être associé à des germes pathogènes. Cependant cette mesure ne permet pas de connaître, s'ils sont présents, la nature et le nombre de ces germes pathogènes.

Signalons enfin que la recherche et/ou la **numération des entérobactéries** comme indicatrices des mauvaises conditions de manipulation et de fabrication est parfois réalisée. Le milieu utilisé est le milieu VRBG (violet cristal, rouge neutre, bile, glucose) ; après ensemencement de 1 ml réalisé dans 13 ml de milieu à 47°C, 9 ml de milieu sont coulés en double couche. L'incubation dure 24 heures à 30°C. Les entérobactéries donnent des colonies rouges d'un diamètre de 0.5 mm.

La **colimétrie**, c'est à dire la numération des coliformes, peut être réalisée soit en milieu liquide, soit en milieu solide (par ensemencement dans la gélose ou après filtration).

On tolère en général un nombre de coliformes inférieur à 100 par g ou ml du produit, cette tolérance étant fonction entre autre, de la nature du produit et du consommateur. Des normes bien précises sont donc définies pour chaque type d'aliment ainsi que les valeurs de n, c, m et M. (Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA.)

6. Habitat des moules:

La moule *Perna perna* habite un substrat dur de l'étage infralittoral, elle peut vivre jusque vers 100 mètres de profondeur (Ficher et *al*, 1987).

Espèces sessiles (fixées à demeure), elles résistent aux courants, aux chocs des vagues et à l'arrachement grâce aux solides filaments du byssus qui sont soudés au rocher. Elles sont pourtant capables de se déplacer après avoir rompu une partie des filaments du byssus et avoir déposé un peu plus loin sur le rocher une substance protéique qui s'écoule dans le sillon postérieur du pied et se solidifie au contact de l'eau en formant des filaments; elle se hale ensuite sur ces nouveaux filaments.

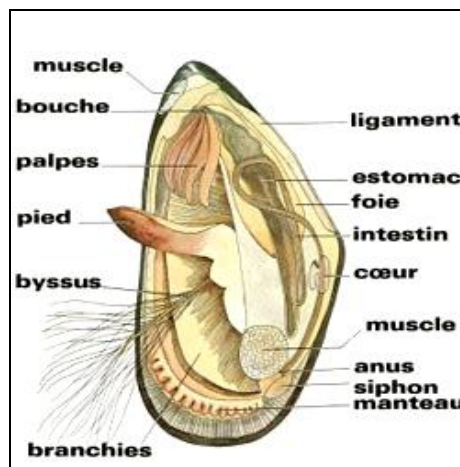


Figure 63 : Structure et anatomie d'une moule.

Tableau 21 : Caractères distinctifs entre la musculature de *M. galloprovincialis* et de *Perna perna* (Linneaus,1758)

Muscles	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<i>Perna.perna</i>
Muscle adducteur antérieur	petits ou grands 1 paire s'insérant dorsalement dans la région postérieure	absence des grands

Muscle adducteur postérieur		
Muscles rétracteurs du pied		
Muscles rétracteurs de byssus (3 paires)	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement
	rétracteurs moyens : 1 paire formée de deux faisceaux s'insérant dorsalement dans la région moyenne contre les rétracteurs postérieurs	rétracteurs moyens : 1 paire de muscles très épais formée de nombreux faisceaux empreinte distincte

7. Croissance :

La croissance est définie comme la mesure de l'augmentation de taille et de poids d'un individu, en fonction du temps et des variables environnementales. Selon Seed (1973), dans une population donnée de moules, la dynamique pondérale est étroitement liée à l'activité reproductrice des individus; elle est perturbée chez les bivalves par les processus liés à la reproduction (Le Pennec,1981). L'accumulation temporaire de réserves qui sont ensuite converties en gamètes puis expulsés dans le milieu naturel pour assurer la fécondation, occasionne une perte brutale du poids et un ralentissement, voire un arrêt de la croissance (Barille,1996). Cet auteur suggère de séparer ces deux processus afin de déterminer avec précision l'influence des contraintes du milieu sur la croissance ou sur la reproduction. D'où l'intérêt d'entreprendre une étude de la croissance de la moule associée à une étude de la reproduction.

8. Caractéristique de la moule *Perna perna*:

Chez la moule africaine *P. perna*, les composantes antérieures du muscle rétracteur s'attachent séparément sur la coquille laissant une empreinte de muscle discontinue, le muscle adducteur antérieure est absent chez toutes les espèces de *P. perna* (Siddall,1980).

Les charnières consistent en une forte dent lamelliforme sur chaque valve. Périostracum brun fauve avec reflets verdâtre dans la région postérieure ; Intérieur des valves nacrés, blanc rosé (fig.8).

Le caractère principal permettant de séparer les genres *Perna* et *Mytilus* est le modèle d'empreinte laissé par le muscle sur la coquille (fig.7).

Laziak (1986) a rapporté que *P.perna* se compose de deux sexes séparés qui peuvent être distincts surtout pendant la saison de reproduction par la couleur du manteau. Les moules se reproduisent par la fertilisation externe en déchargeant les spermatozoïdes et les œufs dans la colonne d'eau. Après des larves d'un véligère sont formées ; quinze heures après la fertilisation, des dents de la charnière sont bien développées et augmentent en nombre. La période critique pour le développement étant pendant et après la métamorphose (Siddall, 1978). La métamorphose de la moule brune est marquée par la sécrétion du byssus (filament pour la fixation au substrat) (Siddall, 1979). La survie des larves dépend principalement de l'arrangement sur un substrat dur habituellement une roche.

La phase initiale de la métamorphose se produit à des températures optimales comprises entre 10 et 30°C et des salinités variant de 30.9 à 32.1 ppt (Siddall, 1978). a température optimale et les salinités retardent l'accomplissement de cette première étapes accordant plus de temps aux larves pour leur permettre de s'arranger sur un substrat (Siddall, 1979). Les larves s'arrangent en forme d'agrégats denses sur les rivages rocheux (Berry,1987).

Selon Salamao et al., (1980), chez les adultes, la tolérance de salinité est comprise entre 19 et 44 ppt ; Les véligères ont une gamme de tolérance de salinité variant de 15 à 55 ppt (Roméo et Moreira, 1980).

La température à un effet plus néfaste, sur la survie des moules, que la salinité. La température durant la métamorphose des véligères est limitée entre 18°C à 30°C (Siddall, 1979). la tolérance de la température pour l'étape de véligère s'étend de 10°C à 30°C (Roméo et Moreira, 1980).

Selon Schurink et Griffiths,(1990), la taille maximale de la coquille de *Perna perna* est influencée par la distribution verticale. Dans des zones intertidales, la moule atteint 90mm et une taille maximale de 120 mm est atteinte dans les zones sub littorales.

La moule *Perna perna* habite un substrat dur de l'étage infralittoral et peut être rencontrée jusqu'à 100 mètres de profondeur (Ficher et al, 1987).

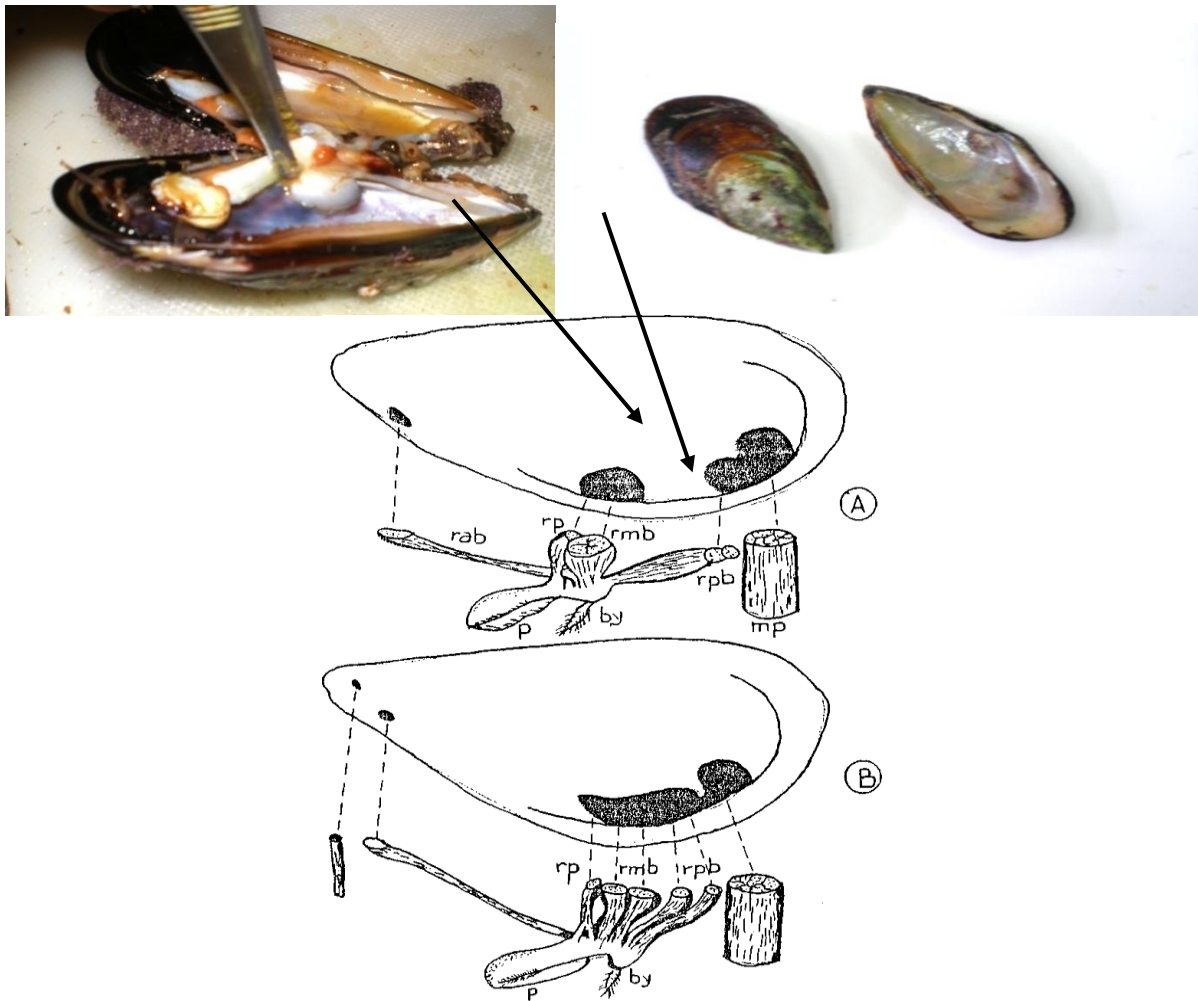


Figure 64 : Disposition des insertions musculaires sur la coquille de *Perna perna* (A) et *Mytilus galloprovincialis* (B)

ma: muscle adducteur antérieur; mp: muscle adducteur postérieur; rad: rétracteur antérieur de byssus; rmb: rétracteur moyen de byssus; rpb: rétracteur postérieur de byssus; rp: rétracteur du pied.

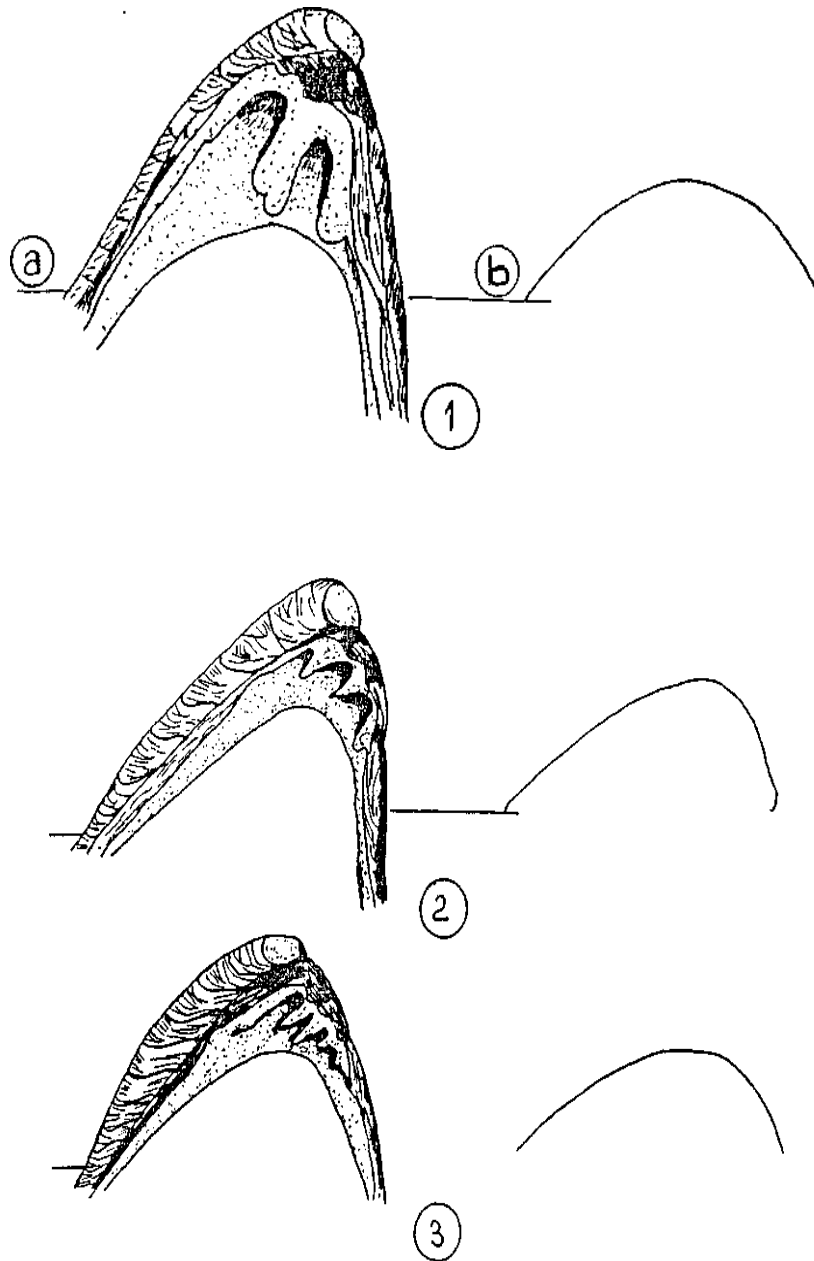


Figure 65 :Charnière de la valve gauche.

1- *Perna perna*. 2- *Mytilus galloprovincialis*. 3- *Mytilus edulis*.

9. Biomarqueurs :

Les biomarqueurs sont des variations biochimiques, physiologiques, histologiques ou morphologiques, mesurées chez des organismes exposés à des conditions de stress liées à la présence de substances chimiques dans l'environnement (Huggett et al., 1992). Ils représentent la réponse biologique initiale des organismes face à des perturbations ou des contaminations du milieu dans lequel ils vivent ; en conséquence, ils sont en général plus sensibles que les paramètres mesurés à un niveau supérieur d'organisation biologique tel que l'organe, l'individu ou la population (Stegeman et al., 1992).

1.1. GSTs :

Les glutathion S-transférases enzymes de la phase II représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans des opérations diverses de transports et de biosynthèses intracellulaires (George, 1990). La fonction des GSTs la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans l'environnement demeure leur propriété de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir dangereusement avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). De fait, la conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee et Bhattacharya, 1984).

Une grande variété de composés chimiques induit les GST, dont certains inducteurs des cytochromes P450 tels que les hydrocarbures polyaromatiques et les PCB. L'utilisation des GST comme bioindicateur de pollution caractéristique d'un type de polluant dans l'environnement reste encore à définir et se rapproche encore aujourd'hui plus de celle d'un indicateur non spécifique, témoin de l'état de santé global des organismes qui peuplent les écosystèmes marins.

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat (en général du chlorodinitrobenzène (CDNB)(1-chloro,2, 4-dinitro Benzène), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction catalysée de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340nm de longueur d'onde. Il est possible de quantifier cette absorption au moyen d'un spectrophotomètre et la valeur de la densité optique mesurée à 340nm est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formée, elle-même liée à l'intensité de l'activité GST (Habig et al., 1974).

1.2. Le glutathion réduit (GSH):

Le glutathion a été isolé et nommé pour la première fois en 1921, par le biochimiste anglais Hopkins, qui l'avait isolé à partir de la levure, du foie et des muscles. Le glutathion est largement distribué dans le milieu intracellulaire des animaux, des plantes et des micro-organismes. Au début, les chercheurs ont observé plusieurs composés éliminés au niveau des urines et de la bile, connues sous le nom d'acides mercapturiques, qui sont des thio-éthers de

l'acétylcystéine. Il y a eu alors une spéculation sur la source de cystéine utilisée dans la synthèse de ces composés. L'évidence de l'implication du glutathion a été élucidée par le travail de Barnes et al., (1959), qui ont signalé une diminution des niveaux du GSH dans le foie des rats après l'administration des composés contenant l'acide mercapturique.

C'est le système de conjugaison le plus important. C'est un tripeptide qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire (Arrigo 1999 ; Sies 1999). Le GSH forme des acides mercapturiques, qui sont très solubles, souvent plus que les composés simplement polarisés par la phase I .

C'est un antioxydant non enzymatique qui va, en piégeant les radicaux libres, intervenir à divers degrés en complément des enzymes antioxydantes. Ce thiol non protéique, abondant chez les organismes vivants dans sa forme réduite (GSH), va agir dans la cellule comme un donneur d'électron. Le glutathion est composé de trois acides aminés (Glu-Cyst-Gly). Il comporte donc en son centre un groupe –SH (cystéine). L'enzyme qui catalyse la réaction est la glutathion-S-transférase (GST). Il constitue environ 10% des protéines du cytoplasme. Le système est très impliqué dans la détoxification des radicaux libres et des époxy, mais aussi des halogénés.

1. Dosage des protéines :

La gamme étalon a été réalisée avec de l'albumine bovine sérique (BSA, fraction V de Merck®) comme protéine standard (Tab.3) à des concentrations de 0 ; 75 ; 100 ; 250 ; 400 ; 500 ; 1000 ; 1500 µg/ml ; ces dilutions ont été réalisées avec le tampon d'homogénéisation spécifique à chaque biomarqueur.

Chaque échantillon de S9 a été dilué au dixième avec le tampon d'homogénéisation.

Tableau 22 : réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
Qualité de BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

1.3. Dosage de l'activité des GSTs :

Protocole expérimental :

1. Mettre au bain-marie à 37°C les solutions CDNB, Tampon phosphate et GSH.
2. Mesure au spectrophotomètre (si le spectrophotomètre est thermostaté mettre à 37°C)
3. Remplir les micro-cuves en quartz pour les blancs et les échantillons (qui seront décongelés dans la glace).
4. Lecture au spectrophotomètre à l'abri de la lumière, dans une micro-cuve en quartz.
5. Etablir un programme de lecture avec les caractéristiques suivantes :
 - $\lambda = 340\text{nm}$
 - délai (s) : 15 secondes entre chaque lecture.
 - Mesure (min) : 1 min

Tableau 23 : préparation pour l'analyse de l'activité du glutathion S-tranfèrase

	Blanc (μl)	Essai (μl)
Tampon Phosphate (100mM) pH 6.5	850	840
CDNB (20mM)	50	50
Cytosol (S9 ou S100)	0	10
GSH (100mM)	100	100

Faire des allers retours avec la pipette après l'ajout du GSH, la réaction démarre.

Un blanc de réactifs est réalisé plusieurs fois, la moyenne de ces mesures permet d'évaluer la vitesse de la réaction spontanée qui n'est pas négligeable.

Les échantillons sont aussi mesurés plusieurs fois de façon à pouvoir établir une moyenne.

La valeur de la densité optique correspondant au blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

Sachant que le coefficient d'extinction du GSH-CDNB est de $9.6\text{mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

$$AV = [(\Delta DO_{\text{éch}} - \Delta DO_{\text{blanc}}) / \epsilon \cdot L] \cdot (V_{\text{tot}} / V_{\text{enz}})$$

$\Delta DO_{\text{éch}} - \Delta DO_{\text{blanc}}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des blancs par minute.

ϵ : coefficient d'extinction moléculaire du CDNB.

L : trajet optique de la micro-cuve = 1cm

L'activité spécifique (AS) de l'enzyme se calcule en rapportant l'AV à la concentration de protéines de l'échantillon.

2. Dosage de l'activité des GSHs :

Protocole expérimental :

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat
- ✓ Ajouter 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0.25%.
- ✓ Agiter et laisser pendant 15min dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à la vitesse de 1000g/mn pendant 5minutes.
- ✓ Prélever 0.5ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1ml du tampon Tris E.D.T.A (contenant 0.02 M d'EDTA, pH 9.6)
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025ml de l'acide 5-5'- dithio-bis-2-nitrobenzoïque à 0.01 M (dissous dans le méthanol absolu)
- ✓ Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément.
- ✓ Mesurer l'absorbance optique à 412nm

La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = \frac{\text{DO} \cdot \text{L} \cdot 1,525}{5240 \cdot \text{mg prt}} = \mu\text{M GSH} / \text{mg prt}$$

DO: densité optique.

L: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat+0.2ml SSA).

1,525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5ml surnageant+ 1ml Tris EDTA+ 0.025ml DTNB à 0.01 M dissous dans le méthanol absolu).

0.8 : le volume de l'homogénat trouvé dans 1ml.

0.5 : le volume du surnageant trouvé dans 1.525ml.

1. La matière particulaire en suspension :

La connaissance de la qualité de matière en suspension (MES) est important pour des milieux aquatiques car les particules réduisent la transparence de l'eau et de ce fait la production primaire photosynthétique. Selon leur nature, elles sont également une source nutritive non négligeable pour les moules qui sont des bivalves filtreurs de l'eau.

✚ Principe et méthode :

La détermination de la matière en suspension dans l'eau a été réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration d'échantillon sur un filtre en fibre de verre WHATMAN GF/C 47µm de porosité.

Le filtre a été pesé avant et après filtration. La différence de poids permet de connaître le poids sec total de la matière en suspension dans le volume filtré correspondant (Aminot et Chaussepied, 1983).

$$MES \left(\frac{mg}{l} \right) = \frac{P2 - P1}{V}$$

P₁ : poids du filtre avant filtration (mg).

P₂ : poids du filtre après filtration (mg).

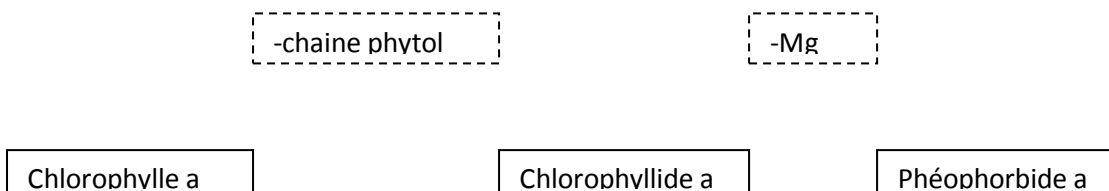
V : volume d'eau filtrée (litre).

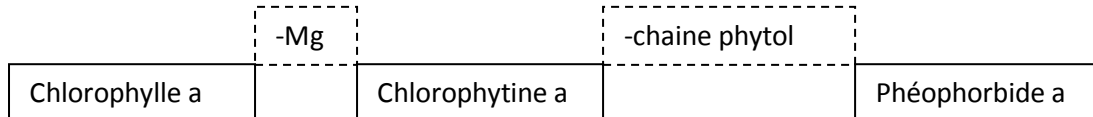
2. La chlorophylle « a » dans l'eau :

(Méthode monochromatique de LORNZEN (1967) solvant : acétone à 90%)

La détermination quantitative globale de la fraction particulaire vivante dans les milieux aquatiques est importante pour l'étude et la compréhension des phénomènes écologiques pour cela, une estimation de la biomasse phytoplanctonique par voie chimique (par extraction et détermination des pigments photosynthétiques) s'avère satisfaisante, plus simple et plus rapide que des méthodes basées, par exemple, sur le comptage des cellules. L'analyse des principaux pigments chlorophylliens (chlorophylles a, b, c et leurs phéopigments) et celle des caroténoïdes nécessite l'extraction.

Pour la chlorophylle « a », Yentsch (1967) résume la dégradation selon les schémas suivants :





L'acidification entraîne l'élimination de l'acétone de magnésium et de la chaîne phytol.

Principe de la méthode :

La chlorophylle « a » est facilement et rapidement transformée en phéophytine par acidification, ce qui entraîne une diminution de l'absorption alors qu'aucune modification n'intervient pour la phéophytine acidifiée. La différence d'absorbance avant et après acidification permet donc de déterminer la teneur en chlorophylle « a ».

Mode opératoire :

***Filtration :**

- ✓ Filtrer l'échantillon d'eau brute à travers un filet ou un tamis de 200 à 250µm de vide de maille ce qui permet l'élimination grossière du zooplancton.
- ✓ Filtrer un volume connu d'échantillon (0,5 à 5 litres) sous vide, sur membrane en fibre de verre (WHATMAN GF/C 47µm) recouverte au préalable d'une fine couche de carbonate de magnésium pour éviter l'altération de la chlorophylle.

***Extraction :**

- ✓ Introduire la membrane filtrante dans un tube à centrifuger contenant 10ml d'acétone à 90%.
- ✓ Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette ou d'un tube en verre à embout coupant. Agiter vigoureusement pour disperser les fibres.
- ✓ Placer le tube à l'obscurité et au frais pendant une vingtaine d'heures de façon à permettre l'extraction de la chlorophylle.
- ✓ Après extraction centrifuger à 400 tr/min pendant 5 minutes.
- ✓ Transférer le surnageant dans la cuve du spectrophotomètre.

***Mesure :**

- ✓ Effectuer les mesures d'absorbances des extraits aux longueurs d'ondes de 665 et 750nm.

- ✓ Acidifier par addition de 10µl d'acide chlorhydrique par ml d'extrait directement dans la cuve, agiter, attendre 6min.
- ✓ Mesurer les absorbances des extraits acidifiés à 750 et 665nm.

***Expression des résultats :**

- ✓ Soustraire les absorbances lues à 750 nm avant et après acidification soit :

E1 : absorbance corrigées avant acidification

E2 : absorbance après acidification

- ✓ La teneur en Chlorophylle « a » se calcule ainsi :

$$Chl a \left(\frac{\mu g}{l} \right) = \frac{26.7 \times (E1 - E2) \times v}{V \times L}$$

V: volume d'eau filtré (l).

v : volume d'acétone (ml).

L : longueur du trajet optique de la cuve de mesure (cm).

3. Prélèvement de l'eau

Pour cela nous utilisons des flacons en verre d'une capacité de 250ml soumis au préalable à un nettoyage rigoureux (un rinçage à l'eau de robinet puis 3 rinçages à l'eau distillée) séchés, bouchés, enveloppés séparément dans un morceau de papier filtre (Rodier, 2005) puis stérilisés à l'autoclave à une température de 121°C pendant 15mn (O.M.S.1983).

Une fois les prélèvements effectués, les flacons sont étiquetés et placés dans une glacière à l'abri de la lumière et à une température de ±4°C, car la teneur en germes des eaux risque de subir des modifications dans les flacons, après le prélèvement. Si l'échantillon doit être transporté il faut réduire au maximum le délai avant l'analyse. Il est souvent nécessaire de réfrigérer (mais non congeler) le produit au cours de son transport; certains germes fragiles peuvent disparaître au cours de cette réfrigération (Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA). C'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. L'évolution est d'ailleurs assez difficile à prévoir et dépend de nombreux facteurs ; température, concurrence bactérienne des espèces présentes, composition chimique de l'eau.

La norme NF T 90-420 de février 1987 indique que les échantillons doivent être maintenus à une température comprise entre 1 et 4°C dès leur prélèvement. Ils doivent être analysés le jour même, il est

donc admis que le délai maximum entre le prélèvement et le début de l'analyse ne doit pas excéder 24 heures, aussi il est préférable de le raccourcir lorsque l'eau est présumée très polluée (Rodier, 2005).

1.1. Préparation des échantillons :

Pour les **produits liquides** (ou semi-liquides) une agitation manuelle vigoureuse en présence de billes de verre permet d'obtenir une homogénéité satisfaisante.

Pour les **produits solides** diverses techniques de "broyage" sont utilisables :

- 1) broyage manuel au Potter ou en présence de sable stérile ou de billes de verre (mortier)
- 2) broyage mécanique. (Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA.)

Préparation des dilutions :

Le récipient contenant le liquide à diluer est agité manuellement avec précaution pour éviter les projections pendant une dizaine de secondes. On prélève stérilement 1 ml de ce liquide (aspirer et refouler une fois avant le prélèvement) que l'on introduit dans un tube contenant 9 ml de diluant stérile. Le tube est agité par des mouvements de rotation ou au moyen d'un Vortex. On obtient ainsi une dilution au 1/10. Avec une nouvelle pipette de 1 ml on prélève 1ml de cette dilution que l'on introduit dans un nouveau tube de diluant de 9 ml ; on obtient une dilution au 1/100 et ainsi de suite jusqu'au niveau de dilution recherché. (Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA.)

Dénombrement des coliformes totaux et recherche d'*E. coli* (Dénombrement en milieu liquide (AFNOR, 1974))

Les essais sont effectués en triple et les résultats analysés par la méthode de Mac Grady. Le vert brillant inhibe les germes Gram(+), et la bile, par son fort pouvoir tensioactif lié à la présence de sels biliaires, inhibe la plupart des germes qui ne sont pas d'origine intestinale.

Après ensemencement, les milieux sont incubés à 37°C pendant 24 h puis 48 h. Sont considérés comme positifs les tubes dans lesquels il y a croissance et une production notable de gaz (1/10 au moins du volume de la cloche).

La numération des coliformes fécaux (ou *E. coli* présumptifs) est effectuée avec le même milieu mais après 48 heures d'incubation à 44,5°C.

***Test confirmatif (Test de Mac KENZIE) Identification des Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli* présumptifs):**

Quelques fois les milieux de culture sont utilisés à double concentration dans le but de préserver une composition finale adéquate au milieu après addition d'un volume d'inoculum égal au volume du milieu. Ceci permet la numération d'un nombre peu élevé de coliformes

✓ **Coloration Gram :**

Faire une coloration de Gram à partir des colonies suspectes développées sur la gélose SS (bâtonnet Gram négatif).

1. Fixation des colonies : On prend une colonie suspecte cultivée sur gélose SS, à l'aide d'une anse de platine stérile, on l'étale sur la lame puis on fait sécher jusqu'à la fixation.
2. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
3. Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.
4. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone) : verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.
5. Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Laisser agir 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.
6. Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x 1000).

Les étapes 2 et 3 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne.

L'étape 4 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatives ». En effet, celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycane –donc plus fine- qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites « Gram positifs » la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une couche de peptidoglycane plus importante donc de ce fait ; plus épaisse. Elles resteront alors violettes.

L'étape 5 est une contre coloration ayant pour but de redonner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que violet imprégnant leur cytoplasme.

Ces différences de coloration et les différences de formes (bacille ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries.

Tableau 24 : Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (Eau).

Nombre de tubes positifs	Nombre de germes/100ml	Nombre caractéristique	Nombre de germes/100ml
001	3	300	23
010	3	301	39
100	4	302	64
101	7	310	43
110	7	311	75
111	11	312	120
120	11	320	93
200	9	321	150
201	14	322	210
210	15	330	240
211	20	331	460
220	21	332	1100
221	28	333	>2400

Tableau 25 : Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (bivalves).

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

NB : Le nombre de germes pris du tableau sera multiplier par 10, la chair et de liquide intervalvaire ont été dilués à 1/10.

Tableau 26 : Normes de la qualité requise des eaux de baignades (directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991. J.Off.Comm.Europ et par le décret exécutif N° :93-164 du 10 juillet 1993. JORA N° 46.

Paramètres bactériologiques	Norme guide	Nombre impératif
Coliformes totaux/100ml	500	10000
Coliformes thermotolérants/100ml	100	2000
Streptocoques fécaux/100ml	100	-
Salmonelle	absence	absence

La directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret n° 91-980 du 20 septembre 1991, a établi les normes de qualité des eaux de baignade et les a classées en quatre catégories :

- Catégorie A : bonne qualité, respect des valeurs guides et impératives de la directive.
- Catégorie B : qualité moyenne, respect des normes impératives.
- Catégorie C : pouvant momentanément être polluée (entre 5 et 33 % d'échantillons non conformes aux valeurs impératives).
- Catégorie D : mauvaise qualité, trop fréquemment polluée (plus de 33 % d'échantillons non conformes aux normes impératives).

Ce classement attribué en fin de saison, partage d'une part, les eaux conformes (A et B) et d'autre part les eaux non conformes (C et D).

Tableau 27 : Normes de la qualité des eaux conchylicoles (Communauté Européenne, 1991).

Paramètres	Zone A	Zone B	Zone C
Coliformes fécaux (nombre/100g de chair et de liquide intervalvaire)	> 300 et < 1 000 pour 90 % des échantillons	> 6000 et < 60 000 pour 90 % des échantillons	> 60 000 pour 90 % des échantillons
Escherichia coli (nombre/100g de chair et de liquide humide)	> 230 et <1000 pour 90 % des échantillons	> 4 600 et < 46 000 pour 90 % des échantillons	> 46 000 pour 90 % des échantillons

Les eaux conchylicoles sont, comme les eaux de baignade, classées en catégories de qualité. Il existe ainsi quatre zones :

- Zone A : zone où il est possible de récolter les coquillages pour une consommation humaine directe.
- Zone B : zone où les coquillages doivent faire l'objet d'une purification et/ou d'un reparcage d'une durée adaptée dans une zone de qualité A, avant d'être acceptés pour la consommation humaine.
- Zone C : comme la zone B, mais la purification doit être plus poussée ou le reparcage de beaucoup plus longue durée.
- Zone D : zone où il est impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.

Tableau 28 : Critères microbiologiques pour les coquillages bivalves (arrêté européen du 23 mars 1993).

Paramètres bactériologiques	Valeur guide
Coliformes thermotolérants	< 2.3.10 ² /100ml de chair et de liquide intervalvaire
Stréptocoques fécaux	<2.5.10 ³ /100ml de chair et de liquide intervalvaire
Salmonelle dans 25 g	Absence
Autre germes pathogènes et toxines	Absence

Tableau 29 : Principale industrie déversant dans le Golfe d'Annaba (DEWA, 2002).

Unité industrielle	Lieu d'implantation	Nature des effluents liquides
FERTIAL (ex ASMIDAL)	El6Bouni	Eaux de process (Chargées de résidus chimique) Eaux de refroidissement
EN-FERPHOS	Port	Eaux usées domestiques
SONALGAZ	Port	Eaux refroidissement
ENCG	Port	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
ONAB N° 1	Port	Eaux usées domestiques
ENTPL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
Carreaux-Granito	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques (ponsage)
ORLAIT	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées industrielles (lactosérum)
ENCC	Z.I. Pont Bouchet	Eaux de refroidissement
FERROVIAL	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
HYDRO-CANAL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques

14 EN SIDER	Sidi Amar	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
PROSIDER (Chaiba)	Sidi Amar	Eaux usées industrielles
ERWA	Z.I. Meboudja	Eaux de lavages
SNLB	Annaba	Eaux usées domestiques
EMIB	Annaba	Eaux usées industrielles (germe et levure)
SARL PROCOMAC (Carrelage)	Z.I. Meboudja	Eaux usées industrielles (ponçage)
SARL CHOCOTRK	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées industrielles Eaux de lavages
SAEL BELKIRI (Confiserie)	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
CONSERVERIE DE TOMATE	Annaba	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles

Tableau 30: Représentations des rejets domestiques de la wilaya D' Annaba et de leurs milieux récepteurs (DEWA, 2002).

Agglomération W.A	Milieux récepteurs
Sidi Amar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Hadjar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Bouni	Une partie des rejets se déversent vers l'Oued Seybouse et l'autre partie vers la mer en passant par Oued Boudjema.
Annaba Ville	Les rejets passent par le réseau principal, se déversent vers la mer en passant par la station de pompage Sidi Brahim.

Tableau 31 : Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d' Annaba DHWA (2008).

N°	Station de pompage	Localisation	Nature de rejets
-----------	---------------------------	---------------------	-------------------------

1	Cap de garde	Annaba	Eaux usées
2	Ain achir	Annaba	Eaux usées
3	Belvédère	Annaba	Eaux usées
4	Refed zahouane	Annaba	Eaux usées
5	La caroube	Annaba	Eaux usées
6	Rizi amor (SP4)	Annaba	Eaux usées
7	Levée de l'aurore (cité enasr)	Annaba	Eaux usées
8	Ancien gare (SP2)	Annaba	Eaux usées+pluviales
9	Sid Brahim (SP1)	Annaba	Eaux usées+pluviales
10	Bouzerad hocine (SP7)	Annaba	Eaux usées
11	Eliza (SP3)	Annaba	Eaux usées+pluviales
12	Plaine Ouest 1(SF1)	Annaba	Eaux usées
13	Plaine Ouest 2(SF2)	Annaba	Eaux usées
14	Cité Rym	Annaba	Eaux usées
15	El Bouni	El Bouni	Eaux usées
16	Allalik	El Bouni	Eaux usées
17	Gharbi issa	El Bouni	Eaux usées
18	Sidi Salem 2	El Bouni	Eaux usées
19	Boukhamir	El Bouni	Eaux usées
20	Boukhadra 5	El Bouni	Eaux usées
21	El Hadjar 4	El Hadjar	Eaux usées
22	Chetaibi	Chetaibi	Eaux usées
23	Oued el aneb	Oued el aneb	Eaux usées

SP : Station de pompage.

SF : Station de forage.

Tableau 32 : protocole pour l'histologie ; d'hydratation et inclusion des tissus gonadiques

Réactif	Durée d'immersion
Ethanol 80°	1 Heure
Ethanol 95°	2 Heures
Ethanol 95°	2 Heures
Ethanol 100°	2 Heures
Ethanol 100°	2 Heures
Ethanol 100°	1 Heure
xylène	1 Heure
Xylène	2 Heures
Xylène	2 Heures
Paraffine liquide (à 60°)	2 Heures
Paraffine liquide (à 60°)	2 Heures
Inclusion en bloc	Inclusion en bloc

Tableau 33 : Protocole pour l'histologie, d'hydratation et inclusion des tissus gonadiques.

Réactif	Durée d'immersion
Xylène	50 minutes
Xylène	5 Minutes
Xylène	5 Minutes
Ethanol 100°	5 Minutes
Ethanol 100°	5 Minutes
Ethanol 100°	5 Minutes
Ethanol 95°	3 Minutes

Ethanol 95°	3 Minutes
Ethanol 70°	3 Minutes
Ethanol 70°	3 Minutes
Eau distillée	2 Minutes
Hématoxyline	8 Minutes
Eau distillée	2 Minutes
Alcool acide	5 Secondes
Eau courante	5 Minutes
Eau distillée	3 Minutes
Ethanol 95°	3 Minutes
Eosine	3 Minutes
Ethanol 95°	5 secondes
Ethanol 95°	5 Secondes
Ethanol 95°	5 Secondes
Ethanol 95°	5 Secondes
Ethanol 95°	5 Secondes
Ethanol 95°	5 Secondes
Ethanol 95°	3 Minutes
Ethanol 100°	1 Minute 30 secondes
Ethanol 100°	3 Minutes
Xylène	5 Minutes
Xylène	5 Minutes
xylène	5 Minutes

Annexe 3 : milieux de culture et réactifs

○ **Milieux de culture.**

❖ **Bouillon Lactosé bilié au vert brillant / cloche (BLBVB).**

Usage :

Milieu de dénombrement des [coliformes](#) totaux (48 h à une température de 37°C).

Composition :

-Peptone 10,0g

-[Lactose](#) 10,0g

-[Bile](#) ddéshydratée 20,0ml

-[Vert brillant](#) 13,0 mg

([pH](#) = 7,4)

Préparation :

40 g par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

Lecture

La [cloche](#) de Durham permet le recueil des [gaz](#) signant la présence de [coliformes](#), à condition que le milieu ait été agité correctement pour que les bactéries soient bien réparties, y compris sous la cloche. Il est conseillé d'agiter légèrement le milieu plusieurs heures avant la lecture pour favoriser le dégagement de gaz sous la choche de Durham, qui, autrement, peut ne pas être observé pour les [dilutions](#) limites.

Si plusieurs essais sont effectués, on utilise la table [statistique](#) de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes le plus probable (NPP).

On peut déterminer la présence de coliformes thermotolérants ou fécaux en réalisant le test de Mackenzie : repiquage d'une anse de 9 microlitres de chaque tube positif BLBVB à 37 °C dans un nouveau tube BLBVB et un tube d'eau peptonée qui seront incubés à 44 °C). Les tubes positifs à 44 °C permettent de dénombrer les coliformes totaux en utilisant la table de Mac Grady. Si les tubes d'eau peptonée permettent de lire de surcroît la production d'indole, on peut conclure à la présence d'[Escherichia coli](#) et réaliser de même son dénombrement.

❖ **Eau peptonée exempte d'indole (Tryptone water).**

Usage :

Recherche de l'[indole](#).

Composition :

-[Peptone](#) exempte d'indole 10,0 g

-[Chlorure de sodium](#) 5,0 g

(pH=7,2)

Préparation :

15 grammes par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

Lecture :

L'addition de [réactif](#) de Kovacs montre la production d'indole par un anneau rouge.

❖ [Eau peptonée tamponnée.](#)

Usage :

Utilisée pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sublétaux.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Peptone : 10,0.

Sodium chlorure : 5,0.

Phosphate disodique hydraté (9100181) : 9,0.

Phosphate monopotassique : 1,5.

Phosphate disodique anhydre (9101311) : 3,56.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

❖ **Gélose nutritive.**

Usage :

Milieu d'isolement courant surtout utilisé pour la recherche de [FMAR \(Flore Mésophile Aérobie Revivifiable\)](#)

Composition :

-Extrait de viande 1,0g

-Extrait de [levure](#) 2,0g

-[Chlorure de sodium](#) 5,0g

-Agar 15.0g

([pH](#) =7.4)

Préparation :

28 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'[autoclave](#).

Ensemencement :

Pour ensemercer il s'agit de faire un dégradé sur toute la gélose afin d'isoler plusieurs colonies. Pour cela, avec une anse de platine, prélever une petite goutte de suspension bactérienne puis faire des stries serrées sur la moitié de la boîte de Pétri. Ensuite tourner d'un quart de tour la boîte, stériliser à la flamme l'anse et recommencer les stries. Ensuite tourner encore la boîte d'un quart de tour et refaire encore les stries (après stérilisation de l'anse). De cette manière toute la boîte doit avoir étéensemencée... attention à ne pas brûler la gélose lorsque l'anse est encore très chaude.

Examen macroscopique

- Taille des colonies
- Contour
- Relief
- Surface
- Consistance
- Transparence
- Pigmentation
- Type des colonies
- Exigence

❖ **Gélose Salmonella-Shigella (Gélose SS).**

Usage:

Isolement des [Salmonella](#) et des [Shigella](#) mais aussi des [Pseudomonas](#) ou des [Yersinia enterocolitica](#).

Composition :

-Peptone 5.0g

-Extrait de viande 5.0g

-[Lactose](#) 10.0g

-Citrate de [sodium](#) 10.0g

-Citrate de [fer](#) ammoniacal 1.0g

-Sels biliaires 8.5g

-Vert brillant 3.3g

-Rouge neutre 25ml

-Thiosulfate de sodium 8.5g

-[Agar](#) 12.0g

(pH = 7,3)

Préparation :

63 g de poudre dissous par ébullition. Se reporter à la notice en raison de variations de la composition (Formule moins inhibitrice des Shigella à 5,5 g de sels biliaires par exemple).

Ne pas autoclaver.

Lecture :

Lac - : colonies incolores

Lac + : colonies rouges

Centre noir : H₂S +

Pas de centre noir : H₂S -

Ne cultivent normalement sur ce milieu que les Gram - cultivant facilement.

Toutefois on peut rencontrer des Enterococcus tout particulièrement pour certaines compositions.

Les coliformes, comme les bacilles oxydase + ne sont pas inhibés contrairement aux affirmations parfois rencontrées.

❖ **Litsky (Bouillon glucosé à l'azide de sodium de l'éthyl violet- bouillon EVA)**

Usage :

Milieu de confirmation d'*Enterococcus*.

Composition :

-[Peptone](#) 20,0g

-[Glucose](#) 5,0g

-Azide de sodium 0,2g

-Ethyl-violet 0.5g

-[NaCl](#) 5,0g

-Hydrogénophosphate de potassium 2,7g

-Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g

(pH = 6,8)

Préparation :

35.7g par litre d'eau distillée. Autoclave classique.

Lecture :

Il sert au dénombrement des Streptocoques fécaux. C'est un test confirmatif qui se fait suite au test présomptif au milieu de Rothe La lecture des tube se fait grâce au trouble formé et à l'éventuelle formation d'une pastille violette.

❖ **Rothe (Bouillon Glucosé à l'azide de sodium).**

Usage :

Milieu d'enrichissement en [Enterococcus](#).

Composition :

-Peptone 20.0g

-[Glucose](#) 5.0g

-Azide de sodium 5.0g

-[NaCl](#). 5.0g

-Hydrogénophosphate de potassium 2.7g

-Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g

(pH = 6.8)

Préparation :

36,2 g par litre d'eau distillée (simple concentration) ou 72,4 (double concentration).

Autoclavage classique.

Lecture :

Ce milieu permet l'enrichissement en Entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de Litsky, l'isolement et l'isolement des colonies.

❖ Bouillon au Sélénite (Milieu d'enrichissement pour *Salmonelle-Shigella*).

Usage

Sélénite cystéine, gélose pour l'enrichissement de *salmonella* qui a été pré enrichie avec de l'eau peptonée tamponnée (EPT).

Composition

Peptone pancréatique de caséine 5.0g

Lactose 4.0g

Monohydrogéo-phosphate de sodium 10.0g

Monohydrogéo- sélénitède sodium 4.0g

Eau distillée 1000ml

❖ Triple sugar iron (TSI).

Usage :

Milieu utilisé pour l'identification des [entérobactéries](#). Il permet de voir si la [bactérie](#) est capable de réduire le sulfate. (Idem que [Hajna Kligler](#)).

Composition :

- Peptones de caséine 15 g/l
- Peptones de viande 5 g/l
- Extraits de viande 3 g/l

Mode d'action :

La dégradation de [sucre](#) est accompagnée d'une production d'[acide](#). Celle-ci est détectée par l'indicateur de pH, le rouge de phénol, qui en milieu basique est rouge et en milieu acide est jaune orange. Le [thiosulfate](#) est réduit en sulfures d'hydrogène par certaines bactéries. Le H₂S réagit avec un sel de [Fer](#) pour donner un précipité noir.

Lecture :

Le milieu de départ est translucide et rouge.

- Rouge : pas de fermentation, la bactérie est aérobie - Jaune : une fermentation s'est produite ; de l'acide a été produit, la bactérie est anaérobie facultative.

- Gaz formé : du à une fermentation - Couleur noire : H₂S a été produit.

❖ **Gélose Hektoen :**

Milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des produits alimentaires.

Ce milieu est particulièrement adapté à la culture des Salmonella et Shigella.

Il évite l'envahissement par les Proteus.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Peptone pepsique de viande : 12,0.

Extrait autolytique de levure : 3,0.

Lactose : 12,0.

Saccharose : 12,0.

Sels biliaires : 9,0.

Salicine : 2,0.

Sodium chlorure : 5,0.

Sodium thiosulfate : 5,0.

Citrate ferrique ammoniacal : 1,50.

Bleu de bromothymol : 0,065.
Fuschine basique : 0,040.
Agar agar : 13,5.
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $7,6 \pm 0,2$.

Incubation à 37°C pendant 24 et 48 heures
Stockage :
Mil. déshydraté : 2-30°C
Mil. préparé en boîtes : 8 jours à 2-8°C
Mil. prêt à l'emploi : 2-8°C

Marque : **BIOKAR**

❖ **Bouillon Rappaport Vassiliadis soja (RVS) :**

Utilisé pour l'enrichissement sélectif des Salmonella dans les produits alimentaires, l'eau et les autres prélèvements susceptibles d'en contenir.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Peptone papainique de soja : 4,50.
Chlorure de sodium : 7,20.
Phosphate monopotassique : 1,26.
Phosphate dipotassique : 0,18.
Chlorure de magnésium anhydre : 13,40.
Vert de Malachite (oxalate) : 36 mg.
pH du milieu reconstitué à 25°C : $5,2 \pm 0,2$.

Incubation 24 heures à 41,5°C
Stockage :
Mil. déshydraté : 2-30°C
Mil. préparé : 6 mois à 2-8°C
Mil. prêt à l'emploi : 2-8°C

Marque : **BIOKAR**

❖ **Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol (BCP)**

Utilisé comme milieu présomptif de détection des bactéries coliformes dans l'eau.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :
Tryptone : 5,0.

Extrait de viande : 3,0.
Lactose : 5,0.
Pourpre de bromocrésol : 0,025.
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 6,7 ± 0,2.

Incubation à 30°C pendant 24 et 48 heures
Stockage :
Mil. déshydraté : 2-30°C
Mil. préparé (tubes ou flacons) : 6 mois à 2-8°C

Marque : **BIOKAR**

○ **Réactifs :**

❖ **Réactifs pour l'API 20 E :**

Kovacs :

-Alcool amylique ou isomylique 150ml
-P.diméthylaminobenzaldéhyde 10.0g
-Acide chlorhydrique concentré 50ml
Conserver à +4°C.

API NaCl 0.85% Medium, 5ml (Réf. 20 230) ou

API Suspension Medium, 5ml (Réf. 20 150)

API 20 E coffret de réactifs (Réf. 20 120) ou réactifs individuels :

TDA (Réf. 70 402)

JAMES (Réf. 70 542)

VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422)

NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)

Réactif Zn (Réf. 70 380)

Oxydase (Réf. 55 635)

Huile de paraffine (Réf. 70 100)

API OF Medium

Réactifs pour les biomarqueurs :

Tampon d'homogénéisation TBS (Tris Buffer Saline) pH 7.4 :

NaCl à 0.15 mol/L masse molaire = 58.44 g/mol.

Masse à peser : 4.383g

TRIS à 0.05 mol/L masse molaire = 121.1 g/mol.

Masse à peser : 3.027g

Le volume final est de 500 ml d'eau distillée, le pH est ajusté en ajoutant de l'acide chlorhydrique à 37% ou de la soude à 5mol/l.

COCKTAIL INHIBITEUR PROTEASE Sigma P8340 (à conserver à -20°C)

C'est un mélange inhibiteur de protéase à large spectre (sérine, cystéine, acide aspartique, aminopeptidase) ne contenant pas de chélateur métallique.

Il se présente en flacon de 5ml et est aliquoté en eppendorf de 50µl puis congelé à -20°C jusqu'à utilisation.

Solution de DTT (Dithiothreitol) :

A conserver à -20°C à l'abri de la lumière, à 100mM.

DTNB (acide 5-5'- dithio-bis-2-nitrobenzoïque à 0.01M) :

10mM (à préparer extemporanément et à préserver de la lumière)

PM = 396.3 g/mol

Masse à peser : 0.08g (sur une balance de précision) dans 20ml de méthanol à 85%

SAA (acide sulfo-salicylique 0.25%) :

Il sert à déprotéiniser l'homogénat afin de protéger les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Masse à peser : 0.25g de SAA dans 100ml d'eau distillée.

Tampon Tris-EDTA (0.02M) :

4 comprimés Tris dans 60ml d'eau distillée + 0.45g EDTA.

CDNB (chloro-2,4-dinitrobenzène) :

C'est substrat modèle spécifique des différentes isoenzymes de GST.

Masse à peser : 0.041g CDNB dans 10ml d'éthanol à 80%.

GSH : Masse à peser : 0.31g GSH dans 10ml d'eau distillée.

BBC (le Bleu Brillant de Coomassie (G 250, Merck) :

0.05g BBC dans 25ml d'éthanol puis agité 2h.

Ajouter 50ml d'acide orthophosphorique à 85%.

Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 500ml.

Solution d'albumine de bœuf (BSA la poudre est conservée au frigo) :

1mg/ml (la solution se conserve au frigo)

Masse à peser : 10mg dans 10ml de TBS pH 7.4.

Tableau 34 : ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour l'eau

	VARIABLE	n	moyenne	ecart type	Xmin	Xmax
site 1	coli tot	12	420	926	0	2400
	E.coli	12	1.417	1.782	0	4
	Str tot	12	15.17	9.3	3	23
	Str F	12	9	8.45	0	23
	temp	12	19.17	6.6	12	28
	S%	12	38.101	1.708	35.6	40.4
	pH	12	8.149	0.376	7.57	8.66
	O2	12	6.778	1.838	5.04	10.2
	Chlr a	12	66.2	80	0	202.9
	MES	12	0.1443	0.1031	0.02	0.244
site2	coli tot	12	1407	1099	11	2400
	E.coli	12	339	726	0	2400
	Str tot	12	619	657	23	2400
	Str F	12	673	863	9	2400
	temp	12	20.29	5.43	13	29
	S%	12	36.958	2.147	32	40.9
	pH	12	8.17	0.347	7.57	8.7
	O2	12	6.95	1.849	4.3	10.51

	Chlr a	12	26.3	50.8	0	176.2
	MES	12	0.1397	0.0691	0.012	0.222
Site3	coli tot	12	236	684	3	2400
	E.coli	12	9.75	21.11	0	75
	Str tot	12	65.1	129.5	0	460
	Str F	12	64	130.1	0	460
	temp	12	18.06	5.9	12	28
	S%	12	37.5	1.768	36.2	41.4
	pH	12	8.132	0.385	7.21	8.66
	O2	12	8.03	2.871	4	15.28
	Chlr a	12	36.9	58.4	0	200.3
	MES	12	0.1991	0.0712	0.04	0.294
site4	coli tot	12	209	690	0	2400
	E.coli	12	1.583	2.778	0	9
	Str tot	12	220	687	0	2400
	Str F	12	23.67	23.35	0	93
	temp	12	16.75	6.69	7	26
	S%	12	37.458	1.482	36	39.8
	pH	12	8.158	0.388	7.53	8.6
	O2	12	6.708	3.009	0.6	11.7
	Chlr a	12	18.69	24.26	0	72.09
	MES	12	0.1464	0.0962	0.024	0.275

Tableau 35 : ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour les bivalves

	VARIABLE	n	moyenne	ecart type	Xmin	Xmax
site 1	coli tot	12	128333	40415	0	140000
	E.coli	12	17558	39944	0	140000
	Str tot	12	122917	33606	25000	140000
	Str F	12	120417	33334	25000	140000
	temp	12	19.17	6.6	12	28
	S%	12	38.101	1.708	35.6	40.4
	pH	12	8.149	0.376	7.57	8.66
	O2	12	6.778	1.838	5.04	10.2
	Chlr a	12	66.2	80	0	202.9
	MES	12	0.1443	0.1031	0.02	0.244
site2	coli tot	12	100125	54662	6500	140000
	E.coli	12	14242	31324	0	110000
	Str tot	12	105667	56800	6500	140000
	Str F	12	110000	49352	20000	140000
	temp	12	20.29	5.43	13	29
	S%	12	36.958	2.147	32	40.9
	pH	12	8.17	0.347	7.57	8.7
	O2	12	6.95	1.849	4.3	10.51

	Chlr a	12	26.3	50.8	0	176.2
	MES	12	0.1397	0.0691	0.012	0.222
Site3	coli tot	12	97042	63602	2000	140000
	E.coli	12	11975	32029	0	110000
	Str tot	12	97917	52590	20000	140000
	Str F	12	68433	64312	1100	140000
	temp	12	18.06	5.9	12	28
	S%	12	37.5	1.768	36.2	41.4
	pH	12	8.132	0.385	7.21	8.66
	O2	12	8.03	2.871	4	15.28
	Chlr a	12	36.9	58.4	0	200.3
	MES	12	0.1991	0.0712	0.04	0.294
site4	coli tot	12	50000	56246	1500	140000
	E.coli	12	11708	31249	0	110000
	Str tot	12	77250	56824	2000	140000
	Str F	12	86250	52185	25000	140000
	temp	12	16.75	6.69	7	26
	S%	12	37.458	1.482	36	39.8
	pH	12	8.158	0.388	7.53	8.6
	O2	12	6.708	3.009	0.6	11.7
	Chlr a	12	18.69	24.26	0	72.09
	MES	12	0.1464	0.0962	0.024	0.275

Tableau 36 : ANALYSE STATISTIQUE UNIVARIE : description des données pour les biomarqueurs.

	VARIABLE	n	moyenne	écart type	X min - X max	
site 1	GSH G	12	0.000179	0.000269	0.00002	0.000893
	GSH BR	12	0.000117	0.000136	0.000014	0.000472
	GST G	12	0.002004	0.002188	0.0000566	0.00781
	GST BR	12	0.002059	0.001283	0.00007	0.004457
	temp	12	19.17	6.6	12	28
	S%	12	38.101	1.708	35.6	40.4
	pH	12	8.149	0.376	7.57	8.66
	O2	12	6.778	1.838	5.04	10.2
	Chlr a	12	66.2	80	0	202.9
	MES	12	0.1443	0.1031	0.02	0.244
site2	GSH G	12	0.000126	0.000156	0.000007	0.000595
	GSH BR	12	0.000177	0.000142	0.0000015	0.000456
	GST G	12	0.001568	0.001815	0.0000739	0.005771
	GST BR	12	0.001815	0.001791	0.000223	0.006162
	temp	12	20.29	5.43	13	29
	S%	12	36.958	2.147	32	40.9
	pH	12	8.17	0.347	7.57	8.7

	O2	12	6.95	1.849	4.3	10.51
	Chlr a	12	26.3	50.8	0	176.2
	MES	12	0.1397	0.0691	0.012	0.222
Site3	GSH G	12	0.000124	0.000131	0.000011	0.000499
	GSH BR	12	0.000107	0.0000621	0.000014	0.00019
	GST G	12	0.001863	0.001313	0.000407	0.005026
	GST BR	12	0.001878	0.001261	0.000159	0.004643
	temp	12	18.06	5.9	12	28
	S%	12	37.5	1.768	36.2	41.4
	pH	12	8.132	0.385	7.21	8.66
	O2	12	8.03	2.871	4	15.28
	Chlr a	12	36.9	58.4	0	200.3
	MES	12	0.1991	0.0712	0.04	0.294
site4	GSH G	12	0.000102	0.000088	0.000027	0.000319
	GSH BR	12	0.000136	0.000119	0.000045	0.000462
	GST G	12	0.00301	0.00575	0.0000309	0.02096
	GST BR	12	0.00877	0.02368	0.000042	0.08368
	temp	12	16.75	6.69	7	26
	S%	12	37.458	1.482	36	39.8
	pH	12	8.158	0.388	7.53	8.6
	O2	12	6.708	3.009	0.6	11.7
	Chlr a	12	18.69	24.26	0	72.09
	MES	12	0.1464	0.0962	0.024	0.275

Tableau 37 : ANOVA pour l'analyse bactériologique : par saison
SITE 1 CG

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
coli tot E	saison	3	1801867.667	600622.556	0.630	0.61 NS
ecoli E	saison	3	11.583	3.861	1.324	0.332 NS
str tot E	saison	3	95.000	31.667	0.296	0.827 NS
sf E	saison	3	414.000	138.000	2.968	0.097 NS
coli tot B	saison	3	4900000000.000	1633333333.333	1.000	0.441 NS
ecoli B	saison	3	5717289166.667	1905763055.556	1.288	0.342 NS
str totB	saison	3	2406250000.000	802083333.333	0.641	0.609 NS
sf B	saison	3	2206250000.000	735416666.667	0.587	0.64 NS
temp	saison	3	227.667	75.889	2.409	0.142 NS
S%	saison	3	2.393	0.798	0.215	0.883 NS
pH	saison	3	0.446	0.149	1.072	0.413 NS
O2	saison	3	14.136	4.712	1.636	0.256 NS
Chlr	saison	3	30226.353	10075.451	2.009	0.191 NS
MES	saison	3	0.061	0.020	2.866	0.103 NS

SITE 2 SS

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
-----------	-----------	-----	-----	----	------	---

coli tot E	saison	3	5215068.917	1738356.306	1.724	0.238 NS
ecoli E	saison	3	1477012.667	492337.556	0.910	0.478NS
str tot E	saison	3	1159844.250	386614.750	0.861	0.499NS
sf E	saison	3	2283320.917	761106.972	1.030	0.429NS
coli tot B	saison	3	19327229166.667	6442409722.222	3.806	0.057NS
ecoli B	saison	3	4802082500.000	1600694166.667	2.137	0.173NS
str totB	saison	3	18149500000.000	6049833333.333	2.791	0.109NS
sf B	saison	3	15730666666.667	5243555555.556	3.792	0.058NS
temp	saison	3	282.729	94.243	18.167	0.001 ***
S%	saison	3	11.416	3.805	0.775	0.539NS
pH	saison	3	0.544	0.181	1.856	0.215NS
O2	saison	3	4.427	1.476	0.356	0.786NS
Chlr	saison	3	12292.600	4097.533	2.030	0.188NS
MES	saison	3	0.033	0.011	4.463	0.040NS

SITE3 StC

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
coli tot E	saison	3	1382053.667	460684.556	0.980	0.448NS
ecoli E	saison	3	1356.917	452.306	1.020	0.433NS
str tot E	saison	3	42118.917	14039.639	0.789	0.533NS
sf E	saison	3	43444.667	14481.556	0.812	0.522NS
coli tot B	saison	3	31705062500.000	10568354166.667	6.609	0.014 *
ecoli B	saison	3	4815435833.333	1605145277.778	1.985	0.194NS
str totB	saison	3	16989583333.333	5663194444.444	3.373	0.075NS
sf B	saison	3	24323160000.000	8107720000.000	3.063	0.091NS
temp	saison	3	268.389	89.463	6.231	0.017 *
S%	saison	3	5.147	1.716	0.469	0.711NS
pH	saison	3	0.692	0.231	1.975	0.196NS
O2	saison	3	14.739	4.913	0.518	0.681NS
Chlr	saison	3	5311.031	1770.344	0.440	0.730NS
MES	saison	3	0.022	0.007	1.791	0.226NS

SITE4 H

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
coli tot E	saison	3	1472966.917	490988.972	1.042	0.424NS
ecoli E	saison	3	50.250	16.750	3.865	0.056NS
str tot E	saison	3	1396368.667	465456.222	0.982	0.448NS
sf E	saison	3	2315.333	771.778	1.676	0.248NS
coli tot B	saison	3	13155166666.667	4385055555.556	1.621	0.259NS
ecoli B	saison	3	3040395833.333	1013465277.778	1.053	0.420NS
str totB	saison	3	2495583333.333	831861111.111	0.202	0.892NS
sf B	saison	3	4889583333.333	1629861111.111	0.520	0.680NS
temp	saison	3	380.250	126.750	9.054	0.005**
S%	saison	3	4.309	1.436	0.579	0.645NS

pH	saison	3	1.042	0.347	4.519	0.039NS
O2	saison	3	4.825	1.608	0.136	0.935NS
Chlr	saison	3	2400.063	800.021	1.571	0.270NS
MES	saison	3	0.023	0.008	0.760	0.547NS

Tableau 38 : ANOVA pour l'analyse bactériologique de l'eau : par site

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
coli tot E	sites	3	11584880	3861627	5.13	0.004 **
ecoli E	sites	3	1009063	336354	2.55	0.068 NS
str tot E	sites	3	2699518	899839	3.91	0.015 *
sf E	sites	3	3719640	1239880	6.5	0.001 ***
temp	sites	3	82.73	27.58	0.72	0.544 NS
S%	sites	3	7.873	2.624	0.82	0.491 NS
pH	sites	3	0.0094	0.0031	0.02	0.995 NS
O2	sites	3	13.725	4.575	0.76	0.523 NS
Chlr	sites	3	15636	5212	1.61	0.201 NS
MES	sites	3	0.028146	0.009382	1.26	0.299 NS

Tableau 39 : ANOVA pour l'analyse bactériologique des bivalves : par site

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
coli tot B	sites	3	37937791667	12645930556	4.28	0.010 *
ecoli B	sites	3	264069167	88023056	0.08	0.972 NS
str tot B	sites	3	12908062500	4302687500	1.66	0.189 NS
sf B	sites	3	19762256667	6587418889	2.53	0.069 NS
temp	sites	3	82.73	27.58	0.72	0.544 NS
S%	sites	3	7.873	2.624	0.82	0.491 NS
pH	sites	3	0.0094	0.0031	0.02	0.995 NS
O2	sites	3	13.725	4.575	0.76	0.523 NS
Chlr	sites	3	15636	5212	1.61	0.201 NS
MES	sites	3	0.028146	0.009382	1.26	0.299 NS

Tableau 40 : ANOVA : biomarqueurs par sites

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
GSH G	sites	3	0.000	0.000	0.416	0.742 NS
GSH BR	sites	3	0.000	0.000	0.806	0.497 NS
GST G	sites	3	0.000	0.000	0.436	0.728 NS
GST BR	sites	3	0.000	0.000	0.996	0.403 NS
temp	sites	3	82.73	27.58	0.72	0.544 NS
S%	sites	3	7.873	2.624	0.82	0.491 NS
pH	sites	3	0.0094	0.0031	0.02	0.995 NS
O2	sites	3	13.725	4.575	0.76	0.523 NS

Chlr	sites	3	15636	5212	1.61	0.201 NS
MES	sites	3	0.028146	0.009382	1.26	0.299 NS

Tableau 41 : ANOVA : biomarqueurs par saison :

Variables	variation	ddl	CM	Fobs	P
GSH G	saison	3	0.0000002	2.13	0.110 NS
GSH BR	saison	3	0.0000001	1.36	0.268 NS
GST G	saison	3	0.0000810	2.94	0.043*
GST BR	saison	3	0.0005676	1.37	0.266 NS

Results for: relative croissance.MTW

Tableau 42 :AV2 pour les paramètres pondéraux et linéaires

sources	paramètres	CM	Fobs	P
Sites	Lt	461.40	236.05	0.000***
mois	Lt	183.354	7.56	0.000***
Sites	La	53.088	209.86	0.000***
mois	La	26.3831	8.64	0.000***
Sites	Ep	42.300	127.63	0.000***
mois	Ep	36.2927	9.72	0.000***
Sites	Wt	13726	131.26	0.000***
mois	Wt	14615.3	12.69	0.000***

Tableau 43: AV2 pour IC

sources	DDL	CM	Fobs	P
Sites	1	0.050	0.04	0.838 NS
mois	11	17.9587	2.53	0.063 NS
Interaction				

Tableau 44 : AV2 pour SR

sources	DDL	CM	Fobs	P
Sites	1	0.0005	0.00	0.958 NS
mois	11	1.5874	0.72	0.702 NS
Interaction				

Tableau 45 : Corrélation pour les paramètres bactériologiques de l'eau :

Corrélations positives			Corrélations négatives		
	hautement	très hautement		hautement	très hautement
significative	significative	significative	significative	significative	significative
E.coli & str tot	coli tot et temp	Coli tot & str tot	str tot et S%	Str f et S%	pH et MES
E.coli & str	Coli tot &	Coli tot & str	pH et O2	temp et O2	

F	E.coli	F			
		Str tot et str F		S% et pH	

Corrélations : Coli tot1_1; E.coli1_1; Str tot1_1; Str F1_1; Temp_1; S%_1; ... Eau

	Coli tot1_1	E.coli1_1	Str tot1_1	Str F1_1	Temp_1
E.coli1_1	0.422 (0.003)**				
Str tot1_1	0.591 (0.000)***	0.363 (0.011)*			
Str F1_1	0.473 (0.001)***	0.345 (0.016)*	0.697 (0.000)***		
Temp_1	0.377 (0.008)**	0.200 (0.174)	0.282 (0.052)	0.252 (0.084)	
S%_1	-0.096 (0.516)	-0.037 (0.803)	-0.309 (0.033)*	-0.372 (0.009)**	0.132 (0.370)
pH_1	0.088 (0.552)	0.072 (0.627)	-0.212 (0.148)	-0.127 (0.390)	0.090 (0.544)
O2_1	-0.062 (0.675)	-0.087 (0.555)	0.061 (0.681)	0.045 (0.760)	-0.433 (0.002)**
Chlr a_1	-0.028 (0.852)	-0.133 (0.368)	-0.209 (0.154)	-0.201 (0.170)	0.220 (0.132)
MES_1	-0.196 (0.181)	-0.212 (0.148)	0.044 (0.766)	-0.063 (0.673)	-0.058 (0.693)
	S%_1	pH_1	O2_1	Chlr a_1	
pH_1	-0.377 (0.008)**				
O2_1	0.179 (0.224)	-0.313 (0.030)*			
Chlr a_1	-0.055 (0.711)	0.029 (0.846)	-0.159 (0.281)		
MES_1	0.218 (0.136)	-0.594 (0.000)***	0.227 (0.120)	0.213 (0.147)	

Tableau 46 : Corrélation pour les paramètres bactériologiques des bivalves

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
*temp et E.coli	*Str F et temp	*Coli tot & str tot	*pH et O2	*E.coli et pH	*Str tot & O2
*MES et		*Coli tot & str		*temp et O2	*Str F & O2 pH & MES

E.coli *Coli tot & E.coli		F *Str tot & str F *Coli tot & temp			*S% et pH
---------------------------------	--	--	--	--	-----------

Correlations: Coli tot2; E.coli2; Str tot2; Str F2; Temp; S%; pH; O2; ... bivalve

E.coli2	Coli tot2	E.coli2	Str tot2	Str F2	Temp	S%
	0.297 (0.040)*					
Str tot2	0.491 (0.000)***	0.188 (0.200)				
Str F2	0.502 (0.000)***	0.232 (0.112)	0.724 (0.000)***			
Temp	0.531 (0.000)***	0.293 (0.043)*	0.272 (0.062)	0.412 (0.004)**		
S%	0.008 (0.957)	0.032 (0.830)	-0.201 (0.171)	-0.092 (0.532)	0.132 (0.370)	
pH	0.039 (0.793)	-0.407 (0.004)**	0.220 (0.132)	0.129 (0.381)	0.090 (0.544)	-0.377 (0.008)**
O2	-0.259 (0.075)	-0.147 (0.320)	-0.523 (0.000)***	-0.574 (0.000)***	-0.433 (0.002)**	0.179 (0.224)
Chlr a	0.201 (0.172)	0.258 (0.076)	0.180 (0.222)	0.182 (0.216)	0.220 (0.132)	-0.055 (0.711)
MES	-0.022 (0.883)	0.328 (0.023)*	-0.272 (0.061)	-0.201 (0.170)	-0.058 (0.693)	0.218 (0.136)
O2	pH -0.313 (0.030)*	O2	Chlr a			
Chlr a	0.029 (0.846)	-0.159 (0.281)				
MES	-0.594 (0.000)***	0.227 (0.120)	0.213 (0.147)			

Tableau 47 : Corrélation pour les biomarqueurs

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
		*GSH G & GSH Br *GST Br & GST G	GST G et O2 pH et O2	*GST Br et O2 *S% & pH temp et O2	pH & MES

Correlations: GSH G; GSH Br; GST G; GST Br; Temp; S%; pH; O2; Chlr a; MES

	GSH G	GSH Br	GST G	GST Br	Temp	S%	pH	O2	Chlr a
GSH Br	0.654 (0.000)***								
GST G	0.225 (0.125)	0.200 (0.172)							
GST Br	-0.008 (0.956)	0.040 (0.789)	0.899 (0.000)***						
Temp	0.244 (0.094)	0.146 (0.322)	0.216 (0.140)	-0.039 (0.794)					
S%	0.062 (0.674)	-0.067 (0.653)	-0.095 (0.519)	-0.112 (0.449)	0.132 (0.370)				
pH	-0.026 (0.863)	-0.015 (0.918)	-0.022 (0.880)	-0.050 (0.734)	0.090 (0.544)	-0.377 (0.008)**			
O2	0.065 (0.660)	0.037 (0.800)	-0.421 (0.003)*	-0.372 (0.009)**	-0.433 (0.002)**	0.179 (0.224)	-0.313 (0.030)*		
Chlr a	0.129 (0.382)	0.090 (0.545)	0.084 (0.570)	-0.052 (0.727)	0.220 (0.132)	-0.055 (0.711)	0.029 (0.846)	-0.159 (0.281)	
MES	0.195 (0.185)	0.131 (0.376)	0.243 (0.097)	0.211 (0.151)	-0.058 (0.693)	0.218 (0.136)	-0.594 (0.000)***	0.227 (0.120)	0.213 (0.147)

Tableau 48 : Corrélation pour les paramètres de croissance des bivalves

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
S% et O2			IC et pH		
temp et Chlr a			temp et O2	*S% & pH	*pH & MES

Correlations: IC; SR; Temp; S%; pH; O2; Chlr a; MES

	IC	SR	Temp	S%	pH	O2	Chlr a
SR	0.050 (0.815)						
Temp	0.210 (0.325)	-0.261 (0.217)					
S%	0.203 (0.341)	-0.026 (0.905)	0.085 (0.692)				
pH	-0.452 (0.027)*	-0.124 (0.563)	0.055 (0.797)	-0.563 (0.004)**			
O2	-0.230	-0.160	-0.435	0.412	-0.245		

	(0.279)	(0.454)	(0.034)*	(0.046)*	(0.249)		
Chlr a	0.268	-0.156	0.411	0.026	-0.243	-0.301	
	(0.206)	(0.466)	(0.046)*	(0.904)	(0.253)	(0.152)	
MES	0.396	0.164	-0.042	0.328	-0.719	0.231	0.274
	(0.056)	(0.443)	(0.845)	(0.117)	(0.000)***	(0.278)	(0.194)

Tableau 49 : Corrélations: Lt CG; La CG; Ep CG; Wt CG (Cap de Garde)

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
		Lt et La			
		Lt et Ep			
		Lt et Wt			
		La et Ep			
		La et Wt			
		Ep et Wt			

	Lt CG	La CG	Ep CG
La CG	0.902		
	(0.000)***		
Ep CG	0.916	0.810	
	(0.000)***	(0.000)***	
Wt CG	0.886	0.775	0.839
	(0.000)***	(0.000)***	(0.000)***

Tableau 50 : Corrélations: Lt H; La H; Ep H; Wt H (Hnaya)

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
		Lt et La			
		Lt et Ep			
		Lt et Wt			
		La et Ep			
		La et Wt			
		Ep et Wt			

	Lt H	La H	Ep H
La H	0.920		
	(0.000)***		
Ep H	0.925	0.849	
	(0.000)***	(0.000)***	
Wt H	0.953	0.872	0.896
	(0.000)***	(0.000)***	(0.000)***

Résumé :

Ce travail vise à évaluer l'impact de l'activité humaine sur le littoral d'Annaba ; Dans ce contexte nous avons procédé à une évaluation de la qualité bactériologique des eaux et des mollusques bivalves (*Perna perna*) du littoral d'Annaba ainsi qu'à une étude de l'impact de certains paramètres physico-chimiques de l'eau (température, salinité, oxygène dissous, matière en suspension, chlorophylle a, potentiel d'hydrogène) sur la croissance et l'indice de condition de ces bivalves.

Pour cela nous avons effectué des prélèvements d'eau et de moules à partir de 4 sites, choisis en fonction de leur localisation, par rapport à différentes sources de pollution et à l'hydrodynamisme qui y règne (Cap de Garde ; Rezgui Rachid ; Sidi Salem et Hnaya).

Les résultats des analyses bactériologiques de l'eau, font apparaître que dans l'ensemble des sites échantillonnés, la contamination fécale est sporadique ; elle varie d'un mois à l'autre et d'un site à l'autre. C'est à Sidi Salem, où il est fréquent de noter des teneurs en coliformes thermotolérants supérieures aux valeurs guides.

Chez les moules, les teneurs en bactéries relevées révèlent l'existence de niveaux de contamination par *E. coli*, dépassant assez souvent les valeurs guides; quant aux streptocoques fécaux, les valeurs relevées dans les 4 sites et pendant toute la période d'étude sont supérieures aux valeurs guides.

En ce qui concerne les germes pathogènes, nous avons pu isoler, à partir des prélèvements d'eau et de moules de Sidi Salem, huit espèces; C'est en avril que les prélèvements, d'eau et de moules analysés recèlent la présence de 5 espèces de germes pathogènes.

Cette forte contamination de l'eau et des moules du site Sidi Salem, trouve son explication dans la forte anthropisation (confirmée par les résultats du calcul de l'indice de Bourgeois) à laquelle est soumise cette zone du fait de sa proximité des divers oueds (Oued Bedjimâa, Oued Seybouse et les rejets urbains et industriels...).

L'évaluation de l'intensité de la relation entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* provenant des deux sites, révèle l'existence d'une allométrie majorante entre ces deux paramètres ($b > 3$) témoignant de l'augmentation du poids des individus plus rapide que celle de la taille. L'évaluation des paramètres de croissance (par l'application de l'équation de Von Bertalanffy) nous a permis de déterminer que le coefficient de croissance le plus élevé est relevé chez les moules du Cap de Garde (0.85 ans^{-1}). Les résultats de l'évaluation de l'indice de condition des moules *Perna perna* montrent que cet indice est bien meilleur en période printanière ; La chute des valeurs de l'indice en période automnale correspondrait à une phase de ponte des moules que l'étude histologique confirme.

Les résultats de l'analyse statistique montrent la relation de certains paramètres physico chimiques sur la distribution des bactéries entre les sites et d'une saison à l'autre ; L'analyse de la variance a deux critères de classification relative aux paramètres linéaire (L_t , L_a et E_p) et pondéral (W_t) de la moule *P. perna* du littoral d'Annaba montre l'existence d'une différence très hautement significative de chaque paramètre linéaire et pondéral aussi bien entre les sites qu'entre les mois. Ces différences seraient liées aux paramètres physico chimiques (température, MES, Chlorophylle a)

Les résultats des dosages biochimiques ont révélés l'existence de différences de sensibilité des systèmes antioxydants entre la glande digestive et les branchies. Cette réponse pourrait être en rapport avec les paramètres physico-chimiques (température, salinité) et les paramètres physiologique du modèle biologique étudié (évolution temporelle, état nutritionnelle) qui s'avèrent être des facteurs prépondérants dans la modulation des réponses enzymatiques.

Mots clés : Anthropisation ; Contamination fécale; Moule *Perna perna*; Golfe d'Annaba; croissance ; reproduction ; biomarqueurs.

Abstract:

This work aims at estimating the impact of the human activity on the coast of Annaba; in this context we proceeded to an evaluation of the bacteriological quality of waters and bivalve mollusks (*Perna perna*) of the coast of Annaba as well as in a study of the impact of certain physico-chemical parameters of the water (temperature, salinity, oxygenates dissolved, suspension material, chlorophyll has, potential of hydrogen) on the growth and the indication of condition of these bivalves.

For it we made takings of water and (mussels) from 4 sites, chosen according to their location (localization), with regard to various sources(springs) of pollution and to the hydrodynamism which reigns (Course(Cape) of Guard (Guarding,Nurse); Rezgui Rachid ; Sidi Salem and Hnaya) there.

The results(profits) of the bacteriological analyses of the water, create that in the whole of the sampled sites, the faecal contamination is sporadic; she(it) varies from one month to the next and from a site to the other one. It belongs to Sidi Salem, or he(it) is frequent to note contents coliformes thermotolérants superior to the values guides.

To moulds(mussels), the contents in spicy bacteria reveal the existence of levels of contamination by coli E., exceeding rather often the values guides; as for the faecal streptococci, the values raised(found) in 4 sites and during all the period of study are superior to the values guides.

As regards pathogenic germs, we were able to isolate, from the takings of water and moulds(mussels) of Sidi Salem, eight sorts(species); it is in April when the takings, of water and analyzed moulds conceal the presence of 5 sorts(species) of pathogenic germs.

This strong contamination of the water and the moulds(mussels) of the site Sidi Salem, finds its explanation in the strong anthropisation (confirmed by the results(profits) of the calculation of middle-class person's indication) to which is subjected this zone because of its nearness of the miscellaneous (Oued Bedjimâa, Oued Seybouse and the urban and industrial refusals(discharges)).

The evaluation of intensite of the relation between the total length and the total weight to the perna mussel *P. perna* resulting from both sites, reveals l'existence d'une allométrie majorante between these two parameters ($b > 3$) showing of the increase of the weight of the individuals faster than that of the size(cutting). The evaluation of the parameters of growth (by the application of the equation of Von Bertalanfy) allowed us to determine that the highest coefficient of growth is raised(found) at the moulds(mussels) of the Course(Cape) of Guard(Guarding,Nurse) (0.85 year⁻¹). The results(profits) of the evaluation of the indication of condition of moulds(mussels) *Perna perna* show that this indication is much better in spring period; the fall of the values of the indication of condition in autumnal period would correspond to a phase of heavyweight(laying,eggs) of moulds(mussels).

The results(profits) of the statistical analysis show the relation of certain parameters physico chemical on the distribution(casting) of bacteria between sites and from a season to the other one; the analysis of the variance has two criteria of classification relative to the parameters shelf space (L_t and E_p) and weight (W_t) of the mussel *P. perna* of the coast of Annaba shows the existence of a very highly significant difference of every linear and weight parameter as well between the sites as between months. These differences are related to physicochemical parameters (temperature, TSS, chlorophyll a)

The results of biochemical assays have revealed the existence of differences in sensitivity of antioxidant systems between digestive gland and gills. This response could be related to the physicochemical parameters (temperature, salinity) and physiological parameters of the biological model studied (temporal evolution, nutritional status) that prove to be key in modulating enzymatic responses.

Keywords: Anthropisation; faecal Contamination; grind Perna perna; gulf of Annaba; growth; biomarkers; reproduction.

الخلاصة :

ويهدف هذا العمل في تقدير تأثير النشاط البشري على شاطئ عنابة، وفي هذا الصدد وقد مضينا فيه تقييم الجودة البكتريولوجية للمياه والرخويات التناثية (perna perna) فضلا عن في دراسة تأثير بعض المعالم المائية الفيزيائية والكيميائية (الحرارة والملوحة، نقل المنحلة، ووقف ماديا، و الكلوروفيل وإمكانات الهيدروجين) عن تحقيق نمو مؤشر bivalves أحوال هؤلاء.

وبالنسبة لقطاع المياه عمليات الاستيلاء عليها جعلنا قوالب (بها) من 4 مواقع تم اختيارها وفقا موقعها لتوطنين، فيما يتعلق بمختلف مصادرها (بنابيع) من التلوث الذي يسود في hydrodynamism (دورة (كاب) حارس (حراسة الممرضة); rezgui راشد، سالم، وسيدي hnaya هناك.

نتائج التحليل البكتيري للمياه تظهر أن كل المواقع المعاينة تحوي تلوث منقطع، يتغير من موقع إلى آخر ومن شهر إلى آخر ، القيم المسجلة للتلوث بالفضلات البشرية على مستوى سيدي سالم تعتبر الأعلى لأنها تفوق القيم المحددة لنوعية المياه.

في الرخويات، قيم البكتيريا التي وجدت تكشف عن وجود مستويات تلوث تفوق في أغلب الأحيان المستوى المقبول، أما بالنسبة ل streptococci بالفضلات البشرية تكون متفوقة على القيم الموجهة طوال سنة البحث وعلى مستوى جميع المواقع.

وفيما يتعلق بالجراثيم المسببة للمرض، تمكنا من عزل 8 أنواع في مياه و رخويات الموقع سيدي سالم، و في نيسان/ابريل تمكنا من الكشف عن 5 أنواع من الجراثيم المسببة للمرض.

قوة تلوث المياه و الرخويات لهذا الموقع (سيدي سالم) يجد تفسيره في قوة التأثيرات البشرية المحيطة (وقد استطعنا إثبات ذلك بحساب مؤشر بوجوا) التي تتعرض لها الولاية بسبب قربها من الوديان (واد بجيمة، واد سيبوس، والنفايات الحضرية والصناعية....).

تقييم كثافة العلاقة بين الطول الإجمالي الكلي و الوزن الكلي لثنائيات الصدف المأخوذة من الموقعين تكشف وجود Γd une allometrie majorante بين هذين العاملين ($b > 3$) تظهر زيادة الوزن بمعدل أسرع منه إلى حجم الأفراد (القطع). في تقييم معالم النمو (قبل تطبيق المعادلة bertallanfy فون) سمح لنا بتحديد أن أكبر معامل نمو هو لثنائيات الصدف للمثارة (0.85 سنة 1). نتائج تقييم مؤشر الحالة ل perna perna تدل على أن هذه الإشارة أفضل بكثير في فترة الربيع، وعلى أن هبوط قيم المؤشر في فترة الخريف تصادف فترة وضع البيض.

النتائج في التحليل الاحصائي للمعايير تثبت وجود تأثير المعايير الفيزيائية والكيميائية حول توزيع البكتيريا بين المواقع من موسم لآخر؛ في تحليل هذين المعيارين فقد تفاوت نسبي بين التصنيف القاري في الفضاء للبارامترات (قائد، المرحلة الابتدائية) ووزنه (كنسبة من بلح البحر ب. perna لساحل عنابة يدل على وجود فرق كبير للغاية بين كل المعايير الخطية و الوزنية وذلك بين كل شهر وكل موقع. وتتعلق هذه الخلافات إلى معلمات الفيزيائية (درجة الحرارة، وخدمات الدعم التقني، الكلوروفيل أ)

وقد كشفت نتائج الفحوص البيوكيميائية وجود اختلافات في حساسية النظم المضادة للأكسدة بين غدة في الجهاز الهضمي والخيانشيم. يمكن أن تكون متعلقة هذا ردا على المعلمات الفيزيائية (درجة الحرارة والملوحة) والمعلمات الفسيولوجية للنموذج درس البيولوجي (التطور الزمني والحالة التغذوية) التي تثبت أن المفتاح في تعديل استجابات الأنزيمية.

كلمات رئيسية: التأثير البشري؛ التلوث بالفضلات البشرية؛ بلح البحر perna perna؛ خليج عنابة؛ النمو، التكاثر، الدلائل البيولوجية.