

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITÉ BADJI-MOKHTAR ANNABA



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
LABORATOIRE D'ÉCOBIOLOGIE DES MILIEUX MARINS ET LITTORAUX



## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat  
En **MICROBIOLOGIE**

Option : Microbiologie Appliquée

## THEME

---

**Contribution à l'étude des paramètres microbiologiques  
des eaux du canal Messida et impact sur la santé publique  
et animale (W. El Tarf)**

---

par : **BENHALIMA Lamia**

Directeur de Thèse	OUZROUT Rachid	Professeur	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf
Co-Directeur de Thèse	BENSOUILAH Mourad	Professeur	Université Badji-Mokhtar, Annaba

### Membres du jury

Présidente	KIRANE GASMI Djamila	Professeur	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Examineur	MAMACHE Bakir	Professeur	Université El Hadj Lakhdar, Batna
Examineur	MERAD Tarek	Maître de Conférences A	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Examinatrice	AOUN Leila	Professeur	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf

Année universitaire : 2015/2016.

## *Remerciements*

Je voudrais tout d'abord remercier les membres du jury qui ont bien voulu consacré une partie de leur temps à juger ce travail :

Madame **GACEMI-KIRANE Djamila**, Professeur à l'Université d'Annaba pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de cette thèse.

Madame **AOUN Leila**, Professeur à l'Université d'El Tarf, Monsieur **MAMACHE Bakir**, Professeur à l'Université de Batna et Monsieur **MERAD Tarek**, Maître de conférences à l'Université d'Annaba qui m'ont honoré en acceptant de porter un regard expert sur mon travail.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à Monsieur **OUZROUT Rachid**, Professeur à l'Université d'El Tarf, qui malgré ses nombreuses responsabilités, m'a fait l'honneur d'accepté d'être directeur de ma thèse.

Je tien spécialement à remercier chaleureusement mon Co-directeur Monsieur **BENSOUILAH Mourad**, Professeur à l'Université d'Annaba et Directeur du laboratoire d'Écobiologie des Milieux Marins et Littoraux (EMMAL), personne exceptionnelle tant au niveau humain qu'au niveau scientifique. Je suis extrêmement reconnaissant de la confiance qu'il a bien voulu m'accorder, du temps sans limite consacré à échanger des idées, me permettant ainsi d'approfondir mon travail et d'en apprendre tous les jours un peu plus. Je ne peux que souligner la qualité de leur encadrement, leur disponibilité permanente ainsi que leur éternelle bonne humeur qui contribue à l'excellente ambiance de travail.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **BAROUR Chokri**, Maître de conférences à l'université de Souk Ahras pour son contribution dans la réalisation de l'analyse statistique de cette étude.

Je tiens aussi à remercier Monsieur **KADRI Skender**, Maître de conférences à l'université d'Annaba pour son aide précieuse, ses encouragements, et ses conseils durant la rédaction de cette thèse.

Merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Table des matières

<b>Résumé en français</b>	
<b>Résumé en anglais</b>	
<b>Résumé en arabe</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Listes des planches</b>	
<b>Liste des schémas</b>	
<b>Symboles et abréviations</b>	
<b>Introduction générale</b>	1
<b>I. Synthèse bibliographique</b>	4
I.1. Généralités sur l'écosystème canal	4
I.2. Pollution des écosystèmes canaux	6
I.2.1. Sources multiples de pollutions	6
I.2.2. Différents types de pollution	7
I.3. Contamination bactériologique de l'eau	7
I.3.1. Facteurs contrôlant la pollution bactériologique	7
I.3.2. Émergence des bactéries antibio-résistantes dans l'environnement aquatique	8
I.4. Conséquences de la pollution des eaux des canaux	9
I.5. Évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux des canaux	13
<b>II. Matériel et Méthodes</b>	16
<b>II.1. Description de la zone d'étude</b>	16
II.1.1. PNEK	16
II.1.2. Bassin versant du lac Tonga	16
II.1.3. Lac Tonga	17
II.1.4. Canal Messida	18
II.1.4.1. Caractéristiques du canal Messida	18
II.1.4.2. Biodiversité écologique du canal Messida	21
II.1.4.3. Importance et rôle des eaux du canal Messida	24
II.1.4.4. Facteurs d'altération du canal Messida	24
II.1.4.5. Conditions climatiques	28
<b>II.2. Échantillonnage</b>	30
II.2.1. Présentation des points de prélèvement	30
II.2.2. Fréquence des prélèvements	31
II.2.3. Techniques de prélèvement	32

<b>II.3. Étude des paramètres physico-chimiques de l'eau du canal</b>	32
II.3.1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	32
II.3.2. Paramètres mesurés au laboratoire	34
II.3.2.1. Matières en suspension (MES)	34
II.3.2.2. Chlorophylle a	35
II.3.2.3. Demande biochimique en oxygène (DBO <sub>5</sub> )	36
II.3.2.4. Nitrates (azote nitrique NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	37
II.3.2.5. Nitrites (azote nitreux NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	39
II.3.2.6. Azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	40
II.3.2.7. Orthophosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	41
<b>II.4. Étude des paramètres bactériologiques de l'eau du canal</b>	43
II.4.1. Recherche et dénombrement de la flore totale mésophile	43
II.4.2. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants	45
II.4.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	48
II.4.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR)	50
II.4.5. Isolement et identification des bactéries aquicoles et recherche des germes pathogènes	52
II.4.5.1. Entérobactéries	52
II.4.5.2. Vibrions cholériques	59
II.4.5.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
II.4.5.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	65
<b>II.5. Analyse statistique des données</b>	68
<b>II.6. Qualité bactériologique du poisson <i>Carassius carassius</i> (Linnaeus, 1758)</b>	70
II.6.1. Carassin commun <i>Carassius carassius</i>	70
II.6.2. Pêche du carassin commun	73
II.6.3. Examen macroscopique du poisson	73
II.6.4. Analyse bactériologique	74
II.6.4.1. Recherche et dénombrement de la flore cultivable hétérotrophe mésophile et des germes indicateurs de contamination fécale	77
II.6.4.2. Isolement et identification des bactéries pathogènes	78
<b>II.7. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson</b>	80
II.7.1. Bactéries étudiées	80
II.7.2. Détermination de la résistance aux antibiotiques	81
II.7.2.1. Antibiotiques testés	81

II.7.2.2. Technique de l'antibiogramme	81
II.7.2.3. Analyse des données	82
<b>III. Résultats et discussion</b>	<b>84</b>
<b>III.1. Caractéristiques physicochimiques des eaux du canal</b>	<b>84</b>
III.1.1. Température	84
III.1.2. pH	85
III.1.3. Potentiel d'oxydo-réduction	87
III.1.4. Oxygène dissous	88
III.1.5. Taux de saturation en O <sub>2</sub>	89
III.1.6. Demande biochimique en O <sub>2</sub> (DBO <sub>5</sub> )	90
III.1.7. Salinité	91
III.1.8. Conductivité	92
III.1.9. Taux des substances solides dissoutes	93
III.1.10. Matière en suspension	94
III.1.11. Chlorophylle <i>a</i>	95
III.1.12. Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	97
III.1.13. Nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	98
III.1.14. Azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	99
III.1.15. Orthophosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	101
<b>III.2. Qualité bactériologique des eaux du canal</b>	<b>102</b>
III.2.1. Concentrations en germes totaux	102
III.2.2. Concentrations en coliformes totaux	103
III.2.3. Concentrations en coliformes fécaux	105
III.2.4. Concentrations en <i>Escherichia coli</i>	106
III.2.5. Concentrations en streptocoques fécaux	107
III.2.6. Concentrations des anaérobies sulfito-réducteurs	109
III.2.7. Identification des bactéries aquicoles et des germes pathogènes	110
III.2.7.1. Identification des entérobactéries	110
III.2.7.2. Identification des vibrions	116
III.2.7.3. Identification de <i>Pseudomonas</i>	118
III.2.7.4. Identification des staphylocoques	120
III.2.7.5. Distribution spatiale des souches bactériennes identifiées	122
<b>III.3. Analyses statistiques</b>	<b>124</b>
III.3.1. Description graphique	124
III.3.1.1. Paramètres physicochimiques	124
III.3.1.2. Paramètres bactériologiques	128
III.3.2. Tests statistiques et méthodes multi-variées	131
III.3.2.1. Comparaison inter-stations et inter-mois : test Kruskal-Wallis	131

III.3.2.2. Corrélation linéaire simple entre les variables biotiques et abiotiques	133
III.3.2.3. Analyse en composantes principales (ACP)	136
III.3.2.4. Classification ascendante hiérarchique (CAH) de la variabilité inter-stations	142
<b>III.4. Discussion</b>	<b>143</b>
III.4.1. Paramètres physico-chimiques	143
III.4.2. Paramètres bactériologiques	152
III.4.3. Typologie spatio-temporelle et influence des facteurs environnementaux sur les paramètres bactériologiques du milieu	158
III.4.4. Flore aquicole et germes pathogènes	161
<b>III.5. Qualité bactériologique du poisson <i>Carassius carassius</i></b>	<b>165</b>
III.5.1. Examen macroscopique du poisson	165
III.5.2. Flore cultivable hétérotrophe mésophile chez le carassin	166
III.5.3. Coliformes totaux chez le carassin	168
III.5.4. Coliformes fécaux chez le carassin	170
III.5.5. <i>Escherichia coli</i> chez le carassin	170
III.5.6. Streptocoques fécaux chez le carassin	173
III.5.7. Anaérobies Sulfito-Réducteurs chez le carassin	173
III.5.8. Bactéries pathogènes chez le carassin	173
III.5.9. Analyse statistique	184
<b>III.6. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson</b>	<b>186</b>
III.6.1. Bactéries aquicoles	186
III.6.2. Bactéries isolées à partir de <i>Carassius carassius</i>	191
III.6.2.1. Bactéries isolées à partir des branchies	191
III.6.2.2. Bactéries isolées à partir du mucus	195
III.6.2.3. Bactéries isolées à partir de la chair	198
<b>III.7. Discussion</b>	<b>200</b>
III.7.1. Examen externe et qualité bactériologique du carassin	200
III.7.2. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson	209
<b>IV. Conclusion et perspectives</b>	<b>218</b>
<b>V. Références bibliographiques</b>	<b>220</b>
<b>VI. Annexes</b>	<b>251</b>

## Résumé

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la qualité des eaux d'un corridor biologique situé dans le PNEK : le canal Messida. L'étude porte, en premier lieu, sur le suivi de paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal, et la recherche de l'influence de certains paramètres environnementaux sur la dynamique spatio-temporelle des indicateurs bactériologiques par l'application de tests statistiques. En second lieu, nous avons déterminé l'état de santé et la qualité bactériologique d'un poisson peuplant le canal (*Carassius carassius*) ainsi que l'antibio-résistance des bactéries d'origine aquatique et animale.

L'échantillonnage a été réalisé au niveau de 4 stations choisies selon leur proximité de diverses sources de pollution. Les échantillons d'eau ont été prélevés mensuellement durant deux cycles (de septembre 2010 à août 2011 et de septembre 2012 à août 2013), quant aux poissons, ils ont été pêchés durant la période allant de novembre 2012 à mai 2013.

La majorité des paramètres physicochimiques mesurés montre des variations spatio-temporelles significatives ( $p < 0.05$ ). Dans l'ensemble des stations échantillonnées, les teneurs en oxygène dissous, en chlorophylle *a*, en nitrites et en orthophosphates présentent des valeurs critiques pour la faune aquatique en période printanière et estivale. Le suivi spatio-temporel des paramètres bactériologiques montre que les eaux du canal Messida sont caractérisées par une forte contamination fécale avec la présence de bactéries pathogènes (obligatoires ou opportunistes). Lors des périodes pluvieuses, une élévation de l'ensemble des indicateurs de contamination est observée.

L'analyse en composante principale (ACP) a montré que les eaux des stations S1, S2 et S3 se caractérisent par une forte pollution organique et bactérienne quant à celles de la station S4, elles se caractérisent par une minéralisation plus importante. En ce qui concerne la variation temporelle, l'analyse montre que les mois froids se caractérisent par une forte pollution bactérienne et les mois chauds par une forte pollution organique. Les dendrogrammes obtenus par la CAH concordent avec les plans factoriels des ACP en ce qui concerne la variation des paramètres biotiques et abiotiques et la structuration de la variation inter-stations au niveau du canal Messida durant les deux cycles d'étude.

L'évaluation de l'état de santé du poisson *Carassius carassius* peuplant le canal Messida ainsi que les résultats de l'étude de la qualité bactériologique des branchies, mucus et muscles montrent l'impact négatif du milieu sur cette espèce. Les résultats de l'étude des résistances bactériennes vis-à-vis des antibiotiques révèlent l'existence de profils allant de 1 à 10 antibiotiques ; nous notons, des résistances très élevées à l'ampicilline, la ticarcilline, la céfalotine, la tétracycline, la ciprofloxacine et le chloramphénicol. Nos résultats montrent la prépondérance de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans les eaux et le carassin *Carassius carassius* du canal Messida.

Il ressort de cette étude que le risque potentiel de contamination de la faune et de l'homme par les eaux du canal Messida est réel ; de ce fait, l'application d'un programme de suivi des eaux de ce canal est impérative.

**Mots-clés :** Canal Messida ; paramètres physicochimiques ; qualité bactériologique ; *Carassius carassius* ; résistance aux antibiotiques ; impact sur la santé.

## Abstract

During this work, we were interested in the study of the quality of waters of a biological corridor situated in the PNEK: the channel Messida. The study concerns, first of all, the follow-up of physico-chemical and bacteriological parameters of waters of the channel, and the search for the influence of some environmental parameters on the spatiotemporal dynamics of bacteriological indicators through the application of statistical tests. Secondly, we determined the health and the bacteriological quality of a fish populating the channel (*Carassius carassius*) as well as the antimicrobial resistance of the bacteria of aquatic and animal origin.

The sampling was realized at the level of 4 stations chosen according to their closeness of diverse sources of pollution. The water samples were monthly taken during two cycles (from september 2010 to august 2011 and from september 2012 to august 2013), as for fishes, they were fished during period going from november 2012 to may 2013.

The majority of the physico-chemical parameters show significant spatiotemporal variations (at  $p < 0.05$ ). On all the sampling sites, the contents in dissolved oxygen, chlorophyll *a*, nitrite, orthophosphate present critical values for the aquatic organisms in spring and summer. The spatiotemporal variation of the bacteriological parameters shows that waters of the channel Messida are characterized by a strong fecal contamination with presence of the pathogenic bacteria (compulsory or opportunist). During rainy periods, a rise of all the indicators of contamination is observed.

The principal component analysis (PCA) showed that the waters of stations S1, S2 and S3 is characterized by a strong organic and bacterial pollution as for those of the station S4, they are characterized by a more important mineralization. As regards the temporal variation, the analysis shows that the cold months are characterized by a strong bacterial pollution and hot months by a strong organic pollution. Dendrogrammes obtained by the CAH suits to the factorial plans of the PCA as regards the variation of the biotic and abiotic parameters and the structuring of the variation inter-stations at the level of the channel Messida during both cycles of study.

The evaluation of the health of the fish *Carassius carassius* populating the channel Messida as well as the results of the study of the bacteriological quality of gills, mucus and muscles shows the negative impact of the environment on this species. The results of the study of the bacterial resistances towards antibiotics reveal the existence of profiles going from 1 to 10 antibiotics; we note a very high prevalence of resistance to ampicillin, ticarcillin, cephalotin, tetracyclin, ciprofloxacin and chloramphenicol. Our results show the ascendancy of multiresistant bacteria in antibiotics in waters and crucian carp *Carassius carassius* of the channel Messida.

It emerges from this study that the potential risk of contamination of the fauna and the man by waters of the channel Messida is real; therefore, the application of a program of follow-up of waters of this channel is imperative.

**Keywords:** Channel Messida; physico-chemical parameters; bacteriological quality; *Carassius carassius*; antibiotic resistance; impact on the health.

## ملخص

أثناء هذا العمل، اهتمنا بدراسة نوعية مياه ممر بيولوجي موجود بالحظيرة الوطنية للقناة : قناة مسيدة. تتعلق الدراسة، أولاً، بمتابعة الخصائص الفيزيوكيميائية و البكتيريولوجية لمياه القناة، و البحث عن تأثير بعض العوامل البيئية على الديناميكية الزمنية و المكانية للمؤشرات البكتيريولوجية و ذلك بتطبيق طرق إحصائية. ثانياً، قمنا بتحديد الحالة الصحية والنوعية البكتيريولوجية لنوع من الأسماك التي تعيش في هذه القناة (*Carassius carassius*) وكذلك مقاومة البكتيريا ذات الأصل المائي و الحيواني للمضادات الحيوية.

تم أخذ العينات على مستوى أربعة محطات، اختيرت اعتماداً على توأجها بالقرب من مصادر تلوث مختلفة. أخذت عينات الماء شهرياً لمدة طورتين (من سبتمبر 2010 إلى أوت 2011 و من سبتمبر 2012 إلى أوت 2013)، أما بالنسبة للسماك، فقد تم اصطياده أثناء الفترة الممتدة من نوفمبر 2012 إلى ماي 2013.

أغلبية الخصائص الفيزيوكيميائية التي تم تحديدها أظهرت قدراً كبيراً من التغيرات المكانية والزمنية ( $p < 0.05$ ). على مستوى جميع المحطات، أعطت تراكيز الأوكسجين المذاب، الكلورفيل، النيتريت والارتوفوسفات قيم حرجة ومضرة للحيوانات المائية أثناء الفترة الربيعية والصيفية. أوضحت المتابعة المكانية والزمنية للخصائص البكتيريولوجية أن مياه قناة مسيدة تتسم بتلوث برازي قوي مع وجود بكتيريا ممرضة (إجبارية أو انتهازية). خلال موسم الأمطار، تم ملاحظة ارتفاع جميع مؤشرات التلوث.

أوضح تحليل المكون الرئيسي (ACP) أن مياه المحطات S1، S2 و S3 تتميز بتلوث عضوي و بكتيريولوجي قوي، أما مياه المحطة S4 فتتميز بمعدنة هامة. فيما يخص التغيرات الزمنية، فالتحليل تبين أن الأشهر الباردة تتميز بتلوث بكتيريولوجي قوي والأشهر الساخنة بتلوث عضوي شديد. Dendrogrammes المتحصل عليهم بتطبيق CAH تتوافق مع نتائج ACP فيما يخص تغيرات الخصائص الحيوية و غير الحيوية و الهيكلية المكانية على مستوى قناة مسيدة خلال طوري الدراسة.

أظهر تقييم الوضع الصحي لسماك النوع (*Carassius carassius*) الموجود بقناة مسيدة وكذلك دراسة النوعية البكتيريولوجية للخياشيم، المخاط و العضلات الأثر السلبي لهذا الوسط على هذا النوع من الأسماك. أما نتائج المقاومات البكتيرية للمضادات الحيوية، فقد أظهرت وجود أنماط متنوعة ذات مقاومات لوحد حتى 10 مضادات حيوية؛ لاحظنا وجود مقاومات عالية جداً لـ :

ampicilline, ticarcilline, céfalotine, tétracycline, ciprofloxacin, chloramphénicol

تبين هذه النتائج كثافة تواجد البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية في مياه وكذا سمك النوع (*Carassius carassius*) لقناة مسيدة.

يتبين من هذه الدراسة أن الخطر المحتمل لتضرر الحيوانات والإنسان بمياه قناة مسيدة حقيقي؛ و بهذا، فإن تطبيق برنامج متابعة مياه هذه القناة ضرورة حتمية.

**الكلمات المفتاحية:** قناة مسيدة، الخصائص الفيزيوكيميائية، النوعية البكتيريولوجية، *Carassius carassius*، مقاومة المضادات الحيوية، التأثير على الصحة.

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Carte de délimitation du bassin versant du lac Tonga (Raachi, 2007).	17
Figure 2	Zone d'érosion et aménagement sur le canal Messida (prises le 28/04/2011 par Benhalima).	20
Figure 3	Richesse floristique du canal Messida (prises le 28/04/2011 par Benhalima).	23
Figure 4	Carte de sensibilité à l'érosion de la zone d'étude (source: Raachi, 2007).	25
Figure 5	Différentes activités agricole dans la région d'étude (prises le 28/04/2011 par Benhalima).	27
Figure 6	Déboisement au niveau du canal Messida (prises le 28/04/2011 par Benhalima).	28
Figure 7	Photos satellites montrant la localisation des quatre stations de prélèvement (Google Earth, 2015).	30
Figure 8	Multi-paramètres WTW Multi 3420.	33
Figure 9	DBO meter WTW BSB Messgerät 602.	37
Figure 10	Boite à moustache (Le Guen, 2002).	68
Figure 11	Carassin commun <i>Carassius carassius</i> (source : (a) Bruslé et Quignard, 2013; (b) : Prise par Benhalima en 2013).	72
Figure 12	Méthode de prélèvement et de préparation de la solution mère du mucus.	75
Figure 13	Méthode de prélèvement et de préparation de la solution mère des branchies.	76
Figure 14	Méthode de prélèvement et de préparation de la solution mère de la chair.	77
Figure 15	Évolution spatio-temporelle de la température des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	84
Figure 16	Évolution spatio-temporelle de la température des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	85

Figure 17	Évolution spatio-temporelle du pH des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	86
Figure 18	Évolution spatio-temporelle du pH des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	86
Figure 19	Évolution spatio-temporelle du rH des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	87
Figure 20	Évolution spatio-temporelle du rH des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	87
Figure 21	Évolution spatio-temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	88
Figure 22	Évolution spatio-temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	89
Figure 23	Évolution spatio-temporelle du taux de saturation en oxygène des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	89
Figure 24	Évolution spatio-temporelle du taux de saturation en oxygène des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	90
Figure 25	Évolution spatio-temporelle de la DBO <sub>5</sub> des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	90
Figure 26	Évolution spatio-temporelle de la DBO <sub>5</sub> des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	91
Figure 27	Évolution spatio-temporelle de la salinité des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	91
Figure 28	Évolution spatio-temporelle de la salinité des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	92
Figure 29	Évolution spatio-temporelle de la conductivité des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	92
Figure 30	Évolution spatio-temporelle de la conductivité des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	93
Figure 31	Évolution spatio-temporelle des teneurs en TDS des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	93
Figure 32	Évolution spatio-temporelle des teneurs en TDS des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	94

Figure 33	Évolution spatio-temporelle des teneurs en MES des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2012- août 2013).	95
Figure 34	Évolution spatio-temporelle des teneurs en MES des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	95
Figure 35	Évolution spatio-temporelle des teneurs en chlorophylle <i>a</i> des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	96
Figure 36	Évolution spatio-temporelle des teneurs en chlorophylle <i>a</i> des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	96
Figure 37	Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrates dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	97
Figure 38	Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrates des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	98
Figure 39	Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrites dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	99
Figure 40	Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrites dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	99
Figure 41	Évolution spatio-temporelle des teneurs en ammonium dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	100
Figure 42	Évolution spatio-temporelle des teneurs en ammonium dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	100
Figure 43	Évolution spatio-temporelle des teneurs en orthophosphates dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	101
Figure 44	Évolution spatio-temporelle des teneurs en orthophosphates dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	102
Figure 45	Répartition spatio-temporelle des germes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	103
Figure 46	Répartition spatio-temporelle des germes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).	103
Figure 47	Répartition spatio-temporelle des coliformes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	104

Figure 48	Répartition spatio-temporelle des coliformes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2011 – août 2012).	104
Figure 49	Répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	105
Figure 50	Répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2011 – août 2012).	106
Figure 51	Répartition spatio-temporelle d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	107
Figure 52	Répartition spatio-temporelle d' <i>Escherichia coli</i> dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).	107
Figure 53	Répartition spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	108
Figure 54	Répartition spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2012).	108
Figure 55	Répartition spatio-temporelle des ASR dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).	109
Figure 56	Répartition spatio-temporelle des ASR dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).	109
Figure 57	Répartition spatiale des bactéries isolées dans les eaux du canal Messida.	123
Figure 58	Variation inter-stations des paramètres physico-chimiques (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).	125
Figure 59	Variation inter-stations des paramètres physico-chimiques (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).	126
Figure 60	Variation inter-stations des paramètres bactériologiques (cycle '1' : septembre 2010- août 2011)	129
Figure 61	Variation inter-stations des paramètres bactériologiques (cycle '2' : septembre 2012- août 2013)	129
Figure 62	Corrélogramme présentant les corrélations entre les 21 paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011). Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.	135

Figure 63	Corrélogramme présentant les corrélations entre les 21 paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2013). Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.	136
Figure 64	Cercle de corrélation des vingt-et-une variables biotiques et abiotiques déterminées durant le cycle '1' dans le canal Messida sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 48.3%, Dim 2 : 19.73%.	137
Figure 65	Projection des stations et des mois du cycle 1 sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 48.3%, Dim 2 : 19.73%.	138
Figure 66	Cercle de corrélation des vingt-et-une variables biotiques et abiotiques déterminées durant le cycle '2' dans le canal Messida sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 40.21%, Dim 2 : 23.97%.	140
Figure 67	Projection des stations et des mois du cycle '2' sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 40.21%, Dim 2 : 23.97%.	140
Figure 68	Classification ascendante hiérarchique de la variation inter-stations du canal Messida. En rouge : cycle '1' (septembre 2010 – août 2011) ; en bleu : cycle '2' (septembre 2012 – août 2013). Les stations sont indexées par leurs chiffres.	142
Figure 69	Distribution des germes totaux chez le carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	167
Figure 70	Distribution des coliformes totaux chez le carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	169
Figure 71	Distribution des coliformes fécaux chez le carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	171
Figure 72	Distribution d' <i>Escherichia coli</i> chez le carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	172
Figure 73	Distribution des streptocoques fécaux chez le carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	174
Figure 74	Corrélogramme présentant les corrélations entre les paramètres bactériologiques du carassin commun et des eaux du canal Messida. Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.	185

Figure 75	Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des eaux du canal Messida.	186
Figure 76	Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des branchies de <i>Carassius carassius</i>	191
Figure 77	Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du mucus de <i>Carassius carassius</i>	195
Figure 78	Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir de la chair de <i>Carassius carassius</i>	199

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Principaux caractères du canal Messida.	19
Tableau 2	Caractéristiques des quatre stations d'échantillonnage.	31
Tableau 3	Paramètres physico-chimiques des eaux du canal Messida « mesurés <i>in situ</i> ».	33
Tableau 4	Aspects cultureux des entérobactéries sur les milieux de culture sélectifs.	55
Tableau 5	Tests biochimiques utilisés pour l'identification des vibrions.	61
Tableau 6	Codes pathologiques (Girard, 1998).	74
Tableau 7	Liste des germes dénombrés et méthodes utilisées.	78
Tableau 8	Milieux de culture utilisés pour l'isolement des bactéries à partir des différents compartiments de <i>Carassius carassius</i> .	79
Tableau 9	Entérobactéries isolées à partir des eaux du canal Messida.	110
Tableau 10	Identification biochimique de la souche <i>Vibrio cholerae</i> isolée à partir des eaux du canal Messida.	116
Tableau 11	Identification de la souche <i>Vibrio cholerae</i> par la galerie API 20 NE.	117
Tableau 12	Répartition des souches d' <i>Aeromonas hydrophila</i> dans les différentes stations du canal Messida.	118
Tableau 13	Tests d'identification des <i>Pseudomonas</i> isolés à partir des eaux du canal Messida.	119
Tableau 14	Tests d'identification des staphylocoques isolés à partir des eaux du canal Messida.	121
Tableau 15	Comparaison inter-stations et inter-mois des médianes des paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida.	132
Tableau 16	Prévalences des lésions externes du carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant le canal Messida.	165

Tableau 17	Bactéries à Gram négatif isolées à partir du carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	175
Tableau 18	Bactéries à Gram positifs isolées à partir du carassin <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	176
Tableau 19	Prévalence des bactéries isolées à partir des branchies de <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida	182
Tableau 20	Prévalence des bactéries isolées à partir du mucus de <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	183
Tableau 21	Prévalence des bactéries isolées à partir de la chair de <i>Carassius carassius</i> peuplant les eaux du canal Messida.	183
Tableau 22	Dépendance entre la distribution des groupes bactériens dénombrés et les différents compartiments du carassin <i>Carassius carassius</i> .	184
Tableau 23	Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées à partir des eaux du canal Messida.	188
Tableau 24	Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées à partir des branchies.	192
Tableau 25	Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées à partir du mucus.	197
Tableau 26	Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées à partir de la chair.	199
Tableau 27	Indices NPP pour 100 ml d'échantillon et limites de confiance à 95% avec trois prises d'essai de trois dilutions successives (source : Rejsek, 2002).	263
Tableau 28	Indices NPP pour 3×1g, 3×0.1g, 3×0.01g d'échantillon (Joffin & Joffin, 2010).	264
Tableau 29	Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E (source : <a href="http://www.biomerieux.com">http://www.biomerieux.com</a> ).	265
Tableau 30	Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 NE (source : <a href="http://www.biomerieux.com">http://www.biomerieux.com</a> ).	266
Tableau 31	Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api Staph (source : <a href="http://www.biomerieux.com">http://www.biomerieux.com</a> ).	267

---

Tableau 32	Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 Strep (source : <a href="http://www.biomerieux.com">http://www.biomerieux.com</a> ).	268
Tableau 33	Liste des antibiotiques utilisés et diamètres des zones d'inhibition (CA-SFM, 2013).	269
Tableau 34	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (En médecine vétérinaire) (Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, 2011).	270
Tableau 35	Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité (CA-SFM, 2013).	271
Tableau 36	Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité (En médecine vétérinaire) (Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, 2011).	271
Tableau 37	Relation entre la conductivité et la minéralisation (Detay, 1993).	272
Tableau 38	Matrice de corrélations calculées (après une transformation logarithmique (Log)) entre les paramètres physico-chimiques et bactériologiques pour l'ensemble des quatre stations du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 - août 2011).	273
Tableau 39	Matrice de corrélations calculées (après une transformation logarithmique (Log)) entre les paramètres physico-chimiques et bactériologiques pour l'ensemble des quatre stations du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 - août 2013).	274

**Liste des planches**

<b>Planche</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Planche 1	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Citrobacter freundii</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20.	112
Planche 2	Aspect macroscopique des colonies d'une souche d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	112
Planche 3	Aspect macroscopique des colonies d'une souche d' <i>Edwardsiella</i> sp. sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	112
Planche 4	Aspect macroscopique des colonies d' <i>Edwardsiella tarda</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	113
Planche 5	Aspect macroscopique des colonies d'une souche d' <i>Enterobacter agglomerans</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	113
Planche 6	Aspect macroscopique des colonies d' <i>Enterobacter cloacae</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	113
Planche 7	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Hafnia alvei</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	113
Planche 8	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Klebsiella oxytoca</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	114
Planche 9	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Morganella</i> sp. sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	114
Planche 10	Aspect macroscopique des colonies de <i>Proteus morganii</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	114
Planche 11	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Proteus vulgaris</i> sur la gélose Mac Conkey et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	114
Planche 12	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Providencia</i> sp. sur la gélose Mac Conkey et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	115

Planche 13	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Salmonella typhimurium</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	115
Planche 14	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Serratia marcescens</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	115
Planche 15	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Serratia odorifera</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	115
Planche 16	Aspect macroscopique des colonies de <i>Shigella</i> spp. sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	116
Planche 17	Aspect macroscopique des colonies de <i>Yersinia enterocolitica</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	116
Planche 18	Aspect macroscopique des colonies de <i>Vibrio cholerae</i> sur la gélose GNAB et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	117
Planche 19	Aspect macroscopique des colonies d' <i>Aeromonas hydrophila</i> sur la gélose au sang et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	118
Planche 20	Aspect macroscopique des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P1) sur la gélose cétrimide et ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.	120
Planche 21	Aspect macroscopique des colonies de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (P6) sur la gélose cétrimide et ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.	120
Planche 22	Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> (St.5) sur la gélose Chapman, test coagulase positif et ses caractères biochimiques sur l'API Staph.	122
Planche 23	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Citrobacter braakii</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	177
Planche 24	Aspect macroscopique des colonies d'une souche d' <i>Escherichia vulneris</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	177
Planche 25	Aspect macroscopique des colonies d'une souche d' <i>Enterococcus faecium</i> sur la gélose Chapman et ses caractères biochimiques sur l'API 20 Strep.	177

Planche 26	Aspect macroscopique des colonies d' <i>Enterobacter sakazakii</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	178
Planche 27	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	178
Planche 28	Aspect macroscopique des colonies de <i>Kluevya</i> sur la gélose Mac Conkey et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	178
Planche 29	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Micrococcus</i> spp. sur la gélose Chapman et ses caractères biochimiques sur l'API Staph.	178
Planche 30	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Pantoae</i> spp. sur la gélose Mac Conkey et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	179
Planche 31	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Pasteurella</i> spp. sur la gélose au sang et ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.	179
Planche 32	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Proteus mirabilis</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	179
Planche 33	Aspect macroscopique des colonies de <i>Pseudomonas luteola</i> sur la gélose cétrimide et ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.	179
Planche 34	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Raoultella terrigena</i> sur la gélose nutritive et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	180
Planche 35	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i> sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	180
Planche 36	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Salmonella</i> spp. sur la gélose SS et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	180
Planche 37	Aspect macroscopique des colonies de <i>Serratia ficaria</i> sur la gélose Hektoen et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	180
Planche 38	Aspect macroscopique des colonies de <i>Vibrio alginolyticus</i> sur la gélose nutritive à pH = 8 et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	181

---

Planche 39	Aspect macroscopique des colonies d'une souche de <i>Vibrio fluvialis</i> sur la gélose nutritive à pH = 8 et ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.	181
Planche 40	Résistance d'une souche de <i>Staphylococcus aureus</i> à 10 antibiotiques (AM/CF/CTX/TE/GM/AN/C/CIP/NA/FOS).	189
Planche 41	Résistance d'une souche de <i>Staphylococcus epidermidis</i> à 8 antibiotiques (AM/CTX/TE/GM/AN/CIP/NA/FOS).	190
Planche 42	Résistance d'une souche de <i>Klebsiella oxytoca</i> à 8 antibiotiques (AM/TI/CTX/TE/AN/C/CIP/NA).	190
Planche 43	Résistance de la souche de <i>Vibrio cholerae</i> à 6 antibiotiques (AM/TE/GM/AN/C/NIT).	190
Planche 44	Résistance d'une souche de <i>Pantoea</i> spp. à 8 antibiotiques (AM/TI/TE/GM/AN/CIP/NA/NIT).	194
Planche 45	Résistance d'une souche de <i>Citrobacter freundii</i> à 7 antibiotiques (AM/TI/CTX/TE/GM/C/CIP).	194
Planche 46	Résistance d'une souche d' <i>Escherichia coli</i> à 6 antibiotiques (AM/TI/CF/CTX/GM/AN).	195
Planche 47	Résistance de la souche <i>Pseudomonas luteola</i> à 9 antibiotiques (AM/TI/CF/TE/GM/CIP/NA/NIT/FOS)	198
Planche 48	Résistance de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à 8 antibiotiques (AM/TI/CF/CTX/TE/C/CIP/NA).	198

---

## Liste des Schémas

<b>Schéma</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Schéma 1	Recherche et dénombrement des germes totaux.	44
Schéma 2	Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes fécaux et d' <i>Escherichia coli</i> .	47
Schéma 3	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.	49
Schéma 4	Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.	51
Schéma 5	Isolement des entérobactéries pathogènes.	54
Schéma 6	Recherche des vibrions cholériques.	60
Schéma 7	Isolement et identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	64
Schéma 8	Isolement et identification des staphylocoques pathogènes.	67

## Symboles et abréviations

<b>ACP</b> : Analyse en Composantes Principales	<b>MAR</b> : Multi- Antimicrobial Resistant
<b>API</b> : Analytique Prophylactic Index	<b>MES</b> : Matière en suspension
<b>ASR</b> : Anaérobies Sulfito-Réducteur	<b>mg/l</b> : milligramme/litre
<b>ATCC</b> : American Type Culture Collection	<b>mV</b> : milli Volt
<b>CAH</b> : Classification Ascendante Hiérarchique	<b>NF</b> : Norme Française
<b>CF</b> : Coliformes Fécaux	<b>NPP</b> : Nombre le Plus Probable
<b>CIP</b> : Collection de l'Institut Pasteur	<b>OMS</b> : Organisation Mondiale de la Santé
<b>CO<sub>2</sub></b> : Dioxyde de carbone	<b>PCA</b> : Plat Count Agar
<b>Cos</b> : Cosinus	<b>pH</b> : Potentiel Hydrogène
<b>CT</b> : Coliforme Totaux	<b>PNEK</b> : Parc National d'El Kala
<b>°C</b> : Degré Celsius	<b>rH</b> : Potentiel redox
<b>D/C</b> : Double Concentration	<b>rp</b> : Coefficient de corrélation de Spearman
<b>DO</b> : Densité Optique	<b>S/C</b> : Simple Concentration
<b>EC</b> : <i>Escherichia coli</i>	<b>SF</b> : Streptocoques Fécaux
<b>EN</b> : Norme Européenne	<b>TDS</b> : Totale des Solides Dissous
<b>FAO</b> : Food and Agriculture Organisation	<b>Tr</b> : Tour
<b>GN</b> : Gélose Nutritive	<b>TSI</b> : Triple Sugar Iron
<b>GT</b> : Germes Totaux	<b>UFC</b> : Unité Formant Colonie
<b>H<sub>2</sub>S</b> : Hydrogène Sulfuré	<b>PSU</b> : Pratical Salinity Unit
<b>ISO</b> : International Organization of Standardization	<b>UV</b> : Ultra-Violet
<b>KOH</b> : Hydroxyde de potassium	<b>µS/cm</b> : micro-Siemens/centimètre
<b>Log</b> : Logarithme	

# **Introduction générale**

## Introduction

L'eau est un élément vital indispensable à la vie de tous les êtres vivants sur terre, c'est le lieu où la vie pris naissance et une grande partie des phénomènes vitaux s'y déroule encore.

Les eaux de surface occupent la plus grande partie du globe terrestre ; elles sont essentielles pour la vie, et sont au centre de toutes activités humaines: l'agriculture, la production industrielle, la pêche, et le tourisme. Elles jouent un rôle central dans le développement des civilisations humaines. Celles-ci ont été liées aux cours d'eau, lesquels, à leur tour, sont complètement interdépendants avec les paysages dont ils font partie. Les cours d'eau, ainsi que leurs corridors, sont parmi les écosystèmes les plus complexes et dynamiques (Dynesius & Nilsson, 1994). Ils jouent des rôles essentiels dans la conservation de la biodiversité, dans le fonctionnement des organismes et dans les cycles de matière organique (Everard & Powell, 2002).

Actuellement, la plupart des cours d'eau souffrent des effets anthropiques ; les pâturages, l'agriculture, le déboisement, les rejets industriels, les eaux usées et les déchets solides sont les principales perturbations humaines (Poff *et al.*, 1997).

L'ensemble de ces activités anthropiques contribue à déstabiliser l'équilibre environnemental et à créer des pollutions directement nuisibles pour la vie aquatique, et indirectement néfastes à l'ensemble de la biosphère en raison des échanges entre les compartiments aquatique, terrestre et atmosphérique. En effet, les modifications de la morphologie des cours d'eau, leurs usages et leurs propriétés physico-chimiques auront des conséquences sur la qualité de l'eau. La dégradation des habitats et leur fragmentation ainsi que les translocations des espèces et la surpêche peuvent causer également des graves problèmes sur les populations de poissons peuplant les cours d'eau (Cowx & Collares-Pereira, 2002).

La pollution des cours d'eau par les agents pathogènes est particulièrement problématique, de par l'enjeu écologique et humain que représentent ces ressources. Elle est à l'origine de différentes maladies hydriques responsables de vastes épidémies de dysenterie, fièvre typhoïde, cholera et autre (Boo Saab, 2007). Ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé de la population des pays en voie de développement. Parallèlement à ce problème, l'émergence des bactéries antibio-résistantes dans les environnements aquatiques est un phénomène très inquiétant quant à ses conséquences sur la santé publique (OMS, 2001).

La dégradation de la qualité microbiologique des cours d'eau a des impacts majeurs sur les cycles hydrologiques, l'autoépuration, l'habitat pour la biodiversité, la structure des organismes aquatiques et la santé publique ; certaines espèces bactériennes produisent des substances toxiques qui, lorsqu'elles sont accumulées par des organismes filtreurs (poissons, bivalves, crevettes, ...), sont dangereuses pour l'homme qui va ensuite les consommer (Wilzbach *et al.*, 1999 ; Walmsley 2002, Sweeney *et al.*, 2004).

Dans le cadre de cette étude nous tenterons d'évaluer dans un premier temps la qualité bactériologique d'un corridor biologique « le canal Messida », pour ensuite déterminer le niveau de contamination bactériologique des organismes qui y vivent.

Le canal Messida constitue l'exutoire du bassin versant du lac Tonga, dont les eaux sont destinées à plusieurs activités : l'irrigation, la pêche, et même des activités touristiques. De plus, ce canal est un corridor biologique qui permet à différentes espèces de poissons de se déplacer de la mer Méditerranée vers le lac Tonga et vice versa. Au cours de la période pluvieuse, le canal Messida constitue une zone de pêche assez importante pour les habitants de la région ; les poissons pêchés en quantité relativement élevée par des méthodes artisanales sont vendus aux consommateurs sans contrôle sanitaire préalable. Cependant, les eaux du canal sont soumises à plusieurs sources de pollution d'origines diverses en raison des surpâturages, des activités agricoles, des apports véhiculés par les eaux du lac Tonga, ainsi que des activités touristiques. Pour dresser un bilan sanitaire relatif aux eaux du canal Messida nous nous sommes penchés sur l'identification des dangers que représentent certains facteurs abiotiques et biotiques potentiels et sur l'évaluation des risques possibles qui menacent les organismes aquatiques et l'homme. Pour cela nous nous sommes fixés trois objectifs majeurs :

- L'évaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux du canal Messida ;
- L'étude de l'influence de certains paramètres abiotiques sur la distribution des contaminants fécaux dans les eaux du canal Messida, par l'application d'analyses statistiques appropriées en utilisant le logiciel 'R',
- La détermination de l'impact de la pollution des eaux du canal Messida sur la santé animale et publique. Pour répondre à cet objectif, nous avons procédé à l'évaluation de l'état sanitaire d'un poisson très fréquent dans le site d'étude : le carassin commun *Carassius carassius* ; pour cela, nous avons effectué, d'une part, un

examen macroscopique du poisson (selon le « code pathologique ») et d'autre part, nous avons réalisé une analyse bactériologique des branchies, du mucus et des muscles, en raison de leurs capacités à accumuler des polluants du milieu. Par la suite nous avons recherché une éventuelle dissémination de bactéries antibiotiques résistantes présentes dans les eaux et le poisson.

Cette thèse comporte trois parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont traitées les questions relatives à l'écosystème canalisé et les différents types de pollution et leurs conséquences sur cet écosystème. L'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique, spécifique à ces milieux y est également présentée.
- La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés. Nous avons présenté, tout d'abord, une description du site d'étude : caractéristiques géomorphologiques, diversité biologique, activités anthropiques et climatologie. Ensuite, nous avons procédé à la description détaillée des techniques de prélèvements et les méthodes d'analyses réalisées (physico chimie et bactériologie) ainsi que les traitements statistiques utilisés pour l'exploitation des données expérimentales obtenues.
- La troisième partie comporte deux volets, le premier, porte de l'interprétation des résultats obtenus lors du suivi spatio-temporel des paramètres physico-chimiques et bactériologiques ainsi que ceux de l'identification de la communauté bactérienne aquatique. Il décrit, enfin, les résultats d'analyses statistiques uni et multi variées. Une discussion de l'ensemble des résultats obtenus vient clôturer ce volet. Le deuxième volet traite de l'impact de la pollution des eaux du canal Messida sur la santé animale et humaine. Il comporte, tout d'abord, les résultats de l'état de santé et de la qualité bactériologique du poisson *Carassius carassius* peuplant le canal ; ensuite, sont rapportés les résultats des deux études de cas concernant l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux du canal Messida et chez le poisson peuplant ce site.

# **I. Synthèse bibliographique**

## I.1. Généralités sur l'écosystème canal

Depuis longtemps, l'homme a développé la canalisation dans un but principalement économique, ayant pour objectif premier de faciliter ses activités, en particulier le transport par bateau des marchandises entre les mines, les usines, les industries et les grands ports (Van Eetvelde & Antrop, 2005). Mais les canaux ont également trouvé d'autres fonctions, comme la protection contre les inondations, et la présence d'une source d'eau pour l'agriculture.

Plus récemment, un intérêt écologique aux canaux a été avancé ; en effet les canaux constituent une voie privilégiée pour l'expansion des aires de répartition de certaines espèces végétales et animales, permettant ainsi les échanges de plusieurs organismes aquatique depuis les bassins versants en amont jusqu'à la mer (Deng & Singh, 2002) jouant le rôle des corridors écologiques (CETMEF, 2000). La faune et la flore autochtones des canaux sont donc soumises à une pression de compétition très forte, perpétrée par de nombreux organismes (Boets *et al.*, 2012; Souben *et al.*, 2012).

Le fonctionnement physique et biologique des canaux est contrôlé par des contraintes environnementales variées conduisant à une grande variabilité spatiale et temporelle. Ils présentent une hydrologie particulière marquée par une forte inertie, caractérisée par une sensibilité plus accrue aux variations naturelles (variation saisonnière, événements climatiques intenses...). Cette inertie a de fortes conséquences sur les paramètres physico-chimiques de l'eau du canal, et favorise d'importants écarts de température entre les saisons, parfois marqués par des prises en glace en hiver et au contraire une très forte température en été, conduisant à un déficit en oxygène dissous et à l'asphyxie des espèces aquatiques (CETMEF, 2000).

Le ruissellement favorise une forte densité de particules en suspension, de nitrates et de phosphates (issus des zones agricoles) dans la colonne d'eau, apportées par les berges. Les apports en nutriments contribuent alors à l'enrichissement progressif de la colonne d'eau, favorables à l'eutrophisation du milieu (CETMEF, 2000).

Dès 1935, Tansley, (Ramade, 2003) a décrit un écosystème comme étant l'association d'un environnement physico-chimique spécifique avec une communauté

vivante. L'organisation globale des cours d'eau et des canaux est ainsi à la base des notions d'écologie fondamentale. En effet, les milieux lotiques (où le renouvellement des eaux est rapide), caractérisés par un ensemble de facteurs de nature physique et chimique (localisation géographique, intensité du courant, concentrations en éléments minéraux, intensité des flux de matière...) définissent des biotopes particuliers auxquels sont associés des systèmes biologiques complexes, les biocénoses, constituées de communautés spécifiques, d'associations de micro-organismes, de plantes et animaux inféodés à un milieu particulier.

A l'origine de la chaîne alimentaire et contribuant à la production primaire, les microorganismes jouent un rôle prépondérant dans les flux de matière et d'énergie au sein des écosystèmes aquatiques formant ainsi, par des interactions multiples, un réseau trophique microbien extrêmement complexe (Pace & Cole, 1996).

Nous distinguons les microorganismes autotrophes et hétérotrophes. Parmi les autotrophes, utilisant le  $\text{CO}_2$  comme source de carbone, les microorganismes photosynthétiques (phytoplancton, protozoaires chlorophylliens, cyanobactéries) et les microorganismes chimiolithotrophes (intervenant dans les cycles de l'azote, du soufre et du fer). Ces microorganismes jouent un rôle primordial dans la production primaire et le recyclage des nutriments au sein des milieux aquatiques. Le rôle des microorganismes hétérotrophes (bactéries, protozoaires, microzooplancton) est primordial dans le recyclage du carbone. Ils utilisent le carbone organique en conditions aérobies et/ou anaérobies et permettent le recyclage et la remise à disposition de la matière organique, à travers la boucle microbienne venant se greffer sur la chaîne trophique classique. Les transferts vers les niveaux trophiques supérieurs peuvent conduire à des pertes en carbone (sous forme de  $\text{CO}_2$  ou de  $\text{CH}_4$ ), en phosphate et en azote, remis à disposition des producteurs primaires sous forme minérale (par exemple :  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) (Bianchi, 1998).

Les microorganismes autochtones des milieux lotiques peuvent être planctoniques ou attachés à des surfaces (biofilm ou périphyton accroché aux matériaux immergés) ou encore fixés aux particules minérales et organiques fines en suspension dans la colonne d'eau. La présence ou l'absence d'une source de carbone et d'énergie (organique ou minérale), induit une première spatialisation, la présence de lumière favorise les individus

phototrophes, et enfin la présence ou non d'oxygène permet l'installation des microorganismes aérobies ou anaérobies, respectivement (Böckelmann *et al.*, 2000 & 2002).

Les canaux sont des milieux particulièrement sensibles aux contaminants de toutes sortes, ayant servi pendant des années de lieux de réceptacle des eaux usées (effluents industriels, effluents domestiques...) ou de ruissellement (AESN, 2009). Des événements climatiques importants sont par ailleurs susceptibles d'accentuer le ruissellement et d'apporter encore plus de contaminants aux canaux (Neal *et al.*, 2006).

## **I.2. Pollution des écosystèmes canaux**

L'eau est une ressource avec des applications dans des domaines très variés. En effet, aujourd'hui, l'homme prend possession des milieux aquatiques pour satisfaire ses activités récréatives (baignade, pêche...) et convoite également grandement les ressources destinées à l'eau potable, pour son alimentation et son confort sanitaire. Les canaux sont en outre utilisés depuis longtemps à des fins commerciales et économiques (transport fluvial, irrigation des sols cultivés...). Toutes ces activités humaines conduisent à la pollution de ces cours d'eau, auxquelles s'ajoutent de multiples rejets domestiques et industriels ainsi que les apports par le lessivage des sols agricoles et miniers (Holt, 2000).

### **I.2.1. Sources multiples de pollutions**

Aujourd'hui, la quasi-totalité des milieux aquatiques est anthropisée. En milieu rural, l'agriculture est la source majeure de pollutions diffuses à laquelle s'ajoute, dans les milieux urbains, les pollutions ponctuelles des effluents domestiques de stations d'épurations ou industriels (Islam & Tanaka, 2004). Les retombées atmosphériques constituent également une autre source de pollution, plutôt diffuse ; des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) peuvent être détectés dans les cours d'eau et sédiments marins relativement loin de leurs sources d'émission (Tsapakis *et al.*, 2003 ; Motelay-Massei *et al.*, 2004).

Ces pollutions, ponctuelles ou diffuses, d'origine urbaine ou agricole, sont souvent la source des mêmes contaminants (pesticides, herbicides, nutriments, matière organique, métaux lourds, macropolluants, et microorganismes) (Warren *et al.*, 2003 ; Islam & Tanaka, 2004). Les pollutions ponctuelles sont généralement peu variables dans le temps

(au niveau du volume et des concentrations déversées), elles sont facilement identifiables, et leur impact est plus marqué en période d'étiage estival, surtout lors des temps de pluie estivaux (Seidl *et al.*, 1998). Au contraire, les pollutions diffuses sont difficiles à caractériser dans l'espace et dans le temps car leurs quantités et qualités sont très variables, elles dépendent beaucoup des événements pluvieux et des interactions avec les aquifères (pour l'azote en particulier) (Thornton & Jeffrey, 1999).

### **I.2.2. Différents types de pollution**

La pollution de l'eau est une dégradation physique, chimique ou biologique de ses qualités naturelles, provoquée par l'homme et par ses activités. Elle perturbe les conditions de vie et l'équilibre du milieu aquatique et compromet les utilisations de l'eau.

Il existe différents types de pollution :

- La pollution physique : elle peut être une pollution radioactive ou thermique.
- La pollution chimique : qui est due à des substances chimiques telles que : l'azote, le phosphate, les médicaments, les métaux lourds, les hydrocarbures, les pesticides.... (Bacilico *et al.*, 2013).
- La pollution microbiologique : qui désigne la présence des microorganismes : bactéries (coliformes, *Salmonella*, *Staphylocoques*, *vibrions*...), virus (virus de l'hépatite, entérovirus...), champignons (*Candida*, *Torula*....), protozoaires et les oeufs de parasites (*Ascaris*, *Tenia*....). Ces microorganismes sont à l'origine de contamination des milieux aquatiques, ils proviennent principalement des eaux usées improprement traitées ou des eaux de ruissellement provenant d'installations d'élevage (Rodier *et al.*, 2005).

## **I.3. Contamination bactériologique de l'eau**

### **I.3.1. Facteurs contrôlant la pollution bactériologique**

Les processus contrôlant le devenir des bactéries dans l'environnement aquatique peuvent être divisés en: processus hydrodynamiques, biotiques et physiologiques (Troussellier *et al.*, 1998).

- Les processus hydrodynamiques incluent la dilution dans le milieu aquatique récepteur, la dispersion, la sédimentation et la resuspension : les deux premiers processus dépendent uniquement de l'hydrodynamique du système tandis que les deux derniers sont conditionnés par l'attachement des bactéries fécales à des matières en suspension (Garcia-Armisen, 2006).
- Les processus biotiques sont: la prédation par des protozoaires, la lyse induite par des bactériophages et la compétition avec les flores autochtones (Rozen & Belkin, 2001).
- Les processus physiologiques font référence à la réponse cellulaire des bactéries face aux conditions stressantes rencontrées dans ce nouvel environnement. Les paramètres environnementaux responsables des conditions stressantes sont entre autres: la température de l'eau, la lumière solaire, la carence en nutriments et la salinité (Garcia-Armisen, 2006).

Aujourd'hui il y a un autre facteur qui a un effet sur la présence et la résistance de la flore bactérienne dans les milieux aquatiques : ce sont les antibiotiques.

Toutefois, par leurs actions bactéricide ou bactériostatique, la contamination des eaux par les antibiotiques peuvent inhiber l'activité des communautés bactériennes fonctionnelles et/ou sélectionner des souches antibio-résistantes (Davies *et al.*, 2006 ; Córdova-Kreylos & Scow, 2007 ; Fajardo & Martinez, 2008).

L'émergence des bactéries antibio-résistantes dans les écosystèmes aquatiques est devenue un phénomène d'écologie globale (Petit, 2010).

### **I.3.2. Émergence des bactéries antibio-résistantes dans l'environnement aquatique**

L'utilisation excessive d'antibiotiques mène à la sélection de bactéries résistantes dans l'écosystème où ils sont utilisés. Le passage de bactéries ayant acquis une ou plusieurs résistances, ou le transfert de gènes de résistance, depuis le réservoir où s'exerce la pression de sélection par l'antibiotique, vers un autre réservoir tel que les milieux aquatiques, fait craindre la contamination d'autres animaux mais également de l'homme par des bactéries multi-résistantes, avec la perspective de situations où toute antibiothérapie deviendrait inefficace (Velge *et al.*, 2005).

La sélection de ces bactéries résistantes aux antibiotiques pathogènes ou non pathogènes dans le tube digestif de l'animal et de l'homme, pouvant contaminer les eaux de surface,

le problème général de ces bactéries c'est qu'elles persistent dans l'eau. Les environnements naturels seraient donc des réservoirs favorisant le phénomène de l'antibio-résistance et la diffusion des bactéries et l'échange de leurs gènes de résistance entre espèces différentes (homme, animal) (Berthe *et al.*, 2005). La dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques est essentiellement due à la conjugaison bactérienne et/ou la transposition. La mutation peut également être responsable de l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques (Andersson & Hughes, 2010).

Plusieurs études confirment la présence de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques dans les écosystèmes aquatiques ; dans le cadre du programme Seine-aval, Berthe *et al.* (2005). montrent la présence d'*E. coli* multirésistantes aux antibiotiques dans les eaux de l'estuaire de la Seine. Une étude de Koenraad *et al.* (1994), dans des eaux usées d'élevages, révèlent la présence de 30 % de *Campylobacter* résistants. Junco *et al.* (2001) observent une augmentation de la fréquence de bactéries résistantes dans les eaux de mer. Le phénomène concerne aussi les eaux souterraines (MacKeon *et al.*, 1995), les eaux potables (Leclerc *et al.*, 1996) et même les eaux embouteillées (Massa *et al.*, 1995).

Dans des eaux potables, Leclerc *et al.*, (1996), montrent dans le Pas-de-Calais que 100% des *Aeromonas hydrophila* et 88% des *Klebsiella pneumoniae* résistent à l'ampicilline. Dans les pays industrialisés, Albrich *et al.*, (2004) montrent une corrélation positive entre la quantité d'antibiotiques utilisés par habitant et le pourcentage de souches de *Streptococcus pneumoniae* résistantes à la pénicilline et aux macrolides.

#### **I.4. Conséquences de la pollution des eaux des canaux**

La qualité de l'eau du canal est en lien plus ou moins étroit avec celle d'autres systèmes hydriques (affluents, nappes phréatiques). Elle conditionne la qualité de vie des organismes aquatiques, qui peut être influencée à la fois par les paramètres physiques (température, luminosité, vitesse du courant, débit), chimiques (teneurs en nutriments et contaminants) et biologiques (compétition, prédation...) (Prygiel, 2013).

- **Risques abiotiques**

La modification des paramètres physico-chimiques est susceptible de perturber les fonctions du cours d'eau, notamment la potentialité biologique de l'eau (son aptitude à permettre la vie) (Souben *et al.*, 2012).

L'activité métabolique des organismes aquatiques est accélérée lorsque la température de l'eau s'accroît (Villers *et al.*, 2005). Ce paramètre influe sur beaucoup d'autres paramètres. C'est en premier lieu le cas pour l'oxygène dissous indispensable à la vie aquatique : plus la température de l'eau s'élève, plus la quantité d'oxygène dissous baisse. La diminution de la concentration en oxygène est défavorable à la vie piscicole et peut avoir des conséquences néfastes et durables sur la qualité des habitats aquatiques et des sites de reproduction. Lorsque l'eau est trop peu oxygénée, les conditions d'anaérobiose risquent également de se traduire par une accumulation de composés ammoniacés et de nitrites susceptibles d'intoxiquer la faune (Rodier *et al.*, 2005).

Le pH d'une eau naturelle peut varier de 4 à 10 en fonction de la nature acide ou basique des terrains traversés. Des pH faibles (eaux acides) augmentent notamment le risque de présence de métaux sous une forme ionique plus toxique. Des pH élevés augmentent les concentrations d'ammoniac, toxique pour les poissons (Villers *et al.*, 2005). Dans les deux cas les effets des valeurs extrêmes de pH sont multiples et se traduisent surtout chez les poissons par des lésions de l'épithélium branchiales et des modifications de l'hémoglobine du sang (Bruslé & Quignard, 2004).

Qu'elle soit d'origine naturelle ou anthropique, la salinisation provoque une augmentation de la pression osmotique et une forte concentration de certains ions (ex. sodium...) qui sont toxiques pour la plupart des organismes vivants. La concentration en sels à l'intérieur des animaux aquatiques d'eau douce est plus importante que dans leur milieu ambiant et ils dépensent de l'énergie continuellement pour maintenir cette différence de concentration ; le milieu interne étant hypertonique par rapport au milieu ambiant, les organismes doivent continuellement faire face à un problème d'ions qui tendent à sortir de leur milieu interne et d'eau qui tend à y entrer (Hwang & Lee, 2007).

les forts taux de matières en suspension dans la colonne d'eau des canaux présentent des risques d'interférences dans les fonctions de reproduction, de respiration ou de filtration des organismes (Dodds, 2002), et la diminution de transparence de l'eau ainsi

occasionnée peut alors favoriser des espèces habituées aux faibles conditions d'éclairement (Prygiel & Leitao, 1994).

L'eutrophisation peut avoir des effets létaux ou sous-létaux. Les effets létaux causent la mort des organismes aquatiques du cours d'eau par asphyxie, les effets sous-létaux ont plutôt comme conséquence une réorientation de l'énergie qui servait à la base pour l'alimentation et la croissance des organismes aquatiques vers des mécanismes de tolérance, comme une augmentation du coût métabolique de la respiration (Woodcock & Huryn, 2007).

La pollution organique s'accompagne d'une accumulation de sédiments, elle affectera d'une façon plus importante la faune qui se trouve dans une zone à débit lent où les sédiments auront tendance à se déposer. Par exemple certains macroinvertébrés benthiques qui sont présents et abondants dans tous les types de cours d'eau, petits ou grands (Camargo *et al.*, 2004), consomment de façon importante des sédiments pollués et ils seront ainsi exposés à une plus grande quantité de polluant (Woodcock & Huryn, 2007).

Les communautés piscicoles sont également fortement impactées par la qualité de l'eau, par la perte d'abondance de leur principale source de nourriture, les macroinvertébrés (Bishop, 2008), mais aussi par les effets dus à la remise en suspension : colmatage des branchies et habitats incompatibles avec le développement des larves. Un nouveau modèle basé sur les alevins de poissons (Leclere *et al.*, 2012) a mis en évidence que les jeunes organismes semblent plus sensibles aux perturbations de leur habitat, induites par la navigation, que par la qualité de l'eau.

Les métaux sont naturellement présents dans les roches et minerais de la croûte terrestre, généralement sous la forme d'oxydes, de carbonates, de silicates ou de sulfures. A ces apports naturels se sont ajoutés les métaux émis à la suite des activités humaines (métallurgie, combustion des matériaux fossiles et des carburants, épandage de produits phytosanitaires et de fertilisants en agriculture). Les métaux sont présents dans la colonne d'eau sous forme d'ions libres, de complexes inorganiques et organiques dissous, ou sont liés aux particules en suspension (Rocher, 2003).

Certains métaux sont essentiels pour les organismes vivants (cuivre, zinc, cobalt, fer, manganèse ...) et indispensables à certaines fonctions biologiques mais l'augmentation de leur concentration peut aboutir à des phénomènes de toxicité sur les organismes. Pour d'autres éléments tels que l'argent, le cadmium, le mercure et le plomb, ce caractère essentiel n'a pas été détecté (Mason & Jenkins, 1995). Ils entraînent des effets biologiques délétères (aigus ou chroniques) à de très faibles concentrations. Les effets observés se manifestent notamment par un retard de développement des embryons, des malformations, et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés (Calamari & Naeve, 1994).

- **Risques microbiologiques**

Pour un niveau de contamination microbiologique donné, le risque sanitaire dépend de l'usage qui est fait de l'eau. L'eau qui est directement consommée, qui est utilisée comme ressource dans une usine de production d'eau potable, qui sert pour l'hygiène, la baignade ou pour d'autres activités récréatives nautiques, ou encore qui est utilisée pour l'irrigation des cultures n'expose évidemment pas aux mêmes risques sanitaires. De ce fait, des normes différentes ont été établies pour chacun de ces usages (Garcia-Armisen, 2006).

Les bactéries, souvent de provenance intestinale, furent et restent, dans de nombreux pays, à l'origine de grandes épidémies telles que le choléra ou la typhoïde. Elles sont également responsables de pathologies plus bénignes comme des gastro-entérites. La responsabilité de certains virus (poliovirus, Norwalk, hépatite A,...) dans l'apparition de maladies d'origine hydrique a aussi été démontrée, mais les arguments épidémiologiques sont, dans certains cas, moins bien établis, notamment en raison de difficultés d'isoler certains de ces germes contenus dans les eaux (Potelon & Zysman, 1993). Sur un plan général, les pathologies d'origine microbiologique sont fréquemment d'apparition brutale et massive et peuvent, de ce fait, toucher une importante population avec des effets à court ou moyen terme (Potelon & Zysman, 1993).

L'eutrophisation des eaux des canaux peut créer des conditions environnementales favorables au développement de cyanobactéries produisant des toxines. Les toxines libérées par ces cyanobactéries sont susceptibles de provoquer des gastro-entérites, des lésions hépatiques, des troubles du système nerveux central et des irritations cutanées. L'exposition chronique à des toxines cyanobactériennes a été associée à des cancers du

foie chez l'animal et peut provoquer des effets similaires chez l'homme (Miller *et al.*, 2010).

Certains organismes aquatiques (poissons, mollusques...) accumulent passivement à leur surface des contaminants microbiens. Ils concentrent dans leurs viscères les bactéries, les virus et les protozoaires présents dans l'eau. Dans le cadre de l'aquaculture alimentée par des rejets fécaux humains et animaux (Bétails et oiseaux), ils peuvent concentrer des microorganismes pathogènes pour l'homme car certains d'entre eux sont également présents dans l'eau. Bogomolni (2008) a mis en évidence, sur des vertébrés aquatiques des Etats-Unis, 95 bactéries dont 68 reconnues comme des pathogènes humains par l'American Biological Safety Association (ABSA) dont les plus importantes sont : *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* coagulase négatif. La résistance à divers antibiotiques a été testée sur toutes ces bactéries. 61 % étaient résistantes à au moins un antibiotique.

## I.5. Évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux des canaux

### • Évaluation de la qualité physico-chimique

La qualité physico-chimique de l'eau informe sur la localisation et l'évaluation d'un niveau de pollution, en fonction d'un ensemble de paramètres. Basée sur des valeurs de référence, elle s'apprécie à l'aide de plusieurs paramètres :

- Qualité physique : matière en suspension, turbidité, transparence, température, conductivité et salinité ;
- Qualité chimique : pH, sels minéraux, matière organique (Demande Biologique en Oxygène en 5 jours, Carbone Organique Dissous), oxygène dissous, nutriments (nitrites, nitrates, ammonium, phosphate, silice), pesticides, etc.

Ces paramètres permettent d'acquérir des connaissances de base, de développer une surveillance pour détecter des perturbations et de mettre en place un suivi pour rétroagir sur la gestion (Anras & Guesdon, 2007).

Depuis 1971, la détermination des paramètres physico-chimiques est un outil très important dans les Systèmes d'Evaluation de la Qualité des cours d'eau permettant l'évaluation de la qualité de l'eau et son aptitudes à assurer certaines fonctionnalités comme : le maintien des équilibres biologique, la production d'eau potable, loisirs et

sports aquatiques, aquaculture, abreuvement des animaux et l'agriculture (Humble & Hennebert, 2008).

La surveillance de l'environnement reposait essentiellement sur un ensemble de techniques d'analyses physico-chimiques plus ou moins sensibles, menant à l'évaluation des concentrations de polluants dans l'eau, les sédiments et les organismes vivants. Cependant, bien que ces méthodes soient nécessaires pour évaluer la présence des contaminants dans le milieu, elles ne fournissent pas d'informations sur l'impact réel des molécules chimiques sur les organismes vivants. C'est pourquoi le concept de biosurveillance (ou biomonitoring) s'est développé ces dernières années afin d'étudier les effets biologiques des polluants sur les organismes (Kerambrun, 2011).

- **Évaluation de la qualité microbiologique**

Les micro-organismes pathogènes responsables des maladies hydriques sont très nombreux et variés. Actuellement et malgré le développement des méthodes moléculaires, il n'est toujours pas possible de détecter de manière exhaustive, dans un échantillon d'eau, l'ensemble des microorganismes présents.

Selon Straub & Chandler (2003), il est impossible de baser la surveillance de la qualité de l'eau sur la détection des germes pathogènes eux-mêmes du fait :

- (1) de la très grande variété et diversité des micro-organismes pathogènes qui peuvent être présents dans l'eau (virus, bactéries, protozoaires,...) ;
- (2) de la faible abondance de chaque espèce de pathogène (nécessité de concentrer de très grands volumes d'eau pour les détecter) ;
- (3) de l'inexistence de méthodes standardisées et rapides pour la détection de tous ces micro-organismes pathogènes (Rose *et al.*, 2004).

L'évaluation de la qualité microbiologique des eaux est en conséquence basée sur le concept de germes dits "indicateurs". Ces indicateurs (ou bactéries indicatrices de contamination) n'ont pas nécessairement par eux-mêmes un caractère pathogène, mais leur présence indique l'existence d'une contamination par des matières fécales et leur abondance est une indication du niveau de risque de présence de micro-organismes pathogènes. Un bon indicateur est par définition une espèce ou un groupe de bactéries qui présente certaines caractéristiques : non pathogène, présent en même temps que les pathogènes, absent en absence de contamination fécale, ne se reproduit pas dans les eaux naturelles,

inactivé par les différents traitements au même niveau que les pathogènes, la seule source dans les eaux naturelles est la contamination fécale (Rose *et al.*, 2004).

Différents groupes de bactéries sont utilisés comme indicateurs de contamination fécale dans différents pays et sous différentes juridictions. Les coliformes totaux et fécaux ont été très longtemps les principaux indicateurs de contamination fécale mais aujourd'hui, *Escherichia coli*, les streptocoques et les entérocoques intestinaux sont reconnus comme plus appropriés (Edberg *et al.*, 2000; Fewtrell & Bartram, 2001).

Par ailleurs, des études récentes ont mis en évidence le fait que l'abondance de bactéries indicatrices en général n'était pas bien corrélée à la présence de virus pathogènes (Grabow *et al.*, 2001; Baggi *et al.*, 2001). Les bactériophages et plus particulièrement les coliphages ont été proposés comme des indicateurs spécifiques pour les virus entériques. Cette approche est en plein développement mais des limitations pour l'usage des coliphages comme indicateurs subsistent:

- (i) de nombreux paramètres influencent le devenir des coliphages dans les milieux naturels (densité des bactéries hôtes, et des phages eux mêmes, température, pH, etc.) et peu d'informations pertinentes existent à ce sujet ;
- (ii) ils sont présents en nombre très variable et leur abondance n'a pas été démontrée comme ayant un rapport avec l'apparition d'infections ;
- (iii) finalement les analyses sont encore très chères et nécessitent une étape de concentration (Ashbolt *et al.*, 2001).

# **II. Matériel et Méthodes**

## II. Matériel et Méthodes

Les expérimentations entrant dans le cadre de cette étude ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Microbiologie de Département de Biologie à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, Laboratoire de Microbiologie de la Direction de la Santé DDS de la wilaya de Guelma et le Laboratoire Écobiologie des Milieux Marins et Littoraux EMMAL à l'Université Badji Mokhtar, Annaba.

### II.1. Description de la zone d'étude

#### II.1.1. PNEK

Il est situé dans l'extrême Nord-Est algérien ; Il est limité à l'Est par la frontière algéro-tunisienne, à l'Ouest par les marais de Mekhada, au Sud par les monts de Medjerda et au Nord par le littoral Méditerranéen. Il couvre environ 78 438 ha et se distingue par la diversité de son relief et de ces milieux naturels (BNEF, 1985).

Le PNEK possède un potentiel élevé en ressource en eau, au total une superficie de 55000 ha (Belhadj, 1996). Cette zone compte de nombreux plans d'eau (lac Tonga, lac Oubeira, lac d'El Mellah), nappes souterraines (nappes d'Oum Tboul, nappes d'El Tarf et les nappes du cordon dunaire), de sources (source de Bougles, source de Bourdim...) ainsi qu'un réseau important d'oueds (Oued Bougous, oued Melloul, Oued El Kebir, oued El Hout, Oued Messida, oued Day graa...) (Benyakoub, 1993).

En hydrologie, le terme bassin versant, ou bassin hydrographique désigne le territoire sur lequel toutes les eaux de surface s'écoulent vers un même point appelé 'exutoire du bassin versant'. Il est délimité physiquement par la ligne des crêtes, des collines et des hauteurs du territoire, que l'on appelle 'ligne de partage des eaux' (SIWI, 2006).

#### II.1.2. Bassin versant du lac Tonga

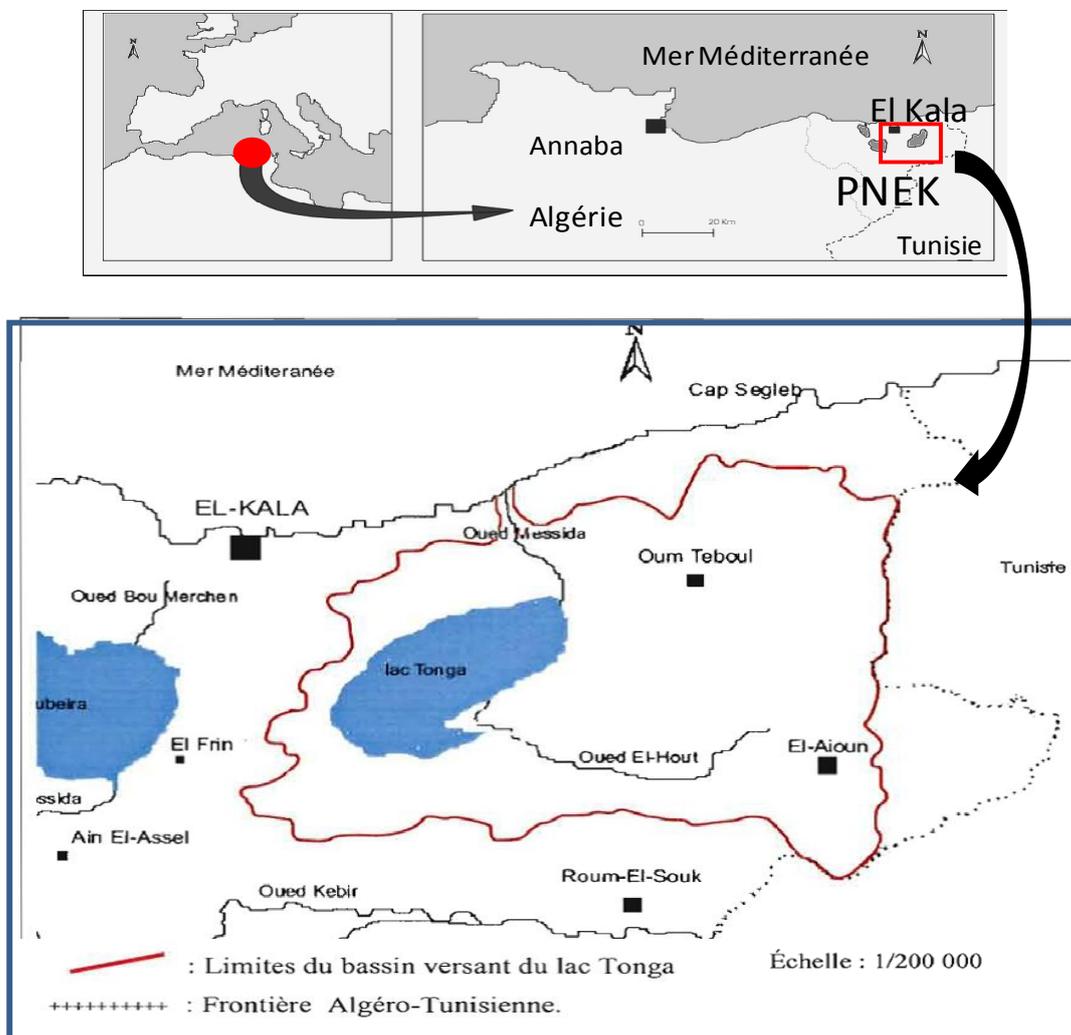
Il totalise une superficie d'environ 15 000 ha ; selon Abdiouene (1998) ; il est constitué de trois sous-bassins (Fig.1):

- Le sous-bassin versant d'Oued El Eurg au Nord, ce dernier draine les eaux du Nord-Est et de l'Est. La route d'Oum Tebboul à El Aïoun délimite la ligne de partage des eaux entre ces deux sous-bassins versants.

- Le sous-bassin versant d'Oued El Hout au Sud; ce dernier est limité au Nord par une série de Kefs (à altitude variant d'Ouest en Est entre 209 m et 513 ml, à l'Est par la route d'El Aioun à Ain Draham et au Sud par la route d'El Aioun à la mechta Oued el Hout.
- La zone qui s'étend depuis la bordure Sud du massif dunaire de la rive gauche du canal Messida jusqu'à la rive Sud du lac.

### II.1.3. Lac Tonga

Ce lac s'étend sur 7,5 Km de long et 4 Km de large ; il est limité sur toute sa partie Ouest, Sud et Est par les derniers contreforts des montagnes de la Kroumirie, au Nord-Ouest par les collines gréseuses qui le séparent du lac Oubeira et au Nord par le cordon dunaire littoral qui le sépare de la mer Méditerranée. D'une profondeur moyenne de 1,5 à 2 m distant de 3 km à la mer et relié à cette dernière par le canal de la Messida (Raachi, 2007).



**Figure 1:** Carte de délimitation du bassin versant du lac Tonga (Raachi, 2007).

- Notre étude a eu pour cadre spécifique le canal Messida qui a fait l'objet d'une enquête de terrain qui nous a permis, d'une part, de recueillir des données théoriques et d'autre part, de connaître l'importance écologique de la ressource en eau et son usage par les collectivités et les riverains.

### **II.1.3. Canal Messida**

C'est un oued artificiel creusé pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga ; ses coordonnées géographiques sont comprises entre 36° 53' 60 N et 8° 31' 0E. Il se trouve à environ 22 km de la frontière Algéro-Tunisienne à l'Est, et à environ 11 km de la ville d'El Kala à l'Ouest.

Cet écosystème lotique est limité par le lac Tonga au Sud, la mer Méditerranée au Nord, les plaines de la commune de Souarekh à l'Est et les pinèdes qui fixent la plus grande partie de la dune de la plage Messida à l'Ouest. Il relie le lac Tonga avec la mer Méditerranée, et constitue un milieu spécifique en matière de régulation hydrique au niveau d'eau du lac Tonga. La saisonnalité très marquée (inondation et assèchement) rend plus complexe la dynamique de fonctionnement de cet écosystème et les équilibres naturels en jeu (Raachi, 2007).

Ce canal est interdépendant du reste du bassin versant du lac Tonga d'un point de vue spatial et écologique. Il connaît une multitude d'activités et d'usages qui représentent des enjeux forts pour le contrôle de l'accès à la ressource en eau par les différents groupes d'usagers. Par ailleurs, des menaces très intenses pèsent sur ce milieu, situé dans une des régions les plus convoitées du pays (Raachi, 2007).

#### **II.1.3.1. Caractéristiques du canal Messida**

Les caractéristiques générales du canal Messida sont résumées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Principaux caractères du canal Messida.**

Caractéristiques	Le canal Messida
Type	Canal
Largeur moyenne (m)	> 3
Profondeur moyenne (m)	1.5 – 2
Vitesse du courant	Forte pendant la crue ; modérée à lente pendant l'étiage
Type du terrain (lit du cours d'eau)	A dominance de sable ; peu de : gravier, grosses pièces, boue.
Conditions du fond	Branches, feuilles, déchets, matière organique en décomposition
Structure des bords	Naturelle
Exposition	Ouvert
Végétation aquatique	'Abondante' sur les bords, 'modérée' au milieu
Environnements aux alentours	Auberge, agriculture, pâturage, pépinière, quelques habitations (village Mechtob)

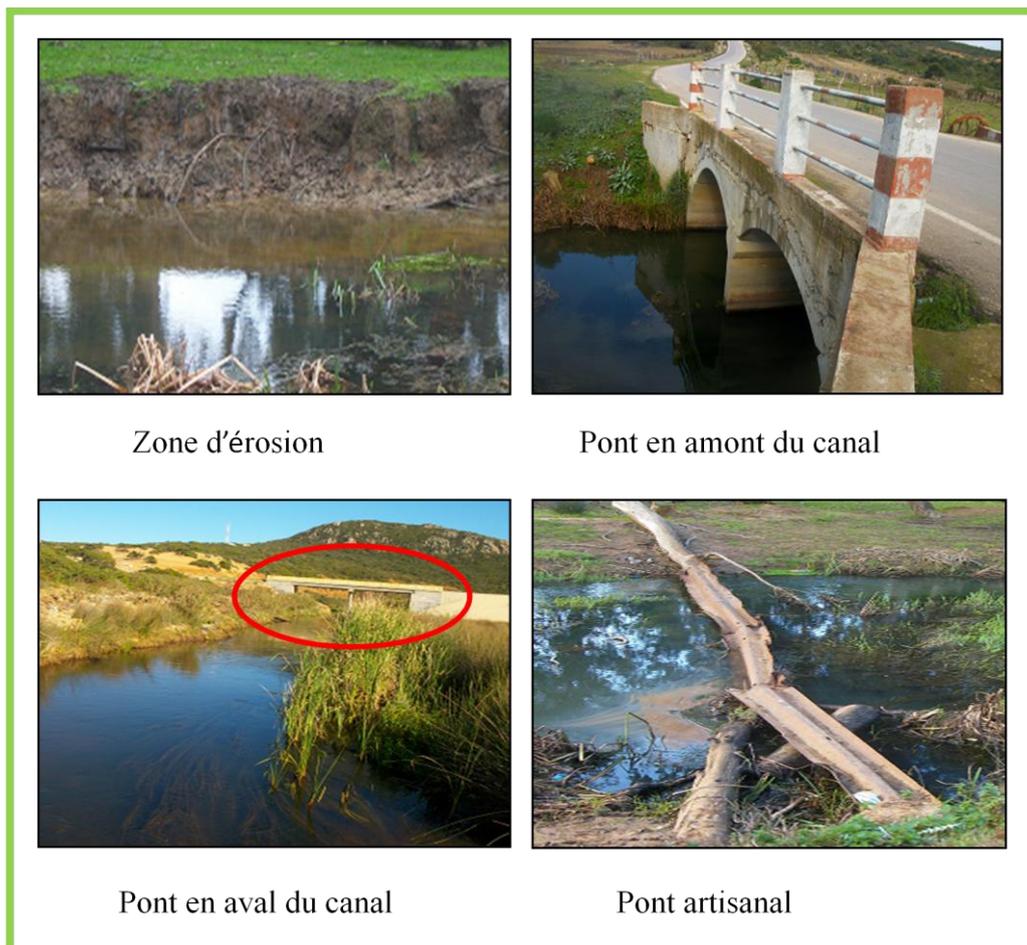
- **Milieu physique**

Le fonctionnement d'un cours d'eau fait appel aux processus hydrodynamiques (écoulement, débordement et infiltration) et morphodynamiques (érosion, transport et sédimentation). Ces processus s'expriment à l'intérieur d'un espace composite : l'hydrosystème, où l'on distingue généralement : le lit mineur composé du fond du lit, des berges, des atterrissements (bancs de galets...) et le lit majeur composé du lit d'inondation et d'annexes fluviales (bras morts ...). Cet hydrosystème est désigné par les gestionnaires du milieu aquatique sous un terme générique de milieu physique. La qualité physique d'un cours d'eau peut se définir en évaluant d'une part l'altération de son état (nature du fond ou des berges), d'une part, et la perturbation de son fonctionnement (blocage des écoulements ou des matériaux solides, limitations des débordements, ect...) d'autre part (Rejsek, 2002).

Pour caractériser le milieu physique du canal Messida nous avons donc parcouru le canal et observé les différentes perturbations rencontrées aux bords de ses rives, nous nous sommes basés sur les fiches du SEQ-Physique (Rejsek, 2002). Ceci nous a permis d'effectuer

notre relevé de terrain et d'identifié les activités susceptibles de modifier de manière réversible ou non l'état naturel du milieu.

Le canal Messida, de par le milieu à caractère rural dans lequel il évolue, a pu conserver l'état naturel de ses berges sur une bonne portion de son cours. Nous avons remarqué que le canal n'est pas doté ni de méandres ni de cascades. Nous avons noté une seule zone d'érosion sur les berges du canal devant la pépinière du Tonga, un pont artisanal situé près d'une zone de pâturage et deux ponts en béton : un situé sur la route N° 44 et l'autre sur la route allant vers la plage Messida (Fig. 2).



**Figure 2** : Zone d'érosion et aménagement sur le canal Messida

(Prises le 28/04/2011 par Benhalima)

- **Pédologie**

Selon l'étude des sols du bassin versant du lac Tonga de Durand (1954), les types du sol existant le long du canal Messida sont les suivants:

- En amont (l'exutoire du lac Tonga), il existe deux types de sol :
  - Solods : ce sont des sols absorbants insaturés à pH parfois acide et relativement riche en silice soluble.
  - Sols dunaires : ces sols sont formés de dunes non fixées ou fixées sporadiquement par des chênes kermès (*Quercus coccifera*) ou des lentisques (*Pistacia lentiscus*). Les sables provenant des grés à hélices sont peu acides.
  
- Au centre du canal Messida, on trouve les types suivants:
  - Podzols ferrugineux : ces sols lessivés se forment sous les climats humides et froids. Ils présentent en général un horizon superficiel sableux ou léger, gris sombre, à structure granuleuse, riche en matières organiques, en fer et en argile. Ils sont couverts d'une belle forêt de chênes lièges (*Quercus suber*), ou d'une forêt de chêne zéen (*Quercus canariensis*) ou afarès (*Quercus afares*).
  - Sols décalcifiés : ce sont des sols formés sur roche mère marneuse ; ils présentent un horizon superficiel brun plus ou moins sombre, enrichi en matières organiques, plus ou moins décalcifiées.
  - Sols de prairies marécageuses : la différenciation de ces sols est, en général, récente ; elle due aux travaux d'assèchement du lac, ce sont en réalité des sols de marais asséchés dont les horizons superficiels peuvent sécher jusqu'à 40 centimètres. Ils présentent toujours une forte teneur en argile, et surtout une teneur en matières organiques assez faible, le complexe absorbant est insaturé.
  
- En aval du canal Messida : près de la mer, le sol est dunaire ; on y trouve les pinèdes de la plage Messida. Ce cordon dunaire est formé essentiellement de sable quaternaire.

#### **II.1.4.2. Biodiversité écologique du canal Messida :**

Le canal Messida est un système lacustre, il renferme une faune et une flore bien diversifiée.

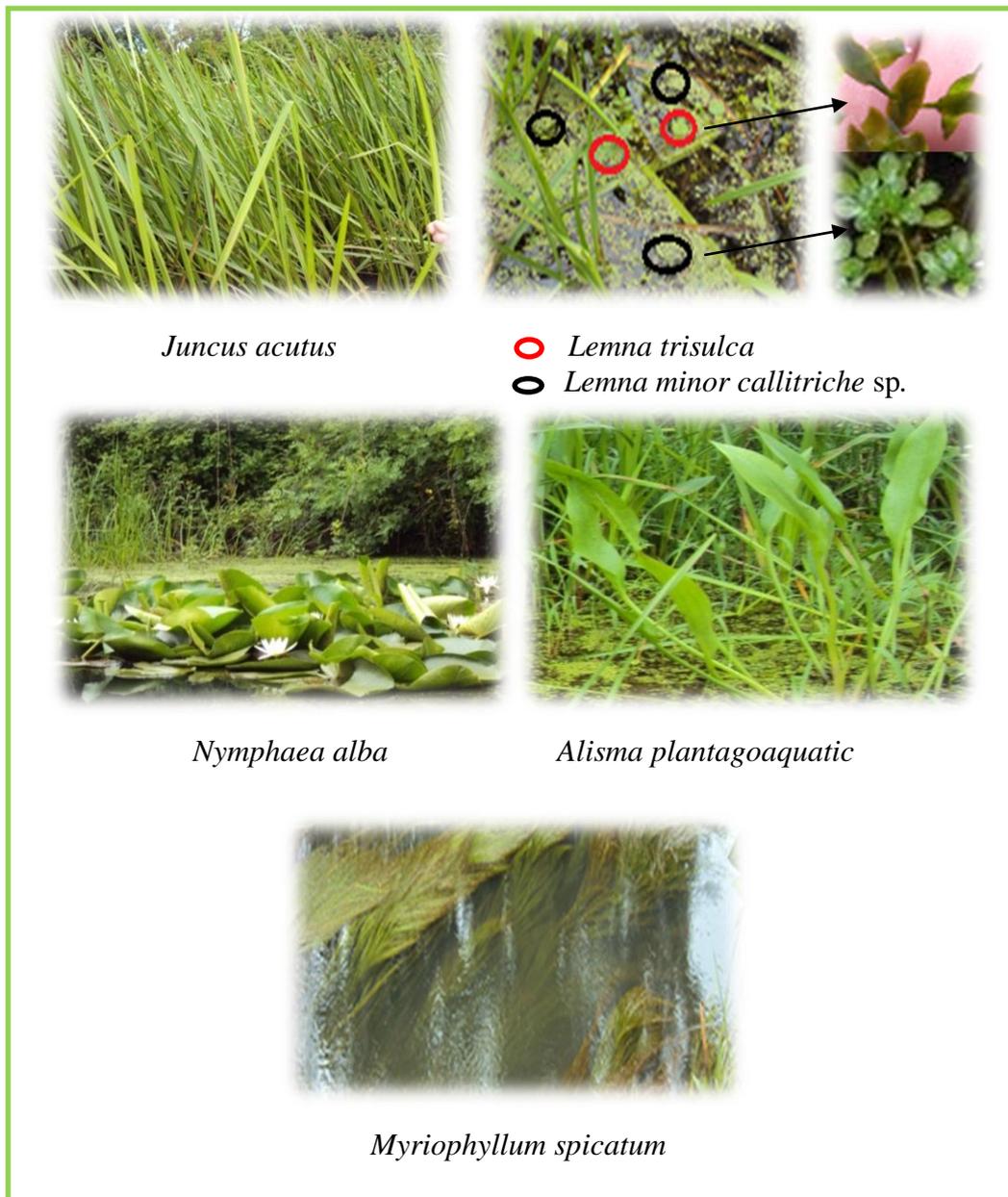
- **Végétation périphérique du canal Messida**

Les peuplements forestiers existant dans notre site d'étude sont :

- Le chêne liège (*Quercus suber*) est l'espèce arborée dominante par excellence, chêne zéen (*Quercus canariensis*) et afarés (*Quercus afares*), pin maritime (*Pinus pinastei*), pin d'Alep (*Pinus halepensis*), cèdre (*Cedrus atlantica*), et pin pignon (*Pinus pinea*), mis en place depuis 1925 pour contrer le processus d'érosion éolienne au niveau de la dune vive de la Messida située à l'Est du kef Mechtob (Monte Rotundo). Mais depuis 2000, la dune a été rasée par la mise en place de sablière (Raachi, 2007).
- Une petite formation d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et de frêne (*Fraxinus angustifolia*). La strate herbacée est formée surtout par l'Hélianthème à feuille d'arroche (*Halium halimifolium*) et R'tem (*Retama retam*) présents par taches dispersées (De Belair, 1990).
- Dans la zone littorale (le cordon dunaire) se développe convenablement le pin maritime (*Pinus pinastei*) et le maquis à chêne kermes (*Quercus coccifera*) (Raachi, 2007).

- **Végétation aquatique du canal Messida**

Le lit du chenal Messida est caractérisé par une organisation typique de végétation, sa superficie est encombrée d'herbiers flottants, d'hydrophytes courant le plan d'eau en partie. La végétation aquatique visualisée au cours de nos sorties est à dominance de : Jonc piquant (*Juncus acutus*), petite lentille d'eau (*Lemna minor callitriche* sp.), la lentille d'eau à trois sillons *Lemna trisulca*, le nénuphar blanc (*Nymphaea alba*), plantain d'eau commun (*Alisma plantago-aquatica*), mille feuilles aquatique (*Myriophyllum spicatum*), massette à feuilles étroites (*Typha angustifolia*), véroniques (*Veronica* sp.), chiendent pied de poule (*Cynodon dactylon*), Ail à tige triquètre (*Allium triquetrum*), et iris des marais (*Iris pseudacorus*). Certaines végétations aquatiques du canal Messida sont illustrées dans la figure 3.



**Figure 3:** Richesse floristique du canal Messida (prises le 28/04/2011 par Benhalima).

- **Faune**

Le canal Messida est l'exutoire du lac Tonga ; ce dernier constitue un habitat remarquable et un biotope favorable à l'installation ou la transition d'une faune riche et diversifiée et de ce fait, certaines espèces hébergeant le lac, sont présentes au niveau du canal Messida.

- **Les mammifères :** la loutre (*Lutra lutra*) espèce rare et menacée d'extinction, et le cerf de barbarie (*Cervus elaphus barbarus*) (Ghalmi, 1997).
- **Les oiseaux d'eau :** le fuligule nyroca (*Aythya nyroca*), la poule Sultane (*Porphyrio porphyrio*), la poule d'eau (*Gallinula chloropus*), la foulque macroule (*Fulca atra*), et le Héron garde-boeuf (*Bubulcus ibis*) sont les espèces qui ont été observées au cours de cette étude.
- **L'ichtyofaune :** l'anguille (*Anguilla anguilla*) est l'espèce migratrice par excellence qui peuple les eaux du canal Messida. Le Carassin commun (*Carassius carassius*) et la Gambusie (*Gambusia affinis*) sont les espèces qui ont été observées au cours de cette étude.

#### II.1.4.3. Importance et rôle des eaux du canal Messida

Le canal Messida est un cours d'eau qui joue un rôle biologique et écologique très important :

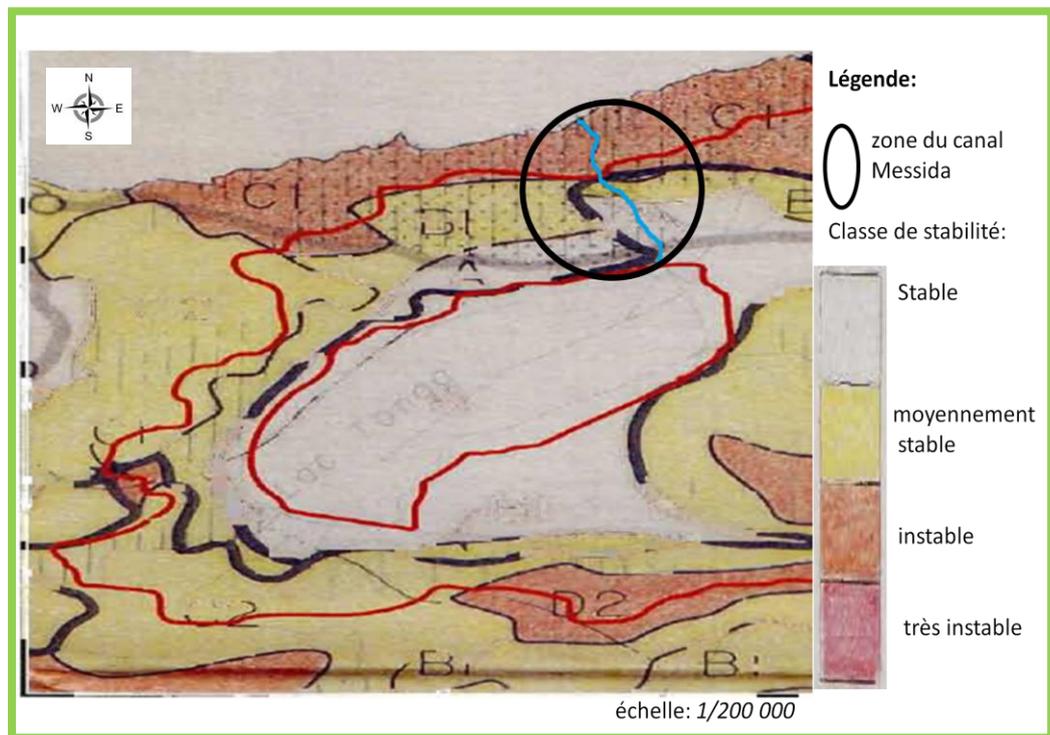
- Assure la régulation du niveau d'eau du lac Tonga afin d'éviter l'inondation des terres situées à proximité du plan d'eau ;
- Constitue un corridor biologique pour certains animaux aquatiques comme l'Anguille (*Anguilla anguilla*) ;
- Rôle de conservation important (reproduction, développement) pour la faune et la flore qu'il abrite ;
- Lieu où vaches, chèvre, chevaux et animaux sauvages viennent s'abreuver et se rafraîchir ; lieu de pâturage pour le bétail ;
- Les eaux du canal sont utilisées pour l'irrigation des aires cultivées aux alentours (maïs, cacahuète ...) et la pépinière du Tonga ;
- Constitue un site d'activités touristiques.

#### II.1.4.4. Facteurs d'altération du canal Messida

- **Érosion :** L'érosion des sols par la pluie et le ruissellement est un phénomène largement répandu en Algérie. Il prend des proportions considérables sur les pentes à cause de la nature torrentielle des pluies, de la forte vulnérabilité des terrains (sols fragiles, et couvert végétal souvent dégradé), du surpâturage et de l'impact

défavorable des activités anthropiques. Or la majorité de ces conditions, sont rassemblées au niveau du canal Messida (Raachi, 2007). Nous avons pu dresser l'estimation de l'érosion le long du canal Messida après vérification des informations sur la carte (Fig.4), et observation directe sur terrain. Nous déduisons donc que le canal Messida est caractérisé par la présence de trois types de sol en fonction de la sensibilité à l'érosion :

- La partie amont du canal est caractérisée par un sol stable (zone de plateau) ;
- Au centre du canal nous avons remarqué la présence d'un sol moyennement stable et sujet à une érosion plus ou moins intense et diffuse ;
- La partie avale (l'embouchure du canal), est constituée d'un sol instable donc sujet à une forte érosion.



**Figure 4:** Carte de sensibilité à l'érosion de la zone d'étude (source: Raachi, 2007).

- **Envahissement des plantes aquatiques :** L'absence de gestion hydraulique du lac Tonga et du canal Messida est à l'origine de l'envahissement de ces écosystèmes par la végétation aquatique. En effet la végétation qui borde les rives est parfois

favorable au piégeage des eaux surtout en période d'étiage ce qui conduit à l'accumulation de débris organiques. Les enquêtes et les observations du terrain nous ont renseignés sur une éventuelle eutrophisation du canal Messida.

- **Contamination par les rejets des eaux usées et des déchets solides :** Les eaux usées des localités fortement peuplé dans la région (Malloul, Mochtab, Souarakh et Tonga) sont totalement rejetées dans l'Oued El Eurg qui est directement lié avec le canal Messida. Il faut, aussi, signaler que les eaux usées domestiques d'Oum Teboul, oued El Hout, Ramel Souk, et El Aioun, sont déversées dans tout le réseau hydrographique du bassin versant, en raison de la défektivité des fosses septiques et des déversoirs. Des déchets solides sont aussi jetés dans les eaux du canal par les visiteurs ; ces rejets jouent également un rôle important dans la dégradation de la qualité de cet écosystème lotique.
- **La pollution agricole :** des activités agricoles sont pratiquées dans le bassin versant du lac Tonga (Raachi, 2007). Ces activités agissent directement ou indirectement et à des degrés divers sur la structure, le fonctionnement et la délimitation de l'écosystème du bassin puisqu'elles sont responsables d'apports de polluants organiques et inorganiques dans les eaux de surface et souterraines.

Au niveau du canal Messida, la pollution agricole est liée essentiellement à différentes activités (Fig.5):

- L'existence de fermes avicoles qui ne disposent d'aucun équipement de récupération de leurs rejets ;
- L'élevage extensif de bovins, ovins et caprins (troupeau généralement constitué d'une vingtaine ou une trentaine de bovins qu'accompagnent fréquemment un nombre équivalent d'ovins ou de caprins) ;
- L'utilisation d'engrais et de pesticides pour leur culture ; ces produits sont drainés jusqu'au cours d'eau par lessivage des sols.



**Figure 5 :** Différentes activités agricoles dans la région d'étude (prises le 28/04/2011 par Benhalima).

- **Déboisement :** la découpe des arbres au niveau des deux rives du canal Messida (Fig.6) peut avoir une série de conséquences telles que la mise à nu des sols et des berges rendant ces dernières particulièrement sensibles à l'érosion hydrique et éolienne et la perte d'habitats pour la faune et la flore et donc une diminution de la biodiversité.



**Figure 6 :** Déboisement au niveau du canal Messida (prises le 22/03/2011 par Benhalima).

#### II.1.4.5. Conditions Climatiques

Chaque cours d'eau sera sous l'influence de son sous bassin : facteurs climatiques, géologiques et topographique (Raachi, 2007).

De par sa situation géographique, notre site d'étude est sous l'influence d'un climat subhumide, caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec. La forte humidité de la région est causée par la forte évaporation issue de nombreuses zones humides et la proximité de la mer, ainsi que la richesse de la région en écosystèmes forestiers (Samraoui & De Belair, 1997).

Le régime pluviométrique se caractérise par des pluies abondantes en hiver (niveau moyen de précipitations atteint 800 mm) qui diminuent presque régulièrement au printemps et atteignent quelques millimètres par mois pendant la période d'été (Bouaazouni, 2004). La pluviosité dans cette région est conditionnée par deux phénomènes météorologiques importants. D'une part, les perturbations cycloniques d'origine atlantique de l'Ouest et du Nord-Ouest qui, après avoir traversé l'Espagne et une partie de la Méditerranée Occidentale, affectent le Nord-Est algérien et d'autre part les dépressions qui prennent naissance en Méditerranée Occidentale (De Belair, 1990).

La température moyenne annuelle est de l'ordre de 18°C. Les mois les plus chauds sont Juillet et Août où la température moyenne oscille autour de 25°C. Les mois les plus

froids sont Décembre et Janvier avec des températures moyennes de l'ordre de 12°C (Bouaazouni, 2004).

Le degré d'hygrométrie est très élevé tout au long de l'année et il est presque constant durant toute l'année. La mer, les nombreux plans d'eau ainsi que la richesse de la région en écosystèmes forestiers, contribuent au maintien d'une humidité élevée pendant toute l'année (Raachi, 2007).

Les vents du Nord-Ouest sont prédominants, surtout en hiver, et leur stabilité depuis le quaternaire est attestée par l'orientation des dunes dans toute la Numidie ; ils sont caractérisés par leur fréquence, direction et vitesse (Samraoui & De Belair, 1997).

## II.2. Echantillonnage

Pour une meilleure évaluation de la qualité bactériologique des eaux du canal Messida, il serait intéressant de se faire une idée sur la qualité physico-chimique de ses eaux afin de pouvoir comprendre les relations pouvant exister entre certains paramètres physique et chimique et la structure des communautés bactériennes.

L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

### II.2.1. Présentation des points de prélèvement

Pour contribuer à l'étude de la qualité bactériologique et physico-chimique des eaux du canal Messida, nous avons choisi quatre stations : S1, S2, S3, et S4, situées le long du canal (Fig.7). Le choix des stations d'échantillonnage a été adopté après avoir déterminé les activités susceptibles d'altérer la qualité de l'eau et/ou de provoquer des problèmes sanitaires environnementaux et humains.



Figure 7: Photos satellites montrant la localisation de quatre stations de prélèvement (Google Earth, 2015).

Les caractéristiques des quatre stations sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 2** : Caractéristiques des quatre stations d'échantillonnage (Google Earth, 2015).

Station de prélèvement	Coordonnées	Caractéristiques	Vue générale des stations de prélèvement (prises en 2011 par BENHALIMA)
S1	36°53'1.70''N, 8°31'47.03''E.	Site touristique (auberge et aire de détente) ; le long de la route nationale N°44 ; partie Nord du lac Tonga.	
S2	36°53'34.57''N, 8°31'26.67''E.	Point d'irrigation de la pépinière du Tonga	
S3	36°53'51.63''N, 8°31'8.61''E.	zone de pâturage servant de point de rafraîchissement et d'abreuvement au bétail (boeufs et chèvres).	
S4	36°54'26.91''N, 8°31'6.79''E.	Près de la plage Messida (environ 200 m); zone de pêche.	

### II.2.2. Fréquence des prélèvements

Vingt-quatre campagnes d'échantillonnage ont été réalisées durant la période s'étalant de septembre 2010 à août 2011 ('le cycle 1') et de septembre 2012 à août 2013 ('le cycle 2'). Chaque mois trois répétitions sont effectuées (soit un total de 288 échantillons pour l'analyse des différents paramètres).

### II.2.3. Techniques de prélèvement

L'échantillonnage est effectué entre 8 h et 10 heures. L'eau destinée aux analyses physicochimiques est prélevée dans des flacons en plastique de 1,5 litre ; quant à celle destinée aux analyses bactériologiques, elle est prélevée dans des flacons, de 250 ml, en verre stériles ; la stérilisation est réalisée par chaleur humide dans un autoclave à 120 °C pendant 15 à 20 min (Rodier *et al.*, 2005).

Les eaux destinées aux analyses bactériologiques sont prélevées à la main ; afin de ne pas contaminer l'échantillon d'eau lors de sa prise, le flacon est débouché et immergé complètement en position verticale renversé en le tenant par le fond, retourné jusqu'à ce que l'ouverture soit légèrement plus haute que le fond et dirigé dans le sens contraire du courant (Guiraud, 2003). Il faut toujours éviter les zones mortes, et prélever en pleine eau c'est à dire 1 à 2 m du bord et 30 à 50 cm du fond (Rodier *et al.*, 2005).

Les échantillons prélevés ont été clairement identifiés ; sur chaque flacon nous avons collé une étiquette sur laquelle sont indiqués : le numéro du point du prélèvement, la date et l'heure du prélèvement, ainsi que les conditions météorologiques (pluies, vents...) (Rodier *et al.*, 2005).

Les flacons d'eau ont été conservés dans une glacière à basse température (4°C à 6°C), puis transportés au laboratoire pour analyses dans un délai qui n'a pas dépassé les 3 heures.

## II.3. Étude des paramètres physico-chimiques de l'eau du canal

### II.3.1. Paramètres mesurés *in situ*

Huit paramètres physico-chimiques (Tableau3): Température ( $T^\circ$ ), pH, oxygène dissous (DO), saturation en oxygène (%  $O_2$ ), salinité (Sal), conductivité électrique (Cond), potentiel Redox (rh), et le taux de sels dissous (TDS) sont mesurés *in situ* (vu les variations rapides de ces paramètres dans le temps), à l'aide d'un appareil Multi-paramètres de terrain modèle *WTW Multi 3420* (Fig.8). L'utilisation de cet appareil consiste à faire plonger la sonde appropriée dans l'eau, après étalonnage, puis attendre quelques secondes avant de lire le résultat de la mesure, après stabilisation de l'affichage de ce dernier sur l'écran.



**Figure 8:** Multi-paramètres WTW Multi 3420.

**Tableau 3:** Paramètres physico-chimiques des eaux du canal Messida « mesurés *in situ* ».

Paramètre	Description/Importance	Unité	Référence
Température	la température détermine un grand nombre de processus biologiques et chimiques qui se déroulent dans l'eau. Elle joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, la conductivité électrique, l'oxygène dissous, le pH, etc.	°C	Rodier <i>et al.</i> (2005).
pH	C'est la mesure de l'activité des ions contenus dans une eau : $\text{pH} = - [\log \text{H}^+ ]$ . Il joue un rôle primordial à la fois dans les propriétés physico-chimiques, les processus biologique et l'efficacité de certains traitements.	-	Des Jardins (1990).
Oxygène dissous	un composé essentiel de l'eau : il conditionne la vie des microorganismes aquatiques, il permet de fournir des informations concernant la dégradation de substances organiques (réactions biochimiques), la mobilisation potentielle de certains métaux, etc.	mg/l	Thierrin <i>et al.</i> , (2001).
Saturation en oxygène	Ce paramètre permet de connaître l'évolution de l'oxygénation de l'eau. Il prend en considération les fluctuations de température et de salinité qui provoquent des variations dans la capacité de l'eau de capter l'oxygène.	%	FILMED (2010).
Salinité	La salinité détermine en grande partie les processus biologiques, mais également les processus chimiques dans l'eau. Les peuplements floristiques et faunistiques dépendent de la salinité et surtout des variations absolues au cours de l'année.	PSU	FILMED (2010).
Conductivité	La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés d'électrons. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau.	$\mu\text{S}/\text{cm}$	Saadali (2007).
Redox	La mesure du potentiel redox permet de caractériser le milieu et de suivre, en particulier pendant les périodes de faible oxygénation, son évolution. Le potentiel redox est fonction de l'équilibre entre les formes réduites et les formes oxydées des composés chimiques présents.	mV	FILMED (2010).
TDS	C'est la mesure de la teneur des substances dissoutes totales.	mg/l	Rejsek (2002).

## II.3.2. Paramètres mesurés au laboratoire

### II.3.2.1. Matières en suspension (MES)

L'importance de la mesure des matières en suspension dans l'eau des milieux côtiers, les eaux de surface et les estuaires est reconnue depuis longtemps, elles s'agissent d'un milieu d'une activité biogéochimique : présence des micro-organismes aquatiques, bases de la nourriture de nombreuses espèces vivantes, supports bactériens, surfaces d'échange avec l'eau (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Principe « méthode par filtration »**

La détermination des matières en suspension dans l'eau est réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration sur un filtre de fibre de verre Whatman GF/C de 47 mm de diamètre; l'utilisation de ce type de filtre permet la rétention de toutes les particules de taille variant entre 0.47  $\mu\text{m}$  et 250  $\mu\text{m}$  (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Mode opératoire**

- Mettre les filtres de fibre de verre (sur papier aluminium) au four à 450-500°C pendant 1heure, puis laver ces filtres avec de l'eau distillée (50 à 70 ml) afin d'éliminer toute substance organique.
- Mettre les filtres dans l'étuve (à 70- 105°C) pendant 2 heures et les recouvrir d'une feuille d'aluminium pour les protéger de la poussière.
- Peser chaque filtre sur la balance jusqu'à obtention d'un poids stable (= P1).
- Prendre une prise d'essai de 100 ml à l'aide d'une éprouvette.
- Placer le filtre dans la rampe de filtration.
- Verser le volume d'eau (100 ml) jusqu'à filtration complète.
- Dès que le filtre est à sec, verser 10 à 20 ml d'eau déminéralisée et aspirer à nouveau.
- Récupérer le filtre et le mettre à l'étuve à 70°C pendant 2 heures.
- Après refroidissement total, peser le filtre (= P2).

- **Calculs, expression des résultats :**

La teneur de l'eau en matières en suspension (mg/l) est donnée par l'expression :

$$\text{MES} = (\text{P2-P1})/\text{V}$$

Où : P1 : le poids de filtre avant la filtration (mg)

P2 : le poids de filtre après la filtration (mg)

V : le volume filtré (litre).

### II.3.2.2. Chlorophylle *a*

La chlorophylle *a* est le principal pigment photosynthétique des plantes ; en convertissant l'énergie lumineuse en énergie chimique, elle permet la photosynthèse. C'est un paramètre clé des études du degré d'eutrophisation de l'eau (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Principe « la méthode monochromatique »**

La mesure de la chlorophylle *a* au laboratoire est effectuée par la méthode spectrophotométrique monochromatique de Lorenzen (1967), qui nécessite la récolte du matériel en suspension par filtration, suivie d'une extraction du filtre par solvant (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Mode opératoire**

- Effectuer une pré-filtration de l'échantillon (à travers un filet de nylon de 150 à 200  $\mu\text{m}$  de maille) afin d'éliminer le zooplancton et les débris de macroalgues.
- Filtrer l'eau sur un filtre Whatman GF/F de 47 mm de diamètre (fibre de verre ; 0.7  $\mu\text{m}$  de porosité). Ces filtres GF/F retiennent plus de 94 % de la chlorophylle *a*.
- Tout en maintenant le vide, plier le filtre deux fois (face chargée à l'intérieur) et l'introduire dans un tube en polyéthylène (10 à 15 ml) envelopper dans une feuille d'aluminium.
- Ajouter 10 ml d'acétone à 90%.
- Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette, boucher et agiter pour disperser les fibres.
- Laisser l'extraction acétonique se poursuivre une nuit au réfrigérateur.
- Après l'extraction, le tube est centrifugé à 3000-4000 tr / min pendant 5 min à 10 minutes
- Transférer le surnageant dans la cuve du spectrophotomètre en le prélevant par aspiration lente (pipette, seringue...). rincer la cuve au solvant afin d'éliminer toute trace d'acidité.

- Effectuer les mesures d'absorbance brutes de l'extrait non acidifié aux longueurs d'ondes 665 et 750 nm :  $A_{665\text{brut}}^{\text{NA}}$  et  $B_{\text{brut}}^{\text{NA}}$ .
- Ajouter 10 à 20  $\mu\text{l}$  d'HCl 0,3 mol/l dans la cuve et laisser agir avec l'extrait entre 2 et 5 min.
- Mesurer à nouveau les absorbances des extraits acidifiés à 665 et 750 nm :  $A_{665\text{brut}}^{\text{A}}$  et  $B_{\text{brut}}^{\text{A}}$ .

- **Calculs, expression des résultats**

- Les absorbances lues à 665 nm et à 750 nm doivent être corrigées en soustrayant les blancs des cuves  $bc_{\lambda}$  (ce sont les mesures d'absorbance obtenues à chacune des longueurs d'ondes  $\lambda$ ).
- Calculer les absorbances nettes à 665 nm avant et après acidification selon :

- Absorbance nette de l'échantillon non acidifié (NA) :

$$A_{665}^{\text{NA}} = (A_{665\text{brut}}^{\text{NA}} - bc_{665}) - (B_{\text{brut}}^{\text{NA}} - bc_{750})$$

- Absorbance nette de l'échantillon acidifié (A) :

$$A_{665}^{\text{A}} = (A_{665\text{brut}}^{\text{A}} - bc_{665}) - (B_{\text{brut}}^{\text{A}} - bc_{750})$$

- Calculer la chlorophylle *a* en  $\mu\text{g/l}$  selon :

$$[\text{Chlorophylle } a] = 27,7 \times (A_{665}^{\text{NA}} - A_{665}^{\text{A}}) \times v/V.l$$

Où : V : volume d'eau filtré (litre)

v : volume de solvant d'extraction (ml)

l : longueur du trajet optique de la cuve de mesure (cm)

### II.3.2.3. Demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>)

La demande biochimique en oxygène (DBO) est définie comme étant la quantité d'oxygène consommée lors de la dégradation de la matière organique. Elle se mesure en général à l'obscurité, à 20°C et pendant 5 jours; c'est ce qu'on appelle DBO<sub>5</sub> (Rodier *et al.*, 2005).

- **Mode opératoire**

Les mesures de DBO<sub>5</sub> sont réalisées selon la méthode manométrique, décrite par Rodier *et al.* (2005), à l'aide d'un BOD meter WTW BSB Messgerät 602 (plage de mesure 0-4000 mg/l) qui contient 6 postes de mesure (Fig.9).



**Figure 9:** DBO meter WTW BSB Messgerät 602.

Un volume de 150 ml de l'échantillon à analyser est placé dans un flacon relié à un manomètre à mercure. Le  $\text{CO}_2$  formé par la respiration des bactéries est fixé par des pastilles de KOH placées dans le bouchon du flacon. Seule la variation de l'oxygène consommé lors de la dégradation de la matière organique est prise en compte.

Pour maintenir constante la température et garantir la répartition optimale de l'oxygène dans l'échantillon, des plateformes d'agitation spéciales ont été utilisées.

- **Expression des résultats**

La consommation de l'oxygène est traduite par une dépression mesurée par le manomètre, et convertie directement en mg d'oxygène par litre. L'appareil permet aussi l'enregistrement automatique de 5 valeurs de mesure (par jour, 1 valeur).

#### **II.3.2.4. Nitrates (azote nitrique $\text{NO}_3^-$ )**

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote organique (nitrification). Dans le milieu naturel, les nitrates ne sont pas directement toxique mais participe à l'important phénomène d'eutrophisation des eaux stagnantes, les eaux courantes et même le littoral (Rejsek, 2002).

- **Principe « Méthode spectrophotométrique »**

La présente technique (ISO 7890/ 1986) est basée sur la réaction des nitrates avec le diméthyl-2.6 phénol en présence des acides sulfuriques et phosphoriques, avec production du nitro-4 diméthyl-2.6 phénol de couleur rose crevette (ISO, 1994).

- **Mode opératoire**

- **Etablissement de la courbe d'étalonnage**

- Préparer une série de solution étalons en introduisant dans une série de fioles jaugées de 100, 1, 5, 10, 15, 20 et 25 ml respectivement de 100 mg/l de la solution étalon de nitrate (7,218 g de nitrate de potassium séché à 150°C pendant 2h + 750 ml d'eau). Compléter au volume avec de l'eau. Ces solutions contiennent respectivement : 1, 5, 10, 15, 20, et 25 mg d'azote de nitrate/litre.
- Introduire 35 ml de mélanges acides (500 ml acide sulfurique + 500 ml acide orthophosphorique + 0,04 g acide amidosulfonique) dans une série de six fioles de 100 ml. Dans chaque fiole, introduire 5 ml des solutions étalons puis 5 ml de la solution Diméthyl-2.6 phénol (1,2 g de diméthyl-2.6 phénol dans 1000 ml d'acide acétique). Mélanger et laisser reposer pendant 10 à 60 min.
- Mesurer l'absorbance de chaque solution d'étalonnage à 324 nm.
- Soustraire l'absorbance de l'essai à blanc des absorbances des solutions d'étalonnage.
- Construire la courbe d'étalonnage en fonction de la concentration de l'azote nitrique (mg/l).

- **Dosage**

- Introduire dans une éprouvette 2 ml de l'échantillon filtré (filtre GF/C).
- Ajouter 14 ml de mélange des acides et 2 ml solution diméthyl-2,6 phénol.
- Laisser repos 10 minutes.
- La même opération est effectuée avec 2 ml d'eau distillée (essai à blanc)
- A l'aide de l'appareil spectrophotomètre UV visible, lire les résultats à la longueur d'onde 324 nm.

- **Calculs, expression des résultats**

- L'absorbance  $A_0$  due la présence des nitrates dans l'échantillon est donnée par l'équation :  $A_0 = A_1 - A_2$ , où :  $A_1$  est l'absorbance de l'échantillon et  $A_2$  est l'absorbance de l'essai à blanc
- Déduire de la courbe d'étalonnage la concentration de nitrate (mg/l) correspondant à la valeur  $A_0$  de l'absorbance.

### II.3.2.5. Nitrites (azote nitreux NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composés azotés, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'ammoniaque et les nitrates. La présence de nitrites d'origine naturelle est très rare et une eau contenant des nitrites est à considérer comme suspecte car cette présence est souvent liée à une détérioration de la qualité microbiologique (Rejsek, 2002).

- **Principe « Méthode spectrophotométrique »**

Le principe de cette technique, réalisée par Bendschneidre & Robinson (1952), est basé sur la réaction de nitrite avec la sulfanilamide (amine aromatique) pour former un diazoïque qui est couplé à une seconde amine aromatique : le N-naphtyl-éthylènediamine pour produire un complexe de coloration rose (Aminot & kérouel, 2004).

- **Mode opératoire**

- **Etablissement de la courbe d'étalonnage**

- Préparer la solution étalon de nitrite diluée à 50 µmol/l comme décrit en annexe I.
- Préparer la gamme des étalons suivante : 0.1µmol/l de nitrite, 0.2µmol/l, 0.5µmol/l, et 1.0 µmol/l de nitrite (voir annexe I)
- Faire deux dosages de chacun des étalons, ainsi que de l'eau déminéralisée de dilution selon la procédure générale de dosage (paragraphe ci-dessous)
- Tracer la droite d'étalonnage :  $DO = f(\text{concentration})$ . Etablir l'équation  $A = a.C + b$

- **Procédure générales de dosage**

- Rincer le récipient de dosage avec l'eau à analyser.
- Prélever 50 ml de l'échantillon filtré (filtre GF/C), et le transférer au récipient.
- Ajouter 1ml du réactif R1 (solution de sulfanilamide), mélanger puis attendre 2 à 5 minutes.
- Ajouter 1ml du réactif R2 (solution de N-naphtyl-éthylènediamine), mélanger.
- Laisser agir au moins 10 minutes, mais pas plus de 1 heure.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde de 543 nm.

**Remarque :** La préparation des réactifs R1 et R2 est rapportée en annexe I.

- **Calculs, expression des résultats**

L'absorbance nette est :  $A = A_{\text{brut}} - b_r$

Où :  $A_{\text{brut}}$  est l'absorbance mesurée pour l'échantillon;  $b_r$  est l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs. Déduire de la courbe d'étalonnage la concentration de nitrite (mg/l) correspondant à la valeur A de l'absorbance.

### II.3.2.6. Azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )

L'azote ammoniacal se trouve sous forme d'ions d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dans la plupart des eaux courantes à pH= 6,5-8,5. Cette forme est relativement peu toxique. Par contre la même quantité de l'azote ammoniacal à des pH plus élevés peu avoir des conséquences graves pour les cours d'eau car la forme non ionisée ( $\text{NH}_3$ ) est très toxique pour la faune et la flore (Rejsek, 2002).

- **Principe « Méthode spectrophotométrique »**

Cette méthode est appliquée par Solorzano (1969) et par Koroleff (1969), où l'ammoniac, en milieu basique, réagit tout d'abord avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec deux molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol. Pour les eaux naturelles, l'utilisation de nitroprussiate comme catalyseur est nécessaire afin d'accroître la sensibilité (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Mode opératoire**

- **Etablissement de la courbe d'étalonnage**

- Préparer la solution étalon d'ammonium diluée à 500  $\mu\text{mol/l}$  comme décrit en annexe I.
- Préparer la gamme des étalons suivante : 0.2 $\mu\text{mol/l}$  d'ammonium, 0.5 $\mu\text{mol/l}$ , 1 $\mu\text{mol/l}$ , 2 $\mu\text{mol/l}$ , et 5  $\mu\text{mol/l}$  de nitrite (voir annexe I)
- Faire deux dosages de chacun des étalons, ainsi que de l'eau déminéralisée de dilution selon la procédure générale de dosage (paragraphe ci-dessous)
- Tracer la droite d'étalonnage :  $DO = f(\text{concentration})$ .
- Etablir l'équation  $A = a.C + b$

- **Procédure générales de dosage**

Le traitement décrit s'applique directement aux échantillons pré-filtrés sur terrain, ainsi qu'aux étalons.

- Rincer le récipient de dosage avec l'eau à analyser.
- Introduire 100 ml d'eau à analyser.
- Ajouter 5 ml du réactif R1' (solution de phénol- nitroprussiate), boucher et bien mélangé.
- Ajouter sans attendre 5 ml du réactif R2' (solution complexante au chlore), boucher et mélanger à nouveau.
- Placer le flacon immédiatement à l'abri de la lumière, à T° ambiante, pendant au moins 6 heures.
- La lecture peut se faire le lendemain.
- Si l'échantillon est visiblement turbide, le centrifuger avant la mesure colorimétrique.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à une longueur d'onde de 630 nm.

**Remarque :** La préparation des réactifs R1' et R2' est rapportée en annexes I.

- **Calculs, expression des résultats :**

L'absorbance nette est :  $A = A_{\text{brut}} - b_r$

Où :  $A_{\text{brut}}$  est l'absorbance mesurée pour l'échantillon;  $b_r$  est l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.

- Déduire de la courbe d'étalonnage la concentration d'ammonium (mg/l) correspondant à la valeur A de l'absorbance.

### II.3.2.7. Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Le phosphore est un élément assez rare mais indispensable à tous les êtres vivants. Il entre notamment dans les cycles énergétiques cellulaires. Il peut exister dans les eaux à l'état minéral ou organique. Les composés phosphorés qui, sans hydrolyse ou minéralisation, répondent au test spectrophotométrique sont considérés comme étant des orthophosphates. Sa présence dans l'eau n'a pas de conséquences sanitaires, en revanche elle favorise la croissance des algues contribuant ainsi au phénomène d'eutrophisation (Rodier *et al.*, 2005).

- **Principe « Méthode spectrophotométrique »**

La méthode utilisée a été mise au point par Murphy & Riley (1962). Les ions orthophosphates en solution acide (acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) et en présence de molybdate d'ammonium forment un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, donne un complexe de molybdène fortement coloré en bleu. Le développement de la

coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur l'oxytartrate d'antimoine et de potassium (Aminot & Kérouel, 2004).

- **Mode opératoire**

- **Etablissement de la courbe d'étalonnage**

- Préparer la solution étalon de phosphate diluée à 50  $\mu\text{mol/l}$  (voir annexe I).
- Préparer la gamme des étalons suivante : 0.1 $\mu\text{mol/l}$ , 0.2 $\mu\text{mol/l}$ , 0.5 $\mu\text{mol/l}$ , et 1 $\mu\text{mol/l}$  d'orthophosphate (voir annexe I)
- Faire deux dosages de chacun des étalons, ainsi que de l'eau déminéralisée de dilution selon la procédure générale de dosage (paragraphe ci-dessous)
- Tracer la droite d'étalonnage :  $DO = f(\text{concentration})$ .
- Etablir l'équation  $A = a.C + b$

- **Procédure générales de dosage**

La procédure décrit s'applique directement aux échantillons pré-filtrés sur terrain, ainsi qu'aux étalons.

- Rincer le récipient de dosage avec de l'eau à analyser;
- Prélever 50 ml de la solution (étalon et/ou échantillon) dans le récipient ;
- Ajouter 2.0 ml du réactif R1'' (solution d'acide ascorbique) et mélanger, attendre 15 min;
- Ajouter 2.0 ml du réactif R2'' (solution d'acide Molybdène et d'antimoine) et mélanger;
- Laisser agir 5min mais pas plus de 30 min; mesure l'absorbance à 880 nm.

**Remarque :** La préparation des réactifs R1'' et R2'' est rapportée en annexe I.

- **Calculs, expression des résultats**

L'absorbance nette est :  $A = A_{\text{brut}} - b_r$

Où :  $A_{\text{brut}}$  est l'absorbance mesurée pour l'échantillon;  $b_r$  est l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.

- Déduire de la courbe d'étalonnage la concentration d'orthophosphate (mg/l) correspondant à la valeur A de l'absorbance.

## II.4. Étude des paramètres bactériologiques de l'eau du canal

La composition des milieux de culture, réactifs et colorants utilisés est rapportée en annexe II.

### II.4.1. Recherche et dénombrement de la flore totale mésophile

La flore totale ou les germes totaux (GT) sont des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24 h à 37°C). La recherche de la flore totale a été réalisée à une température de 37°C afin de cibler les mésophiles (Rejsek, 2002).

- **Mode opératoire (Schéma 1)**

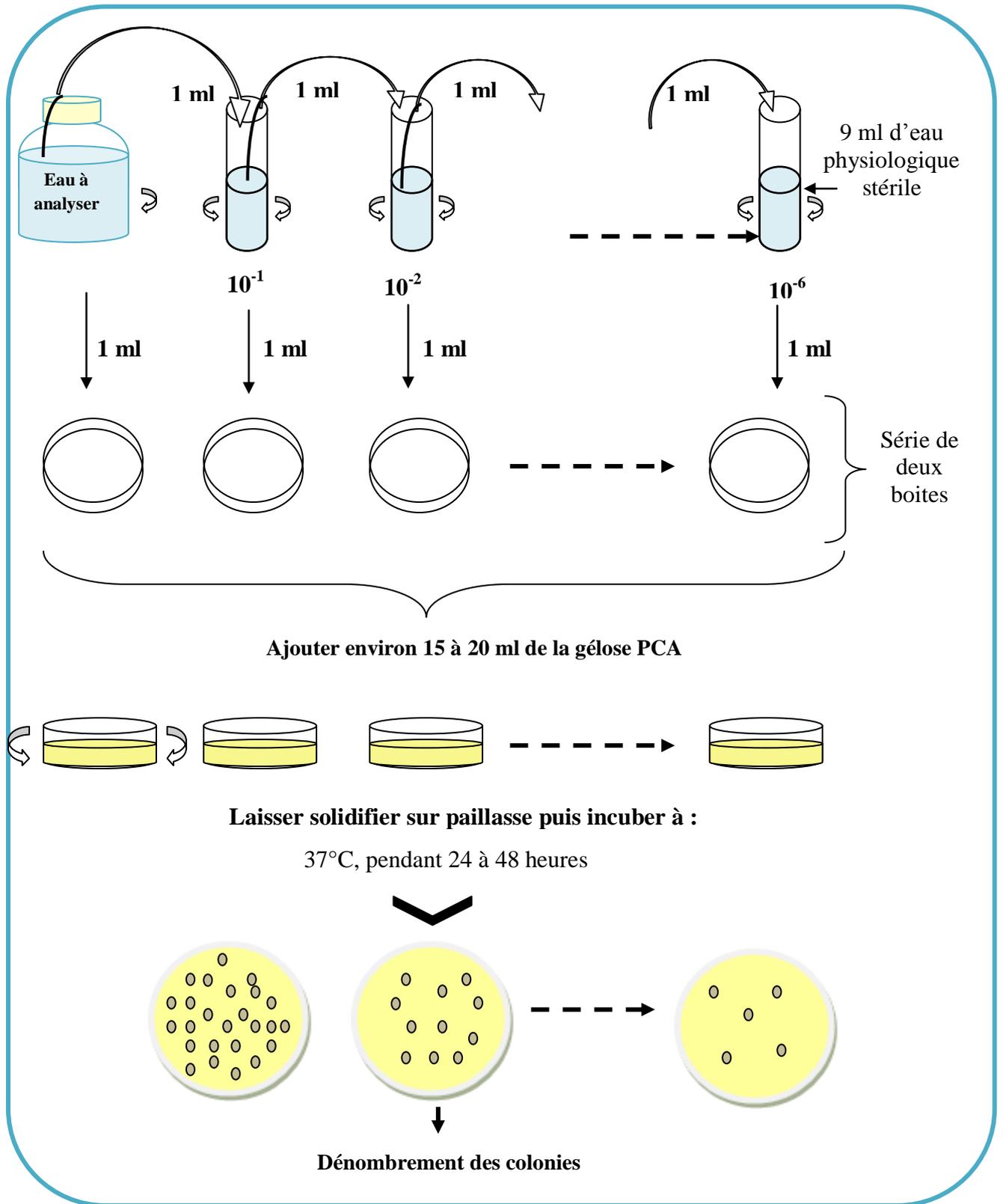
- A partir de l'eau à analyser (solution mère et sa dilution décimale 'jusqu'à  $10^{-6}$ ), porter aseptiquement 1 ml en double dans le fond de deux boîtes de Pétri vides numérotées et préparées à cet usage ;
- Compléter en suite avec environ 15 à 20 ml de gélose PCA (*Plant Count Agar*) fondue, maintenue à 45°C. Agiter doucement par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'eau et de la gélose, sans faire de bulles d'air et sans mouiller les bords de la boîte ;
- laisser solidifier sur la palliase, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose. Retourner les boîtes à 37°C pendant 48 heures.

- **Lecture**

Les germes revivifiants se présentent sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.

- **Dénombrement**

Les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont dénombrées avec précision. Le nombre de colonies dénombrées est ensuite ramené au nombre de microorganisme présents dans 100 ml d'eau.



**Schéma 1 : Recherche et dénombrement des germes totaux.**

#### II.4.2. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants (Norme NFT 90-413)

Les coliformes font partie des entérobactéries, ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase «-», aérobies ou anaérobies facultatifs, ils fermentent le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35 à 37°C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ). (Dellarras, 2003).

Les coliformes fécaux ou thermotolérants ont les mêmes propriétés que les coliformes mais à 44°C. L'espèce la plus importante de ce groupe est *Escherichia coli* qui a la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu à 42°C (Labres & Mouffok, 2008).

La recherche et le dénombrement des coliformes ont été réalisées selon la technique du NPP (Nombre le Plus Probable), c'est une technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux (CT).
  - Le test de confirmation : encore appelé test de Mac Kenzie est réservé à la recherche d'*Escherichia coli* présumé avec confirmation de la présence des coliformes totaux et les coliformes fécaux (CF) (Rejsek, 2002 ; Degremont, 2005).
- **Mode opératoire (Schéma 2)**
    - **Test présomptif** : Il est effectué en utilisant le bouillon Lactosé au Bromocrésol Pourpre (BCPL). Tous les tubes sont munis de cloches de Durham pour déceler le dégagement éventuel du gaz dans le milieu.
    - Agiter vigoureusement l'échantillon et réaliser immédiatement des dilutions successives (jusqu'à  $10^{-6}$ )
    - Introduire 10 ml d'échantillon dans 3 tubes de 10 ml de BCPL double concentration (D/C)
    - Introduire 1 ml d'échantillon dans 3 tubes de 10 ml de BCPL simple concentration (S/C)
    - Prendre 3 tubes du même milieu S/C et réaliser la même opération pour chaque dilution
    - Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et mélanger bien le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

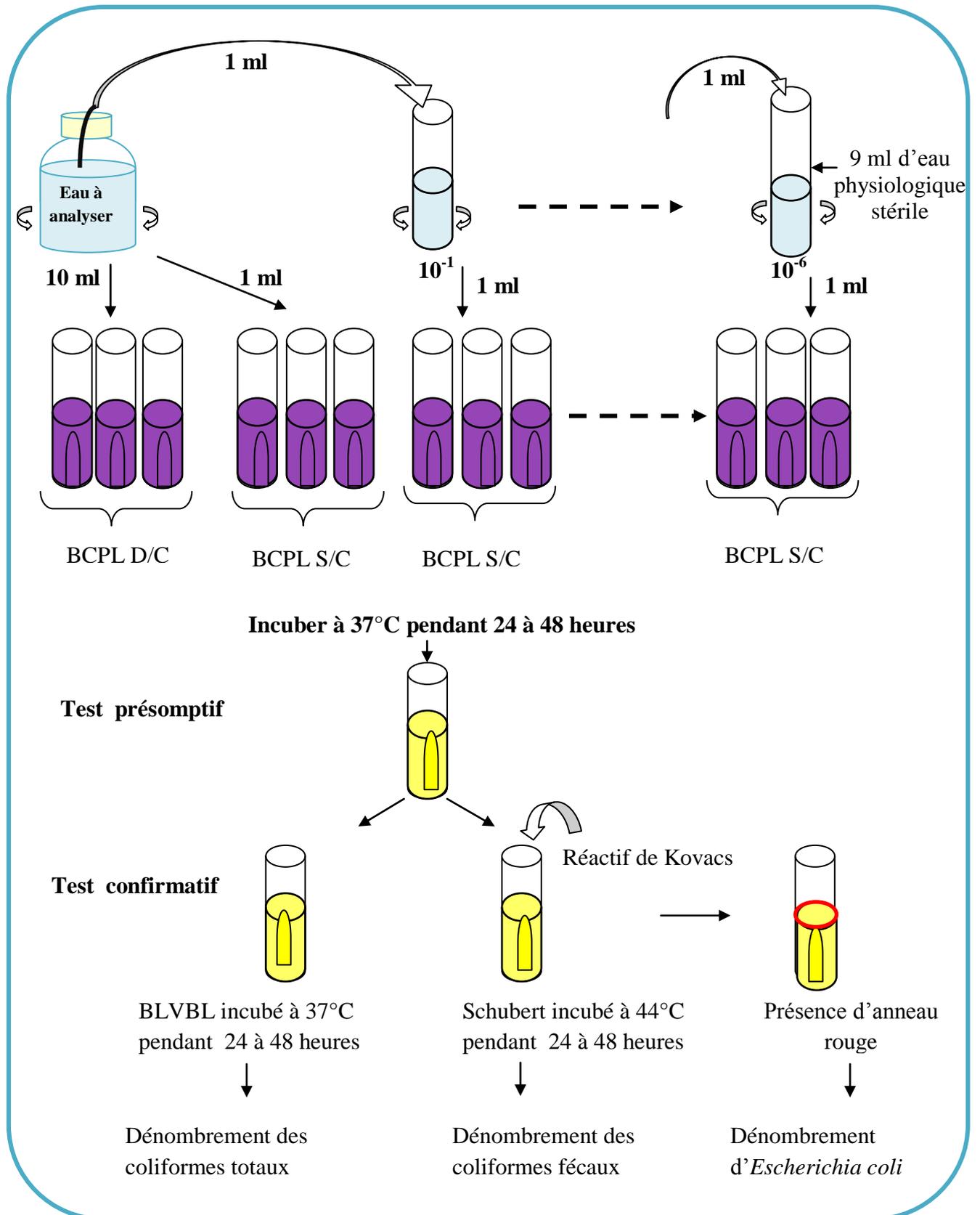
**Lecture :** les tubes présentant un aspect trouble (croissance bactérien) de couleur jaune (virage de l'indicateur) et du gaz (dû à la fermentation du lactose) dans la cloche de Durham (1/10 du volume de la cloche), sont considérés comme positif autrement dit pouvant contenir des coliformes.

○ **Test confirmatif**

- A partir de chaque tube de BCPL positif, ensemercer deux ou trois gouttes dans :
  - un tube de milieu bilié au vert brillant (BLBVB) (pour la recherche des coliformes). L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures
  - un tube de milieu Schubert et/ou eau peptonnée exempte d'indole muni d'une cloche de Durham (pour la recherche des coliformes thermotolérants). L'incubation se fait à  $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  pendant 24 - 48 heures.
- La production d'indole par les coliformes thermotolérants peut orienter vers *E. coli*. Nous pouvons la mettre en évidence par ajout de réactif de Kovacs dans le milieu Schubert ou eau peptonnée exempte d'indole positif après incubation. La production d'indole se manifestera par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du tube.

**Lecture**

- S'il ya fermentation du lactose (virage au jaune) avec production de gaz à  $37^{\circ}\text{C}$ , conclure à la présence d'au moins un coliforme dans le tube initial.
  - S'il ya fermentation du lactose avec production de gaz à  $44^{\circ}\text{C}$  sans production d'indole, conclure à la présence d'au moins un coliforme thermotolérant dans le tube initial.
  - S'il ya fermentation du lactose avec production de gaz à  $44^{\circ}\text{C}$  et avec production d'indole, conclure à la présence d'au moins *E. coli* dans le tube initial.
- **Dénombrement :** Noter le nombre des tubes positifs et exprimer le résultat selon la table extraite de la norme NF T 90-413 (voir annexe III) pour déterminer le nombre le plus probable (N.P.P) de chaque groupe (coliformes totaux, coliformes thermotolérants et *E. coli*) par 100 ml d'échantillon. Le nombre de coliformes ou coliformes thermotolérants pour 100 ml d'échantillon sera déterminé par la formule suivante :  $\text{NPP}/d$  où NPP est le nombre le plus probable lu dans la table ; d est le taux de dilution correspondant à la dilution la plus forte retenue. Le résultat est exprimé par un chiffre à une décimale compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par une puissance de 10 appropriée.



**Schéma 2:** Recherche et dénombrement des coliformes, coliformes fécaux et d'*Escherichia coli*.

### II.4.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (Norme NF EN ISO 9308-3, mars 1999)

Les streptocoques fécaux ou les streptocoques du groupe D se caractérisent par leur morphologie (coques en chainettes), Gram positif, catalase négative et possédant l'antigène de groupe D (polyoside C pariétal). Elles sont considérées comme témoins de contamination fécale (Rejsek, 2002).

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux sont réalisées selon la technique de colimétrie en milieu liquide (Schéma 3). Elle se fait en deux étapes consécutives:

- Le test présomptif: réservé à la recherche présomptive des Streptocoques.
- Le test confirmatif: réservé à la confirmation réelle des Streptocoques du groupe D (Rejsek, 2002).

Les milieux utilisés sont :

- Le milieu de ROTHE (pour le test présomptif) qui contient comme agent sélectif l'azide de sodium (inhibiteur de la flore secondaire Gram négatif).
- Le milieu d'Eva-Litsky (pour le test confirmatif) qui renferme en plus de l'azide de sodium une faible concentration de cristal violet qui freine le développement des bactéries Gram positif (Rejsek, 2002).
  - **Test présomptif**
    - Agiter vigoureusement l'échantillon et réaliser immédiatement des dilutions successives (jusqu'à  $10^{-6}$ )
    - Prendre ensuite 3 tubes du milieu Rothe D/C (contenant 10 ml) et transférer dans chacun 10 ml d'échantillon bien homogénéisé.
    - Prendre 3 tubes du milieu Rothe S/C et transférer dans chacun 1 ml d'échantillon bien homogénéisé.
    - réaliser la même opération pour chaque dilution avec uniquement le milieu S/C.
    - Incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

#### **Lecture**

Les tubes présentant un trouble microbien seront susceptibles de contenir des streptocoques fécaux ; doivent subir un test confirmatif.

- **Test confirmatif**
  - Les tubes de Rothe trouvés positifs dans le test de présomption feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'un öse bouclé dans des tubes contenant le milieu Eva-Litsky.

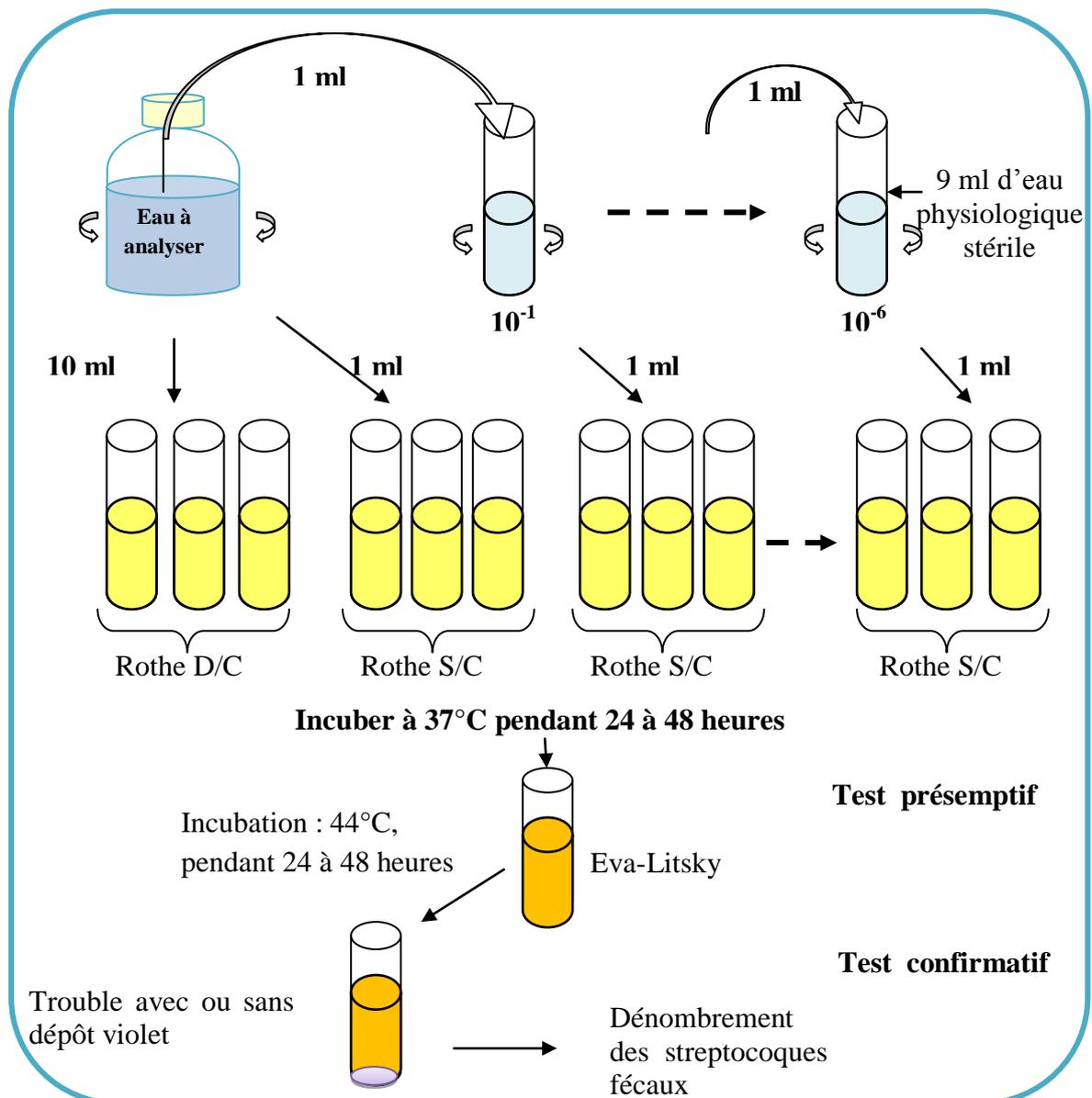
- L'incubation se fait à 44°C, pendant 24 h à 48 h.

### Lecture

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien, qui confirme la présence de streptocoques fécaux, parfois la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette (ou blanchâtre).

### ○ Dénombrement :

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP extraite de la norme NF T 90-413 (voir annexe III).



**Schéma 3 :** Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.

#### II.4.4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

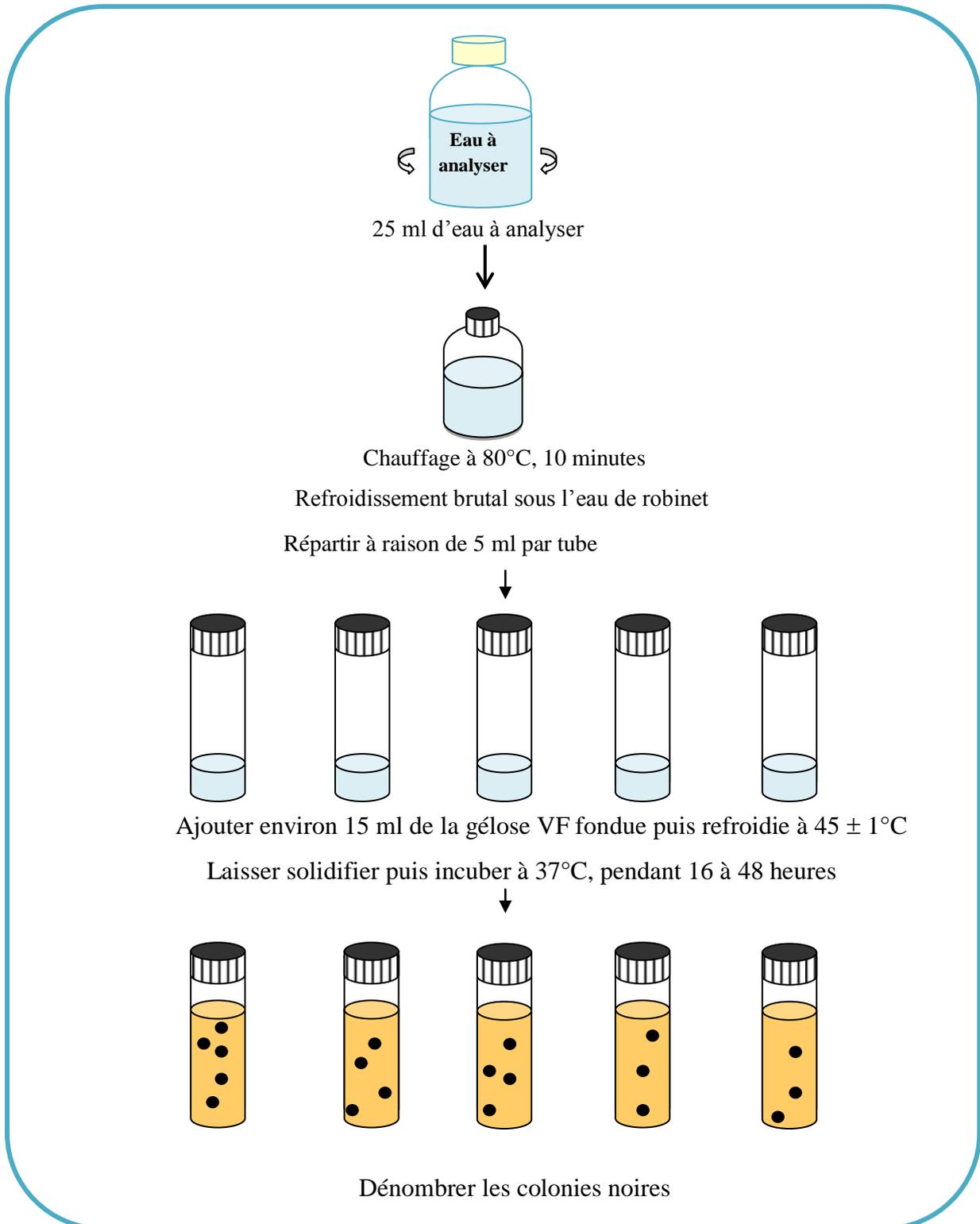
Les bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactérie à Gram positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande-Foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de fer ( $\text{Fe}^{+2}$ ) donne  $\text{FeS}$  (sulfure de Fer) de couleur noir. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Rejsek, 2002 ; Joseph & Pierre, 2004).

- **Mode opératoire (Schéma 4)**

A partir de l'eau à analyser :

- Transférer environ 25 ml dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre à  $80^\circ\text{C}$  pendant 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives éventuellement présentes.
  - Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet.
  - Répartir ensuite le contenu de ce flacon, dans 5 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube.
  - Ajouter environ 15 ml de gélose Viande- Foie, fondue et additionnée de leurs additifs spécifiques (Alun de fer et sulfite de sodium).
  - Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
  - Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $37^\circ\text{C}$ , pendant 24 à 48 heures.
- **Lecture et interprétation**
  - Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie entourée d'un halo noir.
  - La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont envahissantes auquel cas on se trouvera en face d'un tube complètement noir,
  - La deuxième lecture se fera à 24 heures et la troisième et dernière à 48 heures.
  - Dénombrer toute colonie noire de 0.5 mm de diamètre, ayant poussé en masse

- L'addition des 5 chiffres obtenus, donne le nombre de spores de bactéries sulfito-réductrices contenus dans 25 ml de l'échantillon mère. Le résultat final est exprimé par 100 ml d'eau analysée.



**Schéma 4 :** Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.

## II.4.5. Isolement et identification des bactéries aquicoles et recherche des germes pathogènes

Selon [Rodier \*et al.\* \(2005\)](#), la recherche des germes pathogènes n'est pas entreprise en pratique courante dans les analyses de routine des eaux; elle a une importance particulière lors d'enquêtes épidémiologiques. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la recherche de certains germes pathogènes responsables d'infections d'origine hydrique, afin d'évaluer les niveaux de contaminations possibles, et éventuellement d'envisager l'impact des eaux étudiées sur la santé.

### II.4.5.1. Entérobactéries

- **Isolement (Schéma 5)**
  - **Pré-Enrichissement**

Cette étape est réalisée spécifiquement pour la recherche des Salmonelles et des Shigelles. Le pré-enrichissement s'effectue sur le milieu d'eau péptonée tamponnée D/C réparti à raison de 100 ml par flacon. Ce dernier sera doncensemencé à l'aide de 100 ml d'eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures ([Larpen, 1997](#)).

- **Enrichissement**

A partir du milieu de pré-enrichissement, ensemenecer un bouillon au Sélénite-Cystéine avec un volume d'échantillon correspond au 1/10 du volume du bouillon (Exemple : ensemenecer 1 ml d'eau dans 10 ml du bouillon Sélénite). L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h ([Larpen, 1997](#)).

- **Isolement sélectif**

Trois milieux de culture sont utilisés :

- La gélose Mac Conkey : milieu sélectif pour les Entérobactéries en général, elle permet l'élimination de la flore secondaire grâce à l'action de deux inhibiteurs : le cristal violet (inhibiteur de la flore Gram positive) et les sels biliaires (sélection des Entérobactéries) ([Larpen, 1997](#)).
- La gélose Hektoen : c'est le milieu de choix pour l'isolement des Entérobactéries pathogènes. Ce milieu permet une première orientation quant à l'identification de l'espèce isolée sur la base de l'attaque de trois glucides : lactose, salicine et saccharose. Une différenciation supplémentaire (présence

de thiosulfate et de citrate de fer dans le milieu) qui se traduit par des colonies à centre noir dû à la formation de sulfure de fer (Larpen, 1997).

- La gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : c'est le milieu sélectif des Salmonelles et des Shigelles. Il contient du vert brillant, sels biliaires et de fortes concentrations en thiosulfates et en citrate inhibent totalement la croissance de la microflore secondaire Gram positive ainsi que celle de nombreux coliformes et *Proteus* (Larpen, 1997).

Les géloses : SS, Hektoen et Mac Conkey sont ensemencés avec 0.1 ml de culture prélevée en milieu d'enrichissement. Toutes les boîtes sont incubées à 37° C pendant 18 à 24 h (Larpen, 1997).

- **Identification**
  - **Examen macroscopique**

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie : la forme du relief, la taille, la couleur, l'aspect (collant, filamenteux...), l'odeur, la transparence, et l'allure des contours (Guiraud, 2003). L'aspect des colonies suspectes des entérobactéries sur chaque milieu de culture utilisé est représenté dans le tableau 4.

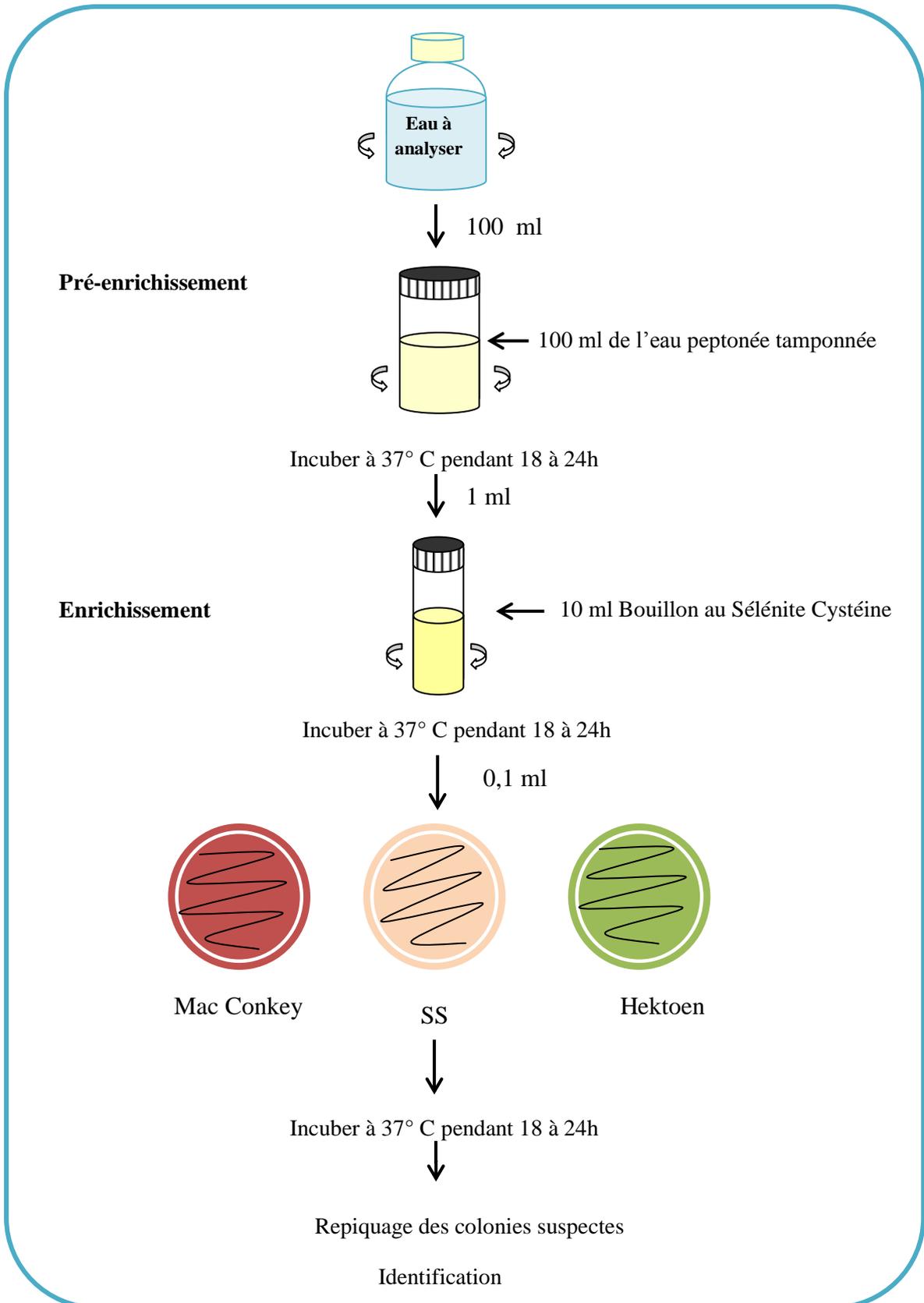
- **Examen microscopique**
  - **Etat frais**

L'examen microscopique à l'état frais permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et la mobilité des bactéries isolées (Prescott *et al.*, 1999)

### Technique

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine une fraction de la colonie sur milieu gélosé.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau physiologique en incorporant l'inoculum.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulle d'air.

L'observation s'effectue à faible luminosité à l'objectif X10 puis X40 (Guiraud, 2003).



**Schéma 5** : Isolement des entérobactéries pathogènes.

**Tableau 4:** Aspects culturels des entérobactéries sur les milieux de culture sélectifs  
(Guiraud, 2003 ; Rodier *et al.*, 2005).

Milieu d'isolement	Aspects des colonies	Bactéries suspectes
Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grandes, rouges.</li> <li>- Incolores, transparentes.</li> <li>- Grandes, roses, visqueuses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Escherichia coli</i>.</li> <li>- <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i> et autres.</li> <li>- <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i>.</li> </ul>
Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jaunes Saumons sans centre noir.</li> <li>- jaunes saumon à centre noir.</li> <li>- vertes ou bleuâtres sans centre noir.</li> <li>- vertes bleuâtres à centre noir.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coliformes, <i>Serratia</i>, <i>Arizona</i>, <i>Levinea</i>, <i>Yersinia</i>.</li> <li>- <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Proteus vulgaris</i></li> <li>- <i>Shigella</i>, <i>Salmonella</i> à H<sub>2</sub>S (-), <i>Providentia</i>, <i>Proteus morganii</i>, <i>Proteus rettgeri</i>.</li> <li>- <i>Salmonella</i>, <i>Proteus mirabilis</i>.</li> </ul>
SS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- colonies rouges.</li> <li>- colonies rouges à centre noir.</li> <li>- colonies incolores transparentes.</li> <li>- colonies incolores à centre noir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i>, autres coliformes (<i>E.coli</i>).</li> <li>- <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Arizona</i>.</li> <li>- <i>Salmonella</i> H<sub>2</sub>S (-), <i>Shigella</i>, <i>Serratia</i>, <i>Alkalescens</i>, <i>Enterobacter hafniae</i>, <i>Proteus morganii</i></li> <li>- <i>Salmonella</i> H<sub>2</sub>S (+), <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Proteus mirabilis</i>.</li> </ul>

#### ▪ Coloration de Gram

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement de bactérie (Degrement, 1989).

#### Technique

La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

- Préparation d'un frottis bactérien : prélever la colonie bactérienne à identifier, et l'étaler sur une goutte d'eau physiologique déposée sur une lame propre puis la fixer par simple passage sur la flamme du bec bunsen.
- Coloration par le violet : chaque frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane, il est ensuite lavé rapidement par l'eau courante.
- Mordançage : traiter durant une minute par la solution de Lugol et laver à l'eau.

- Décoloration : en traitant avec l'alcool, couler le solvant sur frottis pendant une à trois secondes puis laver immédiatement à l'eau courante. A ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores, les cellules Gram positives restent violettes.
- Recoloration : soumettre le frottis durant trente secondes à une courte coloration par la fuchsine pour recolorer les cellules Gram négatives présentes puis rincer et sécher entre deux feuille de papier buvard propre .
- Examiner le frottis, a immersion à l'objectif  $\times 100$ .

**Lecture :** Les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet alors que les bactéries Gram négatif sont bien colorées en rose (Prescott *et al.*, 1999).

#### ○ Recherche de l'oxydase

**Principe :** Ce test à la base de l'identification des bactéries Gram « - », permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthylparaphénylène diamine (Delarras, 1998).

#### Technique

- Déposer un disque pré-imprégné par le Réactif N diméthylparaphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.
- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.
- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Etaler la colonie sur le disque.
- Attendre 3 à 5 secondes (Delarras, 1998).

#### Lecture

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. La bactérie possède une oxydase : le test est positif.
- Si la colonie reste incolore, la bactérie ne possède pas d'oxydase, le test est négatif (Delarras, 1998).

#### ○ Identification biochimique

L'identification des différentes bactéries isolées a été réalisée grâce la galerie biochimique miniaturisée API 20 E. C'est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

### ▪ Galerie biochimique miniaturisé API 20E

La galerie API 20E (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture (voir annexe III) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique (Réf. 20 190, Biomérieux, France) ou d'un logiciel d'identification *apiweb*™ (Réf. 40 011) (Murray *et al.*, 2003 ; consulter : <http://www.biomerieux.com>).

#### **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

#### **Préparation de l'inoculum**

- Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile (5 ml), avec une seule colonie bien isolée prélevée sur un milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

#### **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

**Lecture :** Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certaines sont révélées par l'addition de Réactifs :

- Test VP : VPI + VP II, attendre 10 min, une couleur rose-rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : Réactif TDA, une couleur marron foncé indique une réaction positive.
- Test IND : Réactif IND, attendre 2 min, une couleur rouge indique une réaction positive.

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (voir annexe III). Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs.

On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification. La réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

L'identification est réalisée soit à l'aide du Catalogue Analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils, soit à l'aide du logiciel d'identification *apiweb* TM : entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres (Murray *et al.*, 2003 ; consulter : <http://www.biomerieux.com>).

**Remarque :** dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminant, les tests complémentaires suivants sont nécessaires :

- Test NO<sub>2</sub> et N<sub>2</sub> (dans le tube GLU): NIT I + NIT II, attendre 2-3 min, une couleur rouge indique une réaction positive. Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) : ajouter 2 à 3 mg de Zinc dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive (N<sub>2</sub>) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc.
- Mobilité (MOB) : Vérifier la mobilité sous microscope (état frais) ou ensemercer le milieu Mannitol-Mobilité par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit. Incuber à 37° C pendant 24 h. formation d'un voile envahissant autour de la piqûre indique la mobilité des bactéries (Guiraud, 2003).
- Culture sur gélose de MacConkey (McC).
- Oxydation du glucose (OF-O) : Inoculer une ampoule d'API OF Medium. Incuber pendant 24 à 48 H. Le virage vers le jaune indique une réaction positive.
- Fermentation du glucose (OF-F) : Inoculer une ampoule d'API OF Medium. Recouvrir avec l'huile pour créer de l'anaérobiose. Incuber pendant 24 à 48 H. Le virage vers le jaune indique une réaction positive (Murray *et al.*, 2003).

### II.4.5.2. Vibrions cholériques

Les Vibrions se présentent sous forme de Bacilles Gram négatifs droits ou incurvés, très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H<sub>2</sub>S (Guiraud, 2003). La recherche de ces germes a été réalisée selon la méthode décrite par Delarras (2000).

- **Isolement (Schéma 6)**

- **Enrichissement**

- Ajouter 1 ml de l'eau à analyser dans un tube de 10 ml de l'eau peptonée alcaline (EPA). Incuber à 37° C pendant 3 heures.
- Après incubation, prélever en surface une anse de culture et ensemercer un autre tube contenant 10 ml E.P.A. Incuber à 37°C pendant 3 heures.
- Procéder à un troisième ensemencement de même type si les possibilités d'horaires le permettent

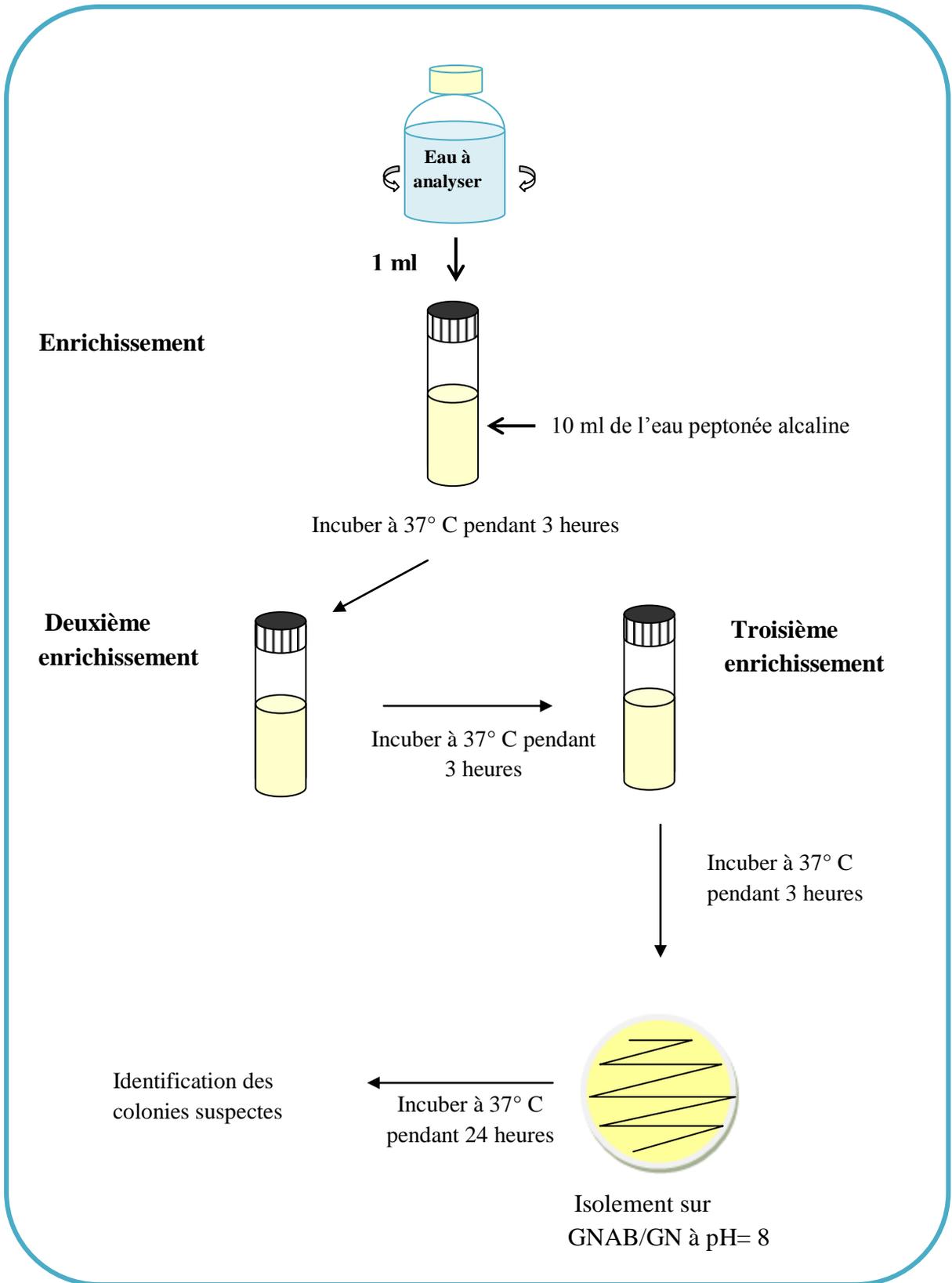
- **Isolement sélectif**

- Ensemercer une boîte de GNAB (Gélose Nutritive Alcaline et Biliée) ou GN (Gélose Nutritive) à pH=8 à partir du dernier milieu d'enrichissement.
- Incuber à 37° C pendant 24 h.

- **Identification**

- **Aspect macroscopique :** Les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes sur la GN, sur GNAB des colonies de 2-4 mm de diamètre, à contour réguliers, plates, transparentes de couleur bleutée.
- **Aspect microscopique :** Etat frais (bacilles, mobiles), et coloration de Gram (bacilles Gram négatifs).
- **Tests biochimiques :** les bactéries suspectes ont été identifiées par 11 tests biochimiques (Tableau 5): oxydase, mobilité, fermentation du glucose, lactose et saccharose, croissance à 0% NaCl, arginine dihydrolase (ADH), ornithine décarboxylase (ODC), rouge de méthyle (RM), Voges–Proskauer (VP) et le test indole.

Les tests oxydase et mobilité sont cités avec les entérobactéries (§ II.4.5.1).



**Schéma 6 : Recherche des vibrions cholériques.**

**Tableau 5:** Tests biochimiques utilisés pour l'identification des vibrions.

Test	But	Technique/ Lecture	Référence
<b>Fermentation des sucres avec ou sans gaz + Production d'H<sub>2</sub>S.</b>	-Utilisation du glucose, saccharose et lactose. -production d'H <sub>2</sub> S. -production de gaz	Ensemencement de la pente du milieu TSI par stries et le culot par simple pique. Après 24H à 37°C, la pente jaune= fermentation du lactose/saccharose ; culot jaune = fermentation du glucose ; noircissement= H <sub>2</sub> S+, bulles gazeuses = production du gaz.	Delarras (2000).
<b>Croissance à 0% NaCl</b>	Croissance bactérienne en absence de NaCl.	-Ensemencer l'EPA à 0% NaCl -Incuber 24H à 37°C - un trouble indique une croissance bactérienne	Guiraud (2003).
<b>ADH</b>	Dégradation des acides aminés (arginine en citruline)	-Ensemencer le milieu Moëller + arginine -Recouvrir avec la vaseline stérile -Incuber 24 H à 37°C - ADH (+) : violet foncé, ADH (-) : jaune	Guiraud (2003).
<b>ODC</b>	Dégradation des acides aminés (ornithine en putrescine)	-Ensemencer le milieu Moëller + ornithine -Recouvrir avec la vaseline stérile -Incuber 24 H à 37°C - ODC (+) : violet foncé, ODC (-) : jaune	Guiraud (2003).
<b>RM</b>	Mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes.	- Ensemencer largement le milieu Clark et Lubs. -Incuber à 37°C pendant 48 h. -Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. -La lecture est immédiate : Milieu rouge : RM (+). Milieu jaune : RM(-).	Guiraud (2003).
<b>VP (voges Proskauer)</b>	Production de l'acétoïne.	-Ensemencer largement le milieu Clark et Lubs. -Incuber à 37°C pendant 24h. Après culture : -Ajouter 2 à 3 gouttes de VPI et attendre 10 min puis ajouter 2 à 3 gouttes de VPII : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieu rouge : VP(+)</li> <li>• Milieu jaune : VP(-)</li> </ul>	Delarras (2003).
<b>Indole</b>	Dégradation de tryptophane	-Faire une suspension en milieu Urée-indole. - Incuber à 37° C pendant 24h. -Indole (+): Après l'ajout du réactif de Kovacs, apparition d'un anneau rouge à la surface.	Delarras (2003).

### II.4.5.3. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire très répandue dans la nature. Elle vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle est considérée comme une bactérie pathogène opportuniste, elle élabore des protéines et des substances toxiques pour l'homme, l'animal et les plantes. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipase) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (Avril *et al.*, 2000).

- **Isolement (Schéma 07)**

L'isolement du genre *Pseudomonas* a été réalisé, sur la gélose au cétrimide, selon la méthode décrite par Delarras (2000). La gélose au cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P.aeruginosa*. Sur ce milieu de très nombreuses bactéries sont inhibées de par la présence de l'antiseptique cétrimide (bromure de N-cétyl-N-triméthylammonium) ainsi que par la présence de l'antibiotique acide nalidixique (inhibiteur de nombreuses bactéries à Gram négatif). L'incubation se fait à 37° C pendant 24 heures.

- **Identification**

- **Examen macroscopique** : Sur la gélose au cétrimide, les colonies de *Pseudomonas* apparaissent souvent de grandes tailles (1-3mm), lisses et bombées, elles sont souvent pigmentées en bleu ou en bleu-vert du fait de la production des pigments
- **Examen microscopique** : état frais (bacilles, mobile) et coloration de Gram (Gram+)
- **Recherche de l'oxydase** : *Pseudomonas aeruginosa* est oxydase+.
- **Recherche de la pyoverdine et la pyocyanine** :

**Technique**

- A partir d'une culture pure (faire une suspension en eau distillée stérile), ensemercer deux milieux gélosés : King A et King B. Le milieu King A est destiné à favoriser sélectivement la synthèse de la pyocyanine (pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique). Le milieu King B est destiné à favoriser la synthèse du pigment jaune-vert fluorescent (pyoverdine) par le bacille pyocyanique et divers autres *Pseudomonas*. Exemple : *Pseudomonas fluorescens*.
- Les milieux sont inoculés par une strie médiane.
- L'incubation se fait à 37° C pendant 1 à 4 jours.

**Lecture**

- Couleur bleue sur le milieu King A : présence de pyocyanine.
- Couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B sous UV : présence de pyoverdine.

**Remarque :** En cas de doute pour la production de la pyocyanine, verser 0.5 ml de chloroforme à la surface de la culture sur le King A et laisser les tubes inclinés pendant 10 à 15 minutes. La pyocyanine est soluble dans le chloroforme coloré celui-ci en bleu (Rodier *et al.*, 2005).

- **Tests biochimiques :** par la galerie API 20NE (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France)
  - **Galerie biochimique miniaturisé API 20 NE**

API 20 NE (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.), combinant 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation (source : <http://www.biomerieux.com>).

La Préparation de la galerie et de l'inoculum est la même que la galerie API 20 E (§ II.4.5.1).

**Inoculation de la galerie**

- Remplir uniquement les tubes des tests NO<sub>3</sub> à PNPG,
- Créer une anaérobiose (par l'huile de paraffine) dans les tests : GLU, ADH, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : GLU à PAC avec la suspension bactérienne.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

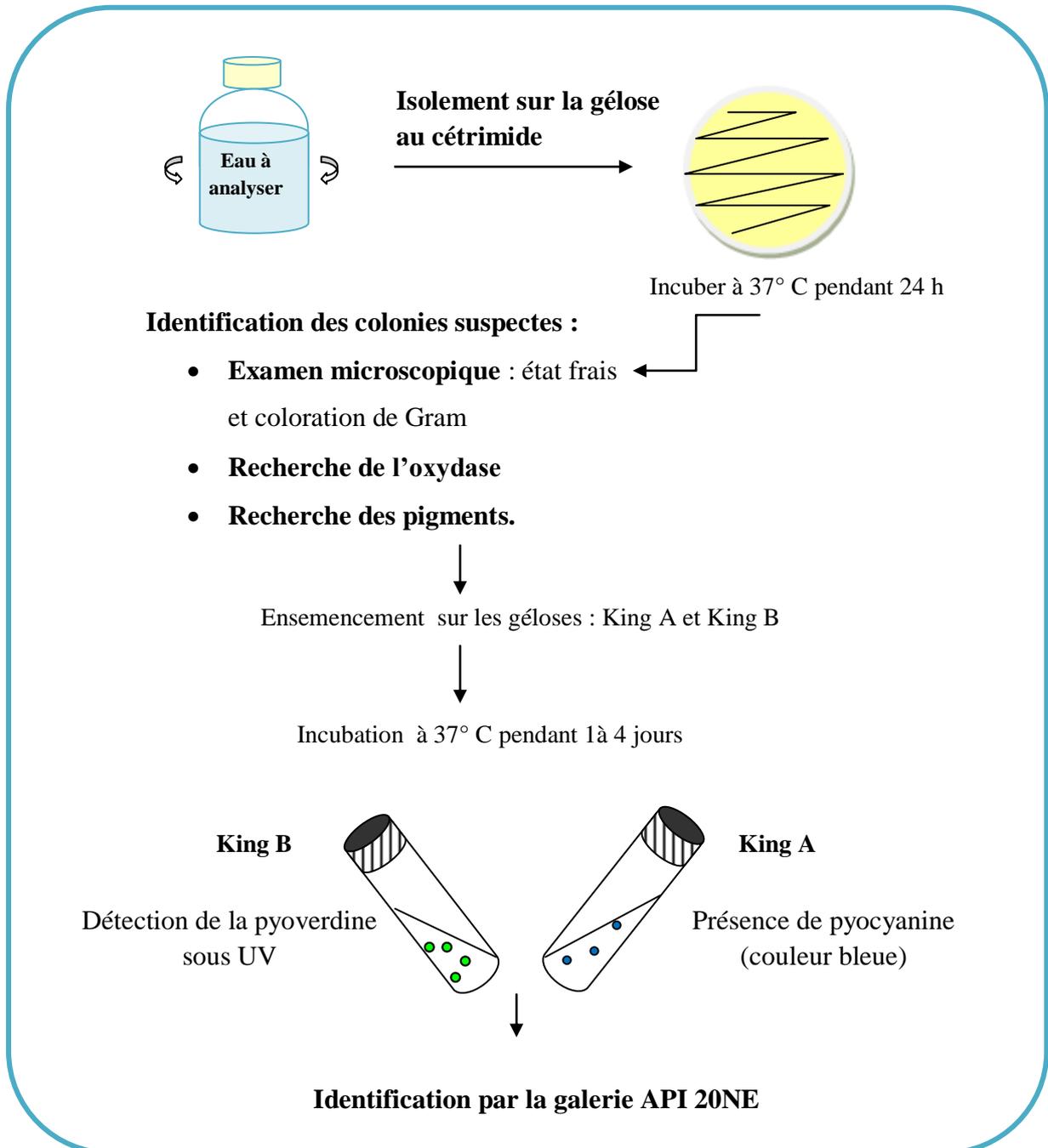
**Lecture**

Les Réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certaines sont révélées par l'addition de Réactifs :

- Test NO<sub>3</sub>: NIT I + NIT II.
- Test TRP : Réactif JAMES (ou Kovacs).

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (voir annexe III).

Sur la fiche de résultat, déterminer le profil numérique (voir API 20 E, § II.4.5.1). L'identification de la souche se fait à l'aide d'un logiciel d'identification (consulter : <http://www.biomerieux.com>).



**Schéma 7** : Isolement et Identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

#### II.4.5.4. *Staphylococcus aureus*

Ce sont des coques à Gram positifs, immobile, en générale groupés en amas dans un plan irrégulier. *Staphylococcus aureus* est un germe pyogène responsable de la plupart des infections suppurées de la peau et des muqueuses (Rodier *et al.*, 2005).

- **Isolement (Schéma 08)**

- L'isolement sélectif des staphylocoques a été réalisé sur la gélose Chapman selon la méthode décrite par Rodier *et al.* (2005). La gélose Chapman contient un inhibiteur, forte concentration en chlorure de sodium ( $75 \text{ g.L}^{-1}$ ), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* tolérant les fortes concentrations en NaCl.
- L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation. On peut étudier la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies

- **Identification**

- **Examen macroscopique :** les colonies pigmentées en jaunes et entourées d'une auréole jaune : forte suspicion de *Staphylococcus aureus*. Les autres espèces de Staphylocoques donnent généralement des colonies plus petites, rosées et n'entraîne pas de virage du milieu.
- **Examen microscopique :** Ce sont des cocci Gram positive, regroupés en amas.
- **Recherche de la catalase :** Cette enzyme empêche en effet l'accumulation d' $\text{H}_2\text{O}_2$  et le dégrade selon la Réaction suivante :



Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram positif (Guiraud, 2003).

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes,
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles gazeuses
- S'il y a un dégagement immédiat de bulles gazeuses, le test catalase est positif.

### ○ Recherche de la staphylocoagulase

La recherche de la staphylocoagulase in vitro est mise en évidence par la capacité de cette enzyme à coaguler le plasma de lapin dans un délai de 24 h. Cette recherche constitue un critère taxonomique important pour l'identification de *Staphylococcus aureus* (Rodier *et al.*, 2005).

#### **Technique**

- Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma de lapin oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon cœur-cervelle de la colonie suspecte (Reconstituer stérilement le plasma avec 10ml de solvant, agiter légèrement pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse).
- Placer le mélange à 37°C.
- Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

#### **Lecture**

- Coagulation du plasma : test Coagulase est positif : la souche est *Staphylococcus aureus*.
- Pas de coagulation du plasma : test Coagulase est négatif : autres espèces de Staphylocoques.

### ○ Etude des caractères biochimiques

Les caractères biochimiques des staphylocoques isolés ont été étudiés par la galerie API Staph (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

#### ▪ **Galerie biochimique miniaturisé API Staph**

API Staph (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* (Murray *et al.*, 2003).

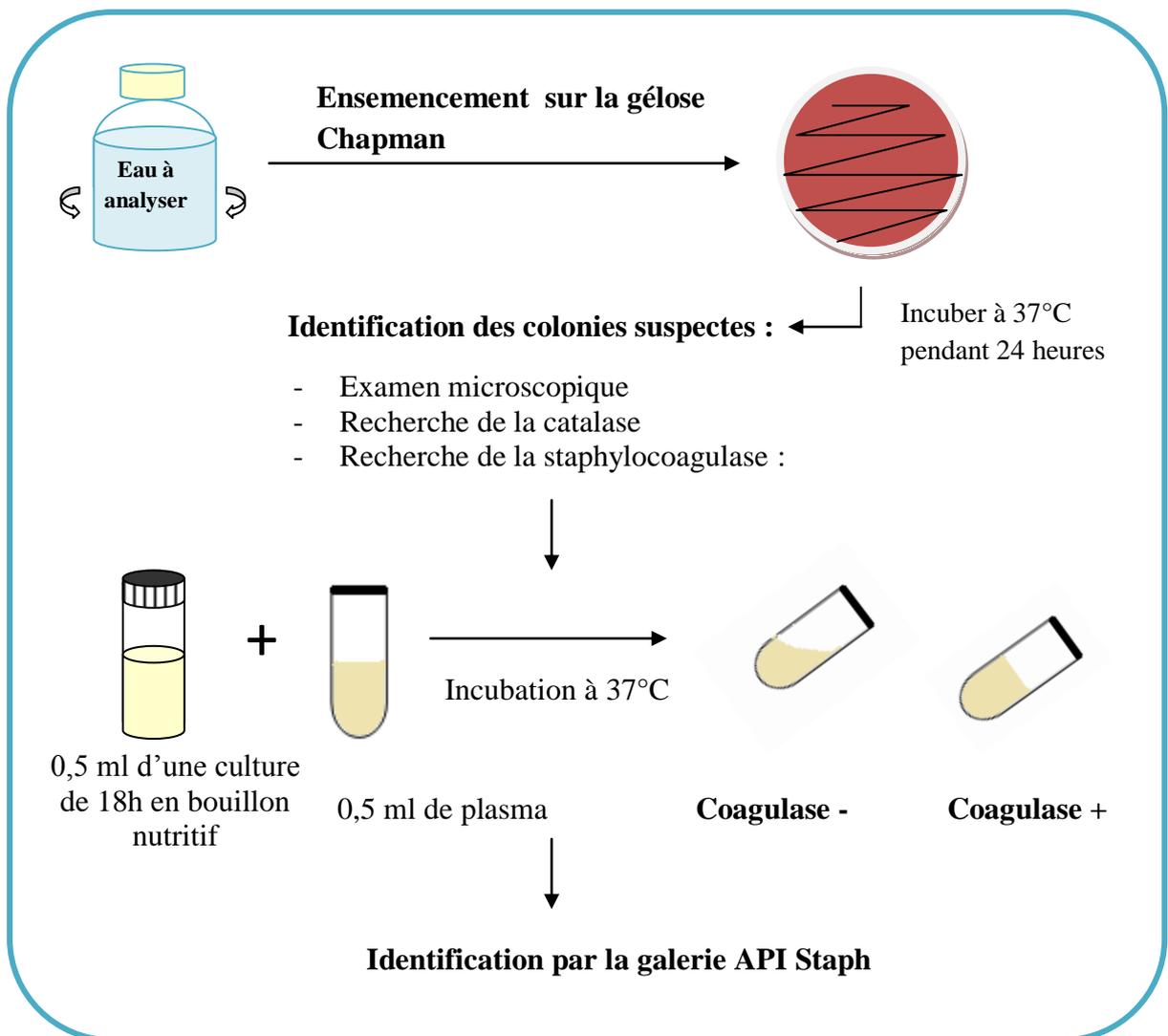
Le principe et la préparation de la galerie API Staph, ainsi que la préparation de l'inoculum sont similaires à ceux décrites pour la galerie API 20 E (§ II.4.5.1).

#### ▪ **Inoculation de la galerie**

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur en évitant la formation de bulles.
- Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine pour créer une anaérobiose. Incuber 24 heures à 37°C.

**Lecture**

- La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture.
- Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : voir tableau de lecture de la galerie miniaturisé API Staph en annexes (voir annexe III).
- L'identification de la souche se fait à l'aide d'un logiciel d'identification (consulter: <http://www.biomerieux.com>).



**Schéma 8 :** Isolement et identification des staphylocoques pathogènes.

## II.5. Analyse statistique des données

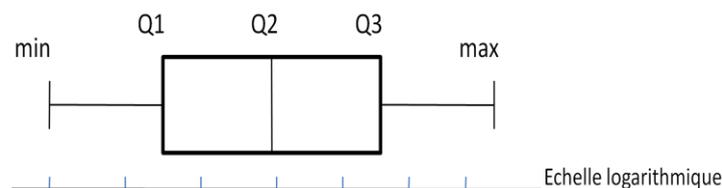
Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel R (R Development Core Team, 2014 Version 3.1.2) développé par [Ihaka & Gentleman \(1996\)](#). Ce logiciel est axé essentiellement sur les méthodes d'analyse statistique (univariée jusqu'au multivariée) ainsi que les représentations graphiques des résultats.

- **Tests statistiques utilisés**

- Afin de faciliter la lecture des résultats obtenus, nous avons utilisé les '*boxplots*' ou les boîtes à moustaches, cette méthode permet de représenter schématiquement une distribution statistique de manière notamment à repérer les points extrêmes ou aberrants ([Dagnelie, 2007](#)).

Les boîtes à moustaches comprennent plusieurs éléments ([Le Guen, 2002](#)) (Fig. 10) :

- Une échelle des valeurs est présentée sur l'axe vertical.
- La valeur du premier quartile (Q1) constitue le trait inférieur de la boîte.
- La valeur de second quartile (Q2), qui est donc la médiane, est représentée par un trait horizontal au sein de la boîte.
- La valeur du troisième quartile (Q3) constitue le trait supérieur de la boîte.
- Les moustaches inférieure et supérieure sont représentées de chaque côté de la boîte.
- L'extrémité de la moustache inférieure est la valeur minimum dans les données qui est supérieure à la valeur frontière basse :  $Q1 - 1,5 \times (Q3 - Q1)$ .
- L'extrémité de la moustache supérieure est la valeur maximum dans les données qui est inférieure à la valeur frontière haute :  $Q3 + 1,5 \times (Q3 - Q1)$ .
- Certaines valeurs atypiques peuvent également être représentées par des points (des valeurs extrêmes qui se trouvent entre 1,5 et 3 fois l'écart interquartile ( $Q3 - Q1$ ) au-dessous ou au dessus de la boîte).



**Figure 10:** Boîte à moustache ([Le Guen, 2002](#)).

- les différences inter-station et inter-mois ont été déterminées par un test non-paramétrique : Kruskal-Wallis, c'est un test de comparaison des médianes. Pour pouvoir utiliser un test non-paramétrique, les distributions des paramètres à comparer doivent être asymétriques. La normalité des distributions a été évaluée préalablement par la valeur W de Shapiro-Wilk's, les distributions étant la plupart du temps asymétriques.
- Nous avons calculé également les coefficients de corrélation non paramétrique de Spearman entre tous les paramètres physicochimiques et bactériologiques pour l'ensemble des quatre stations. Il est à noter que ce coefficient de corrélation mesure l'intensité de la relation linéaire existant entre les variables physicochimiques et bactériologiques prise 2 à 2. Afin de simplifier la présentation de nos résultats, une bibliothèque très spécialisée dans les analyses graphiques des corrélations a été utilisée sous R, cette bibliothèque est appelée « corrélogramme » ou présentation graphique de corrélation.
- Dans le but de visualiser et d'analyser les corrélations existantes entre les différentes variables à travers leurs structurations et leurs orientations, d'identifier les principaux facteurs responsables de la qualité des eaux de l'environnement prospecté et de voir les similitudes entre les stations et entre les mois de prélèvement, nous avons statistiquement traité l'ensemble des données par l'Analyse en Composantes Principales (A.C.P). Cette méthode statistique multidimensionnelle descriptive utilisable comme outil d'aide à l'interprétation d'une matrice de données, permet de synthétiser et de classer un nombre important de données afin d'en extraire les principaux facteurs qui sont à l'origine de l'évolution simultanée des variables et de leurs relations propres (Yidana *et al.*, 2008). Le traitement des données par ACP a été réalisé avec une bibliothèque appelée 'FactoMineR' (Husson & Josse, 2014).
- Une classification hiérarchique de la variation inter-station du canal Messida a été également réalisée. Cette méthode consiste à définir un critère d'agrégation des classes qui peut être défini par la mesure du degré de ressemblance ou de dissemblance qui existerait entre les stations (Templ *et al.*, 2008). La distance euclidienne demeure la mesure de similarité la plus utilisée. Les partitions sont représentées par un arbre de classification ou un « dendrogramme ». La méthode de Ward semble avoir donné les résultats les plus pertinents (Cloutier *et al.*, 2008).

## II.6. Qualité bactériologique du poisson *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758)

Le canal Messida constitue un corridor biologique très important dans le bassin versant du lac Tonga, il permet les échanges lac Tonga- Mer Méditerranée et le déplacement de plusieurs espèces de poissons (Raachi, 2007).

Actuellement, les poissons sont reconnus comme indices de la qualité du milieu aquatique dans le monde (Kestemont *et al.*, 2000 ; McDowall & Taylor, 2000 ; Oberdorff *et al.*, 2001b), capables de signaler les dégradations du milieu (Scott & Hall, 1997 ; Wichert & Rapport, 1998) et constituent un vecteur de communication intéressant pour sensibiliser le public et les décideurs à la nécessité de préserver la qualité des milieux aquatiques (Monod, 2001).

Après avoir déterminé les polluants (physico-chimiques et bactériologiques) qui affectent les eaux du canal Messida, cette partie d'étude permet de déterminer quelles en sont les conséquences pour le peuplement de poissons qui y vivent par une estimation de l'état de santé d'un poisson peuplant le site d'étude : le carassin commun *Carassius carassius* en suivant un « code pathologique » et par une étude de la qualité bactériologique de leur différents compartiments (Branchies, mucus et chair). Nous nous intéressons donc à trouver l'association entre la qualité bactériologique de l'eau et celle du poisson (*Carassius carassius*) du canal Messida.

### II.6.1. Carassin commun *Carassius carassius*

Trois espèces de poisson sont recensées dans le canal Messida durant notre période d'étude : l'anguille *Anguilla anguilla*, le Carassin *Carassius carassius* et la Gambusie *Gambusia affinis*. Seul le carassin fait l'objet de notre étude en raison de sa présence abondante et sa consommation dans la région.

- **Identification, biologie et morphologie du carassin commun**

Le carassin commun est un poisson typiquement lacustre, peuplant les eaux tièdes ou chaudes. Il fréquente les zones littorales des lacs, les étangs peu profonds et les marécages. Il abonde les secteurs à courant lent (il est rarement présent dans le lit majeur du fleuve) et surtout dans les eaux stagnantes (bras-morts, zones inondables ...). Il est apte à supporter des eaux saumâtres de salinité maximum de 10 mg/l (Bruslé & Quignard, 2013). Le carassin commun est un poisson qui existe en Algérie depuis très longtemps, mais ne fait pas partie de

sa faune naturelle. Il s'agit d'espèce introduite, la première fois en 1860 dans les oueds de la Mitidja dans le but de développer la pêche continentale et s'est par la suite répandu sur tout le territoire, la seconde fois en 1930 dans un but ornemental (Kara, 2012).

Sa biologie est comparable à celle de la carpe (*Cyprinus carpio*), il est sensible aux eaux froides et en raison de son caractère thermophile, recherche les eaux chaudes (15 à 20°C), il supporte jusqu'à 30°C et plus. Très rustique, le carassin commun présente une grande résistance au manque d'oxygène, à l'acidité des eaux (pH 4,5) et aux pollutions, d'où sa grande faculté d'adaptation (avec une capacité d'hibernation par enfouissement dans la vase). Il vit par groupes et affectionne les zones riches en végétaux aquatiques (Bruslé et Quignard, 2013).

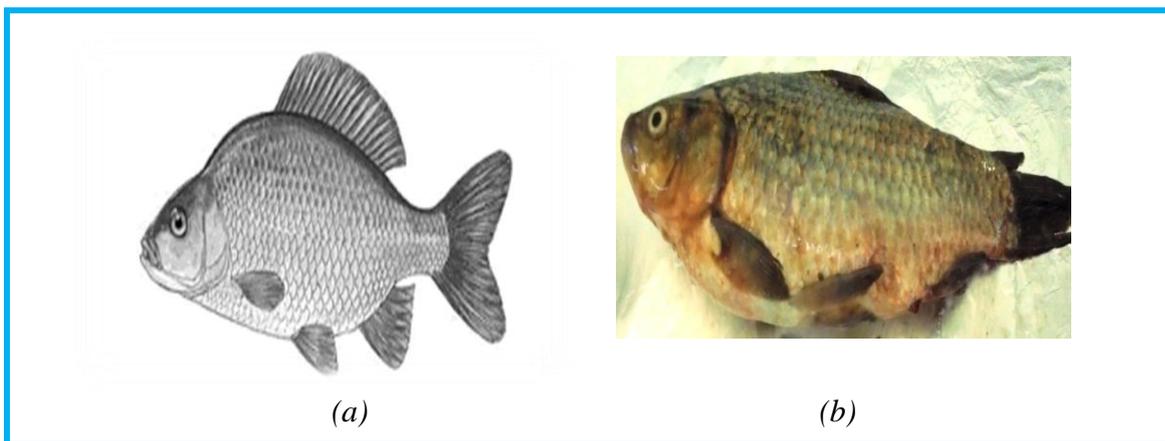
Le régime alimentaire du carassin commun est à base de plantes aquatiques et de petits organismes benthiques, en particulier des larves de chironomes. Les juvéniles (<10 cm), qui sont les plus vulnérables à la prédation, consomment une plus faible quantité de proies (invertébrés) en présence d'un prédateur, la perche (*Perca fluviatilis*), qu'en son absence (Paszkowski *et al.*, 1996 ; Bruslé & Quignard, 2013).

Le carassin commun est couramment utilisé dans les chenaux et bassins envahis par une végétation aquatique nécessitant la pratique (couteuse) de fréquents faucardages. Sa consommation de macrophytes et d'algues filamenteuses permet de réduire cette biomasse végétale et favorise une production animale de qualité. Cette espèce est donc devenue populaire pour la gestion rationnelle des plans d'eau et le contrôle de la végétation aquatique toutefois, sa présence dans des canaux d'irrigation peut conduire à une disparition de la végétation utilisée par un certain nombre de Cyprinidés phytophiles (Nepveu, 2002). Ce poisson profite parfois du réchauffement des eaux et occupe la place laissée vacante par la disparition des espèces souffrant d'une dégradation de leurs habitats (Bruslé et Quignard, 2013).

Le carassin mesure 20 à 35 cm, maximum 50 cm, et pèse jusqu'à 1 Kg. La couleur de son dos est brunâtre à reflets verdâtres, flancs brun-jaunâtres à reflets mordorés et ventre blanc-jaunâtre avec une tache sombre sur le pédoncule caudal. La tête, petite et conique, ne dispose pas de barbillon. Les nageoires pectorales et ventrales ainsi que l'anale sont légèrement arrondies et ont une couleur rougeâtre. La nageoire dorsale se caractérise par une ligne convexe en fin caudale est faiblement échancrée (Fig.11) (Bruslé et Quignard, 2013).

La maturité sexuelle du carassin commun est atteinte au cours de 2<sup>e</sup>-3<sup>e</sup> ou 4<sup>e</sup> année de vie selon les latitudes (à une taille de 11-13 cm et un poids de 85-100g). La maturation sexuelle des femelles est conditionnée par des températures chaudes en photopériode longue (Papadol, 1969).

La saison de reproduction commence en mai et dure jusqu'à environ juin/juillet en Europe à des températures supérieures à 18°C. La reproduction a lieu dans des biotopes avec une végétation submergée dense. Les femelles pondent individuellement avec plusieurs mâles. Les mâles suivent les femelles matures, souvent avec beaucoup d'ébats frénétiques puis les femelles pondent 3 à 5 fois durant la saison. Les œufs sont collants et sont attachés aux feuilles de plantes aquatiques (Bruslé & Quignard, 2004).



**Figure 11:** Carassin commun *Carassius carassius* (source : (a) Bruslé et Quignard, 2013; (b) : Prise par Benhalima en 2013).

- **Position systématique du carassin commun**

La position systématique de cette espèce de poissons est définie à partir de différents travaux notamment ceux de Linnaeus (1758) :

Embranchement: *Chordata*

Sous-embranchement: *Vertebrata*

Super- classe : *Osteichthyes*

Classe : *Actinopterygii*

Sous-classe : *Neopterygii teleostei*

Super- ordre : *Ostariophysi*

Ordre : *Cypriniformes*

Sous- ordre : *Cyprinoidea*

Famille : *Cyprinidae*

Genre : *Carassius*

Espèce : *Carassius carassius*

### II.6.2. Pêche du carassin commun

Les poissons sont capturés par un système de nasse au niveau de quatre stations d'échantillonnages. La nasse utilisée est un piège destiné généralement à la capture des poissons, classé dans la catégorie « pêche aux engins », elle a une hauteur de 0,65 m, un diamètre de 0,70 m et des mailles avec un diamètre de 27 mm. Son principe est relativement simple : attirer généralement par un appât positionné à l'intérieur de la nasse, le poisson guidé par l'entonnoir, pénètre dans la nasse par le goulot plus ou moins étroit. Et une fois à l'intérieur, il lui est bien plus difficile de s'en échapper. Les nasses doivent être couchées. Chaque engin est lesté par une grosse pierre qui le fixe au fond.

- **Fréquence et transport des échantillons**

Un échantillonnage mensuel est réalisé dans les quatre stations de prélèvement durant la période s'étalant de novembre 2012 à mai 2013.

L'étude bactériologique a nécessité l'utilisation de 2 à 3 individus (selon la taille) par échantillonnage (trois répétition ont été réalisées) ; les poissons sont recueillies dans des sacs propres et étiquetés (date et heure, point de prélèvement, espèce) puis entreposés dans une glacière désinfectée et maintenue à une température comprise entre 4°C à 6°C (Guiraud, 2003). Les analyses bactériologiques sont réalisées dans un délai maximal de 6 heures, après la pêche de poissons.

Un total de 252 échantillons a été analysé, nous avons procédé à l'étude de différentes parties de corps du poisson : branchies (n = 84), mucus (n = 84), et la chair (n = 84).

### II.6.3. Examen macroscopique du poisson

Sur chaque poisson fraîchement pêché ( $n \geq 30$ ) ont été entrepris *in situ* des examens macroscopiques externes destinés à noter toute altération ou lésion éventuelle et détermination de la prévalence globale des poissons atteints (P%) selon la méthodologie « Code pathologique » (Girard, 1998).

L'outil « Code pathologique » est un bio-indicateur pertinent à la fois de la qualité de l'eau et du milieu et de la qualité du peuplement et des populations en place (Girard, 1998).

Girard (1998) estime que la qualité de l'eau ou des habitats est altérée lorsque la prévalence (P%) des lésions externes est supérieure à 5% conformément à la grille suivante :

**Tableau 6:** Codes pathologiques (Girard, 1998).

Prévalence	Qualité de l'eau et de l'habitat	Perturbation
< 1%	Excellente	non significative
1-5 %	Bonne	faible
5-20 %	Médiocre	moyenne
20-35%	Mauvaise	forte
>35 %	Très mauvaise	Très forte

#### II.6.4. Analyse bactériologique

Dans la présente étude nous avons dénombré différents groupes bactériens (Flore cultivable et germes tests d'une contamination fécale) et isoler le maximum de bactéries présentes dans différents compartiments du carassin commun peuplant les eaux du canal Messida. Les parties étudiées sont : les branchies, le mucus et la chair. Dès l'arrivée au laboratoire, nous avons placé les poissons dans une zone stérile sur un plateau métallique stérile afin de prélever les différentes parties du corps du carassin commun (Cloete *et al.*, 1984).

- **Choix des compartiments :** la localisation des bactéries du poisson au niveau des branchies et la peau est expliquée par le contact direct avec l'eau lors de la respiration et le déplacement respectivement, donc, selon Bourgeois (1988), l'étude de la qualité bactériologique de ces organes nous donne une idée sur l'impact de la qualité bactériologique de l'eau sur le poisson dans laquelle a été pêché. L'étude de la qualité de la chair nous permet d'envisager le risque sanitaire liée à la consommation de ces poissons.

**Remarque :** La composition des milieux de culture, réactifs et colorants utilisés est rapportée en annexe II.

- **Collecte des différentes parties du corps du poisson**

- **Mucus**

- A l'aide d'un écouvillon stérile, prélever le mucus dorsale du poisson sur une surface de 1 cm<sup>2</sup>; le mucus ventral n'a pas été prélevé puisque ce dernier peut être se contaminé par les sécrétions intestinales et génitales (Harnisz & Tucholski, 2010).
- Immerger l'écouvillon dans 5 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une solution mère (Fig.12) (Ozaktas *et al.*, 2012).
- Mélanger pendant 10 minutes.



**Figure 12** : (a) Méthode de prélèvement et (b) de préparation de la solution mère du mucus.

- **Branchies et chair**

- Couper à l'aide d'un scalpel stérile (ou un ciseau stérile) les parties à étudier.
- Peser 10 g de chaque partie (branchie et chair), puis la déposer dans 90 ml d'eau physiologique à 0.85%, broyer et mélanger pendant 2 minutes afin d'obtenir une solution mère (Fig. 13 et 14) (Sandayigaya *et al.*, 1990).

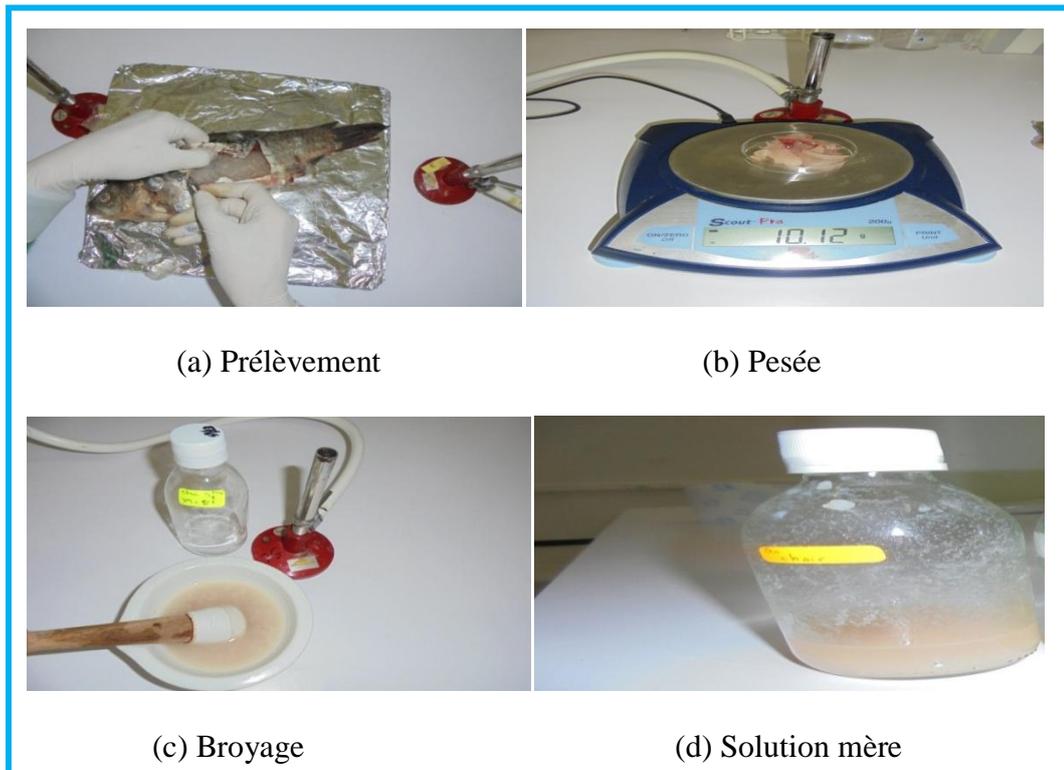
**Remarque**

- La pesée des différentes parties du corps du poisson est effectuée en boîte de pétri à l'aide d'une balance de précision (Modèle : SCOUT™ Pro, 200g ; précision 0,01g) placée dans une zone stérile (Harnisz & Tucholski, 2010).
- Les branchies et la chair sont broyées à l'aide d'un mortier et d'un pilon en porcelaine préalablement stérilisés à 170 C° pendant 2 heures au four Pasteur (Koussémon *et al.*, 2008).

- Pour le muscle, couper des tranches dorsales, ventrales et de la queue pour obtenir 10g (Harniisz & Tucholski, 2010).
- Afin d'éviter la contamination de la chair par la flore de la peau, laver cette dernière à l'éthanol 70% (Nieto *et al.*, 1984).



**Figure 13:** Méthode de prélèvement et de préparation de la solution mère des branchies.



**Figure 14 :** Méthode de prélèvement et de préparation de la solution mère de la chair.

#### II.6.4.1. Dénombrement de la flore cultivable hétérotrophe mésophile et des germes tests de contamination fécale

Le dénombrement de ces flores a été effectué selon les méthodes normalisées ISO (Tableau7).

- Le dénombrement de la flore cultivable hétérotrophe mésophile ou les germes totaux (GT) a été réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur gélose Plate Count Agar (PCA). L'incubation est conduite à 30°C pendant 72 heures. Les dénombrements sont exprimés en unité formant colonie par gramme de branchie et/ou de chair ( $UFC/g$ ), et en  $UFC/cm^2$  de mucus.
- Les coliformes totaux (CT), les coliformes fécaux (CF) et *Escherichia coli* (EC) ont été dénombrés sur le bouillon BCPL par la méthode du nombre le plus probable (NPP/ 3tubes). L'incubation est faite à 37°C en aérobiose pendant 48h pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 24h pour les coliformes thermotolérants.

- Les streptocoques fécaux (SF) ont été dénombrés sur les bouillons Rothe et Litsky après incubation à 44°C pendant 24 à 48h.
- Les Anaérobies Sulfite -Réducteurs (ASR) sont dénombrés sur tubes remplis de milieu sélectif Viande-foie additionné d'alun de fer et de sulfite sodium après incubation à 37°C pendant 24h.

**Remarque :** Afin de trouver le NPP des CT, CF, EC et SF, se reporter à la table NPP extraite de la norme ISO 7218, 1996 (voir annexe III) (source : Rejsek, 2002).

**Tableau 7 :** Liste des germes dénombrés et méthodes utilisées.

Micro-organismes	Méthodes d'analyses	Références
La flore cultivable hétérotrophe mésophile	NF ISO 7218, Octobre 2007	Joffin & Joffin (2010).
Coliformes totaux	NF ISO 4831, Octobre 2006	Joffin & Joffin (2010).
Coliformes fécaux	NF ISO 4831, Octobre 2006	Joffin & Joffin (2010).
<i>Escherichia coli</i>	NF ISO 4831, Octobre 2006	Joffin & Joffin (2010).
Streptocoques fécaux	NF EN ISO 9308-3	Guiraud (2003).
Anaérobies sulfite -réducteurs	Arrêté du 3 Avril 2006	J.O.R.F (2006).

#### II.6.4.2. Isolement et identification des bactéries pathogènes

Afin d'isoler le maximum de bactéries au niveau des différentes parties du poisson étudié, plusieurs milieux de culture ont été employés (Tableau 8). L'ensemencement par incorporation et/ou par stries sur boîtes de Pétri est pratiqué le plus souvent dans un but d'isolement.

Les caractéristiques morphologiques et culturales des différentes bactéries isolées ont été étudiés conformément au Bergey's manual of Determinative Bacteriology (Holt, 1994 ; Martin-Carnahan *et al.*, 2005)

L'identification biochimique des Bacilles à Gram négatif collectées a été réalisée par API 20 E et/ou API 20 NE (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France), et les Coccis à Gram positif par API Staph et/ou API 20 Strep (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) (Sarter *et al.*, 2007).

- **Remarque**

- La préparation et l'inoculation des galeries API 20 E, API 20 NE et API Staph sont représentés dans § II.4.5.

- API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques, il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques et entérocoques. L'inoculation de la galerie est effectuée comme suite :
  - A partir d'une suspension très dense (ampoule d'API suspension Medium (2ml) + colonie à étudier), répartir environ 100 µl dans chaque cupule des tests VP à LAP ; Pour le test ADH : remplir uniquement le tube.
  - Dans la deuxième moitié de la galerie (test RIB à GLYG), ouvrir une ampoule d'API GP Medium, et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum, bien homogénéisé. Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
  - Créer une anaérobiose dans les tests ADH à GLYG en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
  - La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture de la galerie miniaturisé API 20 Strep (voir annexe III) et l'identification de la souche se fait à l'aide d'un logiciel d'identification (consulter : <http://www.biomerieux.com>).

**Tableau 8:** Milieux de culture utilisés pour l'isolement des bactéries à partir des différents compartiments de *Carassius carassius*.

Milieu de culture	Méthode d'ensemencement/ condition d'incubation	Référence
PCA contenant 0.5% NaCl	1ml par incorporation ; incubé à 35 °C pendant 48 h.	Chiu-Chu Hwang <i>et al.</i> (2011).
GN	0.1 ml en surface; incubé à 37°C pendant 24h.	Ikutegbe & Sikoki (2014).
Mac Conkey	0.1 ml en surface; incubé à 37°C pendant 24h.	Ikutegbe & Sikoki (2014).
Hektoen	0.1 ml en surface; incubé à 37°C pendant 24h.	Foti <i>et al.</i> (2009).
SS ( <i>Salmonella-Shigella</i> )	1ml par incorporation après pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée et enrichissement sur bouillon au sélénite ; incubé à 37°C pendant 24h.	Harnisz & Tucholski (2010).
Chapman	0.1 ml en surface; incubé à 37°C pendant 24h.	Ikutegbe & Sikoki (2014).
Cétrimide	1ml par incorporation ; incubé à 28 °C pendant 48 h.	Guiraud (2003).
Columbia au sang	Ensemencement en surface ; incubé à 28 °C pendant 24 h.	Cizek <i>et al.</i> (2010).

## **II.7. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson *Carassius carassius* du canal Messida**

Actuellement, les antibiotiques sont largement utilisés en médecine humaine et en médecine vétérinaire (Sarmah *et al.*, 2006); une fois consommées, ces molécules sont excrétées sous forme peu métabolisée par l'urine et les matières fécales (Christian *et al.*, 2003), elles peuvent contaminer les eaux de surface via des effluents traités de stations d'épurations (sources ponctuelles) ou des ruissellements et/ou lessivages des sols (sources diffuses : pâturage, épandage, zone urbanisée) (Oberle, 2012).

La présence des antibiotiques dans les milieux aquatiques a des effets sur l'activité des communautés microbiennes de l'environnement, le plus discuté est la possible sélection de souches résistantes aux antibiotiques dans l'eau (Baquero *et al.*, 2009). En parallèle aux apports en résidus d'antibiotiques, il existe une contamination par des bactéries d'origine fécale antibio-résistantes dans les environnements aquatiques. Au sein des populations bactériennes et particulièrement des souches pathogènes, la présence de gènes de résistance aux antibiotiques a été reconnue comme un problème de santé publique par l'OMS (2001).

Le canal Messida est confronté à plusieurs sources de contamination (activités anthropiques : agriculture, pâturage, élevage de bétail...), ces dernières peuvent être l'origine de la présence des bactéries antibio-résistantes dans ces eaux. En parallèle le canal est considéré comme un milieu biotique occupée et exploitée par une multitude d'organismes vivants tels que les poissons. Ces organismes sont fortement soumis à l'impact de la dégradation de la qualité de l'eau (Bruslé et Quignard, 2004). Il est connu aussi que la flore bactérienne normale de poissons peut inclure des gènes de résistance aux antibiotiques même en absence d'antibiotiques exogènement appliqués (Sørum & Sunde, 2001; Shah *et al.*, 2012).

Dans le but d'avoir une idée sur l'émission et/ou la présence des bactéries antibio-résistantes dans le canal Messida ainsi que chez le poisson *Carassius carassius* peuplant ce canal, nous allons déterminer le niveau de résistance aux antibiotiques des bactéries présentes dans l'eau et au niveau des branchies, mucus et la chair du carassin étudié.

### **II.7.1. Bactéries étudiées**

Durant notre étude, nous avons identifié 328 souches bactériennes à partir des eaux du canal Messida et 172 à partir des différents compartiments étudiés du *Carassius carassius*. Ces souches ont été identifiées, purifiées et conservées jusqu'à l'application de l'antibiogramme. La conservation des souches a été réalisée selon deux méthodes :

- A la température ambiante, par ensemencement par stries sur la gélose nutritive (Chapman pour Staph) inclinées en tubes à essai en faisant des repiquages chaque mois ;
- Au congélateur, après isolement dans un milieu contenant du glycérol et le bouillon nutritif (Guiraud, 2003).

## II.7.2. Détermination de la résistance aux antibiotiques

### II.7.2.1. Antibiotiques testés

Les profils de résistance aux antibiotiques des souches isolées à partir de l'eau et du poisson des 4 stations de prélèvement, ont été déterminés par la méthode de diffusion de disques sur gélose Mueller Hinton (Bauer *et al.*, 1966). Les antibiotiques testés (Lab. Pvt. Mumbai, India) ont été répartis comme suit : Ampicilline (AM, 10 µg), ticarcilline (TI, 75 µg), imipénème (IPM, 10 µg), céfalotine (CF, 30 µg), céfotaxime (CTX, 30 µg), tétracycline (TE, 30 UI), gentamycine (GEN, 15 µg), amikacine (AN, 30 µg), chloramphénicol (C, 30 µg), ciprofloxacine (CIP, 5 µg), acide nalidixique (NA 30 µg), nitrofurane (NIT, 300 µg), et fosfomycine (FOS, 15 µg + 50 µg G6P).

### II.7.2.2. Technique de l'antibiogramme

- A partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif, préparer une suspension en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~ 10<sup>8</sup> UFC/ml)
- La gélose Mueller Hinton a été ensemencée par la méthode de diffusion : ensemencer par écouvillonnage avec la suspension inoculum diluée au 1/10 (~ 10<sup>7</sup> UFC/mL) ou ensemencer par inondation avec la suspension inoculum diluée au 1/100 (~ 10<sup>6</sup> UFC/mL) en respectant les mesures de sécurité nécessaires. Après séchage des boîtes de gélose dans une étuve (37 °C, 30 min), les disques d'antibiotiques ont été appliqués à la surface de la gélose au moyen d'une pince préalablement stérilisée.
- Après incubation (18-24 H à 37 °C), les diamètres d'inhibition (mm) ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et les souches classées en type sensible, intermédiaire ou résistant selon les indications du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013). Les bactéries de type intermédiaire et résistant sont groupées par la suite dans la même classe « R », d'après Reinthaler *et al.* (2003).

- **Remarque**

- Le choix des antibiotiques testés sur les différentes espèces bactériennes isolées, repose, d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques (résistances naturelles et résistances acquises possibles), et sur les travaux antérieurs de la recherche des bactéries antibio-résistantes chez les poissons et leurs environnement d'autre part (Phuong *et al.*, 2005 ; Sarter *et al.*, 2007). De plus, les antibiotiques choisis sont très utilisés en médecine humaine et vétérinaire en Algérie (Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, 2011).
- Les concentrations et les diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques testés selon les indications du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie sont rapportés en annexes (voir annexe III).
- Il n'existe pas des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les bactéries isolées des organismes aquatiques (Bywater *et al.*, 2006; Miller & Reimschuessel, 2006). Dans la présente étude, les souches isolées du poisson, sont classées en type sensible, intermédiaire ou résistant selon les indications, en médecine vétérinaire, du Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (2011) (voir annexe III).

- **Contrôle de qualité interne**

Un contrôle de qualité interne a été réalisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les souches de référence utilisées sont les suivantes :

*Escherichia coli* CIP 7624 (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110 (ATCC 27853), et *Staphylococcus aureus* CIP 7625 (ATCC 25923) (CA-SFM, 2013).

Les limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour les souches de références utilisées sont rapportées en annexe III.

### II.7.2.3. Analyse des données

La fréquence des bactéries antibio-résistante est calculée selon l'équation suivante :  $A/B \times 100\%$ , où A est le nombre des isolats résistantes à un antibiotique, et B est le nombre totale des isolats. Une bactérie est considérée multi-résistante (MAR) quand elle a présentée une résistance vis-à-vis à trois (ou plus) classes d'antibiotique (Vaz-Moreira *et al.*, 2012).

L'indice de la Résistance Multiple aux antibiotiques (MAR *index*) des isolats est calculé selon la formule suivante (Sarter *et al.*, 2007):

$$\text{MAR index} = X / (Y \times Z)$$

Où:

$X$  = cas total de la résistance aux antibiotiques.

$Y$  = le nombre total des antibiotiques utilisés dans cette étude.

$Z$  = nombre total des isolats.

- Si MAR index  $> 0.2$ , la bactérie est exposée à une forte source de contamination d'origine humaine ou animale où les antibiotiques sont utilisés fréquemment;
- Si MAR index  $\leq 0.2$ , l'antibiotique est rarement ou jamais utilisé dans les traitements des infections humaines ou animales (Krumperman, 1985).

# **III. Résultats et discussion**

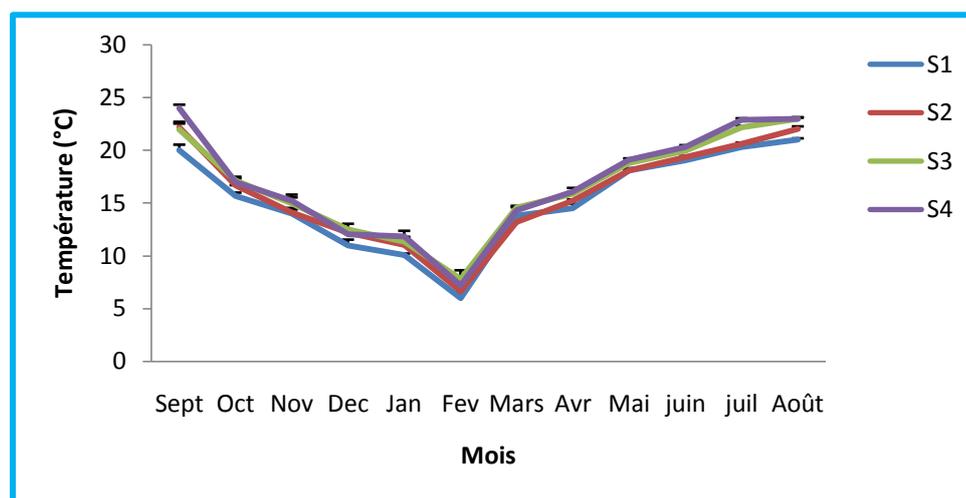
### III.1. Caractéristiques physicochimiques des eaux du canal Messida

Les analyses physico-chimiques des eaux du canal Messida pendant les deux cycles d'étude (cycle '1' : septembre 2010- août 2011 ; cycle '2' : septembre 2012- août 2013), ont montré une variation importante de plusieurs descripteurs. Ces derniers dépassent, dans certains cas, les normes de la qualité des eaux superficielles admises par les autorités algériennes (J.O.R.A, 2014).

#### III.1.1. Température

Les courbes de variation de la température présentent la même allure au niveau des quatre stations.

Durant le cycle '1' (Fig.15), la température minimale (6°C) est atteinte au mois de février dans la station S1 et la température maximale (24°C) est relevée en septembre dans la station S4. Les eaux du canal montrent un écart thermique de l'ordre de 17°C ; ces variations indiquent une forte saisonnalité typiquement méditerranéenne.



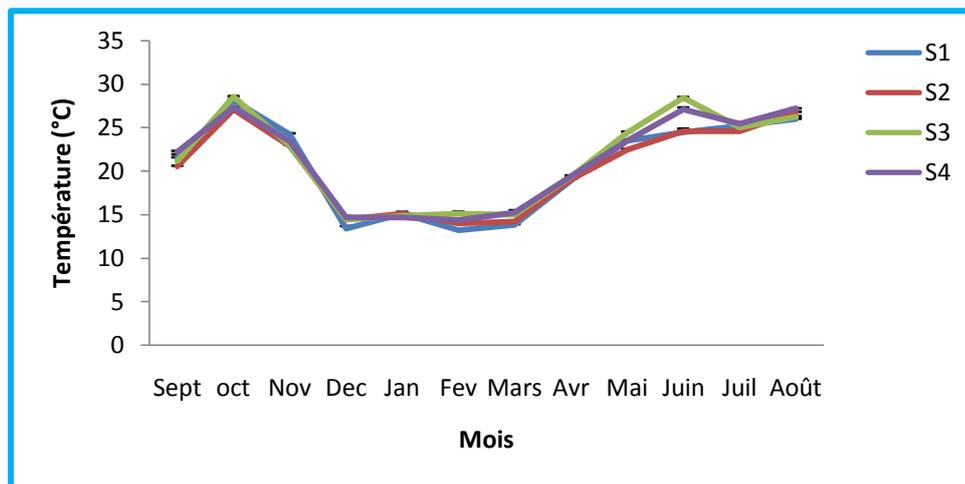
**Figure 15:** Évolution spatio-temporelle de la température des eaux du canal Messida

(Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

Durant le cycle '2' (Fig.16), la température de l'eau la plus basse est notée en février dans la station S1 (13.1°C) et la plus élevée en octobre et juin dans la station S3 (28.6°C). L'écart thermique est de l'ordre de 13°C.

Les températures de l'eau relevées durant le cycle '2' sont plus élevées que celles du cycle '1'.

Selon les normes algériennes de la qualité des eaux de surface (J.O.R.A, 2014) les eaux du canal Messida seraient de 'qualité bonne' ( $< 25^{\circ}\text{C}$ ) durant le cycle '1' ; en ce qui concerne le cycle '2', les eaux se dégraderaient aux mois d'octobre (S1-S4), de juin (S3 et S4), de juillet (S1, S3 et S4) et d'août (S1-S4).

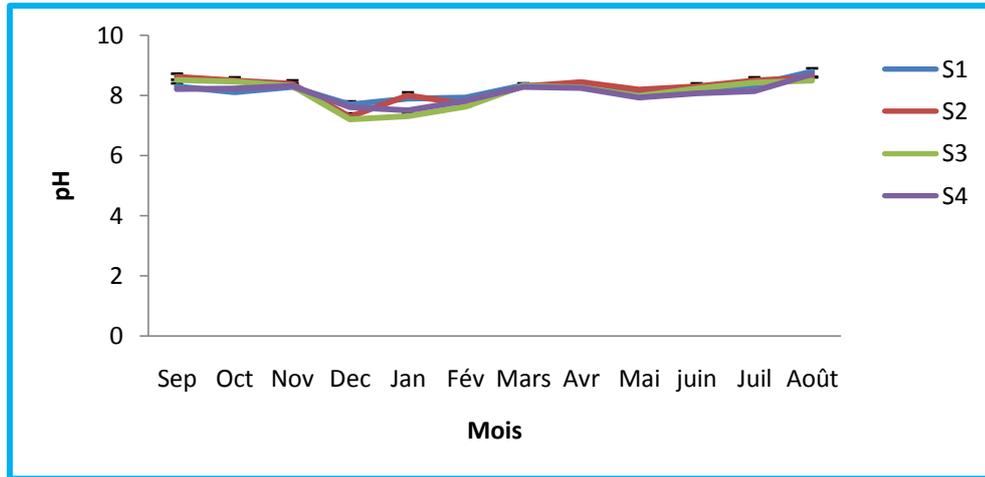


**Figure 16:** Évolution spatio-temporelle de la température des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.2. pH

Globalement, les eaux du canal Messida, présentent des pH basiques à proche de la neutralité.

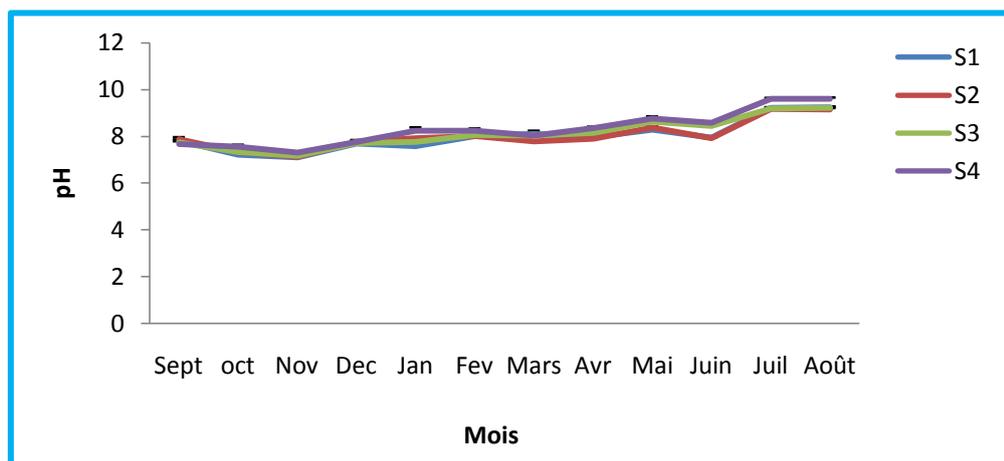
Durant le cycle '1', les valeurs du pH enregistrées (Fig.17) varient de 7.6 à 8.9 dans la station S1, de 7.2 à 8.72 dans la station S2, de 7.1 à 8.6 dans la station S3 et de 7.4 à 8.8 dans la station S4. Ces valeurs sont en conformité avec la norme algérienne relative à la qualité des eaux superficielles ( $6.5 < \text{pH} < 9$ ) (J.O.R.A, 2014).



**Figure 17:** Évolution spatio-temporelle du pH des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

En revanche, durant le cycle '2', les valeurs du pH enregistrées en juillet et en août, au niveau des quatre stations, dépassent la valeur guide maximale (Fig.18).

Nous notons, toutefois, que les valeurs moyennes extrêmes de ce paramètre sont enregistrées en été durant les deux cycles d'échantillonnage.



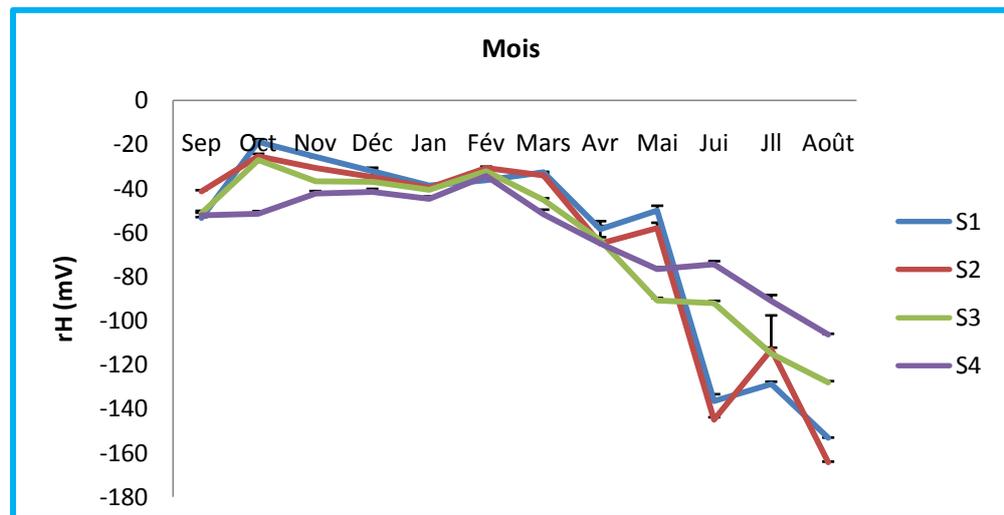
**Figure 18:** Évolution spatio-temporelle du pH des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.3. Potentiel d'oxydo-réduction

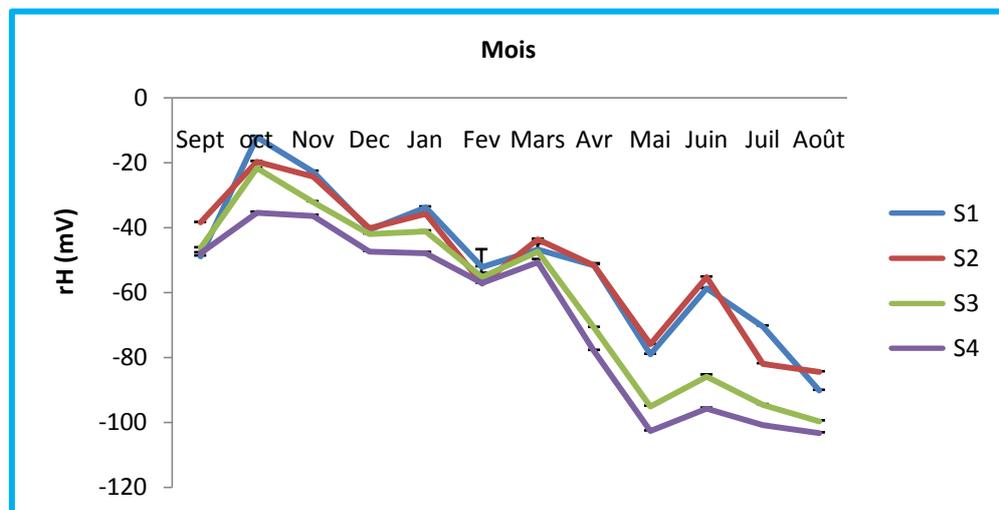
Les valeurs du pouvoir réducteur varient entre -164.3 et -18.2 mV pendant le cycle '1' (Fig.19) et entre -103.4 et -11.9 mV durant le cycle '2' (Fig.20).

Les valeurs les plus élevées du rH sont enregistrées pendant la période pluvieuse ; la moyenne saisonnière varie de -32.76 à -48.61 mV durant le cycle '1' et de -27.45 à -50.74 mV durant le cycle '2'.

C'est en été que les valeurs les plus basses sont notées durant les deux cycles : au niveau des stations S1 et S2 pendant le cycle '1' et au niveau des stations S3 et S4 durant le cycle '2' (Fig. 20 et 21).



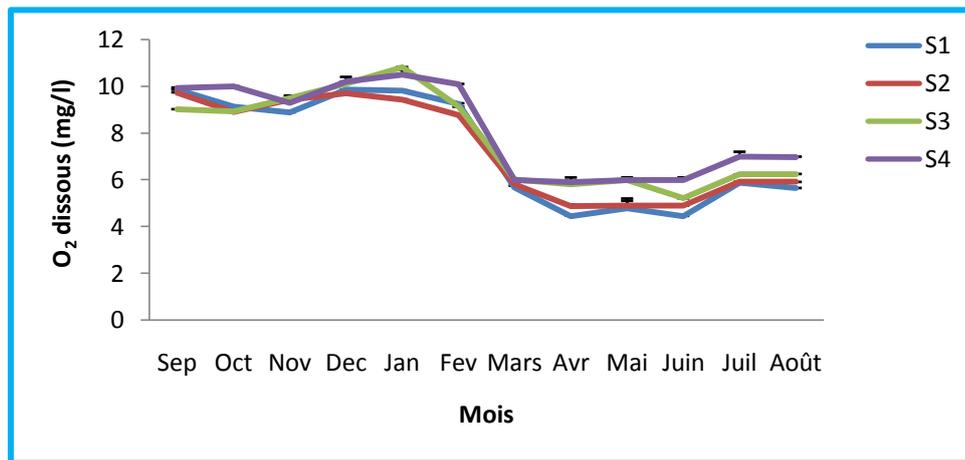
**Figure 19:** Évolution spatio-temporelle du rH des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



**Figure 20:** Évolution spatio-temporelle du rH des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.4. Oxygène dissous

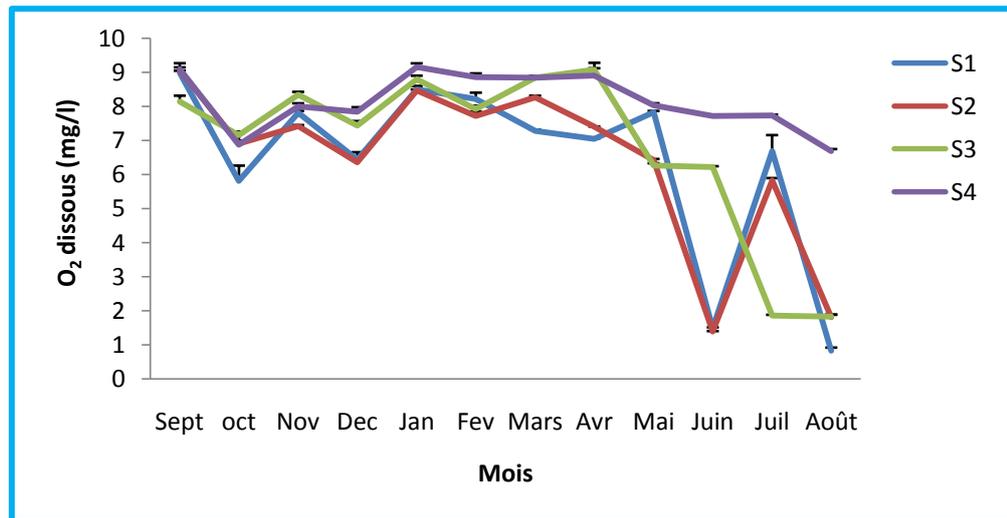
Les concentrations moyennes en oxygène dissous enregistrées au niveau des eaux du canal Messida durant le cycle '1' sont comprises entre 4.45 et 10.81 mg/l. Ces eaux sont bien oxygénées pendant la période allant de septembre à février ; des dépassements de la valeur guide maximale (8 mg/l) (J.O.R.A, 2014) sont notés à cette période. A partir du mois de mars, les valeurs enregistrées sont comprises entre 6 et 4.45 mg/l ; les teneurs les plus faibles étant enregistrées en avril et en juin dans la station S1(Fig.21).



**Figure 21:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

Pendant le cycle '2' (Fig.22), les taux les plus élevés en oxygène dissous sont rencontrés de septembre à mai dans l'ensemble des stations. De fortes fluctuations sont notées de juin à août dans les stations S1 à S3 ; des teneurs inférieures à la valeur guide minimale (3 mg/l) (J.O.R.A, 2014) ont été enregistrées en juin (au niveau des stations S1 et S2), en juillet (au niveau de la station S3) et en août (dans les stations S1, S2, et S3).

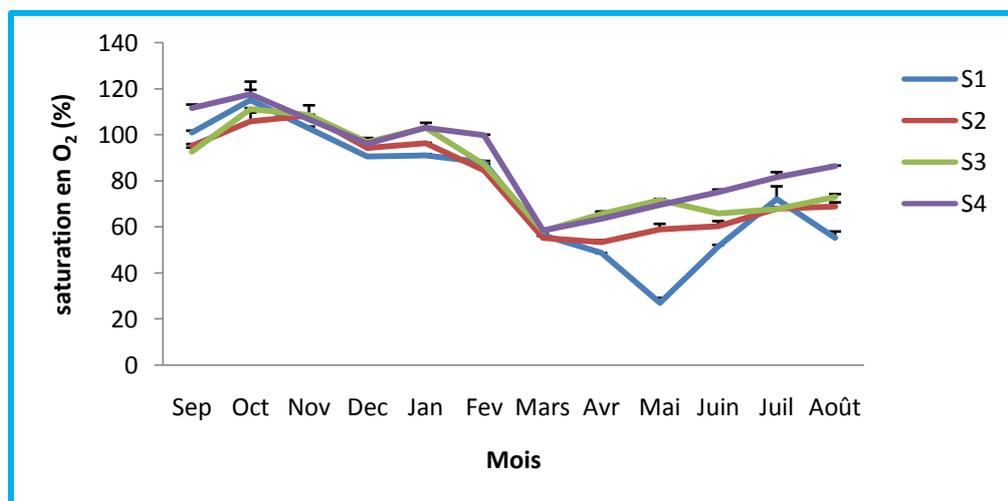
Les eaux de la station S4 montrent une meilleure oxygénation durant les deux cycles d'étude.



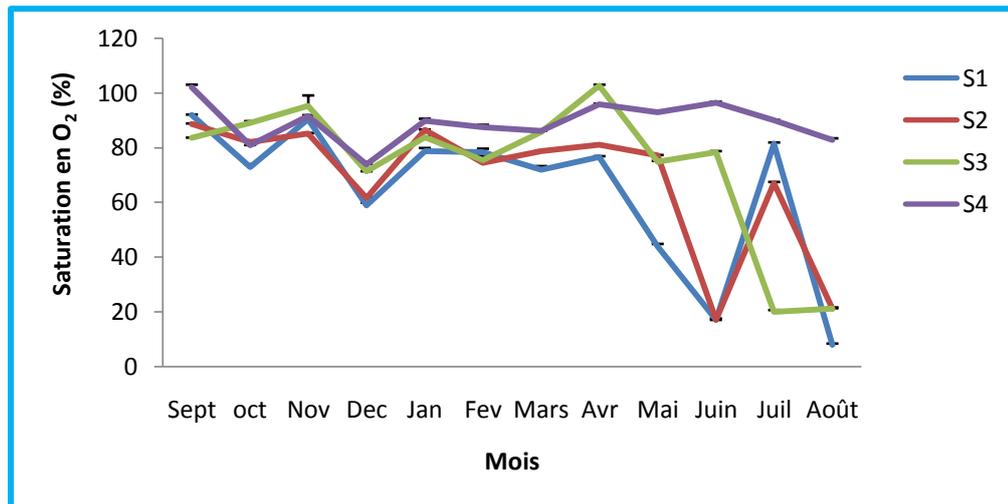
**Figure 22:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.5. Taux de saturation en O<sub>2</sub>

L'examen des figures 23 et 24 montre que les taux de saturation en O<sub>2</sub> les plus élevés sont enregistrés quand la température est basse (pendant la période des hautes eaux), tandis que les taux les plus faibles sont relevés pendant la période printanière et estivale. Durant le cycle '2', ce sont les stations S1, S2 en juin et en août, et la station S3 en juillet et en août, qui montrent des taux inférieurs à la valeur guide minimale (30 %) (J.O.R.A, 2014).



**Figure 23:** Évolution spatio-temporelle du taux de saturation en oxygène des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



**Figure 24:** Évolution spatio-temporelle du taux de saturation en oxygène des eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

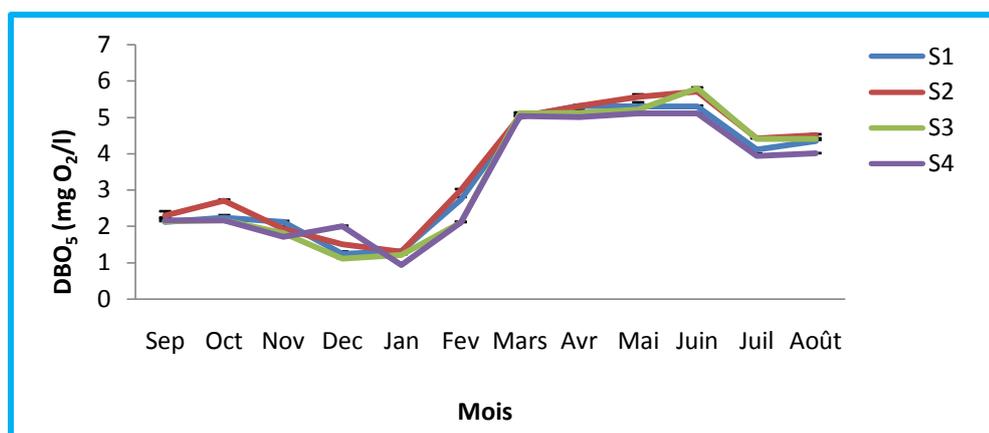
### III.1.6. Demande biochimique en O<sub>2</sub> (DBO<sub>5</sub>)

Les valeurs de la demande biochimique en oxygène sur cinq jours enregistrées dans les eaux du canal Messida sont comprises entre 0.9 mg/l et 5.81 mg/l durant le cycle '1' et varient de 0.59 mg/l à 8.44 mg/l durant le cycle '2'.

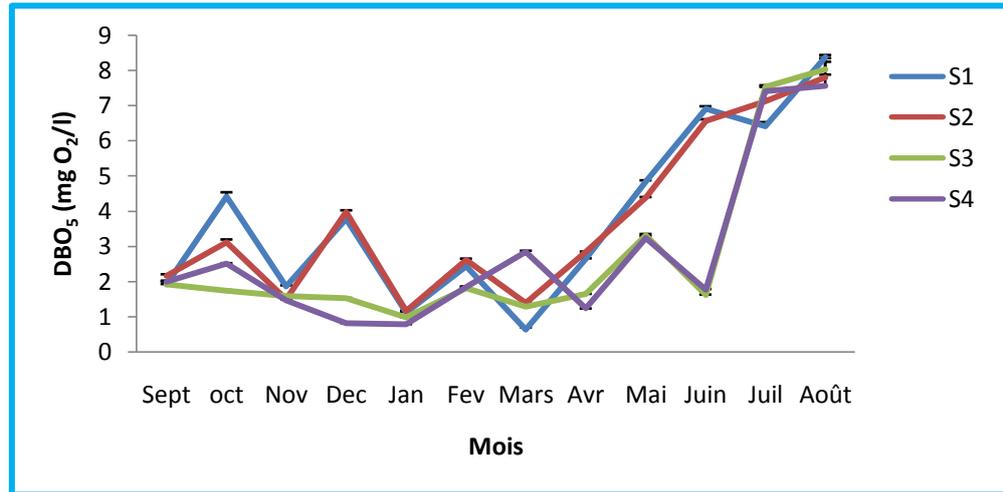
Il ressort des figures 25 et 26 que les valeurs les plus basses sont rencontrées de septembre à février durant le cycle '1' et de septembre à avril durant le cycle '2'.

C'est dans la station S4 et durant les deux cycles d'étude que les valeurs de la DBO<sub>5</sub> les plus basses sont enregistrées.

Les teneurs de la DBO<sub>5</sub> enregistrées durant les deux cycles d'investigations, sont au-dessous de la valeur guide admise (7 mg/l) (J.O.R.A, 2014) sauf en juillet et en août du cycle '2' où des pics supérieurs à la norme sont notés.



**Figure 25 :** Évolution spatio-temporelle de la DBO<sub>5</sub> des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

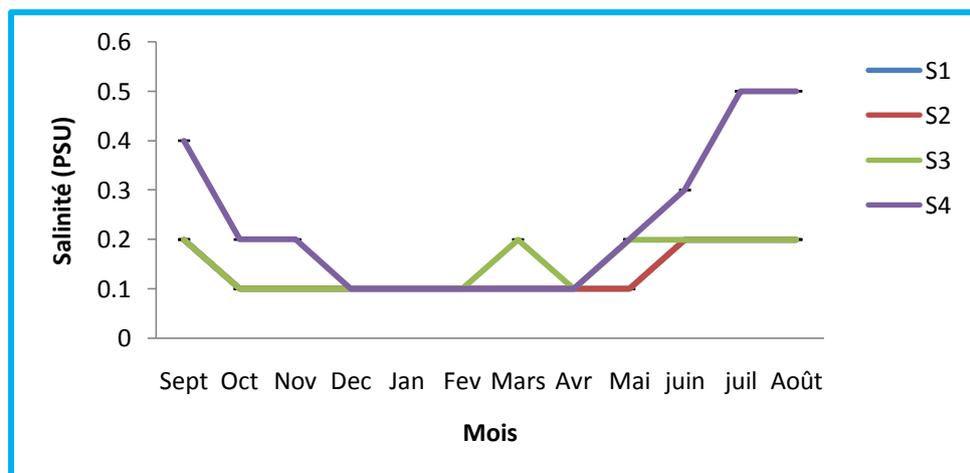


**Figure 26 :** Évolution spatio-temporelle de la DBO<sub>5</sub> des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

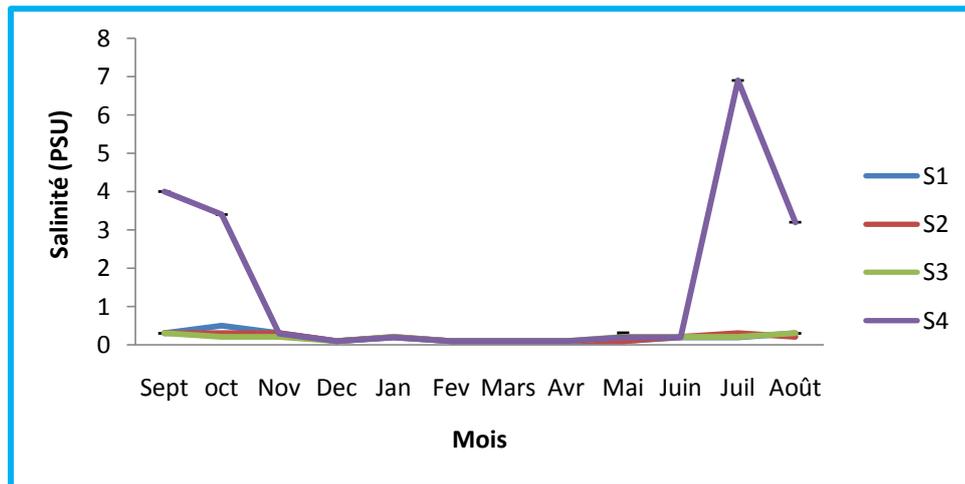
### III.1.7. Salinité

Durant le cycle '1', la salinité des eaux du canal Messida (Fig. 27), fluctue entre 0.1 et 0.2 PSU sauf dans la station S4 où des valeurs comprises entre 0.3 et 0.5 PSU sont relevées de juin à septembre.

Les valeurs de la salinité des eaux du canal enregistrées durant le cycle '2' n'excèdent pas 0.1 PSU de novembre à juin mais sont comprises de 3 à 7 PSU de juillet à octobre (Fig.28). Durant les deux cycles, la salinité la plus élevée est notée dans la station la plus proche de la mer (S4).



**Figure 27:** Évolution spatio-temporelle de la salinité des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

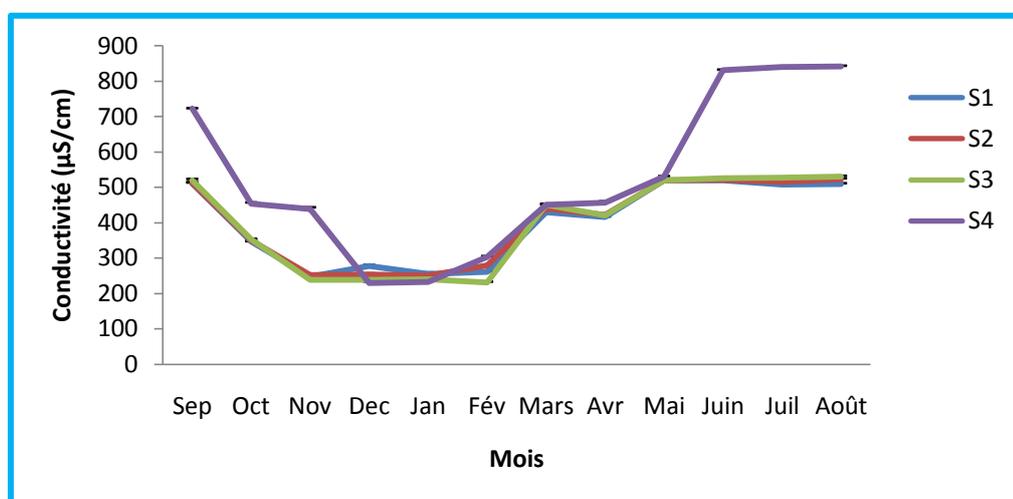


**Figure 28:** Évolution spatio-temporelle de la salinité des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

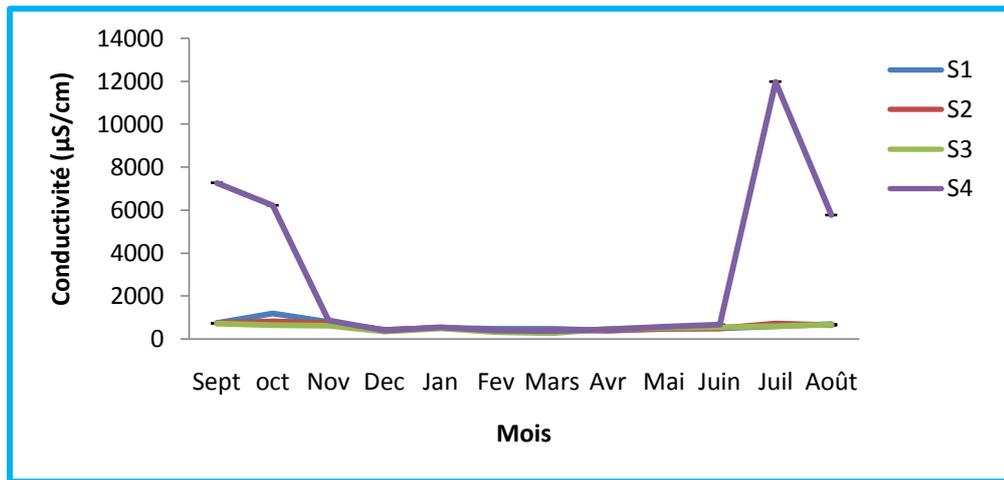
### III.1.8. Conductivité

Les valeurs de la conductivité électrique des eaux du canal varient entre 229 et 841  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Fig.29) pendant le premier cycle. Généralement ces valeurs n'excèdent pas 550  $\mu\text{S}/\text{cm}$  sauf dans la station S4 où des pics de plus de 700 et 800  $\mu\text{S}/\text{cm}$  sont notés en septembre et de juin à août respectivement.

Durant le cycle '2', les valeurs de la conductivité sont comprises entre 262 et 12000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Fig. 30). De juillet à octobre la conductivité des eaux de la station S4 présente des valeurs dépassant largement la valeur limite (2800  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) recommandée par les autorités algériennes (J.O.R.A, 2014).



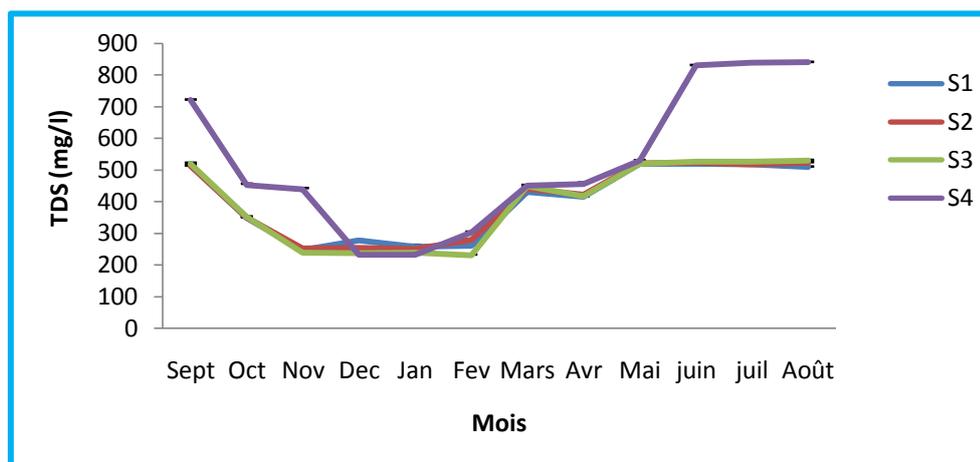
**Figure 29:** Évolution spatio-temporelle de la conductivité des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



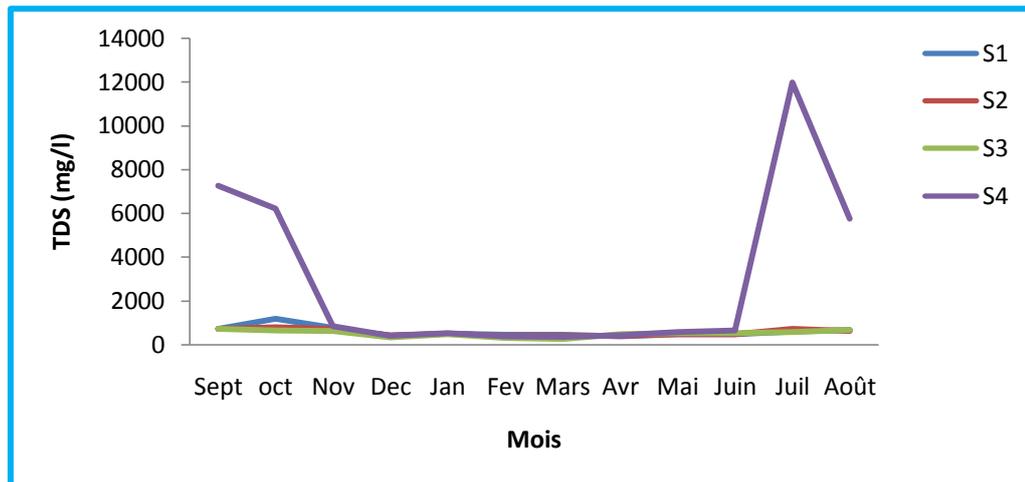
**Figure 30:** Évolution spatio-temporelle de la conductivité des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.9. Substances solides dissoutes totales (TDS)

L'évolution spatio-temporelle de TDS dans les eaux du canal présente la même allure que celle de la conductivité durant les deux cycles d'échantillonnages (Fig.31 et 32). Les teneurs en TDS sont, en effet, plus élevées durant le cycle '2' et dans la station S4 durant les deux cycles.



**Figure 31:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en TDS des eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



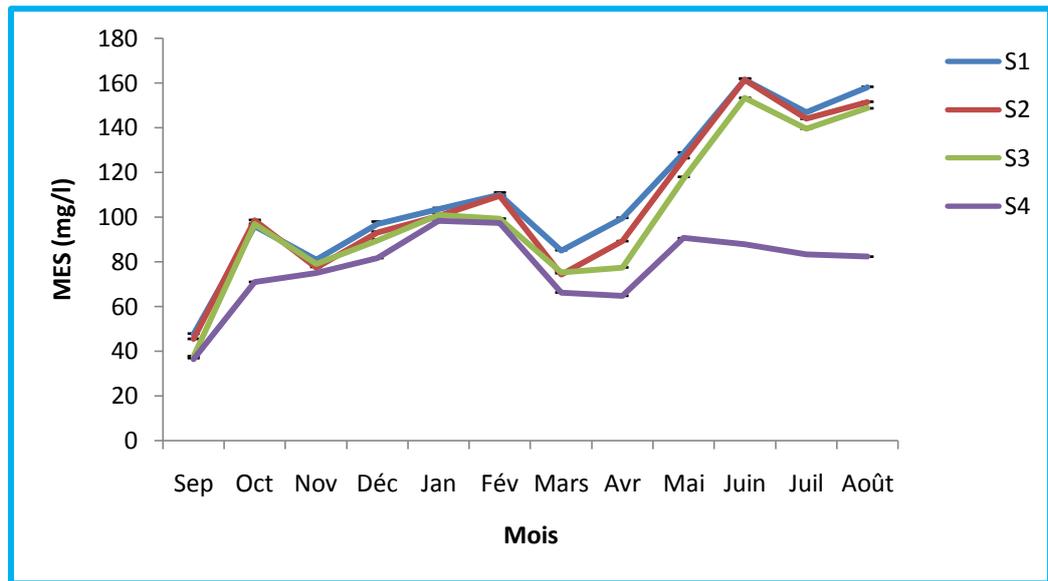
**Figure 32:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en TDS des eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.10. Matière en suspension (MES)

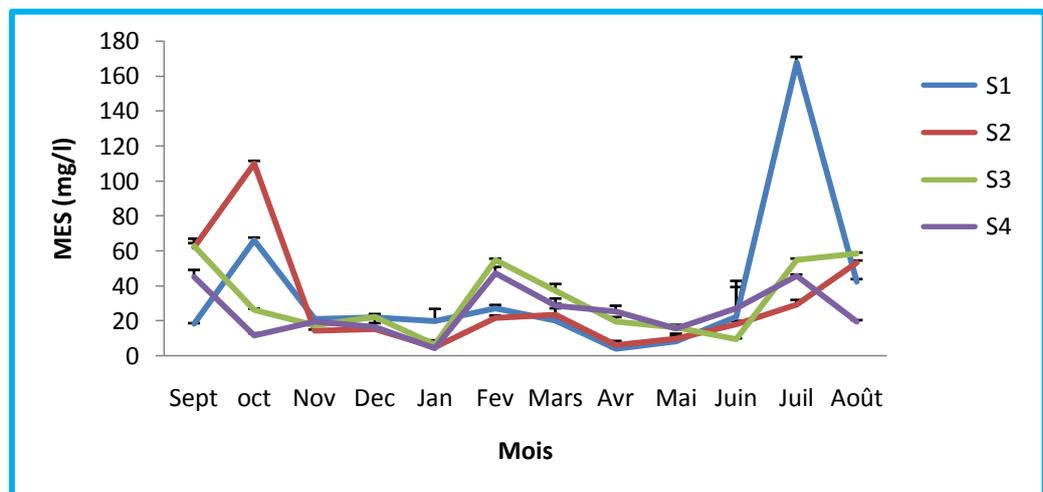
Durant le cycle '1' (Fig. 33), les teneurs en MES sont comprises entre 38 mg/l et 160 mg/l. A l'exception du mois de septembre où la teneur est inférieure à 40 mg/l, nous notons que les valeurs fluctuent entre 60 et 120 mg/l d'octobre à mai et de 140 à 160 mg/l de juin à août. Il est par ailleurs noté que c'est dans la station S4 que les teneurs en MES les plus basses sont enregistrées.

Les teneurs en MES relevées durant le cycle '2' (Fig. 34) nous permettent de constater que les eaux du canal sont moins chargées par rapport au cycle '1'. A l'exception des pics enregistrés en octobre (110 mg/l en S2) et juillet (171,5mg/l en S1), les teneurs en MES du cycle '2' restent comprises entre 1,6 et 70 mg/l tout le reste de l'année dans l'ensemble des stations.

En référence à la valeur limite maximale (25 mg/l) admise par les autorités algériennes (J.O.R.A, 2014) nous constatons un net dépassement de cette valeur durant le cycle '1' et dans l'ensemble des stations. En ce qui concerne le cycle '2' les dépassements sont notés en septembre (S2, S3 et S4), en octobre (S1 et S2), en février (S3 et S4), en juillet (S1, S3 et S4) et en août (S1, S2 et S3).



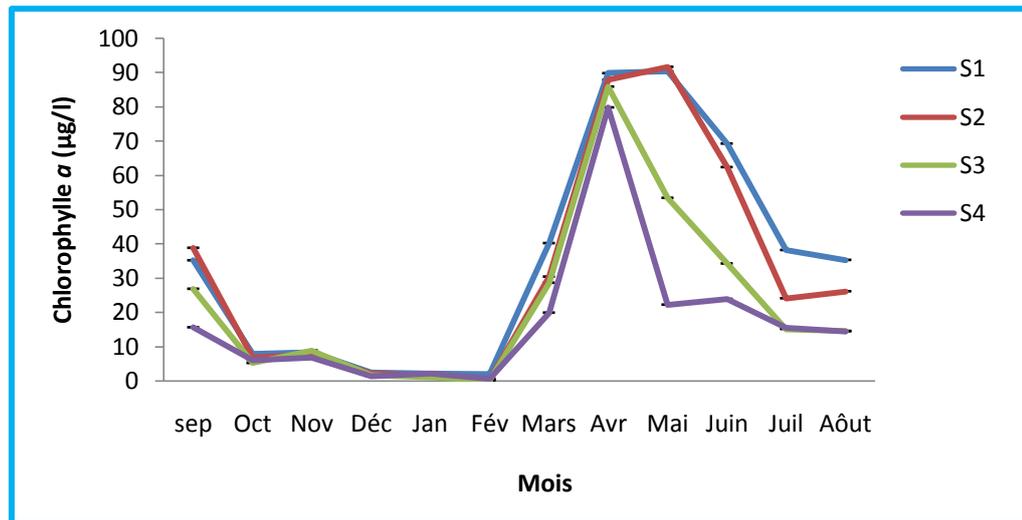
**Figure 33:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en MES dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010 - août 2011).



**Figure 34:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en MES dans les eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012 - août 2013).

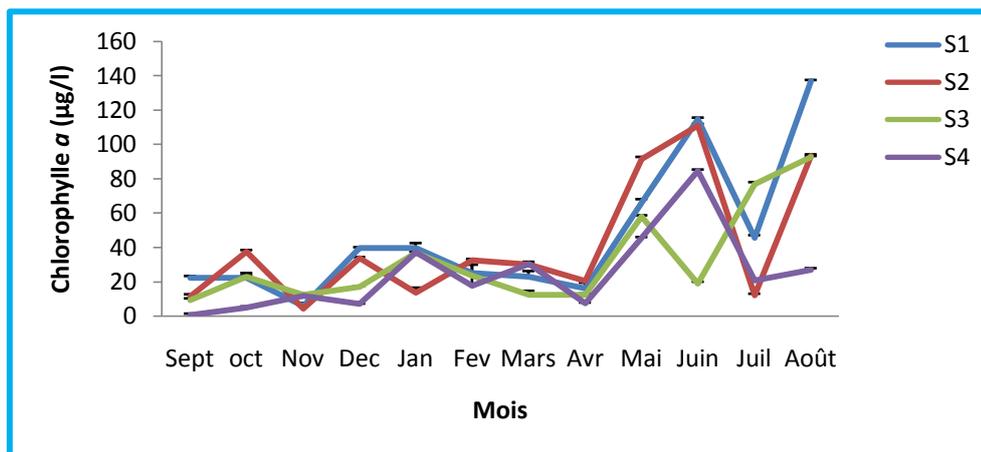
### III.1.11. Chlorophylle *a*

Les teneurs en chlorophylle *a* enregistrées durant le cycle '1' (Fig. 35) montrent divers niveaux dont le plus bas (teneurs inférieures à 10 µg/l) est noté d'octobre à février dans l'ensemble des stations. Le niveau intermédiaire (teneurs comprises entre 15 et 40 µg/l) est observé en septembre et en mars (de S1 à S4), en mai (S4), en juin (S3 et S4) en juillet et en août (de S1 à S4) ; quant au niveau le plus élevé (teneurs variant de 50 à 91 µg/l) il apparaît en avril (de S1 à S4), en mai (S1, S2 et S3) et en juin (S1 et S2).



**Figure 35:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en chlorophylle *a* dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).

Durant le cycle '2', les teneurs en chlorophylle *a* rencontrées dans les eaux du canal sont inférieures à 40 µg/l durant la période s'étalant de septembre à avril (Fig.36) et supérieures à cette valeur durant le reste de l'année. A partir de mai les teneurs en chlorophylle *a* montrent des pics dans la station S1 (en mai, juin et août), dans la station S2 (en juin et en août), dans la station S3 (en mai, juillet et août), dans la station S4 (en juin).



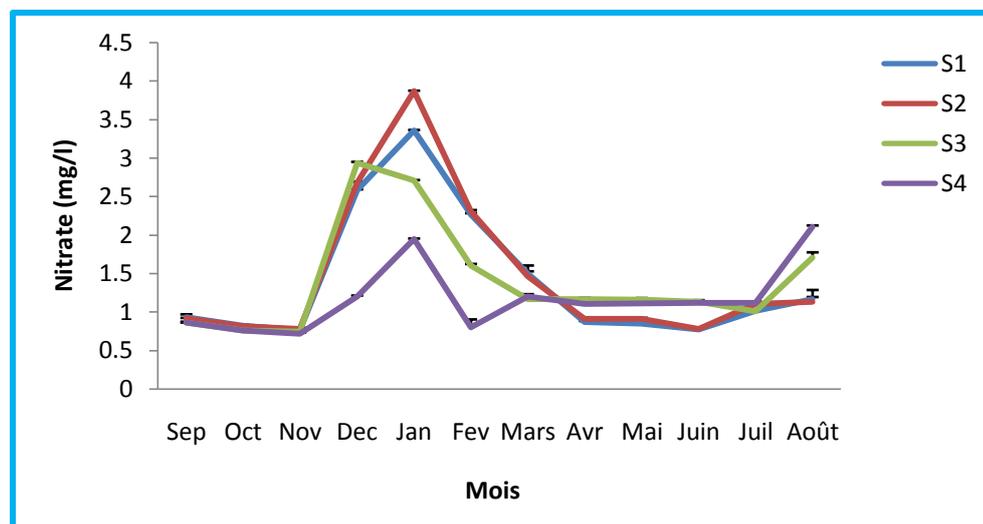
**Figure 36:** Evolution spatio-temporelle des teneurs en chlorophylle *a* dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.12. Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

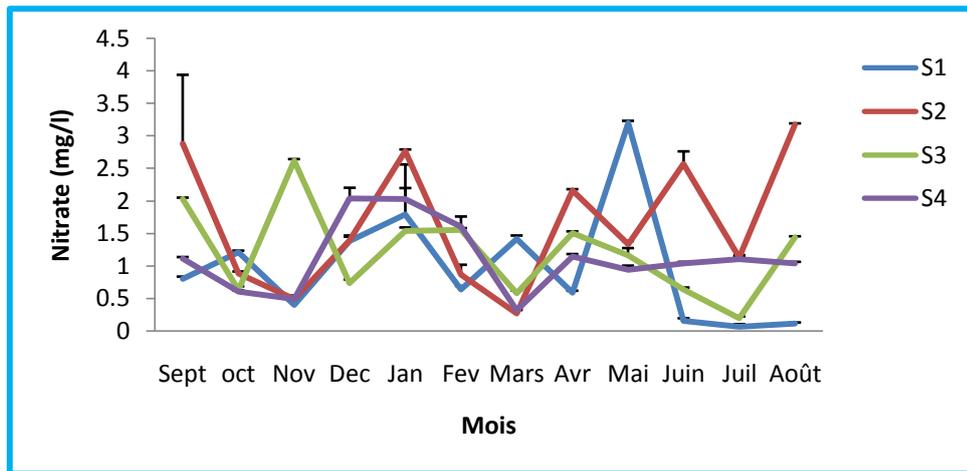
Durant le cycle '1' les concentrations en  $\text{NO}_3^-$  (Fig. 37) oscillent entre 0.7 et 3.87 mg/l. Dans l'ensemble des stations, les teneurs en nitrates sont le plus souvent comprises entre 0.7 et 2 mg/l sauf durant la période s'étalant de décembre à février où des pics sont relevés dans la station S1 et S2 (en décembre, janvier et février), dans la station S3 (en décembre et janvier) dans la station S4 (en août).

Les nitrates sont présents à des teneurs variant de 0.25 à 32 mg/l dans les eaux du canal durant le cycle '2' (Fig. 38) ; les teneurs sont généralement inférieures à 2 mg/l à l'exception des pics relevés dans la station S1 (en mai), dans la station S2 (en septembre, janvier, avril, juin et août), et dans la station S3 (en novembre). C'est dans la station S2 que les teneurs en nitrates sont les plus élevées.

Les teneurs en nitrates notées dans les eaux du canal durant les deux cycles d'étude sont bien inférieures à la valeur guide (50 mg/l) admise par les autorités algériennes (J.O.R.A, 2014).



**Figure 37:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrates dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



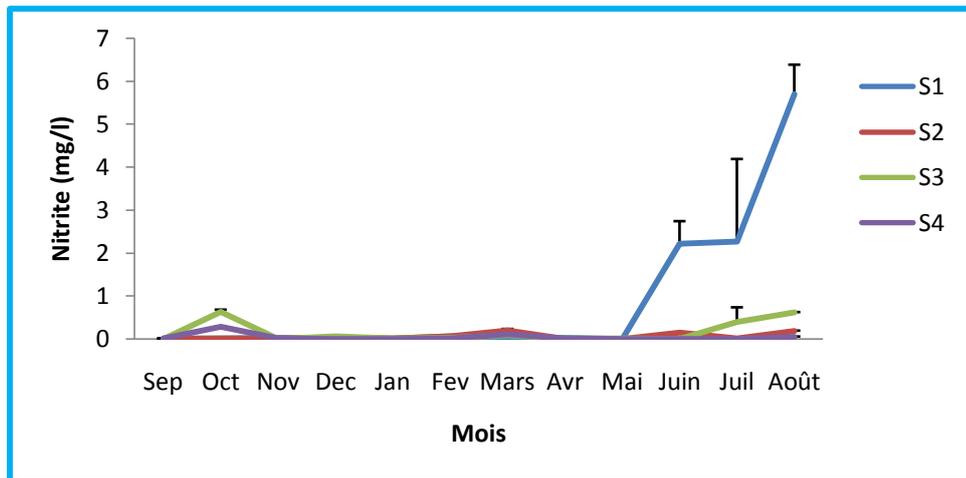
**Figure 38:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrates dans les eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.1.13. Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )

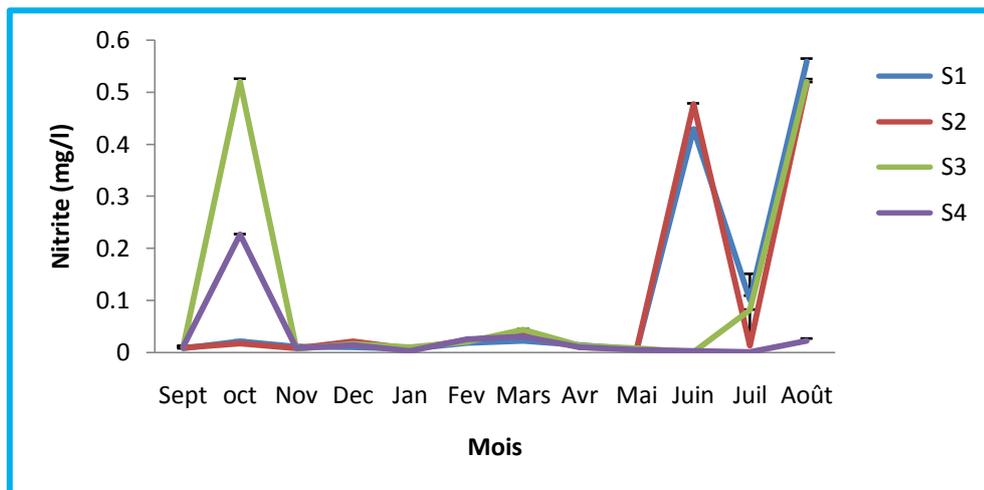
Les teneurs en nitrites rencontrées dans les eaux du canal durant le cycle '1' sont en dessous de la valeur 0.5 mg/l, sauf dans la station S1 où des teneurs de l'ordre de 2 mg/l et 5.7 mg/l sont respectivement enregistrées en juin-juillet et en août (Fig.39).

Durant le cycle '2', les teneurs en nitrites n'excèdent pas la valeur 0,1mg/l (Fig.40) sauf en octobre (dans S3 et S4), en juin (dans S1 et S2) et en août (dans S1, S2 et S3). C'est dans la station S4 que les teneurs en nitrites les plus faibles sont enregistrées durant les deux cycles.

Nous notons toutefois que les teneurs en nitrites contenues dans les eaux du canal Messida ne dépassent pas la valeur limite fixée à 1 mg/l (J.O.R.A, 2014) sauf dans la station S1 durant la période estivale du cycle '1'.



**Figure 39:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en nitrites dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



**Figure 40:** Evolution spatio-temporelle des teneurs en nitrites dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

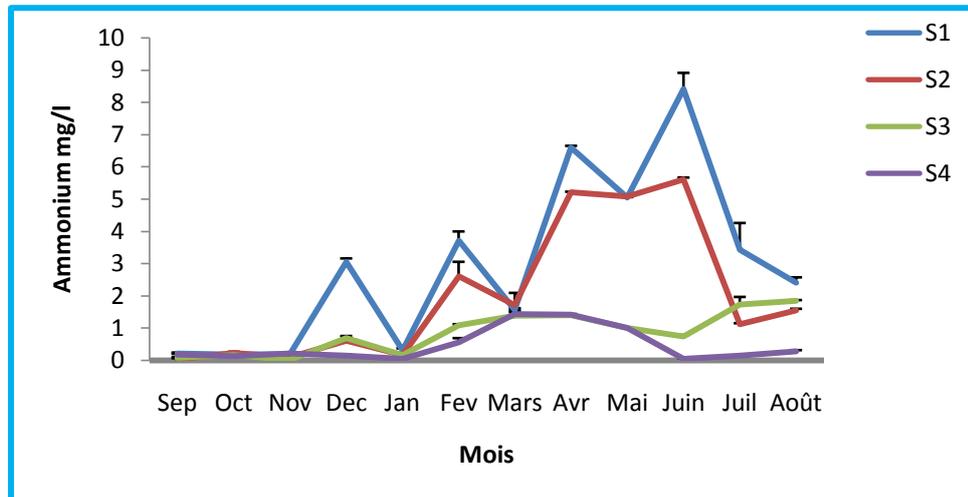
### III.1.14. Azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )

Les teneurs en ammonium enregistrées dans les eaux du canal Messida varient de 0.08 à 8.5 mg/l durant le cycle '1' (Fig. 41) et de 0.08 à 2 mg/l durant le cycle '2' (Fig. 42).

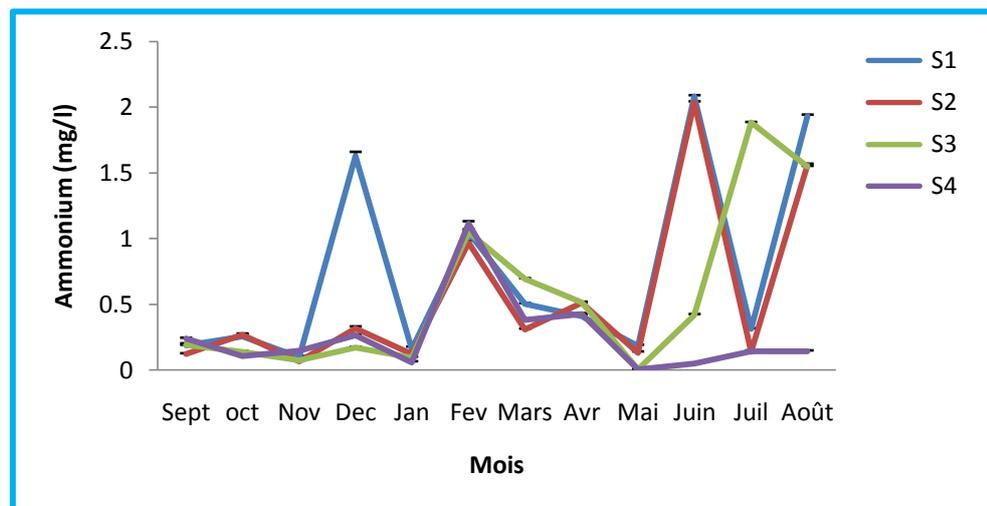
Les valeurs, en ammonium, les plus faibles sont enregistrées de septembre à novembre du premier cycle. Les eaux des stations S3 et S4 montrent des teneurs qui n'excèdent pas 2 mg/l ; Par ailleurs, nous notons des pics en décembre, février, avril, mai, juin, juillet et août (compris dans l'intervalle 3-8.5 mg/l) dans la station S1 et des pics en février, avril, mai, juin (compris dans l'intervalle 3 – 5.5 mg/l) dans la station S2. Durant le cycle '2', les eaux du canal sont moins chargées en ammonium car la teneur maximale n'excède pas 2.08 mg/l (en

juin en S1) ; d'autres pics de plus de 1,5mg/l sont notés en décembre (S1), en juillet (S3) et en août (S1 et S2).

Durant le cycle '2', les concentrations en ammonium dans les eaux du canal Messida sont au-dessous de la valeur guide (4 mg/l) admise par les autorités algériennes (J.O.R.A, 2014) ; en revanche, celles enregistrées au printemps du cycle '1' dans les stations S1 et S2 dépassent nettement cette valeur.



**Figure 41:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en ammonium dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



**Figure 42:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en ammonium dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

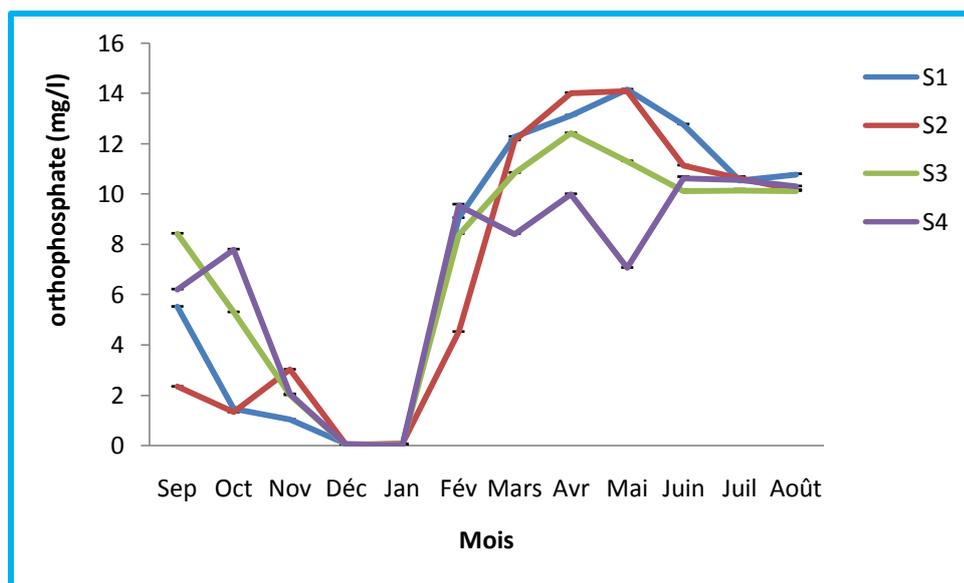
### III.1.15. Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Les concentrations en orthophosphates observées dans les eaux du canal Messida varient de 0.01 à 14.15 mg/l durant le cycle '1' (Fig. 43) et de 0.01 à 2.4 mg/l durant le cycle '2' (Fig. 44).

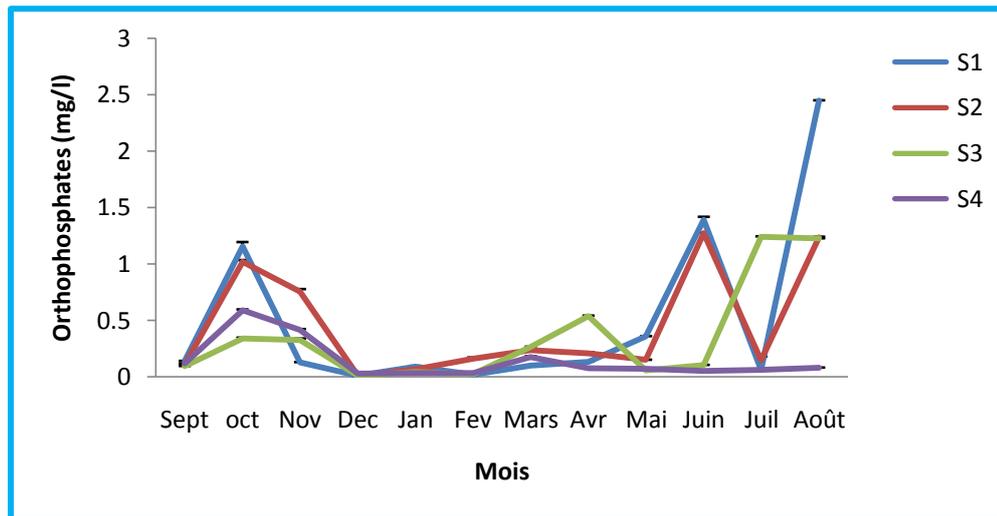
Durant le premier cycle d'échantillonnage, de septembre à novembre, les teneurs en orthophosphates sont comprises entre 1 et 8 mg/l ; en décembre et en janvier elles sont minimales (0.01 mg/l) pour ensuite remonter à plus de 10 mg/l à partir de février et atteindre des pics en avril (S2, S3 et S4) et en mai (S1). De juin à août les teneurs restent proches de 11 mg/l.

Durant le cycle '2', les eaux du canal sont nettement moins chargées en orthophosphates ; à l'exception des pics notés en octobre (S1), en juin (S1 et S2), en juillet (S3) et en août (S1, S2 et S3), les teneurs en orthophosphates sont inférieures à 1 mg/l.

Les teneurs en orthophosphates relevées dans les eaux du canal Messida, durant le cycle '1', dépassent le plus souvent les normes fixées à 5 mg/l pour les eaux superficielles (J.O.R.A, 2014).



**Figure 43:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en orthophosphates dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010- août 2011).



**Figure 44:** Évolution spatio-temporelle des teneurs en orthophosphates dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

### III.2. Paramètres bactériologiques des eaux du canal Messida

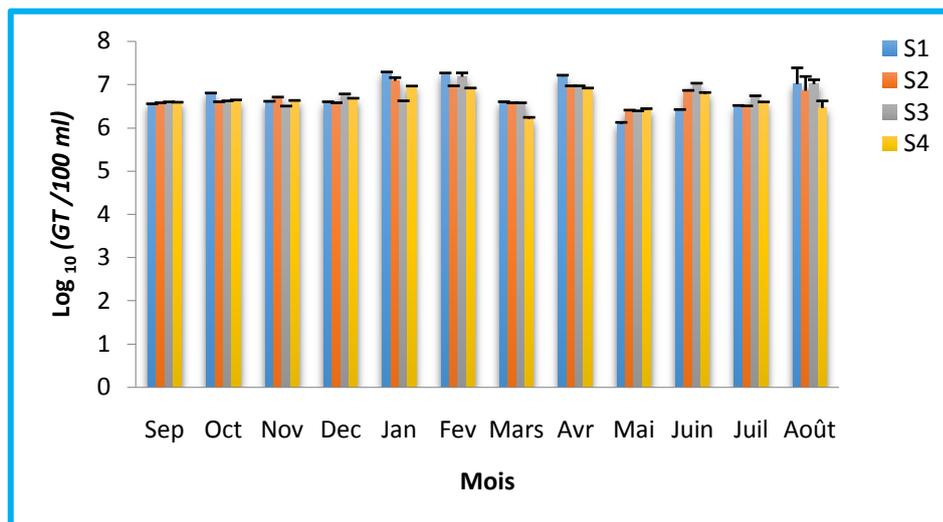
Les analyses bactériologiques des eaux du canal Messida font apparaître l'existence de grandes variations des concentrations des bactéries durant les deux cycles d'étude.

Afin de bien comprendre ces variations nous avons suivi l'évolution des germes totaux et des germes tests d'une contamination dans les quatre stations du canal Messida ensuite nous avons comparé avec les valeurs guides admises par l'OMS et les autorités algériennes, pour les eaux destinées à la consommation humaine, et par la Règlementation Française pour les eaux destinées à l'irrigation.

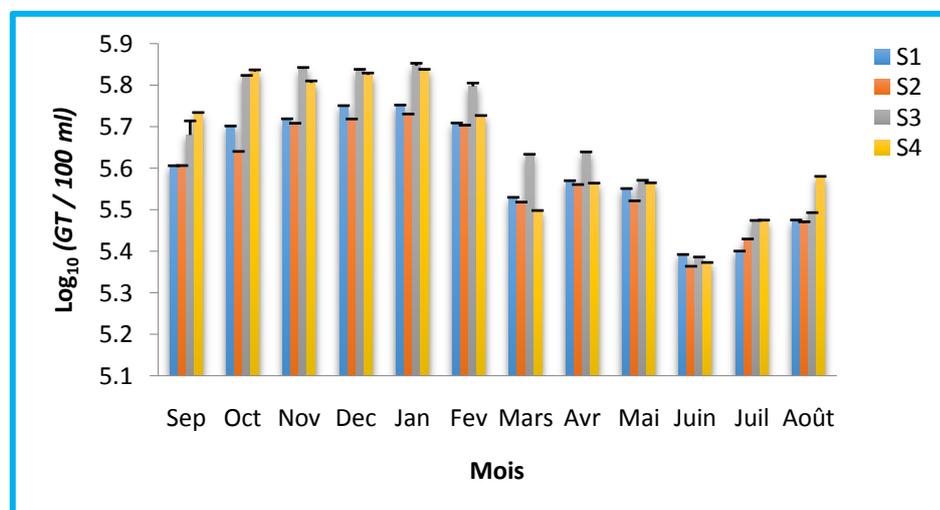
#### III.2.1. Concentrations en germes totaux (GT)

Les charges en GT enregistrées dans les eaux du canal varient de 6.1 à 7.25  $\log_{10}$  (GT/100ml) durant le cycle '1' et de 5.36 à 5.85  $\log_{10}$  (GT/100ml) durant le cycle '2'. Nos résultats montrent que les eaux du canal présentent des charges en GT nettement plus importantes durant le premier cycle d'étude (Fig.45). Les charges en GT les plus élevées sont notées en janvier (S1 et S2), en février (S1 et S3), en avril (S1), en juin (S3) et en août (S1 et S3).

Durant le cycle '2', les charges en GT de plus de 5.5  $\log_{10}$  (GT/100ml) sont rencontrées de septembre à février ; Quant à celles dépassant 5.8  $\log_{10}$  (GT/100ml) elles sont présentes d'octobre à janvier dans les stations S3 et S4. Par ailleurs c'est dans la station S3 que les charges en GT sont les plus élevées (Fig. 46).



**Figure 45:** Répartition spatio-temporelle des germes totaux dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).



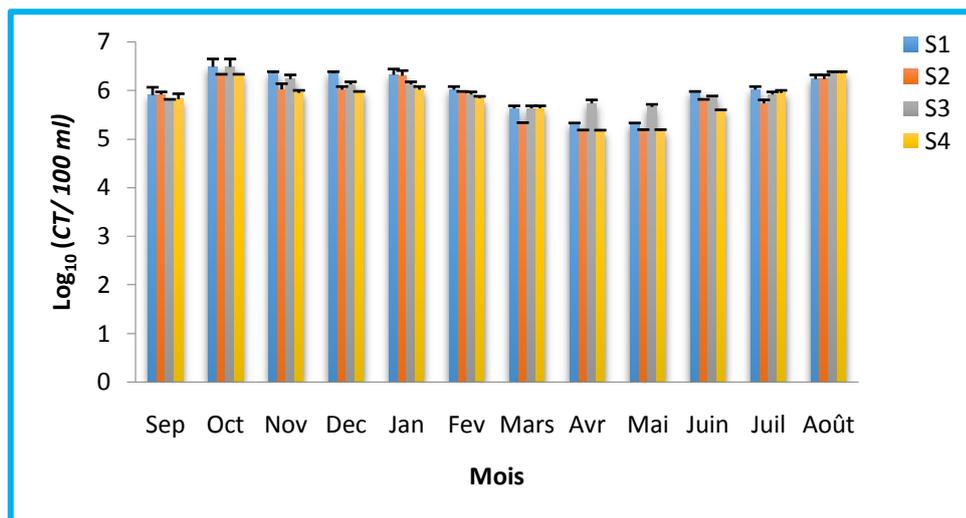
**Figure 46:** Répartition spatio-temporelle des germes totaux dans les eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).

### III.2.2. Concentrations en coliformes totaux (CT)

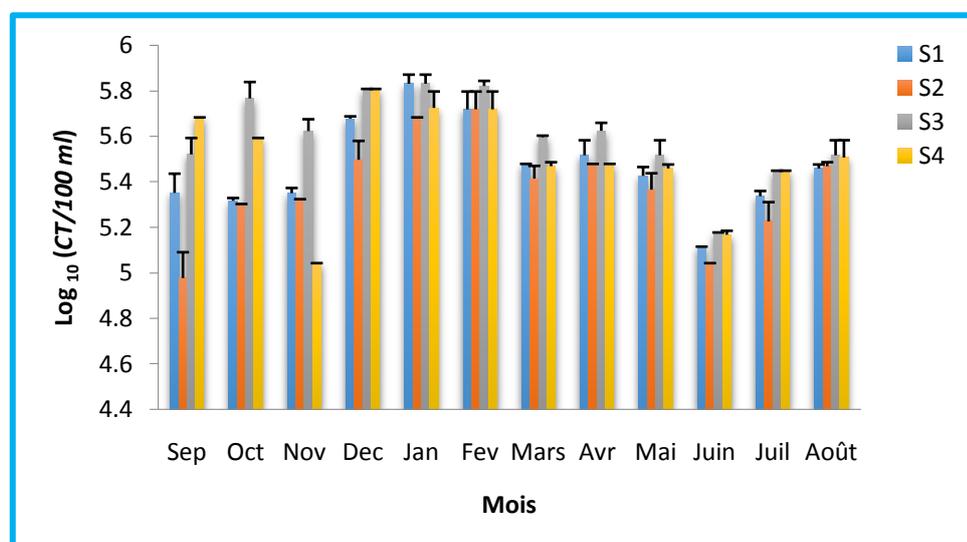
Les concentrations en CT relevées dans les eaux du canal Messida fluctuent entre 5.5 et 6.5  $\log_{10}$  (CT/100 ml) durant le cycle '1' et varient de 5 et 5.8  $\log_{10}$  (CT/100 ml) durant le cycle '2'.

Durant le cycle '1', les charges en CT de plus de 6  $\log_{10}$  (CT/100 ml) sont notées d'octobre à février, en juillet et en août. Par ailleurs, ce sont les stations S1 et S3 qui montrent le plus souvent les charges en CT les plus élevées (Fig.47).

Durant le cycle '2' les eaux du canal sont moins chargées en CT ; les charges en CT de plus de  $5.6 \log_{10} (CT/100 \text{ ml})$  sont notées d'octobre à février surtout dans les stations S3 et S4. Par ailleurs, c'est en janvier et en février que les charges en CT augmentent dans l'ensemble des stations (Fig. 48). Les concentrations des coliformes totaux dans l'ensemble des stations et durant les deux cycles d'échantillonnage sont supérieures à la valeur guide ( $1 \log_{10} CT/100 \text{ ml}$ ) admise par l'OMS (2004) pour les eaux potables ; les teneurs en CT dépassent aussi la valeur guide ( $3 \log_{10} CT/100 \text{ ml}$ ) admise par la réglementation française (1991) pour les eaux destinées à l'irrigation.



**Figure 47:** Répartition spatio-temporelle des coliformes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).



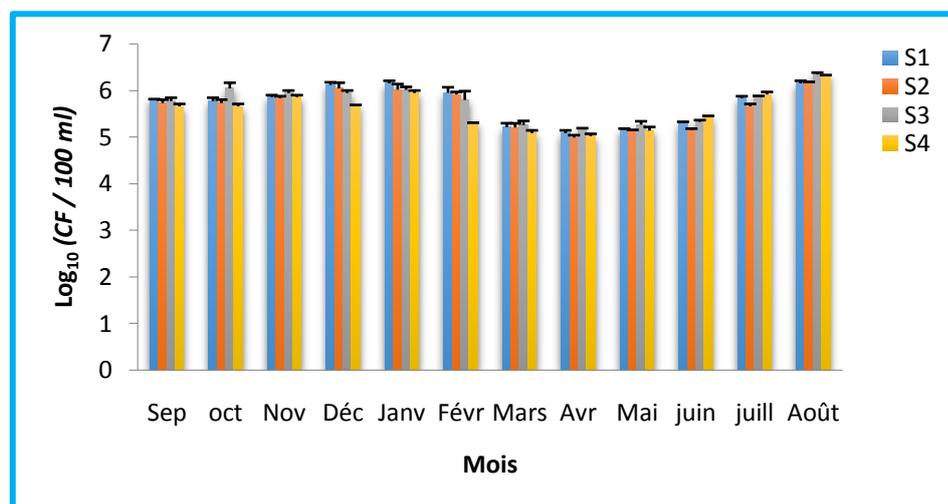
**Figure 48:** Répartition spatio-temporelle des coliformes totaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2011 – août 2012).

### III.2.3. Concentrations en coliformes fécaux (CF)

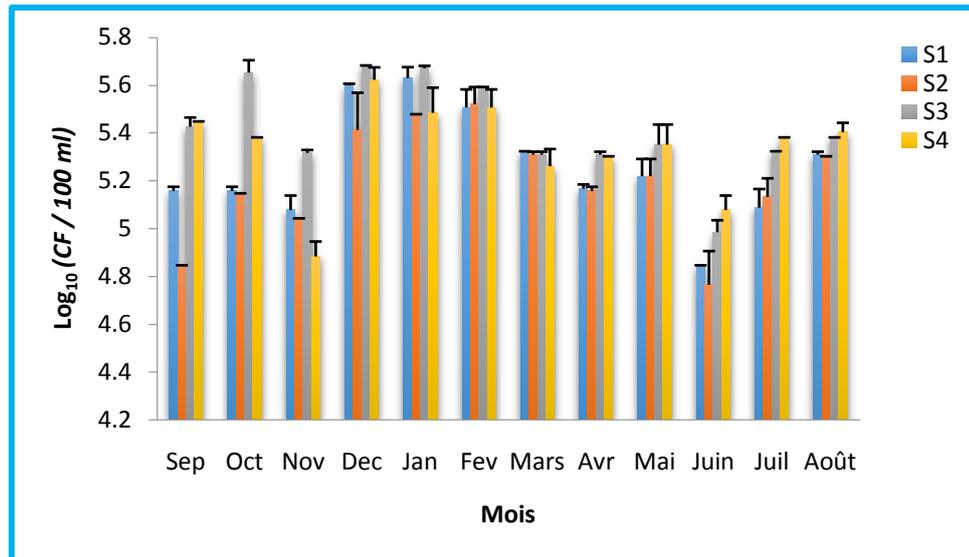
Les concentrations en CF présentes dans les eaux du canal Messida varient de 5 à 6.5  $\log_{10}$  (CF/100 ml) durant le cycle '1' et de 4.8 à 5.7  $\log_{10}$  CF/100 ml durant le cycle '2' ; ce qui montre que, durant le cycle '2', la charge en CF des eaux est moindre. Nous notons, en effet, que durant le cycle '1' les eaux avec les faibles concentrations en CF (de moins de 5.5  $\log_{10}$  CF/100 ml) sont rencontrées de mars à juin. Par ailleurs, ce sont les eaux des stations S3 et S1 qui sont les plus chargées en CF (Fig. 49).

De décembre à février du cycle '2' les charges en CF fluctuent de 5.4 à 5.7  $\log_{10}$  CF/100 ml (Fig.50). Nous notons, par ailleurs, que ce sont les stations S3 et S4 qui montrent, le plus souvent, les plus fortes charges en CF.

Les concentrations moyennes en CF des eaux du canal Messida durant les deux cycles d'échantillonnage dépassent largement la valeur guide (3  $\log_{10}$ CF/100 ml) admise par la réglementation française (1991) pour les eaux destinées à l'irrigation.



**Figure 49:** Répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).



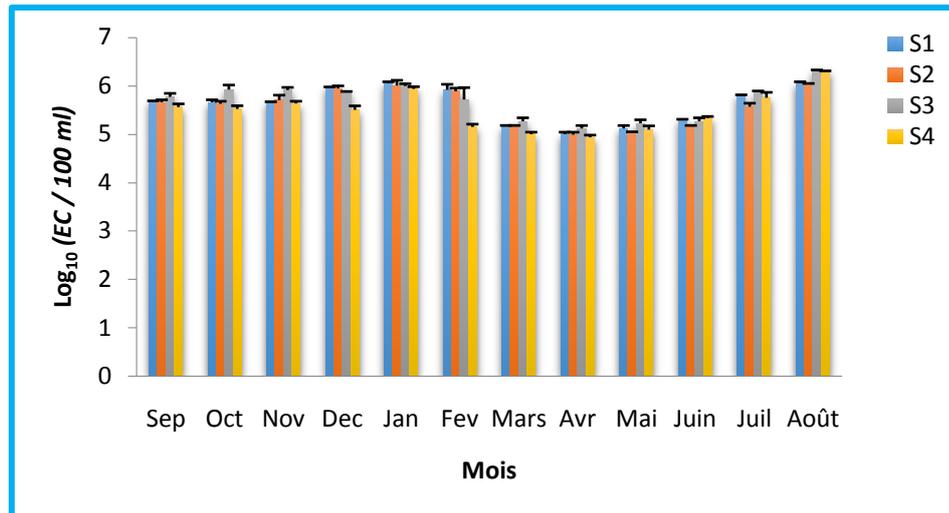
**Figure 50:** Répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2011 – août 2012).

#### III.2.4. Concentrations en *Escherichia coli* (EC)

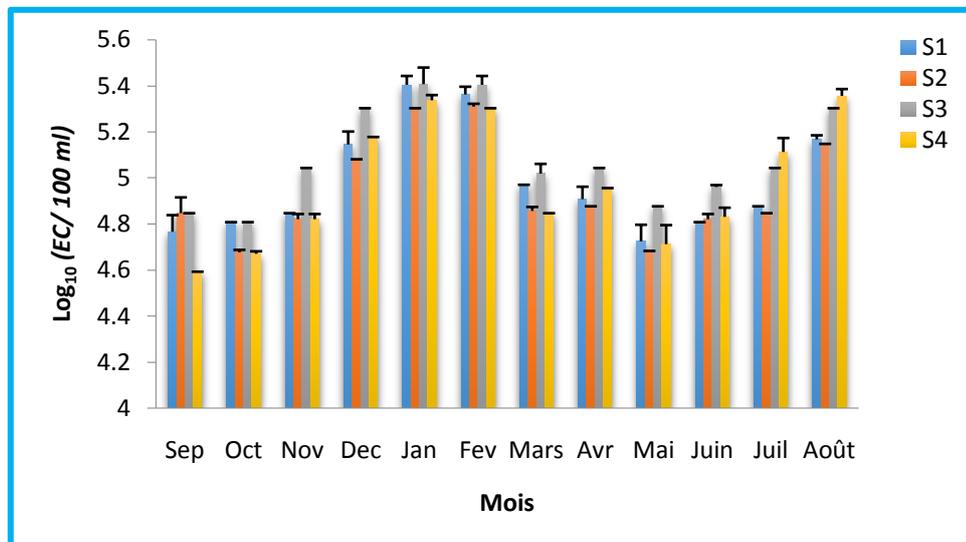
Les charges en EC relevées dans les eaux du canal fluctuent entre 5 et 6.2  $\log_{10}$  ( $EC/100\ ml$ ) et entre 4,6 et 5,4  $\log_{10}$  ( $EC/100\ ml$ ) respectivement durant le cycle '1' et le cycle '2'. D'une manière globale, la variation spatio-temporelle de la contamination en EC rappelle celle en CF et confirme ainsi la contamination fécale des eaux analysées (Fig. 51).

Durant le cycle '1', c'est en période printanière que les eaux sont les moins chargées en EC. Nous notons que ce sont les stations S1 et S2 qui, de décembre à février, montrent les plus fortes charges en EC ; En ce qui concerne les stations S3 et S4 c'est de juin à août qu'elles abritent le plus d'EC. Il est évident que, durant le cycle '1', ce sont les eaux de la station S3 qui sont les plus chargées en EC. Les échantillons d'eau du cycle '2' dont les charges dépassent 5  $\log_{10}$  ( $EC/100\ ml$ ) sont ceux prélevés en janvier, février et août dans l'ensemble des stations. En revanche, c'est toujours la station S3 qui présente de fortes charges en EC (Fig. 52).

Le nombre d'EC dans les eaux analysées durant les deux cycles d'échantillonnage dépasse la norme algérienne de la qualité des eaux superficielles (4.3  $\log_{10}$   $EC/100\ ml$ ) (J.O.R.A, 2014).



**Figure 51:** Répartition spatio-temporelle d'*Escherichia coli* dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).



**Figure 52:** Répartition spatio-temporelle d'*Escherichia coli* dans les eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).

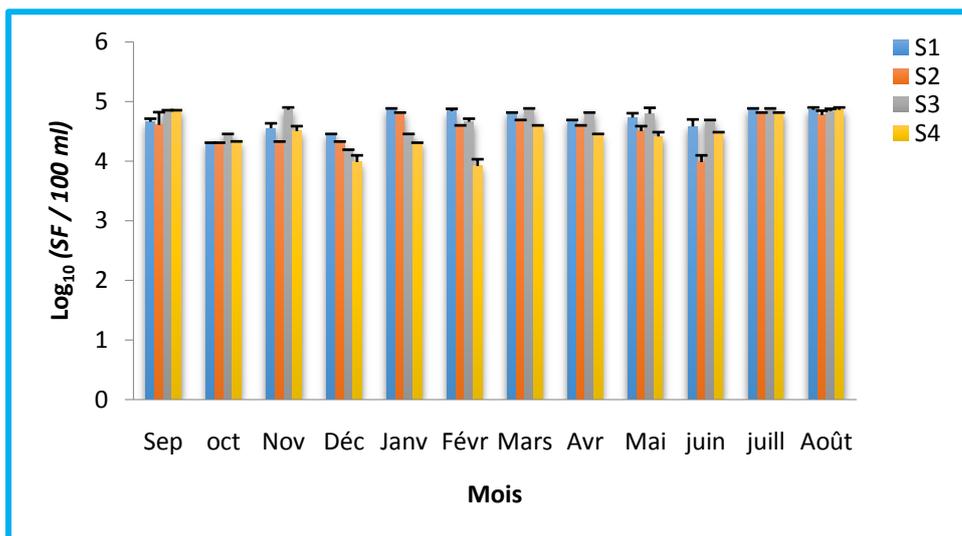
### III.2.5. Concentrations en streptocoques fécaux (SF)

Les concentrations en SF rencontrées dans les eaux du canal Messida varient de 3.8 à 4.88  $\log_{10}$ (SF/100 ml) durant le cycle '1' et de 3.8 à 5.4  $\log_{10}$ (SF/100 ml) durant le cycle '2'.

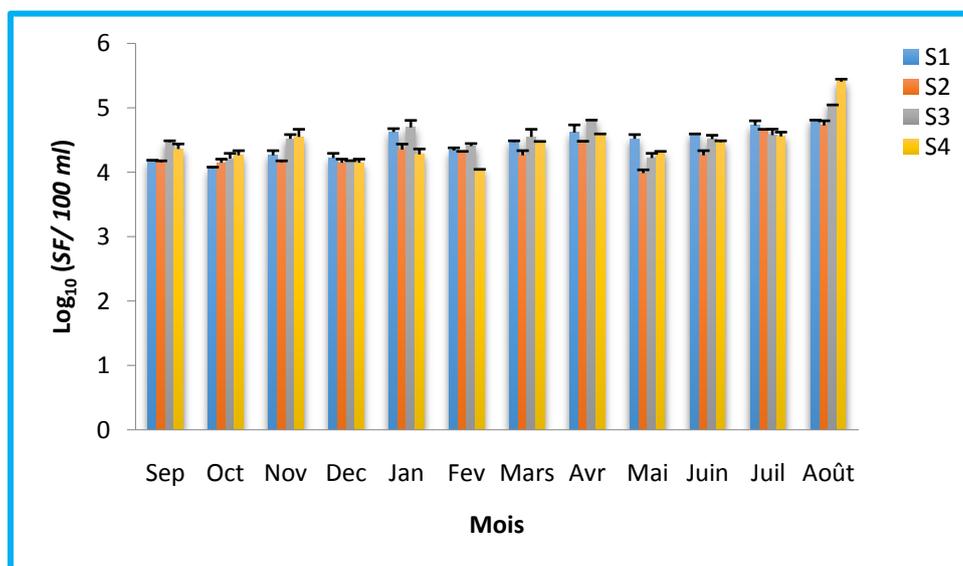
Les échantillons d'eau prélevés durant le cycle '1', montrent le plus souvent des charges de plus de 4.5  $\log_{10}$ (SF/100 ml) sauf en octobre et en décembre. La concentration maximale en SF (4.88  $\log_{10}$  SF/100 ml) est enregistrée en janvier et en juillet, au niveau de la station S1 et en mars et en juillet au niveau de la station S3 (Fig. 53).

Durant le cycle '2' les charges en SF des eaux du canal ne dépassent pas  $4.5 \log_{10}$  ( $SF/100 \text{ ml}$ ) sauf en janvier (dans S3), en avril (dans S3), en juillet (dans S1) et août (dans S3 et S4). Les plus fortes charges en SF sont le plus souvent rencontrées dans les stations S1 et S3. Toutefois, la teneur maximale ( $5.4 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$ ) est notée en août dans la station S4 (Fig.54).

Les valeurs des SF dans les quatre stations et durant les deux cycles d'échantillonnage sont supérieures à la valeur guide ( $3 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$ ) admise par la réglementation française (1991) pour les eaux destinées à l'irrigation.



**Figure 53:** Répartition spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).

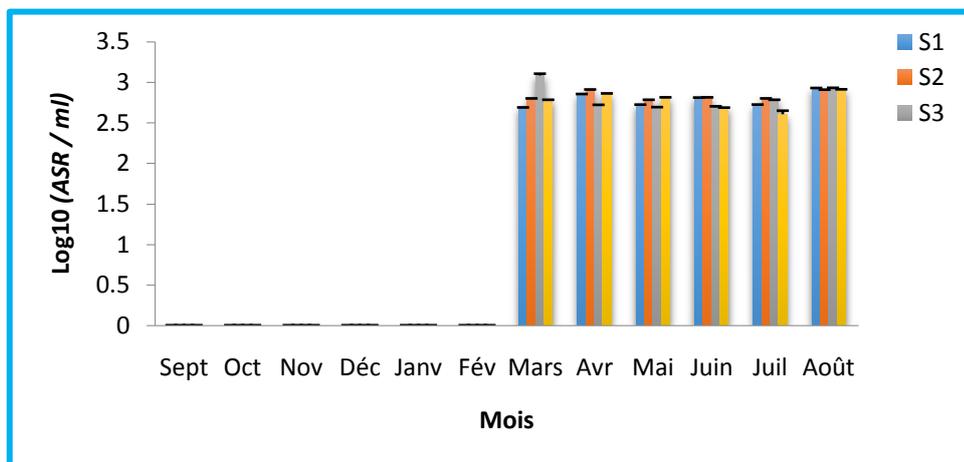


**Figure 54:** Répartition spatio-temporelle des streptocoques fécaux dans les eaux du canal Messida (cycle '2' : septembre 2012 – août 2012).

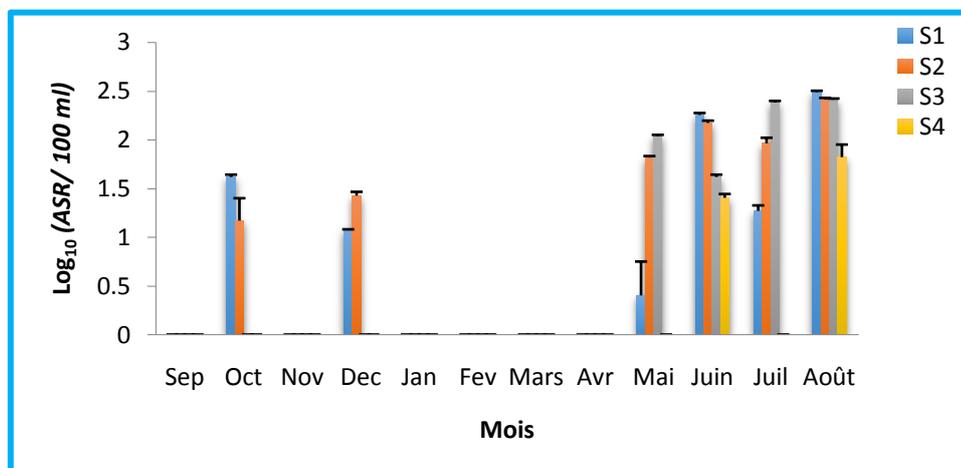
### III.2.6. Concentrations des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Il ressort des figures 55 et 56 que les ASR ne sont pas présents durant tout le cycle d'étude ; nous notons, en effet, que durant le cycle '1' leur présence est limitée à la période s'étalant de mars à août à des teneurs comprises entre 2.5 et 3  $\log_{10}$  (ASR/100 ml) ; en revanche durant le cycle '2' les ASR sont présents en octobre, en décembre et de mai à août à des teneurs variant de 0.5 à 2.5  $\log_{10}$  (ASR/100 ml).

Nous notons, par ailleurs, que durant le cycle '1' les ASR sont détectés dans l'ensemble des stations (Fig.55); en revanche, durant le cycle '2', leur présence dans les quatre stations se limite aux mois de juin et août (Fig. 56). C'est toutefois, dans les stations S1 et S2 que sont, le plus souvent, rencontrés les ASR ; la présence de ces derniers dans les stations S3 et S4 se limite à 4 mois et 2 mois respectivement.



**Figure 55:** Répartition spatio-temporelle des ASR dans les eaux du canal Messida (Cycle '1' : septembre 2010 – août 2011).



**Figure 56 :** Répartition spatio-temporelle des ASR dans les eaux du canal Messida (Cycle '2' : septembre 2012 – août 2013).

### III.2.7. Identification des bactéries aquicoles et des germes pathogènes

Durant notre période d'étude, nous avons identifié et conservé 328 bactéries dont 39.02% proviennent de la station S1, 10.36% de la station S2, 28.96% de la station S3 et 21.64% de la station S4.

#### III.2.7.1. Identification des entérobactéries

L'étude des caractères cultureux et biochimiques des bactéries qui ont poussées sur les géloses Mac Conkey, Hektoen et SS, nous a permis d'identifier et de conserver 266 entérobactéries : 115 à partir de la station S1, 29 à partir de la station S2, 83 à partir de la station S3 et 39 à partir de la station S4 (Tableau 9).

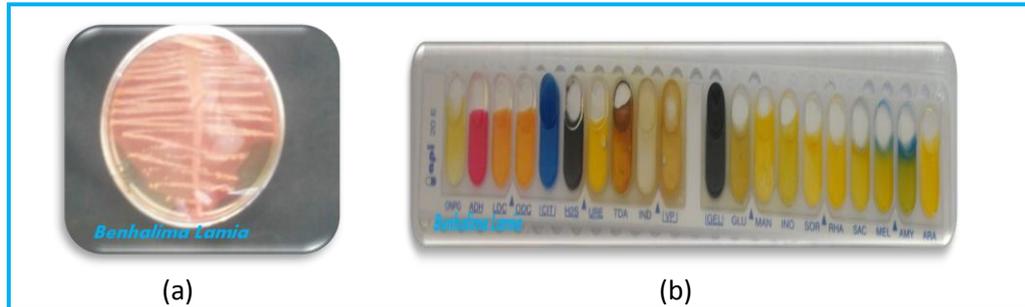
**Tableau 9:** Entérobactéries isolées à partir des eaux du canal Messida.

Station	Date de prélèvement	Espèce bactérienne	Nombre de souches	Code de l'API 20 E	Degré de parenté (%)
S1	Nov/déc-2010	<i>Escherichia coli</i>	5	5444152	99.6
	Mars/juin- 2011		4	7044102	99.8
	Sept/oct- 2012		6	5044112	100
	Janv- 2013		4	5444553	100
	Mars/avr- 2013		6	5144510	100
	Oct/nov- 2010	<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	5255733	100
	Fév- 2011		4	5255771	99.9
	Janv- 2013		2	5055773	100
	Avr - 2013		4	5241773	100
	Sept/oct- 2012	<i>Citrobacter freundii</i>	9	7726773	99.9
	Jan- 2013		3	3304572	100
	Avr/mai- 2013		5	3604532	100
	Nov- 2010	<i>Serratia marcescens</i>	2	5304521	97
	Jan/mars- 2011		6	5304561	99.8
	Fév/mars- 2013		8	5304761	100
	Mars- 2013		4	5305721	99.9
	Avr- 2013		1	5316361	100
	Oct/nov- 2010	<i>Proteus vulgaris</i>	4	0674031	99.6
	Fév- 2011		5	0676031	100
	Oct- 2012		4	0674001	99.9
Janv- 2013	7		0476021	99.8	
Avr - 2013	4		0674000	100	
Mars- 2013	<i>Salmonella</i>	1	6504510	98.7	
Avril- 2013	Typhimurium	1	7736563	98	
Mars- 2013	<i>Proteus mirabilis</i>	2	173600	100	

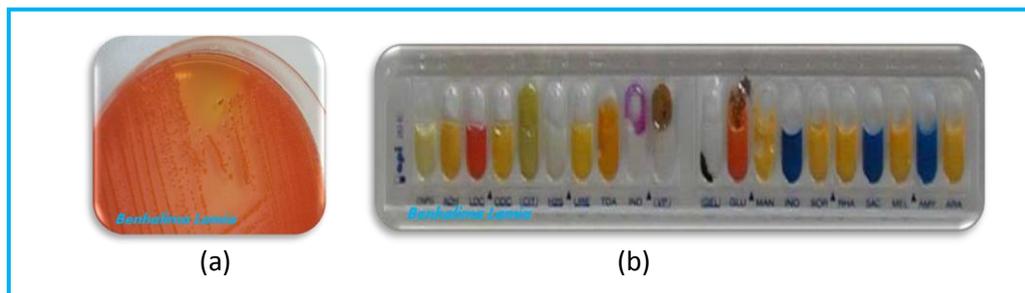
Tableau 9 (Suite):

Station	Date de prélèvement	Espèce bactérienne	Nombre de souches	Code de l'API 20 E	Degré de parenté (%)
S1	Avril- 2013	<i>Hafnia alvei</i>	2	4105103	99.6
	Jan- 2013	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1045353	98.9
	Déc- 2012	<i>Edwardsiella</i> sp.	1	4544001	99
	Mars- 2011	<i>Shigella</i> spp.	1	0044140	98.7
	Avr- 2013	<i>Proteus morganii</i>	1	0476022	98.6
S2	Oct/Nov- 2012	<i>Escherichia coli</i>	6	1144152	99.9
	Janv/Mars- 2013		4	5544172	99.9
	Avr- 2013		2	7044102	99.9
	Janv/Mars/Avr- 2013	<i>Serratia marcescens</i>	5	5307721	100
S3	Fév- 2011	<i>Providencia</i> spp.	2	0274220	99.6
	Déc- 2012		3	0065220	99.9
	Oct/ Déc- 2012	<i>Escherichia coli</i>	7	5544172	100
	Jan/Fév- 2013		6	5044111	99.7
	Mars- 2013		4	1444552	100
	Oct- 2010	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	5255373	99.8
	Oct/Nov/Déc- 2012		6	5255773	100
	Jan/Fév- 2013		8	5255733	100
	Avril- 2013		4	7105773	97.2
	Mars/Avr- 2013		6	5245733	99.9
	Nov/Déc-2010	<i>Citrobacter freundii</i>	3	1604152	100
	Mars/Juin- 2011		5	1504513	99.9
	sept/Oct- 2012		4	1404512	100
	Nov/Déc- 2012		5	1614553	100
	Janv- 2013	6	1704533	99.8	
	Déc- 2010	<i>Serratia marcescens</i>	3	5317761	99.9
Avr/Mai-2011	5		5307321	99.8	
Jan/Mars- 2013	4		5306760	99.9	
Janv- 2013	<i>Edwardsiella</i> sp.	1	4544001	99.7	
Avr- 2011	<i>Morganella</i> sp.	2	0174001	99.2	
Mai-2011	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	1154123	99.7	
Sep- 2012	<i>Edwardsiella tarda</i>	1	4544002	100	
S4	Oct/ Déc- 2012	<i>Escherichia coli</i>	5	1044452	99.8
	Jan/Fév- 2013		4	1044572	100
	Mars- 2013		6	7144552	100
	Avr- 2013		3	4144512	99.8
	Janv- 2011	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	5255373	99.9
	Déc- 2012		3	5254773	100
	Mars/avr/mai- 2011	<i>Citrobacter freundii</i>	4	1604542	99.8
	Avr- 2013		4	1604152	99.9
	Mai-2011	<i>Serratia marcescens</i>	1	5304761	98.7
	Sep- 2012		1	5305561	99.6
	Oct/Nov- 2010	<i>Providencia</i> spp.	2	0274220	99.8
Sep/Oct- 2010	<i>Serratia odorifera</i>	2	5346573	100	
Jan- 2013	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1205503	100	
Jan- 2013	<i>Enterobacter cloacea</i>	1	3005573	97	

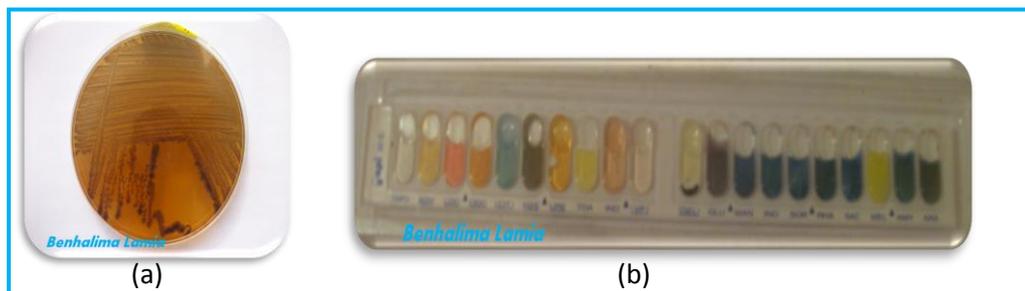
- Les aspects macroscopiques et les caractères biochimiques des principales entérobactéries isolées à partir des eaux du canal Messida sont représentés par les planches 1 à 17.



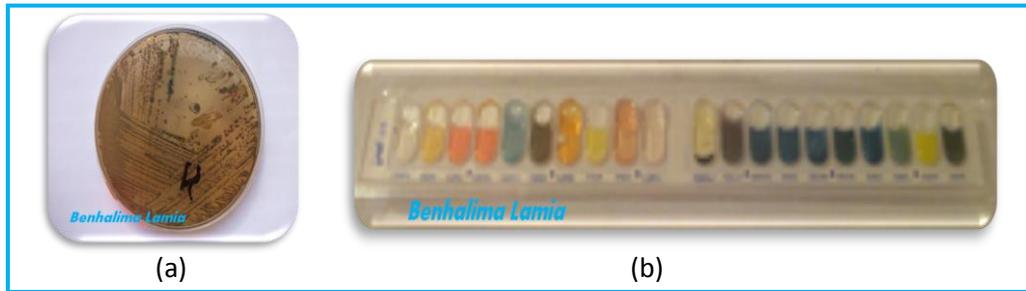
**Planche 1 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Citrobacter freundii* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20E



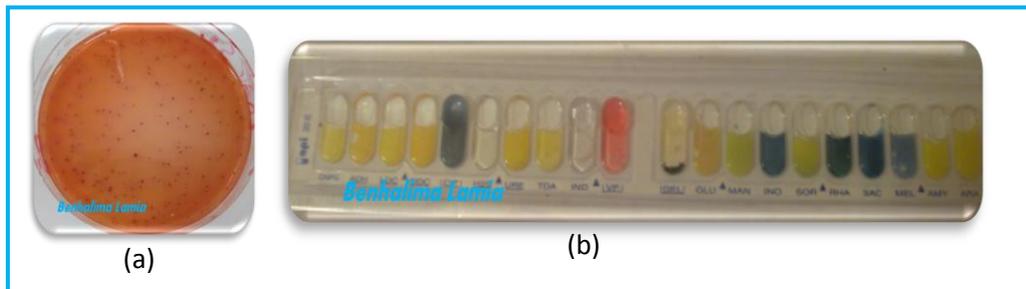
**Planche 2 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche d'*Escherichia coli* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



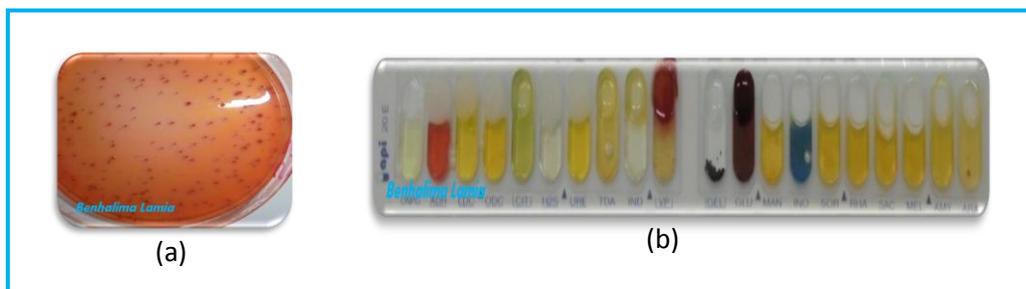
**Planche 3 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche d'*Edwardsiella* sp. sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 4:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'*Edwardsiella tarda* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



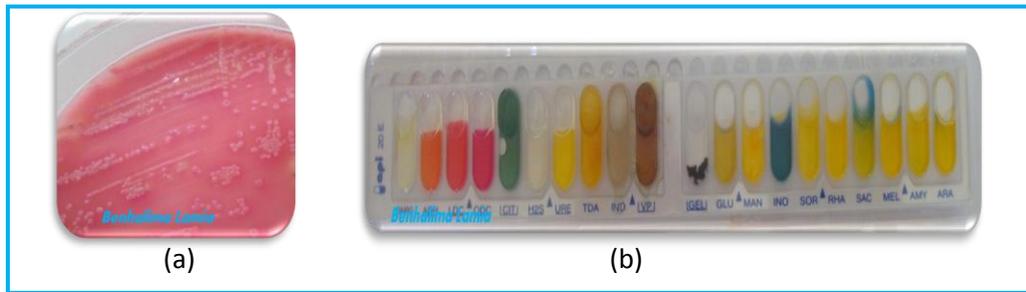
**Planche 5:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche d'*Enterobacter agglomerans* sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



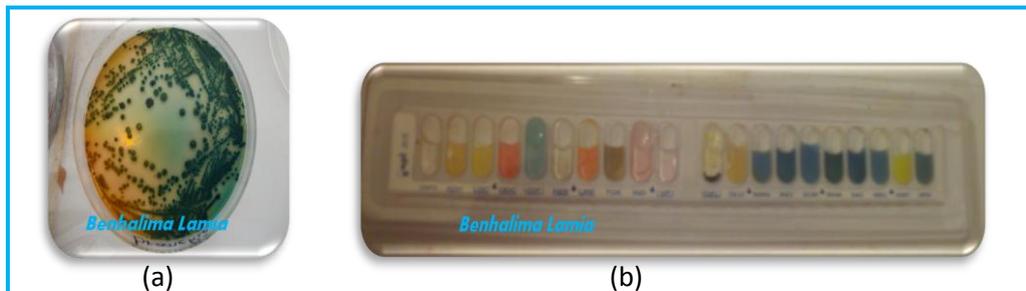
**Planche 6 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'*Enterobacter cloacae* sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



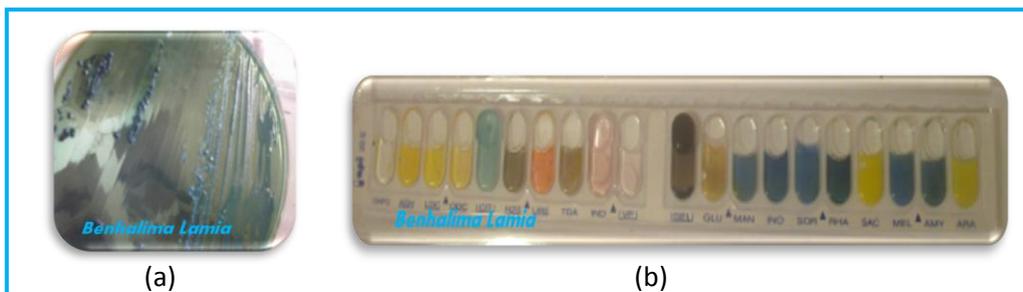
**Planche 7 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Hafnia alvei* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



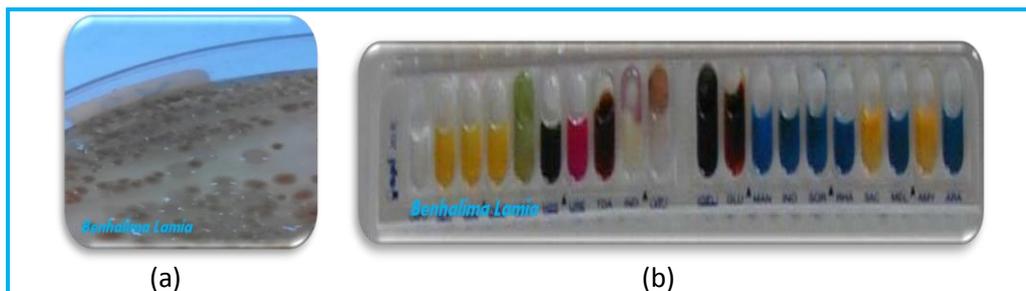
**Planche 8 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Klebsiella oxytoca* sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



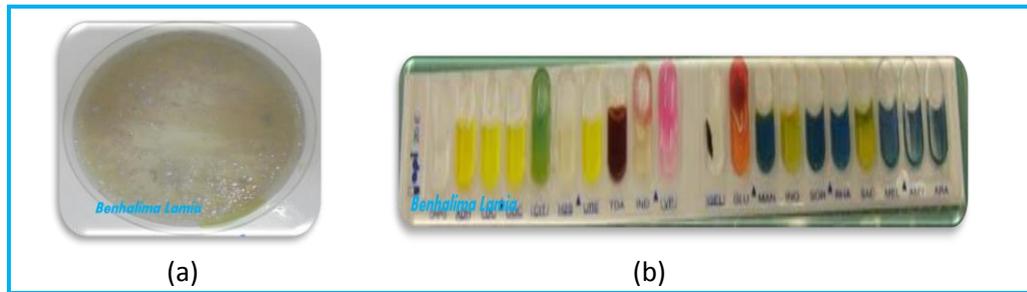
**Planche 9 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Morganella* sp. sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



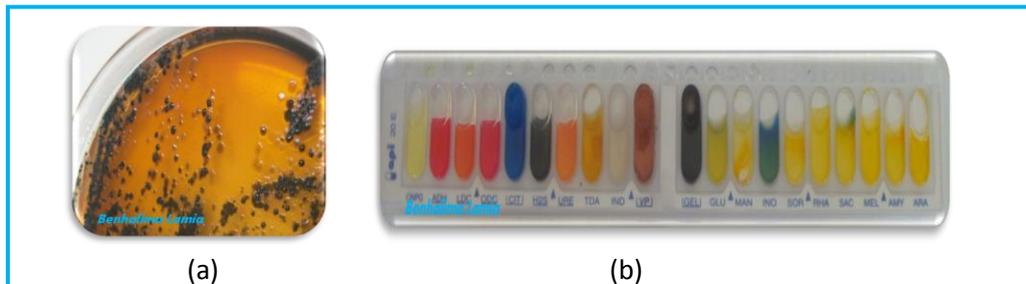
**Planche 10 :** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Proteus morganii* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



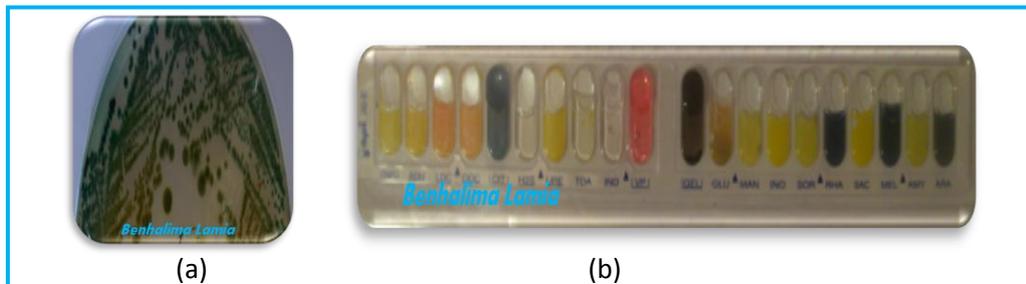
**Planche 11 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Proteus vulgaris* sur la gélose Mac Conkey et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



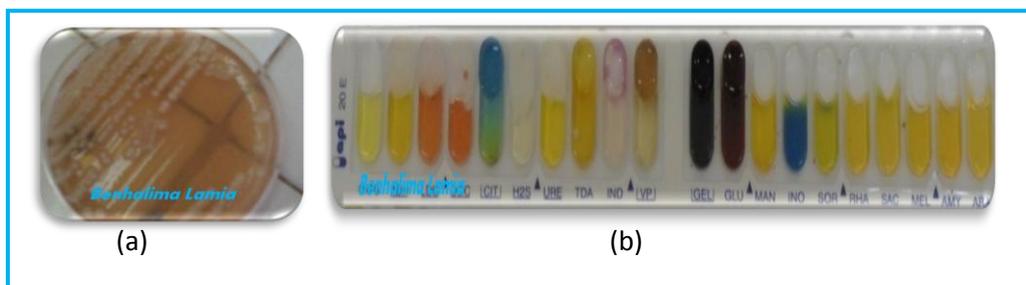
**Planche 12 :** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Providencia* sp. sur la gélose Mac Conkey et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



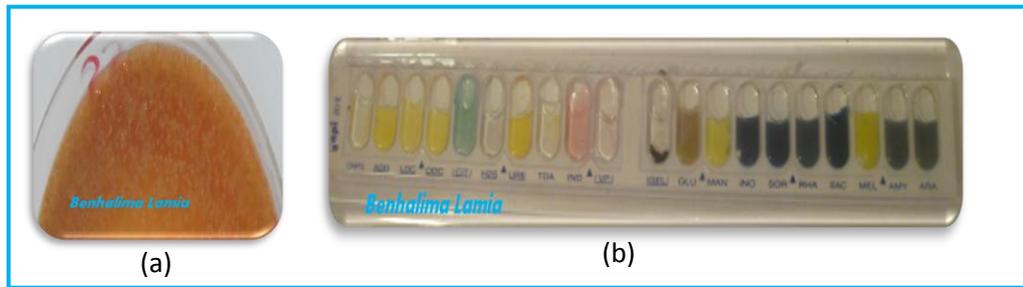
**Planche 13:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Salmonella* Typhimurium sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



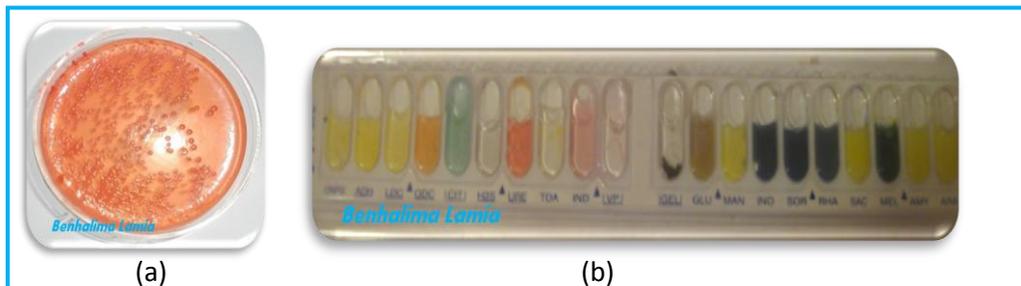
**Planche 14:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Serratia marcescens* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 15:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Serratia odorifera* sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 16:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Shigella* spp. sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l’API 20 E.



**Planche 17:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Yersinia enterocolitica* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l’API 20 E.

### III.2.7.2. Identification des vibrions

A partir des prélèvements effectués, nous avons isolé une souche de *Vibrio cholerae* à partir des eaux de la station S1 pendant le mois de juin du premier cycle d’échantillonnage.

Les résultats de l’identification biochimique de *vibrio cholerae* sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 10:** Identification biochimique de la souche *Vibrio cholerae* isolée à partir des eaux du canal Messida.

station	Date de prélèvement	OX	MOB	GLU	LAC	SAC	Nacl	ADH	ODC	RM	VP	IND
S1	Juin- 2011	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+

**Légende:** (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; OX : oxydase, MOB : mobilité, GLU : fermentation du glucose, LAC : fermentation du lactose, SAC : fermentation du saccharose, NaCl : croissance à 0% NaCl, ADH : arginine dihydrolase, ODC : ornithine décarboxylase, RM : rouge de méthyle, VP : Voges–Proskauer, et IND : le test indole.

L'identification de la souche a été complétée par L'API 20 NE (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et le résultat obtenu a montré que cette souche est rapprochée à l'espèce *Vibrio cholerae*, avec un degré de parenté de 98.90% (Tableau 11, planche 18).

**Tableau 11:** Identification de la souche *Vibrio cholerae* par la galerie API 20 NE.

NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-

**Légende:** (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; NO3: nitrate de potassium; TRP: tryptophane; GLU: glucose; ADH: arginine; URE: urée; ESC: esculine; GEL: gélatine; PNPG; p-nitrophényl-B-D-galactopyranoside; GLU: glucose; ARA: arabinose; MNE: mannose; NAG: N-acetyl-glucosamine; MAL: maltose; GNT: gluconate; CAP: caprate; ADI: adipate; MLT: malate; CIT: citrate; PAC: phényl-acétate.



**Planche 18:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Vibrio cholerae* sur la gélose GNAB et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.

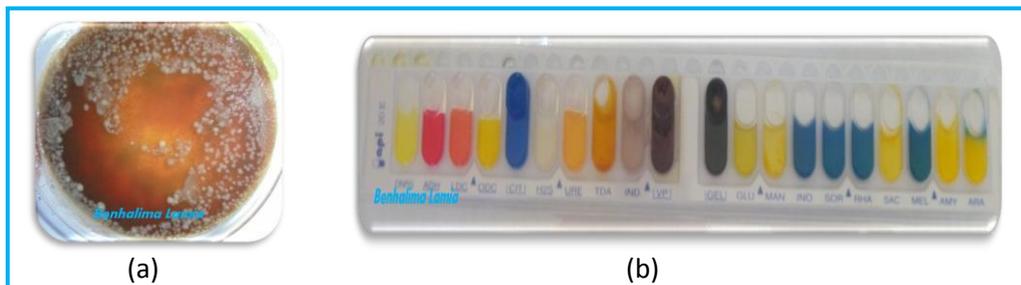
- L'identification de certaines souches bactériennes par le système API 20 E (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) a permis de caractériser 48 souches d'*Aeromonas hydrophila*.

Les résultats de la répartition de cette espèce appartenant à la famille des *Vibrionaceae* sont représentés dans le tableau 12.

**Tableau 12:** Répartition des souches d'*Aeromonas hydrophila* dans les différentes stations du canal Messida.

Station	Date de prélèvement	Nombre de souches	Code de l'API 20 E	Degré de parenté
<b>S1</b> (n = 10)	Sep/Déc-2010	3	3047104	99.8
	Juin- 2011	2	3247105	99.6
	Oct/Nov- 2012	4	3247137	100
	Mars- 2013	1	7247137	99.9
<b>S3</b> (n = 9)	Déc- 2010	4	7046126	99.7
	Avr/Mai-2011	2	3247137	99.8
	Jan/Mars- 2013	3	7246107	99.7
<b>S4</b> (n = 29)	Sep- 2010	3	3007125	99.9
	Avr- 2011	2	3047137	99.9
	Mars/Juin-2011	6	3047104	100
	Avril/ Mai- 2011	4	3047126	100
	Sep/Oct- 2012	5	3046107	99.9
	Nov- 2012	3	3247105	99.9
	Mars-2013	4	3207127	100
	Avr /Mai- 2013	2	7237123	98

- L'aspect macroscopique et les caractères biochimiques d'une souche d'*Aeromonas hydrophila* isolées à partir des eaux du canal Messida sont représentés par la planche 19.



**Planche 19:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'*Aeromonas hydrophila* sur la gélose au sang et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.

### III.2.7.3. Identification de *Pseudomonas*

Six souches de *Pseudomonas* sont identifiées et conservées, quatre souches sont rapprochées à l'espèce *P. aeruginosa* avec un degré de parenté de 100 % (pour P1 et P4) avec un degré de parenté de 99.2% (pour la souche P2), et avec un degré de parenté de 99 % (pour la souche P 3) ; ces souches ont été isolées à partir des eaux de la station S2 en mars et avril de l'année 2013.

Les deux autres souches (P5 et P6) sont proches de l'espèce *P.fluorescens* avec un degré de parenté de 96 % ; ces souches ont été isolées, en mai 2013, à partir des eaux des stations S2 et S4.

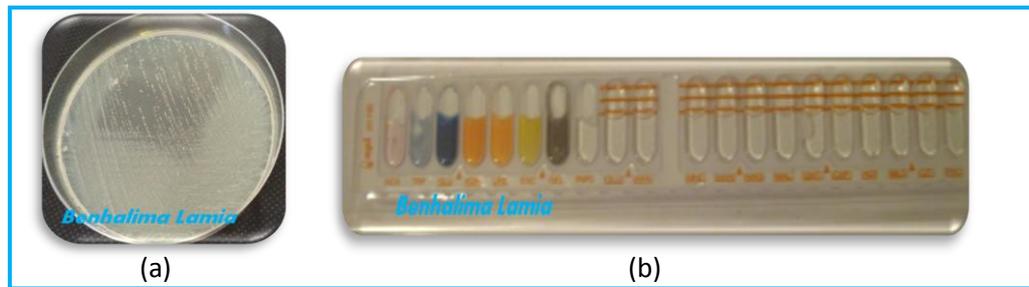
Les résultats des tests d'identification biochimiques des *Pseudomonas* sont rapportés dans le tableau 13.

**Tableau 13:** Tests d'identification des *Pseudomonas* isolés à partir des eaux du canal Messida.

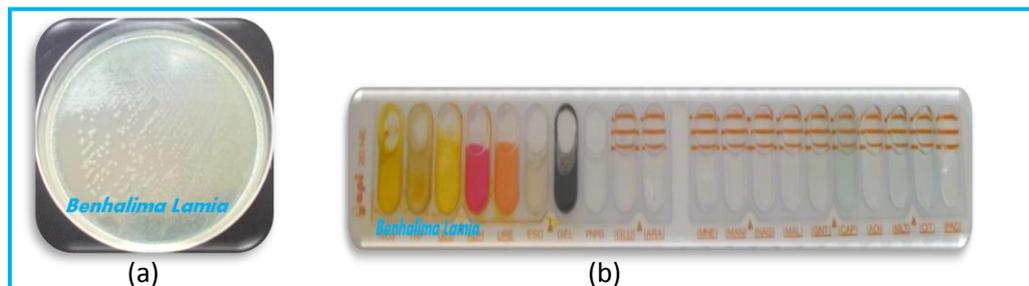
souche	OX	pyocyanine	pyoverdine	API 20 NE																			
				NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
P1	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	
P2	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
P3	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
P4	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
P5	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-
P6	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-

**Légende:** (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test. OX: oxydase; NO3: nitrate de potassium; TRP: tryptophane; GLU: glucose; ADH: arginine; URE: urée; ESC: esculine; GEL: gélatine; PNPG; p-nitrophényl-B-D-galactopyranoside; GLU: glucose; ARA: arabinose; MNE: mannose; NAG: N-acetyl-glucosamine; MAL: maltose; GNT: gluconate; CAP: caprate; ADI: adipate; MLT: malate; CIT: citrate; PAC: phényl-acétate.

- L'aspect macroscopique et les caractères biochimiques d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (P1) et d'une souche de *Pseudomonas fluorescens* (P6) isolées à partir des eaux du canal Messida sont représentés par les planches 20 et 21.



**Planche 20:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* (P1) sur la gélose cétrimide et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.



**Planche 21:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas fluorescens* (P6) sur la gélose cétrimide et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.

#### III.2.7.4. Identification des staphylocoques

Les souches rattachées au genre *Staphylococcus* sont au nombre de sept :

- Trois souches sont proches de l'espèce *Staphylococcus epidermidis* avec un degré de parenté de 100 % (pour St.1 et St.3), et 99.8% (pour St.2). Ces souches ont été isolées à partir des eaux de S1 (en avril 2011), de S2 (en mars 2013) et de S4 (en mai 2011).
- Deux souches sont apparentées à l'espèce *Staphylococcus aureus* avec un degré de parenté de 99.7 % (pour St.4) et 99.8 (pour St.5); ces souches ont été isolées à partir des eaux de la station S3 en juin de l'année 2011 et en mai de l'année 2013.
- Les souches St.6 et St.7 sont proches de l'espèce *Staphylococcus saprophyticus* avec un degré de parenté de 99.6 et 99.8 % respectivement. Les souches de *Staphylococcus saprophyticus* ont été isolées à partir des eaux de S1 (en avril 2013) et de S4 (en juin 2011).

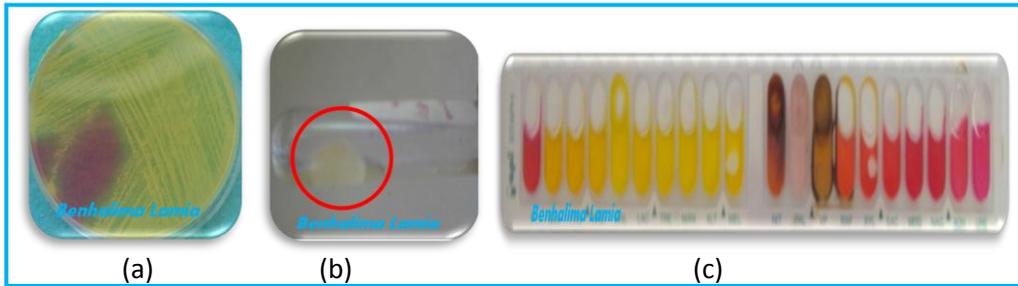
Les résultats de l'identification des staphylocoques sont représentés dans le tableau 14.

**Tableau 14:** Tests d'identification des staphylocoques isolés à partir des eaux du canal Messida.

souche	Catalase	Coagulase	API Staph																				
			0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	
St.1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	
St.2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
St.3	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
St.4	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
St.5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
St.6	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
St.7	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+

**Légende:** (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; GLU: glucose; FRU : fructose; MNE : mannose; MAL : Maltose; LAC : Lactose; TRE : tréhalose; MAN : mannitol; XLT : Xylitol; MEL : melibiose; NIT : Nitrate de potassium; PAL :  $\beta$ -naphtyl. phosphate; VP : Pyruvate de sodium; RAF : Raffinose; XYL : Xylose; SAC : Saccharose; MDG :  $\alpha$ -méthyle-D-glucopyranoside; NAG : N-acétyl-glucosamine; ADH : Arginine; URE : Urée.

- L'aspect macroscopique et les caractères biochimiques d'une souche de *Staphylococcus aureus* (St.5) isolée à partir des eaux du canal Messida sont représentés par la planche 22.



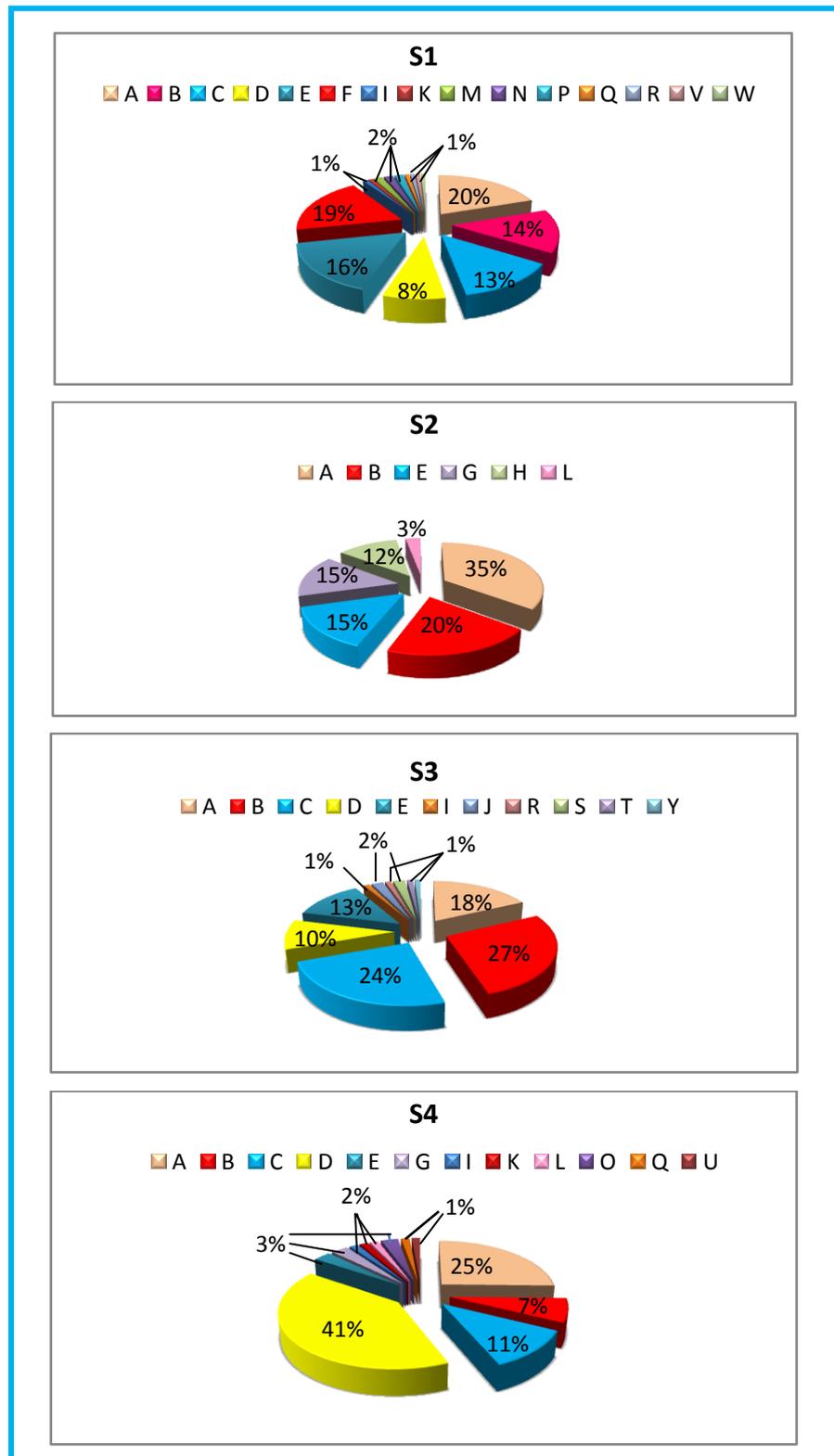
**Planche 22:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus aureus* (St.5) sur la gélose Chapman, (b) test coagulase positif et (c) ses caractères biochimiques sur l'API Staph.

### III.2.7.5. Distribution spatiale des souches bactériennes identifiées

La prévalence des différentes souches bactériennes isolées à partir des quatre stations durant les deux cycles d'étude est représentée dans la figure 58.

La flore bactérienne identifiée par les systèmes API n'est pas fortement représentative des bactéries effectivement présentées dans l'eau analysée. Il est ainsi possible que des bactéries blessées ou stressées soient rendues temporairement inaptes à la croissance sur des milieux de culture standards suivant les conditions types fixées. Dans l'eau, les bactéries blessées ou stressées peuvent se réanimer ou se réparer en fonctions de paramètres tels que la température, les nutriments et bien sur le temps.

Il ressort de la figure 57, que la richesse spécifique varie d'une station à l'autre ; nous notons, en effet, que les espèces communes aux 4 stations sont *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* et *Serratia marcescens*. Les espèces communes à 3 stations (S1, S3 et S4) sont au nombre de 6 (*E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, et *Staphylococcus epidermidis*).



**Figure 57:** Répartition spatiale des bactéries isolées dans les eaux du canal Messida.  
 A = *Escherichia coli*, B = *Klebsiella oxytoca*, C = *Citrobacter freundii*, D = *Aeromonas hydrophila*,  
 E = *Serratia marcescens*, F = *Proteus vulgaris*, G = *Providencia* spp., H = *Pseudomonas aeruginosa*,  
 I = *Staphylococcus epidermidis*, J = *Staphylococcus aureus*, K = *Staphylococcus saprophyticus*,  
 L = *Pseudomonas fluorescens*, M = *Salmonella Typhimurium*, N = *Proteus mirabilis*, O = *Serratia*  
*odorifera*, P = *Hafnia alvei*, Q = *Enterobacter agglomerans*, R = *Edwardsiella* sp., S = *Morganella* sp.,  
 T = *Yersinia enterocolitica*, U = *Enterobacter cloacae*, V = *Shigella* spp., W = *Vibrio cholerae*,  
 X = *Proteus morgani*, Y = *Edwardsiella tarda*.

### III.3. Analyses statistiques

#### III.3.1. Description graphique

Afin de bien montrer et comprendre les variations des paramètres physicochimiques et bactériologiques au niveau des quatre stations du canal Messida, nous avons représenté un résumé simple, synthétique et pratique de la distribution des données (valeurs logarithmiques) sous forme de *Boxplots* ou boîte à moustaches qui sont d'excellent graphiques pour repérer les erreurs de mesure et les valeurs anormales (Dagnelie, 2007).

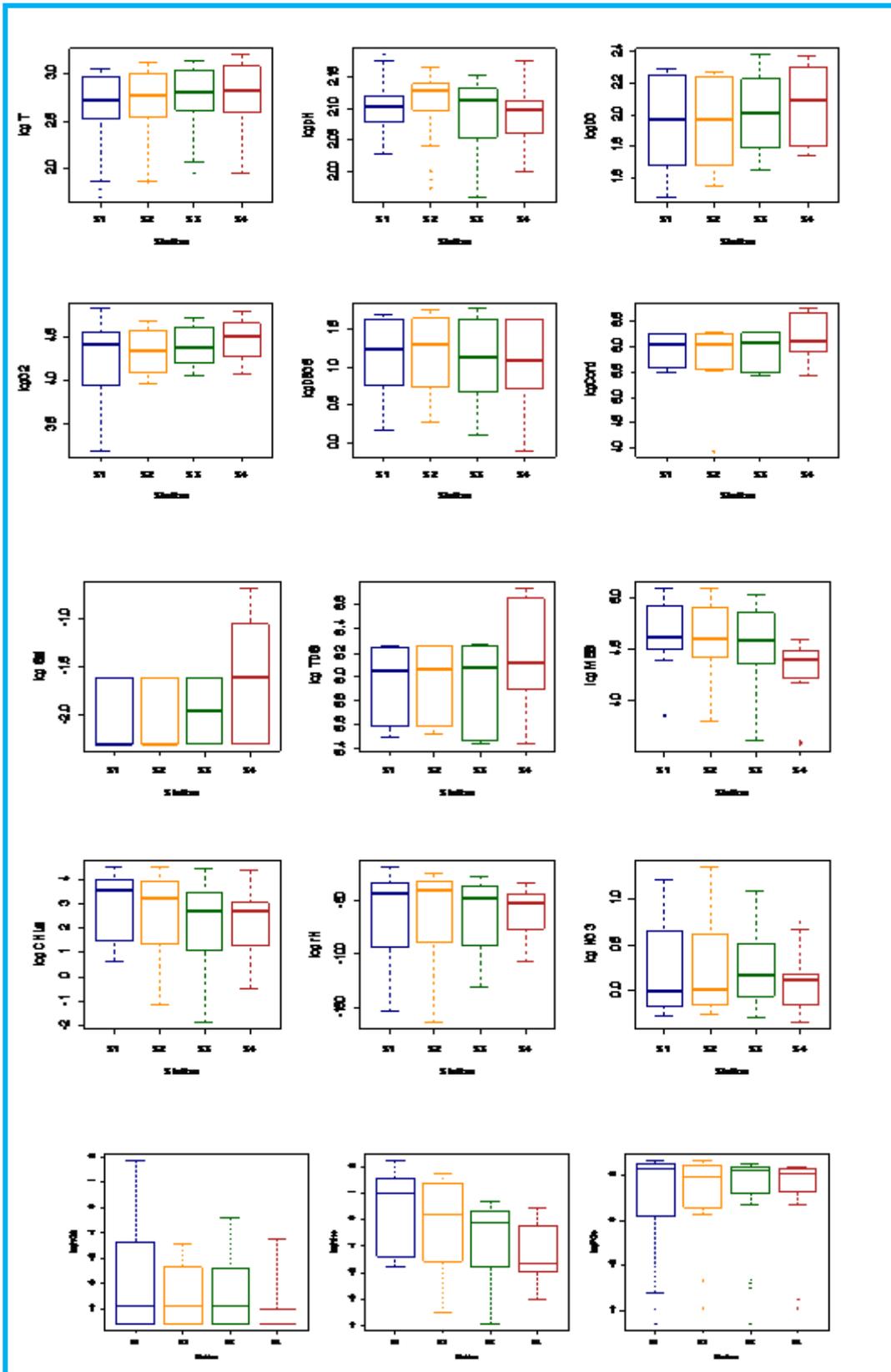
- **Paramètres physicochimiques**

Les *Boxplots* ont été réalisés en utilisant une bibliothèque (package) spécialisée appelés « *gplots* » utilisable sous R. La distribution des valeurs logarithmiques de chacun des paramètres physico-chimiques mesurés dans chaque station est présentée dans la figure 58 (pour le cycle '1') et dans la figure 59 (pour le cycle '2').

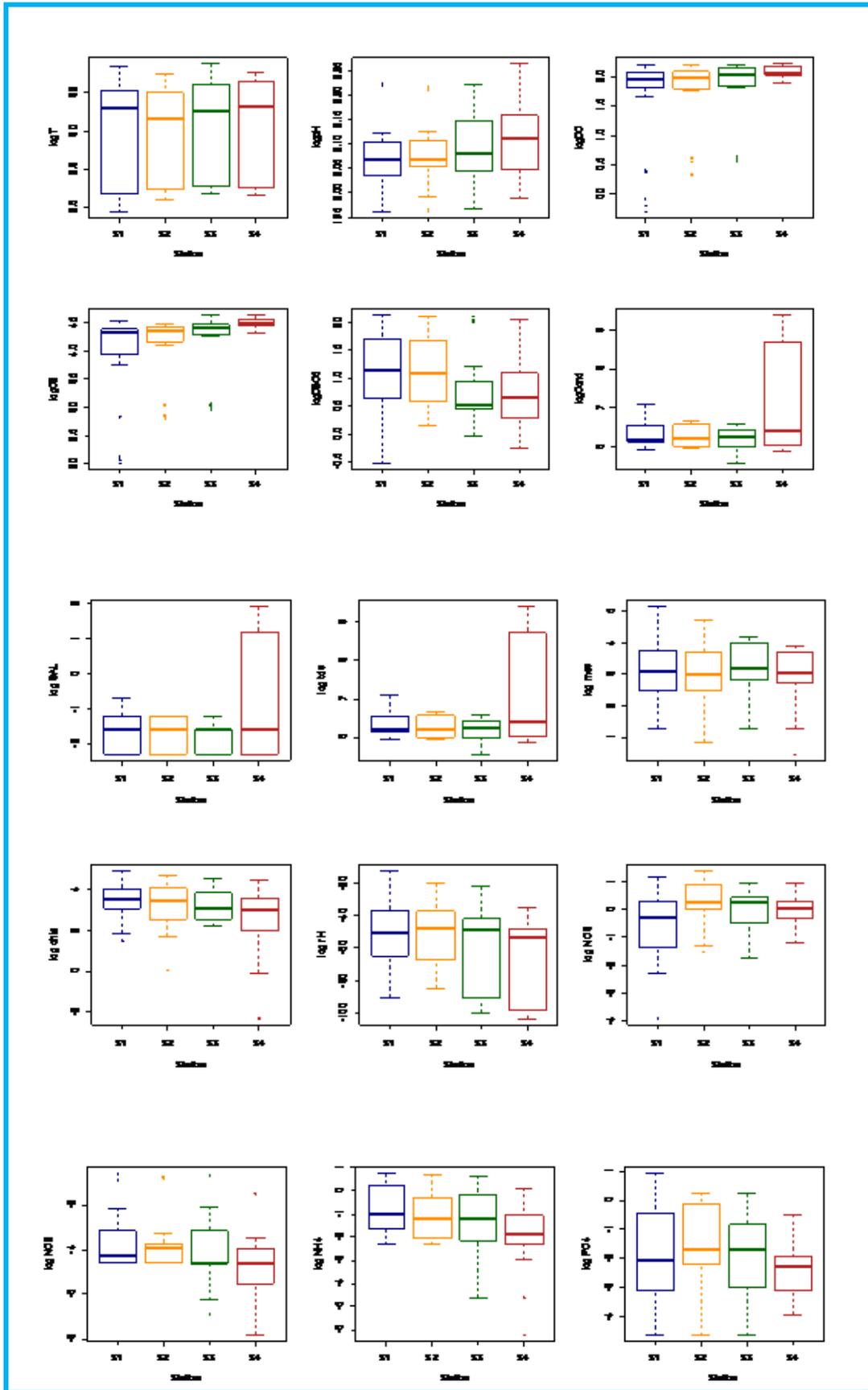
D'une manière générale, nous avons observés que les variabilités inter-stations de certains paramètres sont très importantes. Cette variabilité a été statistiquement testée par le test Kruskal-Wallis et tous les résultats sont compilés dans le tableau 15.

En examinant les figures 58 et 59 nous avons constaté ce qui suit :

- La présentation, par *Boxplots*, des distributions de la variable température selon les stations montre que les quatre stations présentent des dispersions similaires, elles sont un peu dispersées durant le cycle '1' et plus étalées durant le cycle '2' ; ce qui suggère que la température de l'eau a connue des fluctuations importantes durant le cycle '2'.
- Selon les *Boxplots* du paramètre pH (Fig.58 et 59), nous avons remarqué que les valeurs de pH au niveau des stations S1 et S2 présentent moins de variation que celles des stations S3 et S4.



**Figure 58:** Variation inter-stations des paramètres physico-chimiques  
(Cycle '1' : septembre 2010 - août 2011).



**Figure 59:** Variation inter-stations des paramètres physico-chimiques  
(Cycle '2' : septembre 2012- août 2013).

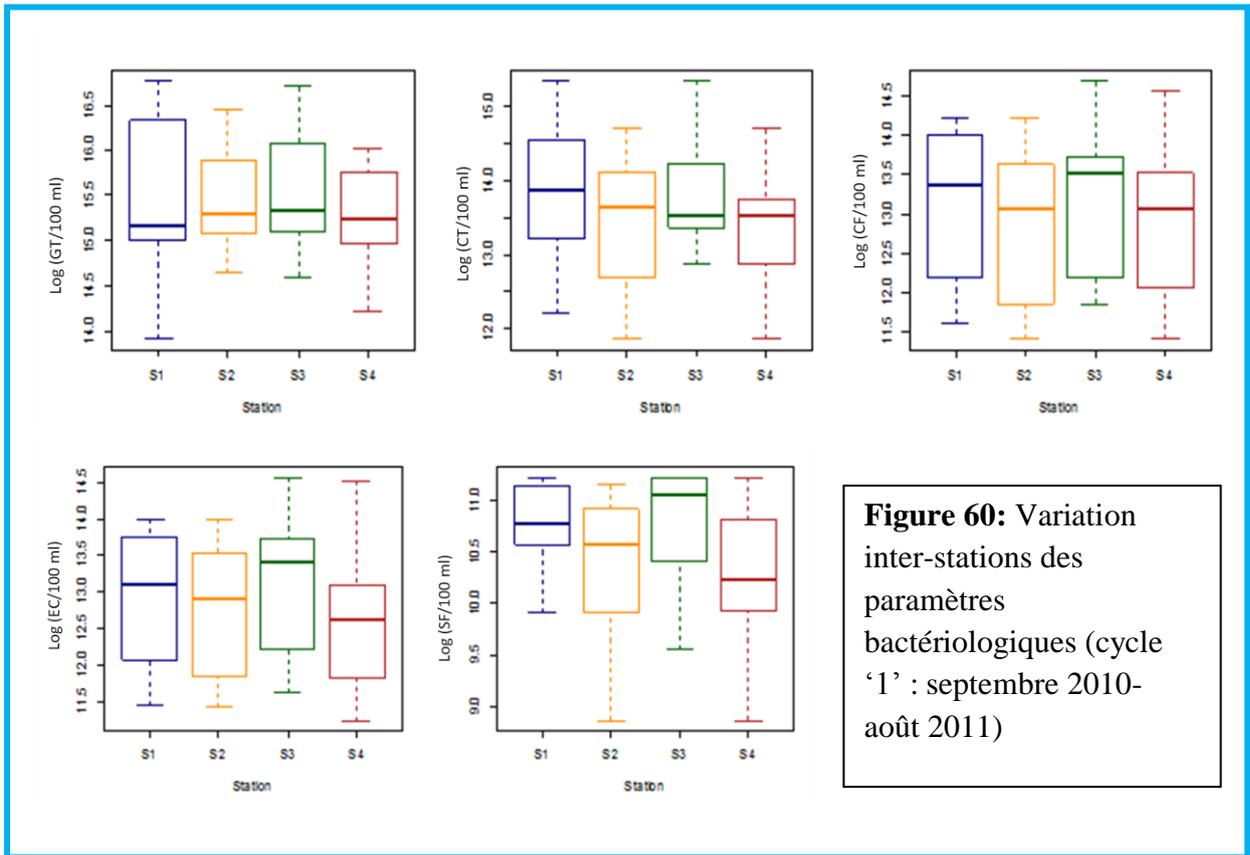
- La représentation *Boxplots* du paramètre rH révèle une variabilité importante des valeurs logarithmiques du rH dans les stations S1 et S2 (cycle '1'), et dans les stations S3 et S4 (cycle '2').
- L'examen des *Boxplots* des paramètres DO et le taux de saturation en O<sub>2</sub> des deux cycles d'échantillonnage (Fig.58 et 59), montre nettement que les eaux des stations S1 et S2 sont moins oxygénées que celles de S4.
- La présentation graphique des Logs de DBO<sub>5</sub> du cycle '1' (Fig.58) montre que les quatre stations présentent des dispersions similaires. En revanche, au cours du cycle '2' (Fig.59), l'écart interquartile est plus étalé pour les stations S1 et S2 que pour la station S3 où la médiane est plus faible.
- Les *Boxplots* de la salinité, de la conductivité et les TDS (Fig.58 et 59) montrent clairement que ces trois paramètres sont stables dans les stations S1 et S2 ; leurs valeurs sont plus faibles que celle relevées dans la station S4 qui subit l'influence marine du fait de sa proximité de la mer.
- L'examen des *Boxplots* du paramètre MES révèle qu'il ya des variabilités des Logs de MES au cours du cycle '1' (Fig.58), En revanche, la répartition des Logs de MES dans les espaces interquartiles des quatre stations au cours du cycle '2' est presque la même.
- Les *boxplots* de la chlorophylle *a* révèlent que les variations intra-stations sont importante pour l'ensemble des stations durant le cycle '1' par rapport a celles observées durant le cycle '2'.
- En ce qui concerne les nitrates, leurs *boxplots* (Fig.58 et 59) nous permettent de constater l'existence d'une homogénéité dans les quatre stations durant le cycle '1' et d'une hétérogénéité durant le cycle '2'. La variabilité intra-station étant moins importante que celle observée pendant le cycle '1'.

- D'après les *Boxplots* des valeurs logarithmiques des teneurs en NO<sub>2</sub> (Fig.58 et 59), nous notons une différence entre les médianes de NO<sub>2</sub> de la station S1 (partie amont du canal) et la station S4 (partie aval du canal) durant les deux cycles d'étude.
- Les *Boxplots* des valeurs de l'ammonium obtenues durant les deux cycles d'échantillonnage (Fig.58 et 59), nous permettent de déceler l'existence d'un gradient décroissant (S1>S2>S3>S4) des teneurs en ammonium.
- En ce qui concerne les orthophosphates, les *Boxplots* montrent que, le cycle '2' est caractérisé par des faibles teneurs par rapport au cycle '1' (Fig. 58 et 59) où les concentrations sont plus élevées mais elles restent proches d'une station à une autre.

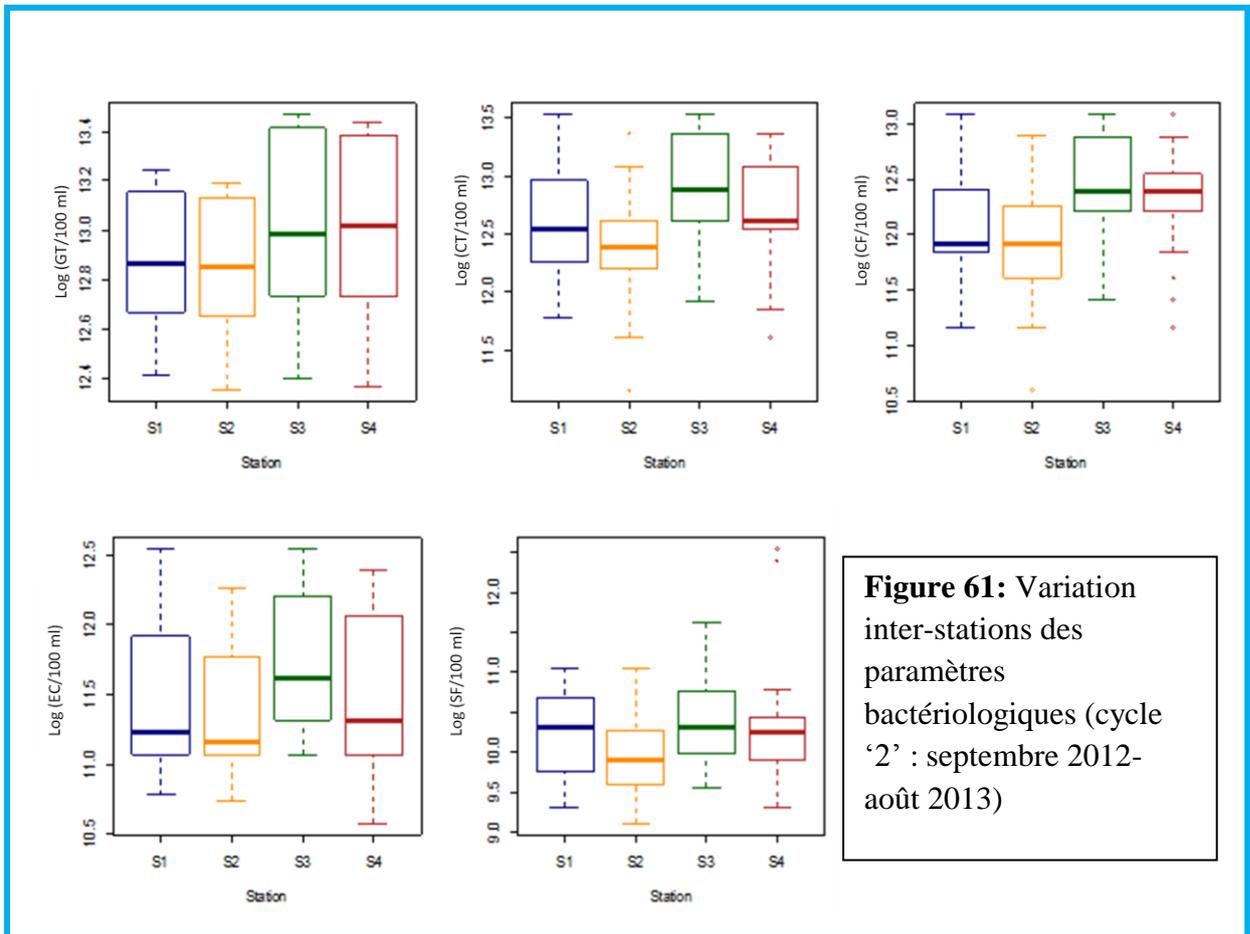
- **Paramètres bactériologiques**

Les variations inter-stations des paramètres bactériologiques représentées sous forme de boîte à moustaches à une échelle logarithmique sont illustrées dans les figures 60 et 61.

**Remarque :** La boîte à moustaches de la variable 'ASR' est statistiquement non représentative à cause des données illisibles.



**Figure 60:** Variation inter-stations des paramètres bactériologiques (cycle '1' : septembre 2010-août 2011)



**Figure 61:** Variation inter-stations des paramètres bactériologiques (cycle '2' : septembre 2012-août 2013)

D'après les *Boxplots* des paramètres bactériologiques mesurés durant les deux cycles d'échantillonnage (Fig.60 et 61), nous constatant, d'une manière plus synthétique, que :

- Durant les deux cycles, il est clair que la microbiologie des eaux analysées est très variable au niveau de chaque station. La comparaison des valeurs minimales et maximales permet de prendre conscience de l'étendue de l'intervalle de variations de certains descripteurs bactériologiques.
- Durant le cycle '1', seules les valeurs médianes des SF apparaissent différentes d'une station à une autre.
- Durant le cycle '2', la variabilité inter-stations est importante pour l'ensemble des paramètres bactériologiques recherchés (GT, CT, CF, EC et SF).
- Des intervalles de concentrations avec des amplitudes similaires sont disponibles tel que GT au niveau de S1 et S2 du cycle '2'.
- Durant les deux cycles, une dégradation de la qualité microbiologique globale des eaux est visible au niveau des quatre stations d'échantillonnage.
- Généralement, les valeurs médianes concernant les CT, CF, EC et SF sont, en effet, plus élevées en S3.
- Globalement, les eaux du canal Messida sont fortement plus chargées en contaminants bactériens durant le cycle '1'.

### III.3.2. Tests statistiques et méthodes multi-variées

#### III.3.2.1. Comparaison inter-stations et inter-mois : test Kruskal-Wallis

Les résultats du test kruskal-Wallis relatifs à la comparaison des médianes de chacune des 21 variables pour les deux facteurs : « station » et « mois » sont synthétisés dans le tableau 15.

La synthèse de ces résultats montre qu'il existe:

- des différences significatives inter-mois ( $p < 0.05$ ) pour tous les paramètres environnementaux et bactériologiques durant les deux cycles d'échantillonnage. Ceci nous conduit à dire que tous les paramètres biotiques et abiotiques des eaux du canal sont influencés par les conditions climatiques.
  
- des différences significatives d'une station à une autre ( $p < 0.05$ ) pour les variables suivantes :
  - Cycle '1' : pH, DO, % O<sub>2</sub>, Sal, MES, Chl-a, NO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>, et SF (Tableau 15).
  - Cycle '2' : DO, % O<sub>2</sub>, DBO<sub>5</sub>, rH, Chl-a, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, GT, CT, CF, EC, SF et ASR (Tableau 15).

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire qu'il existerait un effet direct ou indirect des conditions environnementales sur la variabilité de certains paramètres biotiques et abiotiques. Il semblerait aussi que l'effet du facteur 'station' est très marqué durant le cycle '2'.

**Tableau 15:** Comparaison inter-stations et inter-mois des médianes des paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida.

Paramètre	comparaison	Cycle '1'	Cycle '2'
T°	Inter-station	ns $\chi^2 = 3.16$ , df= 3, p = 0.37	ns $\chi^2 = 2.15$ , df= 3, p = 0.54
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 138.12$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 135.38$ , df= 11, p = 0.00
pH	Inter-station	ds $\chi^2 = 8.55$ , df= 3, p = 0.04	ns $\chi^2 = 4.33$ , df= 3, p = 0.32
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 112.91$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 126.48$ , df= 11, p = 0.00
DO	Inter-station	ds $\chi^2 = 13.04$ , df= 3, p = 0.00	ds $\chi^2 = 18.73$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 120.33$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 100.62$ , df= 11, p = 0.00
% O <sub>2</sub>	Inter-station	ds $\chi^2 = 9.26$ , df= 3, p = 0.03	ds $\chi^2 = 37.95$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 124.67$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 64.09$ , df= 11, p = 0.00
DBO <sub>5</sub>	Inter-station	ns $\chi^2 = 2.48$ , df= 3, p = 0.48	ds $\chi^2 = 9.69$ , df= 3, p = 0.02
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 135.36$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 102.29$ , df= 11, p = 0.00
Sal	Inter-station	ds $\chi^2 = 13.01$ , df= 3, p = 0.00	ns $\chi^2 = 4.25$ , df= 3, p = 0.24
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 104.94$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 122.17$ , df= 11, p = 0.00
Cond	Inter-station	ns $\chi^2 = 6.52$ , df= 3, p = 0.09	ns $\chi^2 = 5.26$ , df= 3, p = 0.15
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 118.58$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 124.46$ , df= 11, p = 0.00
rh	Inter-station	ns $\chi^2 = 3.76$ , df= 3, p = 0.23	ds $\chi^2 = 8.51$ , df= 3, p = 0.04
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 122.53$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 129.83$ , df= 11, p = 0.00
TDS	Inter-station	ns $\chi^2 = 6.31$ , df= 3, p = 0.09	ns $\chi^2 = 5.49$ , df= 3, p = 0.14
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 124.51$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 124.75$ , df= 11, p = 0.00
MES	Inter-station	ds $\chi^2 = 27.65$ , df= 3, p = 0.00	ns $\chi^2 = 1.81$ , df= 3, p = 0.61
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 100.37$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 82.74$ , df= 11, p = 0.00
Chl <i>a</i>	Inter-station	ds $\chi^2 = 8.53$ , df= 3, p = 0.04	ds $\chi^2 = 10.54$ , df= 3, p = 0.01
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 127.89$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 84.77$ , df= 11, p = 0.00
NO <sub>3</sub>	Inter-station	ns $\chi^2 = 2.21$ , df= 3, p = 0.53	ds $\chi^2 = 12.29$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 110.85$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 43.06$ , df= 11, p = 0.00
NO <sub>2</sub>	Inter-station	ds $\chi^2 = 9.97$ , df= 3, p = 0.01	ds $\chi^2 = 8.38$ , df= 3, p = 0.04
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 67.66$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 80.57$ , df= 11, p = 0.00
NH <sub>4</sub>	Inter-station	ds $\chi^2 = 29.92$ , df= 3, p = 0.00	ds $\chi^2 = 13.75$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 80.59$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 84.92$ , df= 11, p = 0.00
PO <sub>4</sub>	Inter-station	ns $\chi^2 = 2.62$ , df= 3, p = 0.45	ds $\chi^2 = 10.69$ , df= 3, p = 0.01
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 121.15$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 77.95$ , df= 11, p = 0.00
GT	Inter-station	ns $\chi^2 = 1.89$ , df= 3, p = 0.59	ds $\chi^2 = 9.16$ , df= 3, p = 0.01
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 95.28$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 126.02$ , df= 11, p = 0.00
CT	Inter-station	ns $\chi^2 = 6.86$ , df= 3, p = 0.07	ds $\chi^2 = 21.95$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 121.55$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 90.89$ , df= 11, p = 0.00
CF	Inter-station	ns $\chi^2 = 4.64$ , df= 3, p = 0.19	ds $\chi^2 = 19.85$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 120.15$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 94.24$ , df= 11, p = 0.00
EC	Inter-station	ns $\chi^2 = 7.49$ , df= 3, p = 0.06	ds $\chi^2 = 9.49$ , df= 3, p = 0.02
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 118.05$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 121.39$ , df= 11, p = 0.00
SF	Inter-station	ds $\chi^2 = 21.70$ , df= 3, p = 0.00	ds $\chi^2 = 13.89$ , df= 3, p = 0.00
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 73.87$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 93.47$ , df= 11, p = 0.00
ASR	Inter-station	ns $\chi^2 = 0.46$ , df= 3, p = 0.93	ds $\chi^2 = 9.11$ , df= 3, p = 0.03
	Inter-mois	ds $\chi^2 = 131.98$ , df= 11, p = 0.00	ds $\chi^2 = 166.81$ , df= 11, p = 0.00

d.s. indique une différence significative et n.s. une différence non significative à  $p < 0.05$ .

### III.3.2.2. Corrélation linéaire simple entre les variables biotiques et abiotiques

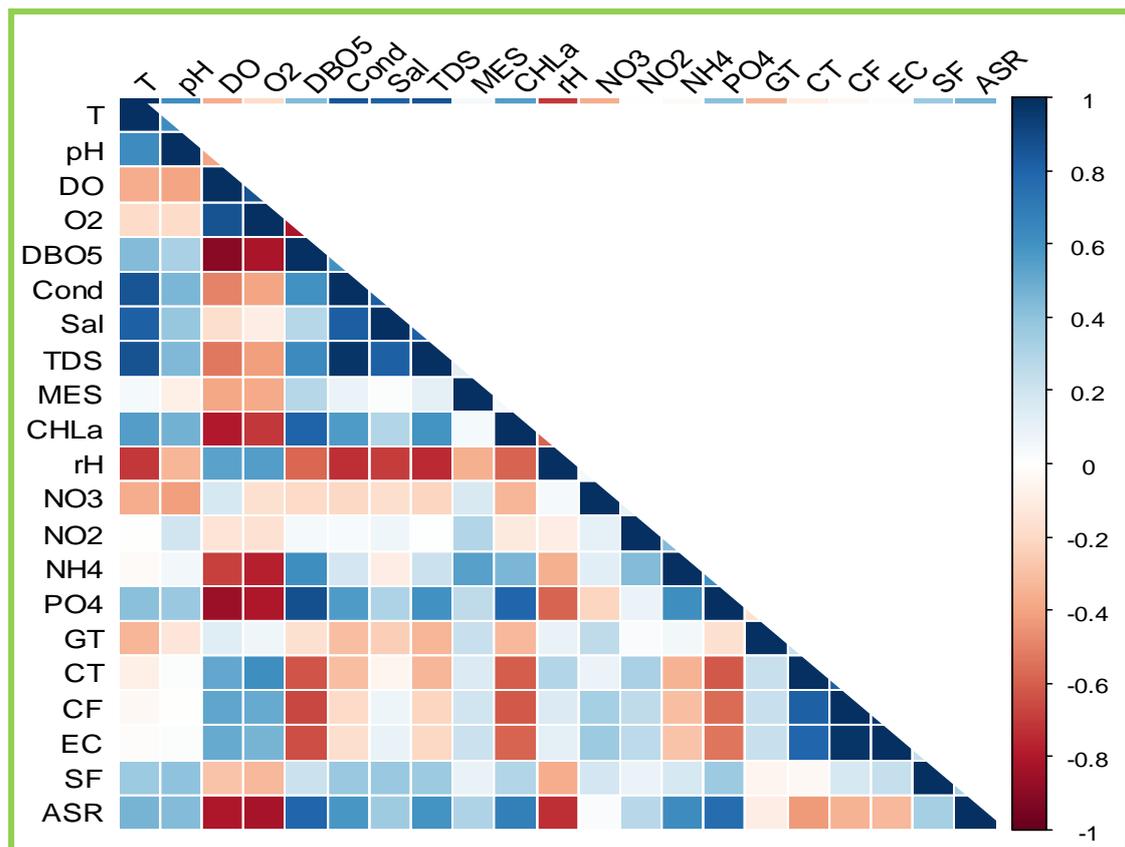
Nous avons calculé les coefficients de corrélations de Spearman entre les 21 paramètres pris deux à deux pour l'ensemble des quatre stations du canal Messida.

Les figures 62 et 63 résument les résultats de la matrice de corrélation (voir annexe III) du cycle '1' et du cycle '2' respectivement.

- L'examen de la figure 62, nous a permis de constater que :
  - La température est corrélée positivement avec la conductivité ( $rp = 0.71$ ), la salinité ( $rp = 0.82$ ), et TDS ( $rp = 0.87$ ).
  - Le potentiel redox est corrélée négativement avec la température ( $rp = -0.71$ ), la conductivité ( $rp = -0.73$ ), la salinité ( $rp = -0.70$ ), et TDS ( $rp = -0.75$ ). Une corrélation positive entre rH et l'oxygène dissous ( $rp = 0.53$ ) est à signaler. On peut envisager donc une diminution du rH dû à l'augmentation de la température et la minéralisation de l'eau. L'augmentation des concentrations de l'oxygène dissous nous paraît être une bonne hypothèse pour expliquer l'augmentation du rH.
  - La corrélation entre les MES et les autres paramètres est moyenne, avec des valeurs de  $rp$  comprises entre -0,39 et 0,55. Il est important de signaler que la corrélation avec la DBO<sub>5</sub> ( $rp = 0,28$ ) est faible. Nous remarquons aussi une corrélation négative entre MES et le DO ( $rp = -0.39$ ).
  - la teneur en NH<sub>4</sub> est positivement corrélée avec la concentration en DBO<sub>5</sub>, MES et NO<sub>2</sub> (respectivement  $rp = 0.61$ ,  $rp = 0.55$ ,  $rp = 0.43$ ) et négativement corrélée avec la DO et %O<sub>2</sub> (respectivement  $rp = -0.68$ ,  $rp = -0.78$ ).
  - Des corrélations positives sont rencontrées entre le PO<sub>4</sub> et le DBO<sub>5</sub> ( $rp = 0.87$ ), CHL *a* et la DBO<sub>5</sub> ( $rp = 0.80$ ), PO<sub>4</sub> et CHL *a* ( $rp = 0.79$ ). Les ASR sont positivement corrélées avec la concentration en DBO<sub>5</sub>, PO<sub>4</sub> et CHL *a*

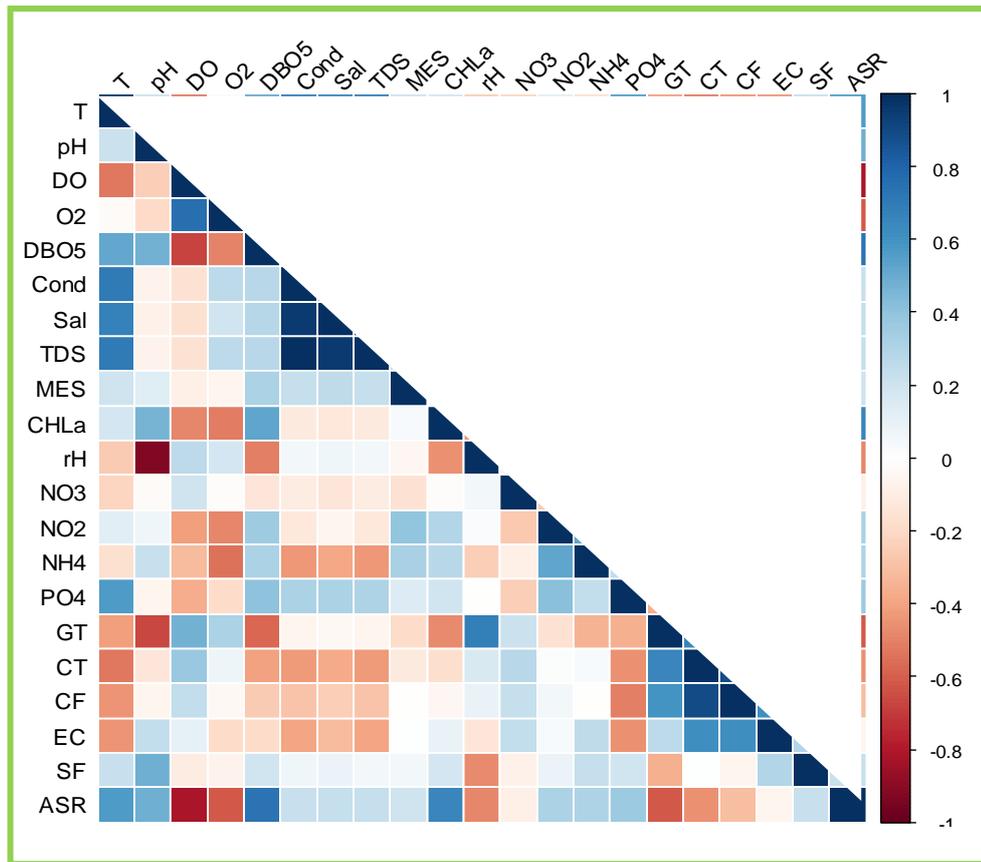
(respectivement  $r_p = 0.79$ ,  $r_p = 0.77$ ,  $r_p = 0.68$ ) et négativement corrélée avec la DO et %O<sub>2</sub> (respectivement  $r_p = -0.80$ ,  $r_p = -0.83$ ).

- Les CT, CF et EC sont corrélées positivement avec l'oxygène dissous ( $r_p = 0.51$ ,  $r_p = 0.53$ ,  $r_p = 0.51$  respectivement), et sont négativement corrélées avec DBO<sub>5</sub> ( $r_p = -0.63$ ,  $r_p = -0.67$ ,  $r_p = -0.64$  respectivement), avec CHL *a* ( $r_p = -0.61$ ,  $r_p = -0.61$ ,  $r_p = -0.59$  respectivement) et avec PO<sub>4</sub> ( $r_p = -0.61$ ,  $r_p = -0.56$ ,  $r_p = -0.54$  respectivement). Il est important de signaler que les GT, CF et EC sont moyennement corrélées avec NO<sub>3</sub> ( $r_p = 0.25$ ,  $r_p = 0.33$ ,  $r_p = 0.37$  respectivement) ce qui indique probablement une même origine.
- L'existence d'une corrélation positive entre les SF, d'un côté, et la température ( $r_p = 0.36$ ), le pH ( $r_p = 0.40$ ), la salinité ( $r_p = 0.38$ ), la conductivité ( $r_p = 0.37$ ) et les TDS ( $r_p = 0.37$ ) de l'autre, s'expliquerait par la résistance des SF aux conditions environnementales hostiles.
- des corrélations hautement positives sont rencontrées entre les concentrations en CT et CF ( $r_p = 0.82$ ), entre CT et EC ( $r_p = 0.80$ ) et entre CF et EC ( $r_p = 0.97$ ).



**Figure 62:** Corrélogramme présentant les corrélations entre les 21 paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida (cycle '1' : septembre 2010 – août 2011). Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.

- Le corrélogramme présentant les corrélations rencontrées durant le cycle '2' (Fig.63) nous permet de constater que les associations entre les différentes variables observées durant ce deuxième cycle sont pareilles à celle notées durant le cycle '1' avec toutefois des coefficients de corrélations plus au moins différents. Ceci s'expliquerait par le fait que les propriétés des eaux du canal peuvent être similaires durant les deux cycles d'échantillonnage.



**Figure 63:** Corrélogramme présentant les corrélations entre les 21 paramètres physicochimiques et bactériologiques des eaux du canal Messida (cycle '2' (septembre 2012 – août 2013)). Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.

### III.3.2.3. Analyse en composantes principales (ACP)

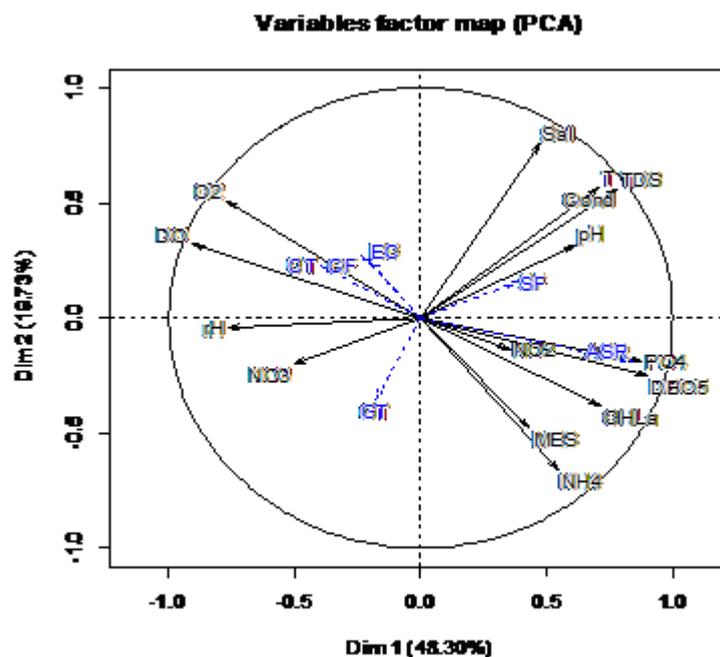
L'utilisation de l'analyse en composantes principales (ACP) comme approche préliminaire et exploratoire a permis de visualiser l'ensemble des stations et des mois (périodes de prélèvement) en fonction de vingt et une variables quantitatives physico-chimiques et bactériologiques (température (T), pH, oxygène dissous (DO), saturation en oxygène (O<sub>2</sub>), DBO<sub>5</sub>, potentiel redox (rH), conductivité (Cond), salinité (Sal), taux des sels dissous (TDS), chlorophylle a (CHLa), matière en suspension (MES), nitrate (NO<sub>3</sub>), nitrite (NO<sub>2</sub>), ammonium (NH<sub>4</sub>), orthophosphate (PO<sub>4</sub>), germes totaux (GT), coliformes totaux (CT), coliformes fécaux (CF), *Escherichia coli* (EC), streptocoques fécaux (SF) et les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) et de déterminer si d'éventuelles structurations et ressemblances spatiales et temporelles se détachent concernant l'évolution des paramètres biotiques et abiotiques.

Cette méthode descriptive permet de représenter également dans un espace à deux dimensions, les variables quantitatives biotiques et abiotiques caractérisant nos stations d'échantillonnage et nos périodes de prélèvement, en prenant en compte un maximum de leur variabilité.

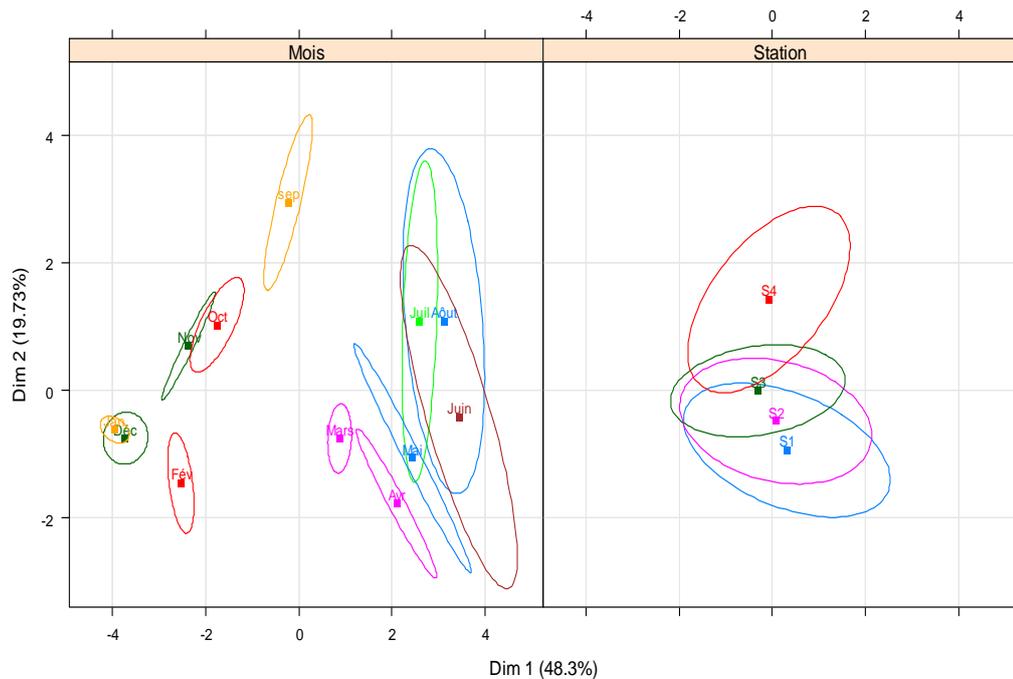
L'ACP a été utilisée aussi comme un outil de représentation des relations linéaires entre les variables biotiques et abiotiques. Les paramètres bactériologiques (GT, CT, CF, EC, SF et ASR) ont été additionnés comme des variables supplémentaires afin d'achever l'ACP par le package FactoMineR. L'ACP a été réalisée sur des données centrées-réduites (ACP normée).

- Cycle '1' (septembre 2010 – août 2011)

Les résultats de l'ACP obtenus sont résumés dans les figures suivantes (64 et 65) :



**Figure 64:** Cercle de corrélation des vingt-et-une variables biotiques et abiotiques déterminées durant le cycle '1' dans le canal Messida sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 48.3%, Dim 2 : 19.7%.



**Figure 65:** Projection des stations et des mois du cycle 1 sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 48.3%, Dim 2 : 19.73%.

Le plan factoriel des deux premiers axes principaux présente clairement une variation inter-stations et une variation inter-mois, dont les deux axes expliquent ensemble 68.03 % de cette variation totale.

Le premier axe explique 48.3 % de la variation totale; il est corrélé positivement avec les variables DBO5 ( $r = 0.89$  ;  $\cos^2 = 0.81$ ), PO4 ( $r = 0.88$  ;  $\cos^2 = 0.77$ ), ASR ( $r = 0.84$  ;  $\cos^2 = 0.71$ ), TDS ( $r = 0.78$  ;  $\cos^2 = 0.61$ ), Cond ( $r = 0.78$  ;  $\cos^2 = 0.61$ ), CHLa ( $r = 0.71$  ;  $\cos^2 = 0.51$ ), et température ( $r = 0.71$  ;  $\cos^2 = 0.5$ ); cet axe est, par ailleurs, faiblement corrélé avec le pH ( $r = 0.62$  ;  $\cos^2 = 0.4$ ) et SF ( $r = 0.38$  ;  $\cos^2 = 0.2$ ). Cet axe est négativement corrélé avec la DO ( $r = -0.91$  ;  $\cos^2 = 0.82$ ), %O2 ( $r = -0.77$  ;  $\cos^2 = 0.95$ ) et rH ( $r = -0.77$  ;  $\cos^2 = 0.59$ ). Ce premier axe a permis de regrouper les stations S1, S2 et S3.

Par ailleurs, il semblerait que la variable supplémentaire ASR soit corrélée positivement avec DBO5 et PO4. Le calcul du coefficient de corrélation non-paramétrique de Spearman montre que cette variable est corrélée positivement avec la DBO5 ( $r = 0.79$ ) et le PO4 ( $r = 0.77$ ), comme elle est corrélée négativement avec le DO ( $r = -0.80$ ), le %O2 ( $r = -0.83$ ) et rH ( $r = -0.73$ ). Dans la station S3, la présence des CT, CF et EC est influencée par les teneurs en oxygène. Il est important de signaler aussi que les GT sont influencés, dans une moindre mesure, par NO3.

En ce qui concerne la variation temporelle, l'axe 1 montre une différenciation claire entre le groupe des mois chauds (mars, avril, mai, juin, juillet et août) et les mois froids (octobre, novembre, décembre, janvier et février). Cette structure saisonnière est expliquée par la forte corrélation de cet axe avec les variables DBO5, PO4 et ASR et la forte corrélation négative avec l'oxygène dissous.

Quant au deuxième axe, il explique juste 19.73 % de la variation totale, il est construit essentiellement par la variable Sal ( $r = 0.76$  ;  $\cos^2 = 0.58$ ). Cet axe sépare la station S4 ( $\cos^2 = 0.81$ ) des autres stations du fait qu'elle se trouve en aval du canal près de la mer et qui est caractérisée par une salinité plus élevée. Cet axe permet de définir un gradient de minéralisation décroissant de l'aval vers l'amont ; il montre également l'effet positif de la salinité, pH et la température sur la présence des SF. Le calcul du coefficient de corrélation non-paramétrique de Spearman montre que la variable supplémentaire SF est corrélée positivement avec le pH ( $r = 0.4$ ), la salinité ( $r = 0.4$ ) et la température ( $r = 0.4$ ).

Cet axe est utilisé aussi pour identifier la spécificité du mois de septembre ( $\cos^2 = 0.78$ ) comparé avec les autres mois, ceci est expliqué par la corrélation positive de cet axe avec la salinité ( $r = 0.76$ ).

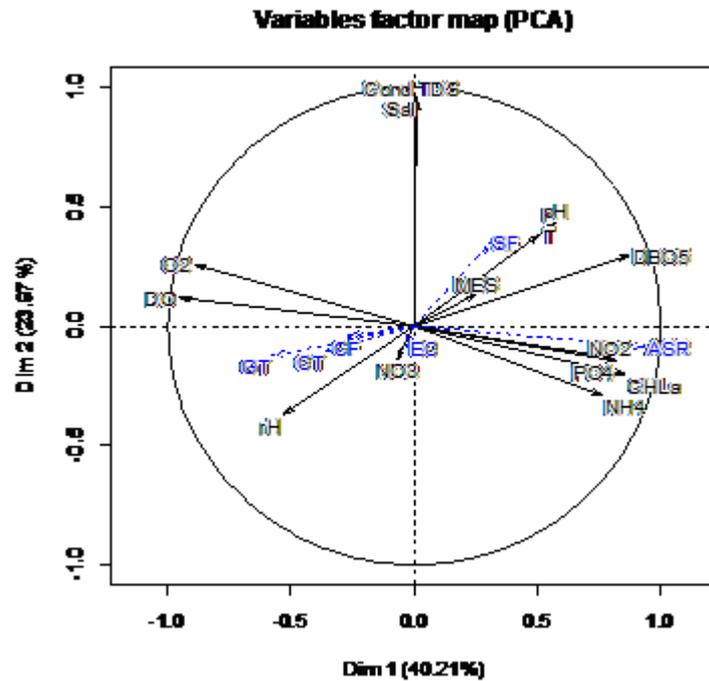
D'une manière générale, et selon le plan factoriel 1-2 de l'ACP du cycle 1, nous avons distingué :

- La zone sud du canal, comprenant deux stations S1 et S2, alimentées par les eaux du lac Tonga, riche en polluants bactériens et organiques ;
- La zone intermédiaire ou zone de transition, représentée par la station S3 riche en contaminants fécaux du fait qu'elle soit le siège d'activité agricole (élevage) ;
- La zone nord du canal comprenant la station S4, soumise à une nette influence marine, riche en particules minérales.

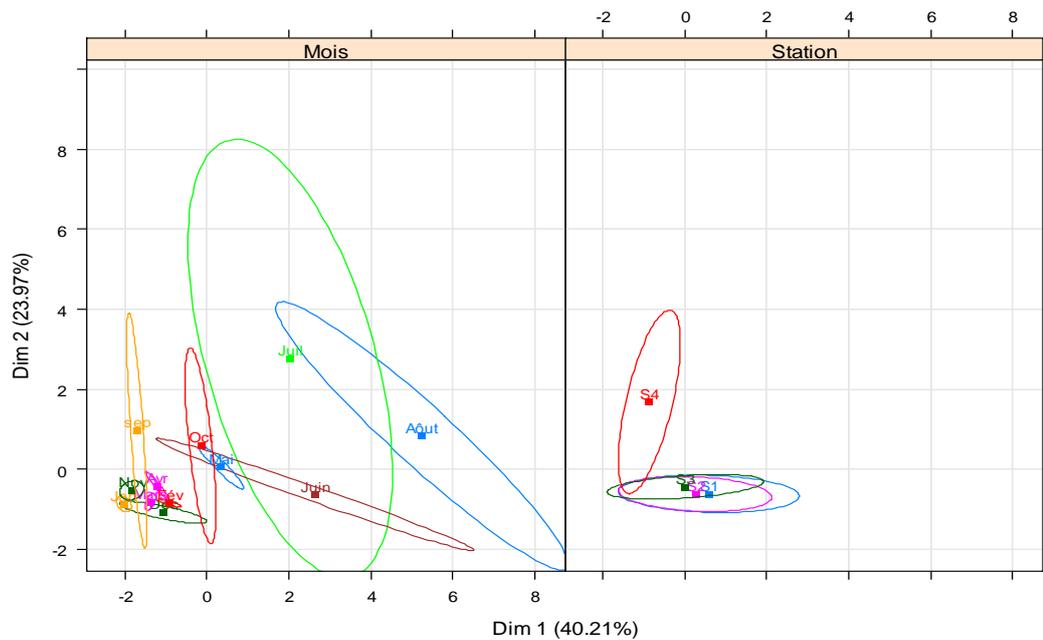
Selon la variation temporelle, l'ACP montre clairement qu'il existe deux périodes « chaude et froide » avec une variabilité intra-mois importante durant les mois d'août et de juin.

- Cycle '2' (septembre 2012 – août 2013)

Les résultats de l'ACP obtenus sont résumés dans les figures suivantes (66 et 67) :



**Figure 66:** Cercle de corrélation des vingt-et-une variables biotiques et abiotiques déterminées durant le cycle '2' dans le canal Messida sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 40.21%, Dim 2 : 23.97%.



**Figure 67:** Projection des stations et des mois du cycle '2' sur les deux premières composantes principales ; Dim 1 : 40.21%, Dim 2 : 23.97%.

Le plan factoriel des deux premiers axes principaux présente clairement une variation inter-stations et une variation inter-mois, dont les deux axes expliquent ensemble 64.18 % de cette variation totale.

Le premier axe est positivement corrélé avec les variables suivantes : ASR ( $r= 0.94$  ;  $\cos^2= 0.88$ ), DBO5 ( $r= 0.87$  ;  $\cos^2= 0.76$ ), CHLa ( $r= 0.86$  ;  $\cos^2= 0.74$ ), PO4 ( $r= 0.82$  ;  $\cos^2= 0.68$ ), NO2 ( $r= 0.79$  ;  $\cos^2= 0.63$ ), et NH4 ( $r= 0.76$  ;  $\cos^2= 0.58$ ). Les variables négativement corrélées à cette composante sont : DO ( $r= -0.95$  ;  $\cos^2= 0.9$ ), %O2 ( $r= -0.89$  ;  $\cos^2= 0.79$ ).

La deuxième composante est principalement corrélée positivement avec les variables : Cond ( $r= 0.96$  ;  $\cos^2= 0.92$ ), TDS ( $r= 0.96$  ;  $\cos^2= 0.92$ ), et Sal ( $r= 0.96$  ;  $\cos^2= 0.92$ ), elle est faiblement corrélée avec la variable SF ( $r= 0.35$  ;  $\cos^2= 0.12$ ).

Sur la CP1, nous pouvons dire que le groupe plus ou moins homogène des stations S1, S2 et S3 est caractérisé par des teneurs en contaminant fécaux, ASR, CHLa, NH4, PO4, DBO5, et NO2 plus élevées.

Par ailleurs, l'axe1 montre que les mois novembre, décembre, janvier, février, mars et avril sont caractérisés par une forte contamination fécale par rapport aux autres mois. Par contre les mois chauds (mai, juin et août) se caractérisent par des conditions anoxiques et des teneurs élevés en DBO5, ASR, et CHLa.

Il semble que les variables supplémentaires : GT, CT, CF sont corrélées avec DO. La variable EC est corrélée avec NO3, la variable SF est corrélée avec la température et le pH ; quant à la variable ASR, elle est corrélée avec DBO5, CHLa, PO4, NO2 et NH4.

En ce qui concerne l'axe 2, nous avons observé que la station S4 est caractérisée par une salinité, une conductivité et un taux en substances dissoutes élevées. Cet axe montre aussi la particularité du mois de juillet qui se singularise par une grande variation des paramètres Cond, TDS et Sal. Il est à noter que ces variables sont fortement corrélées entre elles.

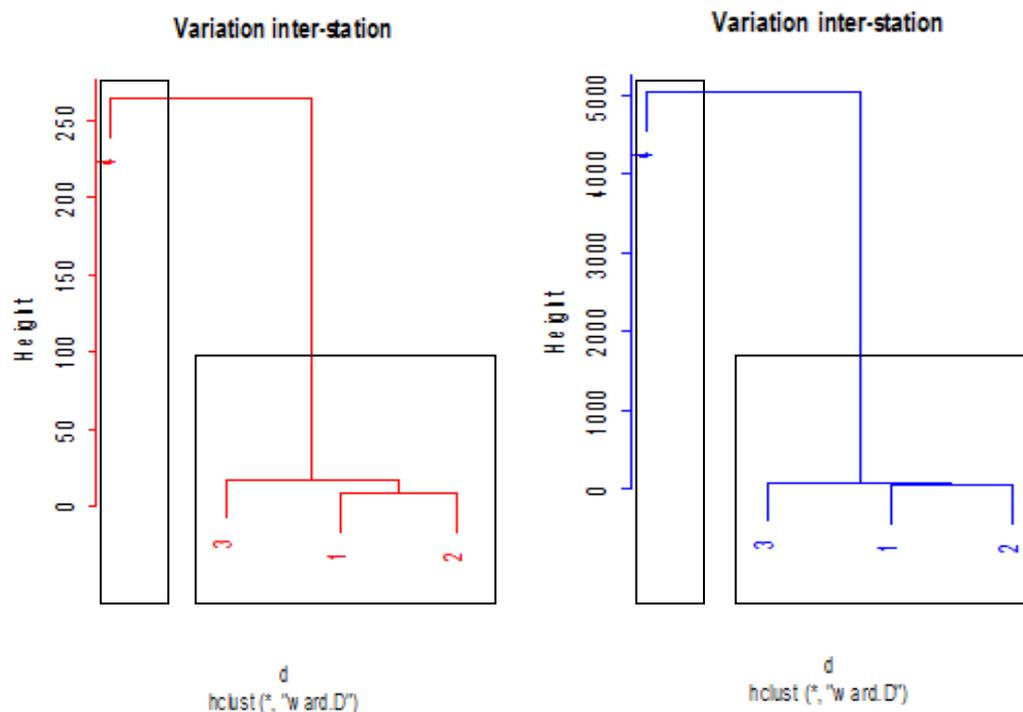
En conclusion, nous pouvons dire que le plan factoriel 1-2 de l'ACP du cycle '2 'montre que les stations S1, S2 et S3 se caractérisent par une forte pollution organique et bactérienne ; quant aux eaux de la station S4, elles se caractérisent par une minéralisation plus importante. En ce qui concerne la variation temporelle, l'analyse montre que les mois froids se caractérisent par une forte pollution bactérienne et les mois chauds par une forte pollution organique.

### III.3.2.4. Classification ascendante hiérarchique (CAH) de la variabilité inter-stations

La figure 68 montre les dendrogrammes issus de la CAH basée sur la variation inter-stations des paramètres biotiques et abiotiques mesurés durant les deux cycles d'échantillonnage.

L'examen de ce dendrogramme indique l'existence de deux clusters: le premier représenté par, seulement, la station S4 et le deuxième regroupe les stations S1, S2 et S3.

Les dendrogrammes obtenus par la CAH concordent avec les plans factoriels des ACP sur la variation des paramètres biotiques et abiotiques et la structuration de la variation inter-stations au niveau du canal Messida durant les deux cycles d'étude.



**Figure 68:** Classification ascendante hiérarchique de la variation inter-stations du canal Messida. En rouge : cycle '1' : septembre 2010 – août 2011 ; en bleu : cycle '2' : septembre 2012 – août 2013). Les stations sont indexées par leurs chiffres.

### III.4. Discussion

#### III.4.1. Paramètres physicochimiques

La température joue un rôle important dans l'augmentation de l'activité chimique, bactérienne et de l'évaporation des eaux ; Elle varie en fonction de la température extérieure (l'air), des saisons, de la nature géologique du sol et de la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sédiment (Rodier *et al.*, 2005). Nos résultats montrent, au niveau des quatre stations et durant les deux cycles d'échantillonnage, que la température varie en fonction des saisons (valeurs maximales en été et minimales en hiver) du fait de la sensibilité des eaux aux variations extérieures du degré thermique en raison de la faible profondeur du canal. La variabilité saisonnière de la température est liée, essentiellement, à la notion de temps, mais pas à celle de stations d'échantillonnage (test Kruskal-Wallis). Des observations similaires sont rapportées dans l'oued Boufekrane au Maroc (Chahlaoui, 1996) et la rivière Pardo au Brésil (Silva & Sacomani, 2001).

Les fortes corrélations de la température avec la salinité, la conductivité et les taux en sels dissous notées dans le cadre de cette étude s'expliqueraient par le fait que la température de l'eau conditionne la solubilité, en particulier, celle des gaz mais aussi celle des sels (Boeglin, 2000 ; Figarella & Leyral, 2002) ayant pour conséquences des variations de la conductivité, de la salinité et des TDS (DIB, 2009 ; Derwich, 2010).

Les eaux du canal sont alcalines (les médianes du pH des quatre stations varient de 8,15 à 8,4). En milieu naturel ou en zone agricole éloignée des sources de rejets industriels, le pH de l'eau dépend surtout de la nature géologique du bassin versant (Wetzel, 2001 ; Hade, 2002 ; CEAEQ, 2006). Les eaux naturelles ont un pH qui est aussi fonction des concentrations en gaz carbonique dissous et en hydrogénocarbonates (Boeglin, 2000). La riche végétation aquatique présente dans la partie sud du canal entrainerait une baisse de la teneur en CO<sub>2</sub> par photosynthèse et l'augmentation du pH. En période pluvieuse, les valeurs du pH sont proches de la neutralité du fait de la forte activité de décomposition de la matière organique par les bactéries (Ansa-Asare *et al.*, 1999; Neal *et al.*, 2000 a). Les valeurs élevées du pH relevées dans la station S4 seraient liées, à l'effet de l'eau de mer qui possède un pH naturellement basique (Rodier *et al.*, 2005) ; par ailleurs, l'augmentation du pH notée en période printanière s'expliquerait par la photosynthèse accrue liée à la forte activité micro algale.

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par *Bou Saabe et al. (2007)* et *Dovonou et al. (2011)* dans des eaux de surface.

Les valeurs du potentiel redox obtenues durant toute la période d'étude et au niveau des quatre stations indiquent que l'eau du canal est un milieu réduit (l'eau alcaline ionisée étant un agent antioxydant).

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées en période humide et les plus basses en période sèche. Cette baisse du potentiel redox serait liée à l'augmentation de la température qui favorise la décomposition, par les bactéries, des rejets organiques engendrant une baisse de la teneur en oxygène dissous de l'eau du canal (la quantité d'oxygène en solution dans une eau régit les réactions d'oxydoréduction) (*Michard, 1967*).

Les faibles valeurs de rH relevées dans les eaux des stations S1, S2 et S3 durant le cycle '1' seraient en relation avec le sol argileux qui caractérise cette zone ; la structure argileuse, de par sa richesse en matière organique empêcherait l'oxygénation. En revanche, dans la station S4, la structure sableuse du terrain serait en faveur de l'oxygénation de l'eau et l'augmentation des valeurs de rH ; selon *Michard (1967)* dans les eaux aérées, le seul couple redox présent en quantité appréciable est  $H_2O/ \frac{1}{2} O_2$ . Toutefois, durant le cycle '2', malgré la forte oxygénation des eaux de la station S4, nous obtenons de faibles valeurs de rH ; ce qui signifie que le potentiel redox serait en relation avec la présence de certains couples relativement très réducteurs (*Michard, 1967*). Cette diminution du potentiel redox serait en relation, d'une part, avec les nombreuses réactions d'oxydoréduction qui impliquent l'atome d'hydrogène dans le transfert d'électron (*Jaffrezik, 1997*) et d'autre part, avec l'augmentation de l'activité biologique engendrée par la hausse de la température (*Michalet, 1998*).

Durant les deux cycles d'échantillonnage, les teneurs en oxygène dissous enregistrées dans l'ensemble des stations, présentent une différence significative inter-station et inter-mois. Les valeurs les plus faibles (proche de l'anoxie en été du cycle '2') sont enregistrées dans la partie sud du canal pendant la période sèche (basses eaux). Ce déficit en oxygène est en relation avec les fortes températures de l'eau (l'effet du réchauffement sur la dissolution de l'oxygène), le niveau très bas des eaux et les fortes charges en matières. La dégradation des matières organiques fait appel à une importante demande biologique et chimique en oxygène (une forte corrélation négative entre DO et  $DBO_5$ ) ayant pour effet une diminution de la concentration en oxygène dans le milieu et une perturbation du cycle diurne de l'oxygène (*Barillier et al., 1993*). Les coefficients de Spearman (coefficient de corrélation non-

paramétrique) retrouvés confirment cette hypothèse ; il existerait, en effet, une corrélation positive entre le taux d'O<sub>2</sub>, la teneur en chlorophylle *a* et la teneur en orthophosphate. La diminution de DO et %O<sub>2</sub> traduit une nette dégradation de la qualité des eaux du canal, principalement dans la partie sud (S1 et S2), qui a pour conséquence une altération de l'activité biologique aquatique. Les eaux de la partie Nord du canal (S4) sont plus oxygénées du fait de l'hydrodynamisme qui y règne et des échanges avec la mer (Sacchi & Testard, 1971). En revanche, les fortes teneurs en oxygène dissous enregistrées en période humide sont dues à l'augmentation du débit des eaux du canal, au brassage de ces eaux, aux agitations mécaniques provoquées par les vents et les basses températures (Antoine & Bowker, 1996). Draredja (1992) rapporte que dans les eaux de surface la zone la mieux oxygénée est celle située sous l'influence marine. Dans les eaux de l'étang de Thau, les teneurs en oxygène dissous montrent des fluctuations variant entre 3,10 et 16 mg/l ; selon Laugier *et al.* (1999), ces variations seraient directement liées aux conditions climatiques locales ainsi qu'aux activités biologiques dont l'étang est le siège. Dans les eaux des rivières méditerranéennes des fluctuations de DO comparables aux nôtres sont signalées par Ben Moussa *et al.*, (2012), et Perrin *et al.*, (2014).

Le paramètre DBO<sub>5</sub> constitue un bon indicateur de la teneur en matières organiques biodégradables d'une eau au cours des procédés d'autoépuration.

En général, les variations des teneurs en DBO<sub>5</sub> dans les milieux aquatiques, sont souvent difficiles à interpréter, car elles sont le reflet d'une part de la quantité de la matière organique biodégradable polluante, et d'autre part de la nature de cette matière (Rajendran & Mansiya, 2015).

Dans le canal Messida, les valeurs de la DBO<sub>5</sub> sont élevées en période sèche et basses en période humide. Les fortes valeurs de DBO<sub>5</sub> seraient liées aux pollutions résultant des activités humaines (rejets des déchets), de la décomposition des matières d'origine animale ou végétale par les microorganismes dont l'activité s'intensifie avec l'augmentation de la température et la baisse de la vitesse d'écoulement des eaux. Cette activité, consommatrice d'oxygène, est à l'origine de l'autoépuration des eaux (Bremond & Perrodon, 1979). En période humide les eaux de pluie contribuent à la dilution de la charge organique des eaux du canal à l'origine de la baisse des valeurs de la DBO<sub>5</sub>.

L'oxydation de la matière organique n'est pas le seul phénomène en cause, il faut y ajouter l'oxydation des nitrites et des sels ammoniacaux ainsi que les besoins nés des phénomènes

d'assimilation et de formation de nouvelles cellules. Des variations sont aussi fonction des espèces de germes et leur concentration, de la présence de bactéries nitrifiantes et celle de protozoaires consommateurs d'oxygène qui se nourrissent de bactéries. Il est, cependant, admis qu'au cours de processus cataboliques, les réactions de décarboxylation, d'hydrolyse, d'hydratation, de dismutation ne se traduisent pas par une consommation d'oxygène ; toutefois, l'oxygène intramoléculaire peut être employé à des fins métaboliques ayant pour conséquence une minoration de l'oxygène mesuré (Rodier *et al.*, 2005).

Si on se réfère aux valeurs guides européennes admises (Rodier *et al.*, 2005), nous pouvons considérer les eaux du canal Messida, durant les deux cycles d'étude, comme acceptables en période hivernale et automnale ( $DBO_5 = 1-3 \text{ mgO}_2/\text{l}$ ) et douteuse ou anormale en période estivale ( $DBO_5 > 3 \text{ mgO}_2/\text{l}$ ).

Les eaux du canal présentent une salinité basse dans sa partie Sud et montrent ainsi l'absence d'infiltration de sels dans cette zone. Dans la partie Nord du canal, la salinité y est relativement assez élevée en période estivale du fait de l'importance des échanges avec la mer qui charrie de fortes quantités de matières minérales. Cette différence, entre la partie Sud et Nord du canal, serait en relation avec le degré de dénivellation du lit du canal qui montre une hausse du débit de l'eau après la station S3.

En effet, l'intervalle de variations de la salinité dans le canal Messida est plus faible par rapport à celui relevé dans l'estuaire de Yangtze (Zhang *et al.*, 2011) et dans l'estuaire de Modaomen (Gong & Shen, 2011).

La conductivité des eaux du canal Messida montre d'importantes fluctuations saisonnières ; durant le cycle '1', les valeurs sont élevées en été et en automne, basses en hiver et intermédiaires au printemps. Ces variations saisonnières s'expliqueraient par le phénomène de dilution que connaît le canal en période humide (Nassali *et al.*, 2005) et la forte évaporation et le faible débit de l'eau noté en période sèche (El Morhit *et al.*, 2008).

L'augmentation de la conductivité en période estivale serait favorisée par l'accélération du processus bactérien de la minéralisation de la matière organique (Silva & Sacomani, 2001) au niveau des stations S1, S2 et S3 et par les apports marins au niveau de la station S4.

Durant le cycle '2' nous notons une similitude dans l'évolution de la conductivité au niveau de toutes les stations à l'exception de la S4 où une augmentation de ce paramètre est relevée en automne (septembre et octobre) et en été (juillet, août). Ces fluctuations pourraient

être en relation avec l'alternance de mouvement des échanges entre le canal et la mer illustrés par le flot (mer-canal) et le jusant (canal-mer). Selon [Rodier et al. \(2005\)](#), la variation de la conductivité est induite par la présence, dans le milieu, d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique ; cette mobilité dépend de la nature des ions dissous (tels que les ions de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), de sodium ( $\text{Na}^+$ ), de chlorure ( $\text{Cl}^-$ ), des bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ), etc.) et de leurs concentrations. Compte tenu de la relation entre la conductivité et la minéralisation (voir annexe III) établie par [Detay \(1993\)](#), nous pouvons considérer que les eaux du canal Messida sont fortement minéralisées au niveau de la station S4, avec une minéralisation moyenne à importante au niveau des stations S1, S2 et S3.

Les substances solides dissoutes totales (TDS) sont par définition les sels minéraux, les matières organiques et d'autres matières dissoutes dans l'eau. En effet, en plus de la nature géologique des terrains lessivés, la charge des eaux de pluies, les eaux d'irrigation (chargés en fertilisants), les rejets domestiques peuvent modifier la composition et la teneur en TDS des eaux analysées ([US/EPA, 2001](#)).

Durant le cycle '1', les concentrations en TDS enregistrées dans les eaux des quatre stations montrent des variations inter-mois importantes ; nous notons, en effet, que les valeurs les plus élevées sont enregistrées en période sèche (maximum au niveau de la station S4 : 841mg/l) et les plus basses en période humide (minimum au niveau de la station S3 : 231 mg/l). L'augmentation des TDS reflète une augmentation en ions sodium ( $\text{Na}^+$ ), magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), chlorure ( $\text{Cl}^-$ ), sulfates et en hydrogénocarbonates après dissociation des sels ([Rodier et al., 2005](#)). En effet, l'évaporation de l'eau peut entraîner des transformations de la structure de certains sels: hydrogénocarbonate dissociés donnant des carbonates ou par cristallisation des sulfates avec un certain nombre de molécules d'eau.

Les taux des TDS relevés durant le cycle '2' sont élevés, surtout dans la station S4 où ils dépassent largement les normes internationales ( $> 1200$  mg/l) ([WHO, 2008](#)).

Le suivi de la cinétique des transferts des MES des rivières et des canaux au littoral récepteur permet de déterminer les changements qui affectent la configuration du proche littoral.

L'analyse des résultats obtenus montre que les eaux du canal Messida sont moins chargées en MES durant le cycle '2', après des travaux d'aménagement. Toutefois, durant les deux cycles, la quantité en MES relevée dans la partie Sud du canal est plus importante que celle notée

dans la partie Nord. Les teneurs élevées seraient en relation avec la nature du terrain (boueux) et la faible profondeur de la zone sans oublier la présence des déchets d'origine humaine et animale. La teneur moyenne la plus faible (36.4 mg/l) est enregistrée dans la station S4 car dans cette partie du canal le terrain est sableux et la quantité de matière organique en décomposition n'est pas très importante.

Au cours de la période d'étude, les teneurs en MES présentent des fluctuations saisonnières ; les eaux apparaissent plus chargées en MES en été et en automne du fait de l'augmentation du phénomène de lessivage des sols et de la faible profondeur du canal; quant à la baisse de la charge en MES notée en hiver et au printemps elle s'expliquerait par le phénomène de dilution engendré par les crues (Neal *et al.*, 2000). Contrairement aux études sur d'autres cours d'eau (Aboukacem, 2007; Karrouch, 2010 ; Ben Moussa *et al.*, 2012), nos résultats indiquent que les teneurs en MES sont dépendant du niveau d'eau.

Le calcul du coefficient de corrélation de Spearman révèle l'existence d'une corrélation positive faible entre les MES et la DBO<sub>5</sub> ( $rp = 0.28$ ), cela signifie qu'il n'y a pas que de la matière organique, il est possible que des éléments extérieurs tels que l'arrivée de matière minérale ou de sable (acheminé probablement lors d'une forte pluie et/ou par les apports marins) représente une fraction des MES (Roche international, 2000).

Le contenu en chlorophylle constitue une mesure sensible de la quantité d'organismes photosynthétiques et d'algues et, en ce sens, du degré d'eutrophisation de l'eau.

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans la partie Sud du canal pendant la période printanière (pour le cycle '1') et estivale (pour le cycle '2') ; cette situation témoigne de la prolifération de certaines espèces phytoplanctoniques et d'une production importante d'algues à partir de l'énergie du rayonnement solaire, des éléments nutritifs (azote et phosphore) apportés par les engrais. Les faibles teneurs enregistrées en période hivernale et automnale seraient en relation avec les basses températures et la dilution qui affectent les communautés phytoplanctoniques (Garcia De Emiliani, 1997; Huszar & Reynolds, 1997).

La mesure de la concentration en chlorophylle fournit un bon indice du niveau d'eutrophisation ; selon les valeurs des seuils de l'état trophique des plans d'eau (Galvez-Cloutier, 2002), les eaux du canal seraient oligotrophe ( $< 2.5 \mu\text{g/l}$ ) durant l'hiver du cycle '1', eutrophe (8 - 25  $\mu\text{g/l}$ ) durant l'automne des deux cycles d'étude et hypereutrophe ( $> 25 \mu\text{g/l}$ ) au printemps du cycle '1' et l'hiver, le printemps et l'été du cycle '2'.

L'azote en milieu aquatique existe sous trois formes : inorganique (NID), organique dissous et particulaire organique et détritique. Le NID est formé par l'ammonium ( $\text{NH}_4$ ), les nitrates ( $\text{NO}_3$ ) et nitrites ( $\text{NO}_2$ ). L'azote organique dissous (NOD) est composé essentiellement de l'urée, des acides aminés dissous libres, des acides aminés dissous complexes, des protéines, des acides nucléiques et leurs dérivés, des enzymes et des acides humiques (Le Gal, 1989). En milieu aquatique, le NOD provient du métabolisme des micro-organismes, de la lyse des cellules, de la décomposition de la matière organique et des eaux de pluie (Meybeck, 1982). Il est utilisé par les bactéries comme source d'azote et régénéré sous forme minérale (NID) assimilable par les végétaux.

Le suivi des teneurs en  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ , et  $\text{NO}_2$  est souvent systématique dans les programmes de surveillance de la qualité générale des eaux (Aminot & Kérouel, 2004), car ces éléments jouent un rôle crucial dans l'eutrophisation des eaux côtières (Howarth & Marino, 2006).

Les teneurs en nitrates enregistrées dans les eaux du canal Messida sont élevées pendant la période humide du cycle '1' ; la présence d'un pic (3.87 mg/l) dans la station S2, aurait pour origine l'usage des engrais chimiques dans la pépinière qui longe le canal combiné à la bonne oxygénation des eaux relevée à cette même période. Les teneurs en nitrates montrent les valeurs les plus basses en période automnale (novembre), du fait de la dénitrification (transforme les nitrates en azote gazeux qui s'échappe alors vers l'atmosphère) et à la consommation bactérienne (Weigner *et al.*, 2006; Purvina *et al.*, 2010).

Durant le cycle '2', les concentrations en nitrates des eaux du canal montrent, d'une station à l'autre, des fluctuations importantes en relation avec les activités anthropiques (épandage d'engrais et élevage du bétail). Les faibles valeurs enregistrées en été dans la station S1 s'expliqueraient par la réduction de l'oxydation des nitrites en nitrates du fait de la faible teneur oxygène dissous enregistrée durant la même période.

Dans les eaux naturelles non polluées, le taux de nitrate est variable suivant la saison et l'origine des eaux ; Il peut varier de 1 à 15 mg/l et de même une concentration de 2 ou 3 mg/l, peut être considérée comme normale (Rodier *et al.*, 2005).

Dans les eaux naturelles les nitrites sont présents à de faibles teneurs ; ils représentent une fraction du NID de l'ordre de 10% (Aminot & Chaussepied, 1983). Ils proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammonium (la nitrification n'étant pas conduite à son terme), soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action de dénitrification ou de minéralisation.

Durant le cycle '1', les eaux du canal montrent une hausse des teneurs en  $\text{NO}_2$  en période estivale dans la station S1. Cette augmentation serait en relation avec les phénomènes de dégradation de la matière organique (plancton mort, rejets métaboliques, excréments des poissons) dans des conditions généralement anoxiques. Il est, en effet, rapporté que les sédiments constituent une importante réserve de matière organique et de sels nutritifs notamment dans le cas des eaux peu profondes car la matière organique n'a pas le temps de se minéraliser avant son dépôt (Aminot & Chaussepied, 1983).

Durant le cycle '2', le  $\text{NO}_2$  atteint les valeurs les plus élevées en octobre (dans les stations S3 et S4), en juin (dans les stations S1 et S2) et en août (dans les stations S1, S2 et S3); Ces fortes teneurs en nitrites seraient principalement liées aux activités d'élevage extensif (S1, S3) et la pépinière de Tonga (S2). Le pic observé dans la station S4 pourrait être associé à une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante des bactéries (Rodier *et al.*, 2005). La chute des concentrations en nitrites du mois de juillet (dans les stations S1 et S2) s'expliquerait par l'absence d'une pollution par cet élément, car selon Rodier *et al.* (2005), en l'absence de pollution, il n'y a pas ou très peu de nitrites dans les eaux, les teneurs se maintiennent à des niveaux très faibles ( $0.01 \text{ mg NO}_2/\text{l}$ ).

Les concentrations annuelles en nitrites enregistrées dans les eaux du canal Messida dépassent les valeurs guides requises pour la vie aquatique ( $0,01 \text{ mg/l}$ ) les rendant ainsi mauvaise qualité (Sebilotte, 1994 ; J.O.U.E, 2006).

Les résultats du dosage de l'ion ammonium dans les eaux du canal montrent des différences d'une station à l'autre. Les concentrations maximales sont enregistrées en été, durant les deux cycles, dans la partie Sud du canal. Cette augmentation semble représenter un indicateur de pollution microbiologique (Rodier *et al.*, 2005; Ladjel, 2009).

La mise en évidence de pics en ammonium à différentes périodes de l'année et au niveau de différentes stations auraient pour origine une contamination récente par les matières organiques en décomposition; ceci est conforté par les résultats de la corrélation non-paramétrique de Spearman qui a révélé l'existence d'une corrélation positive entre  $\text{NH}_4$  et  $\text{DBO}_5$  durant les deux cycles d'échantillonnage. Les faibles teneurs en ammonium enregistrées dans la partie Nord du canal (S4), durant toute la période d'étude, s'expliqueraient par le transfert rapide de la forme ammonium vers les nitrites et les nitrates par oxydation. Les fortes teneurs en  $\text{O}_2$  enregistrées dans la station S4 favoriseraient la décroissance de la concentration en ammonium dans l'eau; généralement la présence de  $\text{NH}_4$ ,

et  $\text{NO}_2$  dépend des conditions d'anaérobiose puisque en milieu faiblement oxygéné l' $\text{NH}_4$  domine par suite de la réduction des nitrates en nitrites (Seyni, 2006).

Il est important de souligner que les eaux du canal Messida se caractérisent par de faibles fluctuations des teneurs en sels nutritifs. En effet, à l'échelle du bassin, le type de sol, l'occupation du sol et la nature topographique du paysage contrôlent le flux de nutriments vers le canal Messida. Une fois dans le canal, le comportement des nutriments est déterminé par la combinaison de plusieurs variables : paramètres physico-chimiques ( $T^\circ$ , pH,  $\text{O}_2$ ...) de l'eau et des sédiments, les paramètres hydrauliques (débit, hauteur d'eau), et les polluants (Baldwin & Mitchell, 2000). Nos observations sont confortées par ceux de Bianchi *et al.* (2003) et ceux de Bernadi-Aubry & Acri (2004) qui signalent les variations faibles des teneurs en azote inorganique dans des écosystèmes méditerranéens.

Le phosphore présent dans les cours d'eau peut être subdivisé en fraction dissoute ( $< 0,45\mu\text{m}$ ) inorganique formée par les orthophosphates et polyphosphates inorganiques, et une fraction organique, à l'état colloïdal. La présence d'éléments phosphorés dans l'eau est liée à la nature des terrains traversés et à la décomposition de la matière organique. Selon Rodier *et al.* (2005), les eaux courantes contenant plus de  $0,3 \text{ mg PO}_4/\text{l}$ , peuvent y retenir un caractère marqué d'eutrophisation et divers risques de nuisances.

Les eaux du canal Messida analysées durant le premier cycle d'échantillonnage présentent pour l'ensemble des quatre stations, un taux en orthophosphates largement élevé qui dépasse le plus souvent les limites citées précédemment. Ces teneurs élevées auraient pour origine le lessivage des terres cultivées enrichies en engrais phosphatés ou traitées par certains pesticides ; elles peuvent être, selon Rodier *et al.*, (2005), le résultat d'une pollution par des eaux vannes (riches en phosphates organiques et des détergents synthétiques) combinée aux eaux de ruissellement qui charrient des quantités importantes de matières organiques. Ceci est conforté par le résultat de la corrélation de Spearman qui montre l'existence d'un coefficient de corrélation assez élevé ( $r_p = 0,87$ ) avec la  $\text{DBO}_5$ .

Dans les eaux de surface, le  $\text{PO}_4$  est un facteur limitant ; son excès induit durant les périodes de réchauffement des eaux (début printemps, été, automne) l'eutrophisation du milieu ; ce phénomène d'eutrophisation favoriserait une croissance accrue des végétaux supérieurs, des algues (chlorophycées, pyrophytes), des diatomées et des cyanobactéries accompagnée le plus souvent de production de toxines (Levi, 2007).

Les analyses statistiques des données obtenues durant le cycle '1' font apparaître l'existence de fortes corrélations négatives entre le  $PO_4$  et le DO ( $rp = - 0.86$ ), et de fortes corrélations positives entre  $PO_4$  et la chlorophylle  $a$  ( $rp = 0.79$ ). Les eaux du canal peuvent donc contribuer substantiellement à l'augmentation des apports en nutriments vers la mer, qui pourraient entraîner de sévères situations d'eutrophisation de l'écosystème côtier (Cloern, 2001; Seitzinger *et al.*, 2005).

Les faibles concentrations enregistrées en décembre et en janvier auraient pour origine le phénomène de dilution et la forte oxygénation liée à l'hydrodynamisme et les basses températures de l'eau à cette période de l'année (relation inverse  $PO_4 - DO$ , ( $rp = - 0.86$ ).

Durant le cycle '2', les eaux du canal contiennent des teneurs en orthophosphates dépassant quelques fois 0,3 mg /l en automne (dans les stations S1, S2 et S4) et en été (dans les stations S1, S2 et S3). Les valeurs maximales relevées au niveau des stations S1, S2 et S3 seraient étroitement liées aux apports du lac Tonga et de la pépinière ainsi que le lessivage des zones de pâturage. Les faibles corrélations observées entre le  $PO_4$  et les autres paramètres soulignent l'importance des facteurs externes dans l'évolution de la fertilité du milieu durant le deuxième cycle d'échantillonnage.

Les teneurs moyennes en orthophosphates obtenues dans le cadre de cette étude sont largement supérieures aux valeurs enregistrées par Carpentier (2000) dans le canal de Seclin (0.2 à 1 mg/l).

#### III.4.2. Paramètres bactériologiques

- **Germes totaux**

Les germes totaux ou la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est seulement un indicateur microbiologique qui nous permet d'évaluer la charge bactérienne globale présente dans les eaux étudiées. Le suivi de l'évolution de ces germes dans le canal Messida a montré que cet écosystème aquatique est exposé à des sources de contamination permanentes.

La détection récurrente d'une flore bactérienne totale importante dans toutes les stations ne s'expliquerait que par l'existence d'une connexion importante du canal avec un compartiment ayant une activité bactérienne importante.

Durant les deux cycles d'échantillonnages, les taux des GT les plus élevés sont obtenus pendant les périodes humides ; c'est en janvier que les charges maximales sont notées ( $7.28 \log_{10} (GT/100 \text{ ml})$  dans la station S1 et  $5.85 \log_{10} (GT /100 \text{ ml})$  dans la station S3 durant

le cycle '1' et le cycle '2' respectivement). Ceci ne peut être expliqué que par les activités humaine et animale dont le bassin versant du lac Tonga est le siège.

Les germes totaux enregistrent les valeurs moyennes les plus faibles au niveau de la station S4 ( $0.64 \log_{10} (GT/100 \text{ ml})$ ) durant le cycle '1' ; cette station se caractérise par des teneurs en sel très importantes à l'origine de stress pour les bactéries de pollution (Chedad & Assobhei, 2007 ; N'diaye *et al.*, 2009 ; Bennani *et al.*, 2012).

Durant le cycle '2', la faible charge en GT enregistrée au niveau de la station S2 ( $0.57 \log_{10} (GT /100 \text{ ml})$ ) s'expliquerait par les conditions de stress, où la croissance bactérienne est fortement réduite voire stoppée avec, le cas échéant, l'entrée des cellules en phase de dormance, d'une part, et l'inaptitude des cellules bactériennes à se développer sur les milieux de culture sélectifs utilisés pour leur numération, d'autre part.

- **Bactéries témoins de contamination fécale**

Les bactéries témoins de contamination fécale sont de bons indicateurs de pollutions d'origine humaine ou animale.

Les coliformes totaux (CT) sont considérés comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale (Leyralet *et al.*, 2002). La pertinence de ce groupe comme indicateur est aujourd'hui fortement contestée du fait que toutes les espèces incluses dans les CT ne sont pas spécifiques de la flore intestinale des animaux à sang chaud. En effet, certaines espèces sont d'origine tellurique ou aquatique et sont capables de se développer dans l'environnement aquatique (Tallon *et al.*, 2005). En revanche, la présence de coliformes totaux peut indiquer la présence de coliformes fécaux, indicateurs classiques de pollution fécale (WHO, 2008).

Le suivi de l'évolution de ces indicateurs montre que le canal Messida est fortement contaminé. Les charges les plus faibles enregistrées durant le cycle '1' et '2' ( $5.16 \log_{10} (CT/100 \text{ ml})$  dans S4,  $4.98 \log_{10} (CT/100 \text{ ml})$  dans S2 respectivement) dépassent largement les valeurs guides relatives à la qualité bactériologique des eaux superficielles destinées à l'irrigation ( $3 \log_{10}(CT/100 \text{ ml})$ ) (Réglementation Française, 1991) et à celles des eaux superficielles destinées à l'approvisionnement en eau potable ( $4.7 \log_{10} (CT /100 \text{ ml})$ ) (J.O.R.A, 2014).

Durant le cycle '1', la densité des CT est presque la même dans les quatre stations, les analyses statistiques (test Kruskal-Wallis) confirment l'absence de différences entre les

stations, en revanche, des différences significatives entre les mois existent. Durant le deuxième cycle, le suivi de l'évolution spatio-temporelle des densités des CT a fait apparaître l'existence d'une variabilité inter-mois et inter-stations. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lippet *et al.* (2001) et Chigbu *et al.* (2005). Toutefois, Rosenfeld *et al.* (2006) ont montré que la variabilité temporelle ou spatiale des charges en coliformes dans les eaux varie en fonction de facteurs environnementaux comme la température, la salinité, la concentration en nutriments, la prédation, le rayonnement solaire, la coagulation, la floculation et la présence des produits toxiques.

Les coliformes fécaux (CF) ou thermotolérants constituent un sous-groupe des CT capables de se développer à 44°C, ils sont considérés comme « plus appropriés » que les CT pour être des indicateurs de contamination fécale (Tallon *et al.*, 2005).

*E. coli* est considérée classiquement comme l'une des rares espèces de ce groupe, présente de façon spécifique dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud et des êtres humains ; elle est fortement excrétée dans les matières fécales (environ  $10^7$  par gramme de matière sèche chez les bovins et  $10^5$  à  $10^9$  chez l'homme) et semble ne survivre que de façon transitoire dans l'environnement. Ces caractéristiques font d'*E. coli* un indicateur idéal de la contamination fécale (Garcia-Armisen, 2005).

Les résultats de l'étude de la répartition spatio-temporelle des coliformes fécaux dans les eaux du canal Messida durant les deux cycles d'échantillonnage montrent que la période hivernale se caractérise par les teneurs les plus élevées en coliformes fécaux (CF) et en *E.coli* (EC) ( $5.9 \log_{10}$  (CF/100 ml) et  $5.82 \log_{10}$  (EC/100 ml) pendant le cycle '1' et  $5.53 \log_{10}$  (CF/100 ml) et  $5.29 \log_{10}$  (EC/100 ml) durant le cycle '2').

Il ressort de ces résultats, que le temps de pluie véhicule au canal une pollution bactériologique fécale importante. De nombreux auteurs ont démontré l'existence de corrélation positive entre les précipitations et le niveau de la pollution fécale (Crowther *et al.*, 2001; Noble *et al.*, 2003a,b ; He & He, 2008; Meredith & Whitman, 2011; Chaturongkasumrit *et al.*, 2013). Selon Aalderink *et al.* (1990), les concentrations en coliformes fécaux seraient proportionnelles au débit ou à l'intensité de la pluie.

D'après les études de Van Donsel *et al.* (1967), en hiver, l'absence de rayonnement solaire (ombrage) aurait un effet positif sur la survie des microorganismes. Ce constat, qui concerne autant les coliformes fécaux que les streptocoques fécaux, peut s'expliquer par le fait que les

bactéries apprécient un taux d'humidité assez élevé et une faible exposition aux UV (les rayons solaires, par le biais de leurs ultra-violet, agissent sur l'ADN des bactéries).

Les coliformes fécaux et *E.coli* montrent une évolution spatiale analogue durant les deux cycles d'échantillonnage ; les valeurs moyennes annuelles les plus élevées sont enregistrées au niveau de la station S 3 ( $5.86 \log_{10} (CF/100 \text{ ml})$  et  $5.82 \log_{10} (EC/100 \text{ ml})$  pendant le cycle '1' et  $5.45 \log_{10} (CF/100 \text{ ml})$  et  $5.13 \log_{10} (EC/100 \text{ ml})$  durant le cycle '2'). Comme le rapportent Crowther *et al.* (2002) et Hubbard *et al.* (2004) les matières fécales émises par les bovins et les ovins peuvent être à l'origine d'une contamination directe des eaux ; ce qui semble être le cas de cette partie du canal qui abritent des troupeaux de bovins et ovins qui utilisent cette zone comme abreuvoir, comme zone de pâturage et comme voie d'accès aux berges.

La survie des coliformes fécaux et d'*E.coli* dans les cours d'eau, dépend aussi de la nature du fond ; le temps de demi-vie des coliformes fécaux est d'environ 30 jours dans un sol sableux, et dépasse 200 jours dans un sol argileux (Majdoub *et al.*, 2003). La station S3 se caractérise par un fond argileux et serait ainsi favorable à la survie des contaminants fécaux. Les bactéries fécales, en se fixant sur l'argile, seraient protégées des prédateurs, notamment des protozoaires. Selon Michel *et al.*, (2000), les sols argileux retiennent mieux l'eau, les nutriments et tamponnent mieux les variations de pH.

Les pics de coliformes fécaux et d'*E. coli* observés au niveau de la station S4 en août du cycle '1', auraient pour origine des pollutions ponctuelles probablement liées à la présence de nombreux estivants et l'absence de réseau d'assainissement adéquat dans cette région.

une corrélation hautement positive est rencontrée entre les concentrations en CF, EC et les CT, ce qui est tout à fait normal dans les eaux polluées par les matières fécales (Saliba *et al.*, 2003).

Les streptocoques fécaux (SF) sont considérés comme de bons indicateurs de pollution ; ils sont aussi utilisés comme indicateurs d'efficacité de traitement, car ils sont nettement plus résistants que les coliformes et autres entérobactéries pathogènes (Leyral *et al.* 2002). Les analyses bactériologiques effectuées sur les échantillons d'eau du canal Messida montrent des taux élevés de SF dans les quatre stations durant les deux cycles d'échantillonnage. La comparaison des médianes montre des différences significatives inter-stations et inter-mois.

Les charges en SF atteignent leurs valeurs maximales au mois d'août du cycle '2' ( $5.4 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$ ) et en janvier et en juillet du cycle '1' ( $4.88 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$ ). Les valeurs minimales sont enregistrées en décembre du cycle '1' et du cycle '2' (respectivement  $4.22 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$  et  $4.17 \log_{10} SF/100 \text{ ml}$ ).

La forte présence des SF en période estivale s'expliquerait par leurs meilleurs taux de survie dans les eaux à température élevées (Sinton & Donnison, 1994). En effet, de nombreux auteurs rapportent qu'après leur introduction dans un milieu aquatique naturel, les SF sont effectivement capables de survivre à des conditions défavorables telles que la limitation en nutriments, le stress osmotique, de fortes températures et des variations de pH et de salinité ainsi que face à de multiples prédateurs (Oliver *et al.*, 1995 ; Rozen & Belkin, 2001 ; Noble *et al.*, 2004 ; van Elsas *et al.*, 2011 ; Blaustein *et al.*, 2013).

La diminution des charges en SF pendant la période hivernale serait liée à la fragilité de certaines espèces de ce groupe bactérien aux basses températures ; Des espèces, dominantes chez le bétail, telles que *Streptococcus bovis* et *Streptococcus equinus* disparaissent totalement en 24 heures à une température de 10 à 20°C (Haslay & Leclerc, 1993 ; Rodier *et al.*, 2005).

La variation spatiale de la concentration en SF montre que les eaux en S3 sont les plus contaminées durant le cycle '1' (valeur moyenne annuelle =  $4.73 \log_{10} (SF/100 \text{ ml})$ ), et les eaux en S4 sont les plus contaminées durant le cycle '2' (valeur moyenne annuelle =  $4.64 \log_{10}(SF/100 \text{ ml})$ ). Ces contaminations auraient pour origine des sources ponctuelles de pollution, telles que les excréments d'animaux dans la station S3 (bétail) et humains dans la station S4 (estivants).

Les Anaérobies Sulfito-Réducteurs sont des germes capables de sporuler et de se maintenir longtemps dans l'eau ; ce sont donc les témoins d'une pollution ancienne (George & Servais, 2003).

Les résultats de l'étude de l'évolution spatio-temporelle des charges en micro-organismes Anaérobies Sulfito-Réducteurs montrent l'existence de fluctuations d'une station à l'autre ; ce qui selon Rejsek (2002) indiquerait que ces stations sont exposés à une contamination par une flore bactérienne étrangère ou bien par une contamination tellurique. La présence de ces germes durant les périodes de basses eaux (printemps et été) pourrait s'expliquer, d'une part, par leur développement dans des milieux privés d'oxygène ou à potentiel d'oxydoréduction très bas, et d'autre part, par leur résistance au stress environnemental en particulier aux radiations solaires (Henze *et al.*, 2008).

L'absence totale de ces bactéries durant les périodes de hautes eaux aurait pour origine soit l'absence effective de ces bactéries, soit la présence de quantités très importantes d'oxygène et de coliformes fécaux qui ont tendance à les supplanter.

Par ailleurs, il est rapporté que des bactéries anaérobies sulfito-réductrices peuvent présenter certaines activités mais sont incapables de se multiplier en culture (Pruzzo *et al.*, 2002; Maalej *et al.*, 2004). Ce qui revient à rechercher à quantifier ces germes intitulés 'bactéries non cultivables' par d'autres méthodes permettant d'évaluer l'activité ou la viabilité de ces bactéries telles que la mesure des activités métaboliques (comme l'utilisation d'un substrat ou la synthèse de protéines), la détection d'une activité respiratoire ou d'une activité enzymatique ou encore la détection de synthèse d'ARN (Joux & Lebaron, 2000; Keer & Birch, 2003).

Le test  $\chi^2$  est un test statistique qui permet de déterminer s'il existe une différence significative entre des distributions de pourcentages dans le cas d'échantillons indépendants.

L'application de ce test a montré qu'il existe une dépendance significative entre la distribution des groupes bactériens dénombrés et les stations suivies ( $\chi^2 = 54949.04$ ,  $df = 15$ ,  $p < 2.2 \times 10^{-16}$  pour le cycle '1' ;  $\chi^2 = 12340.64$ ,  $df = 15$ ,  $p < 2.2 \times 10^{-16}$  pour le cycle '2'). Plusieurs auteurs admettent que la dynamique est différente selon le site et l'espèce bactérienne considéré (Hunter *et al.*, 1999 ; Lee & Bang, 2000 ; Crowther *et al.*, 2003).

Il est important de noter qu'à l'exutoire d'un bassin versant, la dynamique des bactéries dépend ainsi des caractéristiques du bassin c'est-à-dire de la morphologie, des pratiques agricoles, de la localisation des sources de pollution, mais aussi du comportement hydrologique du bassin. A cela s'ajoute la complexité des interactions entre les différentes espèces bactériennes et de leurs prédateurs (Garcia-Armisen, 2006).

Les analyses statistiques des paramètres bactériologiques des eaux du canal Messida montrent que la pollution présente une différence significative inter-mois et inter-stations (cette dernière est très marquée durant le deuxième cycle d'échantillonnage).

L'analyse en composante principale a confirmé qu'en amont (partie Sud), les eaux du canal Messida se caractérisent par une forte pollution bactérienne pendant la période de crue, alors qu'en aval (partie Nord), les eaux du canal se caractérisent par une contamination plus faible. Les périodes d'étiage se caractérisent par une pollution fécale moins importante que celle observée en périodes de crues.

La forte contamination bactérienne de l'amont du canal, confirme l'impact de l'activité agricole et les rejets domestiques qui se déversent dans le lac Tonga. Par ailleurs, la faible contamination bactérienne de la partie aval du canal résulterait de l'impact de la salinité car selon *Elsas et al., (2010)*, *E. coli* peut en effet entrer en dormance consécutivement à son transit dans un milieu hostile, et en particulier s'il présente une salinité élevée.

Il est signalé que les conditions hydrologiques seraient un facteur important dans la dynamique bactérienne à l'exutoire d'un bassin versant. Dans leur transfert des zones sources à l'exutoire d'un bassin versant, les bactéries subissent des cycles successifs d'accumulation et de transport : durant les périodes "sèches", les bactéries sont stockées dans différents compartiments (couche superficielle du sol, fissures, sédiments du lit et des berges) où vont se produire des processus de dégradation (mortalité ou prédation) ou de croissance. Il est démontré que les périodes de hautes eaux et les crues entraînent une augmentation des flux de bactéries fécales (*Irvine et Pettibone, 1996 ; Schiff et Kinney, 2001 ; Nagels et al., 2002*).

#### **III.4.3. Typologie spatio-temporelle et influence des facteurs environnementaux sur les paramètres bactériologiques du milieu**

Dans le but de visualiser et d'analyser les corrélations existantes entre les différentes variables à travers leurs structurations et leurs orientations, d'identifier les principaux facteurs responsables de la qualité des eaux du canal Messida et de voir les similitudes entre les mois de prélèvement et les stations d'échantillonnage, nous avons statistiquement traité l'ensemble des données par l'Analyse en Composantes Principales (ACP). Cette méthode statistique multidimensionnelle descriptive utilisable comme outil d'aide à l'interprétation d'une matrice de données, permet de synthétiser et de classer un nombre important de données afin d'en extraire les principaux facteurs qui sont à l'origine de l'évolution simultanée des variables et de leurs relations propres (*Mudry, 1997 ; Yidana, 2007*).

L'analyse globale des ACP des deux cycles d'échantillonnage permet de définir une typologie dominée par l'individualisation de deux groupes de stations. Le premier groupe comprend les stations situées en amont du site d'étude (S1 à S3) caractérisées par une pollution domestique importante particulièrement pendant la période sèche où les stations se trouvent plus chargées en polluants organiques conduisant à des concentrations faibles en oxygène dissous. Par ailleurs, ces stations se caractérisent par une importante pollution bactérienne pendant la période humide. La station S3 apparaît la plus contaminée par les indicateurs fécaux du fait qu'elle soit proche d'une zone de pâturage. Le deuxième groupe est représenté par la station S4, sous influence marine, qui se caractérise par une pollution moins

importante par rapport aux autres stations ; l'entrée de l'eau de mer (chargée en sels) favoriserait le phénomène de dispersion et de transport éolien des particules et des polluants susceptibles d'altérer la qualité de l'eau dans cette zone.

Selon l'axe 1 de l'ACP du premier cycle d'échantillonnage (48.3%) et du deuxième cycle d'échantillonnage (40.21%) de l'ACP du deuxième cycle d'échantillonnage, les eaux de l'amont du canal (S1 et S2) se caractérisent par des teneurs élevées en ASR, SF, PO4, et DBO5 qui sont d'une part des indicateurs de contamination bactérienne ancienne (ASR) et récente (SF) et d'autre part des indicateurs de contamination organique (DBO5, PO4).

Les deuxièmes composantes de l'ACP (19.73 % pour le cycle '1' et 23.97 % pour le cycle '2'), sont associées à la salinité, la conductivité et le taux en sels dissous. Il singularise la station S4 située en aval du canal et définit un axe de pollution par les particules minérales naturelles charriées par les eaux de mer lors du flot et du jusant.

En ce qui concerne la variation inter-mois, les ACP des deux cycles d'échantillonnage montre deux groupements de relevées. Le premier regroupe les mois chauds et secs qui se caractérisent par une forte contamination organique causée, tout d'abord, par la pression anthropique qui induit une augmentation de la matière organique dans l'eau à laquelle est combiné le faible hydrodynamisme des eaux du canal (Despins *et al.*, 2009). Le second groupe est formé par les mois froids qui se caractérisent par une bonne oxygénation et une forte contamination bactérienne suite aux phénomènes des crues qui charrient tous les polluants du lac Tonga vers le canal Messida surtout dans la partie amont de la zone d'étude (S1 à S3) d'une part, et aux activités agricoles pratiquées sur les rives du canal (rejets de la pépinière (S2) ; zone de pâturage (S3)).

Les résultats de l'ACP indiquent que les principales variables qui contribuent à l'apparition des ASR dans les eaux analysées sont la DBO5, le PO4 et la chlorophylle *a*. Ceci s'expliquerait par le fait que les ASR sont sensibles aux conditions d'aérobioses et elles ont une plus grande capacité à survivre dans les eaux eutrophes (l'accumulation des polluants organiques d'origine domestique ou agricole contribue à une chute sensible de l'oxygénation du milieu aquatique), ces bactéries répondent rapidement à l'enrichissement nutritif et elles sont isolées à partir d'eaux douces polluées et non polluées (Haller, 2011).

Il apparaît clairement que les indicateurs de contaminations d'origine fécale sont inter-corrélés et relativement découplés de la densité en bactéries sulfito-réductrices. Ceci peut s'expliquer par le fait que les bactéries sulfito-réductrices retrouvées dans l'eau ne sont pas

toutes des indicatrices de contaminations fécales. En effet, il apparaît que *Clostridium perfringens* est l'indicateur approprié et non les bactéries sulfite-réductrices (Ashbolt *et al.*, 2001).

Dans la station S4, les streptocoques fécaux présentent également un comportement distinct des autres indicateurs fécaux. Elles sont corrélées positivement avec la température, le pH et la salinité contrairement aux CF et EC.

Il est signalé que les températures élevées favorisent la survie des SF, en revanche, elles ont un effet négatif sur les CF (Aslan-Yilmaz, 2004; Santon *et al.*, 2007; Blaustein *et al.*, 2013). En conditions froides, les possibilités de survie des organismes d'origine fécale sont en outre liées aux capacités de nutrition des populations microbiennes, en relation avec la teneur en matière organique des sols (Elsas *et al.*, 2011).

Une fois dans l'environnement, la survie plus élevée des bactéries du genre *Streptococcus* comparée à celle d'*E. coli* s'explique par leur meilleure aptitude à surmonter des stress environnementaux (oligotrophie, salinité, température) (Rozen & Belkin, 2001 ; Elsas *et al.*, 2011). Dans le même contexte, d'après Vansteelant (2004), l'exposition violente et quotidienne aux UV détruit immédiatement 50% des *E. coli*.

Bordalo *et al.* (2002), ont constaté que les streptocoques fécaux ont une tolérance à la salinité des eaux marines ce qui permet de les utiliser comme indicateurs de pollution fécale dans l'environnement marin. Ainsi, Chigbu *et al.*, (2005), a montré que la dynamique des contaminants fécaux dans les eaux côtières est fonction de nombreux facteurs, tels que la disponibilité des nutriments, la température, la salinité, la turbidité, le degré de mélange de l'eau, le rayonnement solaire, la prédation, la compétition, le transport et les pertes bactériennes dues à la mort ou la sédimentation.

Le pH de l'eau joue également un rôle dans la survie des microorganismes fécaux. Cet effet est connu depuis longtemps ; selon Turonnet (1999), les pH acides et les pH extrêmes diminuent la survie des streptocoques et des coliformes fécaux. Nos résultats montrent que les teneurs en streptocoques fécaux sont corrélées positivement avec les pH enregistrés dans les eaux du canal Messida ; ceci est conforté par les résultats rapportés par Chigbu *et al.* (2005) et Garrido-Perez *et al.* (2008).

Des corrélations sont observées entre la distribution des CT, CF et EC et celle de l'oxygène et du potentiel redox surtout en période humide. Selon Majdoub *et al.* (2003), la survie

des microorganismes d'origine fécale est favorisée par temps humide et froid ; par ailleurs, une eau froide contient une plus grande quantité d'oxygène dissous qu'une eau chaude (Hébert & Légaré, 2000).

Les résultats statistiques (ACP et coefficients de corrélations de Spearman), montrent l'existence d'une corrélation positive entre les niveaux de pollution bactériologique (*E.coli* et GT) et les teneurs en nitrates. Les nitrates proviendraient du lessivage des surfaces agricoles (Gourdol *et al.*, 2010), des processus de dénitrification, des dépôts atmosphériques et des précipitations (Osborne & Wiley, 1988 ; Haycock *et al.*, 1993). Mais il faut signaler que les nitrates et les microorganismes ne subissent pas l'influence des mêmes facteurs, même si une augmentation de l'écoulement hydrique a un impact sur tous les deux. Selon Knox & Canter, (1996), les nitrates peuvent être éliminés plus ou moins efficacement en fonction de l'occupation du sol de la zone contributive qui influence les sources prises en compte. Par ailleurs, une autre source de contamination fécale dépendant, dans une moindre mesure, de l'augmentation des apports hydriques peut être envisagée.

En conclusion, l'application de la méthode exploratoire multivariée ACP a permis d'identifier les paramètres les plus importants qui décrivent la qualité des eaux du canal Messida. Elle a donc montré que la variabilité de la qualité des eaux étudiées dépendait de deux facteurs : les polluants issus des activités agricoles et des déchets solides qui sont éparpillés sur les rives du cours d'eau, le facteur saison avec tous les aléas qui l'accompagnent et l'impact des activités anthropiques.

#### III.4.4. Flore aquicole et germes pathogènes

La contamination des eaux de surface par des bactéries pathogènes (obligatoires ou opportunistes) est actuellement la source majeure de nombreuses maladies hydriques, surtout dans les pays en voie de développement (Tao *et al.*, 2010).

L'analyse microbiologique des eaux du canal Messida montre que cet écosystème aquatique se caractérise par une forte contamination fécale. D'après Egli & Fuchslin (2005), la présence des traceurs de contamination fécale confirmerait la présence des pathogènes.

Dans le cadre de cette étude les entérobactéries représentent 81,1% des germes isolés, avec une prédominance d'*Escherichia coli* (21.95 %), suivie de *Klebsiella oxytoca* (17.1%), *Citrobacter freundii* (14.63 %), *Serratia marcescens* (12.2 %), et *Proteus vulgaris* (7.32 %).

Un pourcentage de 7.9 % est représenté par 12 autres espèces différentes. Ces fréquences sont très proches de celle rapportées dans divers travaux portant sur des eaux de rivières par *Tao et al.* (2010) en Chine et par *Garcia-Armisen et al.* (2013) en France.

La prévalence élevée des entérobactéries rencontrées dans les eaux du canal pourrait s'expliquer par le fait que la distribution de ces bactéries dans la nature est néanmoins plus large ; elles se retrouvent notamment chez les végétaux, dans l'environnement (sol et eau) et dans la flore digestive de l'homme et des animaux (*Wawire et al.*, 2013).

*E. coli* reste la bactérie entérique la plus abondante dans les eaux contaminées par les matières fécales des animaux à sang chaud et de l'homme (*Tenaillon et al.*, 2010). Depuis ces 10 dernières années, l'environnement est de plus en plus incriminé dans les épidémies causées par *E.coli*. Les épidémies d'origine hydrique sont généralement associées à la consommation d'eau de boisson (provenant de puits, de sources privées ou de réseaux de distribution d'eau non traitée) ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades (*Vernozy & Roze*, 2003 ; *Texier*, 2008).

Un nombre relativement important de *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* et *Proteus vulgaris* a été isolé ; ces pathogènes opportunistes sont impliqués dans différentes infections humaines et animales (*Peduzzi et al.*, 1994 ; *Pepperell et al.* 2002 ; *Brisse & van Duijkeren*, 2005 ; *Kao et al.* 2010).

Il est très important de noter que la présence de *Salmonella* Typhimurium et *Yersinia enterocolitica* peut entraîner des risques sanitaires potentiels suite à la consommation de fruits et légumes irrigués par les eaux étudiées (*Micallef et al.*, 2012).

Le genre *Vibrio* fait partie des bactéries autochtones des milieux aquatiques ; il vit en saprophyte dans les eaux douces, les vases et les boues (*Raoult*, 1998). Connu comme pathogène humain, ce groupe est aussi impliqué dans les infections d'organismes marins tels que les mollusques et les poissons (*Gay*, 2004).

Une seule souche de *Vibrio cholerae* a été isolée à partir des eaux de la station S1 pendant le mois de juin ; la présence de cette espèce pourrait s'expliquer par la pression croissante induite par l'homme sur la zone d'étude et par l'adaptation de cette espèce aux conditions du milieu. *Fischer-le Saux et al.*(2002) ont montré que les *Vibrio* ont une plasticité génétique et phénotypique qui leur permet de s'adapter rapidement aux nouvelles conditions environnementales. Par ailleurs, selon *Halpern et al.* (2006), *Vibrio cholerae* peut avoir

comme réservoirs, des copépodes, des plantes aquatiques et des insectes chironomides. Seules les souches *V.cholerae* O1 et O139 sont les agents du choléra qui selon l'OMS (2010) reste l'une des grandes préoccupations de santé publique dans les pays en développement ; selon Fournier & Quilici (2002), les souches de *V. cholerae* non-O1 et non-O139 peuvent également être pathogènes ; elles sont responsables de gastro-entérites et sont fortement présentes dans le réservoir environnemental hydrique. Plusieurs études ont montré la présence de *V. cholerae* dans les eaux de surface (Ghosh *et al.*, 1994 ; Choopun *et al.*, 2002 ; Alam *et al.*, 2006 ; Bakhshi *et al.*, 2009, Wenpeng Gu *et al.*, 2014).

Nos résultats montrent la présence d'un taux important (14.63%) d'*Aeromonas hydrophila* ; ce taux est plus élevé que celui signalé par Mete *et al.* (2002) en Turquie (2.4 %). En revanche, à Istanbul Midilli (1998) note un taux plus élevé (87.7 %). La présence d'*A. hydrophila* dans les eaux du canal Messida pourrait s'expliquer par son caractère ubiquitaire ; il est très répandu dans des habitats naturels comme le sol, l'eau fraîche, saumâtre et les eaux marines. C'est un pathogène opportuniste, impliqué dans des infections sévères humaines et animales (poisson) (Janda & Abbott 2010). Une étude réalisée par Vally *et al.*, (2004), a confirmé qu'*A. hydrophila* est responsable d'une infection cutanée associée à l'exposition des blessures aux eaux de rivières contaminées.

La famille de *Pseudomonadaceae* représente 1.83 % des souches isolées à partir des eaux du canal Messida ; deux espèces ont été isolées *P.aeruginosa* (4 souches) et *P. fluorescens* (2 souches). Ce sont des bactéries ubiquistes souvent isolées dans les eaux (douces, polluées ou non, stagnantes, courantes ou eaux de mer) mais également dans les sols, sur des végétaux, des poussières en suspension dans l'air (Terrier *et al.*, 1992). Les caractéristiques majeures justifiant la présence de ces bactéries dans tous les écosystèmes terrestres et aquatiques naturels sont la prototrophie, la polyvalence métabolique, la plasticité du génome et la capacité d'adaptation aux différentes formes de stress (des composés physiques, chimiques et antibactériens) (Mena & Gerba, 2009 ; Palleroni, 2010).

Ces deux espèces sont à l'origine de nombreuses pathologies ; les sources de contamination sont multiples, cependant l'eau est le plus souvent incriminée (Trautmann *et al.*, 2005). Altinok *et al.* (2006) et Sakar & Azza (2008) ont rapporté que *P.aeruginosa* et *P. fluorescens* sont également responsables de septicémies chez les poissons.

La recherche de l'espèce pathogène *Staphylococcus aureus* a révélé l'existence de cette bactérie au niveau de la station S3 (près d'une zone de pâturage) pendant le mois de juin- 2011; les conditions abiotiques des eaux étudiées durant la période estivale, pourrait expliquer la présence de *St. aureus* qui est une bactérie a une affinité aux milieux alcalins et une capacité de résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation, les variations de température et le choc osmotique (salinité de l'eau) (Green, 2004). *St. aureus* est à la fois un germe commensal et un agent pathogène majeur de l'homme ; ce germe est impliqué dans des pathologies variées comme les staphylococcies cutanéomuqueuses qui représentent l'expression la plus courante des infections à staphylocoque (Palomares *et al.*, 2003).

En conclusion, nous pouvons dire que les eaux du canal Messida contiennent un nombre important de bactéries pathogènes pour l'homme et pour les organismes aquatiques en particulier, les poissons tels que : *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholerae*. La présence de ces bactéries peut poser de sérieux problèmes qui seraient encore plus graves si ces bactéries présentaient une résistance aux agents antibactériens.

### III.5. Qualité bactériologique du poisson *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758)

#### III.5.1. Examen macroscopique du poisson

Les résultats de l'examen externe des poissons (P % : Prévalence des poissons atteints) capturés sont représentés dans le tableau 16.

**Tableau 16:** Prévalences des lésions externes du carassin *Carassius carassius* peuplant le canal Messida

Période de prélèvement	Station	Nombre de poissons examinés	Prévalence de poissons atteints (%)	Lésions	Perturbation*	Qualité de l'eau et de l'habitat*
Novembre	S1	35	14.29	E	Moyenne	Médiocre
	S2	30	10	N	Moyenne	Médiocre
	S3	30	13.33	H, E	Moyenne	Médiocre
	S4	37	8.11	N	Moyenne	Médiocre
Décembre	S1	40	10	E	Moyenne	Médiocre
	S2	37	8.11	E	Moyenne	Médiocre
	S3	45	24.44	H, E, N	Forte	Mauvaise
	S4	50	12	H, E	Moyenne	Médiocre
Janvier	S1	34	23.53	H, E	Forte	Mauvaise
	S2	30	13.33	E	Moyenne	Médiocre
	S3	42	19.05	N, E	Moyenne	Médiocre
	S4	53	9.43	N, H	Moyenne	Médiocre
Février	S1	33	12.12	E	Moyenne	Médiocre
	S2	32	6.25	H, E, N	Moyenne	Médiocre
	S3	42	21.43	N	Forte	Mauvaise
	S4	40	12.5	E	Moyenne	Médiocre
Mars	S1	38	18.42	E	Moyenne	Médiocre
	S2	34	8.82	H	Moyenne	Médiocre
	S3	45	11.11	H, E	Moyenne	Médiocre
	S4	43	6.98	E	Moyenne	Médiocre
Avril	S1	33	9.1	E	Moyenne	Médiocre
	S2	31	6.45	N	Moyenne	Médiocre
	S3	40	22.5	H, N	Forte	Mauvaise
	S4	44	13.64	N	Moyenne	Médiocre
Mai	S1	40	22.5	E, H, N	Forte	Mauvaise
	S2	42	11.9	E, N	Moyenne	Médiocre
	S3	40	22.5	H, E	Forte	Mauvaise
	S4	45	13.33	H, E	Moyenne	Médiocre

H : hémorragie, E : érosion, N : nécrose.

\* : elles sont déterminées selon la méthodologie « Code pathologique » (Girard, 1998).

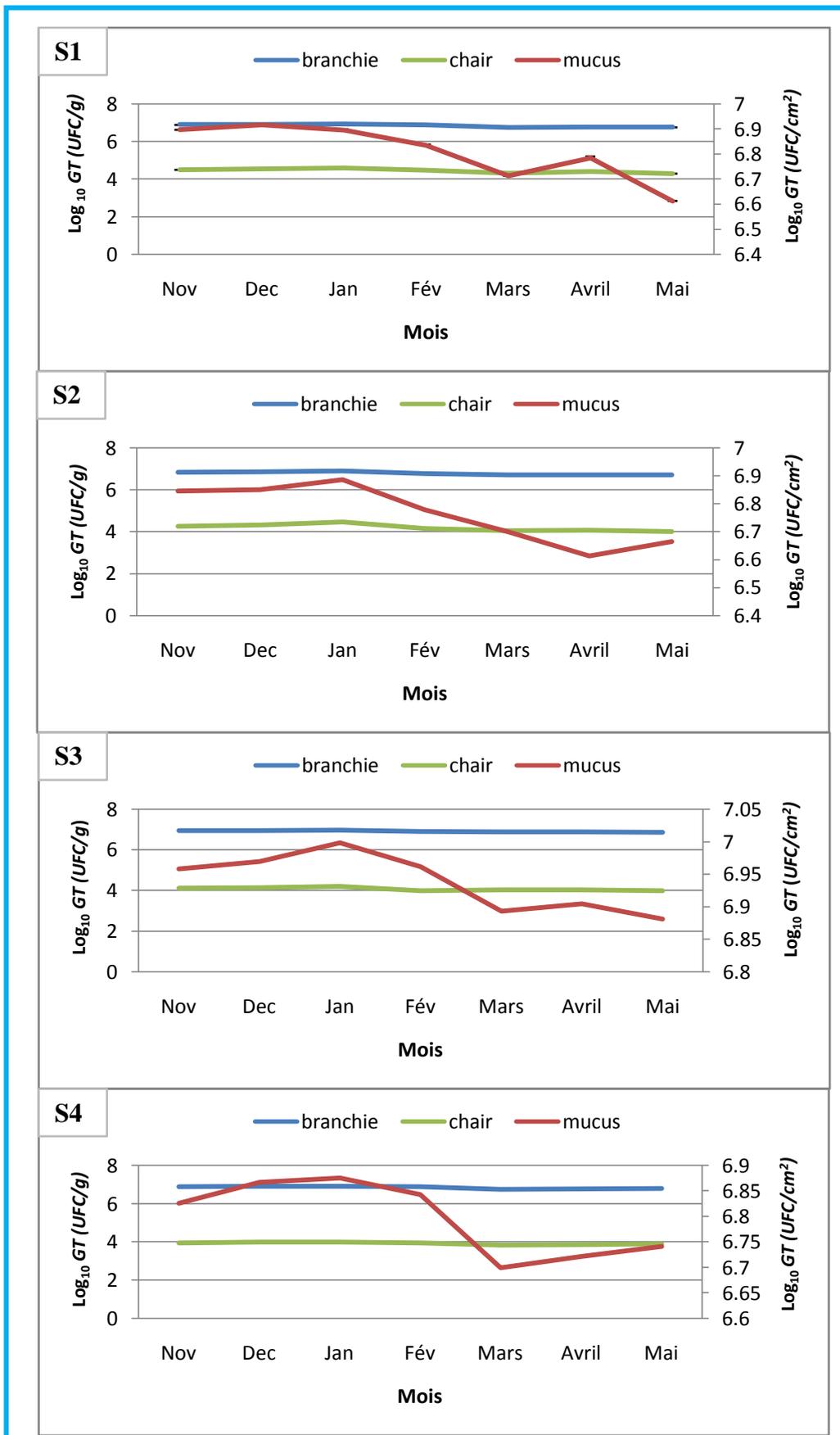
La prévalence globale (P%) de poissons atteints de lésions externes (Hémorragie, érosion, et nécrose) est égale à 14.04%. Nous notons que les valeurs de P les plus élevées sont enregistrées au niveau de la station S3 durant les mois de décembre, février, avril et mai. Toutefois, la station S1 se caractérise par des valeurs de P élevées pendant les mois de janvier et mai (Tableau.16). La qualité de l'eau et de l'habitat est mauvaise durant les mois et les stations cités ci-dessus et médiocre durant le reste de la période d'étude (Tableau.16).

### **III.5.2. Flore cultivable hétérotrophe mésophile chez le carassin**

Les résultats du dénombrement de la flore cultivable ou germes totaux (GT) (à 37°C) au niveau des branchies, mucus et la chair des poissons pêchés au niveau des quatre stations de prélèvement (S1, S2, S3 et S4) durant notre période d'étude sont illustrés dans la figure 69.

L'examen comparatif de la totalité des résultats de dénombrement de GT montre qu'en générale les valeurs maximales de cette flore sont notées pendant la période pluvieuse (décembre et janvier) sur les parties qui sont en contact direct avec l'eau : les branchies et le mucus. Des valeurs dépassant  $9.9 \text{ Log}_{10} \text{ GT (UFC/g et/ou UFC/cm}^2\text{)}$  sont enregistrées au niveau des stations S1 et S3.

Par ailleurs, la partie du corps du poisson la moins chargée en GT est la chair, mais elle présente néanmoins des valeurs importantes (Fig.69), ce qui confirme sa mauvaise qualité bactériologique. La valeur maximale ( $4.6 \text{ Log}_{10} \text{ GT (UFC/g)}$ ) est enregistrée dans la station S1 pendant le mois de janvier.



**Figure 69:** Distribution des germes totaux chez le carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

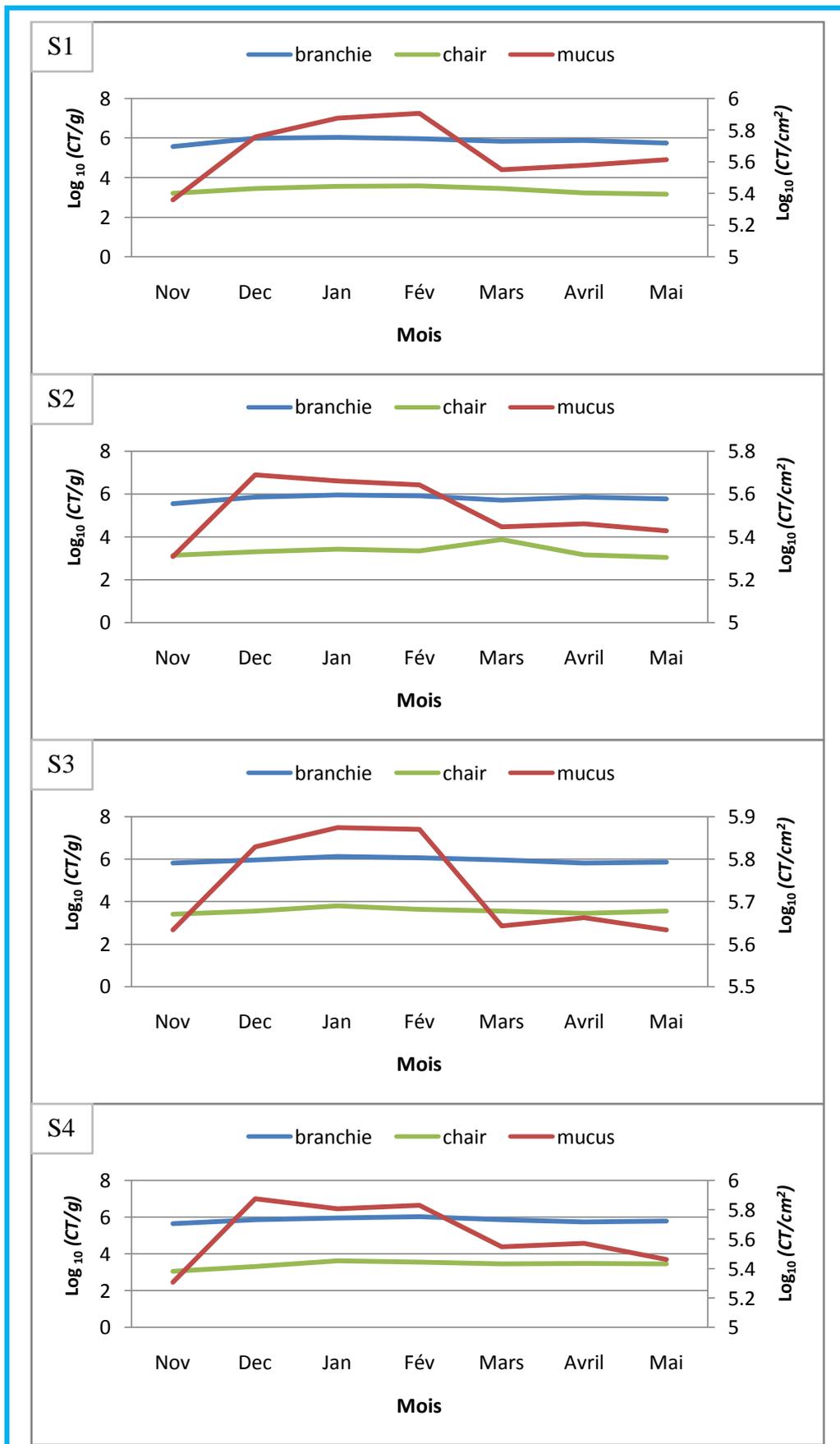
### III.5.3. Coliformes totaux chez le carassin (CT)

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux dans les différentes parties du corps du carassin commun sont représentés dans la figure 70.

Nous notons que les branchies sont les parties les plus chargées en CT, les valeurs maximales sont notées dans la station S3 (6.13  $\text{Log}_{10}$  CT/g) et la station S1 (6.04  $\text{Log}_{10}$  CT/g) durant le mois de janvier.

Dans le mucus, les abondances des CT ne varient pas beaucoup entre les quatre stations ; la contamination est toutefois assez marquée de décembre à février ; durant cette période, les teneurs enregistrées varient de 5.75 à 5.9  $\text{Log}_{10}$  CT/cm<sup>2</sup> dans la station S1, de 5.64 à 5.7  $\text{Log}_{10}$  CT/cm<sup>2</sup> dans la station S2, de 5.82 à 5.87  $\text{Log}_{10}$  CT/cm<sup>2</sup> dans la station S3, et de 5.81 à 5.87  $\text{Log}_{10}$  CT/cm<sup>2</sup> dans la station S4.

C'est la chair qui est la moins chargée en CT ; la valeur maximale est de l'ordre de 3.89  $\text{Log}_{10}$  CT/g au niveau de la station S2 pendant le mois de Mars.



**Figure70** : Distribution des coliformes totaux chez le carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

#### III.5.4. Coliformes fécaux chez le carassin (CF)

Les résultats du dénombrement des CF montrent que la valeur maximale de ce groupe bactérien est enregistrée au niveau des branchies et le mucus des poissons de la station S3 pendant le mois de janvier ( $5.3 \text{ Log}_{10} \text{ CF/g}$  et  $5.3 \text{ Log}_{10} \text{ CF/cm}^2$  respectivement) (Fig.71).

Par contre les valeurs les plus faibles sont enregistrées au niveau de la chair des poissons pêchés dans la station S2 durant le mois d'avril ( $2.15 \text{ Log}_{10} \text{ CF/g}$ ) et ceux de la station S4 pendant le mois de mars ( $2.16 \text{ Log}_{10} \text{ CF/g}$ ).

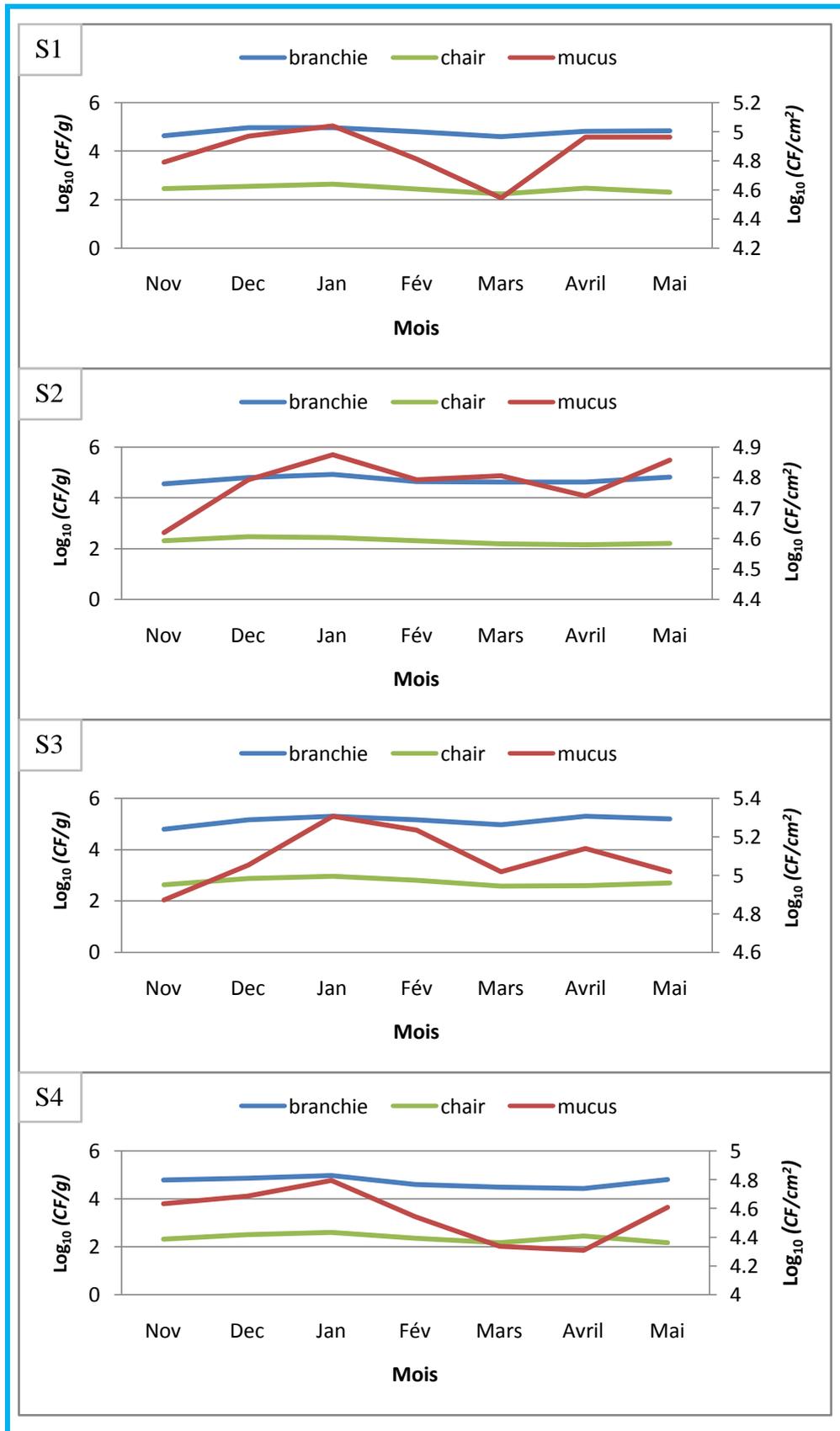
#### III.5.5. *Escherichia coli* chez le carassin (EC)

La figure 72 illustre la distribution des valeurs logarithmiques d'EC au niveau des branchies, du mucus et la chair des carassins pêchés au niveau des quatre stations du canal Messida.

La concentration d'EC obtenue au niveau des branchies est beaucoup plus importante chez les poissons de la station S3 ; une teneur de l'ordre de  $5.3 \text{ Log}_{10} \text{ EC/g}$  de branchies est relevée en janvier et en avril, et une teneur de l'ordre de  $5.19 \text{ Log}_{10} \text{ EC/g}$  de branchies est enregistrée en mai (Fig. 72).

Au niveau du mucus, le dénombrement d'EC montre une contamination importante en janvier et en avril au niveau de la station S1 ( $3.35$  et  $3.31 \text{ Log}_{10} \text{ EC/cm}^2$  respectivement), en décembre et en janvier au niveau de la station S2 ( $2.82 \text{ Log}_{10} \text{ EC/cm}^2$ ), en janvier et en avril au niveau de la station S3 ( $3.36$  et  $3.26 \text{ Log}_{10} \text{ EC/cm}^2$  respectivement) et en janvier et en décembre au niveau de la station S4 ( $3.23$  et  $3.13 \text{ Log}_{10} \text{ EC/cm}^2$  respectivement).

Ce sont toutefois les échantillons de chair qui enregistrent les teneurs en *Escherichia coli* les plus basses (Fig. 72). Ces bons indicateurs d'une contamination fécale sont, toutefois, présents dans la station S1 pendant 6 mois, dans la station S2 pendant 5 mois, et dans la station S3 et S4 durant seulement 4 mois.



**Figure 71:** Distribution des coliformes fécaux chez le carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

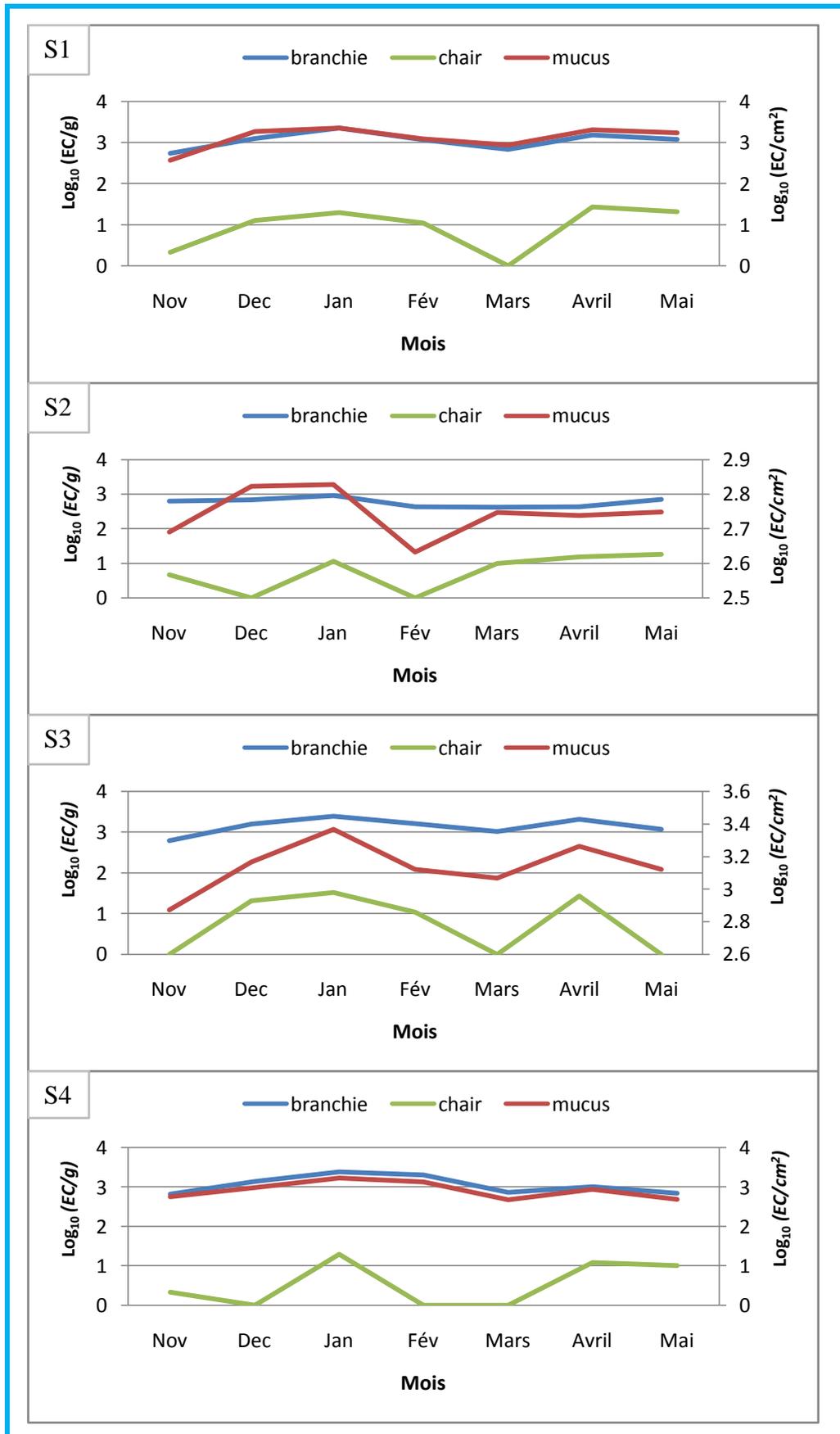


Figure 72: Distribution d'*Escherichia coli* chez le carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

### III.5.6. Streptocoques fécaux chez le carassin (SF)

Les branchies et les mucus des poissons pêchés dans l'ensemble des stations hébergent, durant toute la période d'étude, des streptocoques fécaux ; ces germes sont en revanche totalement absents dans la chair (Fig73).

Dans l'ensemble des stations, les SF sont présents en plus grande quantité durant la période de basses eaux (Avril et Mai). Les poissons pêchés dans la station S3 semblent être les plus contaminés, ils hébergent les teneurs les plus élevées en SF au niveau du mucus et au niveau des branchies ( $4.2 \text{ Log}_{10} \text{ SF/cm}^2$  et  $4.05 \text{ Log}_{10} \text{ SF/g}$  respectivement).

### III.5.7. Anaérobies Sulfito-Réducteurs chez le carassin (ASR)

La détection des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices est un indice de pollution ancienne à cause de la résistance de leurs spores contrairement aux formes végétatives.

Nos résultats montrent l'absence des colonies noires, indicatrices des bactéries sulfito-réductrices, dans tous les prélèvements effectués chez le carassin.

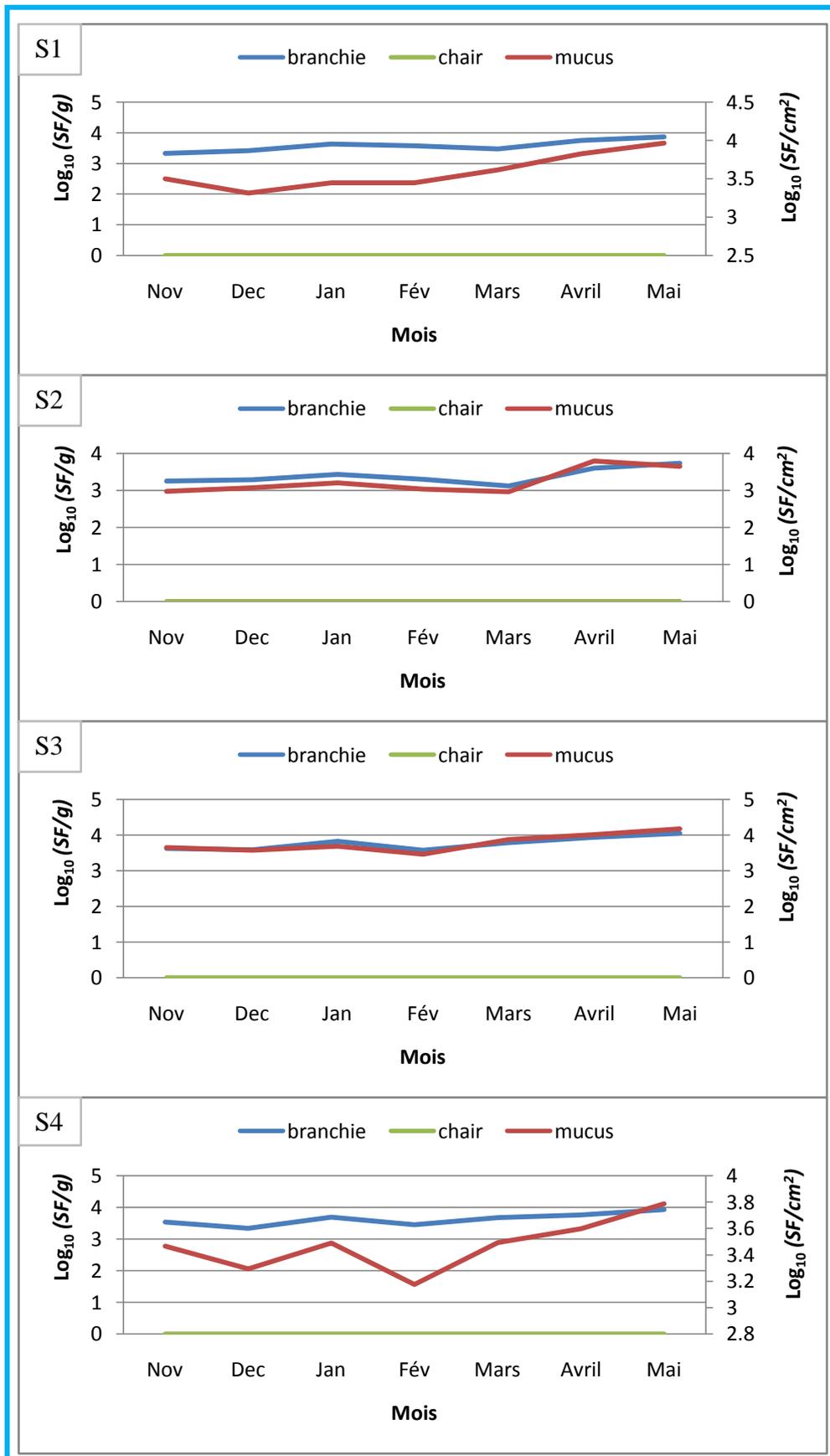
### III.5.8. Bactéries pathogènes chez le carassin

- **Caractères biochimique des souches bactériennes**

Tous les échantillons de poissons utilisés dans cette étude étaient frais et ne présentaient aucun signe d'altération. L'utilisation de différents milieux gélosés (PCA contenant 0.5% NaCl, GN, Mac Conkey, SS, Chapman, Cétrimide et Columbia au sang), la purification et l'identification phénotypique des isolats nous a permis d'identifier et de conserver un total de 172 bactéries: 118 à partir des branchies, 45 à partir du mucus et 9 à partir de la chair.

- **Bactéries à Gram négatif**

Les résultats de l'identification des bactéries à Gram négatif sont représentés dans le tableau 17.



**Figure 73:** Distribution des streptocoques fécaux chez le carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

**Tableau 17:** Bactéries à Gram négatif isolées à partir du carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

Date de prélèvement	Compartiment	Espèces bactérienne	Galerie API	Code de l'API	Degré de parenté (%)
Nov/Déc-2012 Jan/Mars-2013 Fév/Mars-2013 Avr/Mai-2013 Mai- 2013	Branchies/ mucus	<i>Aeromonas hydrophila</i>	API 20E	3247137 7246107 3046126 3207127 7237123	100 99.7 100 99.9 98
Mars-2013 Mars/Avr/Mai- 2013	Branchies/ mucus	<i>Citrobacter braakii</i>	API 20E	5704553 5705553	100 98
Déc- 2012 Jan-2013 Mars/Mai-2013 Avr/Mai-2013	Branchies/ mucus/chair	<i>Citrobacter freundii</i>	API 20E	3604532 1704533 3404513 3604532	99.5 99.8 100 100
Nov/Déc-2012 Nov/Déc-2012 Jan-2013 Fév/Mars-2013 Mars/Avr-2013 Avr/Mai-2013	Branchies/ mucus/chair	<i>Escherichia coli</i>	API 20E	1044512 1044172 5444553 5044570 5144510 7044102	99 100 100 100 100 99.9
Jan/Mars-2013 Avr-2013	Branchies	<i>Escherichia vulneris</i>	API 20E	7004153 1004153	98.6 90.9
Jan-2013 Mai-2013	Branchies/ chair	<i>Enterobacter agglomerans</i>	API 20E	1045353 1244733	98.9 98.6
Déc-2012 Jan-2013	Branchies/ chair	<i>Enterobacter cloacae</i>	API 20E	2305573 3005573	100 97
Mars-2013	Branchies	<i>Enterobacter sakazakii</i>	API 20E	7713773	90.6
Fév/Avr-2013	Branchies	<i>Hafnia alvei</i>	API 20E	4105103	99.6
Nov-2012 Jan/Fév-2013 Avr-2013	Branchies/ mucus	<i>Klebsiella oxytoca</i>	API 20E	5255773 5255733 7105773	100 100 97.2
Jan-2013 Jan- 2013	Branchies	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i>	API 20E	3004143 5004573	99.9 98.9
Fév-2013	Branchies	<i>Kluevya</i>	API 20E	5304573	98.6
Mars/Mai-2013 Avr-2013	Branchies	<i>Pantoae</i> spp.	API 20E	1004173 1004163	98.9 97
Nov-2012 Mai-2013	Branchies	<i>Pasteurella</i> spp.	API 20NE	5570244 5561244	98.6 97
Jan/Mars-2013	Branchies	<i>Proteus mirabilis</i>	API 20E	073600	99.7
Mars-2013 Mars-2013	mucus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	API 20NE	1154575 1354575	100 99.8
Mars/Mai-2013 Mars/Avr-2013	mucus	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	API 20 E API 20NE	2202044 7750575	99.6 97

**Tableau 17 (Suite)**

Date de prélèvement	Compartiment	Espèces bactérienne	Galerie API	Code de l'API	Degré de parenté (%)
Avr-2013	Mucus	<i>Pseudomonas luteola</i>	API 20NE	5565175	97.9
Fév-2013	Mucus	<i>Raoultella terrigena</i>	API 20E	5205773	99.8
Jan/Avr-2013	chair	<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>	API 20E	7704553	99.6
Nov-2012 Mai-2013	Branchies	<i>Salmonella</i> spp.	API 20E	4704742 5501553	99.7 98
Mars-2013	Branchies	<i>Serratia ficaria</i>	API 20E	1207573	99.5
Fév/Mars- 2013 Mars- 2013 Avr- 2013 Mai-2013	Branchies/ mucus/chair	<i>Serratia marcescens</i>	API 20E	5304761 5317721 5316361 5306761	100 100 100 99
Nov-2012 Mars-2013	Branchies/ chair	<i>Serratia odorifera</i>	API 20E	5046773 5346573	98.9 97
Avr/Mai-2013 Avr- 2013	Branchies	<i>Vibrio fluvialis</i>	API 20E	7046207 3046127	90 98
Mai-2013	Branchies	<i>Vibrio alginolyticus</i>	API 20E	1046105	90

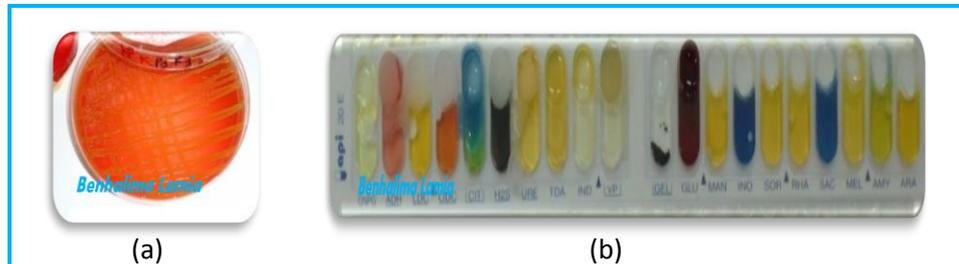
○ **Bactéries à Gram positifs**

Les résultats d'identification des bactéries à Gram positif sont rapportés dans le tableau 18.

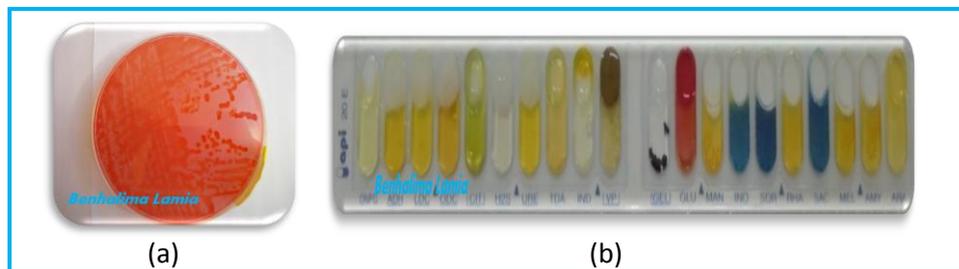
**Tableau 18:** Bactéries à Gram positifs isolées à partir du carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

Date de prélèvement	compartiment	Espèces bactérienne	Galerie API	Code de l'API	Degré de parenté (%)
Mars-2013 Avr-2013	Branchie	<i>Enterococcus faecium</i>	API Strep	7357531 7107510	99.6 97.5
Avr-2013	Mucus	<i>Micrococcus</i> spp.	API Staph	6773710 4006006	97 99.2
Mai-2013	Branchies	<i>Staphylococcus aureus</i>	API Staph	6777103	98.9
Mars-2013	Branchies	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	API Staph	6706113	99.8
Avril-2013	Branchies/ mucus	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	API Staph	6632153	99.9

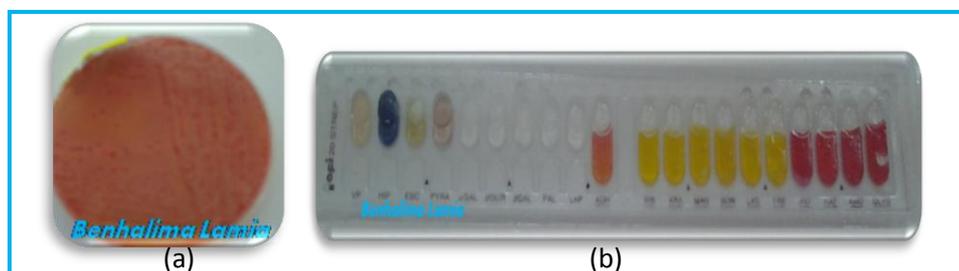
La majorité des espèces bactériennes isolées chez le carassin commun *Carassius carassius* sont aussi isolées à partir des eaux du canal Messida. Les aspects macroscopiques et les caractères biochimiques des souches qui sont retrouvées uniquement chez le poisson sont représentés par les planches 23 à 39.



**Planche 23:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Citrobacter braakii* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



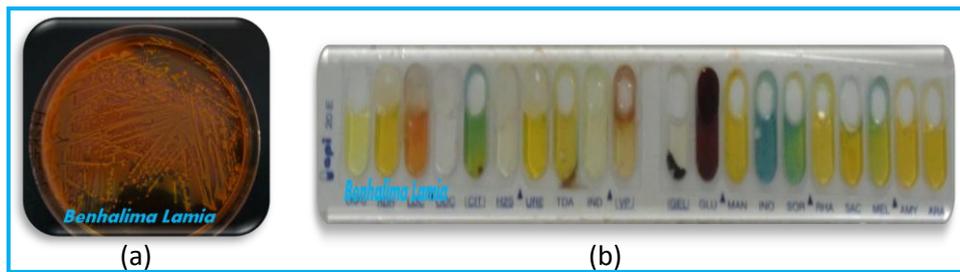
**Planche 24:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche d'*Escherichia vulneris* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



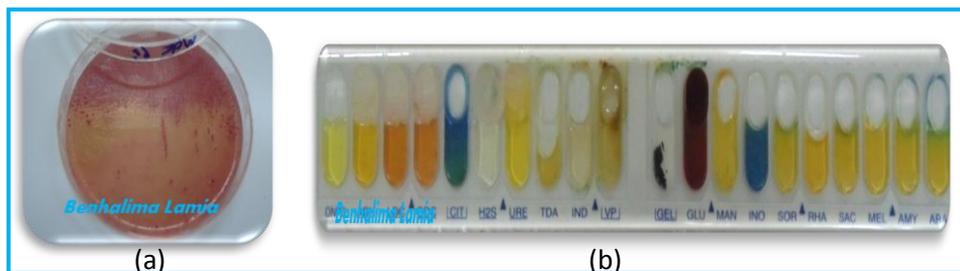
**Planche 25:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche d'*Enterococcus faecium* sur la gélose Chapman et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 Strep.



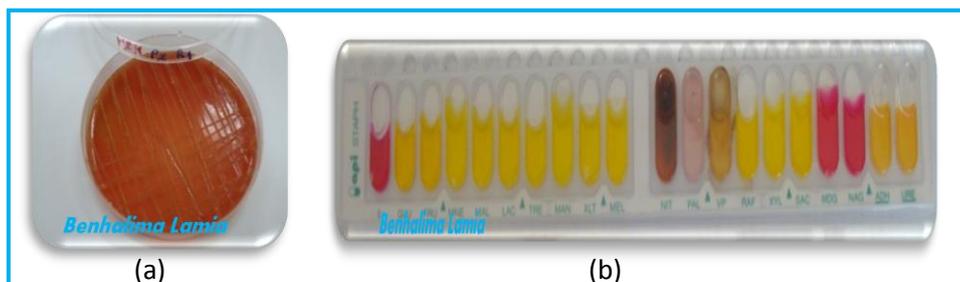
**Planche 26:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'*Enterobacter sakazakii* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



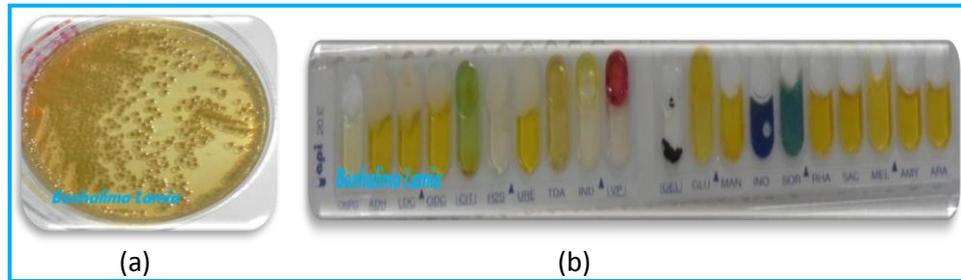
**Planche 27:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* spp. *ozaenae* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



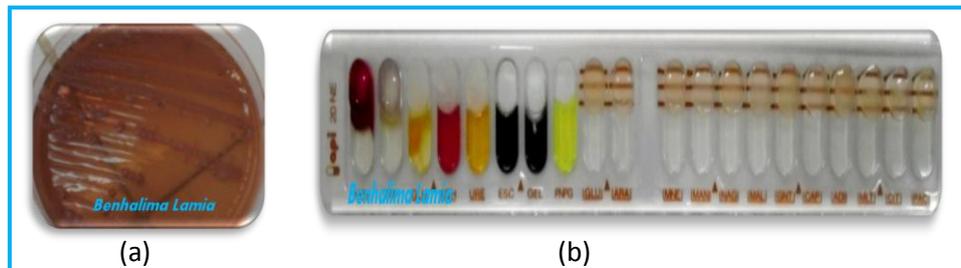
**Planche 28:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Kluevyra* sur la gélose Mac Conkey et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



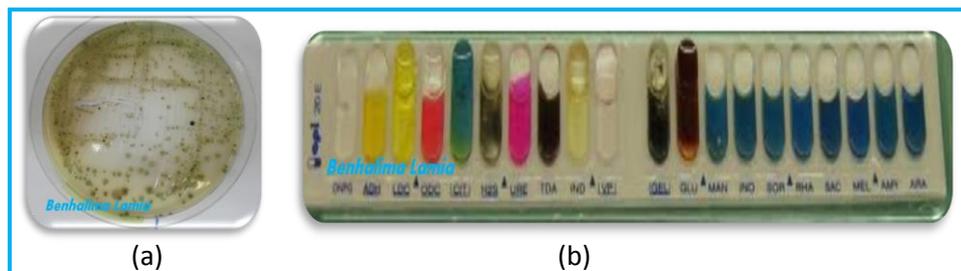
**Planche 29:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Micrococcus* spp. sur la gélose Chapman et (b) ses caractères biochimiques sur l'API Staph.



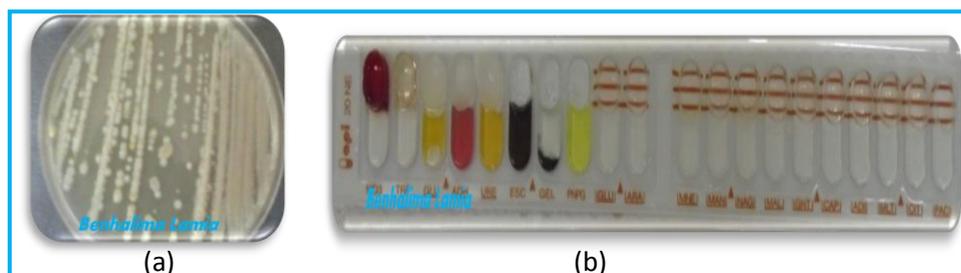
**Planche 30:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Pantoae* spp. sur la gélose Mac Conkey et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



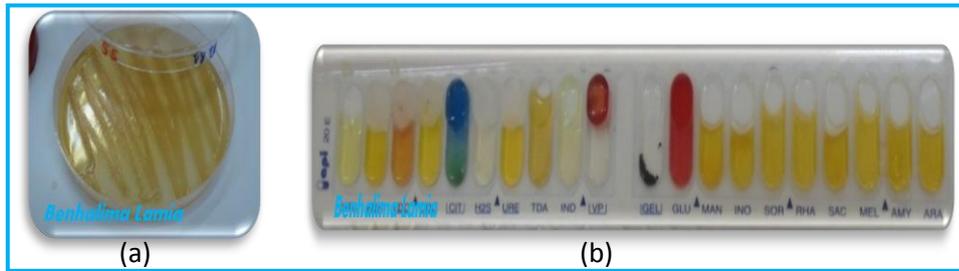
**Planche 31:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Pasteurella* spp. sur la gélose au sang et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.



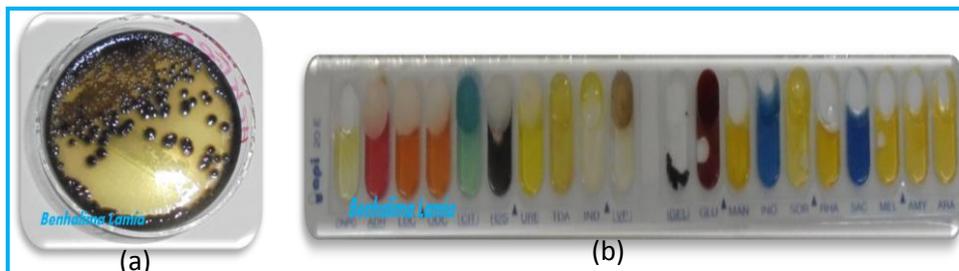
**Planche 32:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Proteus mirabilis* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 33:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Pseudomonas luteola* sur la gélose au cétrimide et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 NE.



**Planche 34:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Raoultella terrigena* sur la gélose nutritive et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



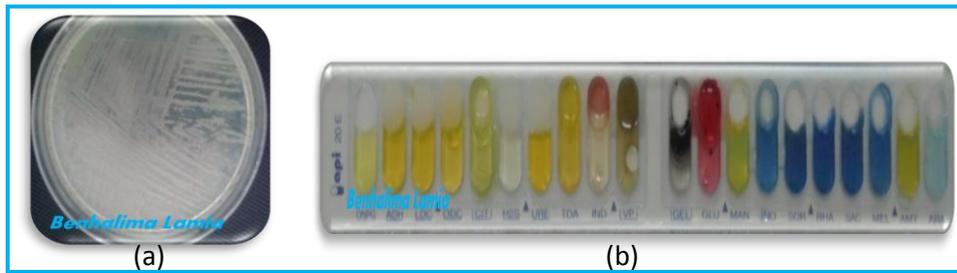
**Planche 35:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Salmonella choleraesuis* spp. *arizonae* sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



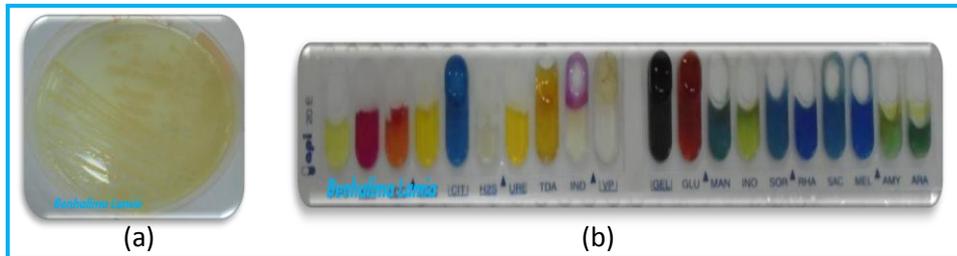
**Planche 36:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Salmonella* spp. sur la gélose SS et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 37:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Serratia ficaria* sur la gélose Hektoen et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 38:** (a) Aspect macroscopique des colonies de *Vibrio alginolyticus* sur la gélose nutritive à pH = 8 et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.



**Planche 39:** (a) Aspect macroscopique des colonies d'une souche de *Vibrio fluvialis* sur la gélose nutritive à pH = 8 et (b) ses caractères biochimiques sur l'API 20 E.

- **Répartition des bactéries au niveau des différents compartiments**
  - **Bactéries isolées à partir des branchies**

Le tableau 19 montre les différentes espèces bactériennes qui sont isolées à partir des branchies de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida. D'après les résultats obtenus, les souches isolées appartiennent à 5 familles :

*Enterobacteriaceae* (68.64 %), *Vibrionaceae* (24.58 %), *Micrococcaceae* (3.39 %), *Pasteurellaceae* (1.69 %), et *Enterococcaceae* (1.69 %).

**Tableau 19:** Prévalence des bactéries isolées à partir des branchies de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

Station	Espèce bactérienne	Prévalence (%)
S1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	16.67
	<i>Citrobacter braakii</i>	14.58
	<i>Escherichia coli</i>	20.83
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	4.16
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.08
	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2.08
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i>	2.08
	<i>Pantoae</i> spp.	4.17
	<i>Pasteurella</i> spp.	4.17
	<i>Raoultella terrigena</i>	4.17
	<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>	4.17
	<i>Serratia marcescens</i>	16.67
	<i>Vibrio fluvialis</i>	4.17
S2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	21.05
	<i>Escherichia coli</i>	26.31
	<i>Escherichia vulneris</i>	15.79
	<i>Hafnia alvei</i>	10.52
	<i>Proteus mirabilis</i>	15.79
	<i>Salmonella</i> spp.	10.53
S3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	10
	<i>Citrobacter freundii</i>	36.67
	<i>Enterococcus faecium</i>	6.67
	<i>Escherichia coli</i>	20
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3.33
	<i>Kluevyra</i>	3.33
	<i>Pantoae</i> spp.	3.33
	<i>Serratia ficaria</i>	3.33
	<i>Serratia odorifera</i>	6.67
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.33
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	3.33
S4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	52.38
	<i>Citrobacter freundii</i>	14.29
	<i>Escherichia coli</i>	19.05
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9.52
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4.76

○ **Bactéries isolées à partir du mucus**

Selon les résultats représentés dans le tableau 20 ; il ressort que la famille des *Enterobacteriaceae* (55.56 %) est dominante dans le mucus de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida ; elle est suivi par *Pseudomonadaceae* (17.78 %), *Micrococcaceae* (15.56 %) et enfin *Vibrionaceae* (11.11 %).

**Tableau 20:** Prévalence des bactéries isolées à partir du mucus de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

Station	Espèce bactérienne	Prévalence (%)
S1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	16.67
	<i>Citrobacter braakii</i>	16.67
	<i>Escherichia coli</i>	27.78
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i>	5.56
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	11.11
	<i>Pseudomonas luteola</i>	5.56
	<i>Serratia marcescens</i>	16.67
S2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	7.14
	<i>Escherichia coli</i>	28.57
	<i>Micrococcus</i> spp.	28.57
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14.29
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	21.43
S3	<i>Citrobacter freundii</i>	37.5
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	50
	<i>Serratia odorifera</i>	12.5
S4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	20
	<i>Citrobacter freundii</i>	20
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	40
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20

○ **Bactéries isolées à partir de la chair**

Une présence infime de bactéries, principalement des entérobactéries, est enregistrée dans la chair du carassin commun (Tableau 21).

**Tableau 21:** Prévalence des bactéries isolées à partir de la chair de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

Station	Espèce bactérienne	Prévalence (%)
S1	<i>Escherichia coli</i>	20
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	20
	<i>Enterobacter cloacae</i>	20
	<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>	20
	<i>Serratia marcescens</i>	20
S2	<i>Escherichia coli</i>	100
S3	<i>Citrobacter freundii</i>	100
S4	<i>Escherichia coli</i>	100

### III.5.9. Analyse statistique

Deux tests statistiques ont été appliqués :

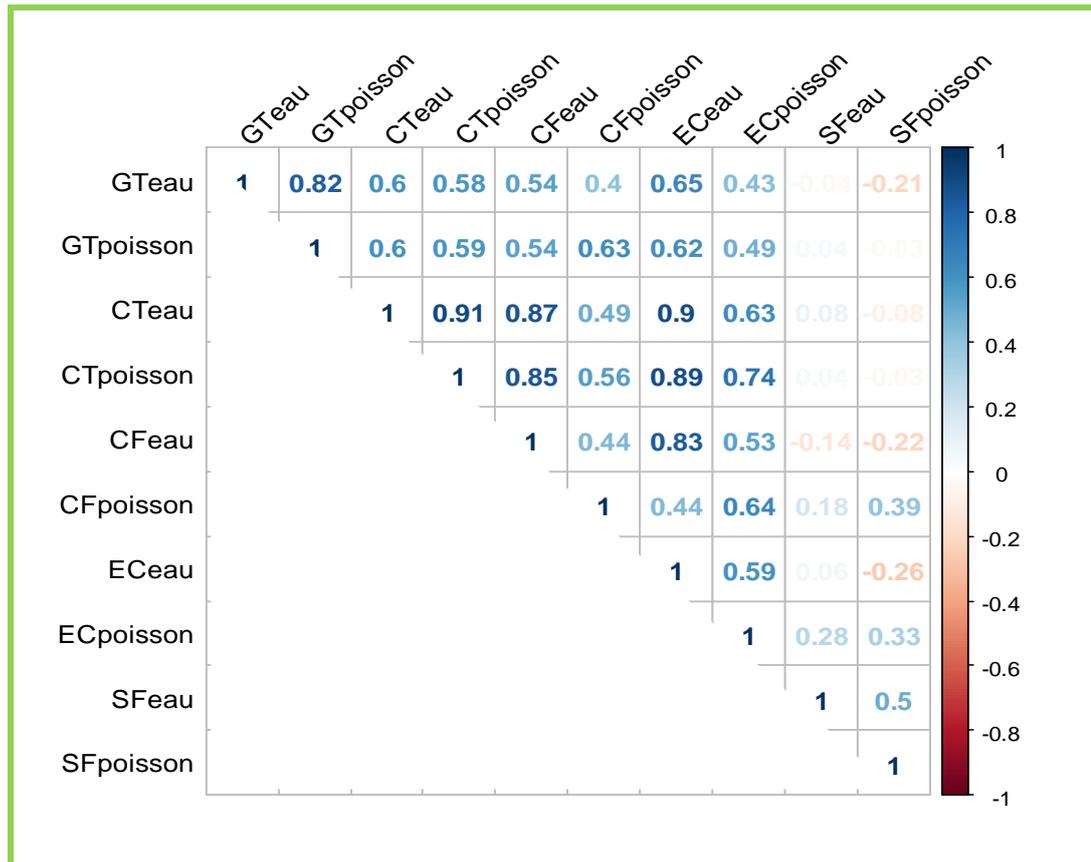
- Le test  $\text{Khi}^2$  (test de comparaison des distributions de pourcentages dans le cas d'échantillons indépendants) afin de révéler l'existence ou non d'une dépendance entre la distribution des groupes bactériens et les différents compartiments analysés.
  - la corrélation non-paramétrique de Spearman où nous avons calculé les coefficients de corrélations de Spearman entre les six groupes bactériens dénombrés chez le poisson étudié et dans les eaux du canal Messida.
- Les résultats du test  $\text{Khi}^2$  sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 22:** Dépendance entre la distribution des groupes bactériens dénombrés et les différents compartiments du carassin *Carassius carassius*

Test $\text{Khi}^2$	$\lambda^2$	df	P	Remarque
<b>Groupe bactérien vs. compartiment</b>	139367	10	$<2.2 \times 10^{-16}$	Dépendance significative

Le test  $\text{Khi}^2$  révèle l'existence d'une dépendance significative ( $p < 0.05$ ) entre la distribution des bactéries dénombrées (la flore totale et les germes tests d'une contamination fécale) et les compartiments étudiés chez le carassin commun pêchés des eaux du canal Messida.

- Les résultats de la corrélation de Spearman entre les paramètres bactériologiques des poissons et des eaux du canal Messida sont illustrés dans la figure 74.



**Figure 74:** Corrélogramme présentant les corrélations entre les paramètres bactériologiques du carassin commun et des eaux du canal Messida. Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.

Les résultats de la corrélation, montrent clairement que la majorité des groupes bactériens dénombrés chez les poissons sont corrélés positivement avec les groupes bactériens dénombrés dans les eaux du canal Messida.

L'examen du corrélogramme représenté ci-dessus (Fig.74) montre l'existence :

- De forte corrélation positive entre 'GT poisson et GT eau', 'CT poisson et CT eau', 'CT poisson et CF eau', 'CT poisson et EC eau'.
- De corrélations positives moyennes entre 'GT poisson et CT, CF et EC eau', 'EC poisson et CF eau'.
- De corrélations positives entre 'GT poisson et CT, CF poisson', 'CT poisson et CF, EC poisson', 'EC poisson et CF poisson'.

### III.6. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson

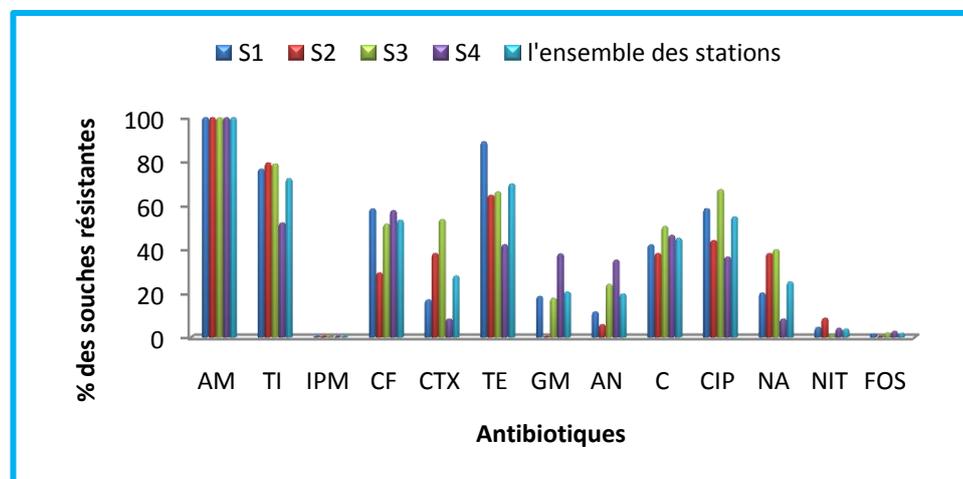
#### III.6.1. Bactéries aquicoles

L'étude de la résistance phénotypique des 328 souches a été réalisée par l'application de la technique de diffusion en milieu gélosé. Les antibiogrammes ont été effectués selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

Toutes les souches testées sont résistantes au moins à deux antibiotiques. Le profil de résistance des souches permis de déterminer le pourcentage de souches résistantes pour chaque antibiotique, 100 % des souches sont résistantes à l'ampicilline, 72.3% à la ticarcilline, 69.82 % à la tétracycline, 54.9 % à la ciprofloxacine, 53.4 % au céfalotine et 45.12 % au chloramphénicol. Des taux significatifs de résistance sont enregistrés à la céfotaxime (28.05 %), à l'acide nalidixique (25.3 %), et à la gentamycine (20.7 %). Aucune résistance n'est détectée à l'imipénème (Fig.75).

Le taux de souches résistantes à AN, NIT et FOS enregistré dans la station S1 est plus faible que les autres antibiotiques. Pour les isolats de la station S2, aucune résistance n'est détectée à GEN et FOS. Au niveau de la station S3, les taux des souches résistances à GEN, NIT et FOS sont les plus faibles.

Le nombre de souches résistantes à GEN et AN enregistré dans la station S4 est supérieur à celui observé dans les autres stations (S1, S2 et S3).



**Figure 75:** Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des eaux du canal Messida. AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

- **Profils antibiotypiques**

Vingt neuf profils différents sont observés (Tableau 23), les bactéries isolées de la station S1 présentent 20 profils antibiotypiques, et celles de la station S3 en présentent 16 profils. Les bactéries des stations S2 et S4, montrent 9 (ou plus) profils. Parmi ces profils, c'est l'antibiotype à six résistances AM/TI/CTX/TE/CIP/NA qui est dominant (38 isolats) suivi par AM/TI/TE/CIP (27 isolats), AM/TI/CF (26 isolats), AM/TI/CF/TE/CIP et AM/CF/GM/AN/C (24 isolats).

Les résultats obtenus montrent que les antibiotypes des bactéries identifiées comptent des multi-résistances allant de 2 à 10 antibiotiques différents.

Le nombre de souches multi-résistantes (résistantes au moins à 3 classes d'antibiotique) le plus élevé est enregistré dans les stations S3 et S1 (88.4 % et 70 % respectivement).

La majorité des souches *d'E.coli* (l'espèce représentant plus de 20% des souches isolées) présente une résistance à 4 antibiotiques (ampicilline, ticarcilline, tétracycline et ciprofloxacine).

La souche *V.cholerae* résiste à 6 antibiotiques, *Yersinia enterocolitica* à 7 antibiotiques, en revanche, les espèces *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* montrent des résistances à 8 antibiotiques.

Nous notons, par ailleurs, une résistance à 9 et 10 antibiotiques respectivement par une *Serratia marcescens* et une *Staphylococcus aureus* (Tableau 23).

**Tableau 23:** Profils antibiologiques associés aux bactéries isolées à partir des eaux du canal Messida.

Profils de résistance	Nombre des isolats				Nombre d'antibiotiques	Bactéries résistantes
	S1	S2	S3	S4		
AM/TI	0	10	0	8	2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia odorifera</i>
AM/TI/CF	12	0	9	5	3	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Hafnia alvei</i>
AM/TE/C	4	5	1	2	3	<i>Providencia sp.</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus morganii</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Edwardsiella tarda</i>
AM/C/CIP	2	2	0	4	3	<i>Escherichia coli</i>
AM/CF/TE/C	0	0	2	1	4	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Morganella sp.</i>
AM/TI/TE/C	0	0	4	1	4	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/TE/CIP	14	0	13	0	4	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i>
AM/TI/CIP/NA	0	0	0	7	4	<i>Escherichia coli</i>
AM/TE/GM/C	1	0	0	1	4	<i>Enterobacter agglomerans</i>
AM/CF/TE/GM	16	0	0	0	4	<i>Proteus vulgaris</i>
AM/TI/CF/TE/C	8	0	0	0	5	<i>Proteus vulgaris</i>
AM/TI/CF/CIP/NA	0	0	0	8	5	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF/TE/CIP	14	0	10	0	5	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF/TE/NIT	4	4	0	3	5	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/TE/C/CIP	18	0	3	0	5	<i>Escherichia coli</i>
AM/CF/GM/AN/C	0	0	0	24	5	<i>Aeromonas hydrophila</i>
AM/TE/GM/C/NIT	1	0	1	0	5	<i>Edwardsiella sp.</i>
AM/TE/GM/CIP/FOS	1	0	0	1	5	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
AM/CF/TE/C/CIP/NA	0	0	1	0	6	<i>Staphylococcus aureus</i>
AM/TI/CTX/TE/CIP/NA	12	7	14	5	6	<i>Klebsiella oxytoca</i>
AM/CF/CTX/TE/GM/C	3	0	13	0	6	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TE/GM/AN/C/NIT	1	0	0	0	6	<i>Vibrio cholerae</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/GM/C	0	0	1	0	7	<i>Yersinia enterocolitica</i>
AM/TI/CTX/TE/AN/C/CIP/NA	6	2	12	0	8	<i>Klebsiella oxytoca</i>
AM/CTX/TE/GM/AN/CIP/NA/FOS	1	0	1	1	8	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/C/CIP/NA	0	2	0	0	8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
AM/CF/TI/CTX/TE/GM/C/CIP/NA	7	2	9	0	9	<i>Serratia marcescens</i>
AM/CF/CTX/TE/GM/AN/C/CIP/NA/FOS	0	0	1	0	10	<i>Staphylococcus aureus</i>

AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

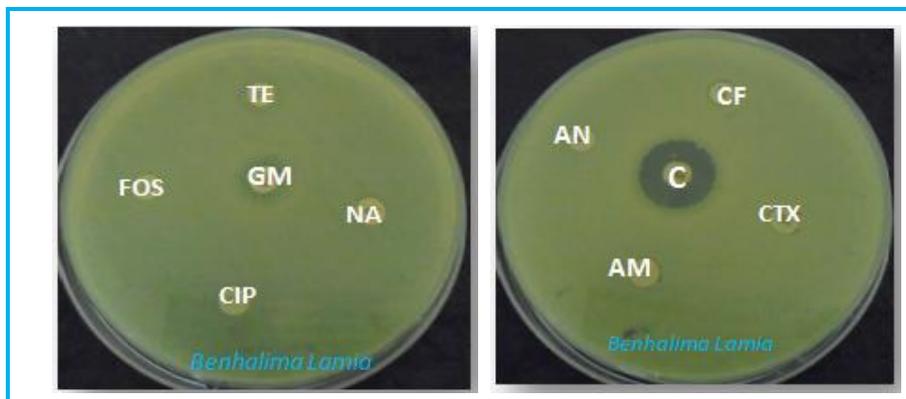
- **Indice de Résistance Multiple aux antibiotiques (*MAR index*)**

Le calcul de l'indice de la Résistance Multiple aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des eaux du canal Messida montre que les valeurs de cet indice varient de 0.15 à 0.62 (la moyenne étant de l'ordre de 0.37). La valeur la plus élevée est enregistrée dans les quatre stations (*MAR index* = 0.62).

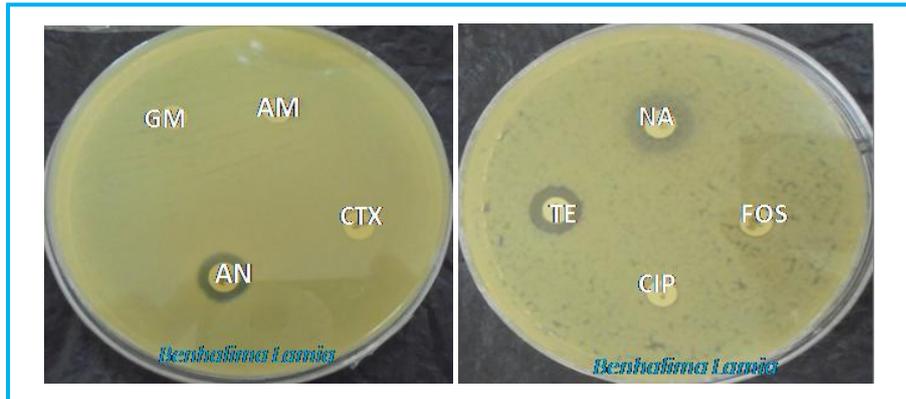
Toutes les bactéries possèdent des *MAR index* supérieurs à 0.20, à l'exception de *Serratia odorifera* (*MAR index* = 0.15).

Ce sont *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* qui possèdent le *MAR index* le plus élevé (0.62), suivi par *Serratia marcescens* et *Yersinia enterocolitica* (0.53), *Klebsiella oxytoca* (0.51), *Vibrio cholerae* (0.46), *Pseudomonas fluorescens*, *Edwardsiella* sp., et *Staphylococcus saprophyticus* (0.38), *Citrobacter freundii* (0.37), *Proteus vulgaris* (0.33), *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* Typhimurium, *Enterobacter agglomerans*, *Morganella* sp. et *Enterobacter cloacae* (0.31). Quant aux autres isolats, le *MAR index* varie de 0.23 à 0.27.

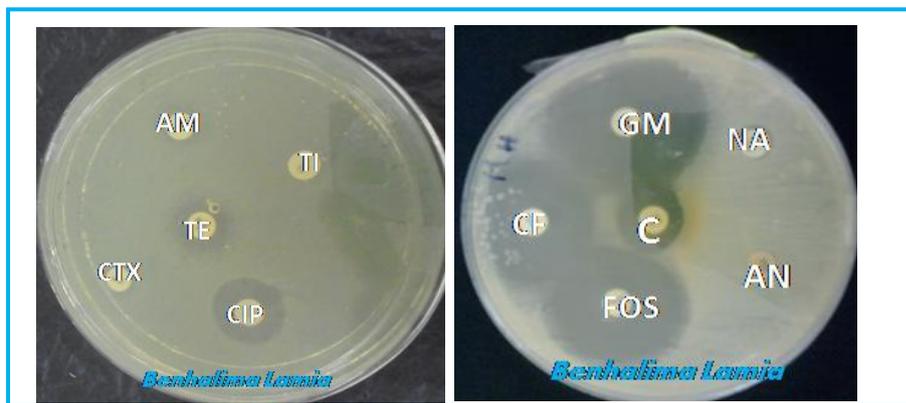
- Certains des principaux profils de résistances aux antibiotiques obtenus sont illustrés dans les planches 40 à 43.



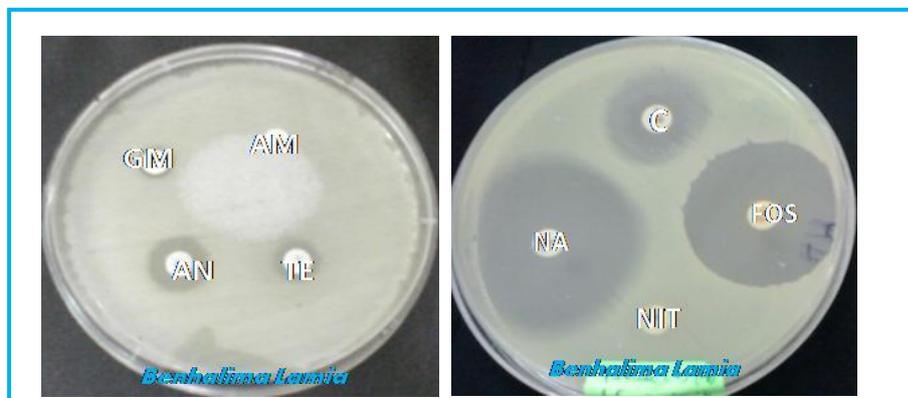
**Planche 40** : Résistance d'une souche de *Staphylococcus aureus* à 10 antibiotiques (AM/CF/CTX/TE/GM/AN/C/CIP/NA/FOS).



**Planche 41 :** Résistance d'une souche de *Staphylococcus epidermidis* à 8 antibiotiques (AM/CTX/TE/GM/AN/CIP/NA/FOS).



**Planche 42 :** Résistance d'une souche de *Klebsiella oxytoca* à 8 antibiotiques (AM/TI/CTX/TE/AN/C/CIP/NA).



**Planche 43 :** Résistance de la souche de *Vibrio cholerae* à 6 antibiotiques (AM/TE/GM/AN/C/NIT).

### III.6.2. Bactéries isolées à partir de *Carassius carassius*

Au cours de ce travail, nous avons étudié l'antibio-résistance de 172 bactéries isolées à partir du poisson: 118 bactéries isolées à partir des branchies, 45 à partir du mucus et 9 à partir de la chair.

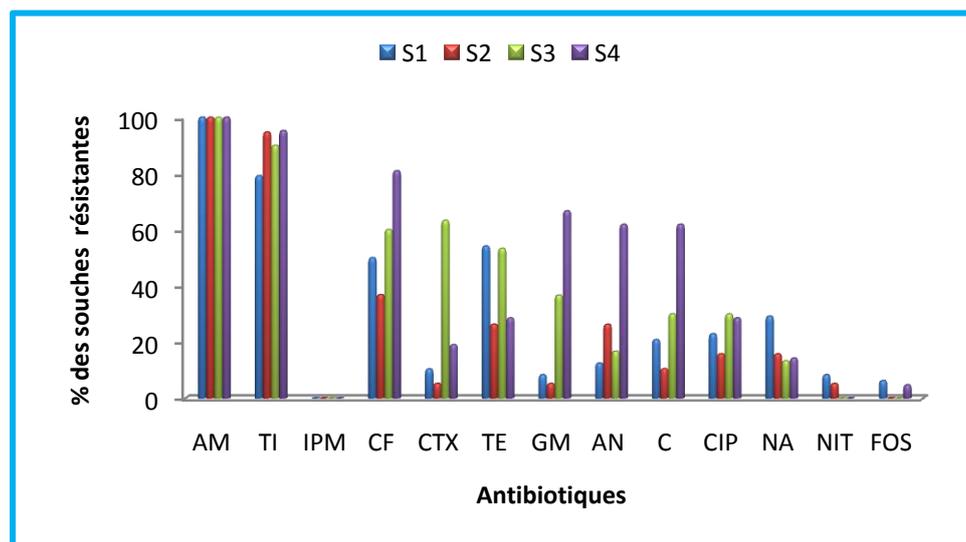
#### III.6.2.1. Bactéries isolées à partir des branchies

L'antibiogramme de ces bactéries (Fig.76) montre une résistance importante aux antibiotiques testés, particulièrement aux  $\beta$ -lactamines. Cependant aucune résistance n'est détectée pour les carbapénèmes (imipénème).

Parmi les résistances les plus élevées aux  $\beta$ -lactamines, nous notons une résistance totale à l'ampicilline (100%), suivi par une résistance à la ticarcilline (varie de 79.2 à 95.24 %).

Après la résistance aux  $\beta$ -lactamines, vient la résistance aux tétracyclines avec des taux de résistance de 54.16 % et 53.33 % dans les stations S1 et S3 respectivement.

Des résistances très élevées sont également enregistrées dans la station S4 pour la céfalotine (80.95 %), la gentamycine (66.67 %), l'amikacine (61.9 %) et le chloramphénicol (61.9 %).



**Figure 76:** Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des branchies de *Carassius carassius*. AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

### • Profils antibiologiques

A partir du tableau 24 qui montre différents profils vis-à-vis des antibiotiques testés, nous notons que le profil de résistance des souches le plus fréquent est AM/TI/CF/GM/AN/C (11 isolats), suivi par le profil AM/TI/CF (9 isolats).

Parmi les 118 souches testées, 58.47% des souches sont multi-résistantes (MAR). La totalité des souches isolées à partir des branchies du carassin commun pêché dans la station S4 sont MAR ; elles sont suivies par les souches de la station S1 (58.33%), S2 (42.11 %) et enfin S3 (40 %). Il faut noter par ailleurs que 27.12 % de souches résistent à 4 antibiotiques, et 22.03% résistent à 6 antibiotiques.

La majorité des entérobactéries (85.2 %) présentent des résistances à plus de 3 antibiotiques (Tableau 24) ; *E.coli* (représentant 30.9 % des entérobactéries isolées) a présenté un taux élevé de résistance aux  $\beta$ -lactamines, principalement à l'ampicilline et la ticarcilline (100%), 64 % sont résistantes à la tétracycline, 44% au chloramphénicol, 24% au ciprofloxacine et à l'acide nalidixique, et 8% à la céfalotine, gentamycine et à l'amikacine.

Chez la souche dominante dans les branchies (*Aeromonas hydrophila*), 100% sont résistantes à l'ampicilline, à la ticarcilline et à la céfalotine, 46.15 % à la gentamycine, 42.31% à l'amikacine et au chloramphénicol, et 26.92% à la céfotaxime.

**Tableau 24:** Profils antibiologiques associés aux bactéries isolées des branchies.

Profils de résistance	Nombre des isolats				Nombre d'antibiotiques	Bactéries résistantes
	S1	S2	S3	S4		
AM	5	0	3	0	1	<i>Cluevryra</i> , <i>Serratia odorifera</i> , <i>Citrobacter braakii</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Pantoea</i> spp.
AM/CF	2	0	0	0	2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>
AM/TI	1	3	2	0	2	<i>E.coli</i> , <i>E.vulneris</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Serratia ficaria</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Raoultella terrigena</i>
AM/TI/CF	7	2	0	0	3	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Hafnia alvei</i>
AM/TI/TE	4	0	4	0	3	<i>Citrobacter braakii</i> , <i>E.coli</i>
AM/TI/C	0	2	0	0	3	<i>Escherichia coli</i>
AM/TE/GM/AN	1	0	0	0	3	<i>Vibrio fluvialis</i>
AM/TI/CF/CTX	5	0	3	0	4	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pasteurella</i> spp.
AM/TI/TE/C	5	0	1	0	4	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/TE/CIP	0	1	0	0	4	<i>Salmonella</i> spp.
AM/TI/TE/NA	0	3	0	0	4	<i>Proteus mirabilis</i>

AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

Tableau 24 (suite)

Profils de résistance	Nombre des isolats				Nombre d'antibiotiques	Bactéries résistantes
	S1	S2	S3	S4		
AM/TI/CIP/NA	2	2	0	0	4	<i>Citrobacter braakii</i> , <i>E.coli</i>
AM/TI/CTX/C	0	0	0	2	4	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/TE/CF	1	0	0	0	4	<i>Raoutella terrigena</i>
AM/TI/CF/FOS	1	0	0	0	4	<i>Vibrio fluvialis</i>
AM/TI/CF/CTX	0	0	4	0	4	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TE/C/NA	1	0	0	0	4	<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i>
AM/TI/CF/TE/AN	1	0	0	0	5	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CF/TE/C	1	0	0	0	5	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CF/TE/CIP	0	0	0	3	5	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF/GM/AN	0	1	0	0	5	<i>Aeromonas hydrophila</i>
AM/TI/TE/CIP/NA	0	3	0	2	5	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
AM/TI/CF/TE/NA	1	0	0	0	5	<i>Enterobacter cloacae</i>
AM/TI/TE/AN/NA	0	1	0	0	5	<i>Escherichia vulneris</i>
AM/TI/CF/CTX/NIT	0	1	0	0	5	<i>Escherichia vulneris</i>
AM/TE/GM/NA/C	1	0	0	0	5	<i>Enterobacter agglomerans</i>
AM/TI/CF/CTX/GM/AN	0	0	2	0	6	<i>Enterococcus faecium</i>
AM/TI/CF/TE/AN/NIT	2	0	0	0	6	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CF/TE/NA/NIT	1	0	0	0	6	<i>Pasteurella</i> spp.
AM/TI/CF/TE/CTX/GM	0	0	1	0	6	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/TE/C/CIP/NA	0	0	1	0	6	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF/GM/AN/C	0	0	0	11	6	<i>Aeromonas hydrophila</i>
AM/TI/CF/C/CIP/NA	2	0	0	0	6	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CF/TE/CIP/NA	2	0	0	0	6	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CTX/TE/GM/CIP	0	0	1	0	6	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF/CTX/GM/AN	0	0	0	2	6	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/GM/CIP	0	0	1	0	7	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/CF/TE/GM/CIP/NA/FOS	0	0	0	1	7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/GM/AN/C	0	0	1	0	8	<i>Staphylococcus aureus</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/GM/C/CIP	0	0	5	0	8	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CTX/TE/NA/C/CIP/NA	0	0	1	0	8	<i>Klebsiella oxytoca</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/GM/AN/NA	0	0	1	0	8	<i>Pantoea</i> spp.
AM/TI/CF/TE/GM/CIP/NA/FOS	1	0	0	0	8	<i>Enterobacter sakazakii</i>
AM/TI/TE/GM/AN/CIP/NA/NIT	1	0	0	0	8	<i>Pantoea</i> spp.

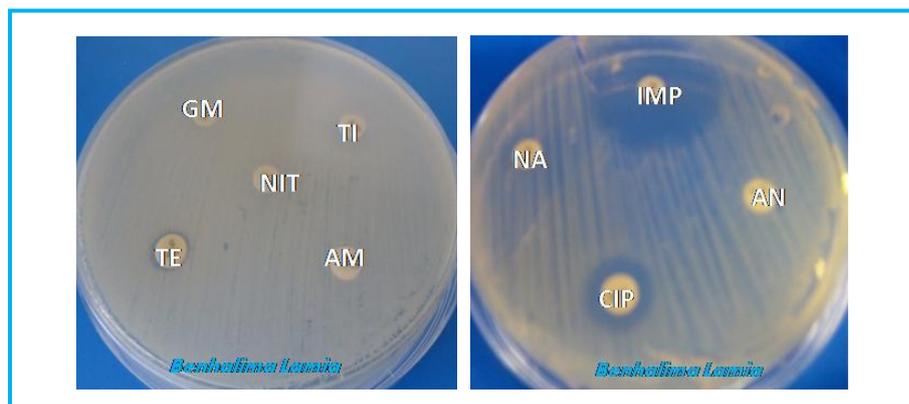
AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

- **Indice de Résistance Multiple aux antibiotiques (*MAR index*)**

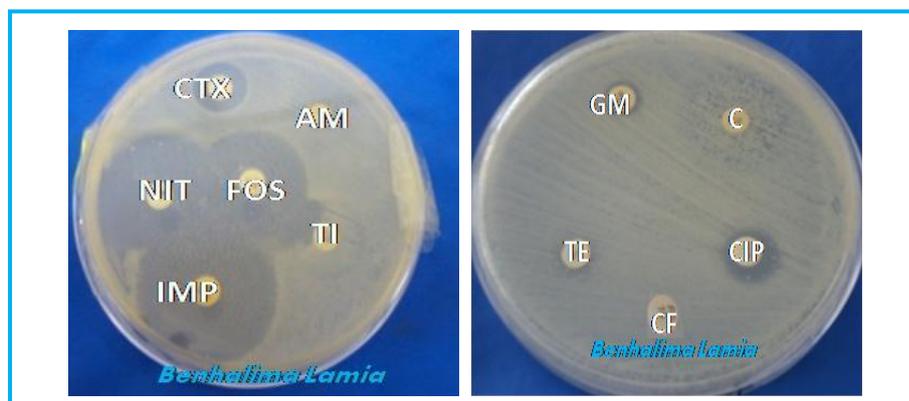
Selon les résultats obtenus, 62.61 % des bactéries isolées présentent un *MAR index*  $\geq 0.2$ . Les espèces possédant les valeurs les plus élevées sont :

*Klebsiella oxytoca* (0.61), *Enterobacter sakazakii* (0.61), *Staphylococcus saprophyticus* (0.53), *Staphylococcus aureus* (0.51), *Enterococcus faecium* et *Citrobacter freundii* (0.46), *Pantoea* spp. (0.43), et *Pasteurella* spp. (0.42).

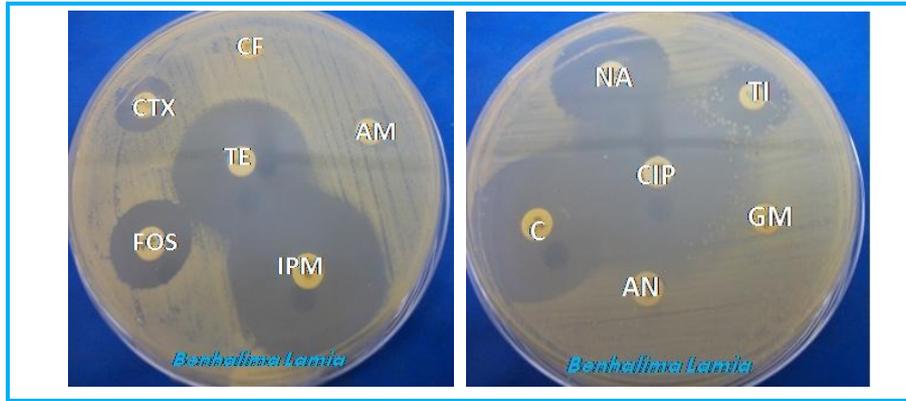
- Certains des principaux profils de résistances aux antibiotiques obtenus sont illustrés dans les planches 44 à 46.



**Planche 44** : Résistance d'une souche de *Pantoea* spp. à 8 antibiotiques (AM/TI/TE/GM/AN/CIP/NA/NIT).



**Planche 45** : Résistance d'une souche de *Citrobacter freundii* à 8 antibiotiques (AM/TI/CF/CTX/TE/GM/C/CIP).

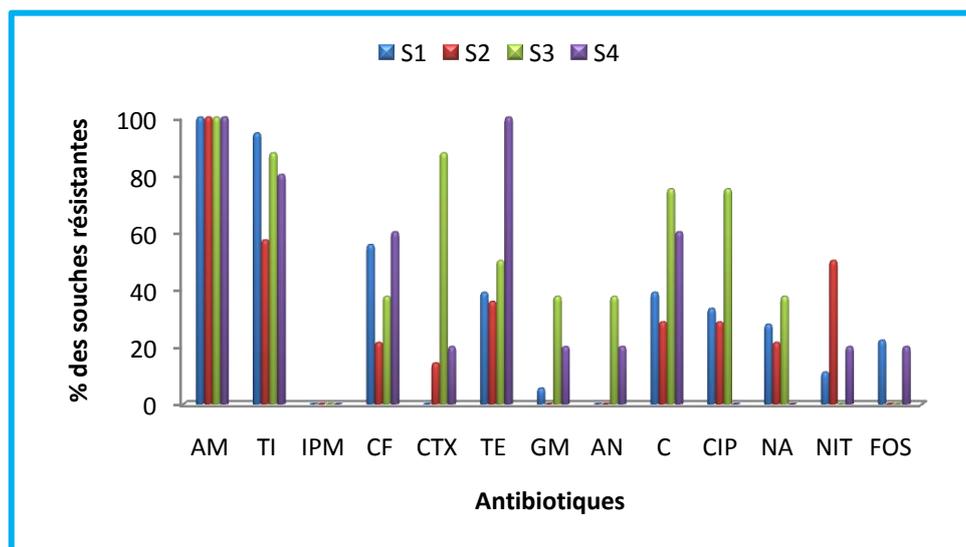


**Planche 46 :** Résistance d'une souche d'*Escherichia coli* à 6 antibiotiques (AM/TI/CF/CTX/GM/AN).

### III.6.2.2. Bactéries isolées à partir du mucus

Sur les 45 souches testées, le plus grand nombre de souches résistantes est observé pour l'ampicilline (100% dans les quatre stations), la tétracycline (100% dans la station S4), la ticarcilline (94.44% dans la station S1), la céfotaxime (87.5% dans la station S3), le chloramphénicol et la ciprofloxacine (75% dans la station S3) (Fig.77).

Dans toutes les stations, aucune souche résistante à l'imipénème n'est détectée.



**Figure 77:** Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir du mucus de *Carassius carassius*. AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane; FOS: fosfomycine.

- **Profils antibiotypiques**

Le tableau 25 montre que toutes les souches isolées à partir du mucus présentent des résistances à un ou plusieurs antibiotiques.

Nous notons que la résistance à 2 antibiotiques est la plus dominante (22.22%), le profil le plus commun est AM/TI. Néanmoins la multi-résistance n'est pas exclue, elle apparaît à un pourcentage total de 53.33%. La multi-résistance aux 7 antibiotiques est un caractère commun pour 15.6 % des souches ; l'antibiotype AM/TI/CF/CTX/GM/C/CIP est le plus commun.

Les souches d'entérobactérie présentent plusieurs profils antibiotypiques avec un haut niveau de résistance aux  $\beta$ -lactamines, à la tétracycline et au chloramphénicol principalement les souches de *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, et *Escherichia coli*.

Toutefois, la souche *Pseudomonas luteola* mérite une attention particulière du fait qu'elle est résistante à 9 antibiotiques (planche 47) ; il est, par ailleurs, noté une résistance vis-à-vis de 8 et 6 antibiotiques respectivement chez *Pseudomonas aeruginosa* (planche 48) et *Pseudomonas fluorescens*.

Par ailleurs, une souche de *Staphylococcus saprophyticus* a montré une résistance à 7 antibiotiques (Tableau 25).

- **Indice de Résistance Multiple aux antibiotiques (*MAR index*)**

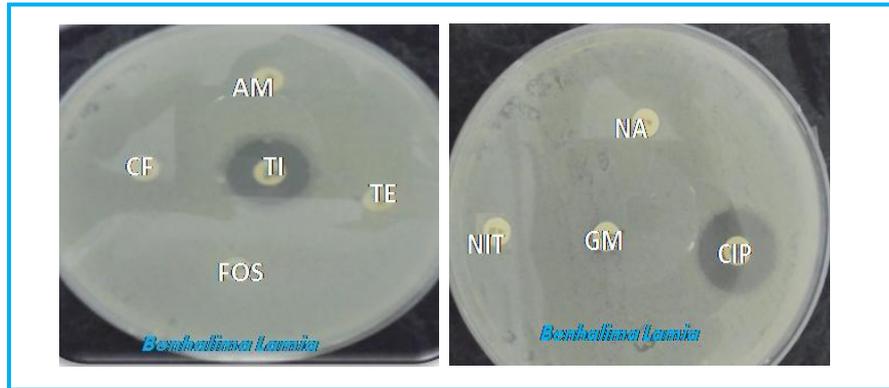
Le calcul de l'indice de résistance multiple montre que 94.2 % des souches possèdent un *MAR index*  $\geq 0.2$ . Les valeurs les plus marquées sont notées chez les espèces suivantes:

*Pseudomonas luteola* (0.69), *Pseudomonas aeruginosa* (0.62), *Klebsiella oxytoca* (0.54), *Citrobacter freundii* (0.5), et *Serratia marcescens* (0.44).

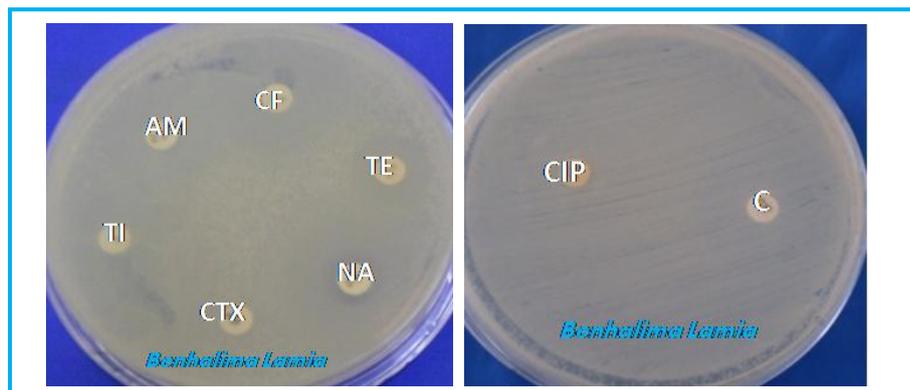
**Tableau 25:** Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées à partir du mucus.

Profils de résistance	Nombre des isolats				Nombre d'antibiotiques	Bactéries résistantes
	S1	S2	S3	S4		
AM	1	1	1	0	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. ozaenae, <i>E.coli</i> , <i>Serratia odorifera</i>
AM/TE	0	0	0	1	2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
AM/TI	3	2	0	0	2	<i>Citrobacter braakii</i> , <i>E.coli</i>
AM/NIT	0	4	0	0	2	<i>Micrococcus</i> spp.
AM/TI/C	1	0	0	0	3	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF	4	0	0	0	3	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
AM/TI/NIT	0	2	0	0	3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
AM/TI/TE/C	0	0	0	1	4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
AM/TI/CTX/TE	0	0	1	0	4	<i>Klebsiella oxytoca</i>
AM/TI/C/CIP	1	0	0	0	4	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF/TE/C	1	1	0	1	5	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/TE/C/CIP	1	1	0	0	5	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF/TE/CIP/NA	1	0	0	0	6	<i>Citrobacter braakii</i>
AM/TI/TE/C/CIP/FOS	1	0	0	0	6	<i>Escherichia coli</i>
AM/TI/CF/CIP/NA/NIT	1	0	0	0	6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
AM/TI/TE/CIP/NA/NIT	0	1	0	0	6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
AM/TI/CF/TE/GM/AN/C	0	0	0	1	7	<i>Aeromonas hydrophila</i>
AM/TI/CF/CTX/GM/C/CIP	0	0	3	0	7	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF/TE/C/NA/FOS	2	0	0	0	7	<i>Serratia marcescens</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/NIT/FOS	0	0	0	1	7	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
AM/TI/CF/CTX/TE/C/CIP/NA	0	2	0	0	8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
AM/TI/CTX/TE/AN/C/CIP/NA	0	0	3	0	8	<i>Klebsiella oxytoca</i>
AM/TI/CF/TE/GM/CIP/NA/NIT/FOS	1	0	0	0	9	<i>Pseudomonas luteola</i>

AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acide nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.



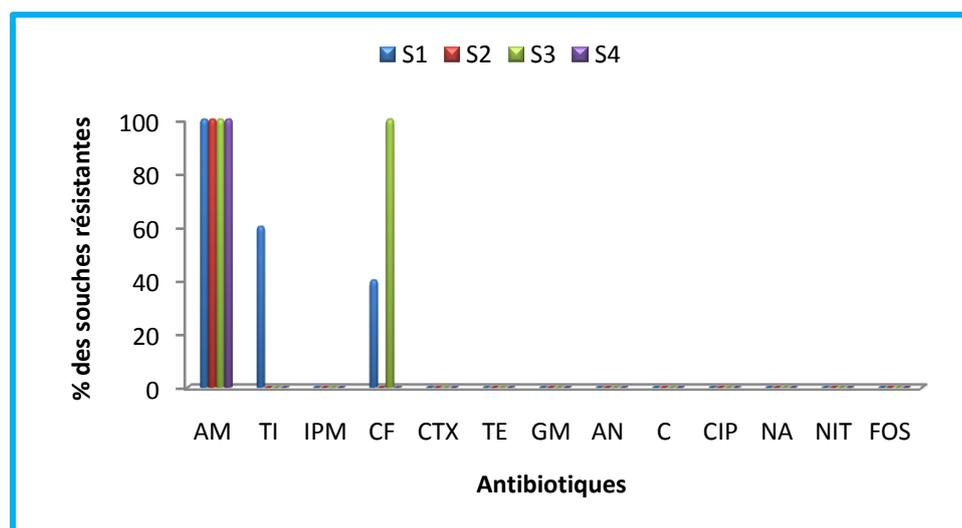
**Planche 47 :** Résistance de la souche *Pseudomonas luteola* à 9 antibiotiques  
(AM/TI/CF/TE/GM/CIP/NA/NIT/FOS)



**Planche 48 :** Résistance de la souche *Pseudomonas aeruginosa* à 8 antibiotiques  
(AM/TI/CF/CTX/TE/C/CIP/NA).

### III.6.2.3. Bactéries isolées à partir de la chair

Les 9 souches isolées à partir de la chair de *Carassius carassius* peuplant le canal Messida sont des entérobactéries ; ces bactéries présentent un haut niveau de résistance aux  $\beta$ -lactamines principalement à l'ampicilline (Fig.78).



**Figure 78:** Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir de la chair de *Carassius carassius*. AM: ampicilline; TI: ticarcilline; IPM: imipénème; CF: céfalotine; CTX: céfotaxime; TE: tétracycline; GM: gentamycine; AN: amikacine; C: chloramphénicol; CIP: ciprofloxacine; NA: acid nalidixique; NIT: nitrofurane, FOS: fosfomycine.

#### • Profils antibiotypiques

D'après le tableau 26, quatre profils de résistance apparaissent. La majorité des souches résistent à un antibiotique (AM). Il en ressort une absence des souches multi-résistantes.

**Tableau 26:** Profils antibiotypiques associés aux bactéries isolées de la chair.

Profils de résistance	Nombre des isolats				Nombre d'antibiotiques	Bactéries résistantes
	S1	S2	S3	S4		
AM	2	2	0	1	1	<i>Salmonella choleraesuis</i> spp. <i>arizonae</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i>
AM/TI	1	0	0	1	2	<i>E.coli</i>
AM/CF	0	0	1	0	2	<i>Citrobacter freundii</i>
AM/TI/CF	2	0	0	0	3	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia marcescens</i>

AM: ampicilline; TI: ticarcilline; CF: céfalotine

#### • Indice de Résistance Multiple aux antibiotiques (*MAR index*)

Les bactéries possédant un *MAR index* supérieur à 0.20 sont *Enterobacter cloacae* et *Serratia marcescens* (0.23). Les souches *Salmonella choleraesuis* spp. *arizonae*, *E.coli*, *Citrobacter freundii*, et *Enterobacter agglomerans* possèdent un *MAR index* compris entre 0.07 et 0.15.

### III. 7. Discussion

#### III.7.1. Examen externe et qualité bactériologique du carassin

Les poissons sont des descripteurs pertinents de la qualité des milieux à cause de leur grande sensibilité vis-à-vis des conditions environnementales, leur aptitude à bioaccumuler de nombreuses substances (métaux et organiques) et leur capacité à apporter de multiples réponses (au niveau des populations, des individus, des organes, voire des cellules) (Girard, 1998). C'est pourquoi, le poisson est intégré comme bioindicateur dans les programmes de surveillance avec 3 objectifs complémentaires : contrôle de la qualité alimentaire des poissons pour les consommateurs, surveillance de l'environnement et du suivi de la qualité de l'eau et des milieux aquatiques (habitats), et surveillance de l'état sanitaire des peuplements ichtyologiques (Girard & Elie, 2008).

L'état de santé des poissons est la résultante d'interactions entre l'environnement et le système « hôte-parasite » (où l'environnement est représenté par les facteurs physiques et chimiques, l'hôte est le poisson, et le parasite regroupe bactéries, virus et parasites « vrais »). La rupture de l'équilibre « hôte-parasite-environnement » se traduit chez les poissons par un processus d'adaptation : le stress. Le stress induit des perturbations physiologiques et provoque la diminution des défenses immunitaires et par conséquent la maladie (Girard & Elie, 2008). L'état de maladie se traduit, chez les poissons, par l'apparition: de mortalités (immédiates ou différées), de perturbations physiologiques et d'altérations tissulaires, avec comme conséquences, les plus courantes, des surinfections bactériennes ou mycosiques (Girard, 1998).

Le « Code pathologique » est un outil d'observation et de saisie des anomalies anatomo-morphologiques (= lésions) externes des poissons visibles à l'oeil nu. Il permet d'apprécier la condition sanitaire des peuplements de poissons dans un écosystème donné (Girard, 1998).

Dans la présente étude, et durant une période de sept mois (Novembre à Mai 2013), plus d'un millier de carassins communs peuplant les eaux du canal Messida sont examinés afin de déceler des lésions externes, 153 altérations pathologiques observées correspondent à des érosions, des nécroses, et des hémorragies. Les hémorragies représentent 24.18 % des

lésions observées; les érosions et les nécroses (peau et nageoires) représentent 75.82 % des lésions observées.

En se référant à la grille du code pathologique établie par Girard (1998), la santé des poissons du canal Messida est considérée comme précaire et la qualité des habitats est altérée puisque la prévalence globale des lésions observées est très nettement supérieure à 5%.

Pour expliquer l'apparition des lésions externes chez le carassin commun du canal Messida, plusieurs hypothèses ont été émises :

- Les érosions et les nécroses (peau, nageoires), peuvent être causées par les parasites externes, bactérioses, viroses, pollutions chimiques (métaux lourds), brûlures (UV), traumatismes, prédateurs et carences vitaminiques (biotine, inositol)
- Les hémorragies ont pour causes principales, les maladies infectieuses bactériennes, parasitisme, pollutions chimiques (hydrocarbures,  $\text{NH}_4^+$ ), irritations, et les carences en vitamine A.

Les lésions majoritairement observées au cours de notre période d'étude sont les érosions et les nécroses des nageoires. De nombreux facteurs, physiques, chimiques et biologiques, sont incriminés dans ce type d'altérations tégumentaires. Les érosions des nageoires semblent apparemment plus fréquentes chez les poissons vivants en milieu contaminés et proviennent probablement d'une détérioration de la qualité bactériologique et d'une contamination chimique du milieu (Uhland *et al.*, 2000 ; Saint-Jacques & Richard, 2002). Diverses bactéries sont également impliquées dans l'érosion des nageoires des poissons des eaux douces, notamment les genres *Flavobacterium* sp., *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. et *Vibrio* sp. (Christensen, 1980 ; Moller, 1981).

Nos résultats montrent que les stations S3 et S1 présentent les prévalences les plus élevées, ceci pourrait s'expliquer par la forte contamination fécale des eaux de ces stations. En effet, de fortes prévalences sont corrélées avec de fortes concentrations d'*Escherichia coli* dans l'eau (Christensen, 1980).

Cette méthode d'estimation de l'état de santé des peuplements de poissons est utilisée dans d'autres milieux d'interface ou lagunaires comme sur le site du They de Roustan (Girard, 2009) et dans l'étang du Pourra, mettant également en évidence une

variabilité interspécifique importante. Par exemple, dans l'étang du Pourra, l'état de santé des carpes est estimé dégradé, celui des perches-soleil et celui des anguilles bon (Girard, 2009). Sur la Gironde et dans les Marais vendéens, les codes pathologiques sont également intégrés aux diagnostics.

La détermination de la qualité bactériologique du poisson pêché (*Carassius carassius*) dans le canal Messida nécessite premièrement une connaissance de la qualité des eaux de ce canal (milieu de vie de ces poissons) ; d'après les résultats obtenus dans la première partie expérimentale de cette thèse, les eaux du canal Messida présentent un degré important de contamination bactériologique: forte contamination fécale, et présence des germes pathogènes. Ces résultats devraient nous mener à penser que les poissons peuplant ce canal peuvent être également contaminés.

Le dénombrement et la recherche de plusieurs groupes bactériens: flore totale cultivable, germes de contamination fécale, des pathogènes au niveau de trois parties du corps de *Carassius carassius* provenant directement du canal Messida, montrent que les trois parties sont, généralement, contaminées avec des degrés plus ou moins importants.

Le dénombrement de la flore totale cultivable dans un produit alimentaire reflète la qualité microbiologique générale du produit et permet d'en suivre l'évolution ; elle constitue de ce fait un indice de la qualité sanitaire (Anihouvi *et al.*, 2009). Les résultats du dénombrement de la flore totale cultivable de nos échantillons montrent que les trois parties du corps du carassin commun (branchie, mucus et chair) sont très contaminées avec des teneurs maximales dépassant  $9.9 \text{ Log}_{10} \text{ GT (UFC/g de branchies et/ou UFC/cm}^2 \text{ de mucus)}$  et  $4.6 \text{ Log}_{10} \text{ GT (UFC/g)}$  de la chair. Ces résultats peuvent nous donner une indication sur l'état de contamination élevée des poissons étudiés ; cette contamination pourrait s'expliquer par la forte contamination du milieu de vie (les eaux du canal Messida). Ceci est confirmé par la forte corrélation existante entre les GT dénombrés chez le carassin commun et les GT dénombrés dans les eaux du canal Messida ( $r_p = 0.82$ ). Le dénombrement de la flore totale cultivable reste une méthode d'appréciation de la qualité bactériologique des poissons étudiés ; mais leur nombre très élevé montre qu'il y'a un plus grand risque de trouver des bactéries pathogènes (Sandayigaya *et al.*, 1990).

Les résultats du dénombrement des CT au niveau des trois parties du carassin (branchie, mucus, et la chair), font apparaître des contaminations importantes par ce groupe

bactérien avec des teneurs maximales atteignant 6.13  $\text{Log}_{10}$  CT/g de branchie, 5.9  $\text{Log}_{10}$  CT/cm<sup>2</sup> de mucus et 3.89  $\text{Log}_{10}$  CT/g de la chair.

Les coliformes totaux sont d'origine intestinale ou environnementale ; leur présence dans les produits de la pêche indique une contamination de ces derniers (Diouf, 2011). Les analyses statistiques montrent que les teneurs des CT chez les poissons étudiés sont corrélées positivement (forte corrélation) avec les CT, CF et EC des eaux du canal ( $r_p = 0.91$ ,  $r_p = 0.85$ ,  $r_p = 0.89$  respectivement) ; ceci nous mène à penser que la majorité des CT des poissons sont d'origine fécale. Les valeurs maximales sont enregistrées au niveau des points S1 (branchie et mucus) et S2 (la chair) pendant la période pluvieuse. Cette forte contamination serait probablement due à la forte contamination bactériologique des eaux de ces stations durant la même période.

Les analyses bactériologiques des différentes parties du corps du carassin peuplant les eaux du canal Messida, font apparaître des contaminations importantes par les coliformes fécaux, avec des teneurs maximales de l'ordre de 5.3  $\text{Log}_{10}$  CF/g de branchies, 5.3  $\text{Log}_{10}$  CF/cm<sup>2</sup> de mucus, et 2.16  $\text{Log}_{10}$  CF/g de la chair, ces valeurs dépassent largement les valeurs guides fixées à 2  $\text{Log}_{10}$  CF/g de poisson selon les critères microbiologiques de la consommation des poissons frais (Jouve, 1996).

La contamination des poissons, en particulier, la chair, par les CF peut constituer un problème de santé publique, car ces germes peuvent entraîner la production de l'histamine, une amine biogène résistante à la chaleur et toxique pour l'homme (Huss, 2000). Par ailleurs, il est démontré que la formation d'histamine est favorisée lorsque les produits aquatiques sont conservés à des températures supérieures à 0 °C (Lipp & Rose, 1997 ; Emborg *et al.*, 2002).

En ce qui concerne les concentrations des *E. coli*, elles sont très importantes au niveau des branchies et des mucus (valeurs maximales atteignant 5.3  $\text{Log}_{10}$  EC/g et 3.36  $\text{Log}_{10}$  EC/cm<sup>2</sup> respectivement), ce qui reflète la contamination fécale de leur habitat (eaux du canal Messida) (Pal & Das Gupta, 1992 ; Niewolak & Tucholski, 1995). Le suivi de l'évolution d'*E.coli* au niveau de la chair a permis de révéler la présence de ces germes, ce qui constitue une indication d'une possible présence de microorganismes pathogènes (Dierauf & Gulland, 2001).

En se référant aux normes de salubrité des poissons ( $1 \text{ Log}_{10}$  germes/g) (Jouve, 1996), les teneurs d'*E.coli* peuvent constituer un problème sanitaire sérieux.

La présence d'une corrélation positive entre 'EC poisson', 'CF poisson' et 'CF eau' respectivement permet de révéler que la chair du poisson peut contenir des bactéries d'origine fécales lorsqu'il est capturé dans une zone polluée. Ces résultats sont conformes aux résultats rapportés par Fatal *et al.* (1994), Huss (2000), et Guzman *et al.* (2004).

Les streptocoques fécaux sont présents au niveau des branchies et du mucus du carassin commun pêché tout le long du canal Messida à des taux dépassant le seuil toléré ( $2 \text{ Log}_{10}$  SF/g) (Huss, 2000) et témoignent ainsi d'une pollution fécale d'origine animale puisque les SF sont parmi les flores intestinales dominantes chez les animaux herbivores domestiques (Rodier *et al.*, 2005), cette présence pourrait s'expliquer par la résistance de ces indicateurs de pollution (Gleeson & Gray, 1997). Les fortes teneurs en SF sont enregistrées chez les poissons pêchés de la station S3, ceci se justifie entre autre, par une forte contamination de cette station par les matières fécales des bovins et des ovins qui fréquentent le site.

La flore spécifique d'altération, étudiée à travers le dénombrement de la flore productrice d' $\text{H}_2\text{S}$  (ASR), est pratiquement absente dans toutes les parties du corps du carassin *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida.

La comparaison des niveaux de contamination des 3 compartiments étudiés montre que les branchies et le mucus sont les parties les plus contaminées. Ceci s'expliquerait par le fait que les branchies retiennent toutes les particules au cours de la respiration du poisson, car elles fonctionnent comme de véritables filtres retenant les bactéries présentes dans l'eau, par conséquent une eau fortement contaminée est à l'origine d'une présence importante de bactéries dans les branchies (Dieng *et al.*, 2013).

En ce qui concerne le mucus, sa forte contamination est due à sa colonisation par les bactéries présent dans l'environnement ; ces dernières colonisent largement les alvéoles des écailles (Huss, 1993). Zmysłowska *et al.* (2002) rapportent que le mucus des poissons contient généralement  $10^2$  à  $10^7$  bactéries/cm<sup>2</sup> de peau.

La chair de *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida est de mauvaise qualité bactériologique, selon Huss (1993), la chair d'un poisson sain, vivant ou fraîchement pêché est stérile, car le système immunitaire du poisson empêche les bactéries de se multiplier dans sa chair. Du fait que seul un nombre limité d'organismes envahit réellement la chair et que le développement microbien se situe essentiellement à la surface, la contamination de la chair des poissons étudiés s'avère, pour une grande part, être une conséquence de la diffusion des enzymes bactériennes dans la chair (Huss, 1993). Cependant, si les poissons sont stressés par exemple en raison du surpeuplement, de la mauvaise qualité de leur habitat, du manque d'hygiène au cours du transport ou au cours des manipulations les bactéries sont parfois en mesure de pénétrer dans la chair comestible, elles envahissent la chair en se déplaçant entre les fibres musculaires (Huss, 1993).

Les fortes contaminations bactériologiques sont, généralement, enregistrées chez les poissons pêchés dans la station S3 ; du fait de sa proximité d'une zone de pâturage ; cette dernière serait considérée comme une des principales sources de contamination des eaux par les contaminants fécaux (Crowther *et al.*, 2002 ; Hubbard *et al.*, 2004).

Il est important de rappeler que les épisodes de forte contamination des différents compartiments de *Carassius carassius* sont plus fréquemment observés pendant la période hivernale. Une dégradation de la qualité bactériologique des eaux du canal Messida est mise en évidence durant cette période ; un tel résultat indique que la zone de pêche a une influence notoire sur la contamination bactérienne du poisson. De nombreux auteurs rapportent que les bactéries présentes dans l'environnement, sont les premiers contaminants des poissons (Niewolak & Tucholski, 2000 ; El-Shafai *et al.*, 2004 ; Guzman *et al.*, 2004).

Afin de connaître les communautés bactériennes des différentes parties du corps du carassin commun *Carassius carassius* peuplant les eaux du canal Messida, nous avons isolé et identifié le maximum des souches bactériennes présentes dans les branchies, le mucus et la chair ; l'ensemble des milieux de culture utilisés dans la présente étude ont permis la croissance de 172 espèces bactériennes appartenant à différentes familles: *Enterobacteriaceae* (66.86 %), *Vibrionaceae* (19.77 %), *Micrococcaceae* (6.4%), *Pseudomonadaceae* (4.65 %), *Enterococcaceae* (1.16 %), et *Pasteurellaceae* (1.16%).

Les poissons se caractérisent par une diversité d'espèces très importante et une hétérogénéité des microflores autochtones dont la composition est liée principalement à l'origine des poissons et à leur environnement. Les travaux de Wilson *et al.* (2008), montrent que la flore

du poisson varie en fonction d'un certain nombre de facteurs, notamment la température, la zone de pêche, la saison, la salinité, la concentration en oxygène et le pH.

Plusieurs genres appartenant à la famille des *enterobacteriaceae* sont détectés dans les trois parties étudiées (branchie, mucus et chair). Ceci pourrait s'expliquer par la présence ubiquitaire des entérobactéries dans la nature ; ces derniers sont rencontrés dans la flore digestive de l'homme et des animaux, chez les végétaux, et dans l'environnement (sol et eau) (Cristian *et al.*, 2008). D'après nos résultats, *E.coli* représente l'espèce dominante avec un pourcentage de 22.1 %, suivi par *Citrobacter freundii* (11.05 %) et *Serratia marcescens* (6.98 %). Ces espèces sont détectées au niveau des trois compartiments. La présence de ces bactéries pathogènes opportunistes au niveau de la chair pourrait s'expliquer par une invasion microbienne qui s'est produite après capture. Les espèces pathogènes *Salmonella* spp., *Salmonella choleraesuis* spp. *arizonae* et *Klebsiella pneumoniae* spp. *ozaenae* sont également isolées des branchies.

Ces principaux genres ont été mis en évidence chez les poissons par Minette (1986) et Shotts (1987). Selon Weir *et al.* (2012) la présence des entérobactéries ne signifie pas l'infection des poissons ; toutefois le genre *Salmonella* est le plus souvent à l'origine des salmonelloses chez des poissons vivant dans des aquariums. Il est par ailleurs rapporté que la consommation des poissons d'eau douce contaminés par *Salmonella* et *E.coli* provoque des maladies digestives (Piérard *et al.*, 1999; Terajima *et al.*, 1999; McCoy *et al.*, 2011).

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* spp. *ozaenae*, responsable d'une infection des voies respiratoires qui conduit à une nécrose, est également isolées chez des poissons pêchés à la main (Reagan *et al.*, 1990). Des infections à *Serratia marcescens* sont rapportées chez la perche blanche *Morone americana* par Baya *et al.* (1992) et chez le requin *Sphyrna tiburo* par Camus *et al.* (2013). D'après Nawaz *et al.* (2008), le poisson-chat pêché dans des étangs de l'Arkansas, de Louisiana et du Texas pourrait servir de réservoir de *Citrobacter freundii*.

Dans la présente étude, les vibrions sont présents à un taux de 1.54 % dans les branchies alors que l'espèce *Aeromonas hydrophila* est présente avec un taux plus élevé (de l'ordre de 18.02 %) au niveau des branchies et du mucus.

Deux espèces de *Vibrio* sont détectées : *Vibrio fluvialis* et *Vibrio alginolyticus*. Ces espèces sont considérées comme les espèces les plus fréquentes pouvant vivre librement dans l'eau et les sédiments et pouvant survivre dans l'eau de mer, même dans des conditions de stress

tout en conservant leur virulence (Mustapha *et al.*, 2013). Ces espèces peuvent causer une vibriose des poissons, septicémie et lésions chroniques (ulcères buccaux, cutanés et foyers nécrotiques internes) (Austin, 2010).

La détection d'une fréquence élevée d'*Aeromonas hydrophila* dans le carassin commun est liée à sa biologie. En effet, Cette espèce est ubiquiste, elle est plus fréquente aussi bien dans les eaux marines que dans les eaux douces. Cette bactérie montre une répartition géographique mondiale dans les eaux douces, les eaux de faible salinité, et les sédiments ; d'une manière générale l'environnement aquatique constitue l'habitat principal de ce germe (Janda & Abbott, 2010). De nombreux travaux montrent l'isolement d'*A. hydrophila* à partir des poissons d'eau douce (Lewandowska *et al.*, 2002 ; Harnisz & Tucholski, 2010 ; Shao-wu *et al.*, 2013 ; Harresh *et al.*, 2014). Actuellement, *A. hydrophila* est reconnue comme une bactérie responsable de pathologies septicémiques chez les poissons ; elle affecte plusieurs espèces telle que la Carpe de roseau *Ctenopharyngodon idella* (Wang & Wang, 1997), le poisson rouge *Carassius auratus* (Harikrishnan *et al.*, 2010), et la carpe commune *Cyprinus carpio* (Shao-wu *et al.*, 2013). D'après Weir *et al.* (2012) *Aeromonas* est la bactérie zoonotique la plus isolée chez les poissons ornementaux.

Nos résultats montrent que la famille des *Micrococcaceae* est représentée par trois espèces : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus epidermidis*, la première est isolée à partir des branchies et les deux autres ont été isolées à partir du mucus.

La présence d'espèces du genre *Staphylococcus* est due au caractère ubiquiste de ces bactéries ; elles sont très répandues dans la nature (eau, sol, et air) mais nous pouvant aussi les trouver sur la peau des humains et des animaux (Cristian *et al.*, 2008).

Nemetz & Shotts (1993), rapportent que ces espèces ont été isolées durant des épidémies qui se sont déclarées dans des sites d'élevage de poissons, mais leur rôle pathogène est peu clair ; généralement ces bactéries ne sont pas considérées comme des agents de maladie de poisson

Le genre *Pseudomonas* est très répandue dans la nature. Nos analyses nous ont permis d'isoler trois espèces : *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas aeruginosa* à partir du mucus. Harnisz (2002) trouve que la peau des poissons

est colonisée habituellement par des bactéries Gram négative des genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, et *Flavobacterium*.

Le genre *Pseudomonas* est responsable des infections de la peau des poissons comme la furonculose. Ces infections sont souvent accompagnées de pourriture des nageoires, d'exophtalmie (œil sorti de l'orbite) ou parfois d'atteinte des organes internes comme le foie (souvent fatale). Elles peuvent également se manifester par des ulcères (Coignet, 2014).

*Pseudomonas luteola* est un pathogène opportuniste, qui peut provoquer une bactériémie chez les humains et les animaux (Gabaldon *et al.*, 2013 ; Wen *et al.*, 2013). D'après la littérature, ce germe est isolé en aquaculture chez la truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*), il est responsables des pigmentations noires et hémorragiques au niveau de la nageoire pectorale, la nageoire pelvienne et anale (Altinok *et al.*, 2007).

*Pseudomonas fluorescens* est un agent de nécrose et d'hémorragie chez une variété de poissons d'eau douce et marins (Austin & Austin, 2007). Quand à *Pseudomonas aeruginosa*, elle est responsable d'un certain nombre d'infections opportunistes et nosocomiales chez l'homme (Master *et al.*, 2011). Cette bactérie est isolée chez des poissons par Leung *et al.* (1992), mais la transmission d'une maladie zoonotique de cet agent du poisson à l'humain n'est pas rapportée.

Les entérocoques sont de nature ubiquiste, ils sont retrouvés dans différents écosystèmes : eau douce, eau de mer, eaux usées, sol, végétaux, et souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux (Galvez *et al.*, 2012). La détection d'*Enterococcus faecium* au niveau des branchies du carassin commun est probablement liée à la présence de ces bactéries dans l'environnement. En effet, *E. faecium* est isolé par Sanchez-Paz *et al.* (2003), Kanmani *et al.* (2011), et Kumar *et al.* (2011) dans des poissons et de fruits de mer. Sica *et al.* (2010) et Jini (2011) notent que cette espèce est retrouvée dans la flore intestinale des poissons d'eau douce, notamment la truite brune *Salmo trutta*.

Une *Pasteurella* spp. a été isolée à partir des branchies du carassin commun, la présence de ce genre bactérien pourrait s'expliquer par le fait que c'est une bactérie commensale des muqueuses des animaux domestiques et sauvages (mammifères, oiseaux, poissons et fruits de mer). Les espèces reconnues pathogènes pour les poissons sont *Pasteurella piscicida* et *Pasteurella multocida* ; elles causent des pasteurelloses caractérisées par des hémorragies autour de l'operculum, de la bouche et des nageoires.

La pasteurellose est signalée chez plusieurs espèces de poissons marins: perche blanche (*Morone americanus*), bar d'Amérique (*Morone saxatilis*), menhaden (*Brevoortia tyrannus*) et mulot (*Mugil cephalus*). Plusieurs autres espèces de poissons marins d'importance économique pour l'aquaculture sont aussi sensibles: seriole (*Seriola quinqueradiata*), ayu (*Plecoglossus altivelis*), dorade du Japon (*Pagrus major*), et dorade royale (*Sparus aurata*) (Torenzo *et al.*, 1991 ; Magarifios *et al.*, 1994b ; Romalde *et al.*, 1999).

D'après les résultats de l'étude de la qualité bactériologique du carassin commun *Carassius carassius*, il ressort que la mauvaise qualité des eaux du canal Messida a un impact néfaste sur la santé des carassins communs peuplant ce site. Cette étude montre, que la qualité microbiologique de ces poissons est non satisfaisante, donc leur consommation peut être à l'origine de problèmes sanitaires sérieux.

### **III.7.2. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux et du poisson**

Le développement de la résistance aux antibiotiques est un problème global qui nécessite des actions de recherche et de surveillance notamment au niveau de l'environnement.

L'antibio-résistance a concerné 328 souches isolées des eaux du canal Messida et 172 souches provenant de différentes parties du corps du carassin commun *Carassius carassius* peuplant ce canal.

Les résultats obtenus, montrent que les pourcentages de résistance en fonction des antibiotiques testés varient, selon les différentes origines, de 0 à 100%.

Des souches résistantes à l'ampicilline, la ticarcilline, céfalotine, céfotaxime, tetracycline, gentamycine, amikacine, chloramphénicol, ciprofloxacine, acide nalidixique, nitrofurane, et fosfomycine sont observées aussi bien sur les souches d'origine aquatique qu'animale (poisson). Par ailleurs, sur l'ensemble des souches testées, aucune n'est résistante à l'imipénème.

En comparant les stations d'échantillonnage, le plus grand nombre de souches multi-résistantes est trouvé dans les stations S3 et S1 pour les souches aquatiques (88.4 % et 70 % respectivement), dans la station S3 pour les souches isolées à partir du mucus (87.5%), et

dans la station S4 pour les souches isolées à partir des branchies (100%). Toutefois, la multi-résistance n'est pas retrouvée chez les souches isolées à partir de la chair.

L'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques est la conséquence de la pression de sélection exercée sur le microbiote intestinal des hommes et des animaux sous antibiothérapie. Une fois rejetées dans les eaux, les bactéries fécales résistantes aux antibiotiques et les gènes correspondants contribueraient à enrichir le résistome (ensemble des gènes de résistance) des communautés autochtones de l'environnement, notamment en disséminant ces gènes par transfert horizontal et/ou transposition (Wright, 2007). Par conséquent, la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans la colonne d'eau et dans les sédiments peut affecter la qualité de l'eau mais aussi contribuer au transfert horizontal de gènes (HGT) entre les bactéries, ce qui implique la diffusion généralisée de gènes résistants aux antibiotiques (Kümmerer, 2004; Demanèche *et al.*, 2008; Thevenon *et al.*, 2012).

Plusieurs études montrent que les bactéries résistantes aux antibiotiques isolées à partir des eaux sont le plus souvent rencontrées chez les animaux d'élevage (Liebana *et al.*, 2006; Mesa *et al.*, 2006), les animaux de compagnie (Wieler *et al.*, 2011 ; Dahmen *et al.*, 2013) et les animaux sauvages (Guenther *et al.*, 2011). Certains auteurs rapportent qu'aux abords d'un étang en République Tchèque, des souches bactériennes antibio-résistantes sont isolées des excréments d'oiseaux marins (Dolejská *et al.*, 2009 ; Simões *et al.*, 2010) ; ce qui montre que ces souches sont implantées dans ces écosystèmes. D'autres études montrent que les ruminants domestiques sont le principal réservoir animal, particulièrement les bovins (Gyles, 2007) et, à un moindre degré, les moutons et probablement les chèvres (La Ragione, 2009).

Un autre réacteur biologique contribuerait à l'émergence des bactéries MAR dans les écosystèmes aquatiques : les eaux usées, les effluents d'élevage et les résidus biologiques provenant des réacteurs précédents ; le mélange entre bactéries commensales et environnementales d'une part, et bactéries résistantes et sensibles d'autre part augmentent la probabilité des échanges entre bactéries, et par conséquent la dissémination de l'antibio-résistance (Wright, 2010). Machado *et al.* (2009) rapportent que des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à large spectre sont présentes dans des échantillons d'eau prélevés dans la rivière Sousa et au niveau de la côte de Porto, au Portugal, à proximité de points de déversement d'eaux usées (Machado *et al.*, 2009).

En Irlande, des bactéries antibio-résistantes sont retrouvées dans des effluents traités se déversant dans la mer (Galvin *et al.*, 2010). Dans une étude espagnole, les eaux de rivières prélevées en aval d'un point de versement d'effluents de stations d'épuration contenaient plus d'entérobactéries et de souches d'*Aeromonas* sp. résistantes aux antibiotiques que les eaux situées en amont de ce point de versement (Goñi-Urriza *et al.*, 2000).

Nous pouvons donc dire que la dissémination de plusieurs bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux du canal Messida peut être liée d'une part à une résistance intrinsèque, et d'autre part à une résistance acquise qui est due à un réacteur biologique dans lequel les échanges génétiques et les événements de recombinaison, influencés par les conditions biotiques et abiotiques, profilent l'évolution de l'antibio-résistance (Baquero *et al.*, 2008).

La présence des bactéries antibio-résistantes au niveau des différentes parties du corps du carassin *Carassius carassius* est probablement liée à la présence de ces bactéries dans les eaux du canal Messida (leur milieu de vie); Il est rapporté que les bactéries résistantes aux antibiotiques retrouvées dans les écosystèmes aquatiques, colonisent les poissons, et peuvent être responsables de plusieurs infections très sérieuses chez ces organismes (Schmidt *et al.*, 2000 ; Austin & Austin, 2007).

La présence de souches multi-résistantes dans les eaux de surface et chez les poissons est décrite dans plusieurs études ; la présence des souches d'*E.coli* multi-résistantes dans les eaux de surfaces de la rivière St. Clair, et la rivière de Detroit (Hamelin *et al.*, 2006), dans les eaux de baignade des Grands Lacs au Canada et dans les eaux d'estuaires recueillies en Australie (Hamelin *et al.*, 2007 ; Masters *et al.*, 2011). La multi-résistance est aussi retrouvée chez des souches d'*Enterobacteriaceae* isolées à partir des eaux de rivières en Turquie et au Bangladesh (Toroglu *et al.*, 2005; Zahid *et al.*, 2009). La présence de plusieurs groupes bactériens multi-résistants dans des eaux d'aquaculture est signalée par Schmidt *et al.* (2001), et Sorum (2006). Nombreuses études révèlent la présence de bactéries antibio-résistantes chez les poissons (Teuber, 2001, Alcaide *et al.*, 2005; Phuong *et al.*, 2005 ; Nawaz *et al.*, 2006; Jacobs & Rhenia, 2007 ; Sarter *et al.*, 2007).

Nos résultats montrent des résistances très élevées à l'ampicilline, et à la ticarcilline (quelque soit l'origine de la souche) ; par ailleurs, un nombre non négligeable de souches sont résistantes à la céfalotine et au céfotaxime.

Ces résultats s'expliqueraient par l'utilisation massive de ces antibiotiques dans la région d'étude. L'administration de bêta-lactamines est signalée depuis assez longtemps, ce groupe a connu une évolution rapide ces dernières années et il est très utilisé en médecine humaine et vétérinaire (Paterson & Bonomo, 2005 ; Eisner *et al.*, 2006). En effet, les  $\beta$ -lactamines représentent 8 % des ventes d'antibiotiques à usage vétérinaire avec seulement 0,64 % de céphalosporines dont une grande majorité est destinée aux animaux de compagnie (Moulin *et al.*, 2008).

Des études récentes démontrent l'émergence des bactéries résistantes aux  $\beta$ -lactamines dans les eaux des rivières et des lacs (Lu *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2013; Zurfluh *et al.*, 2013; Tacao *et al.*, 2014).

En chine, Tao *et al.*, (2010) montrent que les bactéries à Gram négative isolées à partir des eaux de la rivière Pearl sont fréquemment résistante aux  $\beta$ -lactamines. En revanche, Goni-Urriza *et al.* (2000) signalent, dans les eaux de la rivière Arga en Espagne, que seulement 20% des entérobactéries sont résistantes aux  $\beta$ -lactamines.

Il est intéressant de relever qu'un nombre important de souches isolées de l'eau, des branchies et du mucus présente des résistances élevées à la tétracycline, au chloramphénicol et à la ciprofloxacine.

Harniz (2013) et DePaola *et al.* (1995) suggèrent que la présence des bactéries résistantes à la tétracycline peut être liée aux stress anthropogénique et à l'utilisation de ces antibiotiques. Aux USA, DePaola *et al.* (1995) montrent que toutes les souches d'*E.coli* isolées des poissons des étangs, sont résistantes au chloramphénicol et seulement 11.1% sont résistantes à l'ampicilline. Par contre, McPhearson *et al.* (1991) montrent que 100% de 38 *E. coli* isolées des eaux des étangs et du poisson-chat sont résistantes à la tétracycline. Phuong *et al.* (2005) ont testé 123 bactéries isolées des eaux, sédiments et poissons de la rivière Province, ils ont montré que 90% des isolats étaient résistants à la tétracycline, 76% à l'ampicilline, 100% au chloramphénicol, et 65% au nitrofurantoïne.

Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre utilisé en médecine humaine. En Europe, il est interdit d'utilisation pour les animaux destinés à la consommation, depuis

1994. Les résidus de chloramphénicol sont réputés être cancérigènes et provoquer des troubles génétiques (Faure, 2009). Nos résultats montrent des taux importants de résistance à cet antibiotique chez les bactéries isolées aussi bien à partir de l'eau que du carassin commun, ce qui peut constituer un risque réel pour la santé

Des taux élevés de résistance au chloramphénicol sont rapportés dans l'étude de Michel *et al.* (2003), ces derniers notent que 80% des souches isolées de la truite commune (*Salmo trutta fario*) et du saumon atlantique (*Salmo salar*), sont résistantes à cet antibiotique.

La ciprofloxacine est un fluoroquinolone qui a un large spectre (comprend les entérobactéries, le bacille Pyocyanique, *l'Acinetobacter*, *Legionella*, *Haemophilus*, staphylocoques et certaines cocci à Gram positif). Il diffuse très peu dans l'organisme et est éliminé par les urines. Selon Ena *et al.* (1998), la résistance à la ciprofloxacine est due à une augmentation de l'efflux de cet antibiotique ou à une modification ou une substitution de sa cible. Plusieurs travaux rapportent l'importance des différentes pompes d'efflux dans la résistance aux fluoroquinolones (Hirsch & Tam, 2010 ; Nikaido & Pagès, 2011).

Des résistances significatives des souches isolées vis-à-vis des aminosides (gentamycine et amikacine) sont démontrées dans le cadre de cette étude. Les germes à Gram négatifs, en particulier les entérobactéries résistent aux aminosides grâce à des mutations qui affectent le système actif de transport entraînant une diminution de l'accumulation d'antibiotique dans la cellule, diminution de l'affinité du ribosome pour l'antibiotique ou grâce à une modification enzymatique des aminosides méditée par les plasmides, ce dernier constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le plus fréquemment rencontrés en clinique (Faure, 2009).

Nos résultats montrent qu'aucune souche ne présente une résistance aux carbapénèmes (imipénème). Ces antibiotiques constituent actuellement la classe d'antibiotiques à large spectre de dernier recours vis-à-vis des bactéries à Gram négatif multi-résistantes (Faure, 2009).

La majorité des entérobactéries isolées (d'origine aquatique et animale) est multi-résistante, leurs niveaux de résistance sont élevés notamment, aux  $\beta$ -lactamines, à la tétracycline, à la ciprofloxacine et au chloramphénicol particulièrement chez *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, et *E. coli*.

Cette multi-résistance des entérobactéries pourrait s'expliquer par la plasticité de leur génome ; elles échangeraient régulièrement des informations génétiques entre elles ou avec d'autres bactéries présentes dans leur environnement. Ces transferts de gènes peuvent aboutir à l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques portés par des éléments génétiques mobiles qui constituent de véritables véhicules de la résistance (Wellington *et al.*, 2013).

Les travaux d'Allen *et al.* (2010) et Machado *et al.* (2009) démontrent la dissémination des entérobactéries multi-résistantes dans plusieurs milieux aquatiques. Il en est de même dans l'étude réalisée par Martel *et al.* (2001) ; ces derniers notent des résistances très élevées sur des souches d'*E. coli* d'origine bovine vis-à-vis de l'ampicilline, du chloramphénicol, et de la tétracycline. Par ailleurs, la résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) est signalée par Takasu *et al.* (2011) et Walsh & Duffy (2013).

Il est très important de signaler la résistance des entérobactéries pathogènes : *Salmonella* et *Shigella*. D'après nos résultats, la multi-résistance à trois classes d'antibiotiques est le caractère commun pour ces souches, en revanche, elles restent sensibles à un nombre important d'antibiotiques tels que l'imipénème, gentamycine, amikacine, nitrofurane et fosfomycine. L'émergence des salmonelles dans les eaux de surface est démontrée par Palhares *et al.* (2014) qui notent la présence de 18% de salmonelles multi-résistantes dans la rivière Pinhal au Brésil. Par ailleurs, Peak *et al.* (2007) montrent une corrélation positive entre l'utilisation des antibiotiques et l'abondance de ces bactéries dans les eaux de surface.

*Aeromonas hydrophila* espèce aérobie prédominante dans cette étude (14.63% dans les eaux du canal et 22.03% dans les branchies du carassin commun) montre pour la plupart des isolats 9 antibiotypes différents. Ce germe a une résistance aux  $\beta$ -lactamines, aux tétracyclines, aux aminosides et au chloramphénicol. Les mêmes résultats sont rapportés dans l'étude de Cizek *et al.* (2010), sur 72 *Aeromonas*, 50% sont résistantes aux tétracyclines, 25% à la ciprofloxacine, et 7% au chloramphénicol. Or, d'autres travaux de Lakhal (2003) et Dellali (2001) montrent que les souches d'*Aeromonas* isolées des eaux, sédiments et bivalves, sont résistantes aux aminosides, et aux céphalosporines. Pour ces germes, la résistance aux bêta-lactamines se caractérise par une grande hétérogénéité inter et intra spécifique (Freney *et al.*, 2000).

En ce qui concerne les vibrions, la souche *Vibrio cholerae* (isolée à partir de l'eau) présente une résistance à 6 antibiotiques alors que *Vibrio alginolyticus* (isolée à partir des branchies) est résistante à 2 antibiotiques, et *V. fluvialis* (isolée à partir des branchies) présentent 2 profils, une résistance à 3 et à 4 antibiotiques. Ces germes présentent des résistances différentes, selon Freney *et al.* (2000), *V. alginolyticus* est très résistant à l'ampicilline, carbénicilline et triméthoprime. Garg *et al.* (2001) rapportent que *V. cholerae* est résistant au fluoroquinolones et à l'acide nalidixique. D'autres études détectent différentes espèces de *Vibrio* résistantes à des antibiotiques communs dans les produits de la pêches (Tendecia & de la Peña, 2001; Vaseeharan *et al.*, 2005).

Des profils de résistances aux antibiotiques proches de ceux retrouvés dans le cadre de cette étude sont rapportés par Han *et al.* (2007) et par Yano *et al.* (2014).

Notre étude montre que l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* isolée des différents échantillons présente des résistances à 8 antibiotiques. *Pseudomonas fluorescens* présente également différents profils ; les antibiogrammes révélés comptent des résistances allant de 3 à 6 antibiotiques. Les deux espèces sont résistantes principalement aux  $\beta$ -lactamines, à la ciprofloxacine, à l'acide nalidixique et à la tétracycline. D'après Berche *et al.* (1996), ces espèces sont naturellement résistantes aux antibiotiques suivants : aminosides, colistine, pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés), céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération, chloramphénicol et tétracycline. Plusieurs études montrent la présence de *P.aeruginosa* et *P.fluorescens* antibio-résistantes dans des eaux de surface (Sasaki *et al.*, 2002, Pirnay *et al.*, 2005 ; Harnisz *et al.*, 2011 ; Vaz-Moreira *et al.*, 2012), et chez les poissons (Furushita *et al.*, 2003 ; Kawanishi *et al.*, 2005; Nawaz *et al.*, 2009; Ndi & Barton, 2011).

La souche *Pseudomonas luteola* isolée du mucus mérite une attention particulière, elle présente un profil à 9 ATB (AM/TI/CF/TE/GM/CIP/NA/NIT/FOS).

Peu de données existent quant à la prévalence de ces souches dans ce réservoir puisque la plupart des études sont effectuées sur des isolats cliniques.

Cependant, ces souches restent un danger pour la santé publique en raison de leur croissance rapide et de la plasticité de leur génome. Les souches de *P. luteola* isolées en médecine humaine présentaient des résistances vis-à-vis de céphalosporines (céfalotine, céfoxitine, céfamandole, céfotaxime), amikacine, tétracycline, ampicilline, imipénème, et gentamycine (Uy *et al.*, 2007 ; Gaschet *et al.*, 2009 ; De *et al.*, 2010 ; Ngoh *et al.*, 2011).

Pour la résistance des espèces à Gram positif, 10 profils antibiotypiques sont détectés, l'espèce *Staphylococcus aureus* isolée des eaux du canal est l'espèce qui présente la plus haute fréquence de résistance ; elle montre une résistance à 10 antibiotiques (ampicilline, céfalotine, céfotaxime, tétracycline, gentamycine, amikacine, chloramphénicol, ciprofloxacine, l'acide nalidixique et fosfomycine). Par ailleurs, une étude réalisée par [Faria et al. \(2009\)](#) rapporte que toutes les souches de staphylocoques isolées des eaux usées et des eaux potables sont résistantes aux beta-lactamines, tétracycline, et érythromycine. Une autre étude libanaise révèle la présence de 45% de *S. aureus* multi-résistante dans les eaux de surfaces et 54.8% dans les eaux de mer ([Harakeh et al., 2006](#)).

Le calcul de l'indice de la Résistance Multiple aux antibiotiques montre que la majorité des *MAR index* enregistrés dans les eaux du canal Messida ainsi que dans les différentes parties du corps du carassin *Carassius carassius* est supérieure à 0.20. Ces résultats suggèrent que la communauté bactérienne étudiée est exposée à une importante source de contamination d'origine humaine ou animale où les antibiotiques sont utilisés fréquemment. Actuellement, les principaux antibiotiques utilisés en médecine humaine, et dans le secteur de l'élevage sont les  $\beta$ -lactamines, les quinolones, les aminosides, les sulfamides, et les tétracyclines ([Schmidt et al., 2000](#) ; [Phuong et al. 2005](#)). Ces molécules qui sont régulièrement retrouvées dans des écosystèmes naturels, peuvent jouer un rôle dans la sélection des bactéries multi-résistantes. Cette contamination de l'environnement par les antibiotiques peut survenir de plusieurs manières, la première étant la contamination directe de l'environnement des élevages de bétails dans lesquels les antibiotiques sont utilisés et le deuxième mode de contamination se fait via les égouts. En effet, les antibiotiques utilisés en médecine humaine et leurs métabolites sont évacués dans les égouts et peuvent être retrouvés dans les boues et les effluents des stations d'épuration ([Michael et al., 2013](#)) qui peuvent eux-mêmes être utilisés pour l'arrosage ou la fertilisation des terres agricoles. Ces antibiotiques sont ensuite retrouvés dans les eaux de surfaces ou les eaux souterraines ([Boxall et al., 2012](#) ; [Wellington et al., 2013](#)) où ils peuvent favoriser l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes.

L'émergence de la résistance dans un écosystème donné est un phénomène complexe qui ne repose pas uniquement sur la diffusion d'un clone bactérien résistant mais également sur la diffusion d'éléments génétiques mobiles et de gènes de résistance qui constituent un véritable pool de résistance accessible à une grande variété de souches bactériennes.

Les activités humaines favorisent l'émergence de certaines bactéries multi-résistantes dans l'environnement en y introduisant des bactéries multi-résistantes qui enrichissent le pool de résistance (Gatica & Cytryn, 2013 ; Wellington *et al.*, 2013).

# **IV. Conclusion et perspectives**

## Conclusion

Le canal Messida présente un intérêt écologique très important du fait qu'il serve à divers usages. Pour cela, il mérite une attention toute particulière, du fait de la forte pression anthropique qui menace son intégrité.

Les résultats de l'étude de la qualité des eaux du canal Messida et leur impact sur la santé animale et publique, permettent de tirer les conclusions suivantes :

- L'atteinte par l'oxygène dissous, la chlorophylle *a*, les nitrites et les orthophosphates, de valeurs critiques surtout en période printanière et estivale ;
- Les eaux des stations situées dans la partie Sud du canal présentent de plus fortes charges en contaminants fécaux que celle située dans la partie Nord.
- Lors de périodes pluvieuses les eaux du canal Messida montrent une hausse de l'ensemble des indicateurs de contamination.
- La contamination aussi bien physico-chimique que bactériologique des eaux du canal est la résultante des diverses activités anthropiques dont le bassin versant est le siège.
- La température, le pH, l'oxygène dissous et la salinité sont les facteurs abiotiques ayant le plus d'impact sur la présence et la répartition des contaminants.
- La forte contamination bactériologique des branchies, du mucus et de la chair ainsi que les syndromes érosifs et nécrotiques observés chez le carassin commun reflètent bien la mauvaise qualité des eaux du canal Messida.
- La présence dans les eaux du canal de souches potentiellement pathogènes et multi-résistantes aux antibiotiques pouvant être à l'origine de la propagation de maladies hydriques. Car il est utile de rappeler que la voie environnementale est une source de contamination, d'une part, pour les animaux, chez lesquels elle se manifeste par portage asymptomatique, et d'autre part, pour les hommes, chez lesquels elle est responsable d'infections graves.
- L'importante fréquence des souches multi-résistantes à divers antibiotiques spécifiquement aux  $\beta$ -lactamines, aux aminosides, aux tétracyclines, et aux fluoroquinolones.
- Nos résultats suggèrent que le canal Messida pourrait être l'un des principaux réservoirs où s'effectueraient de nombreux échanges de gènes à l'origine de l'émergence de pathogènes antibio-résistants.

## **Perspectives**

Il serait judicieux :

- D'identifier les sources de pollution afin de mettre en place des mesures préventives et/ou correctives.
- De mettre en place un réseau de surveillance des eaux superficielles qui s'occupe du suivi des paramètres physico-chimiques et bactériologiques permettant un contrôle continu de la pollution.
- D'assurer un contrôle sanitaire et bactériologique rigoureux et régulier des poissons pêchés dans les cours d'eau.
- De déterminer les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques et de comparer les souches isolées des eaux et de la faune sur la base de leur groupe phylogénétique.
- De maîtriser la diffusion des souches multi-résistantes et étudier le comportement de molécules antimicrobiennes dans l'environnement.
- De sensibiliser les populations sur les impacts négatifs de la pollution des écosystèmes aquatiques sur la santé humaine et environnementale.

# **V. Références bibliographiques**

## A

- Abdiouene A. (1998). « Études des zones périphériques des zones humides dans le parc national d'El Kala ». Projet GEF/Banque mondiale, ANN, Alger, 33 p.
- Aboukacem A. (2007). Étude hydrobiologique comparative des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès. Impact sur la Santé et l'Environnement. Thèse d'état, Fac. Sciences. Meknès (Maroc).
- AESN. (2009). Les métaux dans le bassin de la Seine, comprendre d'où proviennent et comment circulent les métaux dans un bassin versant fortement exposé aux pressions humaines, Agence de l'Eau Seine-Normandie, Nanterre. pp. 57.
- Alam M., Sultana M., Nair G.B., Sack R.B., Sack D.A., Siddique A.K., Ali A., Huq A., & Colwell R.R. (2006). Toxigenic *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Mathbaria, Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 2849–2855.
- Albrich W.C., Monnet D.L., & Harbarth S. (2004). Antibiotic selection pressure and resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. *Emerg. Infect. Dis. Mar.* 10 (3): 514-7.
- Alcaide E., Blasco M.D., & Estere C. (2005). Occurrence of drug-resistant bacteria in two European eel farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 : 3348–3350.
- Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., & Handelsman J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat. Rev. Micro* 8 (4): 251-259.
- Altinok I., Balta F., Capkin E., & Kayis S. (2007). Disease of rainbow trout caused by *Pseudomonas luteola*. *Aquaculture.* 273 : 393–397.
- Altinok S., and Kayis E., & Capkin E. (2006). *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. *Aquaculture.* 26: 850–855
- Ambioterra Groupe. (2010). Analyses physicochimiques et microbiologiques de l'eau de la rivière des Anglais et de ses tributaires. Projet Le fouille-roche gris: une espèce à protéger! Rapport Par le Groupe Ambioterra.
- Aminot A., & Chausspied M. (1983). Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO, Brest. 395p.
- Aminot A., & Kérouel R. (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ifremer. p :155-276.
- Andersson D. I., & Hughes D. (2010). Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology.* 8(4) : 260–271.
- Anihouvi V.B., Sakyi-Dawson E., Ayernor G.S., & Hounhouigan J.D. (2009). Biochemical changes and aroma development during the spontaneous fermentation of cassava fish into lanhouin and their influence on product acceptability. *Aquatic Food Product Technology.* 18: 370-384.
- Anras L., & Guesdon S. (2007). Hydrologie des marais littoraux - Mesures physicochimiques de terrain. Collection "Marais Mode d'emploi". Ed. Forum des Marais Atlantiques. 76 p.

Ansa-Asare O.D., Marr I.L., & Cresser M.T. (1999). Evaluation of cycling patterns of dissolved oxygen in a tropical lake as an indicator of biodegradable organic pollution. *Sci. Total Environ.* 231: 145-158.

Antoine Y.W.S., & Bowker D. (1996). Hydrological characteristics of the River Taff, South Wales, U.K. *Limnologica.* 26 : 217-233.

Ashbolt N.J., Grabow W.O.K., & Snozzi M. (2001). Indicators of microbial water quality. In: Fewtrell L., & Bartram J. (Eds): World Health Organization (WHO). Water Quality: Guidelines, Standards and Health. London, IWA Publishing. P : 289-315.

Aslan-Yilmaz A., Okus E., & Övez S. (2004). Bacteriological indicators of anthropogenic impact prior to and during the recovery of water quality in an extremely polluted estuary, Golden Horn, Turkey, Mar. *Pollut. Bull.* 49: 951-958.

Austin B. (2010). Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary Microbiology.* 140: 310-317.

Austin B., & Austin D. (2007). Bacterial Fish Pathogens; Diseases of Farmed and Wild Fish. Praxis Publishing, Chichester, UK.

Avril J. L., Denis F., Dabernat H., & Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. *Ellipses, 3eme édition, France.* P : 6-417.

## B

Baggi F., Demarta A., & Peduzzi R. (2001). Persistence of viral pathogens and bacteriophages during sewage treatment: lack of correlation with indicator bacteria. *Research in Microbiology.* 152 (8) : 743-751.

Baldwin D.S., & Mitchell A.M. (2000). The effects of drying and re-flooding on the sediment and soil nutrient dynamics of lowland river-floodplain systems : A synthesis. *Regulated Rivers -Research & Management.* 16 (5): 457-467.

Baquero F., Alvarez-Ortega C., & Martinez J.L. (2009). Ecology and evolution of antibiotic resistance. *Environmental Microbiology Reports.* 1 (6): 469-476.

Baquero F., Martínez J., & Cantón R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 260–265.

Barillier A., Garnier J., & Coste M. (1993). Experimental reservoir water release: impact on the water quality on a river 60 Km down stream (upper Seine River, France). *Water Res.* 27: 635-643.

Basilico L., Staub P-F., & Perceval O. (2013). La contamination chimique des milieux aquatiques Outils et méthodes pour le diagnostic et l'action. Synthèse du séminaire Surveiller, évaluer et réduire les contaminations chimiques des milieux aquatiques des 17 et 18 juin 2013. Les rencontres de l'ONEMA. 67p.

Bauer A., Kirby W., Sherris W., & Turk M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standard single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493–496.

Baya A.M., Toranzo A.E., Lupiani B., Santos Y., & Hetrick F.M. (1992). *Serratia marcescens*: A potential pathogen for fish. *Journal of Fish Diseases.* 15:15–26.

- Belhadj G. (1996). « Contribution à la cartographie des ornithocènes en Algérie : *Atlas de l'avifaune nicheuse du parc national d'El Kala* ». Thèse de magister, Alger, INA. 200 p.
- Bendschneider K., Robinson R.J. (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* 11: 87-96.
- Ben Moussa A., Chahlaoui A., Rour E.H., Chahboune M., & Aboukacem A. (2012). Étude du changement de l'état des eaux de l'oued khoumane a la confluence avec les eaux thermales de la source Ain Hamma Moulay Idriss Maroc. *Larhyss Journal*. ISSN 1112-3680, n° 11, p. 17-36.
- Bennani M., amarouch H., Boukanjer A., Nader H., Lalaoui M., Allali M., & Cohen N. (2012). Influence des facteurs environnementaux sur les charges des bactéries fécales dans le littoral méditerranéen du Maroc. *European Journal of Scientific Research*. 71 : 24-35.
- Benyacoub S. (1993). « Écologie de l'avifaune nicheuse de la région d'El Kala (Nord-Est algérien) ». Thèse de doctorat, Université de Bourgogne. 271 p.
- Bernardi Aubry F., & Acri F. (2004). Phytoplankton seasonality and exchange at the inlets of the Lagoon of Venice (July 2001-June 2002). *Journal of Marine Systems*. 51: 65-76.
- Berthe T., Petit F., Ratajczak M., & Touron A. (2005). Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds et présence de bactéries d'origine fécale en estuaire de Seine. Résumé du rapport d'activité 2004. LMDF UPRESA 2123, Groupe Biodiversité et Environnement Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan Cedex.
- Bianchi M. (1998). Nouvelles approches d'étude des réseaux microbiens. *Annls Limnol.* 34:465-473.
- Bianchi F., Ravagnan E., Acri F., Bernardi-Auby F., Boldrin A., Camatti E., Cassin D., & Turchetto M. (2004). Variability and fluxes of hydrology, nutrients and particulate matter between the Venice lagoon and the Adriatic Sea. Preliminary results (years 2001-2002). *Journal of Marine Systems*. 51: 49-64.
- Bishop M. (2008). Displacement of epifauna from seagrass blades by boat wake. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 354:111-118.
- Blaustein R.A., Pachepsky Y., Hill R.L., Shelton D.R., & Whelan G. (2013). *Escherichia coli* survival in waters: temperature dependence. *Water Res.*, 47: 569–578. doi: 10.1016/j.watres.2012.10.027 .
- B.N.E.F. (1985). Étude du parc national d'El Kala. *Schéma directeur d'aménagement*. 86 p.
- Boeglin J.C. (2000). Contrôle des eaux douces et de consommation humaine. Ed. Techniques de l'ingénieur. 24 p.
- Boets P., Holguin G.J.E., Lock K., & Goethals P. (2012). Data-driven habitat analysis of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* in two invaded regions in Europe. *Ecological Informatics* in press.
- Böckelmann U., Manz W., Neu T.R., & Szewzyk U. (2000). Characterization of the microbial community of lotic organic aggregates ("river snow") in the Elbe river of Germany by cultivation and molecular methods. *FEMS Microbiol. Ecol.* 33:157-170.

Böckelmann U., Manz W., Neu T.R., & Szewzyk U. (2002). Investigation of lotic microbial aggregates by a combined technique of fluorescent *in situ* hybridization and lectin-binding-analysis. *Journal of Microbiological Methods*. 49:75-87.

Bogomolni A.L, Gast R.J., Ellis J.C., Dennett M., Pugliares K.R., Lentell B.J., & Moore M.J. (2008). Victims or vectors : a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. *Dis. Aquat. Organ.* 81: 13–38.

Boo Saab H., Nassif N., Antione G., El Samrani Daoud R., Medawer S., & Ouaini N. (2007). Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban). *Revue des sciences de l'eau des sciences de l'eau/ journal of water science*. 20 (4) : 341-352.

Bordalo A.A., Onrassami R., & Dechsakulwatana C. (2002). Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). *Journal of Applied Microbiology*. 93: 864-871.

Bouazouni O. (2004). Parc National d'El Kala, étude socio-économique du PNEK. Projet Régional pour le Développement d'Aires marines et côtières Protégées dans la région de la Méditerranée (MedMPA). p :11-15.

Bourgeois C.M., Mescle J.F., & Zucca J. (1988). Aspect microbiologique de la sécurité alimentaire. :Paris tech. Doc. Lavoisier . Sciences tech. Agro alimentaire. 419 p.

Boxall A.B.A., Rudd M.A., & Brooks B.W. et al. (2012). Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions? *Environ. Health Perspect.* 120:1221-9.

Bremond R., & Perrodon C. (1979). Paramètres de la qualité des eaux. Ministère de l'environnement et cadre de vie. Prévention des pollutions. 2ème ed: 259 p.

Brisse S., & Engeline V.D. (2005). Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Veterinary Microbiology*. 105: 307–312.

Bruslé J., & Quignard J.P. (2004). Les poissons et leur environnement : Ecophysiologie et comportement adaptatifs. Paris: Eds Tec & Doc. P : 6-833.

Bruslé J., & Quignard J. P. (2013). Biologie des poissons d'eau douce européens. 2e édition, Lavoisier, Paris. P : 216-220.

Bywater R., Silley P., & Simjee S. (2006). Antimicrobial breakpoints—definitions and conflicting requirements. *Vet. Microbiol.* 118 : 158–159.

## C

Calamari D., & Naeve H. (1994). Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain. Document technique de CPCA 25 ; FAO, Rome. P : 42.

Camargo J.A., Alonso A., & DE LA Puente M. (2004). Multimetric assessment of nutrient enrichment in impounded rivers based on benthic macroinvertebrates. *Environmental Monitoring and Publishers*. 96 :233-249.

Camus A., Berliner A., Clauss T., Hatcher N., & Marancik D. (2013). *Serratia marcescens* associated ampullary system infection and septicaemia in a bonnethead shark, *Sphyrna tiburo* (L.). *Journal of Fish Diseases*. 36 : 891–895.

Carpentier J.L. (2000). Rapport sur la qualité de l'eau du canal de Seclin. Laboratoire mobile de la qualité des eaux. Agence de l'eau Artois. 35 p.

CASFM-Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. (2013). Available from: <http://www.sfm-microbiologie.org/>

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ). (2005). Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (thermotolérants) et confirmation à l'espèce *Escherichia coli* : méthode par filtration sur membrane. Document MA. 700 – Fec.Ec 1.0, Révision 2. Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Québec. 20 p.

CETMEF. (2000). Définition des fonctionnalités écologiques des berges des canaux pour la navigation - application à leur végétalisation-. Voies Navigables de France, Centre d'études Techniques Maritimes et Fluviales, Paris. p : 68.

Chahlaoui A. (1996). Etude hydro biologique de l'oued Boufekrane (Meknès), Impact sur l'environnement et la santé. Thèse d'état. Fac. Meknès. 234 p.

Chaturongkasumrit Y., Techaruvichit P., Takahashi H., Kimura B., & Keeratipibul S. (2013). Microbiological evaluation of water during the 2011 flood crisis in Thailand. *Science of the Total Environment*. 463-464 : 959–967.

Chedad K.H., & Assobhei H. (2007). Etude de la survie des bactéries de contamination fécale (coliformes fécaux) dans les eaux de la zone ostréicole de la lagune de Oualidia (Maroc), *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la vie*. 29 : 71-79.

Chigbu P., Gordon S., & Strange T.R. (2005). Fecal coliform bacteria disappearance rates in anorth-central Gulf of Mexico estuary Estuarine. *Coastal and Shelf Science*. 65 (1-2): 309-318.

Chiu-Chu Hwang, Hsien-Feng Kung, Chung-Saint Lin, Deng-Fwu Hwang, & Yung-Hsiang Tsai. (2011). Bacteriological quality and histamine-forming bacteria associated with fish meatsand environments in HACCP and non-HACCP fish processing factories. *Food Control* 22: 1657- 1662.

Choopun N., Louis V., Hug A., & Colwell R.R. (2002). Simple procedures for rapid identification of *Vibrio cholerae* from the aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 995–998.

Christensen N.O. (1980). Diseases and anomalies in fish and invertebrates in Danish littoral regions which might be connected with pollution. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 179: 103-109.

Christian T., Schneider R. J., Färber H. A., Skutlarek D., Meyer M. T., & Goldbach H. E. (2003). Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*. 31(1): 36–44.

Cizek A., Dolejska M., Sochorova R., Strachotova K., Piackova V., & Vesely T. (2010). Antimicrobial resistance and its genetic determinants in aeromonads isolated in ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio koi*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Microbiology*. 142: 435–439

Cloern J. E. (2001). Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar. Ecol. Prog. Series*. 210: 223-253.

Cloete T. E., Toerien D. F., & Pieterse A. J. H. (1984). The Bacteriological Quality of Water and Fish of a Pond System for the Treatment of Cattle Feedlot Effluent. *Agricultural Waste*. 9:1-15.

Coignet S. (2014). Etude rétrospective des infections à *Pseudomonas luteola* chez le furet. Thèse de Doctorat. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. p : 18-39.

Córdova-Kreylos A. L., & Scow K. M. (2007). Effects of ciprofloxacin on salt marsh sediment microbial communities. *The ISME journal*. 1(7) : 585–595.

Cowx I.G., & Collares-Pereira M.J. (2002). Freshwater fish conservation: options for the future. In: Collares-Pereira M.J., Cowx I.G., & Coehlo M.M. (eds). Conservation of freshwater fishes: options for the future. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford: 443-452.

Cristian C., Jacky B., Eddy S., Salavert M., & Armand T. (2008). Microbiologie Hygiène. Bases Microbiologiques de la diététique. Édition TEC & DOC, Lavoisier, Paris. p : 76-79.

Crowther J., Kay D., & Wyer M. D. (2002). "Faecal-indicator concentrations in waters draining lowland pastoral catchments in the UK: relationships with land use and farming practices. *Water Research*. 36(7): 1725-1734.

Crowther J., Kay D., & Wyer M.D. (2001). Relationships between microbial water quality and environmental conditions in coastal recreational waters: the Fylde Coast, UK. *Water Res*. 35: 4029–4038.

Crowther J., Wyer M.D., Bradford M., Kay D., & Francis C.A. (2003). Modelling faecal indicator concentrations in large rural catchments using land use and topographic data. *Journal of Applied Microbiology*. 94 (6) : 962-973.

## D

Dagnelie P. (2007). Statistique théorique et appliquée : Tome 1, statistique descriptive et bases de l'inférence statistique. Bruxelles, De Boek ; 2<sup>ème</sup> édition. 511p.

Dahmen S., Haenni M., & Châtre P. (2013). Characterization of blaCTXM IncFII plasmids and clones of *Escherichia coli* from pets in France. *J.Antimicrob. Chemother*. 68: 797-801.

Davies J., Spiegelman G. B., & Yim G. (2006). The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Current opinion in microbiology*. 9(5) : 445–453.

De A.S., Salunke P.P., Parikh H.R., & Baveja S.M. (2010). *Chryseomonas luteola* from Bile Culture in an Adult Male with Severe Jaundice. *J. Lab. Physicians*. 2 : 40–41.

De Belair G. (1990). « Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre écosystèmes lacustres et marécageux (El Kala, Est algérien) ». Thèse de doctorat, Montpellier, Université des sciences et techniques du Languedoc. 326 p.

Degremont. (1989). Mémento technique de l'eau, tome I. Degremont, Paris. 592p.

Degremont. (2005). Mémento technique de l'eau. Dixième édition. Edition Technique et Documentation. P : 144-173.

Dellali M. (2001). « Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis* dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte :

Validation de certains biomarqueurs ». Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de Bizerte. p :218.

Dellarras C. (1998). Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques. © Gaëtan Morin, France. p : 40-275.

Dellarras C. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratique. Gaëtan Moriu éditeur, France. p : 117-136.

Dellarras C. (2003). Microbiologie de l'environnement avec législation. Travaux pratiques commentés. Gaetan Morin éditeur. P : 223-230.

Demanèche S., Sanguin H., Poté J., Navarro E., Bernillon D., Mavingui P., Vogel M., & Simonet P. (2008). Antibiotic-resistant soil bacteria in transgenic plant fields. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105: 3957-3962.

Deng Z.Q., & Singh V.P. (2002). Optimum channel pattern for environmental sound training and management of alluvial rivers. *Ecological Modelling*. 154:61-74.

DePaola A., Peeler J. T., & Rodrick G. E. (1995). Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of Gram-negative bacteria in catfish ponds. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(6): 2335–2340.

Derwich E., Benaabidate L., Zian A., Sadki O., & Belghity D. (2010). Caractérisation physico-chimique des eaux de la nappe alluviale du haut Sebou en aval de sa confluence avec oued Fès. *Larhyss Journal*. ISSN 1112-3680, N° 08 :101-112.

Des Jardins R. (1990). Le traitement des eaux. 2 ème Edition Canada.

Despins C., Farahbakhsh K., & Leidl C. (2009). Assessment of rainwater quality from rainwater harvesting systems in Ontario, Canada. *J. Water Supply Res. Technol. – Aqua*. 58(2):117-134.

Detay M. (1993). Le Forage D'eau ; Réalisation, Entretien Et Réhabilitation. *Masson*. 379 p.

Dib I. (2009). « L'impact de l'activité agricole et urbaine sur la qualité des eaux souterraines de la plaine de Gadaine- Ain Yaghout (Est Algérien) ». Mémoire de magister en hydraulique, construction hydro-technique et environnement, faculté des sciences de l'ingénieur, département d'hydraulique, Université Hadj Lakhdar Batna. 127 p.

Dieng M., P. Ndiaye K., Niang N.C.K., & Toure M. Sakho. (2013). La pêche artisanale au Sénégal : qualité de la matière première destinée aux entreprises exportatrices. *Afrique Service*. 9 (2) : 84.

Dierauf L.A., & Gulland F.M.D. (2001). CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. Second edition. CRC Press.

Diouf S. (2011). Analyses microbiologiques et chimiques des produits de la pêche. Rapport de stage. Centre national de formation des techniques des pêches maritimes (CNFTPM). P:10.

Dodds W.K. (2002). Freshwater ecology, concepts and environmental applications Academic Press, San Diego, California.

Dolejská M., Bierosová B., & Kohoutová L. (2009). Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black headed gulls. *J. Appl. Microbiol.* 106: 941-950.

Dovonou F., Aina M., Boukari M., & Alassane A. (2011). Pollution physico-chimique et bactériologique d'un écosystème aquatique et ses risques écotoxicologiques : cas du lac Nokoue au Sud Benin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(4): 1590-1602.

Draredja B. (1992). « Conditions hydrosédimentaires et structure de la macrofaune benthique en période printanière d'un écosystème lagunaire méditerranéen: lac Mellah (Algérie) ». Thèse Magister en Océanographie biologique, ISMAL (Alger) :147p.

Durand J.H. (1954). *Les sols du bassin versant du lac Tonga (Algérie)*. Direction du service de la colonisation et de l'Hydraulique. Gouvernement Général de l'Algérie. 254 p.

Dynesius M., & Nilsson C. (1994). Fragmentation and flow regulation of river systems in the northern third of the world. *Science*. 266: 753-762.

## E

Edberg S.C., Rice E.W., Karlin, R.J., & Allen M.J. (2000). *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. 88 : 106S- 116S.

Egli T., & Fuechslin H. (2005). L'eau potable contaminée en zone rurale. *Eawag News*. 59f, Novembr. p: 9 – 11.

Eisner A., Fagan E. J., Feierl G., Kessler H. H., Marth E., Livermore D. M., & Woodford N. (2006). Emergence of *Enterobacteriaceae* isolates producing CTX-M extended-spectrum betalactamase in Austria. *Antimicrob Agents Chemother*. 50:785-7.

EL Haissoufi H., Berrada S., Merzouki M., Aabouch M., Bennani L., Benlemlih M., Idir M., Zanibou A., Bennis Y., & EL Ouali Lalami A. (2011). Pollution des eaux de puits de certains quartiers de la ville de Fès, Maroc. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*. 5 (1) : 37-68.

EL Morhit M., Fekhaoui M., Serghini A., EL Blidi S., EL Abidi A., Bennaakam R., Yahyaoui A., & Jbilou M. (2008). Impact de l'aménagement hydraulique sur la qualité des eaux et des sédiments de l'estuaire du Loukkos (côte atlantique, Maroc). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Terre*. N° 30 : 39-47

Elsas V., Semenov J. D., Costa A.V.R., & Trevors J.T. (2010). Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The ISME journal*. 5(2): 173–183.

El-Shafai S.A., Gijzen H.J., Nasr F.A., & El-Gohary F.A. (2004). Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. *Environ. Res*. 95 (2): 231–238.

Emborg J., Laursen B.G., Rathjen T., & Dalgaard P. (2002). Microbial spoilage and formation of biogenic amines in fresh and thawed modified atmosphere-packed salmon (*Salmon salar*) at 2 degrees C. *J. Appl. Microbiol.* 92 (4): 790-799.

Ena J., López-Perezagua M. D., Martínez-Peinado C., Cia-Barrio A. D., Everard I.M., & Powell A. (2002). Rivers as living systems. *Aq. Cons. Mar. Freshwat. Ecosys*. 12: 329-337.

## F

- Fajardo A., & Martinez J. L. (2008). Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current opinion in microbiology*. 11(2) : 161–167.
- Faria C., Vaz-Moreira I., Serapicos E., Nunes O. C., & Manaia C.M. (2009). Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water. *Science of the Total Environment*. 407: 3876–3882.
- Fattal B., Dotan A., & Tchorsh Y. (1994). Rates of experimental microbiological contamination of fish exposed to polluted water. *War. Res. Vol. 26. No. 12*, p: 1621-1627.
- Faure S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie ». Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1. 167 p.
- Fewtrell L., & Bartram J. (2001). Water Quality: Guidelines, Standards and Health. World Health Organization Water Series IWA Publishing, London, UK.
- Figurella J., & Leyral G. (2002). Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques. Ed. Scérén CRDP d'Aquitaine, Paris. 360 p.
- Fischer-le Saux M., Hervio-Heath D., Loaec S., Colwell R.R., & Pomepuy M. (2002). Detection of cytotoxin-Hemolysin mRNA in nonculturable populations of environmental and clinical *Vibrio vulnificus* strains in artificial seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 : 5641-5646.
- Foti M., Giacobello C., Bottari T., Fisichella V., Rinaldo D., & Mammina C. (2009). Antibiotic Resistance of Gram Negatives isolates from loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the central Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*. 58 : 1363–1366.
- Fournier J. M., & M. L. Quilici. (2002). Infection à Vibrions non cholérique. Encyclopédie Médico-chirurgicale (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses. 7p
- Freney J., Renaud B., Hansen W., & Bollet C. (2000). Précis bactériologie clinique. Edit. ESKA. P:1692.
- Furushita M., Shiba T., Maeda T., Yahata M., Kaneoka A., & Takahashi Y., et al. (2003). Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (9):5336–42.
- FILMED. (2010). *Forum Interrégional des Lagunes Méditerranéennes*. Pôle relais lagunes méditerranéennes – Boîte à outil interprétation de données – France, V4 avril. 17p.

## G

- Gabaldon D., Wiggins B., & Tzamaloukas A.H. (2013). *Pseudomonas luteola* peritonitis with favorable outcome in continuous peritoneal dialysis. *Int. Urol. Nephrol.*
- Galvin S., Boyle F., & Hickey P. (2010). Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 : 477-479.

- Galvez A., Lopez R. L., Abriouel H., Valdivia E., & Omar N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Crit. Rev. Biotechnol.* 28 : 125-152.
- Galvez-Cloutier R., Ize S. & Arsenault S. (2002). La détérioration des plans d'eau : Manifestations et moyens de lutte contre l'eutrophisation. *Vecteur environnement.* 35 (6): 18-37.
- Garcia-Armisen T. (2006). « Etude de la dynamique des *Escherichia coli* dans les rivières du bassin de la Seine ». Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles. 81 p. + publications.
- Garcia-Armisen T., Anzil A., Cornelis P., Chevreuil M., & Servais P. (2013). Identification of antimicrobial resistant bacteria in rivers: Insights into the cultivation bias. *Water Research.* 47: 4938 – 4947.
- Garcia De Emilliani M.O. (1997). Effects of water level fluctuation in a river flood-plain lake system (Parana River, Argentina). *Hydrobiologia.* 357: 1-15.
- Garg P., Sinha S., Chakraborty R., Bhattacharya S.K., Nair G.B., Ramamurthy T., & Takeda Y. (2001). Emergence of fluoroquinolone-resistant strains of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor among hospitalised patients with cholera in Calcutta, India. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1605-1606.
- Garrido-Perez M.C., Anfuso E., Acevedo A., & Perales-Vargas-Machuca J.A. (2008). Microbial indicators of fecal contamination in waters and sediments of beach bathing zones. *International Journal of Hygiene and Environmental Health.* 211 (5-6): 510-517.
- Gaschet A., Engrand C., Piau C., Violette J., Betremieux P., & Tattevin P. *et al.* (2009). Multiple brain abscesses caused by *Pseudomonas luteola*. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 27: 1143.
- Gatica J., & Cytryn E. (2013). Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in the soil microbiome. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 20:3529-38.
- Gay M. (2004). « Infection expérimentale chez *Crassostrea gigas* : étude de deux souches pathogènes apparentées à *Vibrio splendidus* ». Thèse Doct. Es. Sci. Université de la Rochelle. P.179
- George I., & Servais P. (2003). Sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine. *Synthesis Report 1998-2001 of the scientific programme PIREN-Seine, CNRS, France.* 4 : 45.
- Ghalmi R. (1997). « Étude préliminaire du régime alimentaire de la loutre (*Lutra lutra*) dans le nord-est algérien (Parc National d'El Kala) ». Mémoire D.E.S, Université de Liège. 57 p.
- Ghosh Asit R., Koley H., De D., Garg S., Bhattacharya M.K., Bhattacharya S.K., Manna B., Balakrish Nair G., Shimada T., Takeda T., & Takeda Y. (1994). Incidence and toxigenicity of *Vibrio cholerae* in a freshwater lake during the epidemic of cholera caused by serogroup O139 Bengal in Calcutta, India. *Microbiology Ecology.* 14 :285-292
- Girard P. (1998). Le poisson sentinelle des milieux aquatiques : pertinence et optimisation des indicateurs sanitaires. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* p : 300–351 et 429–443.
- Girard P. (2009). Influence de la température sur l'état sanitaire des poissons. Rapport de synthèse. Convention EDF R&D. 73 p.

Girard P., & Elie P. (2008). Description, identification et signification écopathologique des principales lésions et des principaux parasites externes des poissons. Colloque national organisé conjointement par l'Association « Santé Poissons Sauvages », le Cemagref, Ifremer et l'ONEMA : « Impacts des agents pathogènes et des micropolluants sur l'état de santé des poissons, mollusques et crustacés des milieux naturels : de l'individu au peuplement ». Le11 & 12 mars 2008 à Ifremer/Nantes. Site : « Aquafilia.fr/ASPS 2008 ».

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

Gong W., & Shen J. (2011). The response of salt intrusion to changes in river discharge and tidal mixing during the dry season in the Modaomen Estuary, China. *Continental Shelf Res.* 31 : 769-788.

Goñi-Urriza M., Capdepuuy M., & Arpin C. (2000). Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 : 125-132.

Gourdol L., Zimmer G., Pundel N., Hoffmann L. & Pfister L. (2010). Les sources de la Ville de Luxembourg : une ressource en eau potable à préserver. 1. Aspects quantitatifs et physico-chimiques. *Arch. Sci. Nat. Phys. Math. NS.* 45: 101-124.

Grabow W.O.K., Taylor M.B., & de Villiers J.C. (2001). New methods for the detection of viruses: call for review of drinking water quality guidelines. *Water Science and Technology.* 43 (12) : 1-8.

Green M.V. (2004). "Prevalence and distribution of *Staphylococcus aureus* and other potential health risk indicators in South Florida beaches". Master's thesis, Nova Southeastern University, Oceanographic Center, USA. p: 79–86.

Guenther S., Ewers C., & Wieler L. (2011). Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution. *Front. Microbiol.* 2: 246-260.

Guiraud J. (2003). Microbiologie alimentaire. Édition RIA Dunod. p : 359-722.

Guzman M.C., Bistoni M., Tamagnini L.M., & Gonzalez R.D. (2004). Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. *Water Res.* 38: 2368–2374.

Gyles C. L. (2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J. Anim. Sci.* 85:45-62.

## H

Hade A. (2002). Nos lacs. Les connaître pour mieux les protéger. Éditions Fides, Montréal. 359 p.

Haller L., Tonolla M., Zopfi J., Peduzzi R., Wildi W., & Poté J. (2011). Composition of bacterial and archaeal communities in freshwater sediments with different contamination levels (Lake Geneva, Switzerland). *Water Res.* 45: 1213–1228.

Halpern M., Raats D., Lavion R., & Mittler S. (2006). Dependent population dynamics between chironomids (non-bitingmidges) and *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 55: 98-104.

Hamelin K., Bruant G., El-Shaarawi A., Hill S., Edge T., Bekal S., Fairbrother J. M., Harel J., Maynard C., Masson L., & Brousseau R. (2006). A virulence and antimicrobial resistance DNA microarray detects a high frequency of virulence genes in *Escherichia coli* isolates from Great Lakes recreational waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:4200-6.

Hamelin K., Bruant G., El-Shaarawi A., Hill S., Edge T., Fairbrother J., Harel J., Maynard C., Masson L., & Brousseau R. (2007). Occurrence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* isolates from different aquatic ecosystems within the St. Clair River and Detroit River areas. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:477-84.

Han F., Walker R. D., Janes M. E., Priyawiwatkul W., & Ge B. (2007). Antimicrobial susceptibilities of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* isolates from Louisiana Gulf and retail raw oysters. *Applied and Environmental Microbiology.* 73:7096-7098.

Harakeh S., Yassine H., Hajjar S., & El-Fadel M. (2006). Isolates of *Staphylococcus aureus* and *saprophyticus* resistant to antimicrobials isolated from the Lebanese aquatic environment. *Marine Pollution Bulletin.* 52: 912–919.

Harikrishnan R., Balasundaram C., & Moon Y. G. *et al.* (2010). Phytotherapy of ulcerative dermatitis induced by *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*). *Acta Vet. Hung.* 58: 29-37.

Harnisz M. (2002). “Microorganisms in intensive cage-culture of wels”. PhD Thesis. University of Warmia and Mazury, Olsztyn.

Harnisz M., Goła I., & Pietruk M. (2011). Tetracycline-resistant bacteria as indicators of antimicrobial resistance in protected waters-The example of the Drweca River Nature Reserve (Poland). *Ecological Indicators.* 11: 663-668.

Harnisz M., & Tucholski S. (2010). Microbial quality of common carp and pikeperch fingerlings cultured in a pondfed with treated wastewater. *Ecological Engineering.* 36: 466-470

Harnisz M. (2013). Total resistance of native bacteria as an indicator of changes in the water environment. *Environmental Pollution.* 174:85-92.

Harresh A., Patra A., Mondal A., Banerjee S., & Thangapalam J.A. (2014). Association of *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* in the haemorrhagic blister of cultured carp *Cyprinus carpio* in West Bengal, India. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4 (Suppl 1): S500-S504

Haycock N.E., Pinay G., & Walker C. (1993). Nitrogen retention in river corridors : European perspective. *Ambio.* 22(6): 340-346.

He L.M., & He Z.L. (2008). Water quality prediction of marine recreational beaches receiving watershed baseflow and stormwater runoff in southern California, USA. *Water Res.* 42 : 2563–2573.

Hébert S., & Légaré S. (2000). Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau. Direction du suivi de l'état de l'environnement, Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec, 5 p (inédit).

Henze M., van Loosdrecht M.C.M., Ekama G., & Brdjanovic D. (2008). Biological wastewater treatment : principles, modelling and design. *Technol. Eng.* 511p.

Hirsch E.B., & Tam V.H. (2010). Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev. Pharmacoecon Outcomes Res.* 10(4):441-51.

Hirsch R., Terns T., Haberer K., & Kratz K.L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 225:109–18.

Holt J.G. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Philadelphia, US: Lippincott Williams & Wilkins.

Holt M.S. (2000). Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. *Food and Chemical Toxicology.* 38:S21-S27.

Howarth R.W., & Marino R. (2006). Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: evolving views over three decades. *Limnol. Oceanogr.* 51: 364-376.

Hu Y.Y., Cai J.C., Zhou H.W., Chi D., Zhang X.F., Chen W.L., Zhang R., & Chen G.X. (2013). Molecular typing of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from environmental water, swine feces, specimens from healthy humans, and human patients. *Appl. Environ. Microbiol.* 79 (19) : 5988-5996.

Hubbard R. K., Newton G. L., & G. M. Hill (2004). Water quality and the grazing animal. *Journal of Animal Science.* 82(13-suppl): E255-263.

Humbel X., & Hennebert P. (2008). Système d'évaluation de l'état des eaux: les acteurs ont encore besoin d'un outil d'évaluation de la qualité physico-chimique de l'eau à l'ère DCE...*TSM N°2*, 103e année. P: 109.

Hunter C., Perkins J., Tranter J., & Gunn J. (1999). Agriculture land-use effects on the indicator bacterial quality of an upland stream in the Derbyshire Peak district in the U.K. *Water Research.* 33(17): 3577-3586.

Huss H.H. (1993). La qualité et son évolution dans le poisson frais. Rome: FAO. Print Book. P: 51- 53.

Huss H.H., Reilly A., & Embarek B.P.K. (2000). Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control.* 11 (2): 149-156.

Husson F., & Josse J. (2014). Multiple Correspondence Analysis. In *The Visualization and Verbalization of Data*, eds., Greenacre and Blasius, Chapman and Hall.

Huszar V.L., & Reynolds C.S. (1997). Phytoplankton periodicity and sequences of dominance in Amazonian flood-plain lake (LagoBatata, Para, Brazil); reponse to gradual environmental change. *Hydrobiologia.* 346: 169-181.

Hwang P.P., & Lee T.H. (2007). New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. *Comparative Biochemistry and Physiology (Part A).* 148 : 479-497.

## I

Ihaka R., & Gentleman R. (1996). R : a language for data analysis and graphics. *Computational & graphical Statistics.* 5: 299-314.

Ikutegbe V., & Sikoki F. (2014). Microbiological and biochemical spoilage of smoke-dried fishes sold in West African open markets. *Food Chemistry.* 161: 332–336.

Irvine K.N., & Pettibone G.W. (1996). Planning level evaluation of densities and sources of indicator bacteria in a mixed land use watershed. *Environmental Technology*. 17 (1) : 1-12.

Islam M.S., & Tanaka M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management : a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin*. 48: 624-649.

ISO /TC 147 (International Organisation for Standardization). (1994). Compendium de normes environnement qualité de l'eau. Tome 2. Méthodes chimiques (ISO/TC 147). 1ère édition.

## J

Jacobs L., & Rhenia H.Y. (2007). Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems. *Int. J. Food Microbiol.* 114 : 295–306.

Jaffrezic A. (1997). « Géochimie des éléments métalliques, des nitrates et du carbone organique dissous dans les eaux et les sols hydromorphes. Agriculture intensive et qualité des eaux dans les zones humides en Bretagne ». Thèse de Doctorat de l'ENSA de Rennes. N°79, 296 p.

Janda J.M., & Abbott S.L. (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin. Microbiol .Rev.* 23(1):35–73.

Jini R., Swapna H. C., Amit Kumar R., Vrinda R., Halami P.M., Sachindra N.M., & Bhaskar N. (2011). Isolation and characterization of potential lactic acid bacteria (LAB) from freshwater fish processing wastes for application in fermentative utilisation of fish processing waste. *Braz. J. Microbiol.* 42 (4) : 1516-1525.

Joffin C., & Joffin J.N. (2010). Microbiologie alimentaire. Biologie et Technique, 6è édition, Scérén CRDP Aquitaine. 212p.

Joseph & Pierre G. (2004). « Pratique des normes en microbiologie alimentaire». p 120.

J.O.R.A (Journal Officiel de la République Algérienne). (2014). N°13. Décret exécutif n°14-96 du 04 mars 2014, modifiant et complétant le décret exécutif N° 11-125 du 22 mars 2011, fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations.

J.O.R.F (Journal Officiel de la République Française). (2006). N°99 du 27 avril 2006 page 6356 texte n° 24 : Arrêté du 3 Avril 2006 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale (disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2006/4/3/AGR0600694A/jo/texte>)

Journal Officiel de L'UE (2006). Directive 2006/44/CE de département européen et du conseil (L 264/20) concernant la qualité des eaux douces ayant besoin d'être protégées ou améliorées pour être aptes à la vie des poissons.

Jouve J.L. (1996). La qualité microbiologique des aliments. Maîtrise et critères. CNERNA-CNRS. Polytechnica éditions. P : 29.

Joux F., & Lebaron P. (2000). Use of fluorescent probes to assess physiological functions of bacterial single-cell level. *Microbes and Infection*. 2 (12): 1523-1535.

Junco T.T., Martin M.G., Toledo L.P., Gomez P.L., & Barrasa J.L.M. (2001). Identification and antibiotic resistance of fecal enterococci isolated from waters amples. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203 : 363-368.

## K

Kanmani P., Aravind J., & Presion D. (2011). Remediation of chromium contaminants using bacteria. *I. J. Enviro. Sci. And Tech.* 9 (1): 183- 193.

Kao Chih-Chauan, Meei-Fang Liu, Chin-Fu Lin, Yi-Ching Huang, Po-Yu Liua, Ching-Wen Changb, & Zhi-Yuan Shia. (2010). Antimicrobial Susceptibility and Multiplex PCR Screening of *AmpC* Genes From Isolates of *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens*. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 43(3):180–187.

Kara M. H. (2012). Fresh water fish divesity in algeria with emphasis on alien species. *Eur. J. Wildl. Res.* 58 : 43 - 253.

Karrouch L. (2010). «Bio-évaluation de la qualité des eaux courantes de la région Meknès (Centre- Sud, Maroc) – Impact sur l’environnement et la sante ». Thèse doctorat es sciences en biologie. Université Moulay Ismaïl, Meknès (Maroc).

Kawanishi M., Kojima A., Ishihara K., Esaki H., Kijima M., & Takahashi T., et al. (2005). Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured Seriola (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. *Lett. Appl. Microbiol.* 40(5):322–8.

Keer J.T., & Birch L. (2003). Molecular methods for the assessment of bacterial viability. *Journal of Microbiological Methods.* 53 (2): 175-183.

Kerambrun E. (2011). « Evaluation des effets biologiques des contaminants chimiques sur les juvéniles de poissons marins : approche multibiomarqueur en conditions expérimentales et in situ ». Thèse de doctorat de l’Université du Littoral Cote d’Opale. P : 16.

Kestemont P., Didier J., Depiereux E., & Micha J.C. (2000). Selecting ichthyological metrics to assess river basin ecological quality. *Arch. Hydrobiol. Suppl. (Monogr. Stud.)*. 121: 321-348.

Knox R.C., & Canter L.W. (1996). Prioritization of ground water contaminants and sources. *Water Air Soil Pollution.* 88: 205-226.

Koenraad P.M.F.J., Hazeleger W.C., van der Laan T., Beumer R.R., & Rombouts F.M. (1994). Survey of *Campylobacter* spp. in sewage plants in The Netherlands. *Food Microbiol.* 11: 65-73.

Koroleff F. (1969). Direct determination of ammonia in natural water as indophenol. blue. *Int. Counc. Explor. Sea Comm. meet. (hydrography comm.)*. 9: 4 pp.

Koussémon M., Traoré S.G., Koffi-Nevry R., Ouffoue S.K., & A. Kamenan1. (2008). Etude de la qualité microbiologique d’une espèce tropicale de crabe: *Callinectes samnicola*. *Tropicultura.* 26 (3): 169-172.

Krumperman P.H. (1985). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 165–70.

Kumar S. R., Kanmani P., Yuvaray N., Paari K. A., Pattu Kumar V., & Arul V. (2011). Purification and characterization of enterocin MC 13 produced by a potential aquaculture probiont *Enterococcus faecium* MC 13 isolated from the gut of *Mugil cephalus*. *Canadian journal of microbiology*. 57 (12): 993-1001.

Kümmerer K. (2004). Resistance in the environment. *J. Antimicrob. Chemoth.* 54: 311-320.

## L

Labres E., & Mouffok F. (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. P : 53-60.

Ladjel S. (2009). Contrôle des paramètres physico-chimiques et bactériologiques d'une eau de consommation. Les cahiers techniques du stage T 7. Centre de formation en métiers de l'eau, Tizi Ouzou. 101 p.

Lakhel F. (2003). « Etude et suivi de la croissance d'*Aeromonas hydrophila* en eau de mer ». Mémoire de DEA. Faculté des Sciences de Tunis. P : 85.

La Ragione R. M., Best A., Woodward M. J., & Wales A. D. (2009). *Escherichia coli* O157:H7 colonization in small domestic ruminants. *FEMS Microbiol. Rev.* 33:394-410.

Larpent J. (1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire : Technique de labo. Edition Tec et Doc. P : 294-300.

Laugier T., Rigollet V. and De Casabianca M.L. (1999). Seasonal dynamics in mixed eelgrass beds, *Zostera marina* L. and *Z. noltii* Hornem., in a Mediterranean coast lagoon (Thau lagoon, France). *Aquatic Botany*. 63: 51-69.

Leclerc H., Devriese L., & Mossel D. (1996). Taxonomical changes in intestinal (faecal) enterococci and streptococci: consequences on their use as indicators of faecal contamination in drinking water. *Journal of Applied Bacteriology*. 81: 459-466.

Leclere J., Belliard J., & Oberdorff T. (2012). Young-of-the-year fish assemblages as indicators of anthropogenic disturbances in large tributaries of the Seine River Basin (France). *Hydrobiologia*. 694:99-116.

Lee J.H., & Bang K.W. (2000). Characterization of urban stormwater runoff. *Water Research*. 34 (6): 1773-1780.

Le Gal Y. (1989). Biochimie marine. Ed. Masson, Paris, 222p.

Le Guen M. (2002). La boîte à moustaches pour sensibiliser à la statistique. Bulletin de Méthodologie Sociologique / Bulletin of Sociological Methodology, SAGE Publications, pp.43-64. <halshs-00287751>

Leung C.K., Huang Y.W., & Pancorbo O.C. (1992). Bacterial pathogens and indicators in catfish and pond environments. *Journal of Food Protection*. 55 : 424-427.

Levi Y. (2007). Evaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives, AFSSA-AFSSET, groupe de travail : cyanobactéries et cyanotoxines, Nancy. 227 p.

- Lewandowska D., Zmysłowska I., & Filipkowska Z. (2002). Sanitary and bacteriological evaluation of the southern part of Legin´ski Lake for recreational purposes. *Pol. J. Environ. Stud.* 9 (4) : 341–347.
- Leyral G., Ronnefoy C., Guillet F., Verne E., & Bourdais. (2002). Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire, Paris.
- Liebana E., Batchelor M., & Hopkins K. (2006). Longitudinal farm study of extended-spectrum beta-lactamase-mediated resistance. *J.Clin. Microbiol.* 44: 16-24.
- Linnaeus. (1758). *Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Editio decima reformata*, Holmiæ, Impensis direct. Laurentii Salvii (Salvius publ.). (*Système de la nature, en trois règnes de la Nature, divisés en classes, ordres, genres et espèces, avec les caractères, les différences, les synonymes et les localisations*). Dixième édition, Stockholm, sur le site de l'université de Göttingen.
- Lipp E.K., Farrah S.A., & Rose J.B. (2001). Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community. *Marine Pollution Bulletin.* 42 (4) : 286–293.
- Lipp E.K., & Rose J.B. (1997). Le rôle des poissons et des fruits de mer dans les toxico-infections alimentaires aux États-Unis d'Amérique. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 16 (2): 620-640.
- Lorenzen C.J. (1967). Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol.oceanogr.*12: 343-346.
- Lu S.Y., Zhang Y.L., Geng S.N., Li T.Y., Ye Z.M., Zhang D.S., Zou F., & Zhou H.W. (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. *Appl. Environ. Microbiol.* 76 : 5972-5976.

## M

- Maalej S., Gdoura R., Dukan S., Hammami A., & Bouain A. (2004). Main entry into and resuscitation from viable but non culturable state in *Aeromonas hydrophila* exposed to natural seawater at low temperature. *Journal of Applied Microbiology.* 97 (3): 557-565.
- Machado E., Coque T., & Cantón R. (2009). Leakage into Portuguese aquatic environments of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob Chemother.* 63: 616-618.
- Magarifios B., Romalde J. L., Barja J. L., & Toranzo A. E. (1994b). Evidence of a dormant but infective state of the fish pathogen *Pasteurella piscicida* in seawater and sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 180-186.
- Majdoub R., Cote C., Labidi M., Guay K., & Genereux M. (2003). Impact de l'utilisation des engrais de ferme sur la qualité microbiologique de l'eau souterraine (Revue de littérature). Irda (Institut de recherche et de développement en agroenvironnement). Canada. 125 p.
- Martin-Carnahan A., Joseph S.W., & Family I. (2005). *Aeromonadaceae* Colwell, MacDonell and DeLey 1986. In: Brennan D.J., Krieg N.R., Staley J.T., editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Berlin, Germany: Springer. p. 556-578.

- Massa S., Petruccioli M., Fanelli M., & Gori L. (1995). Drug resistant bacteria in non carbonated mineral waters. *Microbiol. Res.* 150 : 403–408.
- McDowall R.M., & Taylor M.J. (2000). Environmental indicators of habitat quality in a migratory freshwater fish fauna. *Environ. Manage.* 25: 357-374.
- McKeon D.M., Calabres J.P., & Bissonnette G.K. (1995). Antibiotic resistance gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. *Water Research.* 29 (8): 1902-1908.
- Miller R.A., & Reimschuessel R. (2006). Epidemiologic cutoff values for antimicrobial agents against *Aeromonas salmonicida* isolates determined by frequency distributions of minimal inhibitory concentration and diameter of zone of inhibition data. *AJVR.* 67 : 1837-1843.
- Monod G. (2001). Le poisson : cible et révélateur de la pollution chimique. In : Neveu A., C. Riou, R. Bonhome, P. Chassin, & F. Papy (eds). L'Eau dans l'espace rural : Vie et milieux aquatiques. INRA editions, Paris. P : 173-197.
- Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A., & Tenover F.C. (2003). Manual of Clinical Microbiology. 8th Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Martel J. L., Tardy F., Sanders P., & Boisseau J. (2001). New trends in regulatory rules and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Vet. Res.* 32:381-92.
- Mason A.Z., & Jenkins K.D. (1995). Metal detoxication in aquatic organisms. In Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Eds Tessier A, Turner DR, Vol 3. Wiley et Sons, Chichester. P : 469–608.
- Master R.N., Clark R.B., Karlowsky J.A., Ramirez J., & Bordon J.M. (2011). Analysis of resistance, cross-resistance and antimicrobial combinations for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 1997 to 2009. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 38(4):291–5.
- Masters N., Wiegand A., Ahmed W., & Katouli M. (2011). *Escherichia coli* virulence genes profile of surface waters as an indicator of water quality. *Water Research.* 45:6321-6333.
- McCoy E., Morrison J., Cook V., Johnston J., Eblen D., & Guo C. (2011). Foodborne agents associated with the consumption of aquaculture catfish. *Journal of Food Protection.* 74:500-516.
- McPhearson R. M., DePaola A., Zywno S. R., Motes M. L. J., & Guarino A. (1991). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture.* 99: 203–211.
- Mena K.D., & Gerba C.P. (2009). Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 201:71-115.
- Mesa R., Blanc V., & Blanch A. (2006). Extended-spectrum betalactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *J Antimicrob Chemother.* 58: 21–25.
- Mete E., Kaleli I., Demir M., & Cevahir N. (2002). Çeşitli su örneklerinde *Aeromonas* sıklığının araştırılması. *Ankem Dergisi.* 16 (4): 430-433.
- Meredith B.N., & Whitman R.L. (2011). Efficacy of monitoring and empirical predictive modeling at improving public health protection at Chicago beaches. *Water Res.* 45: 1659- 1668.

- Micallef S.A., Rosenberg Goldstein R.E., George A., Kleinfelter L., Boyer M.S., McLaughlin C.R., Estrin A., Ewing L., Jean-Gilles Beaubrun J., Hanes D.E., Kothary M.H., Tall B.D., Razeq J.H., Joseph S.W., & Sapkota A.R. (2012). Occurrence and antibiotic resistance of multiple *Salmonella* serotypes recovered from water, sediment and soil on mid Atlantic tomato farms. *Environ. Res.* 114: 31–39.
- Michael I., Rizzo L., & McArdell C.S., et al. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. *Water Res.* 47: 957-95.
- Michard G. (1967). Signification du potentiel redox dans les eaux naturelles: Condition d'utilisation des diagrammes (Eh/pH). *Mineralium Deposita.* 2 : 34-36.
- Michel C., De Andrade LIMA J. R. P., Brigas-Poulin P., & RAVEL A. (2000). Développement d'indices agro-écologiques pour évaluer la pression hygiénique de la production animale dans les régions rurales du Québec. Université de Montréal. 85 p.
- Michel C., Kerouault B., & Martin C. (2003). Chloramphenicol and Xorfenicol susceptibility of fish-pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. *Journal of Applied Microbiology.* 95:1008–1015.
- Midilli K. (1998). Istanbul ve çevresinde toplanan çeşitli su örneklerinde *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığı, sikliği ve biyotip özellikleri, Uzmanlık Tezi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul.
- Miller M.A., Kudela R.M., Mekebri A., Crane D., Oates S.C., Tinker M.T., Staedler M., Miller W.A., Toy-Choutka S., Dominik C., Hardin D., Langlois G., Murray M., Ward K., & Jessup D.A. (2010). Evidence for a novel marine harmful algal bloom: cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. *PloS One.* 5 : 9.
- Minette H.P. (1986). Salmonellosis in the marine environment. A review and commentary. *International Journal of Zoonoses.* 13: 71–75.
- Moller. (1981). Fish diseases in German and Danish coastal waters in summer 1980. *Meeresforschung.* 29: 1-16.
- Monaghan E.J., & Ruttenberg K.C. (1999). Dissolved organic phosphorus in the coastal ocean: Reassessment of available methods and seasonal phosphorus profiles from the Eel River Shelf. *Limnol. Oceanogr.* 44(7): 1702-1714.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Teil M.J., Blanchard M., & Chevreuil M. (2004). Distribution and spatial trends of PAHs and PCBs in soils in the Seine River basin, France. *Chemosphere.* 55: 555-565.
- Moulin G., Cavalie P., Pellanne I., Chevance A., Laval A., Millemann Y., Colin P., & Chauvin C. (2008). A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. *J. Antimicrob. Chemother.* 16: 29-30.
- Mudry J. (1997). Contexte hydrogéologique et modalités des études préalables. Colloque Périmètres de protection des captages d'eau destinée à la consommation humaine, Besançon 27 mars.
- Murphy J. & Riley J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acte.* 27: 31-36.

Mustapha S., Ennaji M.M., & Cohen N. (2013). *Vibrio Alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. *International Journal of Science and Technology*. 2: 303.

## N

Nagels J.W., Davies-Colley R.J., Donnison A.M., & Muirhead R.W. (2002). Faecal contamination over flood events in a pastoral agricultural stream in New Zealand. *Water Science and Technology*. 45 (12): 45-52.

Nassali H., Ben Bouih H., Srhiri A., & Dhahbi M. (2005). Influence des rejets des eaux usées sur la composition des eaux de surface et des sédiments superficiels du lac Merja Fouarate au Maroc. *Afrique Science*. 01(1): 145 – 165.

Nawaz M., Khan A.A., Khan S., Sung K., Kerdahi K., & Steele R. (2009). Molecular characterization of tetracycline-resistant genes and integrons from avirulent strains of *Escherichia coli* isolated from catfish. *Foodborne Pathog. Dis.* 6 (5):553–9.

Nawaz M., Sung K., Khan S.A., Khan A.A., & Steele R. (2006). Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from catfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 6461–6466.

Nawaz M., Khan A.A., Khan S., Sung K., & Steele R. (2008). Isolation and characterization of tetracycline-resistant *Citrobacter* spp. from catfish. *Food Microbiology*. 25: 85–91.

Ndi O.L., & Barton M.D. (2011). Incidence of class 1 integron and other antibiotic resistance determinants in *Aeromonas* spp. from rainbow trout farms in Australia. *J. Fish. Dis.* 34(8):589–99.

N'diaye A. D., Kankou M.O.S.A., Sarr A. D., & Lo1 B. (2009). Caractérisation physico-chimique des eaux usées brutes de la ville de nouakchott (mauritanie). *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 14 : 97-109.

Neal C., House W.A., Jarvie H.P., Neal M., Hill L., & Wickham H. (2006). The water quality of the river Dun and the Kennet and Avon Canal. *Journal of hydrology*. 330:155-170.

Neal C., Jarvie H.P., Howarth S.M., Whitehead P.G., Williams R. J., Neal M., Harrow M., & Wickham H. (2000a). The water quality of the River Kennet: initial observations on a lowland chalk stream impacted by sewage inputs and phosphorus remediation. *Sci. Total Environ.* 251-252: 477-495.

Neal C., Neal M., Wickham H., & Harrow M. (2000). The water quality of a tributary of the Thames, the Pang, southern England. *The Science of the Total Environment*. 251 / 252: 459-475.

Nemetz T.G., & Shotts E.B. (1993). Zoonotic diseases. In: Stoskopf, W.K. (Ed.), *Fish Medicine*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. P: 214–220.

Nepveu C. (2002). Carassin commun. In : Les espèces animales et végétales susceptibles de proliférer dans les milieux aquatiques et subaquatiques. Rapport espèces animales. P : 27-29.

Ngho E., Zohoun A., Ghazouani M., EL Hamzaoui S., & EL Ouennass. (2011). A fatal case of *Pseudomonas luteola* infection. *Médecine et maladies infectieuses*. 41: 396-403.

Nieto T.P., Toranz A.E., & Barja J.L. (1984). Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the north-west of Spain. *Aquaculture*. 42 : 193-206.

Niewolak S., & Tucholski S. (1995). Sanitary and bacteriological study of common carp reared in ponds supplied with biologically pretreated sewage. *Arch. Pol. Fish.* 3:203–215.

Niewolak S., & Tucholski S. (2000). Sanitary and bacteriological evaluation of common carp, tench and crucian carp reared in a pond supplied with biologically treated sewage. *Arch. Pol. Fish.* 8 (1): 35–48.

Nikaido H., & Pagès J.M. (2011). Broad specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* in press.

Noble R.T., Moore D.F., Leecaster M.K., McGee C.D., & Weisberg S.B. (2003b). Comparison of total coliform, fecal coliform, and *Enterococcus* bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Res.* 37:1637–1643.

Noble R.T., Leecaster M.K., McGee C.D., Weisberg S.B., & Ritter, K. (2004). Comparison of bacterial indicator analysis methods in stormwater-affected coastal waters. *Water Research*. 38 (5): 1183-1188.

Noble R.T., Weisberg S.B., Leecaster M.K., McGee C.D., Dorsey J.H., Vainik P., & Orozco-Borbon V. (2003a). Storm effects on regional beach water quality along the southern California shoreline. *J. Water Health*. 1: 23–31.

## O

Oberle K. (2012). « Devenir des antibiotiques et des populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus* spp. dans les hydrosystèmes de surface ». Thèse de Doctorat de l'Université de Rouen, France. p : 14.

Oliver J.D., McDougald D., Barrett T., Glover L.A., & Prosser J.I. (1995). Effect of Temperature and Plasmid Carriage on Nonculturability in Organisms Targeted for Release. *FEMS Microbiology Ecology*. 17 (4), 229-237.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2001). Global strategy for containment of Antimicrobial resistance.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2004). Directive Pour La Qualité De L'eau De Boisson; Volume 2 (Critères D'hygiène). *Organisation Mondiale De La Santé*. 2ième édition. 189p.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2004). Guidelines for safe recreational water environments : volume 1 : Coastal and Fresh waters. 15p.

Organisation Mondiale & Gozen A.G. (2012). High level multiple antibiotic resistance among fish surface associated bacterial populations in non-aquaculture freshwater environment. *Water Research*. 46: 6382 – 6390.

Osborne L.L., & Willey M.J. (1988). Empirical relationships between landuse/cover and stream water quality in an agriculture water quality. *Journal of Environmental Management*. 26: 9-27.

Ozaktas T., Taskin B., Oberdorff T., Pont D., Hugueny B., & Chessel D. (2001b). A probabilistic model characterizing fish assemblages of French rivers: a framework for environmental assessment. *Freshwat. Biol.* 46: 399-415.

## P

Pace M.L., & Cole J.J. (1996). Regulation of bacteria by resources and predation tested in whole-lake experiments. *Limnol. Oceanogr.* 41:1448-1460.

Pal D., & Das Gupta C. (1992). Microbial pollution in water and its effect on fish. *J. Aquat. Anim. Health.* 4 (11): 32–39.

Palhares Julio Cesar Pascale, Jalusa D. Kich, Marjo C. Bessa, Luiza L. Biesus, Lais G. Berno, & Nelise J. Triques. (2014). *Salmonella* and antimicrobial resistance in an animal-based agriculture river system. *Science of the Total Environment.* 472 : 654–661.

Palleroni N.J. (2010). *Pseudomonas*. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections. John Wiley & Sons, Ltd.

Palomares C., Torres M.J., Torres A., Aznar J., & Palomares J.C. (2003). Rapid detection and identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture specimens using real-time fluorescence PCR. *Diagnos. Microbiol. Infect. Dis.* 45: 183–189.

Papadol M. (1969). Recherche sur la biologie de la reproduction du carassin (*Carassius carassius*) dans le bassin inférieur du Danube. *Acta. So. Zool. Bohemoslov.* 3: 40-55.

Paszkowski C. A. (1996). Predation risk and feeding patterns of crucian carp. *J Fish Biol.* 48: 818-828.

Paterson D. L., & Bonomo R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev.* 18: 657-86.

Peak N., Knapp C.W., Yang R.K., Hanfelt M.M., Smith M.S., & Aga D.S., *et al.* (2007). Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies. *Environ. Microbiol.* 9:143–51.

Peduzzi J., Reynaud A., Baron P., Barthélémy M., & Labia R. (1994). Chromosomally encoded cephalosporin-hydrolyzing fl-lactamase of *Proteus vulgaris* RO104 belongs to Ambler's class A. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1207 : 31-39.

Pepperell C., Kus J.V., Gardam M.A., Humar A., & Burrows L.L. (2002). Low-virulence *Citrobacter* species encode resistance to multiple antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother.* 46:3555-60.

Perrin J.L., Raïs N., Chahinian N., Moulin P., & Ijjaali M. (2014). Water quality assessment of highly polluted rivers in a semi-arid Mediterranean zone Oued Fez and Sebou River (Morocco). *Journal of Hydrology.* 510 : 26–34.

Petit F. (2010). Eau et antibiotique : rôle dans l'antibiorésistance ? 15ème Colloque. Contrôle Epidémiologique des Maladies Infectieuses 17-18 mai 2010. Rouen – Caen.

Phuong N. T., Oanh D. T. H., Dung T. T., & Sinh L. X. (2005). Bacterial resistance to antimicrobials use in shrimps and fish farms in the Mekong Delta, Viet Nam. In *Proceedings of*

*the international workshop on antibiotic resistance in Asian aquaculture environments*. Chiang May, Thaïlande. ISBN: 88-901344-3-7.

Piérard D., Crowcroft N., De Bock S., Potters D., Crabbe G., Van Loock F., & Lauwers S. (1999). A case-control study of sporadic infection with O157 and non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Epidemiology and Infection*. 122: 359–365.

Pirnay J.P., Matthijs S., Colak H., Chablain P., Bilocq F., & Van Eldere J. et al. (2005). Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. *Environ. Microbiol.* 7(7): 969–80.

Potelon J.L., & Zysman K. (1993). Guide des analyses d'eau potable. Editions de La lettre du Cadre Territorial. p. 143-145.

Prescott M., Harley P., & Klein A. (1999). Microbiologie. De Boeck. Université. 981p.

Pruzzo C., Tarsi R., Lleo M.D., Signoretto C., Zampini M., Colwell R.R., & Canepari P. (2002). In vitro adhesion to human cells by viable but nonculturable *Enterococcus faecalis*. *Current Microbiology*. 45 (2):105-110.

Prygiel J. (2013). « Impact des remises en suspension du sédiment liées au trafic fluvial en rivières canalisées sur l'état des masses d'eau. Application au bassin Artois-Picardie ». Thèse de doctorat ; Université de Lille 1. P : 23-26.

Prygiel J., & Leitao M. (1994). Cyanophycean blooms in the reservoir of Val Joly (Northern France) and their development in downstream rivers. *Hydrobiologia*. 289:85-96.

Purvina S., Béchemin C., Balode M., Verite C., Arnaud C., & Maestrini S.Y. (2010). Release of available nitrogen from river discharged dissolved organic matter by heterotrophic bacteria associated with the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Est. J. Ecol.*, 59 (3): 184-196.

## R

Raachi M.L. (2007). « Étude préalable pour une gestion intégrée des ressources du bassin versant du lac Tonga au nord-est algérien ». Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en géographie. Université du Québec à Montréal. Service des bibliothèques. 188p.

Rajendran A., & Mansiya C. (2015). Physico-chemical analysis of ground water samples of coastal areas of south Chennai in the post-Tsunami scenario. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 121 : 218–222.

Ramade F. (2003). *Eléments d'écologie : Ecologie fondamentale*. Paris : Dunod (ed.), 3ème édition.

Raoult D. (1998). *Dictionnaires de maladies infectieuses : diagnostic, épidémiologie, répartition géographique, taxonomie, symptomatologie*. Edition Elsevier. 1162 p

Reagan D.R., Nafziger D.A., & Wenzel R.P. (1990). Handfishing-associated *Klebsiella* bloodstream infection. *Journal of Infectious Diseases*. 161 : 155–156.

Réglementation française. Décret n°91-257 du 7 mars 1991 (J.O. du 8 MARS 1991) prise en application de la directive du Conseil des communautés européennes du 16 juin 1975 (N°75/440-J.O.C.E. n° L 194/29 du 25 juillet 1975).

Reinthaler F.F., Posch J., Feierl G., Wüst G., Haas D., & Ruckebauer G., et al. (2003). Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Res.* 37: 1685–1690.

Rejsek F. (2002). Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques. Série Science et Techniques de l'environnement. Ed ; Scérén. p :74, 290-312.

Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques. (2011). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). Document édité avec la collaboration de l'OMS. 6ème Edition. P : 179.

Roche International. (2000). Etude du Projet d'aménagement des plans d'eau du sud-Bénin ; Synthèse de l'état des lieux et cadre de développement. Rapport final, 90 p.

Rocher V. (2003). « Introduction et stockage des hydrocarbures et des éléments métalliques dans le réseau d'assainissement unitaire parisien ». Thèse de Doctorat, Université Paris XII - Val de Marne, France.

Rodier J., Bazin C., Broutin J.P., Chambon P., Champsaur H., & Rodi L. (2005). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Ed. Dunod, 8ème Edition, Paris.

Romalde J. L., Magarinos B., & Toranzo A. E. (1999). ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish. Leaf N°. 54 Pasteurellosis. Conseil international pour l'exploration de la mer Palzgade 24, DK-1261 Copenhagen K, Denmark. ISSN 0109-2510. 6p

Rose J.B., Farrah S.R., Harwood V.J., Levine A.D., Lukasik J., Menendez P., & Scott T. (2004). Reduction of Pathogens, Indicators Bacteria and Alternative Indicators by Wastewater Treatment and Reclamation Processes. *WERF final report*. IWA publishing. London, UK.

Rosenfeld L.K., McGee C.D., Robertson G.L., Noble M.A., & Jones, B.H. (2006). Temporal and spatial variability of fecal indicator bacteria in the surf zone off Huntington Beach. *CA Marine Environmental Research*. 61 (5): 471-493.

Rozen Y., & Belkin S. (2001). Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS microbiology reviews*. 25(5) : 513–529.

Ruíz-López. (1998). Emergence of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolates after widespread use of fluoroquinolones. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 30:103-107.

## S

Saadali B. (2007). « Etude de la qualité des eaux des sources issues du massif dunaire de Bouteldja (Algérie Extrême Nord Orientale) ». Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar. Annaba. 83p.

Sacchi C.F., & Testard A. (1971). Ecologie animale, organismes et milieu. Ed. Doin Paris : 444p.

Saint-Jacques N., & Richard Y. (2002). Le bassin de la rivière Saint-Maurice : les communautés Ichtyologiques et l'intégrité biotique du milieu, 1996. Direction du suivi de l'état de l'environnement. Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec. 75 p. + annexes.

- Sakar S.F.M., & Azza M.M.A. (2008). Contribution on *Pseudomonas* septicemia Caused by *Ps.anguilliseptica* in Cultured *Oreochromis niloticus*, Egypt, Fish Diseases Dept., Cen-tral Lab for Aquaculture Research, (El-Abbassa). Agriculture Research Center. p. 1177–1197.
- Saliba R., Khalaf G., Stephan M., & Nassif N. (2003). Correlation between ammonia and chemical and microbiological pollution of the coastal waters. Workshop on Fisheries, Aquaculture and Environment, Lattakié, Syrie.
- Samraoui B., & De Belair G. (1997). « Connaissance du fonctionnement écologique des zones humides du parc national d'El Kala et établissement des règles de gestion spécifiques » Étude d'expertise, Projet GEF/Banque mondiale. ANN. 55 p.
- Sanchez-Paz A., Garcia-Carreno F.L., Muhlia-Almazan A., Hernandez-Saaverdra N. Y., & Yepiz-Plascencia G. (2003). Differential expression of trypsin mRNA in the white shrimp (*Penaeus vannamei*) midgut gland under starvation condition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 292 : 1-17
- Sandayigaya E., Debevere J., & Deelstra H. (1990). Appréciation et amélioration de la qualité bactériologique du poisson commercialisé au Burundi. Cas de *Stolothrissatanganicae* et *Licilatesstappersii*. *Tropicultura.* 8 (2) : 64-68.
- Sarmah A.J., Meyer M.T., & Boxall A.B.A. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere.* 65: 725-759.
- Sarter S., Kha Nguyen H.N., Hung L.T., Lazard J., & Montet D. (2007). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control.* 18 :1391-1396.
- Sasaki T., Harada H., & Takita T. (2002). Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* in river water in urban parks. *Jpn. J. Limnol.* 63(3):215–9.
- Schiff K., & Kinney P. (2001). Tracking sources of bacterial contamination in stormwater discharges to Mission Bay, California. *Water Environment Research.* 73(5): 534-542.
- Schmidt A.S., Bruun M.S., Dalsgaard I., & Larsen J.L. (2001). Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Applied Environmental Microbiology.* 67: 5675-5682.
- Schmidt A. S., Bruun M. S., Dalsgaard I., Pedersen K., & Larsen J. L. (2000). Occurrence of antimicrobial resistance in Wsh-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology.* 66 (11): 4908–4915.
- Scott M.C., & L.W. Hall. (1997). Fish assemblages as indicators of environmental degradation in Maryland coastal plain streams. *Trans. Am. Fish. Soc.* 126: 349-360.
- Sebilotte. (1994). Qualité de l'environnement et pollution azotée de l'eau. Quelles procédures pour le développement agricole. *Etud. Rech. Syst. Agraires Dév.* 28 : 277-285.
- Seidl M., Servais P., & Mouchel J.M. (1998). Organic matter transport and degradation in the River Seine (France) after a combined sewer overflow. *Wat. Res.* 32:3569-3580.
- Seitzinger S.P., Harrison J.A., Dumont E., Beusen A.H.W., & Bouwman A.F. (2005). Sources and delivery of carbon, nitrogen, and phosphorus to the coastal zone: An overview of global

Nutrient Export from Watersheds (NEWS) models and their application. *Global. Biogeochem. Cy.*, 19: GB4S01, doi: 10.1029/2005GB002606.

Seyni S. (2006). « Contrôle environnemental de la production primaire du lac de Guiers au Nord du Sénégal ». Thèse de Doctorat de 3ème cycle de Biologie Végétale. Univ Cheik Anta Diop.

Shah S.Q.A., Colquhoun D.J., Nikuli H.L., & Sørsum H. (2012). Prevalence of antibiotic resistance genes in the bacterial flora of integrated fish farming environments of Pakistan and Tanzania. *Environmental Science and Technology*. <http://dx.doi.org/10.1021/es3018607>.

Shao-wu Li, Wang Di, Liu Hong-bai, & Lu Tong-yan. (2013). Molecular Typing of *Aeromonas hydrophila* Isolated from Common Carp in Northeast China. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*. 20 (1): 30-36.

Shotts E.B. (1987). Bacterial diseases of fish associated with human health. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 17:241–247.

Sica M. G., Olivera N.L., Brugnoli L. I., Cazorla A. C. L., & Cubiho M. A. (2010). Isolation, identification and antimicrobial activity of lactic acid from the Bahia Blanca Estuary. *Revista de biologia Marina y oceanografia*. 45 : 389-397.

Silva A.M.M., & Sacomani L.B. (2001). Using chemical and physical parameters to define the quality of Pardo river water (Botucatu-Sp-Brasil). Technical Note. *Water Res.* 35(6): 1609-1616.

Simões R., Poirel L., & Costa P. (2010). Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 110-112.

Sinton L.W., & Donnison A.M. (1994). Characterization of fecal streptococci from some New-zealand effluents and receiving waters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 28 (1): 145-158.

Sinton L., Hall C., & Braithwaite R. (2007). Sunlight inactivation of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica*, compared with *Escherichia coli*, in seawater and river water. *J. Water Health*. 5: 357–365.

SIWI (Stockholm International Water Institute). (2006). World Water week in Stokholm. Valable sur le site web: <http://www.worldwaterweek.org>

Solorzano L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.* 14(5). 799-801.

Sorum H. (2006). Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In: Aarestrup, F.M. (Ed.), *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press, Washington, D.C.

Sørsum H., & Sunde M. (2001). Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary Research*. 32 (3-4) : 227-241.

Souben J., Loiseau J., & Roger M.C. (2012). Dynamique de colonisation des voies navigables du bassin de la Seine par *Chelicorophium curvispinum* (Crustacea: Amphipoda). *Hydroécologie Appliquée*. DOI: 10.1051/hydro/2012051.

Straub T.M., & Chandler D.P. (2003). Towards a unified system for detecting waterborne pathogens. *Journal of Microbiological Methods*. 53 (2) : 185-197.

Sweeney B.W., Bott T.L., Jackson J.K., Kaplan L.A., Newbold J.D., Standley L.J., Hession W.C., & Horwitz R.J. (2004). Riparian deforestation, stream narrowing, and loss of stream ecosystem service. *Proc. Natl. Acad. sci. USA*. 101: 14132-14137.

## T

Tacao M., Moura A., Correia A., & Henriques I. (2014). Coresistance to different classes of antibiotics among ESBLproducers from aquatic systems. *Water Res.* 48 : 100-107.

Takasu H., Suzuki S., Reungsang A., & Viet P.H. (2011). Fluoroquinolone (FQ) contamination does not correlate with occurrence of FQ-resistant bacteria in aquatic environments of Vietnam and Thailand. *Microbes Environ.* 26:135–43.

Tallon P., Magajna B., Lofranco C., & Leung K.T. (2005). Microbial indicators of faecal contamination in water: A current perspective. *Water Air and Soil Pollution*. 166: 139-166.

Tao Ran, Guang-Guo Ying , Hao-Chang Su, Hong-Wei Zhou, & Jatinder P.S. Sidhu. (2010). Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from the Pearl rivers in South China. *Environmental Pollution*. 158: 2101- 2109.

Templ M., Filzmoser P. & Reimann C. (2008). Cluster analysis applied to regional geochemical data: Problems and possibilities. *Applied Geochemistry*. 23: 2198–2213.

Tenaillon O., Skurnik D., Picard B., & Denamur E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat.Rev. Microbiol.* 8:207-17.

Tendencia E.A., & de la Peña L.D. (2001). Antibiotics resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture*. 195: 193-204.

Terajima J., Izumiya H., Iyoda S., Tamura K., & Watanabe H. (1999). Detection of a multi-prefectural *E. coli* O157:H7 outbreak caused by contaminated ikura-sushi ingestion. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 52: 52–53.

Terrier C., Hansen W., Renaud F., & Freney J. (1992). *Pseudomonas*. Manuel de Bactériologie Clinique. Elsevier. p: 941-952.

Teuber M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*. 4: 493–499.

Texier S. (2008). “Dispersion et survie des populations de bactéries fécales bovines dans le sol des écosystèmes pâturés subalpins : conséquences sur le transfert bactérien dans les bassins versants ». Thèse de doctorat. Université de Savoie. 170 p. + annexes.

Thevenon F., Regier N., Benagli C., Tonolla M., Adatte T., & Poté J. (2012). Characterization of faecal indicator bacteria in sediments cores from the largest fresh water lake of Western Europe (Lake Geneva, Switzerland). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 78: 50-56.

Thierrin J., Steffen P., Cornaz S., Vualaz F.D., Balderer W., Looser M., Zpbrit J., & Zumstein J. (2001). Guide pratique de l'échantillonnage des eaux souterraines. Société Suisse D'Hydrogéologie. 57p.

Thornton I., & Jeffrey A. (1999). Assessment and control of nonpoint source pollution of aquatic ecosystems: a practical approach. (Man and the biosphere; v. 23).

Toranzo A. E., Barreiro S., Casal J. F., Figueras A., Magariños B., & Barja J. L. (1991). Pasteurellosis in cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*): first report in Spain. *Aquaculture*. 99: 1-15.

Toroglu S., Dincer S., & Korkmaz H. (2005). Antibiotic resistance in gram negative bacteria isolated from Aksu River in Turkey. *Annals of Microbiology*. 55: 229-233.

Trautmann M., Lepper P.M., & Haller M. (2005). Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am. J. Infect. Control*. 33 (5 Suppl 1): S41-9.

Troussellier M., Bonnefont J.L., Courties C., Derrien A., Dupray E., Gauthier M., Gourmelon M., Joux F., Lebaron P., Martin Y., & Pommepuy M. (1998). Responses of enteric bacteria to environmental stresses in seawater. *Oceanologica Acta*. 21 (6) : 965-981.

Tsapakis M., Stephanou E.G., & Karakassis I. (2003). Evaluation of atmospheric transport as a nonpoint source of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments of the Eastern Mediterranean. *Marine Chemistry*. 80:283-298.

Turonnet B. (1999). Risques de contaminations bactériennes après épandage d'effluents organiques sur prairies de montagne : étude comparée de la survie et des transferts de bactéries sur quatre types de sol en conditions naturelles. DAA Génie de l'environnement option Sol et Aménagement. 49 p. + annexes.

## U

Uhland C., Mikaelian I., & Martineau D. (2000). Maladies des poissons d'eau douce du Québec. Guide de diagnostic. Les presses de l'Université de Montréal. 466 p.

Unated statesese Environmental Protection Agency (US/EPA). (2001). Ecological Risk Assessment Bulletins, accessible au site internet: <http://www.epa.gov/region4/superfund/programs/riskassess/ecolbul.html>

Uy H.S., Leuenberger E.U., De Guzman B.B., & Natividad F.F. (2007). Chronic, Postoperative *Pseudomonas luteola* endophthalmitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.* 15 : 359–361.

## V

Vally H., Whittle A., Cameron S., Dowse G.K., & Watson T. (2004). Outbreak of *Aeromonas hydrophila* wound infections associated with mud football. *Clinical Infectious Diseases*. 1538 (8): 1084– 1089.

Van Eetvelde V., & Antrop M. (2005). The significance of landscape relic zones in relation to soil conditions, settlement pattern and territories in Flanders. *Landscape and Urban Planning*. 70:127-141.

Van Donsel J.D., Geldreich E.E., & Clarke N.A. (1967). Seasonal variations in survival of indicator bacteria in soil and their contribution to storm water pollution. *Applied Microbiology*. 15 (6): 1362 – 1370.

- Vaseeharan B., Ramasamy R., Murugan T., & Chen, J. C. (2005). In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio spp.* and *Aeromonas spp.* isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 285-291.
- Vaz-Moreira Ivone O., Nunes C.B., & Manaia C.M. (2012). Diversity and antibiotic resistance in *Pseudomonas spp.* from drinking water. *Science of the Total Environment*. 426: 366–374.
- Vega M., Pardo R., Barrado E., & Deban L. (1998). Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Water Res.* 32(12): 3581-3592.
- Velge P., Cloeckaert A., & Barrow P. (2005). Emergence of *Salmonella* epidemics: the problem related to *Salmonella enteric* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Veterinary Research*. P : 267-288.
- Vernozy-Rozand C., & Roze S. (2003). Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments*. (A.F.S.S.A.). Maisons-Alfort. FRA. 20 p.
- Villers j., Squilbin M., & Yourassowsky C. (2005). Qualité physique et chimique des eaux de surface: cadre général. P : 17.

## W

- Walmsley J.J. (2002). Framework for measuring sustainable development in catchment systems. *Environ.Manage.* 29: 195-206.
- Walsh F., & Duffy B. (2013). The culturable soil antibiotic resistome: a community of multi-drug resistant bacteria. *PLoS One*. 8:655-67.
- Wang W.S., & Wang D.H. (1997). Enhancement of the resistance of tilapia and grass carp to experimental *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* infections by several polysaccharides. *Comp. Immunol. Microb.* 20: 261-270.
- Warren N., Allan I.J., Carter J.E., House W.A., & Parker A. (2003). Pesticides and other micro-organic contaminants in freshwater sedimentary environments-a review. *Applied Geochemistry*. 18:159-194.
- Wawire Sifuna Anthony, David Onyango Miruka, Namuyenga Nelson, & Ayub Ofulla. (2013). Antimicrobial susceptibility patterns of Enterobacteriaceae isolated from domesticated animals and the environment in Lake Victoria, Kenya. *Ecohydrology & Hydrobiology*. 13: 246–252.
- Weir M., Rajic A., Dutil L., Cernicchiaro N., Umland F.C., Mercier B., & Tusevljak N. (2012). Zoonotic bacteria, antimicrobial use and antimicrobial resistance in ornamental fish: A systematic review of the existing research and survey of aquaculture-allied professionals. *Epidemiology and Infection*. 140: 192–206.
- Wellington E.M.H., Boxall A.B., & Cross P., *et al.* (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet. Infect. Dis.* 13:155-65.
- Wen A.Y, Weiss I.K, & Kelly R.B. (2013). *Chryseomonas luteola* blood stream infection in a pediatric patient with pulmonary arterial hypertension receiving intravenous treprostinil therapy. *Infection*. 41:719–722.

Wenpeng Gu, Jianwen Yin, Jianbin Yang, Chaoqun Li, Yujuan Chen, Jie Yin, Wen Xu, Shiwen Zhao, Junrong Liang, Huaqi Jing, & Xiaoqing Fu. (2014). Characterization of *Vibrio cholerae* from 1986 to 2012 in Yunnan Province, southwest China bordering Myanmar. *Infection, Genetics and Evolution*. 21: 1–7.

Wetzel R.G. (2001). *Limnology. Lake and river ecosystems*. 3e édition. Academic Press, New York. 1006 p.

Wichert G.A., & Rapport D.J. (1998). Fish community structure as a measure of degradation and rehabilitation of riparian systems in an agricultural drainage basin. *Environ. Manage.* 22: 425-443.

Wiegner T.N., Sybil P., & Seitzinger S.P. (2006). Bioavailability of dissolved organic nitrogen and carbon from nine rivers in the eastern United States. *Aquat. Microb. Ecol.* 43: 277-287.

Wieler L., Ewers C., & Guenther S. (2011). Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *Int J Med Microbiol.* 301: 635-641.

Wilson B., Danilowicz B.S., & Meijer W.G. (2008). The diversity of bacterial communities associated with Atlantic cod *Gadus morthua*. *Microb. Ecol.* 55 : 425- 434.

Wilzbach M. A., Mather M.E., Folt C.L., Moore A., Naiman R.J., Youngson A.F., & McMenemy J. (1998). Proactive responses to human impacts that balance development and Atlantic salmon (*Salmo salar*) conservation: an integrative model. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55 (Suppl. 1): 288-302.

Woodcock T. S., & Huryn A. D. (2007). The response of macroinvertebrate production to a pollution gradient in a headwater stream. *Freshwater biology.* 52 :177-196.

World Health Organization (WHO). (2008). *Guidelines for drinking water quality*, 3rd ed. Recommendations, vol. 1. WHO Press, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland.

Wright G. D. (2007). The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat. Rev. Microbiol.* 5:175-86.

Wright G. (2010). Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? *Curr. Opin. Microbiol.* 13: 589–594.

## Y

Yano Y., Hamano K., Satomi M., Tsutsui I., Ban M., & Dusit Aue-umneoy. (2014). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. *Food Control.* 38: 30-36.

Yidana S.M., Ophori D., & Banoeng-Yakubob B. (2008). A multivariate statistical analysis of surface water chemistry data-The Ankobra Basin, Ghana. *Journal of Environmental Management.* 86: 80–87.

Yurkovskis A. (2007). Dynamics of particulate major and trace elements in the lower reaches of the Daugava River and adjacent area of the Gulf of Riga (Baltic Sea). *Mar. Poll. Bull.* 49 : 249-263.

**Z**

Zahid H.M., Mahal Z., & Chowdhury M.R. (2009). Prevalence of multiple antibiotic resistant bacteria and chromosomal determinants in surface water of Bangladesh. *African Journal of Biotechnology*. 8: 148-154.

Zhang E., Savenije H.H.G., Wu H., Kong Y., & Zhu J. (2011). Analytical solution for salt intrusion in the Yangtze Estuary, China. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 91: 492-501.

Zmysłowska I., Guziur J., Woźniak M., & Harnisz M. (2002). Microbiological studies of carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings wintered in cooling waters. *Arch. Pol. Fish.* 10 (1): 73–84.

Zurfluh K., Hachler H., Nuesch-Inderbinen M., & Stephan R. (2013). Characteristics of extended-spectrum b-lactamase- and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolates from rivers and lakes in Switzerland. *Appl. Environ. Microbiol.* 79 (9): 3021-3026.

# **VI. Annexes**

## Annexe I

## 1. Préparation de la gamme des étalons pour le dosage des nitrites (Aminot &amp; Kérouel, 2004)

- Solution étalon concentrée de nitrite à 5000  $\mu\text{mol/L}$  (1 ml contient 5  $\mu\text{mol}$  de nitrite)

Produits utilisée	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nitrite de sodium anhydre (<math>\text{NaNO}_2</math>, <math>M=69\text{g/mol}</math>)</li> <li>• Eau déminéralisée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sécher le nitrite de sodium à (<math>100^\circ\text{C}</math>, 1 heure).</li> <li>• Peser 0.345 g pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau déminéralisée, puis transférer en flacon.</li> <li>• Conserver à <math>T^\circ</math> ambiante, à l'abri de la lumière, renouveler tous les mois.</li> </ul>

- Solution étalon diluée de nitrite à 50  $\mu\text{mol/L}$  (1 ml contient 0.05  $\mu\text{mol}$  de nitrite)

Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diluer 100 fois la solution étalon concentrée pour obtenir la solution étalon diluée.</li> <li>• Solution à conserver extemporanément, elle ne se conserve que quelque heure.</li> </ul>

- Pour une concentration de 0.1 $\mu\text{mol/L}$  de nitrite, ajouter à 1 ml « de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée).
- Pour une concentration de 0.2 $\mu\text{mol/L}$  de nitrite, ajouter à 2 ml « de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée).
- Pour une concentration de 0.5 $\mu\text{mol/L}$  de nitrite, ajouter à 5 ml « de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée).
- Pour une concentration de 1.0  $\mu\text{mol/L}$  de nitrite, ajouter à 10 ml « de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée).

- **Les réactifs de dosage des nitrites**

- Réactif R1 (solution de sulfanilamide)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• HCl fumant (37%, 1.19Kg/L).</li> <li>• Sulfanilamide (<math>\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}</math>; <math>M=172\text{g/mol}</math>)</li> <li>• Eau déminéralisée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diluer 100 ml d'acide chlorhydrique dans 500 ml d'eau déminéralisée.</li> <li>• Ajouter et dissoudre 10g de sulfanilamide, puis compléter à 1 litre</li> <li>• conserver R1 à l'abri de la lumière, stable pendant plusieurs mois.</li> </ul>

- Réactif R2 (solution de N-naphtyl-éthylènediamine)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dichlorohydrate de N-(1-naphtyl)-éthylènediamine (NED) (<math>C_{12}H_{14}N_2</math>, 2 HCl, M=259g/mol).</li> <li>• Eau déminéralisée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dissoudre 1 g de NES dans 1 litre d'eau déminéralisée.</li> <li>• Conserver R2 au froid et à l'abri de la lumière, et la renouveler tous les mois ou dès qu'elle prend une coloration brune.</li> </ul>

## 2. Préparation de la gamme des étalons pour le dosage de l'azote ammoniacal (Aminot & Kérouel, 2004)

- Solution étalon concentrée d'ammonium à 10 000  $\mu\text{mol/L}$  (1 ml contient 10  $\mu\text{mol}$  d'ammonium).

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfate d'ammonium (<math>(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4</math>, M= 132.14 g/mol).</li> <li>• Eau déminéralisée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sécher du sulfate d'ammonium à (<math>105^\circ\text{C}</math>, 1 heure).</li> <li>• Peser 0.661 g de sulfate d'ammonium pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau déminéralisée.</li> <li>• Conserver à <math>T^\circ</math> ambiante et à l'abri de la lumière, pendant 1 ans.</li> </ul>

- Solution étalon diluée d'ammonium à 500  $\mu\text{mol/L}$  (1 ml contient 0.5  $\mu\text{mol}$  d'ammonium).

Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diluée 20 fois la solution étalon concentrée pour obtenir la solution étalon diluée.</li> <li>• Cette solution doit être préparée juste avant usage.</li> </ul>

- Pour une concentration de 0.2 $\mu\text{mol/L}$  d'ammonium, ajouter à 0.2 ml « de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée.
- Pour une concentration de 0.5 $\mu\text{mol/L}$  d'ammonium, ajouter à 0.5 ml « de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée.
- Pour une concentration de 1 $\mu\text{mol/L}$  d'ammonium, ajouter à 1 ml « de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée.
- Pour une concentration de 2  $\mu\text{mol/L}$  de d'ammonium, ajouter à 2 ml « de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée.
- Pour une concentration de 5  $\mu\text{mol/L}$  de d'ammonium, ajouter à 5 ml « de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$  » en fiole jaugée de 500 ml, compléter avec l'eau déminéralisée.

- **Les réactifs de dosage de l'azote ammoniacal**

Les réactifs se préparent directement dans leur flacon de stockage.

- Réactif R1' (solution de phénol- nitroprussiate)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phénol (<math>C_6H_5OH</math>, <math>M=94.1\text{g/mol}</math>)</li> <li>• Nitroprussiate de sodium dihydraté (NP, <math>Na_2 Fe(CN)_5NO</math>, <math>2H_2O</math>, <math>M=298\text{g/mol}</math>)</li> <li>• Eau déminéralisée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dissoudre 65g de phénol dans 800 ml d'eau déminéralisé, en flacon verre.</li> <li>• Ajouter et dissoudre 1.5 g de NP, puis compléter à 1 litre</li> <li>• Conserver au réfrigérateur (stable 2 à 3 semaine), la renouveler si elle prend une teinte verdâtre.</li> </ul>

- Solution alcaline complexante

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citrate trisodique dihydraté (<math>Na_3C_6H_5O_7</math>, <math>2H_2O</math>, <math>M=294.1\text{g/mol}</math>).</li> <li>• Soude (<math>NaOH</math>, <math>M=40\text{g/mol}</math>).</li> <li>• Eau déminéralisée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dissoudre 375 g de citrate et 30 g de soude dans 800 ml d'eau déminéralisée flacon en plastique et compléter à 1 litre.</li> <li>• Cette solution est stable plusieurs mois à <math>T^\circ</math> ambiante.</li> </ul>

- Réactif R2' (solution complexante au chlore)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dichloroisocyanurate de sodium dihydraté (DCI, <math>C_3Cl_2N_3NaO_3</math>, <math>2H_2O</math>, <math>M=256\text{g/mol}</math>).</li> <li>• Eau déminéralisée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.</li> <li>• A la solution complexante, ajouter 8 g de DCI par litre.</li> <li>• Conserver au réfrigérateur, cette solution ne peut être utilisée qu'une semaine.</li> </ul>

### 3. Préparation de la gamme des étalons pour le dosage de l'orthophosphate (Aminot & Kérouel, 2004)

- Solution étalon concentré de phosphate à  $5000\mu\text{mol/l}$

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (<math>KH_2PO_4</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sécher du <math>KH_2PO_4</math> à <math>105C^\circ</math> pendant 1 heure</li> <li>• Peser 0,6805 g pour 1000 ml de solution préparer avec de l'eau distillée;</li> <li>• Transférer la solution dans un flacon en verre ou en plastique</li> </ul>

- Solution étalon diluée phosphate à 50µm/l : Diluer 100 fois la solution concentrée.
- L'étalonnage sera de préférence réalisé en eau de mer pauvre en PO<sub>4</sub>, ou on peut diluer 5 à 10 fois une eau de mer côtière avec d'eau déminéralisée;
- Préparer une gamme étalon correspond aux concentrations 0.1-0.2-0.5-1.0-µm/l en fioles jaugées de 500ml, il faut 1-2-5-10 ml de la solution étalon, compléter au volume avec de l'eau de mer diluée.
- **Les réactifs de dosage de l'orthophosphate**

Les réactifs se préparent directement dans leur flacon de stockage.

- Acide sulfurique 2.9 mol/l\*

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide sulfurique</li> <li>• Eau déminéralisée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pour 1000 ml, ajouter lentement en agitant constamment 160ml d'acide sulfurique dans 800 ml d'eau déminéralisée</li> <li>• compléter au volume après refroidissement</li> <li>• Conserver au réfrigérateur, cette solution se conserve indéfiniment.</li> </ul>

- Réactif R1'' (solution d'acide ascorbique)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide sulfurique (2.9 mol/l*)</li> <li>• Acide ascorbique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dans 100 ml d'acide sulfurique 2.9 mol/l*, dissoudre 5 g d'acide ascorbique.</li> <li>• Conserver au réfrigérateur, cette solution est stable quelques semaines. La renouveler si elle brunit.</li> </ul>

- Réactifs R2'' (solution d'acide Molybdène et d'antimoine)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide sulfurique (2.9 mol/l*)</li> <li>• Héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté.</li> <li>• Oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dans 450 ml d'acide sulfurique 2.9 mol/l*, dissoudre 13 g de molybdate d'ammonium</li> <li>• Dissoudre 0.3 g d'oxytartrate d'antimoine dans 50 ml d'eau déminéralisée, l'ajouter à la solution de molybdate et mélanger</li> <li>• Conserver à température ambiante, cette solution est stable plusieurs mois.</li> </ul>

## Annexe II

- **Composition des milieux de culture (Guiraud, 2003 ; Rodier *et al.*, 2005)**

- 1. La gélose PCA (g/ litre d'eau distillée)**

Tryptone	5
Extrait autolytique de levure	2.5
Glucose	1.0
Agar agar	12
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C = 7.0 ± 0.2.	

- 2. BCPL (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) D/C (g/ litre d'eau distillée)**

Tryptone	10
Extrait de viande	6
Lactose	10
Pourpre de bromocrésol	0.05
pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

- 3. BCPL (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) S/C (g/ litre d'eau distillée)**

Tryptone	5
Extrait de viande	3
Lactose	5
Pourpre de bromocrésol	0.025
pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

- 4. BLBVB (bouillon bilié lactosé au vert brillant) (g/ litre d'eau distillée)**

Bile de bœuf	20
Peptone	10
Lactose	10
Vert brillant	0.0133
pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

- 5. Milieu de Schubert (g/500 ml d'eau distillée)**

Tryptone	0.2
Acide glutamique	0.2
Sulfate de magnésium	0.7
Sulfate d'ammonium	0.4
Citrate de sodium	0.5
Chlorure de sodium	2
Peptone	10

Mannitol	7.5
Tampon phosphate	500 ml
pH = 7.6 / autoclavage à 115°C pendant 10 minutes.	

#### 6. Eau péptonée exempte d'indole (g/ litre d'eau distillée)

Peptone exempte d'indole	10
Chlorure de sodium	5
pH = 7.2.	

#### 7. Milieu de Rothe D/C (g/ litre d'eau distillée)

Tryptone	30
Glucose	15
Chlorure de sodium	15
Azoture de sodium	0.4
Extrait de viande de bœuf	9
pH = 6.8 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.	

#### 8. Milieu de Rothe S/C (g/ litre d'eau distillée)

Tryptone	15
Glucose	7.5
Chlorure de sodium	7.5
Azoture de sodium	0.2
Extrait de viande de bœuf	4.5
pH = 6.8 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.	

#### 9. Milieu de Litsky (g/ litre d'eau distillée)

Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Azoture de sodium	0.3
Dihydrogénophosphate de potassium	2.7
Monohydrogénophosphate de potassium	2.7
Solution de violet d'éthyle	5
pH = 7 / autoclavage à 120°C pendant 10 minutes.	

#### 10. Viande foie (VF) (g/ litre d'eau distillée)

Base viande foie	30
Glucose	2
Amidon	2
Agar	1
Au moment de l'emploi:	
Faire préalablement fondre 250 ml du milieu viande-foie, ajouter après	

refroidissement 12,5 ml de la solution de sulfite de sodium à 5%, et 2.5 ml de la solution d'alun de fer à 5%, mélanger sans faire des bulles.

#### 11. Eau peptonée tamponée (g/ litre d'eau distillée)

Peptone	10
Chlorure de sodium	5.0
Hydrogénophosphate disodique	3.5
Hydrogénophosphate de potassium	1.5
pH = 7.2 / autoclavage à 115C° pendant 15 min.	

#### 12. Bouillon Sélénite-cystéine (g/ litre d'eau distillée)

Peptone de caséine	5
Lactose	4
Phosphate disodique	10
Sélénite de sodium	4
Cystine	0.01

#### 13. Gélose Mac Conkey (g/ litre d'eau distillée)

Peptone pancréatique de gélatine	17.0
Tryptone	1.5
Peptone pepsique de viande	1.5
Lactose	10.0
Sels biliaires	1.5
Chlorure de sodium	5.0
Rouge neutre	30.0
Cristal violet	1.0
Agar agar	13.5
pH= 7.0	

#### 14. Gélose Hektoen (g/ litre d'eau distillée)

Protease peptone	12
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Sels biliaires	9
Citrate de ferrique ammoniacale	1.5
Salicine	2
Saccharose	12
Lactose	2
Fuchsine acide	0.04
Bleu de brothynol	0.06
Agar agar	1.4
pH= 7.5	

**15. Gélose SS, *Salmonella-Shigella* (g/ litre d'eau distillée)**

Peptone	5
Extrait de viande	5
Lactose	10
Citrate de sodium	10
Citrate de fer (III)	1
Désoxycholate	8.5
Vert brillant	0.3 mg/l
Rouge neutre	25
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	8.5
Agar	15

pH = 7.2 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

**16. Mannitol-Mobilité (g/ litre d'eau distillée)**

Peptone pancréatique de viande	20
Agar-agar	4
Mannitol	2
Nitrate de potassium	1
Rouge de phénol solution à 1%	4

pH = 7.2.

**17. Eau peptonée alcaline (E.P.A) (g/ litre d'eau distillée)**

Peptone	30
Chlorure de sodium	30

pH = 8.6/ autoclavage 20 min à 121°C

**18. Gélose nutritive (G.N) (g/ litre d'eau distillée)**

Peptone pepsique de viande	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar	15

pH: 7.4±0.2/ autoclavage 15 min à 121°C. Pour les vibrions ajuster le pH à 8.

**19. GNAB (gélose nutritive alcaline biliée)**

La même composition de la GN plus 1g de la Bile. pH= 8.9 -9

**20. Milieu TSI (g/ litre d'eau distillée)**

Extrait de l'œuf	3
Agar	12
Extrait de levure	3

Peptone	20
Lactose	10
Saccharose	10
NaCl	5
Glucose	1
Citrate ferrique	3
Thiosulfate de sodium	3
Rouge de phénol	0.025
pH = 7.4	

### 21. Moeller + ADH/ Moeller + ODC

Extrait de levure	3 g
L-ornithine/ L-arginine (suivant le cas)	5 g
Glucose	1 g
Bromocrésol pourpre	0.16
Éthanol	1 mL
Chlorure de sodium	5 g
pH = 6.8 / autoclavage 15 min à 121°C.	

### 22. Clark et Lubs (g/ litre d'eau distillée)

Peptone tryptique de caséine	5
Phosphate bi potassique	5
Glucose	5
pH = 7.5 /autoclavage 15 min à 121°C	

### 23. Urée-Idole (g/ litre d'eau distillée)

L-tryptophane	3
Phosphate monopotassique	1
Phosphate di potassique	1
Chlorure de sodium	5
Urée	20
Solution rouge de phénol à 1%	2.5 ml
Alcool à 95°	10 ml
pH = 7 /autoclavage 15 min à 121°C	

### 24. Gélose au cétrimide (g/ litre d'eau distillée)

Peptone	20
Chlorure de sodium	3
Sulfate de potassium	10
Monohydrogénophosphate de potassium	0.3
Cétrimide (bromure de tétradonium)	0.2
Acide nalidixique	0.015

Agar	12
pH = 7.1 / autoclavage 20 min à 121°C.	

### 25. Le milieu King A (g/ litre d'eau distillée)

Peptone tryptique de gélatine (peptone A)	20
Glycérol	10
Sulfate de potassium anhydre	10
Chlorure de magnésium anhydre	1.4
Agar	15
pH = 7.2 / autoclavage 20 min à 121°C.	

### 26. Le milieu King B (g/ litre d'eau distillée)

Polypeptone (peptone B)	20
Glycérol	10
Phosphate bipotassique anhydre	1.5
Sulfate de magnésium	1.5
Agar	15
pH = 7.2 / autoclavage 20 min à 121°C.	

### 27. Chapman (g/ litre d'eau distillée)

Peptone tryptique de caséine	10
Extrait de viande	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Rouge de phénol	0.025
Agar	15
pH = 7.6 / autoclavage 20 min à 121°C.	

### 28. Bouillon cœur-cerveille (g/ litre d'eau distillée)

Peptone pepsique de viande	10
Extrait de cerveau	12.5
Extrait de cœur	5
Glucose	2
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate disodique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2.5
pH = 7.4±0.2 / autoclavage 15 min à 121°C.	

### 29. Gélose Mueller-Hinton (g/ litre d'eau distillée)

Hydrolysât acide de caséine	17.5
Infusion de viande	2.0
Amidon soluble	1.5
Agar agar	17.0
pH= 6.7/ autoclavage 15 min à 121°C.	

- **Composition des réactifs et des colorants** (Guiraud, 2003 ; Rodier *et al.*, 2005)

### 1. Réactif de Kovacs

Diméthyl-amino-4 benzaldéhyde	50 g
Pentanol I (alcool amylique)	750ml
HCl pur	250ml

### 2. Violet de Gentiane

Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90%	1ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

### 3. Le Lugol

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	100ml

### 4. La Fuchine

Fuchsine basique	1g
Alcool éthylique	100ml
Phéno	15g
Eau distillée	100ml

### 5. Réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase)

Perchlorure de fer	3.4g
Eau distillée	100ml

### 6. Réactif IND (pour la recherche de l'indole)

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5.0 g
Alcool isoamylique	75.0 ml
HCL 37%	25.0 ml

### 7. Réactif VPI (pour la recherche de l'acétoïne)

Hydroxyde de potassium	40g
Eau distillée	100ml

**8. Réactif VP II (pour la recherche de l'acétoïne)**

Alpha naphthol	6g
Ethanol	100ml

**9. Réactif NIT I (pour la recherche du nitrate réductase)**

Acide sulfamilique	0.8 g
Acide acétique 5N	100 ml

**10. Réactif NIT II (pour la recherche du nitrate réductase)**

Naphtylamine	0.5 g
Acide acétique 5N	100 ml

**11. Réactif du rouge de méthyle**

Rouge de méthyle	0.5 g
Alcool à 80°	100ml

**12. Réactif ZYM A**

Tris-hydroxyméthyl-aminométhane	25 g
Acide chlorhydrique à 37 %	11 ml
Laurylsulfate Na	10 g
H <sub>2</sub> O	100 ml

**13. Réactif ZYM B**

Fast Blue BB	0.35 g
2-méthoxy éthanol	100 ml

**14. Api GP Médium (API Strep)**

Cystine	0.5 g
Tryptone	20 g
Chlorure de sodium	5 g
Sulfite de sodium	0.5 g
Rouge de phénol	0.17 g
Eau déminéralisée	1000 ml
pH = 7.8	

**15. Réactif NIN (API Strep)**

Ninhydrine	7 g
2-méthoxy éthanol	100 ml

## Annexe III

**Table de NPP/ extraite de la norme NF T 90-413  
(Pour 3×1 ml, 3×0.1 ml, 3×0.01 ml)**

**Tableau 27:** Indices NPP pour 100 ml d'échantillon et limites de confiance à 95% avec trois prises d'essai de trois dilutions successives (source : Rejsek, 2002).

Nombre de résultats positifs			NPP	Limites de confiance	
				inférieur	supérieur
0	0	0	<0.30	0.00	0.94
0	0	1	0.30	0.01	0.95
0	1	0	0.30	0.01	1.00
0	1	1	0.61	0.12	1.70
0	2	0	0.62	0.12	1.70
0	3	0	0.94	0.35	3.50
1	0	0	0.36	0.02	1.70
1	0	1	0.72	0.12	1.70
1	0	2	1.1	0.4	3.5
1	1	0	0.74	0.13	2.00
1	1	1	1.1	0.4	3.5
1	2	0	1.1	0.4	3.5
1	2	1	1.5	0.5	3.8
1	3	0	1.6	0.5	3.8
2	0	0	0.92	0.15	3.50
2	0	1	1.4	0.4	3.5
2	0	2	2.0	0.5	3.8
2	1	0	1.5	0.4	3.8
2	1	1	2.0	0.5	3.8
2	1	2	2.7	0.9	9.4
2	2	0	2.1	0.5	4.0
2	2	1	2.8	0.9	9.4
2	2	2	3.5	0.9	9.4
2	3	0	2.9	0.9	9.4
2	3	1	3.6	0.9	9.4
3	0	0	2.3	0.5	9.4
3	0	1	3.8	0.9	10.4
3	0	2	6.4	1.6	18.1
3	1	0	4.3	0.9	18.1
3	1	1	7.5	1.7	19.9
3	1	2	12	3	36
3	1	3	16	3	38
3	2	0	9.3	1.8	36.0
3	2	1	15	3	38
3	2	2	21	3	40
3	2	3	29	9	99
3	3	0	24	4	99
3	3	1	46	9	198
3	3	2	110	20	400
3	3	3	>110		

## Table de NPP/ extraite de la norme ISO 7218, 1996

**Tableau 28:** Indices NPP pour 3×1g, 3×0.1g, 3×0.01g d'échantillon  
(Joffin & Joffin, 2010).

Nombre de résultats positifs			NPP	Limites de confiance			
				>95%	>95%	>99%	>99%
0	0	0	<0.30	0.00	0.94	0.00	1.40
0	0	1	0.30	0.01	0.95	0.00	1.40
0	1	0	0.30	0.01	1.00	0.00	1.60
0	1	1	0.61	0.12	1.70	0.05	2.50
0	2	0	0.62	0.12	1.70	0.05	2.50
0	3	0	0.94	0.35	3.50	0.18	4.60
1	0	0	0.36	0.02	1.70	0.01	2.50
1	0	1	0.72	0.12	1.70	0.05	2.50
1	0	2	1.1	0.4	3.5	0.2	4.6
1	1	0	0.74	0.13	2.00	0.06	2.70
1	1	1	1.1	0.4	3.5	0.2	4.6
1	2	0	1.1	0.4	3.5	0.2	4.6
1	2	1	1.5	0.5	3.8	0.2	5.2
1	3	0	1.6	0.5	3.8	0.2	5.2
2	0	0	0.92	0.15	3.50	0.07	4.60
2	0	1	1.4	0.4	3.5	0.2	4.6
2	0	2	2.0	0.5	3.8	0.2	5.2
2	1	0	1.5	0.4	3.8	0.2	5.2
2	1	1	2.0	0.5	3.8	0.2	5.2
2	1	2	2.7	0.9	9.4	0.5	14.2
2	2	0	2.1	0.5	4.0	0.2	5.6
2	2	1	2.8	0.9	9.4	0.5	14.2
2	2	2	3.5	0.9	9.4	0.5	14.2
2	3	0	2.9	0.9	9.4	0.5	14.2
2	3	1	3.6	0.9	9.4	0.5	14.2
3	0	0	2.3	0.5	9.4	0.3	14.2
3	0	1	3.8	0.9	10.4	0.5	15.7
3	0	2	6.4	1.6	18.1	1.0	25.0
3	1	0	4.3	0.9	18.1	0.5	25.0
3	1	1	7.5	1.7	19.9	1.1	27.0
3	1	2	12	3	36	2	44
3	1	3	16	3	38	2	52
3	2	0	9.3	1.8	36.0	1.2	43.0
3	2	1	15	3	38	1.2	52
3	2	2	21	3	40	2	56
3	2	3	29	9	99	2	152
3	3	0	24	4	99	5	152
3	3	1	46	9	198	3	283
3	3	2	110	20	400	10	570
3	3	3	>110 ou 140				

**Tableau 29:** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 E (source : <http://www.biomerieux.com>).

Test	Groupements active	Réactions / Enzymes	Résultats	
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phényle-B-D-Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Negative	Positive
			incolore	jaune
<b>ADH</b>	L-Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge-Orangé
<b>LDC</b>	L-Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge-Orangé
<b>ODC</b>	L-Orthine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge-Orangé
<b> CIT </b>	TriSodium citrate	Utilisation de citrate	Vert	Bleu-vert/orange
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de sodium	Production de H <sub>2</sub> S	Incolore	Noir
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge-Orangé
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	Incolore	Rose
<b> VP </b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP1+ VP2</b>	
			Incolore	Rose/rouge
<b> GEL </b>	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/jaune-gris
<b>MAN</b>	D-Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>SOR</b>	D-Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>RHA</b>	L-Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>SAC</b>	D-Saccharose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>MEL</b>	D- Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
<b>Réduction des nitrates (GLU tube)</b>	Potassium nitrate	Production de NO <sub>2</sub>	<b>NIT 1+NIT 2, 2-3 min</b>	
			Jaune	Rouge
		Réduction au N <sub>2</sub>	<b>Zn / 5 min</b>	
			Orange-rouge	jaune
<b>OF-O</b>	glucose	Oxydation du glucose	vert	jaune
<b>OF-F</b>	glucose	Fermentation du glucose sous l'huile	vert	jaune

**Tableau 30:** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 NE (source : <http://www.biomerieux.com>).

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats				
			Négatif	Positif			
NO3	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	<b>NIT 1 + NIT 2 / 5 mn</b>				
			Incolore	Rose/rouge			
TRP	Tryptophane	Réduction des nitrates en azote	<b>ZN / 5 mn</b>				
			Incolore	Rose			
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	<b>TRP / 3-5 mn</b>				
				Incolore	Rose / rouge		
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge			
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge			
ESC	Esculine	Hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase)	Jaune	Gris/marron/noir			
GEL	Gélatine	Hydrolyse (protéase)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir			
PNPG	p-Nitro-phényle- $\beta$ D-Galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune			
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble			
ARA	Arabinose						
MNE	Mannose						
MAN	Mannitol						
NAG	N-acétyl-glucosamine						
MAL	Maltose						
GNT	Potassium Gluconate						
CAP	Acide Caprique						
ADI	Acide Adipique						
MLT	Acide Malique						
CIT	Trisodium Citrate						
PAC	Phényl-acétate						
OX	Tetraméthyl-p-phenylène diamine				Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

**Tableau 31:** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api Staph (source : <http://www.biomerieux.com>).

Tests	substrats	Caractère recherché	Résultats	
			Négative	Positive
<b>0</b>	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
<b>GLU</b>	D-glucose	Témoin négatif	Rouge	Jaune
<b>FRU</b>	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate		
<b>MNE</b>	D-mannose			
<b>MAL</b>	Maltose			
<b>LAC</b>	Lactose			
<b>TRE</b>	D-tréhalose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>XLT</b>	Xylitol			
<b>MEL</b>	D-melibiose			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium		Réduction des nitrates en nitrites	<b>NIT 1 + NIT 2 / 10 mn</b>
		Incolore/Rose		Rouge
<b>PAL</b>	$\beta$ -naphtyl. phosphate	Phosphatase alcaline	<b>ZYM A + ZYM B / 10 mn</b>	
			Jaune	Violet
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	<b>VP 1 + VP 2 / 10 mn</b>	
			Incolore/rose	Violet/rose
<b>RAF</b>	Raffinose	Acidification à partir du carbohydate	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	Xylose			
<b>SAC</b>	Saccharose			
<b>MDG</b>	$\alpha$ -méthyle-D-glucopyranoside			
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine			
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

**Tableau 32:** Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20 Strep  
(Source : <http://www.biomerieux.com>).

Test	Groupements active	Réactions / Enzymes	Résultats	
			Négative	Positive
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<b>VP1+ VP2/ jusqu'à 10 mn</b>	
			Incolore	Rose/rouge
<b>HIP</b>	Acide hippurique	hydrolyse	<b>NIN/ jusqu'à 10 mn</b>	
			Incolore/Bleu pâle	Bleu foncé/violet
<b>ESC</b>	EsculineCitrat de fer	Hydrolyse $\beta$ -glucosidase	Incolore/ jaune	pâle Noir/gris
<b>PYRA</b>	Acide pyroglutamique- $\beta$ -naphtylamide	PYRrolidonyl Arylamidase	<b>ZYM A+ZYM B/10mn</b>	
			Incolore/orange pâle	orange
<b><math>\alpha</math>GAL</b>	6-bromo-2-naphtyl- $\alpha$ D-galactopyranoside	$\alpha$ -GALactoside	Incolore	Violet
<b><math>\beta</math>GUR</b>	Acide naphtol-ASBgalactopyranoside	$\beta$ -GLUCuRonidase	Incolore	Bleu
<b><math>\beta</math>GAL</b>	2-naphtyl- $\beta$ Dgalactopyranoside	$\beta$ - GALactoside	Incolore ou violet pâle	Violet
<b>PAL</b>	2-naphtyl phosphate	Phosphatase Alcaline	Incolore ou violet pâle	Violet
<b>LAP</b>	L-leucine- $\beta$ -naphtylamine	Leucine AminoPeptidase	Incolora	orange
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine DIHydrolase	Jaune	Rouge
<b>RIB</b>	D-ribose	Acidification	Orange/ Rouge	Jaune
<b>ARA</b>	L-arabinose			
<b>MAN</b>	D-mannitol			
<b>SOR</b>	D-sorbitol			
<b>LAC</b>	D-lactose			
<b>TRE</b>	D-thréhalose			
<b>INU</b>	Inuline			
<b>RAF</b>	d-raffinose			
<b>AMD</b>	Amidon			
<b>GLYG</b>	glycogène			

**Tableau 33:** Liste des antibiotiques utilisés et diamètres des zones d'inhibition (CA-SFM, 2013).

Antibiotique	Classe	Charge du disque	Sigle	Diamètres critiques (mm)	
				S	R
<b>Famille de Bêta-lactamines</b>					
Ampicilline	Amino-pénicillines	10 µg	AM	≥ 19	< 16
Ticarcilline	Carboxy-pénicillines	75 µg	TI	≥ 24	< 22
Imipénème	Carbapénèmes	10 µg	IMP	≥ 24	< 17
Céfalotine	Céphalosporines	30 µg	CF	≥ 18	< 12
Céfotaxime	Céphalosporines (3 G)	30 µg	CTX	≥ 26	< 23
<b>Famille de Tétracyclines</b>					
Tétracycline	Tétracyclines	30UI	TE	≥ 19	< 17
<b>Famille des aminosides</b>					
Gentamycine	Aminoside	15 µg (10 UI)	GM	≥ 18	< 16
Amikacine	Aminoside	30 µg	AN	≥ 17	< 15
<b>Famille de Phenicoles</b>					
Chloramphénicol	Phenicoles	30µg	C	≥ 23	< 23
<b>Famille de Quinolones</b>					
Ciprofloxacine	Fluoroquinolones	5µg	CIP	≥ 25	< 22
Acide nalidixique	Quinolones	30 µg	NA	≥ 20	< 15
<b>Nitrofuranes</b>					
Nitrofurantoiné	Nitrofuranes	300 µg	NIT	≥ 15	< 15
<b>Divers</b>					
Fosfomycine	Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	FOS	≥ 14	< 14

**Remarque**

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, les diamètres critiques de TI<sup>S</sup> et IPM<sup>S</sup> (≥ 22), GM<sup>S</sup> (≥ 16) ;

Pour *Staphylococcus spp.*, les diamètres critiques de GM<sup>S</sup> (≥ 20), GM<sup>R</sup> (< 20), CIP<sup>S</sup> (≥ 22), TE<sup>S</sup> (≥ 23), TE<sup>R</sup> (< 21).

**Tableau 34:** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition (En médecine vétérinaire) (Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, 2011).

Antibiotique	Classe	Charge du disque	Sigle	Diamètres critiques (mm)	
				S	R
<b>Famille de Bêta-lactamines</b>					
Ampicilline	Amino-pénicillines	10 µg	AM	≥ 17	< 13
Ticarcilline	Carboxy-pénicillines	75 µg	TI	≥24	< 22
Imipénème	Carbapénèmes	10 µg	IMP	≥ 24	< 17
Céfalotine	Céphalosporines	30 µg	CF	≥ 18	≤ 14
Céfotaxime	Céphalosporines (3 G)	30 µg	CTX	≥ 26	< 18
<b>Famille de Tétracyclines</b>					
Tétracycline	Tétracyclines	30UI	TE	≥19	≤14
<b>Famille des aminosides</b>					
Gentamycine*	Aminoside	15 µg (10 UI)	GM	≥ 15	≤12
Amikacine	Aminoside	30 µg	AN	≥ 17	< 15
<b>Famille de Phenicoles</b>					
Chloramphénicol*	Phenicoles	30µg	C	≥18	<12
<b>Famille de Quinolones</b>					
Ciprofloxacine	Fluoroquinolones	5µg	CIP	≥25	<22
Acide nalidixique	Quinolones	30 µg	NA	≥ 19	≤13
<b>Nitrofuranes</b>					
Nitrofurantoiné*	Nitrofuranes	300 µg	NIT	≥ 17	< 14
<b>Divers</b>					
Fosfomycine	Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	FOS	≥ 14	< 14

\* Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie.

**Remarque**

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, les diamètres critiques de GM<sup>S</sup> (≥ 15) et GM<sup>R</sup> (≤17) ;

Pour les entérocoques, les diamètres critiques d'AM<sup>R</sup> est (≤16) ;

Pour *Pasteurellaceae* TE<sup>R</sup> est (≤18) et TE<sup>S</sup> (≥23).

**Tableau 35:** Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité (CA-SFM, 2013).

Antibiotiques	Charge du disque	<i>Escherichia coli</i> CIP 7624	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 76110	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 7625
Ampicilline	10 µg	22.0 – 26.5	-	-
Ticarcilline	75 µg	-	25.0 – 30.5	-
Céfalotine	30 µg	18.0 – 23.0	-	-
Céfotaxime	30 µg	32.5 – 37.5	-	-
Imipénème	10 µg	-	24.5 – 29.5	-
Gentamycine	15 µg (10 UI)	22.0 – 26.5	15.5 – 22.5	24.0 – 28.5
Tétracycline	30 UI	-	-	-
Amikacine	30 µg	21.5 – 26.0	20.0 – 26.0	-
Chloramphénicol	-	-	-	-
Ac. nalidixique	30 µg	25.5 – 30.5	-	-
Ciprofloxacine	5 µg	31.0 – 38.0	29.0 – 36.5	-
Nitrofuranes	-	-	-	-
Fosfomycine	50 µg	-	-	24.0 – 35.0

**Tableau 36:** Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité (En médecine vétérinaire). (Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, 2011).

Antibiotiques	Charge du disque	<i>Escherichia coli</i> CIP 7624	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 76110	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 7625
Ampicilline	10 µg	16.0 – 22	-	-
Ticarcilline	75 µg	-	-	-
Céfalotine	30 µg	15.0 – 21.0	-	-
Céfotaxime	30 µg	-	-	-
Imipénème	10 µg	-	-	-
Gentamycine	15 µg (10 UI)	19.0 – 26.0	16 – 21	19 – 27
Tétracycline	30 UI	18.0 – 25.0	-	24 – 30
Amikacine	30 µg	-	-	-
Chloramphénicol	30 µg	21.0 – 27.0	-	-
Ac. nalidixique	30 µg	24 – 29	-	-
Ciprofloxacine	5 µg	-	-	-
Nitrofuranes	300 µg	20 – 25	-	-
Fosfomycine	50 µg	-	-	-

**Tableau 37** : Relation entre la conductivité et la minéralisation (Detay, 1993).

<b>Conductivité en <math>\mu\text{S}/\text{cm}</math>, à 20°C</b>	<b>Minéralisation</b>
Inférieure à 100	Eau de minéralisation très faible (terrain granitiques)
Comprise entre 100 et 200	Eau de minéralisation faible
Comprise entre 200 et 400	Eau de minéralisation peu accentuée
Comprise entre 400 et 600	Eau de minéralisation moyenne (terrains calcaires)
Comprise entre 600 et 1000	Eau de minéralisation importante
Supérieure à 1000	Eau de minéralisation excessive