

Mémoire

Présenté à

L'UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR, ANNABA
Faculté des sciences
Département des Sciences de la Mer
Laboratoire d'Ecobiologie des Milieux Marins et Littoraux

En vue de l'obtention du diplôme de
Magistère en Sciences de la Mer

Option : Synécologie fonctionnelle des communautés
et parasitisme en milieu aquatique

Analyse de la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bioindicateur la moule *Perna perna*.

Par

Mme Dahel Zanat Amina-Tania

Soutenue le 22 juin 2009 devant le jury composé de :

M. Ouzrout Rachid : Professeur à l'Université d'El Taref (Président)
M. BENSOUILAH Mourad : Professeur à l'Université Annaba (Promoteur)
M^{me} BOUSLAMA Zihad : Maitre de conférence à l'Université Annaba
(Examinatrice)
M. OUALI Kheireddine: Maitre de conférence à l'Université Annaba
(Examineur)
M. MERAD Tarek : Maitre de conférence à l' Université Annaba (Examineur)

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma grand-mère

A mes parents

A mon mari

A mes enfants Rayan et Lyria

A mon frère et ma sœur

Et à ma belle famille

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde estime et ma sincère reconnaissance à Monsieur OUZROUT Rachid, Professeur à l'Université d'El Taref, qui malgré ses nombreuses responsabilités, m'a fait l'honneur de présider mon jury.

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

J'adresse mes vifs remerciements à Madame BOUSLAMA Zihed, Maitre de conférences à l'Université d'Annaba, qui a eu l'amabilité d'examiner ce modeste travail et de participer à mon jury.

Je suis très reconnaissante à Monsieur OUALI Kheireddine, Maitre de conférence à l'Université d'Annaba, qui a patiemment répondu à mes questions en statistiques et m'a fait honneur de sa présence dans mon jury.

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

Mes vifs et sincères remerciements, s'adresse à Monsieur KADRJ Skender pour son aide précieuse, ses encouragements, ses conseils et sa bonne humeur durant la réalisation de ce mémoire.

Je tiens aussi à remercier Monsieur TAHER Ali, Professeur à l'Université d'Annaba, qui par sa disponibilité, m'a permis de mener à bien l'étude statistique.

En fin, mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidées, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail, en particulier Aicha, Imen, Nadira et toute l'équipe du laboratoire EMMAL.

Résumé

Cette étude porte sur l'évaluation de la qualité bactériologique des eaux et des mollusques bivalves (*Perna perna*) du littoral Nord-Est Algérien. Pour cela nous avons procédé à des prélèvements d'eau et de moules à partir de 5 sites, choisis en fonction de leur localisation, par rapport à différentes sources de pollution et à l'hydrodynamisme qui y règne (Cap de Garde ; Rezgui Rachid ; Sidi Salem ; H'naya et Aouinate).

Les résultats des paramètres physico-chimiques de l'eau montrent des variations saisonnières. La température est l'un des facteurs qui répond le mieux au changement climatique, avec des écarts de 16 °C. La salinité montre des écarts d'environ 5 g/l entre la saison froide et la saison chaude. En ce qui concerne les teneurs en oxygène dissous, elles présentent des fluctuations fortement influencées par les variations saisonnières de la température de l'eau et le brassage engendré par les vents importants en période hivernale. Quant au pH, il est légèrement alcalin durant toute la période d'étude.

Les résultats des analyses bactériologiques de l'eau, font apparaître que dans l'ensemble des sites étudiés, la contamination fécale est sporadique ; elle varie d'un mois à l'autre et d'un site à l'autre. Les coliformes thermotolérants, présentent des valeurs inférieures aux valeurs guides retenues sauf en mai et en septembre dans le site « Sidi Salem » avec également des teneurs proches des valeurs guides (93 E. coli/100ml), notées en mars, juillet et octobre. Dans les sites H'naya et Aouinate, c'est en avril que des teneurs égales à 1100 et 2400 germes/100ml d'eau, sont enregistrées respectivement. Quant aux Streptocoques fécaux, les valeurs restent inférieures aux valeurs guides au Cap de Garde, alors que les taux de contamination dépassent les limites à Rezgui Rachid (en octobre), à Sidi Salem (en novembre et décembre), et à H'naya et Aouinate (en Avril).

Par ailleurs, les concentrations bactériennes dans les moules, font apparaitre des niveaux de contamination en E. coli, dépassant assez souvent les valeurs guides ; quant aux streptocoques fécaux, les valeurs relevées restent supérieures aux valeurs limites dans les 5 sites et pendant toute la période d'étude, ce qui nécessiterait avant leur consommation un reparcage et une purification plus au moins longue avant la récolte.

Cette forte contamination de l'eau et des moules du site Sidi Salem, trouve son explication dans la forte anthropisation à laquelle est soumise cette zone du fait de sa proximité aux divers effluents tels que Oued Bedjimâa, Oued Seybouse et les rejets urbains

Mots clés : Bactériologie; bivalve ; contamination fécale; Littoral Nord-Est algérien ; *Perna perna*.

Abstract

This study relates to the evaluation of the bacteriological quality of water and bivalvular molluscs (*Perna perna*) of the Algerian North-eastern littoral. For that we proceeded to taking away of water and moulds starting from 5 sites, chosen according to their localization, compared to various sources of pollution and with the hydrodynamism which reigns there (Cape de Garde; Rezgui Rachid; Sidi Salem; H' naya and Aouinate). Results of the physicochemical parameters of l' water show seasonal variations. The temperature is l' one of the factors which answers the climate change best, with variations of 16 °C. Salinity shows variations d' approximately 5 g/l between the cold season and the hot season. With regard to the oxygen contents dissolved, they present fluctuations strongly influenced by the seasonal variations of the temperature of l' water and the mixing generated by the important winds in wintry time. As for the pH, it is slightly alkaline during all the period d' study.

Results of the bacteriological analyses of l' water, reveal that in the whole of the studied sites, the fecal contamination is sporadic; it varies d' one month with l' other and d' a site with l' other. The coliformes thermotolerants, present values lower than the values guides retained except in May and September in the site "Sidi Salem" with also of the contents close to the values guides (93 E. coli/100ml), noted of March, July and October. In the sites H' naya and Aouinate, it is in April that contents equal to 1100 and 2400 water germes/100ml, are recorded respectively. As for Streptocoques fecal, the values remain lower than the values guides in the Cape de Garde, whereas the rates of contamination exceed the limits with Rezgui Rachid (in October), in Sidi Salem (in November and December), and in H' naya and Aouinate (in April). In addition, the bacterial concentrations in the moulds, reveal levels of contamination in E. coli, exceeding rather often the values guides; as for the streptocoques fecal ones, the recorded values remain higher than the limiting values in the 5 sites and for all the study period, which would require before their consumption a reparcage and a purification at least long before harvest.

This strong contamination of the water and the moulds of the site Sidi Salem, finds its explanation in the strong anthropisation to which this zone because of its proximity is subjected to the various effluents such as the urban Oued Bedjimâa, Oued Seybouse and rejections.

Key words: Bacteriology; bivalve; fecal contamination; Algerian North-eastern littoral; *Perna perna*.

ملخص:

تهذف هذه الدراسة الى تقييم نوعية المياه البكتريولوجية من خلال القوقاعيات ثنائية الصمامات *Perna perna* و هذا بالساحل الشمال الشرقي الجزائري . لذا بشرنا في اخذ عينات من الماء والقوقاعيات وهذا من خمس مواقع، اختيرت لموقعها بالنسبة لمصادر التلوث و ديناميكية المياه التي تخضع لها (Cap de Garde ، رزقي رشيد، سيدي سالم، الحناية والعوينات).

ان نتائج العناصر الفيزيوكيميائية للماء، تظهر تغيرات موسمية . درجة الحرارة هي واحدة من ا فصل العوامل التي تخضع لتغيرات المناخية مع فارق يقدر ب 16 درجة مئوية. اما عامل الملوحة فيقدر الفارق ب 5 غ/ل بين الفصول الحارة والباردة ، اما في مايخص تراكيز الأوكسجين المنحل فانها تنتج تقلبات جد هامة تتاثر بالتغيرات موسمية لدرجة حرارة الماء واختلاط الكبير الناتج عن الرياح في المرحلة الشتوية اما في مايخص عامل الحموضة فانه يميل الى القلوية وهذا طيلة فترة الدراسة

نتائج التحاليل البكتريولوجية للماء تبين أنه في كافة المواقع المدروسة التلوث البرازي تلقائي؛ يختلف من شهر الى اخر ومن موقع الى اخر. ان قيم Coliformes fécaux تذبذبا منخفضة لانتجاوز قيم المبدأ التوجيهي الاخلال شهر ماي و سبتمبر وهذا في موقع "سيدي سالم" مع تقارب البعض منها من القيم المبدأ التوجيهي (E.coli 100 /93 مل) خلال شهر مارس و جويلية و اكتوبر ، اما في المواقع الحناية و العوينات التراكيز المسبق ذكرها تتراوح ما بين 1100 و 2400 جرثوم / 100 مل من الماء في شهر افريل. فيما يخص Streptocoques fécaux القيم المحصل عليها ، تبقى اقل درجة من القيم المبدأ التوجيهي بالموقع "Cap de Garde" و تفوتها في كل من رزقي رشيد (اكتوبر) سيدي سالم (نوفمبر و ديسمبر) و في الحناية والعوينات (أفريل).

بالاضافة الى ذلك فإن التراكيز البكتيرية التي تخص بلح البحر تظهر بمستويات التلوث E.coli تتجاوز غالبا قيم المبدأ التوجيهي . أما Streptocoques fécaux فإن القيم المحصل عليها تفوق القيم الحدية وهذا بالمواقع الخمس وطوال مدة الدراسة ، مما يتطلب تنقية مسبقة قبل الاستهلاك.

ان التلوث الفائق للماء والبلح البحر بالموقع سيدي سالم يرجع الى التدخل الانساني (Anthropisations) من جهة وماتجره الاودية من نفايات ذات مصدر عمراني من جهة اخرى .

الكلمات المفتاح : بكتريولوجية ؛ مزدوجة الصمامات ؛ تلوث براز ؛ الساحل الشمال الشرقي الجزائري ؛ *Perna perna*

Table des matières

Introduction.....	1
Matériel et méthodes.....	3
1. Présentation de la zone d'étude	3
1.2. Le Golfe d'Annaba.....	3
1.3. Le littoral d'El Kala.....	4
1.4. Les sites d'échantillonnages.....	6
2. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau.....	9
3. Analyse bactériologique des échantillons.....	9
3.1. Prélèvement de l'eau.....	10
3.2. Récolte des bivalves et préparation des échantillons.....	10
3.3. Analyse bactériologique de l'eau.....	11
3.3.1. Préparation des dilutions décimales.....	11
3.3.2. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et recherche d' <i>Escherichia coli</i>	12
3.3.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des Streptocoques de groupe sérologique D de Lancefield.....	14
3.4. Analyse bactériologique des bivalves.....	17
3.4.1. Préparation des dilutions décimales.....	17
3.4.2. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et recherche d' <i>Escherichia coli</i>	17
3.4.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des <i>Streptocoques</i> du groupe sérologique D de Lancefield.....	20
3.5. Recherche des germes pathogènes chez les bivalves.....	22
3.5.1. Recherche et dénombrement des germes anaérobies sulfito- réducteurs.....	22
3.5.2. Recherche des Salmonelles.....	24
3.5.3. Recherche des Staphylocoques pathogènes.....	26
3.5.4. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	27
3.5.6. Recherche des caractères biochimiques pour confirmation des résultats présumptifs obtenus.....	29
4. Analyse statistique des données.....	31
4.1. Modèle linéaire généralisé (GLM).....	31

4.2. Test de l'analyse des moyennes.....	31
4.3. Analyse des composantes principales (ACP).....	31
Résultats.....	33
1. Les paramètres physico-chimiques de l'eau.....	33
1.1. La Température.....	33
1.2. La salinité.....	34
1.3. Le pH.....	35
1.4. L'oxygène dissous.....	36
1.5. Les matières en suspension.....	37
2. Distribution des germes dans l'eau de mer.....	38
2.1. Les Coliformes totaux.....	38
2.2. Les Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>).....	39
2.3. Les Streptocoques totaux.....	40
2.4. Les Streptocoques fécaux.....	41
3. Distribution des germes chez les moules.....	42
3.1. Les Coliformes totaux.....	42
3.2. Les Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>).....	43
3.3. Les Streptocoques totaux.....	44
3.4. Les Streptocoques fécaux.....	45
4. Détermination de la source probable de la contamination.....	46
4.1. Origine de la contamination de l'eau.....	46
5. Distribution des germes pathogènes chez les moules.....	47
6. Résultats de l'analyse statistique.....	47
6.1. Modèle linéaire généralisé (GLM).....	48
6.1.1. Eaux.....	48
6.1.2. Moules.....	48
6.2. Test de l'analyse des moyennes.....	49
6.2.1. Eaux.....	49
6.2.1. Bivalves.....	49
6.3. Analyse des composantes principales (ACP).....	50
6.3.1. Eaux.....	50
6.3.2. Moules.....	50

Conclusion et perspectives.....	60
Références bibliographiques.....	61
Annexes.....	69

Liste des symboles

Symboles	Définitions
T°C	Température (en degré Celsius)
h	Heure
mm	Minute
O ₂	Oxygène dissous
fig	Figure
tab	Tableau
g	Gramme
mg	Milligramme
ml	Millimètre
cm	Centimètre
<i>et al</i>	Et collaborateurs
fig	Figure
E.coli	Escherichia coli
CF	Coliforme fécaux
SF	Streptocoque fécaux
ACIA	Agence Canadienne d'Inspection des Aliments
AWWA	Water quality and treatment American Water Works Association
AFNOR	Agence de Normalisation française
FAO	Food and Agriculture Organisation

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
CCME	Conseil Canadien des Ministères de de l'Environnement
CSOMB	Comité Scientifique Officiel de la Maison-Blanche pour la protection de l'environnement
DHWA	Direction de l'Hydraulique de la Wilaya d'Annaba
DEWA	Direction de l'Environnement de la Wilaya d'Annaba
JORA	Journal Officiel de la République Algérienne
MeHSIP	Elaboration of a Mediterranean Hot Spot Investment Programme
MSSF	Ministère des Solidarités de la santé de la famille
NPP	Nombre le plus probable
WA	Wilaya d'Annaba

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
1	Représentation du Golfe d'Annaba.	3
2	Représentation du Littoral d'El Kala.	5
3	Positionnement des sites d'étude.	6
4	Image satellitaire montrant le site 1 : Cap de Garde.	6
5	Image satellitaire montrant le site 2 : Rezgui rachid.	7
6	Image satellitaire montrant le site 3 : Sidi Salem.	7
7	Image satellitaire montrant le site 4 : H'naya.	8
8	Image satellitaire montrant le site 5 : Aouinate.	8
9	Préparation des dilutions.	11
10	Recherche et dénombrement des Coliformes totaux (test présumé).	13
11	Identification d' <i>Escherichia coli</i> dans l'eau (test confirmatif).	14
12	Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux (test présumé).	15
13	Confirmation de la présence des Streptocoques du groupe sérologique D (test confirmatif).	16
14	Préparation des dilutions des échantillons à analyser.	17
15	Recherche et dénombrement des Coliformes totaux chez la moule <i>Perna perna</i> (test présumé).	18
16	Recherche des Coliformes thermotolérants et identification d' <i>Escherichia coli</i> chez la moule <i>Perna perna</i> (test confirmatif).	19
17	Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux chez la moule <i>Perna perna</i> (test présumé).	20
18	Confirmation de la présence des Streptocoques du groupe sérologique D chez la moule <i>Perna perna</i> (test confirmatif).	21
19	Recherche et dénombrement des germes anaérobies sulfito- réducteurs.	23
20	Identification des germes anaérobies sulfito-réducteurs.	24
21	Recherche des Salmonelles.	26
22	Recherche des Staphylocoques pathogènes.	27
23	Recherche de Pseudomonas.	28

24	Recherche des caractères biochimiques.	30
25	Inoculation de la galerie API 20 E.	31
26	Variations mensuelles de la température de l'eau (Janvier 2008-décembre 2008).	33
27	Variations mensuelles de la salinité de l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	34
28	Variations mensuelles du pH de l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	35
29	Variation mensuelles des teneurs en oxygène dissous de l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	36
30	Variations mensuelles des matières des teneurs en suspensions dans l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	37
31	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux dans l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	38
32	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>) dans l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	39
33	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux dans l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	40
34	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux dans l'eau (Janvier 2008- décembre 2008).	41
35	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux relevées chez <i>Perna perna</i> (Janvier 2008- décembre 2008).	42
36	Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes thermotolérants (<i>Escherichia coli</i>) relevées chez <i>Perna perna</i> (Janvier 2008- décembre 2008).	43
37	Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées chez <i>Perna perna</i> (Janvier 2008- décembre 2008).	44
38	Variations spatio-temporelles des Streptocoques fécaux chez <i>Perna perna</i> (Janvier 2008- décembre 2008).	45
39	Variations temporelles de l'origine de la contamination de l'eau	46
40	Calcul de l'intervalle de confiance des Coliformes et des Streptocoques de l'eau	49
41	Calcul de l'intervalle de confiance des Coliformes et des Streptocoques des moules	50
42	Plan F1×F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation) – Eaux	51
43	Plan F1x F2 de l'ACP relevés (sites)-Eaux	52
44	Plan F1×F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation)- Moules	53
45	Plan F1x F2 de l'ACP relevés (sites)-Moules	54
46	<i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>) en coloration Gram	75
47	Les <i>Streptocoques</i> germes indicateurs d'une contamination fécale	76

48	<i>Vibron du choléra</i> en coloration Gram.	77
49	<i>Salmonella typhimurium</i> en rouge.	78
50	Les <i>Staphylocoques</i> en coloration Gram.	80
51	<i>Clostridium botulinum</i> en coloration Gram.	82
52	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> en coloration de Gram.	83
53	<i>Shigella flexnarii</i> en rouge.	83
54	Structure et anatomie d'une moule.	85
55	Disposition des insertions musculaires sur la coquille de <i>Perna perna</i> (A) et de <i>Mytilus galoprovincialis</i> (B).	88
56	Charnière de la valve gauche.	89

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	pages
1	Le calcul du nombre probable de germes (exemple d'échantillon d'eau).	22
2	Le calcul du nombre probable de germes (exemple de la moule).	22
3	Résultat des tests présomptifs destinés à la recherche et l'identification des bactéries pathogènes chez les bivalves.	47
4	Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production (Communauté Européenne, 1991).	59
5	Principaux agents pathogènes pour les animaux à sang chaud et pour l'homme, fréquents dans les eaux polluées (Creteur, 1998)	71
6	Comportement de quelques groupes microbiens en fonction du milieu (Guiraud, 2003)	74
7	Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport de Bourgeois (1980).	76
8	Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF. Borrego et Romero (1982).	76
9	Importance des principales espèces du genre Salmonella (numéro d'ordre sur 20 espèces) chez l'homme, les animaux, dans les égouts et en eau de mer et toxi-infections associées. (Equinoxe (1990)	79
10	Caractères distinctifs entre la musculature de <i>M. galloprovincialis</i> et de <i>Perna perna</i> (Lubet, 1973)	87
11	Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (Eau).	90
12	Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (bivalves).	90
13	Normes de la qualité requise des eaux de baignades du décret exécutif N° :93-1964 de 10/07/1993 du JORA N° 46.	91
14	Normes de la qualité des eaux conchylicoles	91
15	Critères microbiologiques pour les coquillages bivalves	92
16	Principale industrie déversant dans le Golfe d'Annaba.	92
17	Représentations des rejets domestiques de la wilaya D'Annaba et de leurs milieux récepteurs.	93
18	Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d'Annaba.	93
19	Données météorologiques (Office National de la Météorologie, 2008)	94

Introduction

Pendant longtemps, les hommes se sont peu préoccupés de leur milieu naturel, s'ingérant dans la nature et usant d'elle sans compter, aménageant à tour de bras, et rejetant largement effluents et déchets de toutes sortes.

Croyant aux propriétés purificatrices sans limite de l'environnement aquatique, ils l'ont utilisé sans crainte comme poubelle du monde, déversant dans les eaux littorales tous les rejets, toxiques ou non, radioactifs ou pétroliers, aussi bien dans les estuaires qu'à proximité des côtes. Le constat a été dramatique....

Selon Lacaze et Ramade (1993), l'océan, lui-même, n'est plus considéré officiellement comme un réservoir infini. On a enfin réalisé les limites de sa taille comme celles de son pouvoir, ces limites qui ne sont pas loin d'être atteintes pour plusieurs zones côtières (lagunes, baies, anses, ports, estuaires...etc).

Pour les mers fermées, les menaces sont inversement proportionnelles à leur dimension (Lacaze et Ramade, 1993), Bordées par des nations industrielles et industrielles, la mer Baltique, la mer du Nord, la Manche, la Méditerranée... sont en danger. Leurs surfaces et leurs volumes sont limités et les brassages par les courants y sont faibles (Arrignon, 1991).

La Méditerranée qui ne représente que 1% de la surface des océans (Gallini, 2008), est l'un des milieux marins et côtiers les plus riches mais aussi l'un des plus vulnérables au monde du fait de son exposition à tout un ensemble de nuisances dont 80 % sont d'origine terrestre. Ses eaux baignent 22 pays riverains qui comptent plus de 4.10^8 habitants dont 143.10^6 résident dans les zones côtières ; à ceux-ci s'ajoutent chaque année quelque 175.10^6 de visiteurs, dont plus de la moitié de ses agglomérations urbaines ne disposant pas de stations d'épuration de leurs eaux résiduaires, 60 % d'entre elles déversent directement leurs eaux usées dans la mer et plus de 80 % des décharges de ces pays méridionaux et orientaux ne sont pas contrôlées, (MeHSIP, 2008).

Le milieu marin méditerranéen est particulièrement exposé au déversement de déchets agricoles, de particules en suspension dans l'air et d'eaux de ruissellement chargées d'agents pathogènes, de métaux lourds, de matières organiques polluantes, d'huiles et de substances radioactives, (MeHSIP, 2008), dont l'origine sont les activités industrielles, le transports maritimes (30% du trafic maritime mondial) et les activités domestiques avec des rejets en mer estimés à 6.10^5 tonnes chaque année, soit l'équivalent de 30 catastrophes de type "Erika" (Gallini, 2008).

Le littoral Algérien avec une façade maritime longue de 1200 Km, est caractérisé par une concentration de populations et des activités industrielles; ces dernières s'accaparent les meilleurs sites littoraux et se développent au détriment des autres usages liés à la mer, entraînant des risques réels pour les agglomérations limitrophes et les milieux marins (Kacemi, 2006).

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

L'eau polluée par les différents rejets (industriels, domestiques, agricoles,...etc), héberge et véhicule des bactéries en transit (Encarta, 2003). Le transfert physique de ces dernières (lié au ruissellement) dépendra des conditions climatiques, pédologiques et géographiques. Par ailleurs, leur survie sera fonction de leur capacité physiologique d'adaptation à des environnements divers ; les conditions hivernales apparaissent les plus à risque, compte tenu du ruissellement induit par les pluies sur des sols nus et du faible ensoleillement favorisant la survie bactérienne.

Beaucoup d'organismes marins accumulent les contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus. Les bivalves filtrent l'eau de mer (de 100 à 650 l/heure /Kg d'animal vivant) pour en tirer les éléments nécessaires à leur survie (plancton), ils retiennent en même temps bactéries (de 100.000 à plus de 10^{15} de germes par gramme de broyât), virus, et les concentrent (Brissou et Denis, 1980). Cette Bio-accumulation est variable selon les espèces de coquillages, leurs situations (immersion ou non) et bien sûr, selon la nature du contaminant. Les coques et palourdes, coquillages fouisseurs, se contaminent plus facilement que les autres. Leurs tubes digestifs plus longs favorisent un temps de rétention plus élevé (MSSF, 2003). En raison de cette capacité de filtration et d'accumulation importante des particules et polluants du milieu, les bivalves ont été retenus comme Bio-indicateur de la contamination, par excellence (Jorgensen, 1960).

La consommation des bivalves contaminés, expose le consommateur à un risque de toxoinfection : Fièvre typhoïde, Salmonellose, Shigellose, Campylobactériose, Choléra, Gastro-entérite virale et Hépatite A (Smith De Waal *et al.*, 2001 ; Potassman *et al.*, 2002, Hervé *et al.*, 2003). En France, des épidémies de gastro-entérites liées à la consommation de coquillage, ont été enregistrées en 1983 (4000 cas) et en 1992 (huîtres de l'étang de Thau). Aux USA, entre 1990 et 2000, il a été répertorié 66 sortes d'épidémies, dont 3299 cas ont pour origine l'ingestion de mollusques bivalves (Smith De Waal *et al.*, 2001).

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

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

Notre travail entre dans le cadre d'un projet de recherche portant sur la bio-surveillance des plans d'eau et les risques de contaminations bactériologiques.

L'étude a pour objectifs :

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

Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude :

La zone d'étude correspond à la partie extrême, Nord- Est du littoral algérien, délimitée à l'Ouest par le cap de Garde et à l'Est par le cap Segleb et comprend le Golfe d'Annaba et le littoral d'El kala.

1.2. Le Golfe d'Annaba :

Le Golfe d'Annaba est limité à l'Ouest par le Cap de Garde ($57^{\circ} 16' E$ $36^{\circ} 58' N$) et à l'Est par le Cap Rosa ($8^{\circ} 15' E$ et $36^{\circ} 58' N$). La façade maritime de cette zone s'étend sur une longueur d'environ 21,5 milles (40 Km) de côtes représentant un potentiel halieutique très important (fig.1).

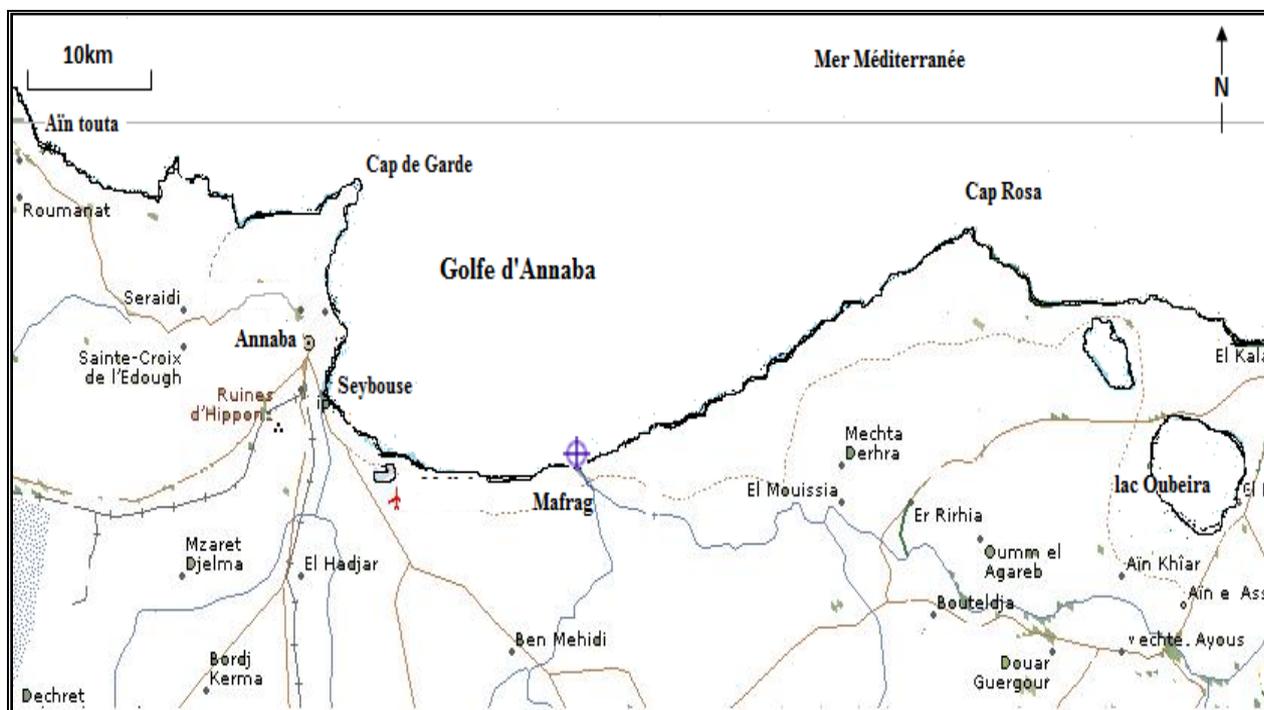


Figure 1 : Représentation du Golfe d'Annaba.

Le plateau continental est étroit et accidenté dans son ensemble avec un fond hétérogène surtout au voisinage des deux Caps. Il est nettement restreint au Nord du Cap de Garde (4,5milles), puis s'élargit dans le Golfe jusqu'à 14,5 milles avant de se rétrécir légèrement à l'Est au voisinage du Cap Rosa (Vaissiaire et Fredj, 1963).

Entre les deux Caps, la profondeur moyenne est estimée à 50 m avec une profondeur maximale de 63 m. La plate-forme continentale s'avance jusqu'à 10 milles seulement au large (Gruvel, 1926).

La bathymétrie entre les deux caps limitant le Golfe d'Annaba est estimée à 65m. Les isobathes-10 m et -20 m sont très rapprochées de la côte nord du Cap de Garde, les deux lignes s'éloignent l'une de l'autre, au niveau de l'oued Seybouse jusqu'au port (sud du golfe) L'isobathe -50 m est détachée des isobathes précitées (Vaissiaire et Fredj, 1963).

Concernant les caractères physico- chimiques, la température joue un rôle majeur dans les variations de la densité de l'eau.

D'après Frihi (1995) au Sud-Est du Golfe d'Annaba, la température moyenne varie entre 16°C en hiver et 28,8 °C en été avec une amplitude de 12,8 °C. Comme pour la température, la salinité diffère entre les deux secteurs, les valeurs varient de 31.4 à 37.5 mg/l avec une amplitude de 6.5 mg/l. Au Nord-Ouest, la salinité est sensiblement stable et varie entre 36.9 et 37.6 mg/l avec une amplitude réduite de 0.7 mg/l. Ces variations de salinité entre les deux régions sont dues aux rythmes du débit des oueds Seybouse et Boudjemâa.

D'après les travaux de Lacombe (1973), se rapportant à l'aspect physique des eaux méditerranéennes, la vitesse du courant atlantique circulant dans cette mer est de 0.5 à 0.7 m/s. En général l'hydrodynamisme sur le littoral Est Algérien est marqué par des mouvements de faible amplitude. Dans le golfe, il existe un courant dirigé d'Ouest vers l'Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons (0,8 à 2,5 noeuds), qui passe à quelques milles au large. Un autre de plus faible intensité (0,5 à 1,5 noeuds) circule à proximité de la rive Ouest (Anonyme, 1976).

Les houles sont d'origine Nord-Ouest à Est-Nord- Est. Elles peuvent être classées en trois catégories : deux directions du large Nord-Est et Est-Nord- Est avec amplitude de 1.2 à 6 m ; deux directions Ouest et Ouest Nord Ouest avec une amplitude de 1 à 5 m et des houles venant de différentes directions avec une amplitude de 1 à 2 m.

Le Golfe d'Annaba reçoit des rejets directs de plusieurs industries installées sur la côte (tab. 16) en particulier celle des produits phytosanitaires (Fertial), il reçoit également les eaux usées urbaines (tab. 17) qui ne subissent qu'un traitement sommaire au niveau de la station de Sidi Brahim ; Les autres stations sont destinées à la collecte des eaux usées (Tab. 18). Il existe aussi beaucoup d'autres sources de contaminations qui sont réparties tout au long du littoral (Oued Seybouse, Oued Mefrag, Oued Bedjmâa, émissaires Rezgui Rachid et Rizzi Amor).

1.3. Le littoral d'El Kala:

Le littoral d'El Kala est situé à l'extrême Est de la côte Algérienne ; il s'étend du Cap Rosa à l'Ouest (8°15' E et 36° 58' N), au Cap Segleb (la frontière Tunisienne) à l'Est.

Le plateau continental est relativement étroit à l'Est et s'élargit à l'Ouest ; les isobathes -20 m et -100m sont en effet situés à 7 Km à l'Est et atteignent 30 Km à l'Ouest (Fig.2).

Le littoral généralement intégré au détroit de Sardaigne duquel il est très proche, est le siège d'intenses transports de l'Eau Atlantique Modifiée, coulant en surface vers l'Est et de l'Eau Levantine Intermédiaire qui coule en profondeur vers l'Ouest (Manzella et la Violette, 1990 ; Perkins et Pistek, 1990).

Il reçoit très peu d'extrusions continentales en raison des faibles apports d'eau douce (rivière); toutefois, le lac El Mallah évacue dans le littoral 180 millions de m³ d'eau saumâtre d'une salinité comprise entre 3 et 25 ‰; de ce fait, ce plan d'eau qui effectue des échanges hydrodynamiques avec le littoral au rythme des marées, a tendance à fertiliser ce milieu en sels nutritifs tout en diminuant la salinité de la bande côtière (Retima, 1999).

Selon Ghaidalia et Bourgeois, (1961), la Méditerranée est une mer chaude où les écarts de températures entre les couches superficielles et les couches profondes sont relativement accentués (jusqu'à moins de 400m à 500m); à cette profondeur la température se stabilise autour de 13°C- 14°C. Par ailleurs, Ounissi et *al*, (1996), rapportent que l'écart de température entre l'eau de surface et celle se trouvant à 50m de profondeur, dépasse 4°C; quant à la salinité, la différence entre l'eau de surface et cette profondeur, elle n'excède pas 1 g/l.



Figure 2 : Représentation du Littoral d'El Kala
(Benyacoub, 1996 modifiée)

1.4. Sites d'échantillonnages :

5 sites ont été retenus dans le cadre de cette étude (fig.3).



Figure 3 : Positionnement des sites d'étude (Google, 2008 modifiée).

○ Site 1 : Cap de Garde:

Il se situe à l'Ouest de la zone d'étude ($36^{\circ}57'59.94''$ N $7^{\circ}47'38.30''$ E), il est supposé n'être exposée à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets, mis à part la présence de quelques habitations, non reliées au réseau d'assainissement ainsi que son accessibilité en saison estivale (fig.4).



Figure 4: Image satellitaire montrant le site 1 : Cap de Garde (Google, 2008 modifiée).

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

Il est situé dans la zone côtière centre ($36^{\circ}55'2.68''N$ $7^{\circ}46'4.83''E$). Il reçoit les rejets urbains des quartiers centre et Ouest d'Annaba sans traitement préalable ainsi que les eaux de pluie. Il est, par ailleurs, très fréquenté en période estivale (fig.5).



Figure 5: Image satellitaire montrant le site 2 : Rezgui rachid (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 3 : Sidi Salem :**

Il se situe à l'Est de la ville d'Annaba ($36^{\circ}52'18.13''N$ $7^{\circ}46'8.32''E$) dans la commune d'El Bouni entre oued Seybouse et Bedjimâa, il reçoit les rejets industriels du complexe d'engrais phosphatés de Fertial ainsi que les rejets urbains d'une grande partie de la ville d'Annaba par le biais de oued Bedjimâa et des agglomérations situées dans le bassin versant de oued Seybouse. Bien que non autorisé à la baignade, il est très fréquenté en période estivale (fig.6).



Figure 6: Image satellitaire montrant le site 3 : Sidi Salem (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 4 : H'naya :**

Il se situe à l'Est du Golfe d'Annaba ($36^{\circ}53'6.59''\text{N}$ $8^{\circ}4'8.70''\text{E}$), il est supposé n'être exposé à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets; il est fréquenté par les pêcheurs et les animaux ainsi que quelques estivants en été (fig.7).



Figure 7 : Image satellitaire montrant le site 4 : H'naya (Google, 2008 modifiée).

○ **Site 5 : Aouinate :**

Il se situe dans la partie Est du littoral d'El Kala ($36^{\circ}54'26.89''\text{N}$ - $8^{\circ}30'30.68''\text{E}$), il n'est exposé à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets. Cependant, il est fréquenté par les estivants en été. (fig.8).



Figure 8 : Image satellitaire montrant le site 5 : Aouinate (Google, 2008 modifiée).

2. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau:

Une mesure mensuelle, des paramètres physico-chimiques de l'eau a été effectuée de janvier à décembre 2008.

La mesure de la température, du pH, de la salinité et de l'oxygène dissous, leur mesure a été réalisée *in situ*, à l'aide d'un multi paramètres de terrain (Consort C535) ; ce dernier doit être préalablement étalonné puis calibré ; La sonde est ensuite immergée dans l'échantillon d'eau pendant quelques secondes, le résultat obtenu, s'affiche à l'écran avec l'unité de mesure correspondante.

Quant à la détermination des matières en suspension (MES) de l'eau, on a utilisé la méthode par filtration sur disque filtrant. Elle repose sur la séparation des matières particulaires en suspension grâce au filtre wattman GF/C de 0,45 µm pour des volumes définis ; Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé 100 ml d'eau de mer.

Préalablement pesés, puis séchés à 105°C pendant une heure, les filtres sont pesés une deuxième fois, ce qui nous permet d'estimer par la suite la part des matières en suspension, et ceci en faisant la différence du poids des filtres avant et après filtration.

La teneur en matières en suspension est exprimée en milligramme par litre (mg/l) (Rodier, 1978), et donnée par la formule suivante :

$$\text{M.E.S (mg /l)} = \frac{(M_1 - M_0) 1000}{V}$$

M_0 = masse du filtre avant utilisation (mg).

M_1 = masse du filtre après utilisation (mg).

V = volume filtré (ml).

3. Analyse bactériologique des échantillons:

Dans cette étude, nous avons recherché les bactéries indicatrices de pollution (Coliformes, Streptocoques et anaérobies sulfito-réducteurs), et les bactéries pathogènes strictes ou pathogènes opportunistes.

Pour la recherche des bactéries indicatrices de pollution, nous avons procédé à un dénombrement en utilisant une méthode simple, qui est la colimétrie. Celle-ci désigne « la technique de numération en tubes multiples » (TNTM) avec détermination du nombre de germes le plus probable (NPP) à partir de la table de Mac Grady extraite de la norme NF T90-413, préconisée par l'unité de coordination de PAM (Plan d'Action pour la Méditerranée) (Anonyme 1987). C'est l'examen le plus important et le plus pratiqué dans les analyses de l'eau ou de fruits de mer, répondant à des préoccupations sanitaires (Rodier, 1978).

Pour la mise en évidence des bactéries anaérobies sulfito- réductrices, considérées aussi comme des témoins de pollution fécale, nous avons utilisé, la recherche et le dénombrement par incorporation en gélose.

Quant à la recherche des bactéries pathogènes (*Salmonelles*, *pseudomonas* et *staphylocoques*), elle a été effectuée par ensemencement sur gélose spécifique.

3.1. Prélèvement de l'eau :

Les prélèvements d'eau sont effectués mensuellement durant la période s'étalant de janvier à décembre 2008.

Pour cela, nous utilisons des flacons en verre d'une capacité de 250 ml soumis au préalable à un nettoyage rigoureux (un rinçage à l'eau potable puis 3 rinçages à l'eau distillée) séchés, bouchés, enveloppés séparément dans un morceau de papier filtre (Rodier, 2005) puis stérilisés à l'autoclave à une température de 121° C pendant 15mn (O.M.S.1983). Les flacons stériles sont plongés à une profondeur d'environ 50 cm de la surface de l'eau puis ouverts à contre courant. Une fois remplis, ils sont refermés sous l'eau pour éviter la formation de bulles d'air et tout risque de contamination lors du transport.

Une fois les prélèvements effectués, les flacons sont étiquetés et placés dans une glacière à l'abri de la lumière et à une température de 4°C car la teneur en germes des eaux risque de subir des modifications dans les flacons, après le prélèvement. L'évolution est d'ailleurs assez difficile à prévoir et dépend de nombreux facteurs ; température, concurrence bactérienne des espèces présentes, composition chimique de l'eau. C'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible.

La norme NF T 90-420 de février 1987 indique que les échantillons doivent être maintenus à une température comprise entre 1 et 4°C dès leur prélèvement. Ils doivent être analysés le jour même, il est donc admis que le délai maximum entre le prélèvement et le début de l'analyse ne doit pas excéder 24 heures, aussi il est préférable de le raccourcir lorsque l'eau est présumée être très polluée (Rodier, 2005)

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

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

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

3.2. Récolte des bivalves et préparation des échantillons :

L'espèce *Perna perna* est retrouvée au niveau des zones rocheuses des sites précités. La récolte s'effectue manuellement et de façon aléatoire. Les bivalves récoltés sont au nombre de 4 à 7 selon la taille; ils sont placés dans des sacs de congélation propres et étiquetés, sur lesquels on note la date, le site et l'espèce.

Ensuite, ils sont entreposés dans des glacières à une température comprise entre 4°C à 10°C (A.C.I.A, 2004) pour être acheminés au laboratoire.

Une fois au laboratoire, les moules sont débarrassées des byssus et des épizoaires présents sur leurs coquilles, puis brossées sous l'eau du robinet et enfin désinfectées superficiellement par un jet d'alcool et flambage rapide.

Après ouverture aseptique, le contenu entier : chair et liquide inter-valvaire est recueilli stérilement, puis dilué, et soumis au broyage par un broyeur homogénéiseur, Ultra-Turrax, préalablement nettoyé (15 000 t/mn pendant 30 secondes), afin d'obtenir un broyat homogène considéré comme la dilution mère de l'échantillon à tester (OMS, 1983).

L'analyse porte donc sur la chair et le liquide inter-valvaire (Guiraud, 2003).

3.3. Analyse bactériologique de l'eau

3.3.1. Préparation des dilutions décimales:

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

*Les dilutions :

- Dilution 10^0 : consiste à la prise directe de la solution mère.
- Dilution 10^{-1} : dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml d'eau à analyser (10^0).
- Dilution 10^{-2} : Dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10^{-1} à 9ml d'eau distillée stérile (fig.9).

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

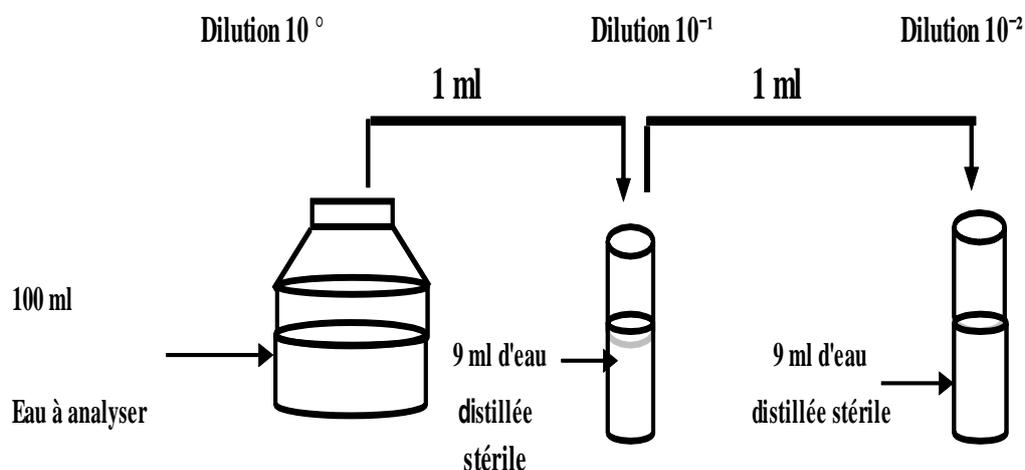


Figure 9 : Préparation des dilutions

3.3.2. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et recherche d'*Escherichia coli* :

*Principe :

Conformément à la norme NF T90- 413, il consiste à utiliser des milieux liquides de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB), dans des tubes munis de cloches de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par :

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

*Mode opératoire :

La colimétrie comporte deux tests: - Un test présomptif.
- Un test confirmatif.

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

*Test présomptif: Recherche et dénombrement des coliformes totaux:

On prépare 3 séries de 3 tubes chacun contenant 9 ml de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB) simple concentration, munis de cloches de Durham.

Chacun des 3 tubes de la première série reçoit 1 ml de la dilution 10^0 (solution mère). Les tubes de la deuxième et troisième série reçoivent respectivement 1 ml de la dilution 10^{-1} et 1 ml de la dilution 10^{-2} .

Nous agitons pour homogénéiser, sans faire pénétrer l'air dans la cloche de Durham.

L'ensemble des tubes ainsi préparés est incubé à 37° C pendant 24 à 48 h (fig.10).

Remarque :

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

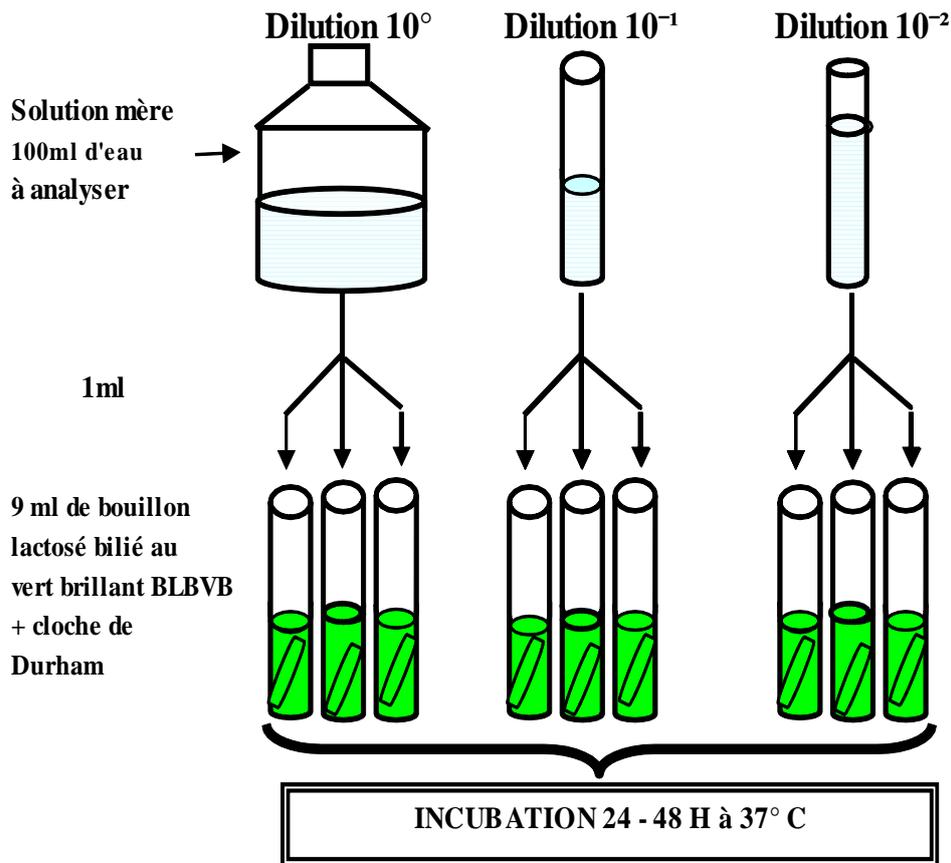


Figure 10 : Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux (test présomptif)

***Test confirmatif : Identification des Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*) :**

Les tubes positifs présentent un virage de couleur ainsi qu'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham ; ces derniers sont réensemencés dans des tubes d'eau peptonée exempte d'indole (épreuve Deikman). Pour cela nous prélevons 2 à 3 gouttes que nous rajoutons dans des tubes contenant de l'eau peptonée exempte d'indole. Les tubes sont refermés et incubés à 44° C pendant 24 à 48 h (fig.11).



***Lecture:**

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

- Production de gaz dans les cloches des tubes de BLVBVB

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

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

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

***Principe :**

Conformément à la norme NF T 90-411, le principe se résume à la recherche et au dénombrement des Streptocoques du groupe D en milieu liquide. Alors que les tubes primaires contiennent déjà une certaine quantité d'azide de sodium (milieu de Rothe), le repiquage des tubes positifs se fait sur un milieu nettement inhibiteur avec une concentration plus élevée en azide

de sodium et de cristaux violets (milieu Litsky), ne laissant se développer que les Streptocoques ou Entérocoques.

***Test présomptif : Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux.**

On prépare 3 séries de 3 tubes contenant chacun 9 ml de milieu Rothe (simple concentration). Dans la première série de tubes nous rajoutons 1ml de la solution mère (10^0). On réalise la même opération avec les 2 autres séries en ajoutant aux 3 premiers 1 ml de la dilution 10^{-1} et aux 3 autres 1 ml de la dilution 10^{-2} , l'ensemble des tubes ainsi préparés sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h (fig.12). Les tubes présentant un trouble bactérien sont considérés comme positifs.

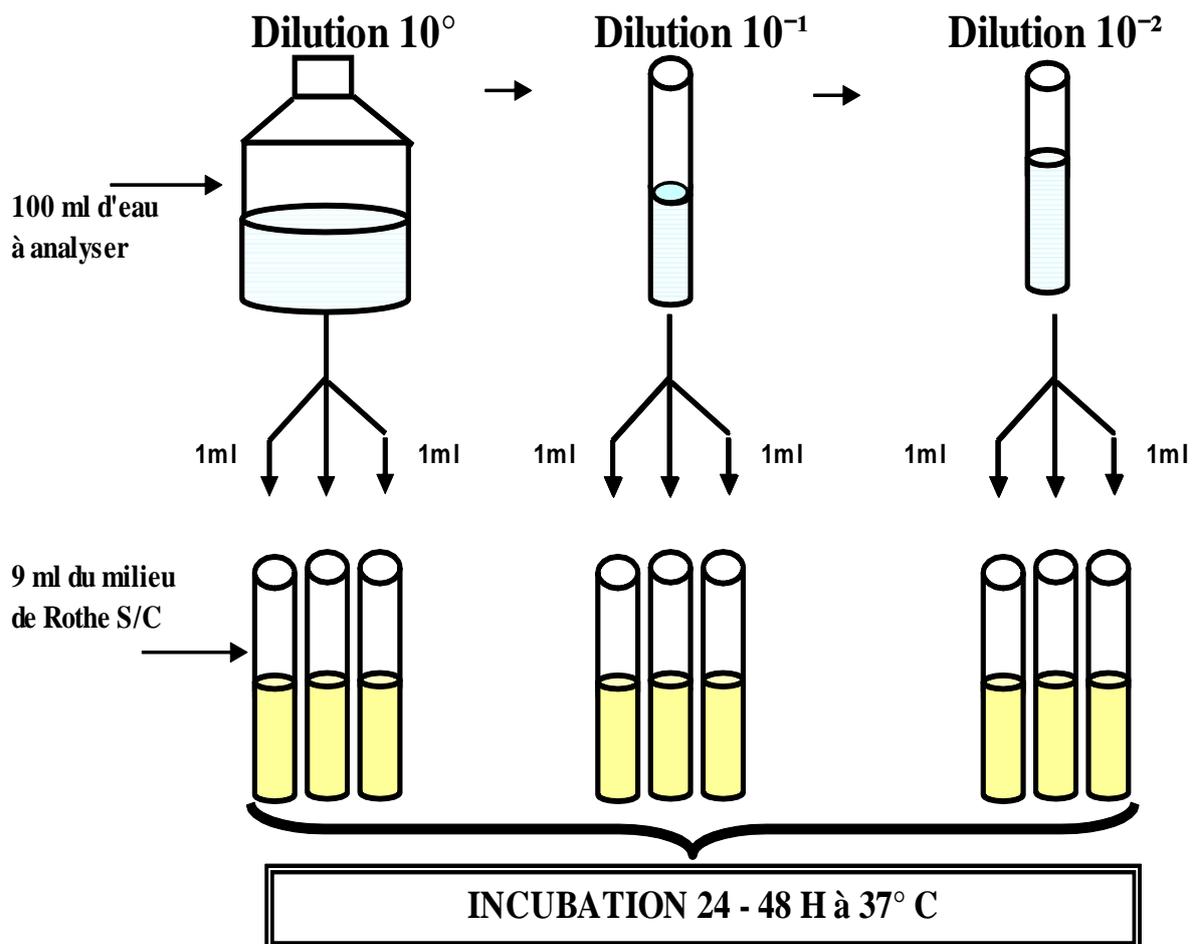


Figure 12: Recherche et dénombrement des *Streptocoques totaux* dans l'eau (test présomptif)

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

Nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif présentant un trouble bactérien, que nous repiquons dans des tubes contenant 9 ml de milieu Litsky. Par la suite les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h (fig. 13).

***Lecture:**

Nous considérons comme positifs les tubes dans lesquels il y a apparition d'un trouble bactérien qui confirme la présence des streptocoques fécaux; parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble bactérien. (Rodier, 1975).

3.4. Analyse bactériologique des bivalves :

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

3.4.1. Préparation des dilutions décimales :

Conformément à la norme NF VO8-010

- Dilution 10^0 : Dilution mère (25g de chair et de liquide inter valvaire + 225 ml d'eau distillée stérile).
- Dilution 10^{-1} : Dans un deuxième tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml du broyat (10^0).

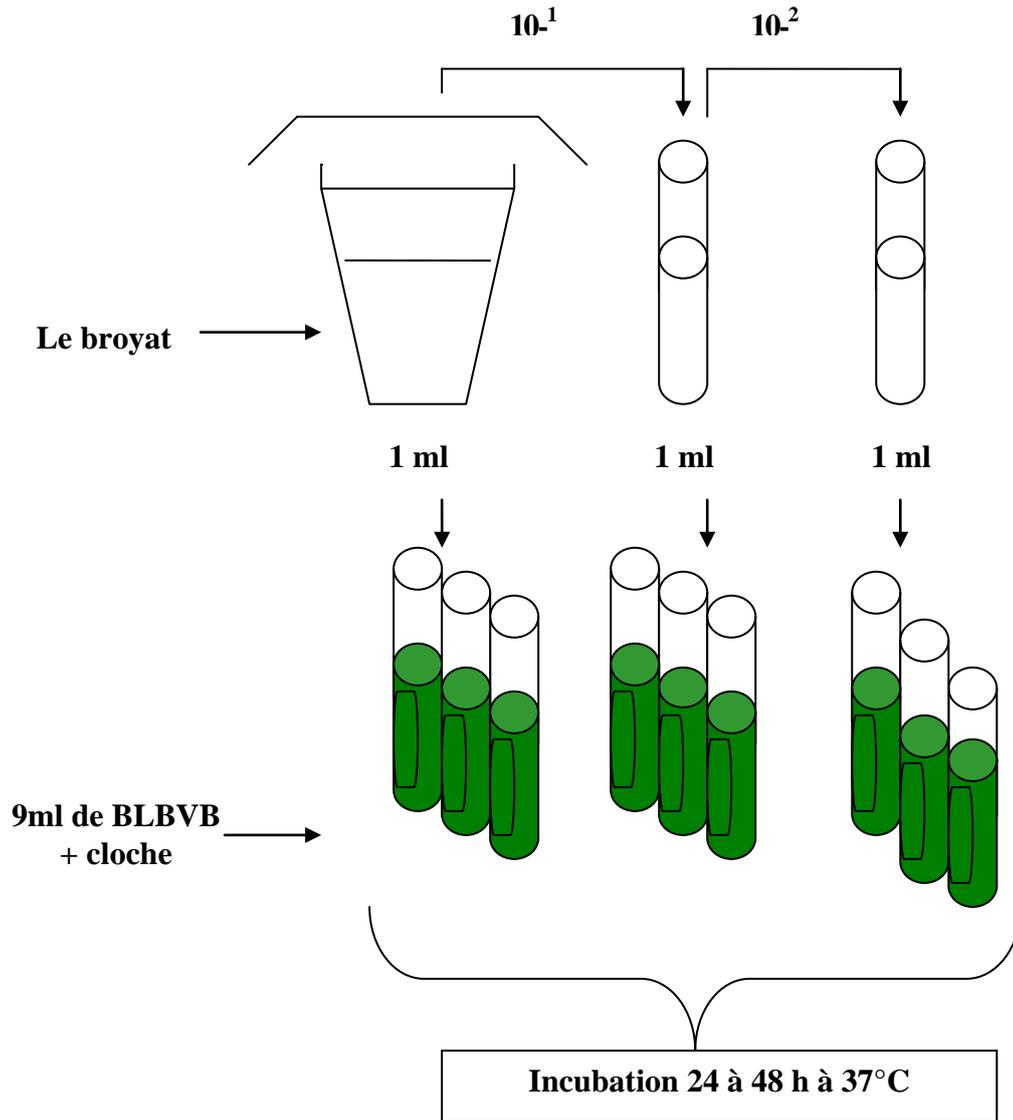


Figure 15 : Recherche et dénombrement des Coliformes totaux chez la moule *Perna perna* (test présomptif)

***Test confirmatif: Identification des Coliformes thermotolerants (*E. coli*) :**

Nous prélevons 1 ml des tubes positifs présentant un virage de couleur, ainsi qu'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham, que nous rajoutons à un tube contenant 9ml de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB) et 1ml que nous additionnons à un tube contenant 9ml d'eau peptonée exempte d'indole. Les tubes ainsi préparés sont incubés à 44° C pendant 24 à 48 h (fig. 16).



3.4.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques (Entérocoques) et identification des *Streptocoques* du groupe sérologique D de Lancefield .

***Test présomptif: Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux.**

Conformément à la norme NF T 90-411, nous avonsensemencé 3 séries de 3 tubes contenant 9ml de bouillon de Rothe simple concentration (fig. 17).

- Une 1^{ere} série de 3 tubes avec 1ml de broyât à analyser de dilution mère
- Une 2^{eme} série de 3 tubes avec 1ml de la deuxième dilution (10^{-1}).
- Une 3^{eme} série de 3 tubes avec 1ml de la troisième dilution (10^{-2}).

Nous homogénéisons par agitation du contenu des tubes de façon à ce que les bactéries et la concentration en inhibiteurs soient identiques en tout point.

Nous incubons les tubes pendant 24 à 48h à 37° C, les tubes présentant un trouble bactérien sont présumés contenir des streptocoques et sont soumis à un test confirmatif.

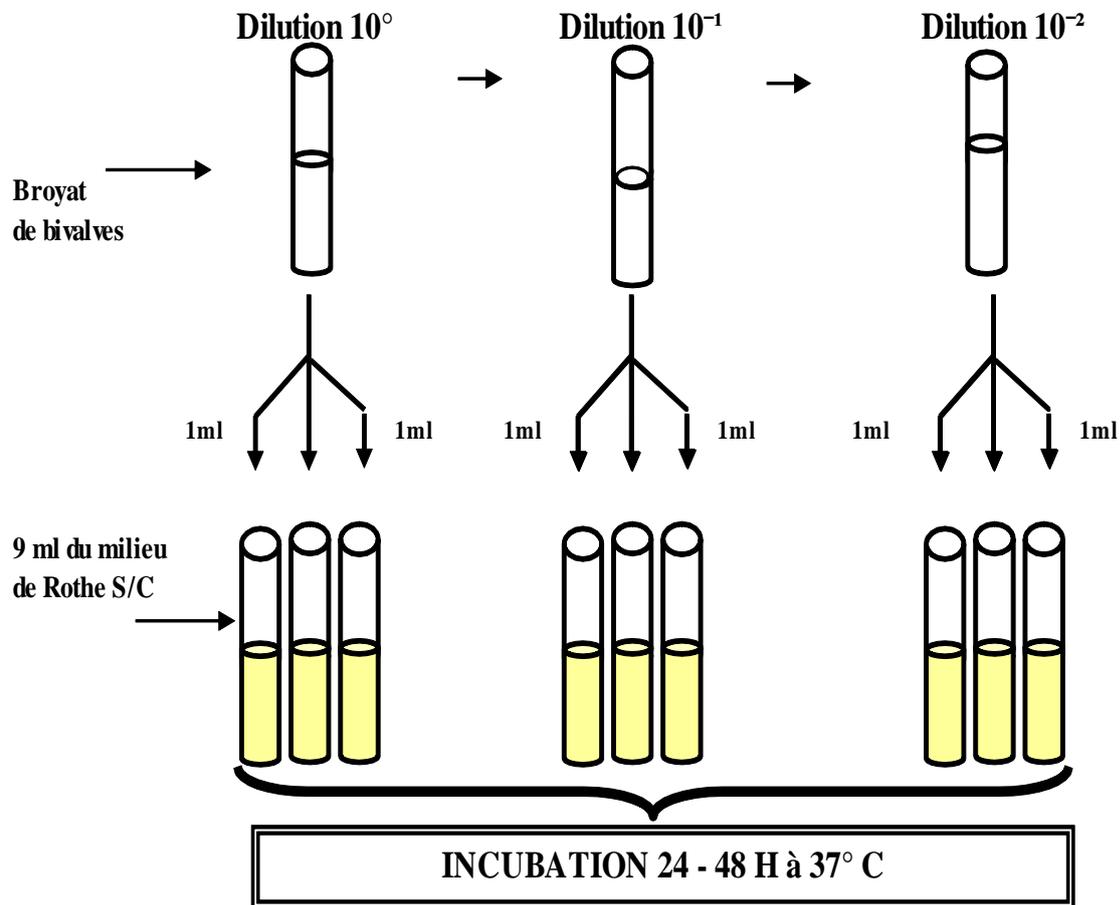


Figure 17: Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux chez la moule *Perna perna* (test présomptif)

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

Après agitation des tubes positifs nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif, et nous les repiquons dans un tube contenant du milieu Litsky; nous incubons à 37°C pendant 24 à 48 h (fig. 18).

Nous notons le nombre de tubes positifs et nous exprimons le nombre le plus probable de germes dans l'échantillon selon la table de Mac Grady (annexe).

- **Techniques de quantification bactérienne:**

Le calcul du nombre probable de germes est effectué en se rapportant à la table de Mac Grady (Annexe).

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

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

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

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

- Si nous avons 3 tubes positifs dans la première série 1/10 et 3 tubes positifs dans la deuxième série 1/100, et aucun tube positif dans la troisième 1/1000, alors nous lisons "3.3.0".

- D'après la table de Mac Grady (annexe), "330" correspond à 240 germes /100ml d'eau (tab.1).

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

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

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

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

3.5. Recherche des germes pathogènes chez les bivalves

Cette étude qui porte sur la recherche et le dénombrement des Coliformes et des Streptocoques fécaux, a été complétée par la recherche des germes pathogènes chez les bivalves présents dans les 5 sites d'études.

3.5.1. Recherche et dénombrement des germes anaérobies sulfito- réducteurs :

Le milieu Viande Foie est un milieu de culture. Il est principalement utilisé en tube profond pour la détermination du type respiratoire des micro-organismes, mais aussi pour la culture de germes anaérobies stricts tels que les Clostridium.

*Principe:

Conformément à la norme NF T 90-415, après destruction des formes végétatives par un chauffage à 80°C, l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu, additionné de sulfite de sodium et de sel de fer.

Après solidification et incubation, la présence de germes sulfito - réducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies.

*Mode opératoire :

Les colonies sont identifiées sur milieu gélosé VF (viande - foie) solide additionné à 1 ml de sulfite de sodium à 10 % et 4 gouttes d'alun de fer 5 %.

Un chauffage de la dilution mère est réalisé à 80 °C pendant 10 minutes : il permet de sélectionner les formes sporulées. Plusieurs tubes contenant 15 ml de milieu en surfusion reçoivent respectivement 1ml de suspension. L'incubation dure 24 à 48 heures à 37 °C. Les colonies noires sont identifiées (fig.19).

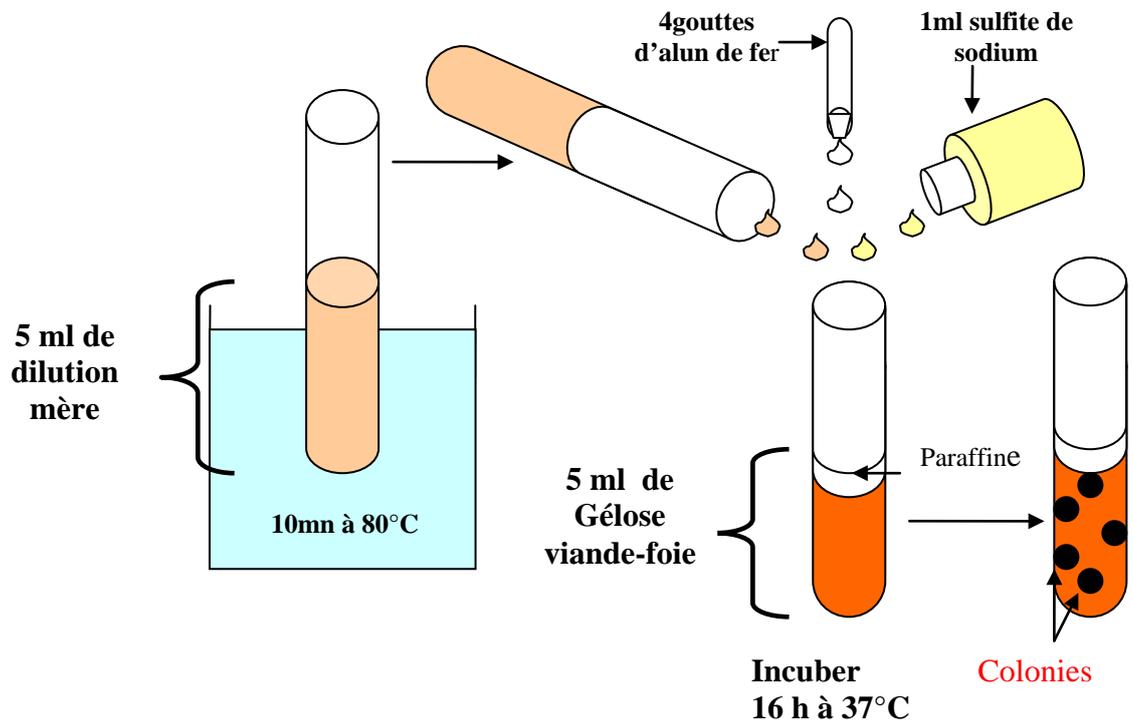
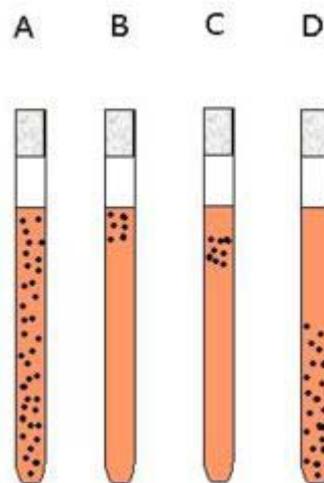


Figure 19: Recherche et dénombrement des germes anaérobies sulfito- réducteurs



- A : Culture sur toute la hauteur : aéro-anaérobie
- B : Culture seulement en haut : aérobie stricte
- C : Culture limitée entre 0,5 et 1,5 cm du haut : micro-aérophile
- D : Culture seulement 1 cm au dessous du haut : anaérobie stricte

Figure 20 : Identification des germes anaérobies sulfito-réducteurs

3.5.2. Recherche des Salmonelles :

*Principe:

Le sélénite présent dans le milieu d'enrichissement, inhibe la croissance des Coliformes et les Entérocoques et enrichit les *Salmonella* et *Proteus*.

*Mode opératoire :

Conformément à la norme NF V ISO 7218, nous avons procédé comme suit :

- **Préenrichissement** : on met 25g de chair et de liquide inter valvaire broyés légèrement dans 10 fois son volume d'eau peptonnée tamponnée. Incubation à 37 °C pendant 20 h au plus.

- **Enrichissement** : on prélève 1 ml du bouillon de préenrichissement et on ensemence deux tubes de 20 ml chacun de milieux sélectifs liquides (cystine-Sélénite et bouillon tétrathionate). Incubation à 37°C pendant 24 h.

- **Isolement** : on ensemence à partir des bouillons d'enrichissement, la gélose SS (gélose *Salmonella - Sighele*), qui est un milieu solide utilisé pour l'isolement des salmonelles et des Shigelles.

Le développement de la flore secondaire dans le vert brillant, les sels biliaries, les fortes concentrations en thiosulfates et en citrates, le lactose, sucre réactif du milieu, permet de déceler la croissance éventuelle des coliformes (colonies rouges)

En outre, les bactéries capables de produire de l'H₂S par réduction du thiosulfate donnent en présence des ions de fer des colonies à centre noir.

L'ensemencement sur gélose SS se fait par stries dans des boites de Pétri, après 24 heures d'incubation à 37 °C (fig.21).

*Lecture :

On observe soit :

- **Des colonies rouges** : *Enterobacter*, *Klebsiella* et autres coliformes tels *E.coli*
- **Des colonies incolores transparentes** : *Salmonella* à H₂S -, *Shigella*, *Serratia*, *E.Hafniae*, *Alkalescens*, *Proteus morganii*.
- **Des colonies incolores à centre noir** : *Salmonella* à H₂S +, *Proteus vulgaris et mirabilis*
- **Des colonies à centre orangé** : *Proteus rettgeri*, *Providencia*
- **Des colonies rouges à centre noir** : *Citrobacter freundii* (en réalité seul le centre noire est visible d'où confusion avec *Salmonella*), *Arizona* (même remarque).
-

***Tests d'identifications :**

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

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

Ce milieu est utile pour différencier les bactéries donnant des colonies lactose négatives et apparaissant donc comme suspectes sur les milieux d'isolement pour la recherche des salmonelles et des shigelles. Ces bactéries fermentent rapidement le saccharose.

La différenciation principale entre les *Salmonella* et *Shigella* ainsi que les *Proteus mirabilis* et *vulgaris*, se fait grâce au culot jaune, à la pente rouge et au gaz qui apparaissent après 24 heures d'incubation à 37°C.

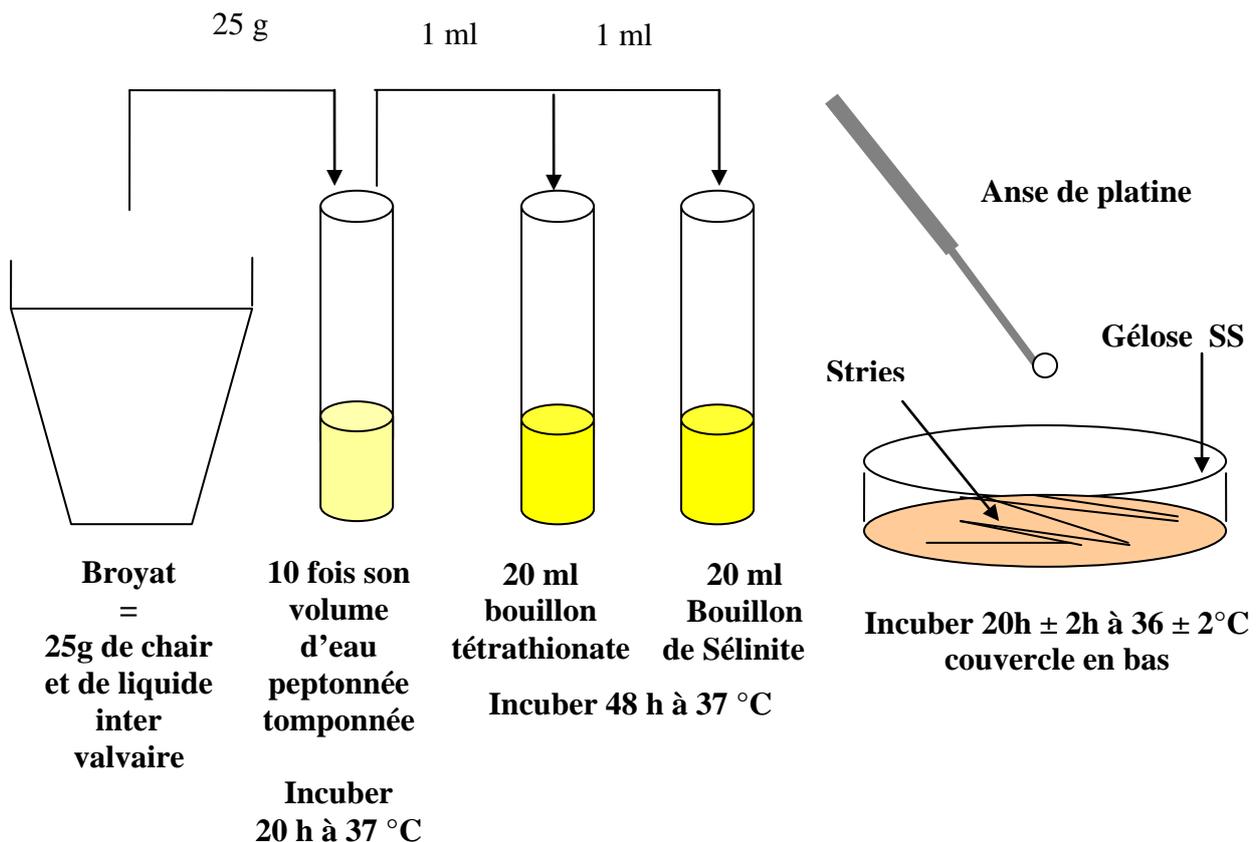


Figure 21 : Recherche des Salmonelles

3.5.3. Recherche des Staphylocoques pathogènes :

*Principe:

Le milieu Chapman est un milieu classique, il permet d'une part l'isolement sélectif des staphylocoques sur la base de leur tolérance à de fortes teneurs de Na Cl, et d'autre part à la différenciation de souche *Staphylococcus aureus*, par la mise en évidence de la dégradation du mannitol.

*Mode opératoire :

Selon la norme NF T 90-421 et la norme NF ISO 7218, le milieu Chapman doit être considéré essentiellement comme le milieu d'isolement : l'ensemencement s'effectue par culture en masse. L'incubation à 37°C pendant 24-48 h (fig.22).

*Lecture :

Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus aureus* s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve.

Les autres espèces de *Staphylococcus* donnent des colonies généralement plus petites, rosées et n'entraînant pas de virage du milieu.

Le milieu Chapman permet la sélection des *staphylocoques* et une orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus*, mais il ne s'agit que d'un test de présomption et une confirmation par des tests plus spécifiques (coagulase, DNase, ...etc.) reste obligatoire.

D'autres bactéries, *Streptococcus D*, *Bacillus*, peuvent se développer sur ce milieu.

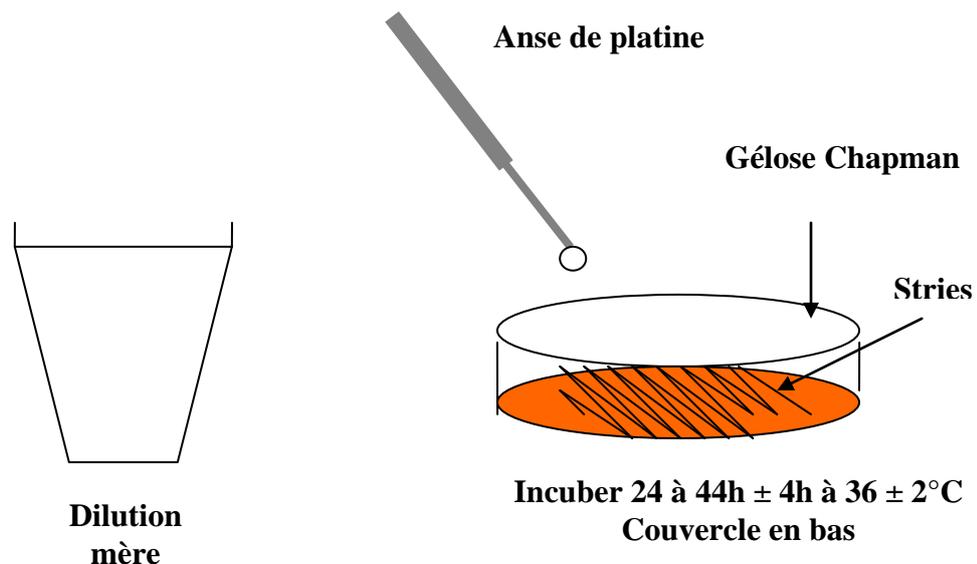


Figure 22 : Recherche des Staphylocoques pathogènes

3.5.4. Recherche de Pseudomonas :

Les pseudomonas sont très répandus dans la nature (l'air, sol, le monde végétal), ils contaminent les produits alimentaires et peuvent les dégrader.

C'est un bacille, coccobacille, Gram (-), asporulé, oxydase (+), ne fermente pas le glucose (métabolisme respiratoire), aérobic stricte, catalase (+), température de croissance est de 20°C à 30°C.

*Principe :

Conformément à la norme NF EN 12780 et la norme NF V ISO 7218, on utilise un milieu sélectif : King A spécifique pour *Pseudomonas aeruginosa* et le milieu King B pour *Pseudomonas fluorescens* et autres espèces.

*Mode opératoire :

On ensemence les milieux King A et King B en surface à l'aide d'une anse de platine, et on incube pendant 24 à 48 h à 30° C (fig.23).

*Lecture :

Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* ont un diamètre de 1.5 à 2 mm avec une couleur blanc- crème, un aspect muqueux et parfois il y a production de pigment bleu-vert.

Dans le milieu King B, quelques espèces produisent la fluorescéine (pigment).

Sur ce milieu on utilise directement la source de lumière de Wood, cette fluorescence n'est parfois pas immédiatement visible à la sortie de l'étuve.

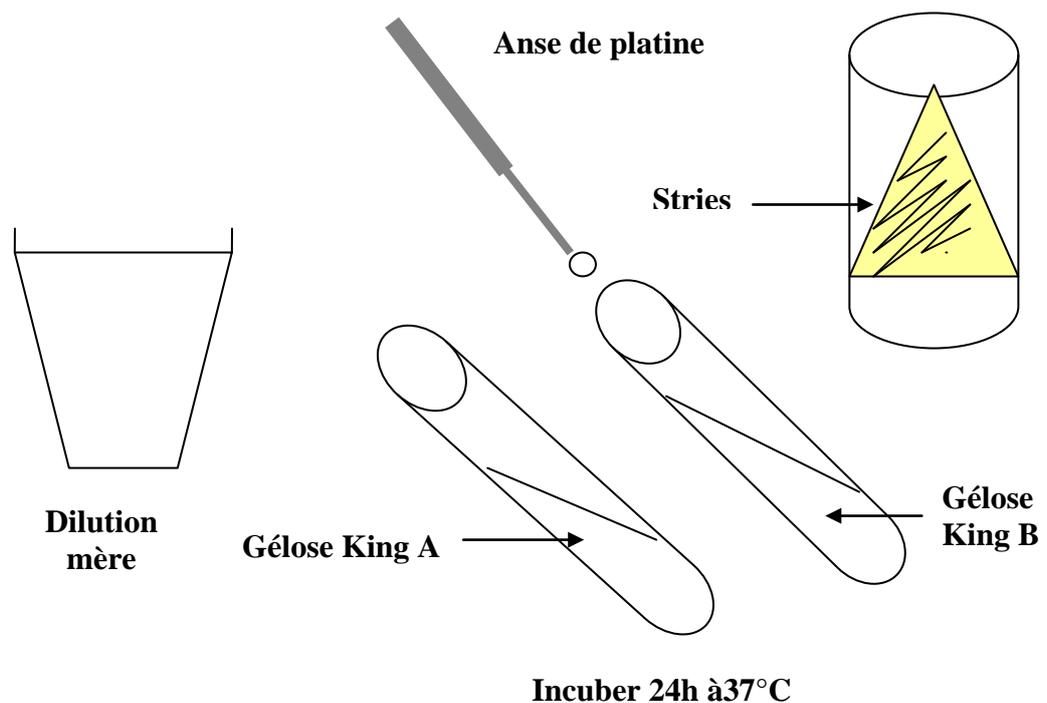


Figure 23 : Recherche de Pseudomonas

3.5.6. Recherche des caractères biochimiques pour confirmation des résultats présumptifs obtenus.

Il existe plusieurs systèmes :

- Système classique : on utilise des milieux combinés : Kligler, TSI, source de lumière de Wood, coagulase, DNase ...etc.
- Système moderne : techniques rapides utilisant des galeries tels que : Galerie API qui est la version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles, seulement elle ne permet que l'identification des Entérobacteraceae et autres Gram négatif.

- **Identification par galerie API 20 E :**

La galerie est utilisée comme test confirmatif

***Principe :**

Les galeries Api, utilisent plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'un enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (fig.24).

***mode opératoire :**

A l'aide d'une pipette, on réalise une suspension de la souche à étudier à partir d'une seule colonie isolée sur milieu gélosé et 5 ml d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique, puis on remplit les cupules de la galerie en évitant les bulles d'air.

En ce qui concerne les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Quant aux substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48 h (fig.25).

***Lecture :**

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, les derniers triplets pouvant inclure des caractères bactériens comme la morphologie, le Gram, la mobilité, l'oxydase, la catalase, etc. nécessaire à l'interprétation. Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième.

Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement huit possibilités pour la somme d'un triplet : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique du micro-organisme étudié. La comparaison de ce code à ceux référencés dans la base de données gérée par Biomérieux, permet en général d'identifier ce micro-organisme. Si le code numérique obtenu ne figure pas dans cette base de données, il peut s'agir d'un profil ou d'un micro-organisme non référencé, mais la cause la plus fréquente reste un problème technique : inoculum non respecté, paraffine oubliée, réactifs périmés... etc (Biomérieux, 2006).

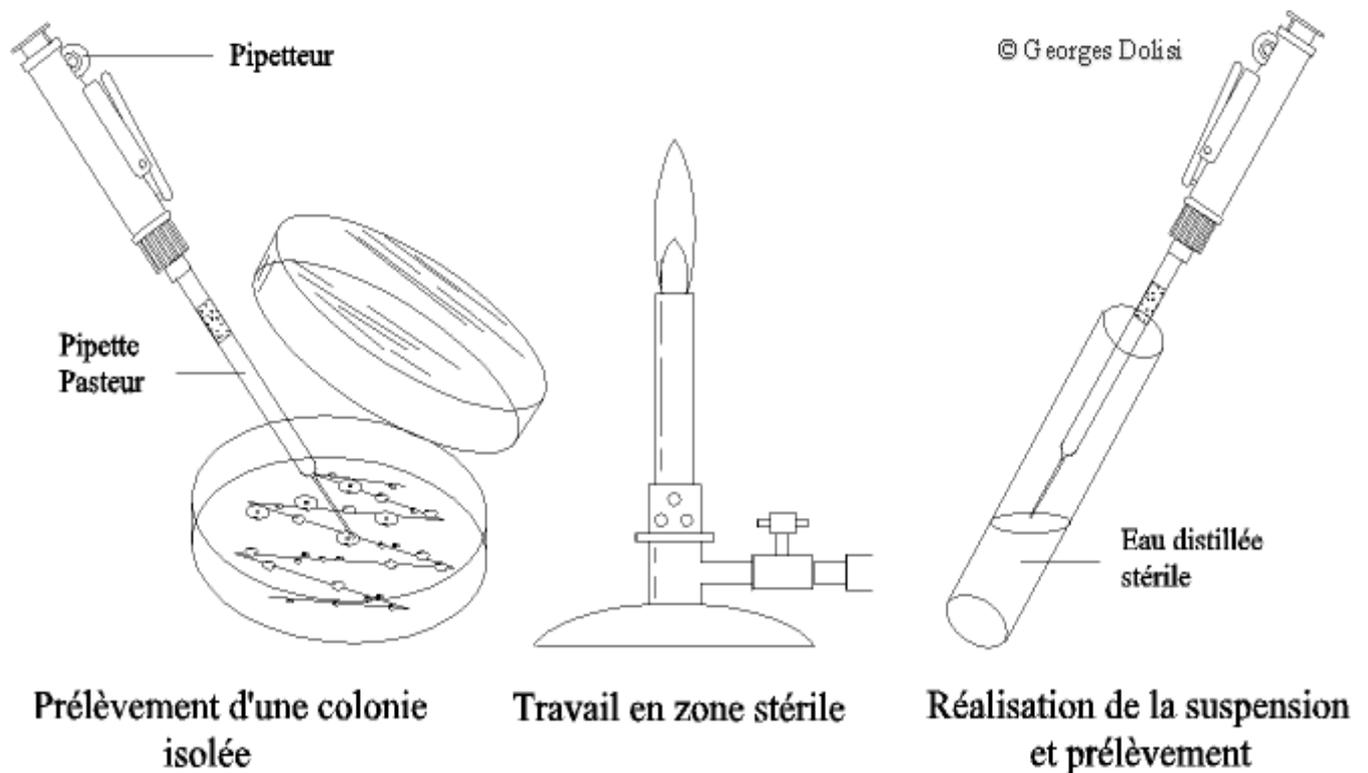


Figure 24: Recherche des caractères biochimiques (Biomérieux, 2006).

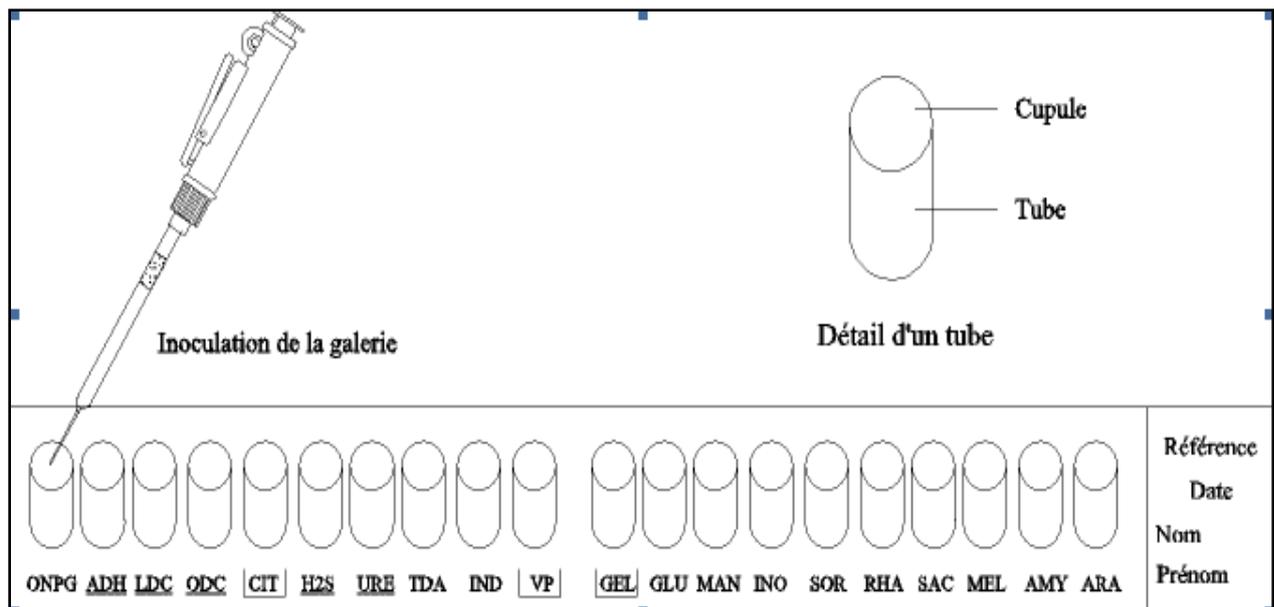


Figure 25: Inoculation de la galerie API 20 E (Biomérieux, 2006).

4. Analyse statistique des données.

L'analyse statistique des données à été réalisée par 3 méthodes statistiques différentes : Le Modèle linéaire généralisé, le test de l'analyse des moyennes et l'analyse des composantes principales.

4.1. Modèle linéaire généralisé (GLM).

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

4.4. Test de l'analyse des moyennes.

Le test de l'analyse des moyennes est une technique qui permet d'estimer l'intervalle de confiance des fréquences des contaminants.

4.5. Analyse des composantes principales (ACP).

L'analyse des composantes principales (ACP) est une technique descriptive permettant d'étudier les relations qui existent entre variables quantitatives, sans tenir compte, a priori, d'une quelconque structure, ni des variables, ni des individus (Palm, 1998).

D'après Dagnelie (1982), le premier objectif de l'ACP est bien de remplacer les variables initiales, généralement corrélées, par des variables non corrélées. Le second objectif est de réduire autant que possible le nombre de variables à prendre en considération, c'est-à-dire, le nombre de dimensions de l'espace dans lequel les variations doivent être étudiées.

Résultats

3. Les paramètres physico-chimiques de l'eau

3.1. La Température:

La température présente des variations similaires dans l'ensemble des sites. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées durant la saison estivale avec un maximum en juillet et août (28°C) au niveau du Cap de garde et Sidi Salem (fig.26).

Dés le début de l'automne (Septembre), on assiste a une baisse progressive de la température de l'eau qui se prolonge jusqu'à la période hivernale ou elle atteint une valeur minimale de 12.5°C en février (Cap de Garde et Rezgui Rachid).

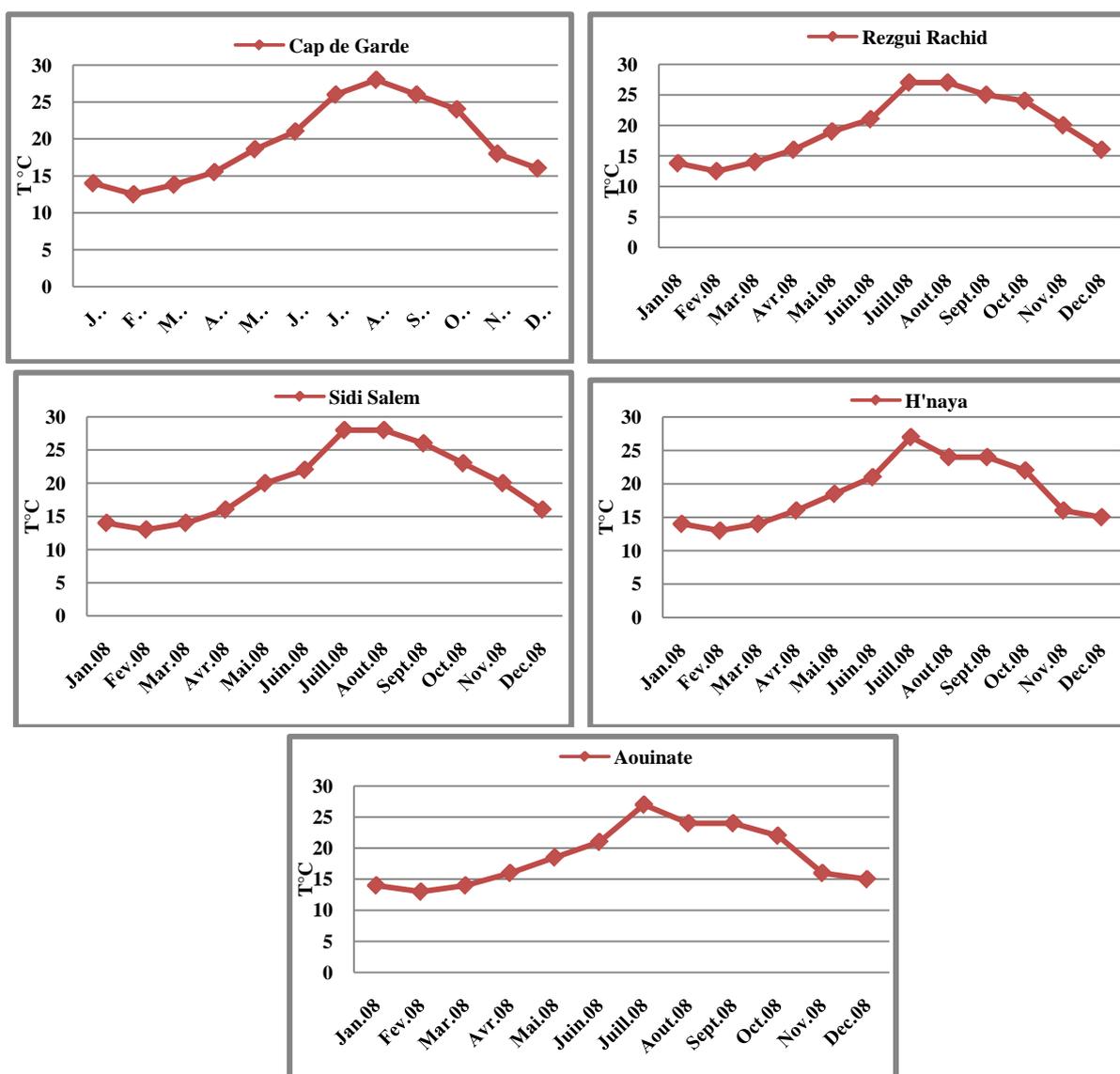


Figure 26: Variations mensuelles de la température de l'eau (Janvier - décembre 2008).

3.2.La salinité:

La salinité atteint des valeurs maximales, variant entre 39 g/l et 41.8g/l dans l'ensemble des sites, en période estivale et automnale.

La valeur la plus basse (36.5 g/l) est enregistrée en janvier à Aouinate (fig. 27).

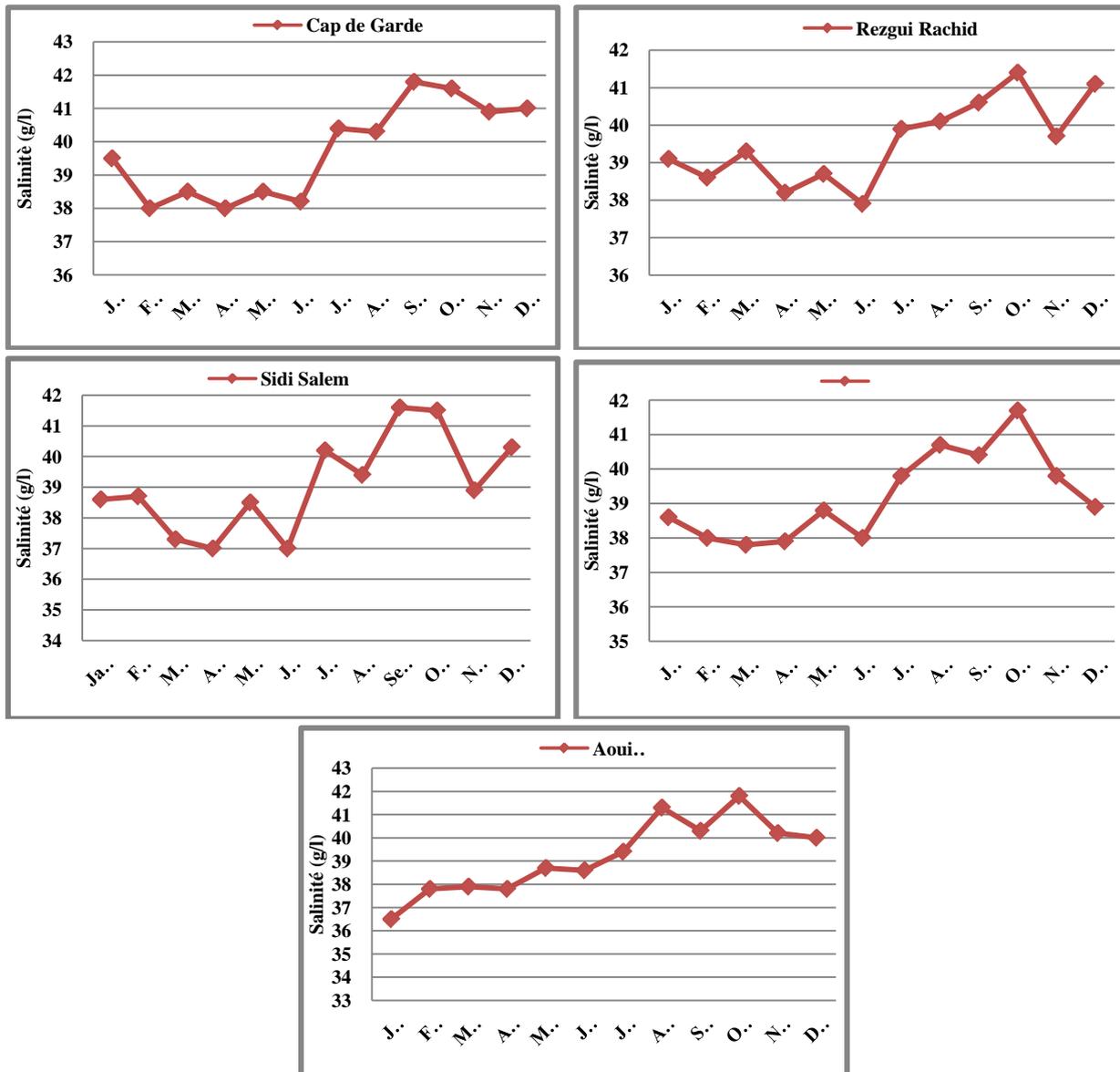


Figure 27: Variations mensuelles de la salinité de l'eau (Janvier - décembre 2008).

1.3. Le pH :

Le pH est légèrement alcalin dans l'ensemble des sites. La valeur la plus basse (7.6) est enregistrée à H'naya au mois de mai.

La valeur la plus élevée (8.75) est notée en juin au niveau du Cap de Garde (fig.28).

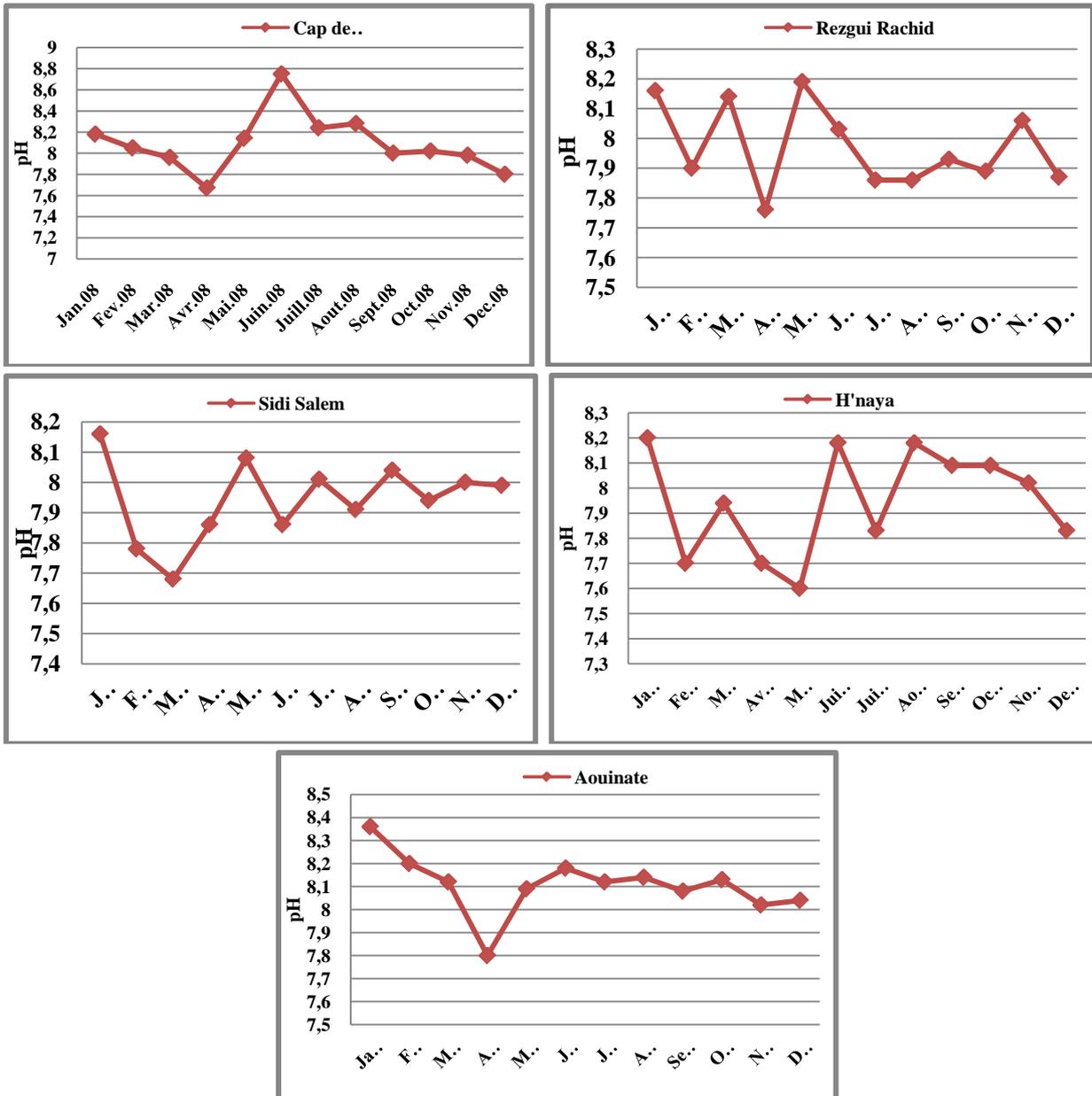


Figure 28 : Variations mensuelles du pH de l'eau (Janvier - décembre 2008).

1.4. L'oxygène dissous :

Les teneurs en oxygène dissous montrent des fluctuations en fonction des périodes. Elles sont relativement élevées en hiver où elles varient entre 6 et 12 mg/l et basses en été et en automne, variant de 1 à 6 mg/l.

En effet, nous notons, une baisse significative des teneurs en oxygène en période estivale, atteignant 1.9 mg/l au mois d'août au Cap de Garde et H'naya et une meilleure oxygénation de l'eau en périodes hivernales avec des valeurs maximales de 11 et 11.79 mg/l respectivement à H'naya en mars et Aouinate en janvier (fig.29).

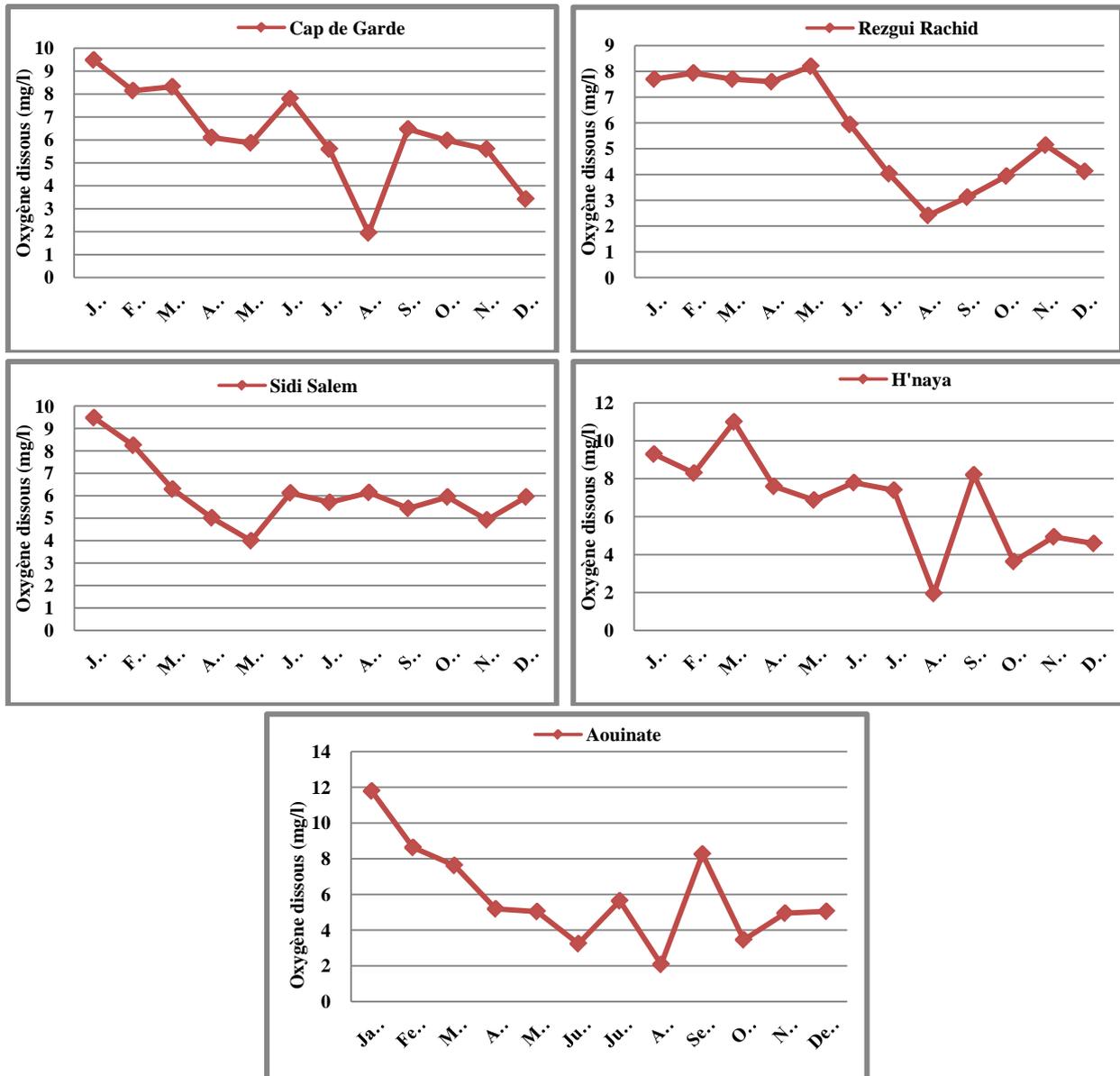


Figure 29 : Variation mensuelles des teneurs en oxygène dissous de l'eau (Janvier - décembre 2008).

1.5. Les matières en suspension :

Les teneurs en matières en suspension varient de 0.128 mg/l en juin au Cap de Garde à 0.3789 mg/l en décembre à Aouinate.

Les valeurs les plus élevées sont généralement relevées en période automnale.

Par ailleurs, c'est en juin que la teneur en MES atteint sa valeur minimale dans pratiquement l'ensemble des sites (Fig.30).

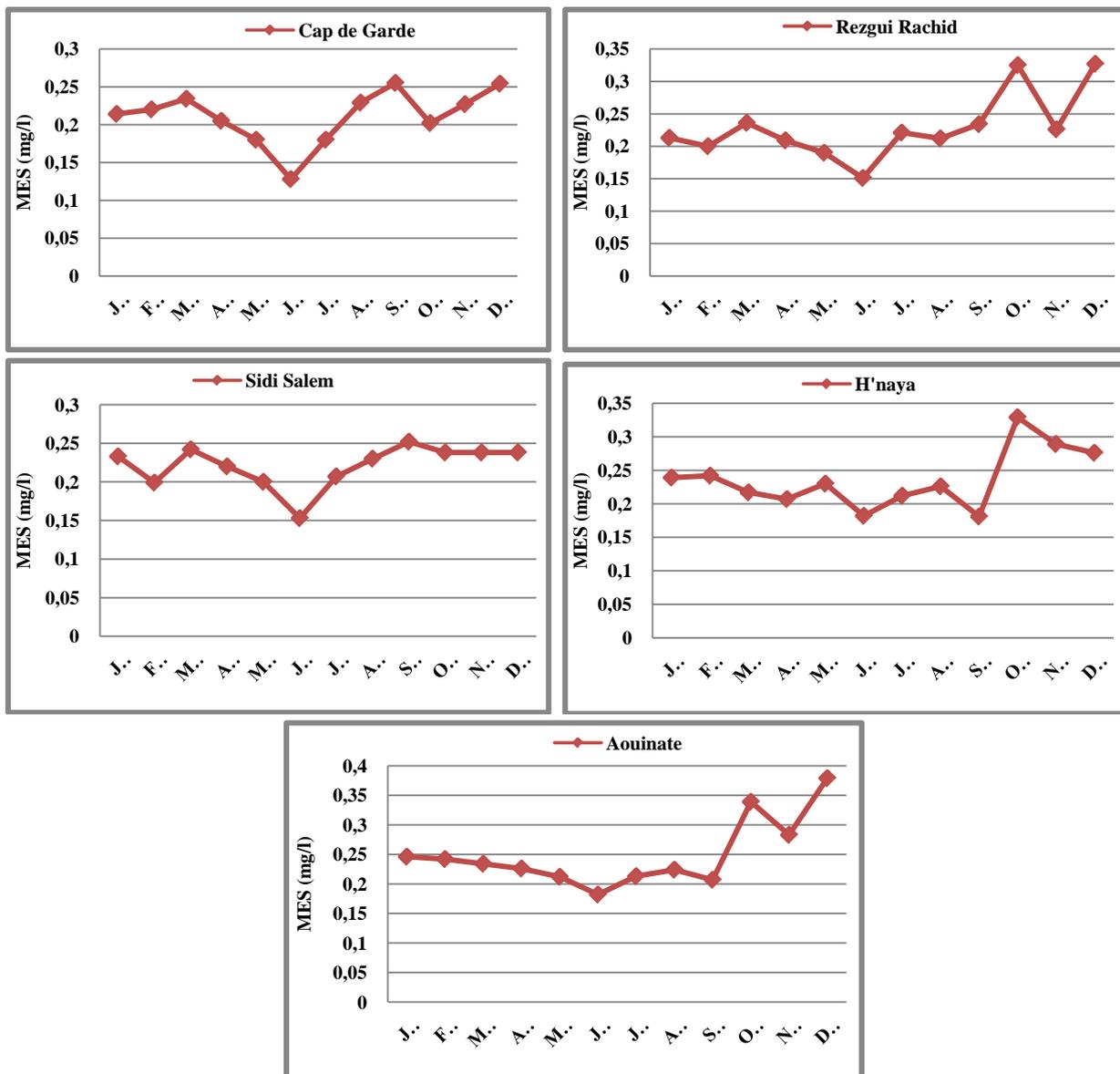


Figure 30: Variations mensuelles des teneurs en matières en suspensions dans l'eau (Janvier - décembre 2008).

4. Distribution des germes dans l'eau de mer :

4.1. Les Coliformes totaux :

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

Nous notons, des valeurs en Coliformes totaux, inférieures aux valeurs guides (500 germes/100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46), au Cap de Garde et Rezgui Rachid, pendant toute la période d'étude.

A Sidi Salem, nous enregistrons des valeurs de 1100 et de 2400 germes/100ml (dépassant largement la valeur guide), au cours des mois de mai, septembre et octobre, à cela s'ajoute des teneurs proches des valeurs guides en novembre et décembre (93 germes /100ml).

A H'naya, nous notons 3 pics de 2400 germes /100ml en avril, mai et juillet et un pic de 1100 germes /100ml en octobre.

Au niveau de Aouinate, les teneurs relevées restent inférieures aux valeurs guides sauf en avril ou un pic de 2400 germes /100ml est enregistré (fig.31).

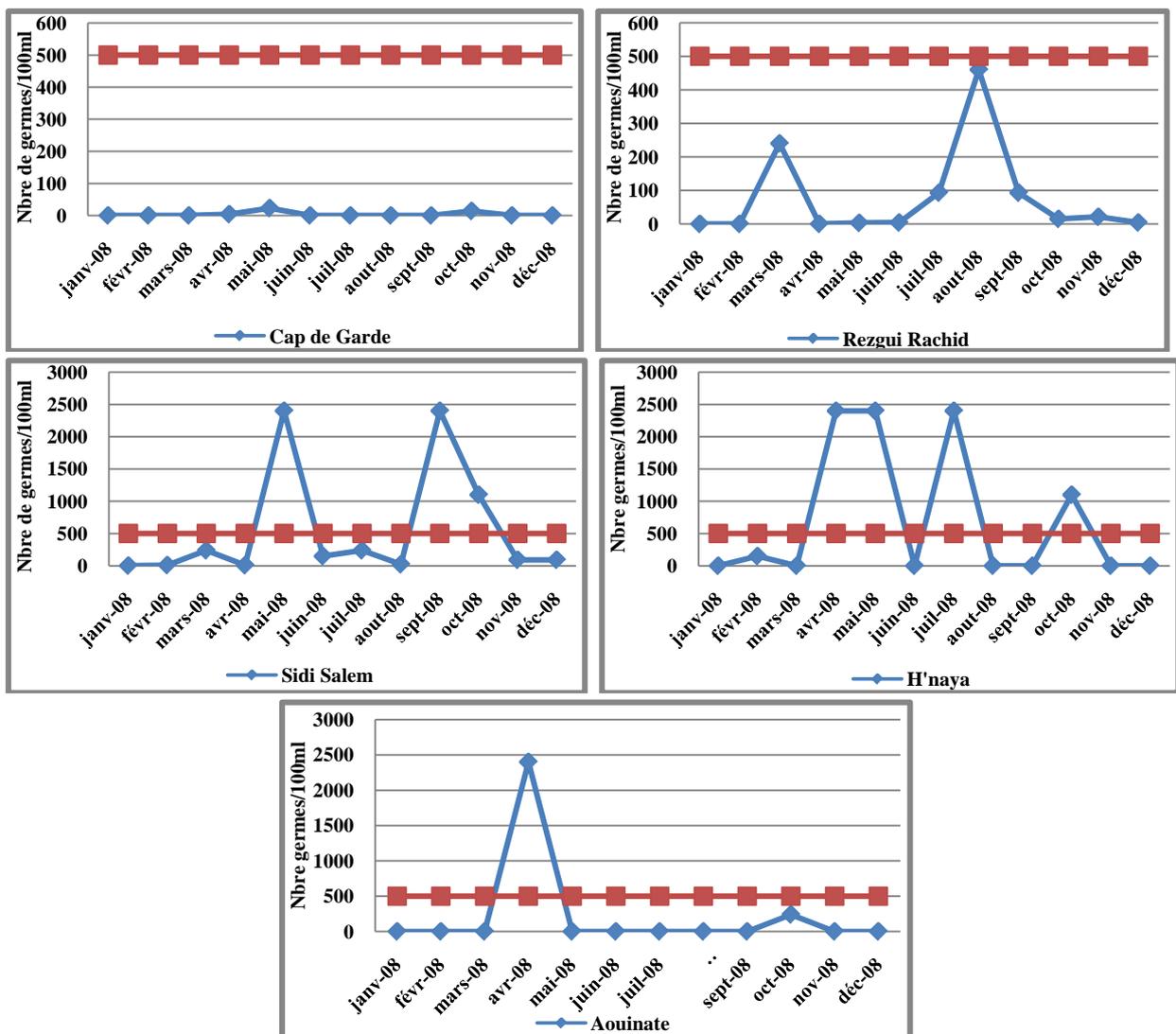


Figure 31: Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux dans l'eau (Janvier - décembre 2008).

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

Les concentrations en Coliformes thermotolérants (*E.coli*), enregistrées au niveau du Cap de Garde et Rezgui Rachid, sont relativement faibles, elles ne dépassent pas 21 germes/100ml ; et sont de ce fait inférieures aux valeurs guides fixées à 100germes/100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46.

A Sidi Salem, 2 pics de 460 et 2400 germes/100ml sont relevés respectivement en mai et septembre ; à cela s'ajoute des teneurs de 93 germes /100ml (proches des valeurs guides) en mars, juillet et octobre

Au niveau de H'naya et Aouinate, les teneurs restent inférieures aux valeurs guides durant presque toute l'année, à l'exception du mois d'avril où des pics de 1100 et de 2400 germes/100ml sont respectivement enregistrés (fig.32).

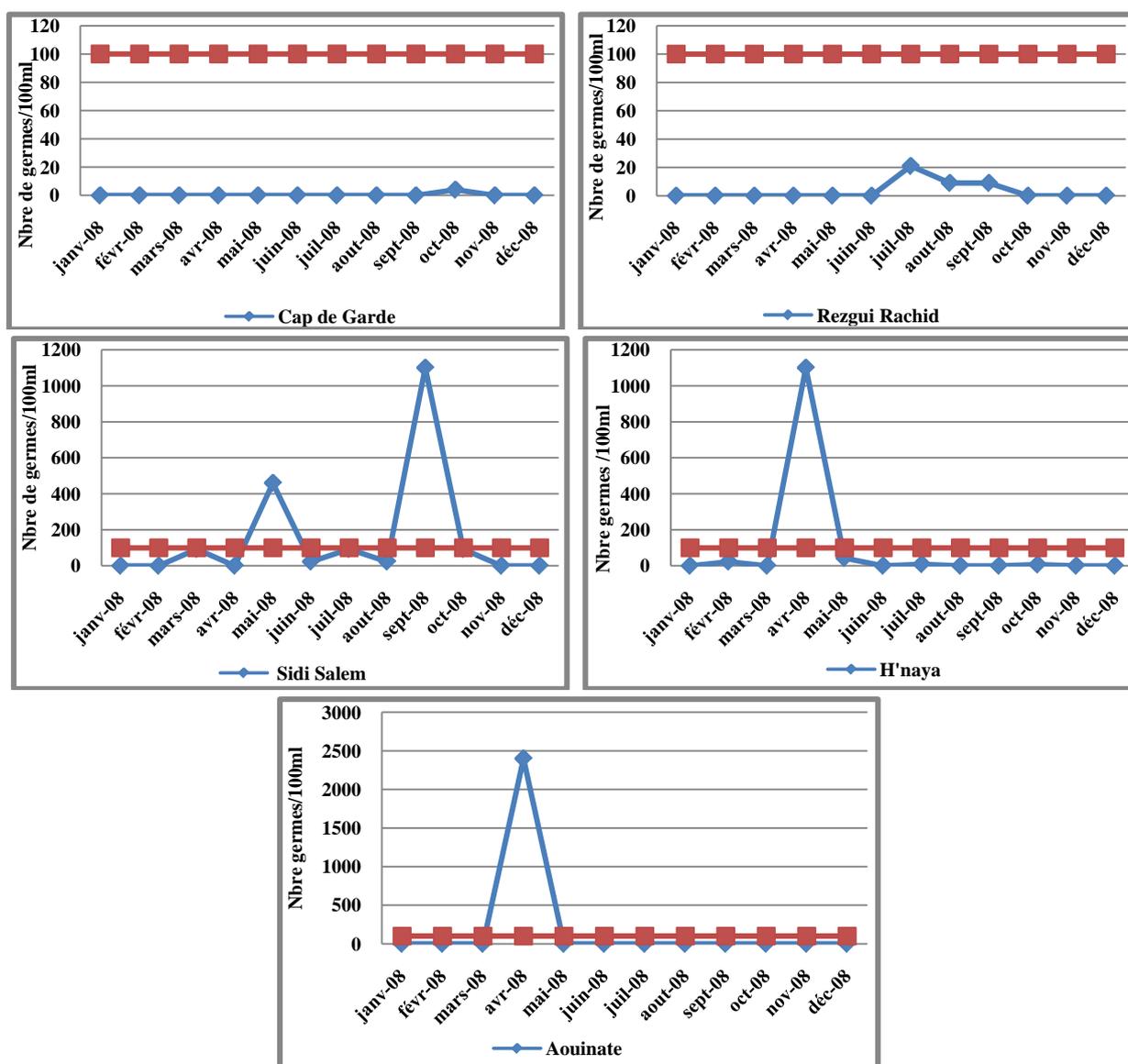


Figure 32: Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*) dans l'eau (Janvier - décembre 2008).

4.3. Les Streptocoques totaux :

Les concentrations en Streptocoques totaux, varient d'un site à l'autre (fig.33).

Dans le Cap de Garde, les valeurs les plus élevées sont enregistrées en septembre (93germes/100ml) et en octobre (460 germes/100ml).

A Rezgui Rachid sont relevés 3 pics de 150 germes/100ml (en juillet), de 240 germes/100ml (en septembre) et 2400 germes/100ml (en octobre) ; nous enregistrons, par ailleurs, des teneurs proches des valeurs guides en mars (75 germes/100ml) et en novembre (93 germes/100ml).

Dans le site de Sidi Salem, c'est en période estivale et automnale que sont enregistrés des teneurs dépassant nettement les valeurs guides admises, variant de 240 à 2400 germes/100ml

Au niveau de H'naya, nous notons des teneurs en Streptocoques totaux supérieurs aux valeurs guides en avril (210 germes/100ml), en août et octobre (240 germes/100ml) et en septembre (460 germes/100ml).

Quant au site Aouinate, des contaminations supérieurs aux valeurs guides sont observées, en avril (2400 germes/100ml), en septembre (240 germes/100ml) et en octobre (120 germes/100ml).

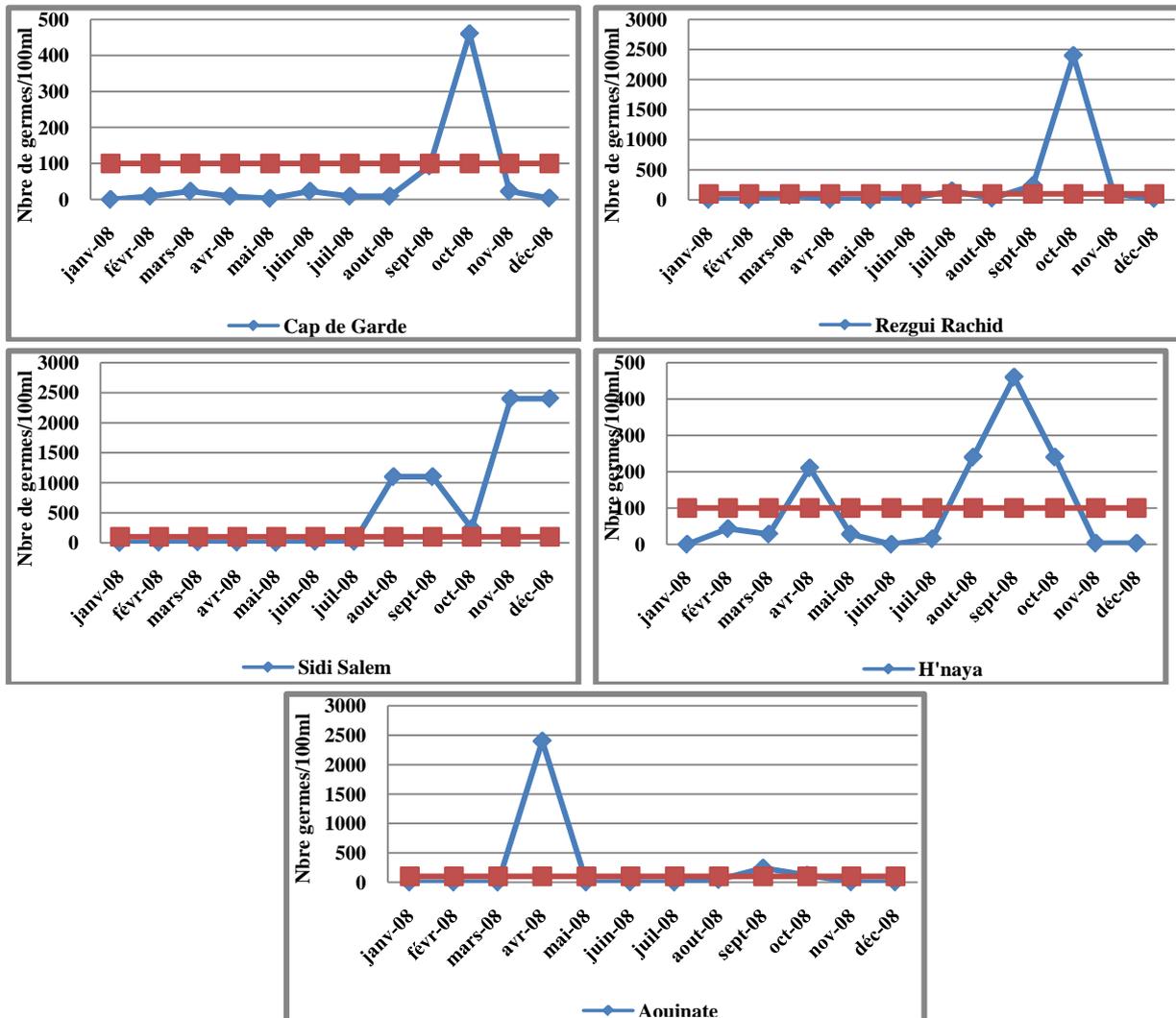


Figure 33: Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux dans l'eau (Janvier - décembre 2008).

4.4. Les Streptocoques fécaux :

Dans le Cap de Garde, les teneurs en Streptocoques fécaux ne dépassent pas 14 germes/100ml et de ce fait, bien inférieures aux valeurs guides fixées à 100 germes /100ml selon le décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 JORA n° 46

Au niveau de Rezgui Rachid, une importante contamination par les Streptocoques fécaux est relevée de septembre à novembre ; nous relevons un pic de 2400 germes /100ml en octobre et des teneurs proches des valeurs guides en septembre et en novembre.

A Sidi Salem, nous enregistrons 3 pics, un de 93 germes/100ml (proche des valeurs guides) en août et deux de 210 germes /100ml en novembre et décembre.

Quant à H'naya et Aouinate, les teneurs relevées durant l'année sont nettement inférieures aux valeurs guides, à l'exception du mois d'avril où des teneurs de 210 et 460 germes /100ml sont notées respectivement (fig.34).

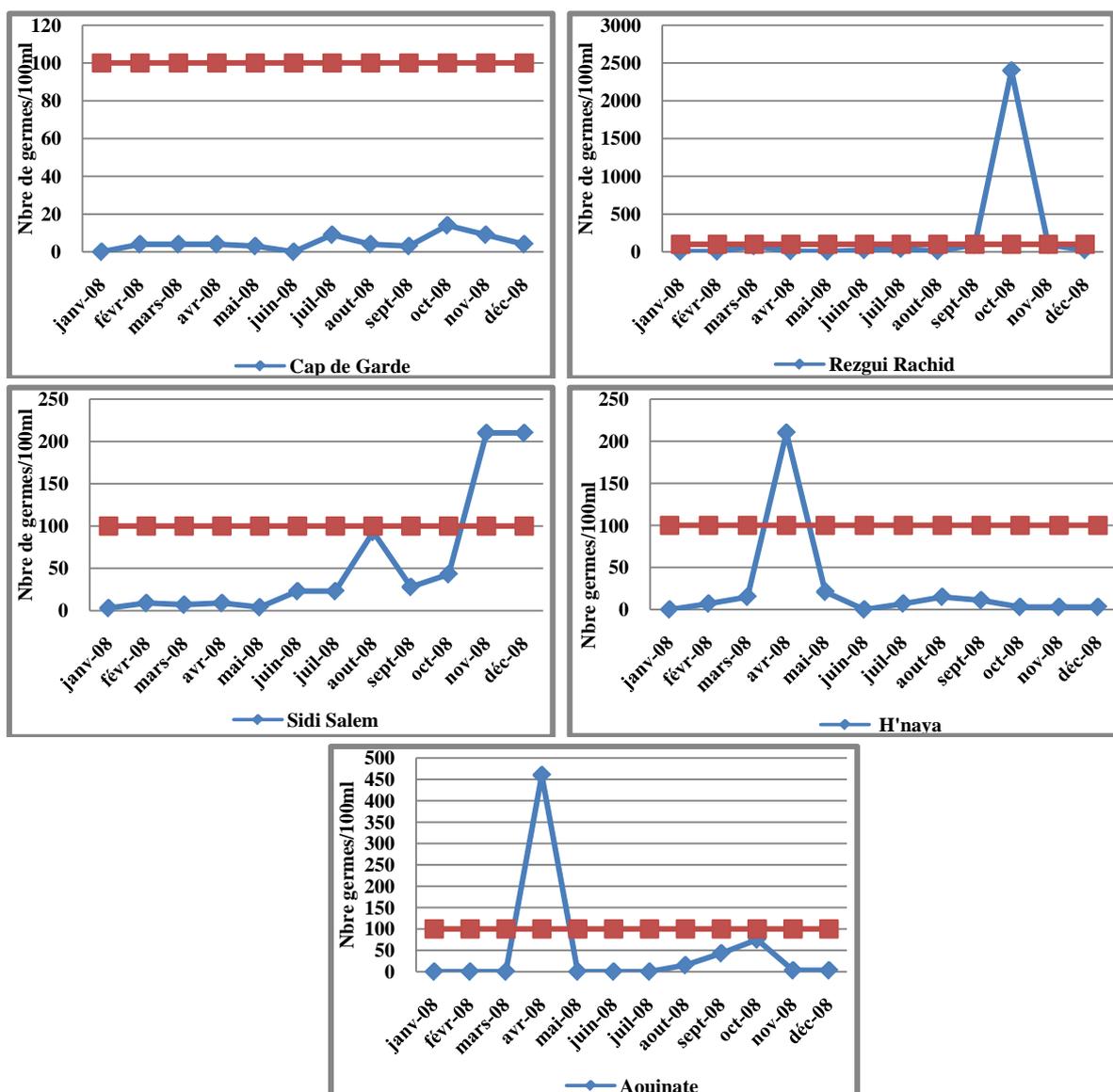


Figure 34 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques fécaux dans l'eau (Janvier - décembre 2008).

3. Distribution des germes chez les moules :

3.1. Les Coliformes totaux :

Les moules prélevées dans l'ensemble des sites hébergent, durant toute l'année, des coliformes totaux à des teneurs dépassant largement les valeurs guides fixées à 1000 germes/100ml de broyat selon la directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991 (fig.35).

Des teneurs de 140000 germes / 100ml de broyat sont, toutefois, enregistrées 11 mois de l'année à Sidi Salem, 8 mois au Cap de Garde, 7 mois à Rezgui Rachid, 6 mois à H'nava et 5 mois à Aouinate.

Par ailleurs, des valeurs relativement basses sont enregistrées en février (dans l'ensemble des sites) et en décembre (dans 4 sites sur 5).

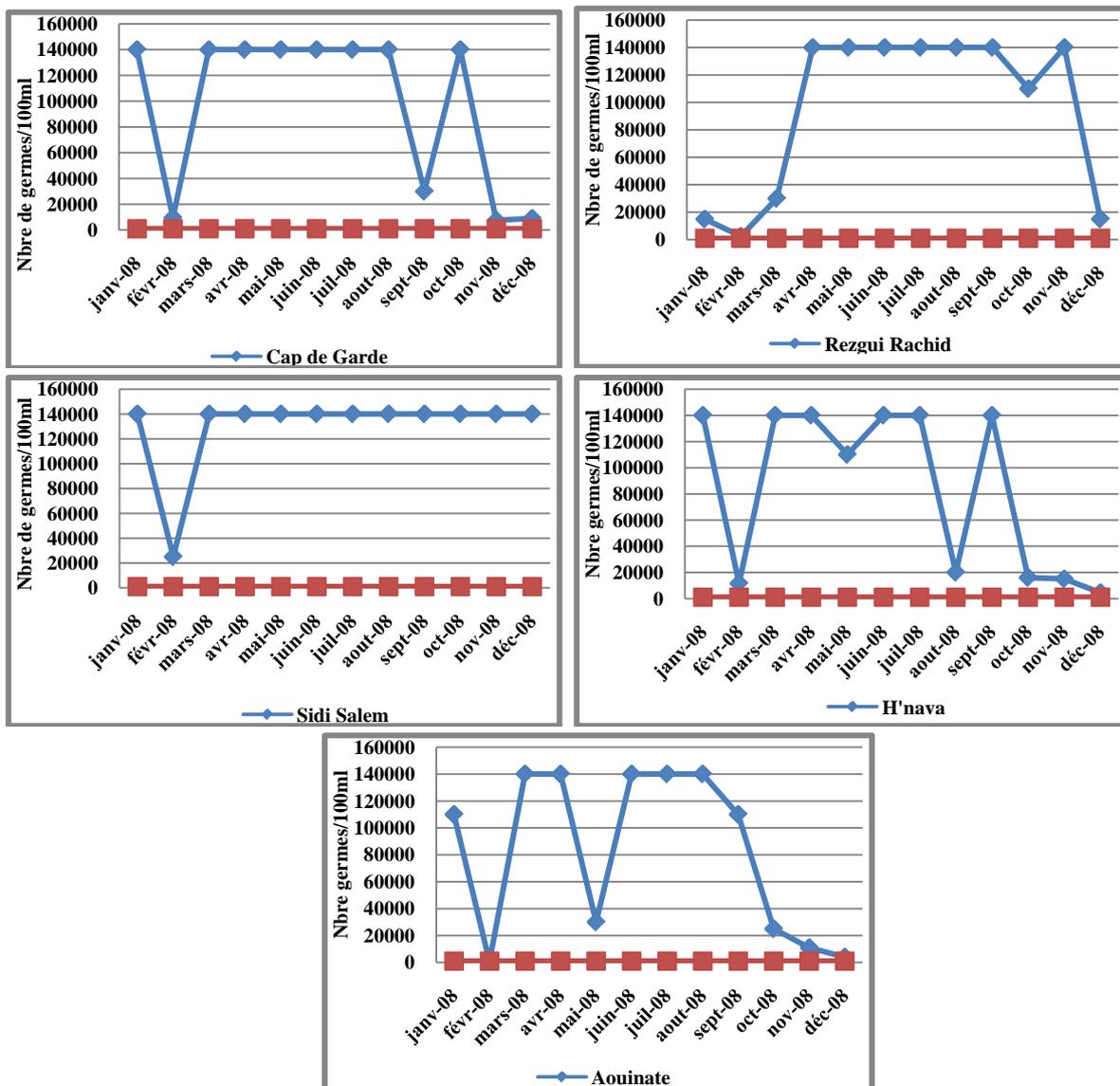


Figure 35 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes totaux relevées chez *Perna perna* (Janvier - décembre 2008).

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

Les moules du Cap de Garde hébergent des Coliformes thermotolérants, 5 mois sur 12, à des teneurs variant de 400 et 2500 germes/100ml de broyat ; ces concentrations dépassent les valeurs guides fixées à 230 germes/100ml de broyat selon l'arrêté européen du 23 mars 1993.

Au niveau de Rezgui Rachid, les moules montrent des teneurs en *E.coli* proche ou supérieures aux valeurs guides, tout au long de l'année, sauf en mars où aucun germe n'est décelé.

A Sidi Salem, les moules abritent les coliformes thermotolérants durant toute l'année et à des taux supérieures aux valeurs guides ; les teneurs les plus élevées sont toutefois relevées de juin à décembre.

Concernant H'naya, la contamination est assez marquée de février à juin, elle est illustrée par des teneurs variant de 300 à 30000 germes/100ml de broyat.

La contamination des moules de l'Aouinate par *E.coli*, se limite aux mois de janvier, mars et septembre où il est relevé respectivement 400, 700 et 2000 germes/100ml de broyat (fig.36).

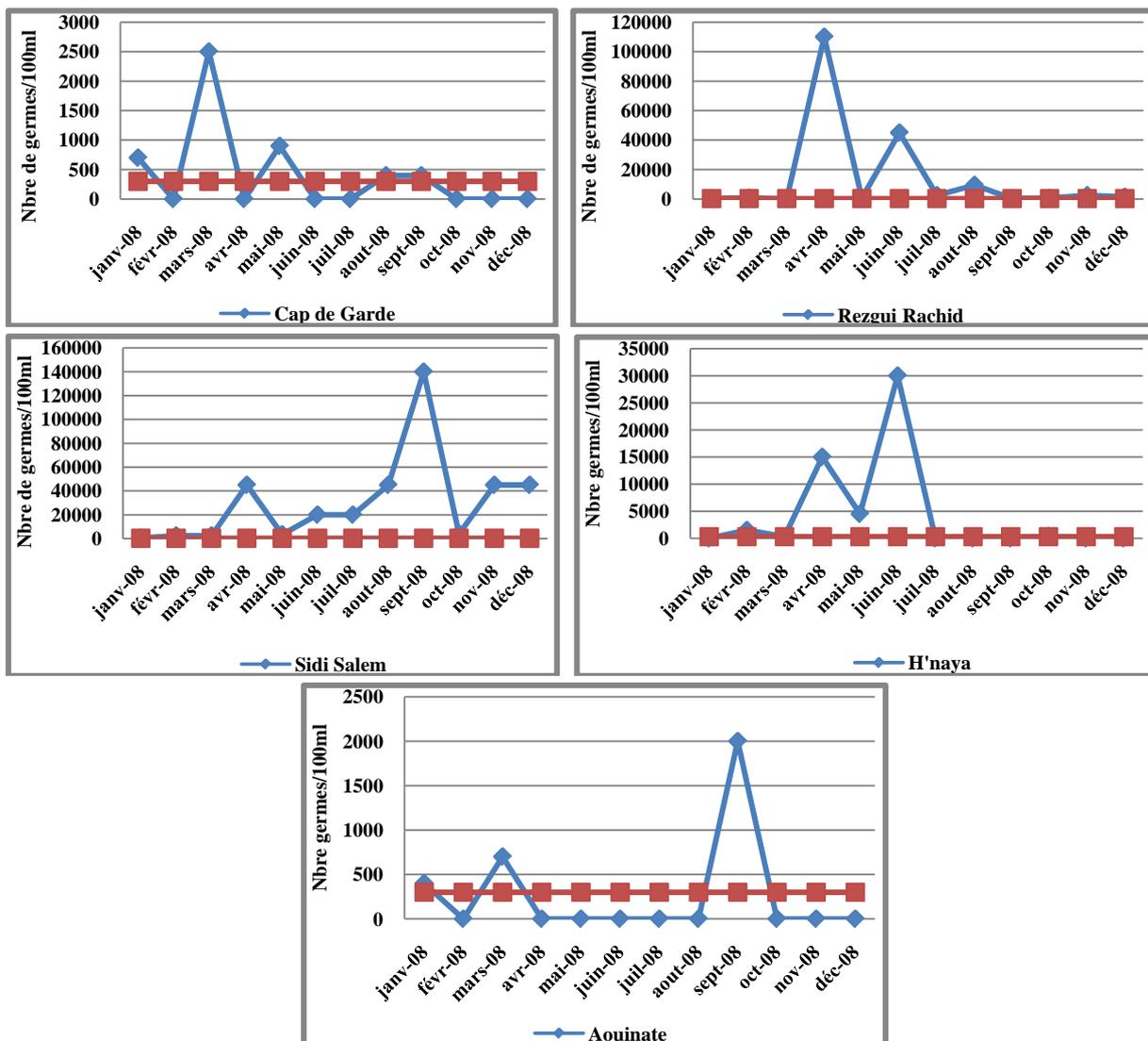


Figure 36 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Coliformes thermotolérants (*Escherichia coli*) relevées chez *Perna perna* (Janvier - décembre 2008).

3.3. Les Streptocoques totaux :

Les moules provenant de l'ensemble des sites, montrent une forte contamination par les Streptocoques totaux (fig.37), illustrée par des teneurs le plus souvent proche de 140000 germes/100 ml de broyat et dépassants largement la valeur guide admise (arrêté européen du 23 mars 1993).

Par ailleurs, nous relevons des teneurs relativement basses en janvier dans pratiquement, les 5 sites.

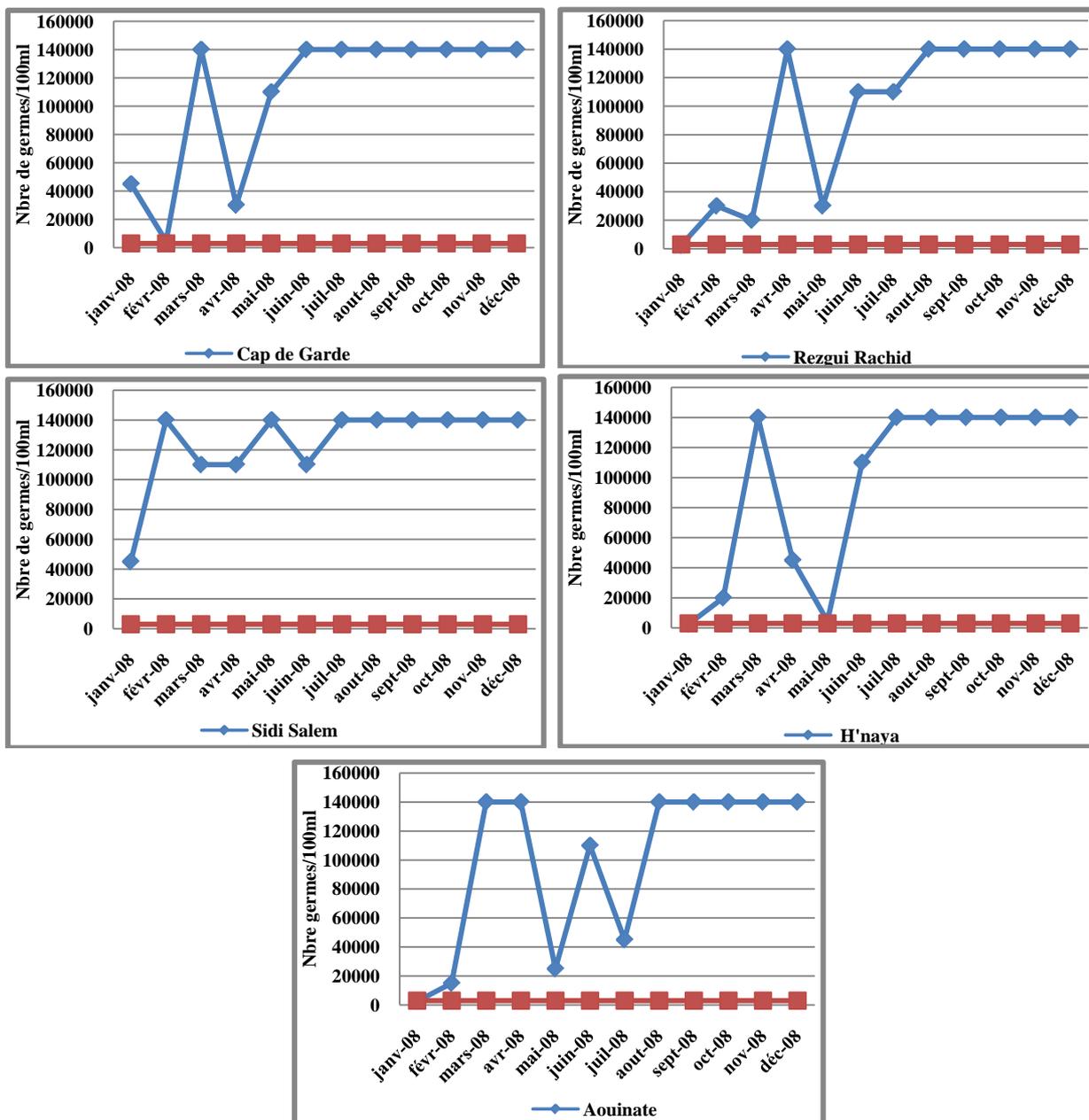


Figure 37 : Variations spatio-temporelles des teneurs en Streptocoques totaux relevées chez *Perna perna* (Janvier - décembre 2008).

4.4. Les Streptocoques fécaux :

Les moules de l'ensemble des sites, présentent une forte contamination par les Streptocoques fécaux ; les teneurs relevées, varient de 2500 à 140000 germes/100 ml de broyat durant pratiquement toute l'année.

Des valeurs relativement basses, inférieures aux valeurs guides ($2.5 \cdot 10^3$ germes /100ml de broyat selon arrêté européen du 23 mars 1993), sont enregistrées en février (600 germes/100 ml de broyat) et mai (1500 germes/100 ml de broyat), respectivement à Aouinate et H'naya (fig.38).

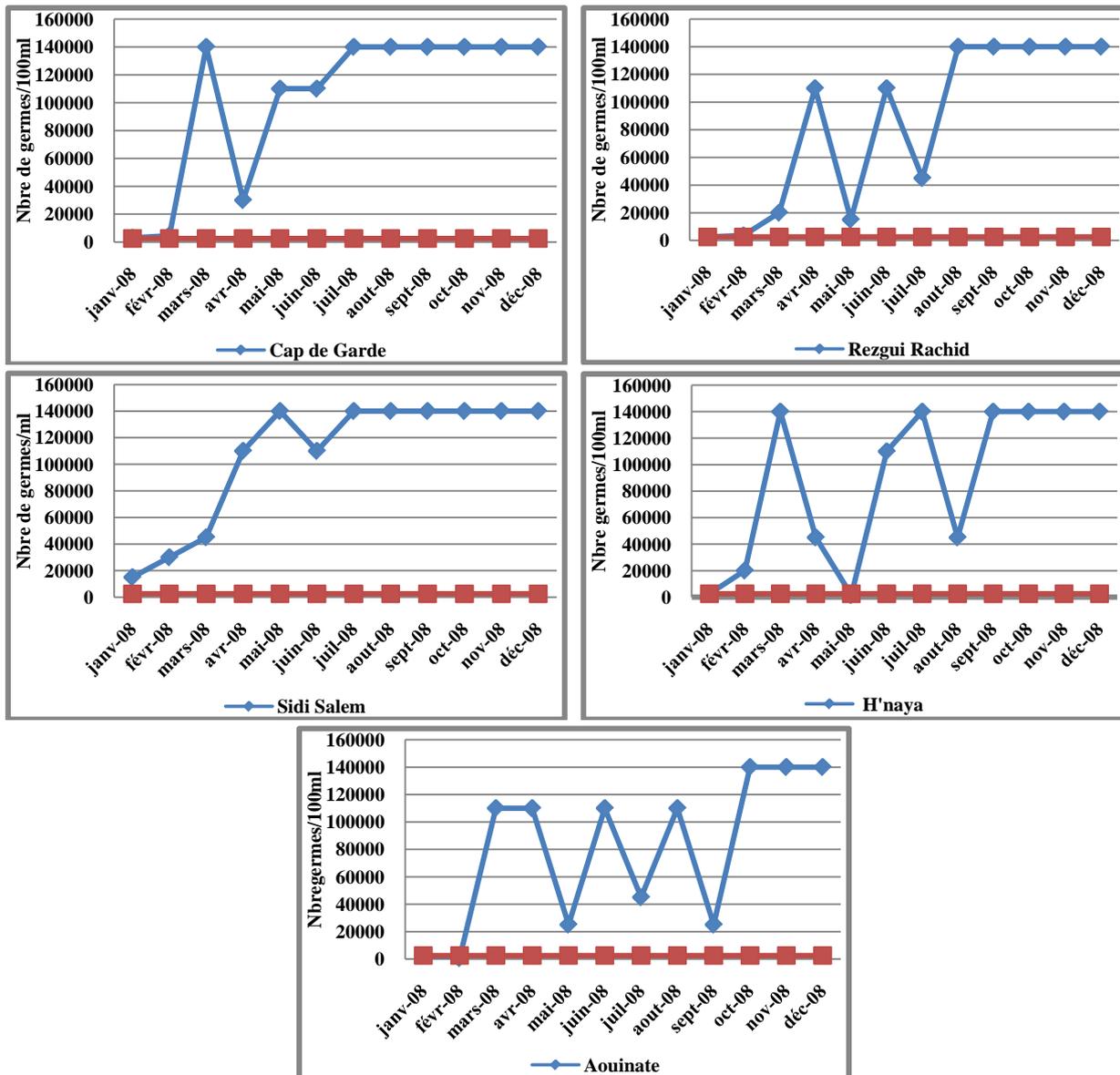


Figure 38: Variations spatio-temporelles des Streptocoques fécaux chez *Perna perna* (Janvier 2008- décembre 2008).

5. Détermination de la source probable de la contamination :

4.1. Origine de la contamination de l'eau.

Le calcul de l'indice de Bourgeois (1980), basé sur le rapport, Coliformes fécaux/Streptocoques fécaux (CF/SF), fait apparaître l'existence de contamination d'origine animale dans l'eau du Cap de Garde durant toute l'année d'étude.

Les eaux de Rezgui Rachid et Aouinate qui subissent aussi des contaminations d'origine animale, présentent respectivement, des contaminations d'origine mixte en août et humaine en avril.

A Sidi Salem la source probable de contamination serait humaine en mars, mai, juillet et septembre ; elle est mixte en juin et octobre puis animale le reste de l'année.

La contamination des eaux de H'naya aurait une origine animale (7 mois/12) et mixte (4 mois/12) ; c'est seulement en avril qu'une origine humaine de la contamination serait probable (Fig.39).

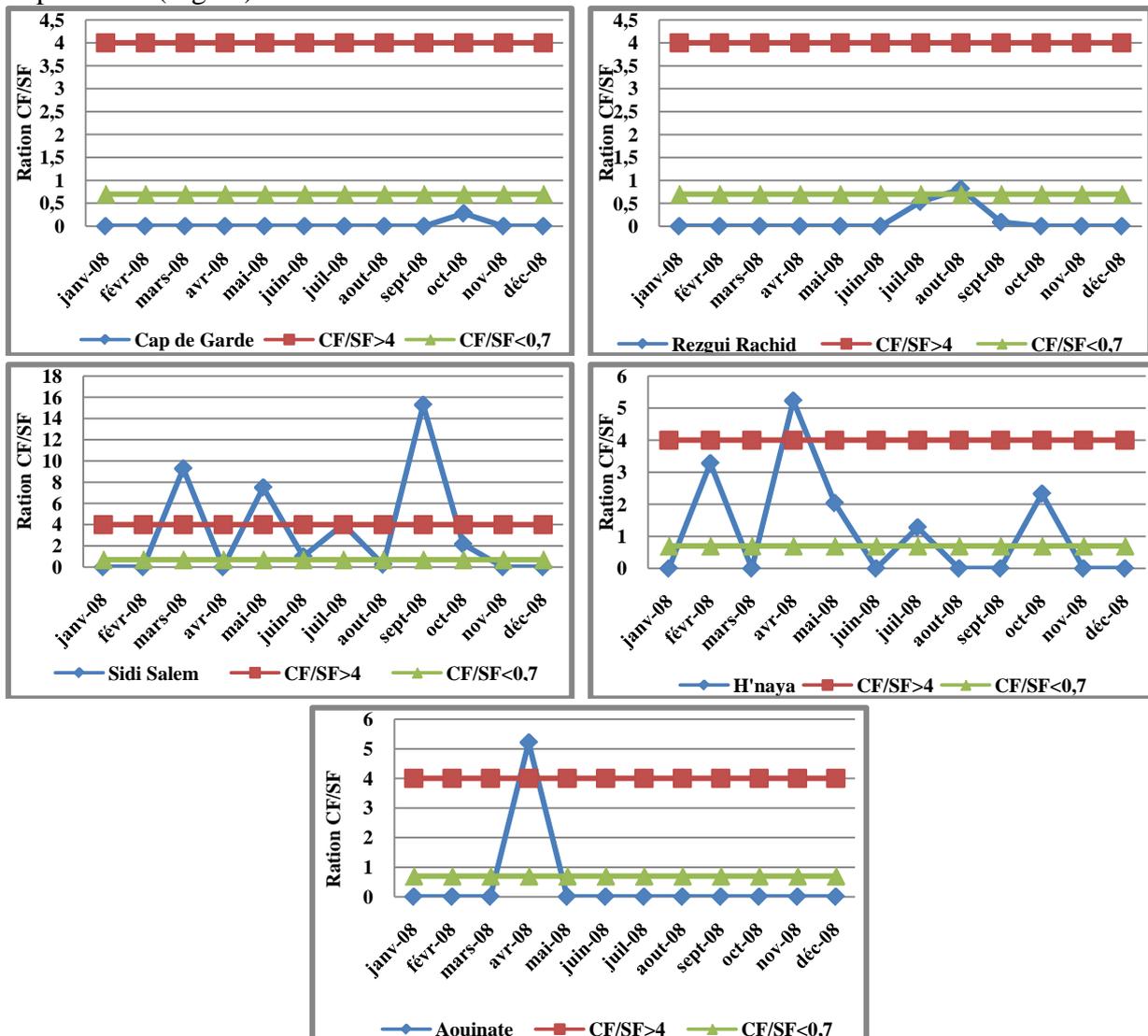


Figure 39: Variations temporelles de l'origine de la contamination de l'eau. CF/SF < 0.7=Origine animale. 0.7 < CF/SF < 1=Origine mixte. CF/SF > 4=Origine humaine Bourgeois (1980).

5. Distribution des germes pathogènes chez les moules :

Tableau 3: Résultat des tests présomptifs destinés à la recherche et l'identification des bactéries pathogènes chez les bivalves.

Bactéries	<i>Staphylocoques</i>					<i>Clostridium</i>					<i>Salmonelles</i>					<i>Pseudomonas</i>				
	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5
Prélèvements de l'année 2008																				
Janvier	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Février	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
Mars	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
Avril	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
Mai	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Juin	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Juillet	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Août	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
Septembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
Octobre	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
Novembre	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Décembre	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence de bactéries.

(+) : Présence de bactéries.

Les Résultats des tests présomptifs destinés à rechercher et à identifier les bactéries pathogènes montrent la présence de 3 germes sur 4 recherchés (tab.3).

La confirmation nécessite l'utilisation de réactifs et autres milieux spécifiques par l'emploi de galerie biochimiques classiques (Kligler, TSI, source de lumière de Wood ...etc) ou galerie API.

L'application des tests confirmatifs nous a permis de mettre en évidence la présence, seulement des *Citrobacter frundi*, des *Enterobacter* et des *Proteus vulgaris* ; Les bactéries du genre *Salmonella*, *Pseudomonas*, et *Clostridium*, semblent être absents dans les moules de l'ensemble des sites.

Quant aux *Staphylocoques*, la confirmation de leur présence n'a pas pu être effectuée en raison de l'absence de réactifs spécifiques aux tests confirmatifs (coagulase, DNase).

6. Résultats de l'analyse statistique :

Pour faciliter l'étude statistique et le déroulement des tests, nous avons procédé à une conversion des données brutes (les moyennes des contaminants) en valeurs logarithmiques via le test de rapprochement, ce dernier fait appel à l'équation suivante : $\log x + 1$ (x = moyenne des contaminants).

6.1. Modèle linéaire généralisé (GLM) :

6.1.1. Eaux.

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

En effets, on remarque une différence significative entre les sites dans la distribution des Coliformes totaux ($P=0,032^*$); alors que la différence est non significative dans la distribution d'E. coli ($P=0,110^{ns}$).

De plus, il en ressort que les paramètres physico-chimiques, ont un impact différent sur l'évolution de la contamination, ceci est révélé, d'une part par un coefficient de régression différent et d'autre part par un coefficient de détermination significatif; ainsi seul le pH présente une corrélation hautement significative sur la fréquence de la distribution des Coliformes totaux ($P=0,009^{**}$) et E. coli ($P=0,003^{**}$).

En ce qui concerne, les Streptocoques, la différence entre les sites est non significative dans la distribution des Streptocoques totaux ($P=0,231^{ns}$) et elle est significative dans la distribution des Streptocoques fécaux ($P=0,037^*$).

Quant aux paramètres physico-chimiques, le pH présente une corrélation hautement significative ($P=0,04^{**}$) sur la fréquence de la distribution des Streptocoques fécaux ; par contre, sa corrélation est non significative ($P=0,063^{ns}$) par rapport aux Streptocoques totaux, en plus du pH, on remarque qu'il existe également une corrélation significative avec la salinité ($P=0,041^*$).

6.1.2. Moules.

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

En effets, on remarque une différence très hautement significative entre les sites dans la distribution d'E.coli ($P < 0,001$), par rapport aux coliformes totaux où la différence est non significative ($P = 0,685^{ns}$).

Les paramètres physico-chimiques, ont également, un impact différent sur l'évolution de la contamination, ainsi la température, la salinité et l'oxygène dissous présente une corrélation significative sur la fréquence de la distribution d'E. coli dans les différents sites, par contre, seule la température présente une corrélation très hautement significative sur la fréquence de distribution des Coliformes totaux ($P=0,001^{***}$).

Quant aux Streptocoques totaux et fécaux, la différence entre les sites est non significative dans leur distribution ; concernant, les paramètres physico-chimiques, l'oxygène dissous, présente une corrélation significative sur la fréquence de la distribution des Streptocoques totaux ($P=0,022^*$) et une corrélation hautement significative sur la fréquence de la distribution des Streptocoques fécaux ($P=0,008^{**}$) dans les sites, ces derniers, présentent également une corrélation non significative avec température ($P=0,093^{ns}$).

6.2. Test de l'analyse des moyennes.

6.2.1. Eaux.

Les résultats obtenus après application du test de l'analyse des moyennes, montrent que les eaux des sites, Sidi Salem et Rezgui Rachid sont les plus polluées des 5, du fait de la forte concentration des coliformes totaux et E. coli qui dépasse la limite de l'intervalle de confiance supérieure, observée à Sidi Salem (fig.40 a et b) ; et la concentration importante des Streptocoques fécaux qui se rapproche de la limite de l'intervalle de confiance supérieure, observée à Rezgui Rachid (fig.40d).

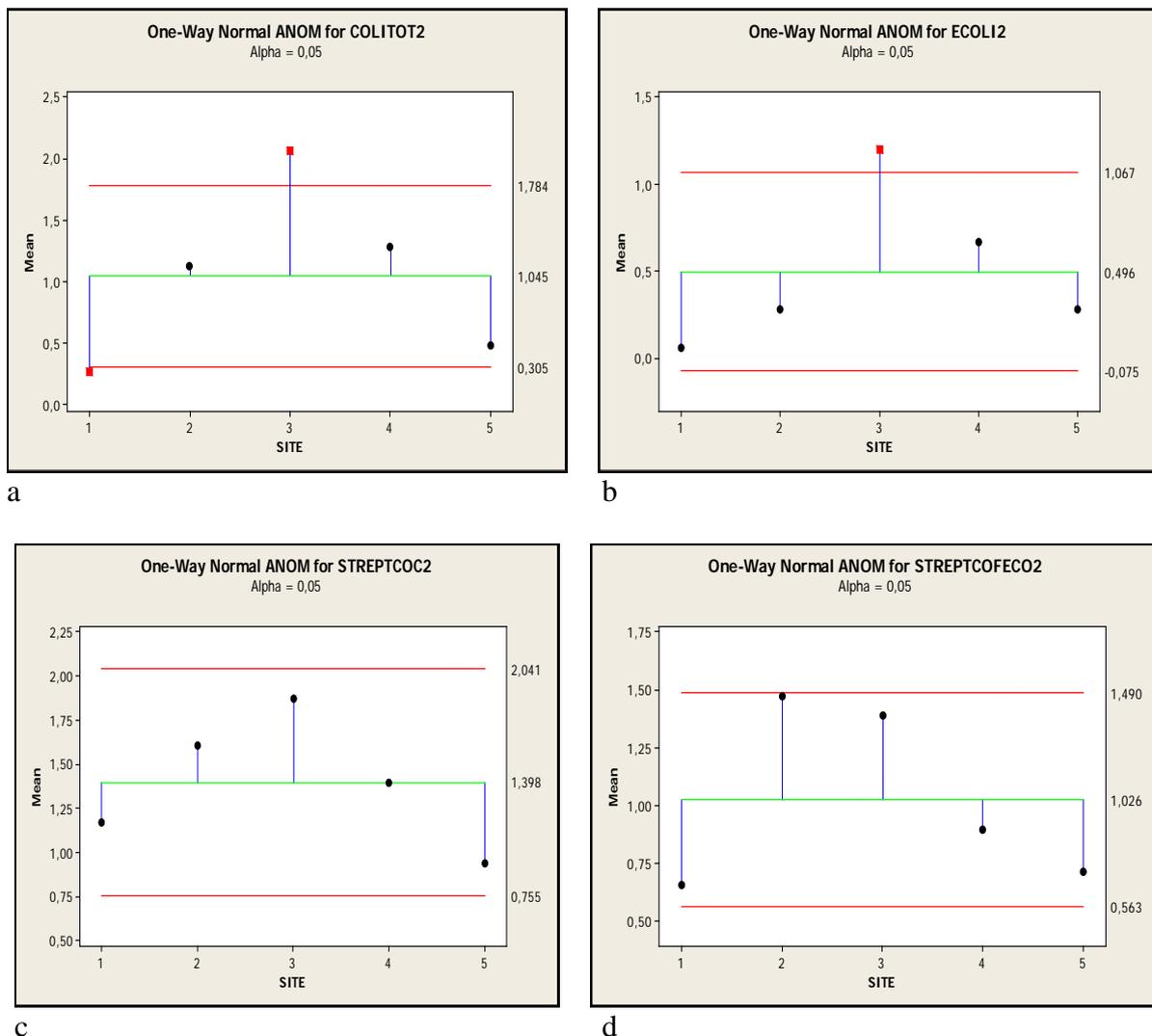


Figure 40: Calcul de l'intervalle de confiance des Coliformes et des Streptocoques de l'eau.

6.2.2. Moules.

Les résultats du test de l'analyse des moyennes, montrent clairement que les moules peuplant les sites Sidi Salem sont les plus contaminées des 5 Sites, du fait de la forte concentration des contaminants qui se rapprochent (fig.40a,c et d) ou dépassent la limite de

l'intervalle de confiance supérieure (fig.41b), aux quelles s'ajoutent, les moules de Rezgui Rachid dont la concentration d'E.coli dépasse la limite de l'intervalle de confiance supérieure (fig.41d).

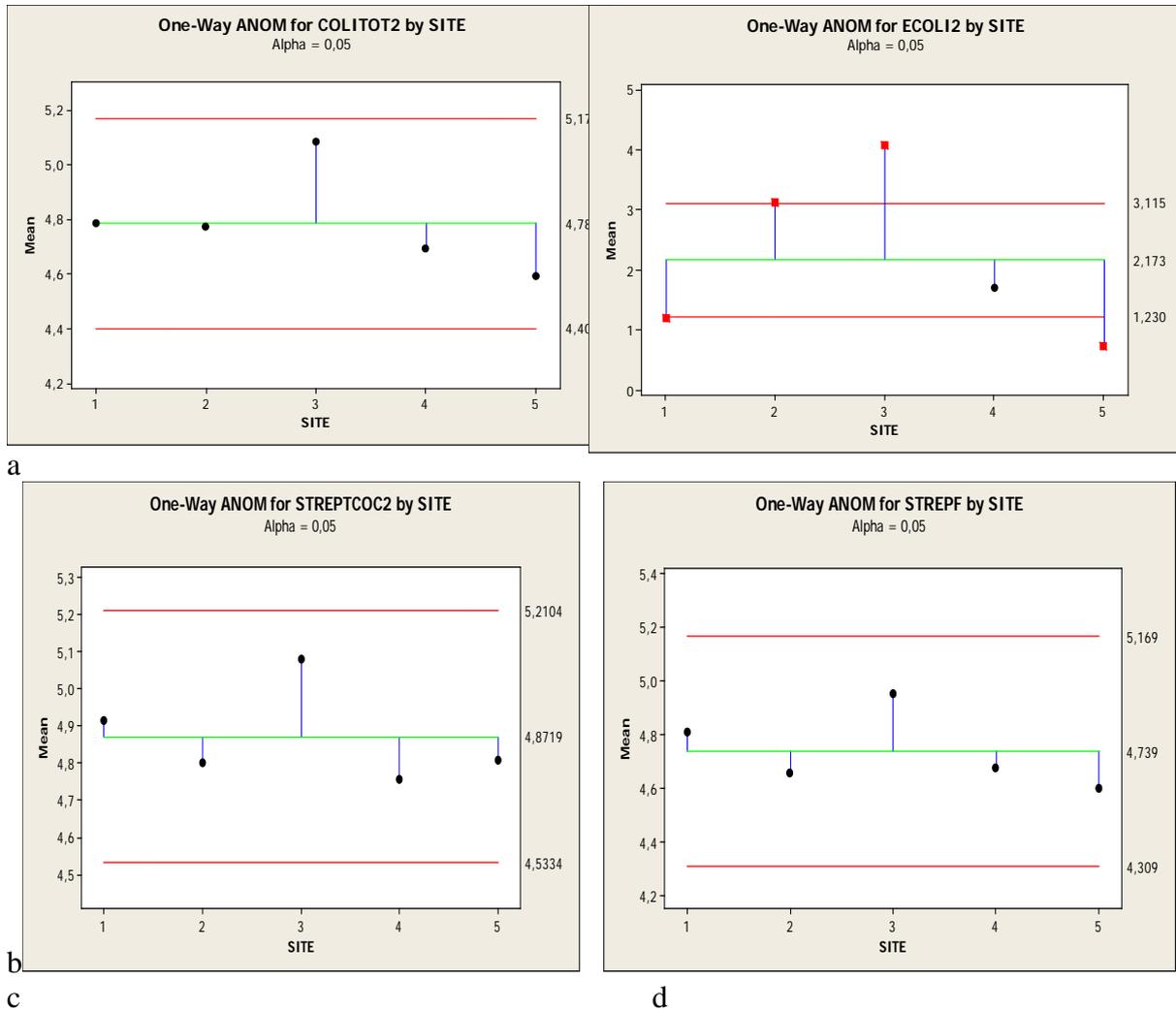


Figure 41: Calcul de l'intervalle de confiance des Coliformes et des Streptocoques des moules

6.3. Analyse des composantes principales (ACP) :

6.3.1. Eaux.

➤ Plan F1×F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation) - Eaux.

La structure des variables définit sur le plan de l'ACP, exprime l'augmentation de l'abondance des 4 contaminants (CF, E. coli, ST et SF) en fonction des covariants du milieu (Température, salinité, oxygène dissous, pH et matières en suspensions) ; ainsi, les résultats montrent l'existence d'une corrélation positive entre les contaminants et les paramètres (salinité et MES) ; en revanche la corrélation est négative avec le pH et l'oxygène dissous (fig.42).

De ce faite, nous pouvons admettre que l'augmentation de la salinité et le MES ainsi que la

diminution du pH et l'oxygène dissous, favorisent la prolifération bactérienne dans l'eau.

NB : L'axe F1 exprime une combinaison linéaire des variables représentant l'abondance des contaminants et définit ainsi le premier gradient qui contrôle la dispersion du nuage de point de la matrice d'étude.

L'axe F2 représente une combinaison des variables caractérisant l'aspect physico-chimique et définit ainsi le deuxième gradient expliquant l'inertie du nuage de point de la matrice d'étude.

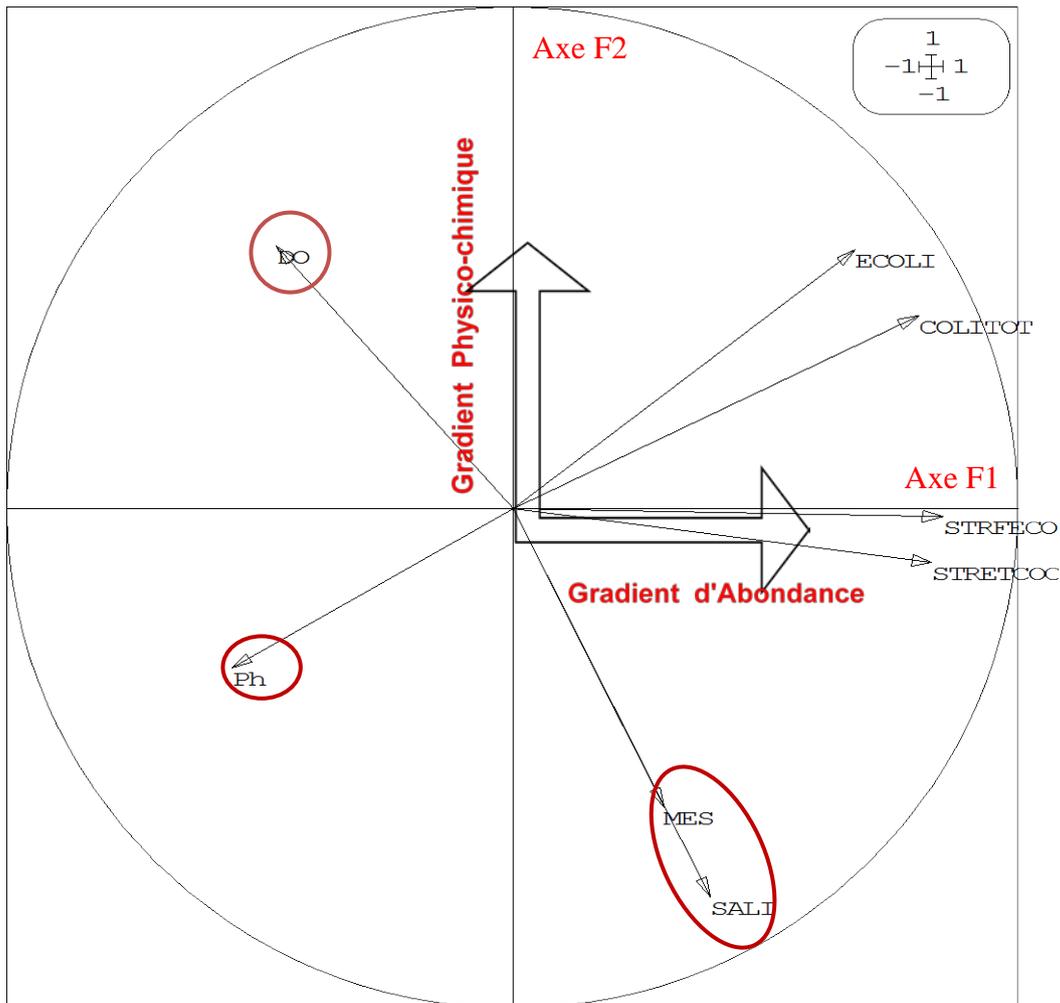


Figure 42 : Plan F1x F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation) - Eaux.

➤ **Plan F1x F2 de l'ACP relevés (sites)-Eaux**

D'une manière générale l'ordination représenté sur le plan de l'ACP des sites est expliqué par les gradients définis par le cercle de corrélation (plan variable).

De ce fait, le plan F1xF2 relevés des sites (fig. 43), représente une double ordination des sites suivant les deux axes :

- Axe F1, selon l'abondance des contaminants, l'ordination est la suivante : Cap de Garde (site1) < Aouinate (site5) < H'naya (site4) < Rezgui Rachid (site2) < Sidi Salem (site3).
- Axe F2, selon l'aspect physico-chimique, l'ordination est la suivante : Aouinate (site5) < Cap de Garde (site1) < Rezgui Rachid (site2) < H'naya (site4) < Sidi Salem (site3).

La classification des sites sur l'axe1 de l'ACP relevés est expliqué par le gradient d'abondance défini sur l'axe1 de l'ACP variable.

Quant à la classification des sites sur l'axe 2 de l'ACP relevés est expliquée par le gradient physico-chimique, représenté principalement par la variable pH (seule variable corrélée d'une manière linéaire aux variables abondances).

Les résultats, admettent que les paramètres physico-chimiques sont des facteurs déterminants et jouent un rôle important dans la répartition des différents contaminants dans les eaux des 5 sites, de ce fait, nous pouvons constater que l'abondance des contaminants par rapport aux facteurs physico-chimiques est plus significative au niveau des sites Sidi Salem et Rezgui Rachid en comparaison aux sites Cap de Garde, H'naya et Aouinate.

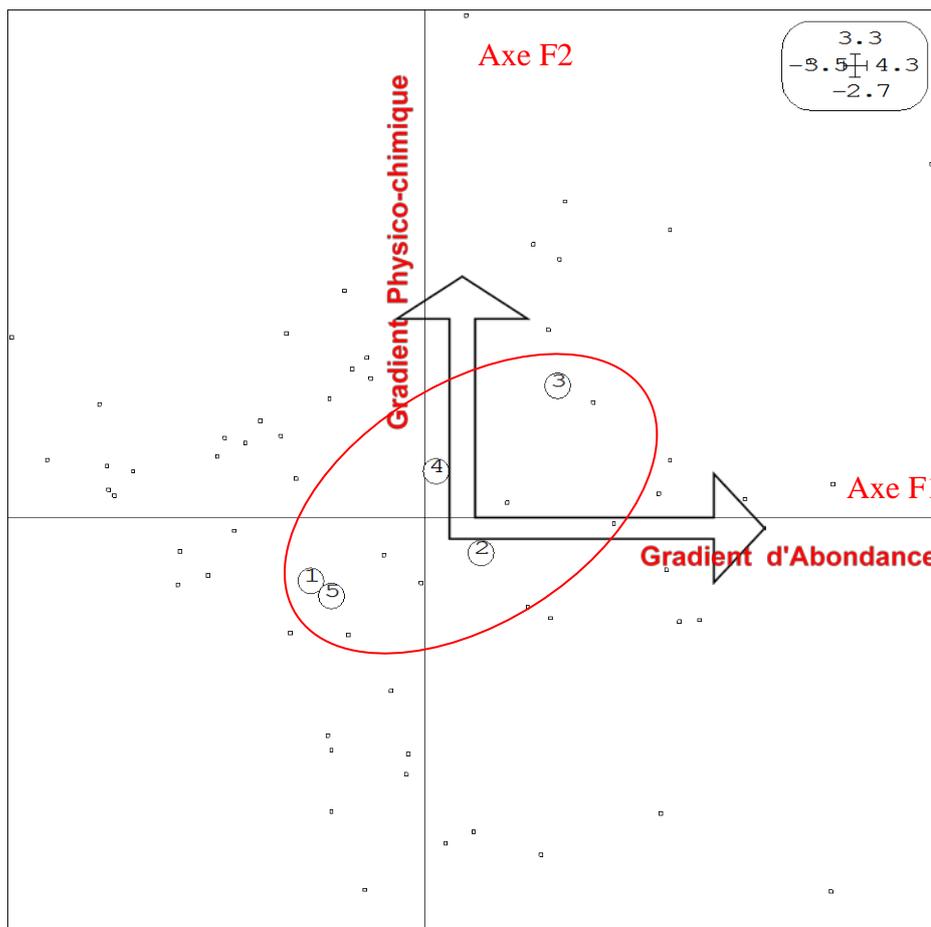


Figure 43 : Plan F1xF2 de l'ACP relevés (sites)-Eaux

6.3.2.Moules.

➤ Plan F1×F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation)- Moules.

La structure des variables définit sur le plan F1×F2 de l'ACP (variables), exprime l'augmentation de l'abondance des 4 contaminants (CF, E.coli, STet SF), corrélée positivement avec la température, la salinité et les MES; en revanche, elle est corrélée négativement avec le pH et l'O₂ dissous (fig.44).

De ce faite, nous pouvons admettre que l'augmentation de la température, la salinité et le MES ainsi que la diminution du pH et l'oxygène dissous, favorisent la prolifération bactérienne dans les moules peuplant les 5 sites d'études.

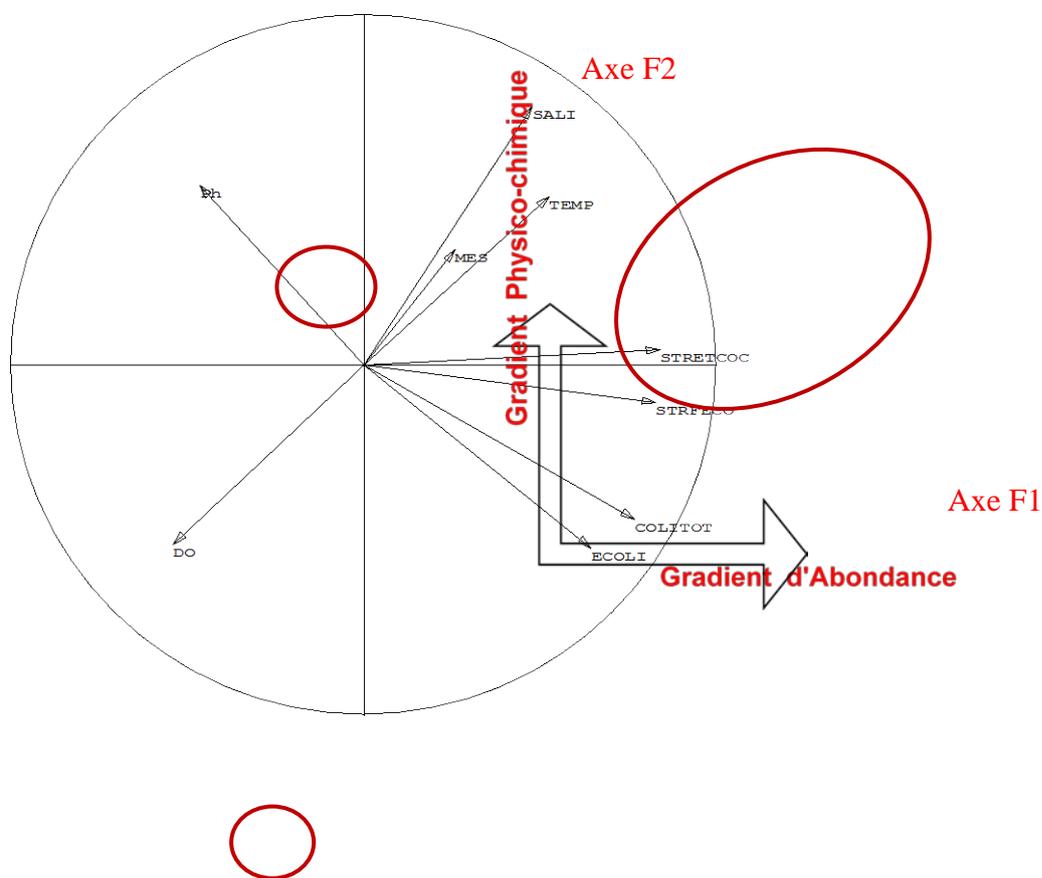


Figure 44 : Plan F1×F2 de l'ACP variable (cercle de corrélation)- Moules.

➤ **Plan F1xF2 de l'ACP relevés (sites)-Moules.**

Le plan F1xF2 relevés (fig. 45), représente une double ordination des sites suivant les deux axes :

- Axe F1, selon l'abondance des contaminants, l'ordination est la suivante: Cap de Garde (site1) < Aouinate (site5) < H'naya (site4) < Rezgui Rachid (site2) < Sidi Salem (site3).
- Axe F2, selon l'aspect physico-chimique, l'ordination est la suivante: Sidi Salem (site3) < H'naya (site4) < Rezgui Rachid (site2) < Aouinate (site5) < Cap de Garde (site1).

La classification des sites sur l'axe1 de l'ACP relevés est expliqué par le gradient d'abondance défini sur l'axe1 de l'ACP variable.

Alors que la classification des sites sur l'axe 2 de l'ACP relève est expliquée par le gradient physico-chimique représenté principalement, tout comme dans l'analyse de l'eau, par la variable pH (seul variable corrélée d'une manière linéaire aux variables abondances).

Ceci confirme donc, l'impact des facteurs physico-chimiques sur la répartition des différents contaminants dans les eaux des 5 sites, ainsi leur implication est beaucoup plus significative au niveau des sites Sidi Salem et Rezgui Rachid en comparaison aux Cap de Garde, H'naya et Aouinate.

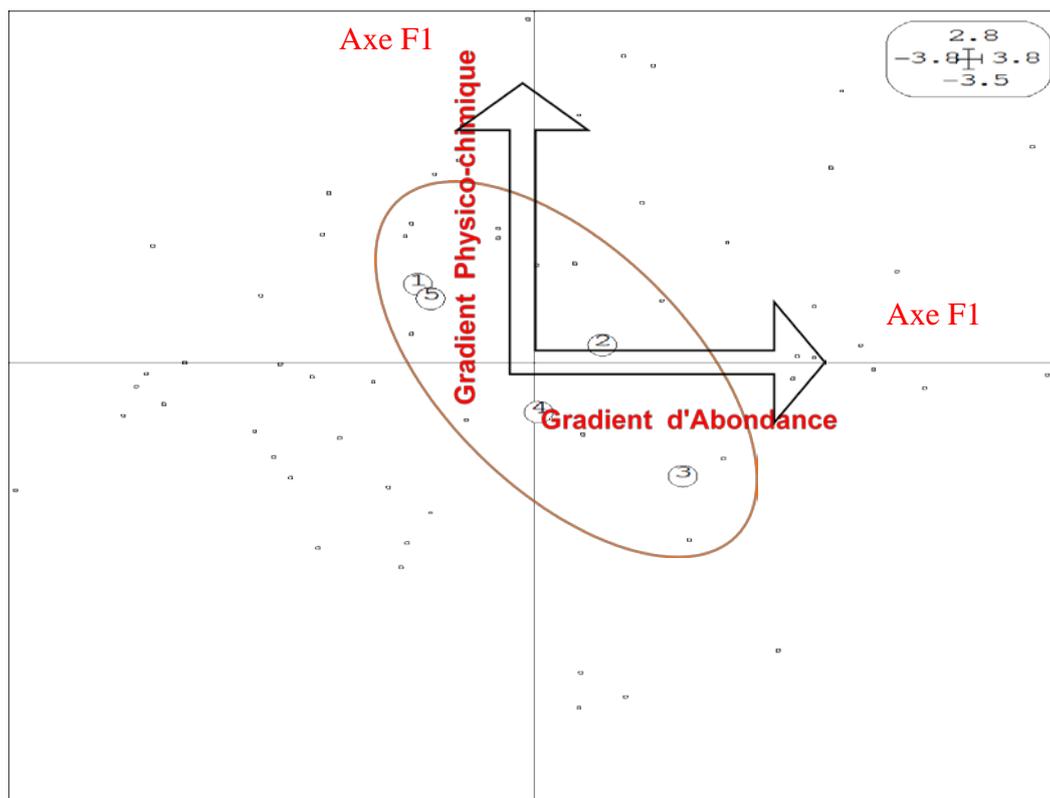


Figure 45: Plan F1xF2 de l'ACP relevés (sites)-Moules.

Discussion

Notre étude nous a permis d'évaluer la qualité du milieu marin le long du littoral Nord-Est algérien, par la caractérisation des propriétés physico-chimiques et bactériologiques de ses eaux superficielles et la mise en évidence de l'action anthropique.

❖ Paramètres physico-chimiques.

La mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau, montre que la température, la salinité, l'oxygène dissous, le pH et les matières en suspensions présentent des fluctuations saisonnières.

Les valeurs thermiques des eaux affichent des variations similaires dans l'ensemble des sites de prélèvement et montrent l'existence d'un cycle saisonnier. La température maximale rencontrée est de 28 °C en juillet et Août 2008, au niveau du Cap de Garde et Sidi Salem, alors que la plus basse, 12,5 °C, est relevée en février dans les eaux du Cap de Garde et Rezgui Rachid. Selon Farhi (1995), la température de l'eau du golfe d'Annaba, varie entre 16° C, l'hiver et 28,8°C, l'été, avec une amplitude de 12.8°C. Les fluctuations de ce paramètre abiotique sont en relation avec les conditions climatiques locales et plus particulièrement avec la température de l'air Semroud (1983).

Concernant la salinité, les fluctuations observées sont en relation avec les conditions climatiques, telles l'évaporation liée aux fortes températures estivales et les précipitations. La plus faible valeur (36.5 g/l) est mesurée au niveau de l'Aouinate en janvier et la plus forte (41.8 g/l) au Cap de Garde en septembre et (41.3g/l) à Aouinate en août. Ces chiffres montrent que les eaux côtières d'Annaba sont moins salées en période hivernale.

Des résultats similaires, ont été évoqués par Semroud (1983) ; De Casabianca-Chassany *et al.*,(1991); en effet, ces derniers estiment que le régime de la salinité est régi par celui des précipitations, d'où l'importance de ces dernières dans la régulation de la salinité.

Les relevés des teneurs en oxygène dissous mettent en évidence l'existence de fortes teneurs en oxygène, en période hivernale et printanière avec 11.79 à Aouinate et 11 mg/l à H'naya, et des teneurs basses en période estivale, atteignant 1.9 mg/l au mois d'août au Cap de Garde et H'naya. Ces variations sont directement liées aux variations saisonnières de la température de l'eau qui conditionnent le processus de solubilité de l'oxygène.

L'augmentation du taux d'oxygène dissous dans l'eau en période hivernale et printanière résulte de la baisse de la température et de la salinité de l'eau, ainsi que les facteurs mécaniques (agitation par le vent) qui représentent le principal facteur de brassage des eaux (Millet, 1989 ; Belaud, 1996 ; Schlumgerger, 2002). La confirmation est apportée par Bricker *et al.* (1999), qui conclut que la baisse de la température de l'eau, l'augmentation de l'interface air-eau et le brassage engendré par l'hydrodynamisme important en période hivernale, sont à l'origine d'une meilleure oxygénation de l'eau.

La baisse du taux d'oxygène dissous relevées en période estivale serait, en revanche, liée non seulement à la forte élévation de la température et la salinité mais aussi à la respiration des organismes aquatiques vivants (faune, flore immergée) et au calme hydrodynamique, qui empêche le brassage de l'eau (Lacaze, 1996). A cela s'ajoute la dégradation bactérienne des débris qui consomment énormément d'oxygène, à raison de 1 g d'O₂/Kg de matière sèche (Belaud, 1996).

En France, Beaupoil et Bornes (1997) ont fixés, après une étude concernant l'effet des hypoxies sur la faune, les seuils en oxygène dissous dans les estuaires bretons, comme suite: supérieurs à 5mg/l (qualité excellente à acceptable), de 3 à 5 mg/l (qualité moyenne à médiocre), de 2 à 3mg/l (qualité mauvaise à très mauvaise), de 1 à 2 mg/l (hors classe niveau 1), inférieur à 1 mg/l (hors classe

niveau 2). Ce qui nous permet de dire que, durant la période d'étude, les eaux du littoral Nord- Est algérien, présentent une qualité excellente à acceptable (les teneurs en oxygène dissous dépassant 5 mg/l) sauf en été où une baisse de la teneur est enregistrée (en dessous de 5 mg/l).

En ce qui concerne le pH des eaux des 5 sites, il est légèrement alcalin ; il oscille entre 7,6 au mois de mai à H'naya et 8.75 au mois de juin au Cap de Garde ; selon Barnabe (1991), les eaux côtières méditerranéennes ont un pH qui varie entre 7.9 et 8.3. La tendance basique du pH est rencontrée dans toutes les eaux, elle peut être expliquée par les rejets industriels, les rejets urbains et les apports des Oueds Bedjimâa et Seybouse.

Quant aux matières en suspensions (MES), les valeurs les plus basses sont enregistrées en juin avec 0.151mg/l à Rézgui Rachid et 0.153mg/l à Sidi Salem. Les valeurs les plus élevées, sont observées en automne et au début de l'hiver, avec 0.323 mg/l à Rezgui Rachid et 0.329 mg/l à H'naya.

Les fluctuations de ce paramètre, sont en relation avec les conditions climatiques et plus particulièrement les précipitations abondantes, qui sont à l'origine des apports allochtones (Dakki, 2003).

❖ Analyses bactériologiques des eaux.

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

Nos résultats montrent que les Coliformes totaux, enregistrent un pic de 460 germes/100ml d'eau en période estivale au niveau de Rezgui Rachid, cette forte contamination serait probablement dû à la forte affluence des estivants ; nous notons, toutefois qu'il ne dépasse pas le seuil toléré, fixé à 500 germes/100ml.

Des pics de 1100 et de 2400 germes/100ml d'eau sont observés au niveau de Sidi Salem (en mai et septembre), H'naya (en avril et juillet) et Aouinate (avril), dépassant largement le seuil toléré, la présence de ces pics peut s'expliquerait par le phénomène de lessivage des sols par les pluies (Lebaron *et al.*, 1990).

En ce qui concerne, les concentrations des Coliformes thermotolérants (*E. coli*), elles sont moins importantes et restent relativement basses dans les eaux du Cap de Garde et de Rezgui Rachid ; quant aux fortes concentrations d'*E. coli*, elles sont enregistrées en avril à H'naya et Aouinate, et en mai et septembre à Sidi Salem (dépassent largement les valeurs guides, fixée à 100germes /100ml), traduisent ainsi une contamination récente (Rodier, 1996 ; CCME, 2002) qui peut être expliquée par le rejet continu des eaux usées et les conditions climatiques favorables à la survie et à la prolifération de ces bactéries.

Les résultats des dénombrements des Streptocoques montrent que les teneurs en streptocoques totaux sont élevés en période automnale au Cap de Garde, Rezgui Rachid, Sidi Salem et H'naya et en période printanière à Aouinate. Ces teneurs élevés font suite au lessivage par les eaux de ruissellements des zones agricoles où d'importantes précipitations ont été enregistrées au cours de la période précédant nos prélèvements (voir tab.19) ; au

niveau du site Aouinate, le taux élevé de ces indicateurs de contamination, s'expliquerait aussi par la présence d'animaux domestiques aux abords de la plage.

Les Streptocoques fécaux, montrent des pics à Rezgui Rachid et à Sidi Salem en période automnale, qui seraient la conséquence d'un lessivage des sols par les pluies, en plus de la proximité de ces sites, des rejets urbains et industriels charriés par les oueds, Seybouse et Bedjimâa. Les pics observés à H'naya et Aouinate en période printanière (avril) seraient probablement dus aux activités de pêche et d'élevage pratiquées au niveau de ces sites, et peuvent être relatives à des contaminations anciennes ; en effet, d'après Gleeson et Gray (1997), comparativement aux Coliformes (incluant *E. coli*), les Streptocoques sont plus résistants aux conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau.

En référence aux normes de la qualité de l'eau édictées par la directive européenne (Voir tab. 13 et tab.14) qui limite les seuils à 10^2 *E. coli* /100ml pour les eaux de baignade et $2.3 \cdot 10^2$ *E.coli* /100ml pour les eaux conchylicoles, il s'avère que les eaux du Cap de Garde et Rezgui Rachid sont de bonne qualité bactériologique et celles de H'naya et Aouinate, de qualité bactériologique acceptable; quant à la baignade, elle peut-être autorisée dans les 4 sites. Concernant, les eaux de Sidi Salem, elles se situent dans la catégorie D, et sont de ce fait de mauvaises qualités car elles sont très fréquemment polluées. Nous remarquons, par ailleurs que selon les mêmes normes, les eaux du Cap de Garde constituent le meilleur site d'activités conchylicoles, du fait de l'absence de contamination bactériologique de ses eaux liée à son éloignement des principales sources de contaminations.

D'après le calcul de l'indice de Bourgeois (1980), basé sur le rapport Coliformes fécaux/Streptocoques fécaux (CF/SF), la source probable de la contamination de l'eau est principalement d'origine animale ; en effet, ces zones sont régulièrement fréquentées par les animaux domestiques et de pâturages, surtout au niveau de la région de H'naya et Aouinate ; au niveau de Sidi Salem, les rejets émanant des abattoirs situés à proximité de la plage, expliqueraient aussi ces résultats. D'après Bitton, 1999 ; Clausen *et al.*, 1977 ; Farow *et al.*, 1984) les Streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer les eaux sont typiques des déjections animales (*S.bovis* ; *S. equinus*) ; Ces espèces colonisent le bétail, les chevaux et les volailles bien qu'elles peuvent, parfois, être présentes chez l'humain (Devriese *et al.* , 1998 ;Ruoff *et al.*,1989). Les contaminations humaine et mixte décelées à Rezgui Rachid, Aouinate et H'naya, auraient pour origine, les rejets domestiques des riverains et des estivants en été, quant à Sidi Salem, elles s'expliqueraient par la présence des agglomérations aux alentours et des rejets charriés par les Oueds Bedjimâa et Seybouse.

❖ Analyses bactériologiques des moules.

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

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

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

En référence aux normes de salubrité des fruits de mer, édictées par la communauté européenne en 1991 (tab.4), les bivalves peuplant les sites d'études, seraient impropres à la consommation directe, du fait que les taux de contamination mesurés sont nettement supérieurs aux valeurs européennes, préconisant moins de 230 *E.coli* / 100 g de chair et de liquide intervalvaire).

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

Tableau 4 : Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production (Communauté Européenne, 1991).

<i>E.coli</i> (E.C)/ 100g de chair et de liquide intervalvaire	Zones	Exploitation	Exploitation
Seuils microbiologiques	Classement	Elevage	Pêche professionnelle, gisement naturel
Au moins 90% des résultats <230 E.C. Aucun >1000 E.C.	A	Autorisé pour une consommation directe	Autorisé pour une consommation directe
Au moins 90% des résultats <4600 E.C. Aucun >4600 E.C.	B	Autorisé à être consommé après reparcage ou purification.	Autorisé mais après reparcage ou purification nécessaire avant commercialisation
Au moins 90% des résultats <46000 E.C. Aucun >46000 E.C.	C	Autorisé à la consommation après reparcage (sur une longue période) ou après purification intensive.	Autorisé à la consommation après reparcage (sur une longue période) ou après purification intensive
Au moins 90% des résultats >46000 E.C.	D	Impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.	Impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.

Par ailleurs, on ne signale aucune présence de germes pathogènes.

Conclusion

Il ressort de cette étude que :

- Les eaux du littoral Nord-Est algérien, semblent profiter d'une meilleure oxygénation en période hivernale et printanière.
- Les températures les plus élevées sont enregistrées en période estivale dans l'ensemble des stations.
- Le pH est alcalin et les écarts entre stations ne sont pas très élevés.
- La salinité est importante en période estivale et automnale.
- Les MES sont élevées en période automnale.
- La contamination fécale est généralement importante et dépasse les normes édictées par la directive européenne en E. coli.
- Le site Sidi Salem, représente la partie du Golfe, la plus contaminée du fait de sa proximité aux divers effluents tels que l'oued Bedjimâa, l'oued Seybouse et les rejets urbains.
- L'impact de cette forte anthropisation classe les eaux et les moules de Sidi Salem respectivement dans la catégorie D (eau de mauvaise qualité et trop fréquemment polluée) et dans la zone D (impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine).

En perspectives, il serait judicieux de :

- Procéder à un suivi régulier des paramètres physico-chimiques et bactériologiques des affluents qui sont à l'origine d'importantes charges microbiennes; et qui se rapportent aux activités anthropiques.
- Prévoir, en agglomération, un traitement systématique des rejets par la mise en place de stations d'épurations des eaux et en zone rurale, l'utilisation de fosse septique.
- De mettre en place une réglementation nationale qui interdit tout rejet d'effluents non traités.
- Maintenir la couverture végétale pour ralentir le lessivage qui favorise la contamination de l'eau.
- D'assurer un contrôle bactériologique rigoureux et régulier des fruits de mer.
- Mettre en place des bassins de reparcage ou de purification.

Annexes

Annexe 1.

❖ La pollution.

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

On peut distinguer deux grandes formes de pollution :

- Les pollutions ponctuelles, souvent relativement immédiates, qui proviennent de sources bien identifiées (rejets domestiques ou industriels par égouts, effluents d'élevage ...) et peuvent être traitées par des stations d'épuration.
- Les pollutions diffuses, comme celles dues aux épandages de pesticides et d'engrais sur les terres agricoles, qui concernent l'ensemble d'un bassin versant, Elles mettent plus de temps à atteindre les milieux aquatiques et ne peuvent être traitées qu'à la source en diminuant l'usage des substances responsables.

Ces pollutions peuvent être permanentes (rejets domestiques d'une grande ville, par exemples), périodiques (augmentation saisonnières des rejets liées au tourisme, aux crues ...), ou encore accidentelles ou aiguës, à la suite du déversement intempestif de produits toxiques d'origine industrielle ou agricole, ou du lessivage des sols suite a de fortes pluies (Anonyme.2005).

1. Les principaux types de pollution marine.

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

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

○ Classification selon MARPOL.

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

- rejets huileux particuliers aux pétroliers

- rejets huileux communs à tous les navires
- rejets non huileux communs.

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

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

- o **Classification selon l'origine.**

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

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

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

- o **Classification selon le type.**

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

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

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

2. La contamination microbienne:

C'est la pollution biologique du milieu marin, caractérisée par la présence de microorganismes dans l'eau qui servent généralement de nourriture à de nombreux organismes marins ; favorisant la fixation d'algues ou de larves sur certains substrats, permettant également la dégradation de certains polluants ; cependant , elle est considérée comme dangereuse, si les agents présents sont pathogènes (tab.5) ; elle peut entraîner la propagation de certaines maladies infectieuses, ce qui limite la pratique d'activités récréatives (baignade) et la pêche notamment des mollusques bivalves. De plus, elle est souvent ponctuelle, par conséquent se prête difficilement à une identification précise. (Vaillant, 1973).

Tableau 5 : Principaux agents pathogènes pour les animaux à sang chaud et pour l'homme, fréquents dans les eaux polluées (Creteur, 1998)

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

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

2.1.1. La température :

Il est important de connaître la température de l'eau avec précision; en effet, celle ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz. En influant sur la dissociation des sels dissous, elle agit sur le pH. La température de l'eau est mesurée à l'aide d'un thermomètre immergé à environ 20 cm de profondeur.

2.1.2. Le potentiel d'hydrogène :

Le pH joue un rôle important sur la baisse ou l'augmentation de la concentration en gaz carbonique CO₂ et de l'ammonification. Le pH de l'eau de mer varie entre 7.9 et 8.3.

2.1.3. L'oxygène dissous :

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

2.1.4. La salinité :

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

2.1.5. Les matières particulaires en suspension :

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

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

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

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

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

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

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

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

La bactérie *Escherichia coli* a une bonne croissance à un pH proche de la neutralité, entre pH 6 et 8 ; elle peut croître, mais plus lentement à un pH d'environ une unité au dessus ou au dessous de ces limites (Nerdhardt *et al.*, 1994), Compte tenu de ce comportement vis-à-vis du pH externe, le pH intérieur de la cellule est maintenu à une valeur peu différente de 7,6. Les bactéries sont classées entre neutrophile (*E. coli* acidophile et basophile. L'espèce *Thiobacillus ferrooxidans* est acidophile, et croit le mieux à pH 2, tout en maintenant son pH interne proche de 6,5 sur toute la gamme de pH de croissance, qui s'étend de 2 à 8. A l'autre extrême le basophile, croit le mieux à pH 10,5 et maintenant son pH interne à 9. En conclusion, lorsqu'une bactérie croit à des valeurs de pH inférieur à son pH interne, son cytoplasme est plus basique que son environnement, et lorsqu'elle croit à des valeurs supérieures, son cytoplasme est plus acide.

Parfois des phénomènes d'antagonisme et de synergie peuvent être observés. Ainsi, un développement qui peut avoir lieu à un pH et à une température donnée (tab. 6). Peut être inhibé lorsque les deux conditions se cumulent (Guiraud, 2003).

Tableau 6 : Comportement de quelques groupes microbiens en fonction du milieu (Guiraud, 2003)

Germes	pH favorable	Température favorable
<i>Aeromonas</i>	4.5/9.0	2°/45°C
<i>Bacillus cereus</i>	4.5/9.3	5°/55°C
<i>Brucella</i>	4.5/8.8	6°/42°C
<i>Campylobacter</i>	4.9/9.0	32°/45°C
<i>Clostridium botulinum</i>	4.5/8.5	10°/50°C
<i>Clostridium perfringens</i>	5.5/8.0	15°/50°C
<i>Escherichia coli</i>	4.4/9.0	7°/46°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.4/9.4	-0.4°/45°C
<i>Pseudomonas</i>	4.0/9.0	8°/45°C
<i>Salmonella</i>	3.8/9.5	5°/46°C
<i>Shigella</i>	5.0/9.2	7°/46°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0/9.8	7°/48°C
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	4.8/9.3	10°/45°C
<i>Vibrio cholerae</i>	5.0/9.6	10°/43°C
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8/11	5°/43°C
<i>Vibrio vulnificus</i>	5.0/10	8°/43°C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.2/9.6	-1.3°/42°C

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

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

2.2. Les germes indicateurs de contamination fécale :

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

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

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

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

2.2.1. Les coliformes :

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

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

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

2.2.1.1. Les Coliformes totaux :

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

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

2.2.1.2. Les Coliformes fécaux (thermotolérants) :

Les Coliformes fécaux ou Coliformes thermotolérants, sont un sous- groupe des coliformes totaux, capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (fig.46) et, dans un moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsielle* (Elmund et al., 199 ; Santé Canada, 1991 ; Edberg et al., 2000).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90% des Coliformes thermotolérants détectés (Barthe et al., 1998 ; Edberg et al., 2000). Bien que la présence de Coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux

enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe et *al.*, 1998 ;OMS ,2000).C'est pourquoi, il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « Coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS,1994 ; Robertson,1995).

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

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



Figure 46: *Escherichia coli* (*E. coli*) en coloration Gram (wikipedia, 2008).

2.2.2. Les Entérocoques.

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

Il y a 5 espèces reconnues parmi les streptocoques fécaux (SF) : *S. bovis*, *S. equinus*, *S. avium*, *S. faecalis* et *S. faecium*.

Les entérocoques sont d'origines intestinales, de l'homme et des animaux à sang chaud et indiquent une pollution par des matières fécales. Ce groupe bactérien est souvent utilisé comme témoin supplémentaire de contamination fécale du milieu aquatique. Les entérocoques ne sont pas pathogènes pour l'homme mais leur présence en grand nombre pourrait indiquer la présence de bactéries pathogènes (fig.47).

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

Selon Bourgeois (1980), lorsque le rapport CF/SF est supérieur à 4, la contamination est essentiellement d'origine humaine, s'il est inférieur à 0.7, la contamination est d'origine animale et si le rapport est situé entre 0.7 et 4 la contamination est d'origine mixte (tab.7).

Tableau 7: Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport de Bourgeois (1980).

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

En 1982 Borrego et Romero ont apporté des modifications au rapport de Bourgeois, permettant ainsi d'avoir un renseignement précis sur l'origine de la contamination (tab.8).

Tableau 8 : Détermination de l'origine de la pollution fécale selon le rapport CF/SF. Borrego et Romero (1982).

Ratio CF/SF	Source de Contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animale
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine

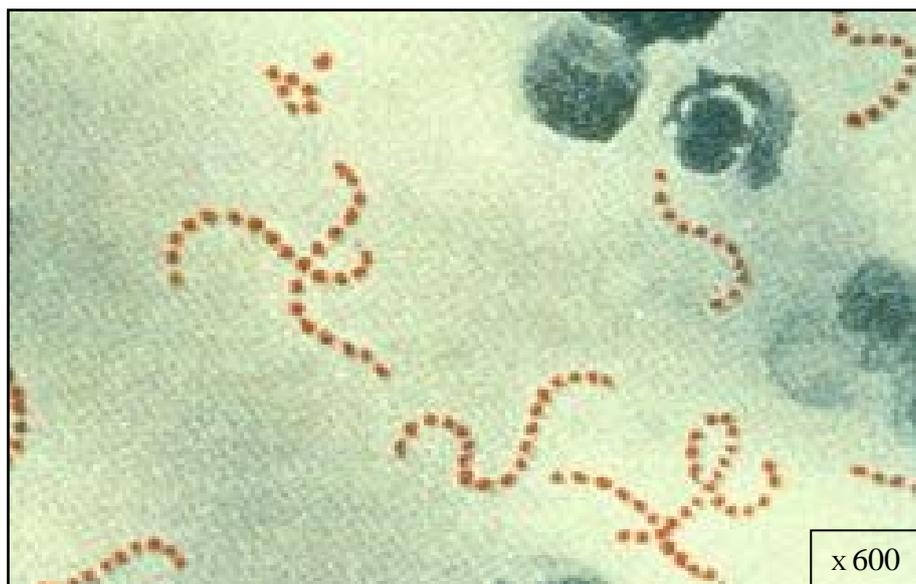


Figure 47: Les *Streptocoques* germes indicateurs d'une contamination fécale (wikipedia, 2008).

2.3. Les germes pathogènes.

Ces germes proviennent le plus souvent des côtes polluées par les égouts, les effluents et d'autres sources de pollution.

Les bivalves peuvent être des vecteurs de nombreux germes pathogènes dont les plus fréquents peuvent engendrer des infections et des maladies épidémiques.

2.3.1. Le *V.cholerae*.

C'est l'espèce la plus connue du genre *Vibrio*. Elle ne se trouve pas à l'état naturel dans l'eau propre, mais est introduite par les eaux usées non traitées (fig.48).

Une classification basée sur les antigènes somatiques O de nature glucido-lipido-protéique spécifiques à *V. cholerae* a permis de distinguer *V.cholerae* O₁ et *V.cholerae* non O₁. Alors que les facteurs antigéniques H, de nature protéique, sont communs à tous les vibrions (Pilet et al., 1979).

Le *V. cholerae* est considéré comme témoin de contamination récente par l'homme infecté. Une fois libéré dans l'eau, ce germe peut contaminer les coquillages qui le transmettent au consommateur (Boutin et al., 1982 ; Garay et al., 1985).

Il provoque le choléra, des toxi-infections intestinales aiguës strictement adaptée à l'espèce humaine. Après une incubation de 1 à 5 jours, la maladie se manifeste par des vomissements spontanés, des diarrhées profuses avec des selles aqueuses et incolores (OMS, 1978).

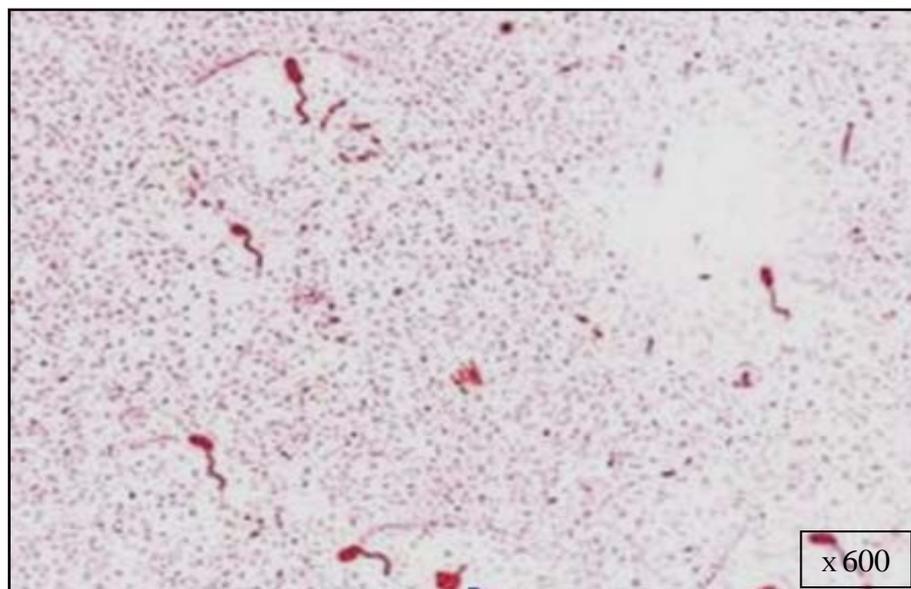


Figure 48: *Vibrio* du choléra en coloration Gram (wikipedia, 2008).

2.3.2. Les Salmonelles.

Les espèces du genre *salmonella* appartiennent au groupe des *Salmonellae* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Salmonella* est l'un des plus importants de cette famille. Il comprend des bactéries asporulées, gram négatifs, généralement mobiles grâce à des cils péritriches, parfois immobiles (*S.pullorum*, *S.gallinarum*).



Figure 49: *Salmonella typhimurium* en rouge observée au microscope électronique

(wikipedia. 2008)

Sur la base des caractéristiques, le genre salmonella est subdivisé en 4 sous-genres :

- **Sous genre I** : Il est le plus important car il contient la majorité des espèces pathogènes pour l'homme et l'animal.
- **Sous genre II** : Il contient des sérotypes communément trouvés chez les reptiles et rarement chez l'homme.
- **Sous genre III** : Il contient le groupe Arizona.
- **Sous genre IV** : Il contient les sérotypes rares de salmonella.

Les salmonelles sont des organismes mésophiles, distribués dans le monde entier. La température optimale de croissance est 37°C (FAO, 1996). Elles sont présentes chez l'homme au niveau des intestins, mais aussi chez les mammifères, les oiseaux et bon nombre d'animaux à sang chaud (Brissou et Denis, 1978).

La présence des salmonelles dans l'eau et dans les fruits de mer indique une contamination fécale directe ou indirecte à partir des déchets de l'homme et des animaux. C'est la raison pour laquelle, dans beaucoup de réglementations, on exige la recherche de *salmonella* pour évaluer et déterminer la salubrité des mollusques destinés à la consommation humaine.

La principale source de salmonelles est constituée par les malades qui libèrent jusqu'à un milliard de salmonelles par gramme de matière fécale (libérant) et les porteurs apparemment sains, ne présentant pas de symptômes cliniques mais continuent à excréter des salmonelles pendant des mois voir des années (Brissou, 1968).

Les études épidémiologiques amènent à distinguer 3 groupes de salmonelloses :

Les formes septicémiques (salmonelloses majeures) : fièvre typhoïde et paratyphoïde. Elles sont engendrées par des salmonelles qui ne se rencontrent que chez l'homme et qui en est le seul réservoir : *S.typhi* et *S.paratyphi* A et B (fig.49).

Les formes digestives : toxi-infections alimentaires. Elles sont engendrées par des salmonelles dont l'hôte naturel est l'animal, mais qui peuvent contaminer l'homme. Le nombre de genre d'infection augmente en raison du mode d'alimentation collectif qui se généralise dans les pays industrialisés.

Les autres salmonelloses : Elles sont plus rares : méningites, atteintes ostéo-articulaires, infections pulmonaires.

Le tableau 9 résume la fréquence d'apparition (avec pour certains les toxi-infections associées) des différents sérotypes de *Salmonella* en fonction du lieu de prélèvements.

Tableau 9: Importance des principales espèces du genre *Salmonella* (numéro d'ordre sur 20 espèces) chez l'homme, les animaux, dans les égouts et en eau de mer et toxi-infections associées. (Equinoxe (1990))

	Hommes	Animaux	Egouts	Eau de mer	Toxi-infections
Paratyphi A Paratyphi B	18 3	19 16	20 1	Très rare 1	Fièvres Paratyphoïdes
Typhimurium	1	1	2	2	Diarrhée, Fièvre, vomissement
Dublin Panama	16	2 15	17 6	rare rare	Salmonelloses
Typhi Enteritidis	2 4	20 3	15 16	très rare 10	Fièvre typhoïde ---

2.3.3. Les *Staphylocoques*.

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Micrococcaceae* (Manuel de Bergey, 1984). Ce sont des cocci à grams positifs arrangés en paires, en tétrades ou en grappes (fig.50). Ils sont immobiles, aérobies ou anaérobies facultatifs, asporulés (OMS, 1995 c).

Cette famille comprend les genres suivants : *Planococcus*, *Micrococcus* et *Staphylococcus*. Kloos et Schleifer (1975) ont pu identifier 11 espèces au sein du genre *Staphylococcus*, en 1984, ils ont pu distinguer 19 espèces (Manuel de Bergey, 1984).

Parmi ces espèces, *S. aureus* revêt plus d'intérêt quant à la pollution de eaux littorales et des fruits de mer. Deux autres espèces (*S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important.

Les staphylocoques sont trouvés au niveau des muqueuses nasales, les follicules pileux, la peau et la région périnéale des animaux à sang chaud y compris l'homme. Les produits de la mer comestibles peuvent être contaminés par les staphylocoques, soit par l'intermédiaire de manipulateurs infectés soit par l'environnement. Fréquemment, la contamination est due à un individu atteint d'une infection aux mains, d'un rhume ou d'un mal de gorge (FAO, 1996).

L'espèce la plus importante, *S. aureus* donne des colonies noires dans le milieu Chapman, c'est un germe mésophile avec une température de croissance minimum de 10°C, mais des températures plus élevées sont nécessaires à la production des toxines. Elle possède l'aptitude d'élaborer des entérotoxines (six types distincts : A, B, C₁, C₂, D, E) qui provoquent des intoxications alimentaires (Ababouch, 1995) causant des vomissements, des nausées et des diarrhées (FAO, 1996). Les symptômes ne durent généralement pas plus de 24 heures, mais dans les cas graves, la déshydratation peut conduire au choc ou collapsus.

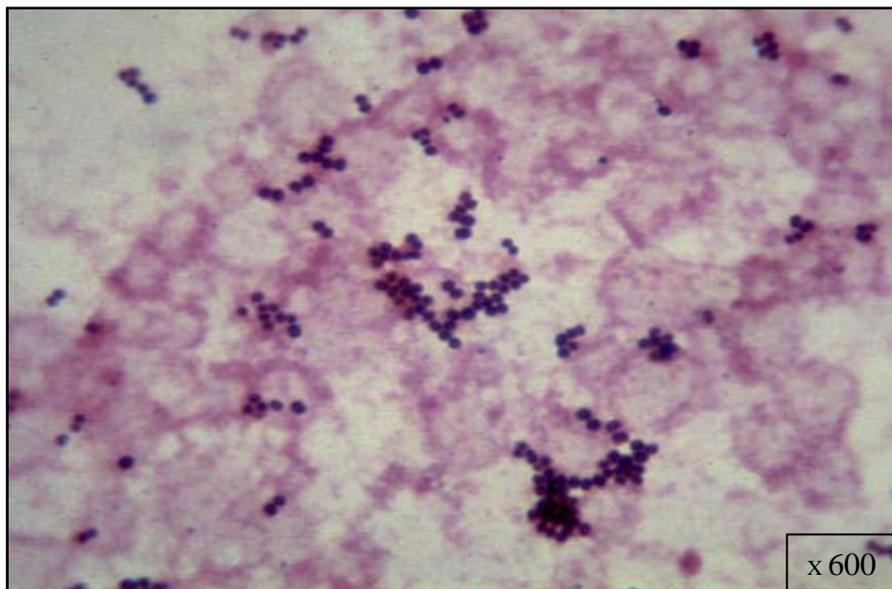


Figure 50: Les *Staphylocoques* en coloration Gram
(Wikipedia, 2008)

2.3.4 .Les Bacillaceae.

Les espèces de cette famille sont sous forme de bâtonnets, de filaments ramifiés ou de coques. Parmi les bâtonnets, on distingue deux genres qui interviennent dans la pollution du milieu marin: *Bacillus* et *Clostridium*.

Le genre *Clostridium* représente un intérêt particulier dans la pollution de l'eau et des

fruits de mer. Il est capable de sporuler, souvent très toxigène et très résistant. Les espèces les plus importantes dans ce genre sont : *C. botulinum* et *C. perfringens*.

- ***C.perfringens***

C. perfringens est une bactérie en forme de bâtonnet (bacille) qui forme des spores et qui peut se développer seulement en l'absence d'oxygène. C'est une bactérie commune qu'on retrouve dans le sol et qui habite normalement les intestins des êtres humains et d'autres animaux. Ce genre est rejeté en quantités considérables dans les eaux usées (OMS, 1995a).

C. perfringens est plus résistant que les autres indicateurs, mais il est difficile de le détecter dans l'eau de mer. Il peut contaminer les coquillages stockés dans de mauvaises conditions (Tengueu, 1996).

C. perfringens cause une intoxication alimentaire en produisant une série de toxines lorsqu'on consomme de la nourriture où la bactérie est présente en grand nombre. Les symptômes sont habituellement la diarrhée et des crampes abdominales. Il n'y a généralement pas de fièvre ni de vomissements.

- ***C.botulinum***

Ce germe est souvent rencontré dans le milieu aquatique marin. Il a été isolé à partir de l'eau, des sédiments, des coquillages et des poissons (Smith et al, 1982).

C. botulinum est une bactérie en forme de bâtonnet (bacille), strictement anaérobie et qui forme des spores (fig.51).

Il existe sept types de toxines botuliques désignées par les lettres A, B, C, D, E, F et G, mais c'est le type E qui intervient le plus fréquemment dans les intoxications provoquées par la consommation des poissons et de fruits de mer en conserve (Troller, 1986 ; Frazier et Westhoff, 1988), car les spores de *C. botulinum* sont largement répandus dans les eaux salées.

La consommation d'aliments contenant la toxine de *C. botulinum* cause une maladie appelée botulisme qui est grave, mais relativement rare.

Ce sont surtout les symptômes neurologiques paralytiques qui débute, alors que les symptômes digestifs (nausée et vomissement) sont secondaires. En effet, les accidents respiratoires sont la cause de la mort (FAO, 1996) Le seul traitement du botulisme est l'administration d'une antitoxine spécifique. Malheureusement, cette antitoxine est généralement inefficace si elle est administrée après l'apparition des principaux symptômes. Il est donc extrêmement important de commencer le traitement dès les premiers signes d'un empoisonnement.



Figure 51: *Clostridium botulinum* en coloration Gram
(Wikipedia, 2008)

2.3.5. Les *Pseudomonas*.

Ces germes appartiennent à la famille des *Pseudomonaceae*. Ce sont des bacilles gram négatifs, aérobies, asporulées, très mobiles par un ou plusieurs flagelles polaires (fig.52). Il s'agit de bactéries pathogènes ou d'altérations, parfois même redoutables et mortelles (Brisou et Denis, 1978).

Les *Pseudomonas* provoquent chez l'homme des affections de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL) lors des baignades en rivière, en piscine ou par suite de l'utilisation des bassins tourbillons.

Pseudomonas aeruginosa est une espèce qui revêt une importance principale dans la pollution microbienne du milieu marin. Elle est occasionnellement éliminée par les intestins et les urines. Sa présence dans l'eau est associée aux activités humaines, on le trouve dans environ 10% des matières fécales normales et fréquemment dans les eaux usées où ses concentrations peuvent atteindre 1 million /100 ml. Elle provoque des infections des oreilles, des yeux, des brûlures et des voies urinaires ainsi que l'entérite (OMS, 1995 a).



Figure 52 : *Pseudomonas aeruginosa* en coloration de Gram
(wikipedia, 2008)

2.3.6. Les *Shigella*.

La *Shigella* est une bactérie en forme de bâtonnet qui ne constitue pas de spores. Elle est aéro-anaérobie facultative. C'est l'agent causal d'une infection alimentaire appelée « shigellose » ou dysenterie bacillaire. Cette maladie est d'une gravité extrêmement variable et peut causer la nausée, des vomissements, des douleurs abdominales, de la diarrhée, des selles aqueuses contenant souvent du sang et du mucus, des frissons et de la fièvre (fig.53).



Figure 53: *Shigella flexnerii* en rouge observée au microscope électronique
(wikipedia. 2008)

3. Les bio-indicateurs de la pollution marine :

Beaucoup d'organismes marins accumulent des contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus. Leur première utilisation dans le cadre de la surveillance des pollutions aquatiques a été, en 1963 par (Falsom *et al.*, 1963).

La maîtrise des principes de base de la biologie des espèces est une condition essentielle à leur sélection comme bio-indicateurs. Des connaissances sur le mode de vie et la stratégie de nutrition sont nécessaires. Il doivent répondre à plusieurs critères de sélections (Butler *et al.*, 1971 ; Phillips., 1980, Phillips et Rainbow., 1993).

- Sessile ou sédentaire afin de représenter la région où ils se développent.
- Robustes et tolérants aux variables physico-chimiques comme la salinité.
- Des accumulateurs puissants.

A ce jour, les mollusques bivalves sont les bio-indicateurs quantitatifs cosmopolites les plus utilisés. Le concept d'organisme sentinelle « Mussel Watch » s'est construit sur la base des modèles de métabolisme des contaminants chez les bivalves.

3.1. Les bio-indicateurs en Méditerranée.

En avril 2002, un atelier de travail sur la fondation programme « Mussel Watch » méditerranée a été tenu à Marseille, sous l'égide de CIESM. Durant cette réunion 24 chercheurs provenant des pays du bassin méditerranéen et de la mer noire ont présenté leurs travaux sur l'inspection de la qualité de leurs côtes et ils se sont tous mis d'accord sur le principe d'utilisation de la moule méditerranéenne, *Mytilus galloprovincialis* comme bio-indicateur de la contamination puisqu'elle est présente sur le littoral du bassin méditerranéen et de la mer noire (Fisher *et al.*, 1987). Cependant, ils se sont vite rendu compte que cette espèce est devenue rare et même absente dans la partie Sud et Est de la méditerranée, elle a été remplacée par la moule africaine, *Perna* ou le *Brachidonte variabilis* qui appartient à la famille des mytilidae et qui a été admise comme solution alternative dans les conclusions de CIESM (2002).

En Algérie on utilise surtout les moules *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* quand elles sont présentes.

3.2. Description des bio-indicateurs.

Les Moules sont des Mollusques appartenant à l'Ordre des Filibranches (en raison de la structure de leurs branchies constituées de filaments, réfléchis et unis par des touffes de cils) et rangés dans la classe des Bivalves ou Lamellibranches. Les moules font partie de la famille des Mytilidae.

Les espèces qui composent, cette famille se distinguent par des coquilles ayant des valves égales, un ligament presque toujours externe, une charnière sans dents (ou avec dents très réduites), des branchies à filaments séparés, deux muscles adducteur (l'antérieur est rarement absent), un pied allongé et un byssus (Fig. 54).

Espèce sessile (fixée à demeure), elle résiste aux courants, aux chocs des vagues et à l'arrachement grâce aux solides filaments du byssus qui sont soudés au rocher.

Elle est pourtant capable de se déplacer après avoir rompu une partie des filaments du byssus et avoir déposé un peu plus loin sur le rocher une substance protéique qui s'écoule dans le sillon postérieur du pied et se solidifie au contact de l'eau en formant des filaments; elle se hale ensuite sur ces nouveaux filaments.

Consommateur microphage omnivore, elle utilise son appareil branchial comme un filtre. En effet le courant d'eau inhalant passe à travers la branchie qui joue le rôle de tamis et qui comporte des sillons garnis de cellules muqueuses qui agglomèrent les particules en suspension dans l'eau; les microparticules consommables sont alors transportées jusqu'à la bouche alors que les particules non consommables sont rejetées à l'extérieur (pseudofécès).

Suspensivore, la moule filtre jusqu'à 100 litres d'eau par jour; elle est capable d'opérer un tri concernant la nature et la taille des particules qui pénètrent dans la cavité palléale dont le diamètre est comprise entre 3 et 13 micromètres. Elle se nourrit de phytobenthos (diatomées), de phytoplancton et de débris organiques.

Animal benthique grégaire fixé aux substrats solides dans les anfractuosités des rochers battus et éclairés de l'étage médiolittoral qui sont favorables à l'installation de moulières naturelles. Sensible à la pollution chimique et bactérienne, la moule concentre les polluants et constitue un bon indicateur de la qualité des eaux .

La moule est capable de supporter une longue émergence grâce à une réserve d'eau entre les deux valves. (Franc, 1960 ; Seed, 1976 ; Darignac-Corbeil, 1976).

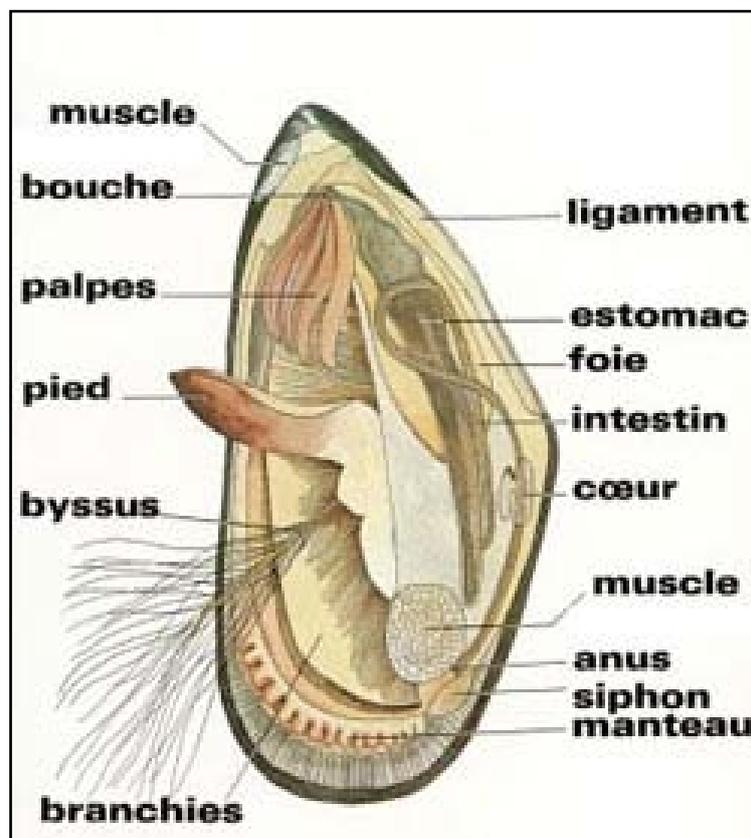


Figure 54 : Structure et anatomie d'une moule.

- **Description de l'espèce retenue dans cette étude :**

- **La moule *Perna perna***

Elle est de forme allongée et de couleur noire violacée, on la rencontre comme l'a signalé Fischer *et al*, (1987) sur les fonds de l'étage infralittoral entre 3 et 5 m, elle se fixe par son byssus aussi bien sur des supports rocheux que sableux ou encore vaseux. C'est une espèce gonochorique avec émission de gamètes entre avril et juin. La couleur du manteau permet de distinguer les deux sexes en effet, elle est blanchâtre chez les mâles et rosé saumon à orange chez les femelles.

Ce sont des organismes filtreurs qui ingèrent sans distinction toutes particules présentes dans le milieu, elles absorbent le phytoplancton ne retenant que les protozoaires, les microbes et les diatomées (Boyer, 1986 ; Dupray *et al*, 1999). Les moules *Perna perna*, filtrent jusqu'à 4 litres d'eau /heure. En méditerranée leur taille maximale est de 90mm, avec une taille moyenne de 50 à 60mm (Fisher *et al*, 1987). Elles sont largement rencontrées dans les eaux saumâtres des lagunes côtières. Ce sont des espèces caractérisées par une forte tolérance vis-à-vis des conditions du milieu, ainsi elles supportent des températures de 13°C en hiver et entre 27 et 28°C en été et des salinités comprise entre 7 et 40 ‰ (Lubet *et Chappuis*, 1966).

Position systématique de la moule *Perna perna*

- | | |
|------------------|---------------------------------|
| - Embranchement. | Mollusques |
| - Classe. | Bivalves |
| - Sous-classe. | Ptériomorphia (beurlen,1944) |
| - Ordre. | Mytiloida(ferussac,1822) |
| - Famille. | Mytilidae(rafmesque,1815) |
| - Genre. | <i>Perna</i> (philipsson, 1788) |
| - Espèce. | <i>perna</i> (linnaeus,1758). |

3.3. Répartition géographique des moules

Les Moules sont représentées par deux genres principaux : *Mytilus et Perna*. Le genre *Mytilus* est extrêmement répandu dans le monde ; on en rencontre depuis les régions tropicales jusque dans les mers polaires.

Le genre *Perna* se cantonne en Atlantique tropicale et subtropical : Maroc, Mauritanie, Sénégal, côtes de l'Amérique du sud. En Algérie, sa présence a été signalée par Pallary (1921) et Cruvel (1926). Son aire va de Gibraltar au Golfe de Tunisie en Méditerranée.

Ce genre existe sur les côtes d'Afrique du Nord, sous le nom de *Mytilus africanus* qui appartient au genre *Perna*. Cette espèce existe même en abondance. Le genre *Perna* a été donc considéré comme genre à part entière défini selon Lubet (1973) par les caractères distinctifs au niveau des empreintes musculaires (Tab.10).

Tableau 10 : Caractères distinctifs entre la musculature de *M. galloprovincialis* et de *Perna perna* (Lubet, 1973)

Muscles	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<i>Perna.perna</i>
Muscle adducteur antérieur	petits ou grands 1 paire s'insérant dorsalement dans la région postérieure	absence des grands
Muscle adducteur postérieur		
Muscles rétracteurs du pied		
Muscles rétracteurs de byssus (3 paires)	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement
	rétracteurs moyens : 1 paire formée de deux faisceaux s'insérant dorsalement dans la région moyenne contre les rétracteurs postérieurs	rétracteurs moyens : 1 paire de muscles très épais formée de nombreux faisceaux empreinte distincte
	rétracteurs postérieurs : 1 paire de deux faisceaux s'insérant postérieurement entre les précédents et l'adducteur postérieur	rétracteurs postérieurs : 1 paire formée de deux faisceaux à insertion distincte contre l'adducteur postérieur

3.4. Détermination des espèces :

La détermination des espèces existantes dans le golfe d'Annaba, a été faite sur des échantillons récoltés au cours de l'année 2008. Une fois au laboratoire les moules sont ouvertes et débarrassées de leur chair afin de pouvoir examiner les empreintes. Le caractère principal permettant de séparer les genres *Perna* et *Mytilus* est le modèle d'empreinte laissé par le muscle sur la coquille (Fig.55).

Chez *Mytilus* les composantes antérieures et postérieures du muscle rétracteur sont unies formant une bande continue de myostracum le long de la marge dorsale de la ligne palléale. Au contraire, ces deux composantes s'attachent séparément sur la coquille de *Perna* laissant une empreinte de muscle discontinue (Sidall, 1980).

En plus de ceci chez *P.perna* les charnières consistent en une forte dent lamelliforme sur chaque valve, chez *Mytilus galloprovincialis*, elle se compose de trois dents bien apparentes sur chaque valve (Fig. 56) une autre caractéristique moins claire, distingue l'adulte *Perna* d'au moins *Mytilus edulis* est le muscle adducteur antérieur qui est présent bien que petit chez *Mytilus* mais absent ces toutes les espèces de *Perna* (Sidall L, 1980).

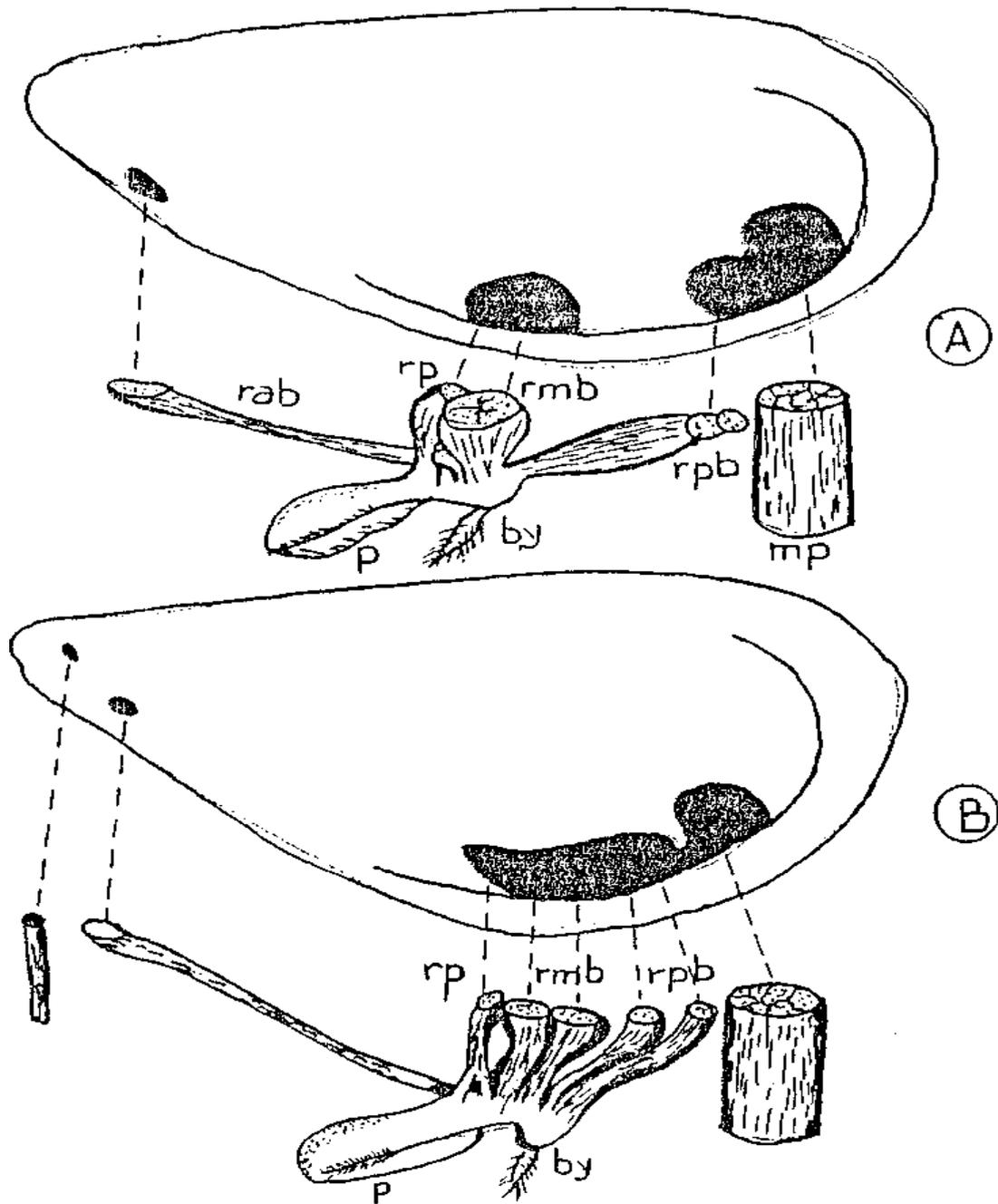


Figure 55 : Disposition des insertions musculaires sur la coquille de *Perna perna* (A) et de *Mytilus galoprovensialis* (B) (Sidall, 1980).

ma =muscle adducteur antérieur ; mp = muscle adducteur postérieur ; rmb = rétracteur antérieurs de byssus rmb = rétracteurs moyen du byssus ; rpb = rétracteurs postérieurs du byssus ; rp = rétracteur du pied .

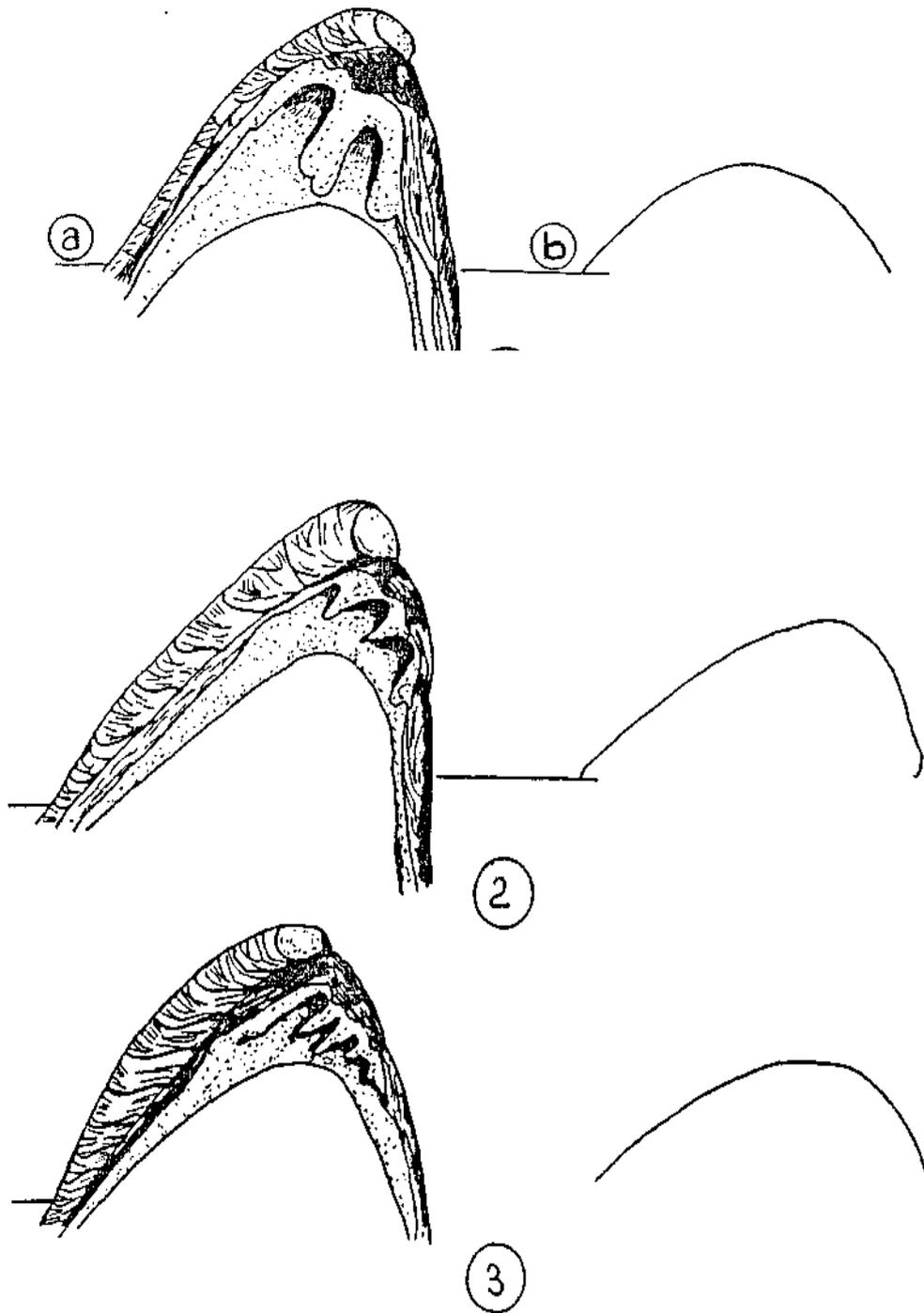


Figure 56 : Charnière de la valve gauche (Sidall, 1980).

1 = *Perna perna* Linné 2 = *Mytilus galoprovincialis* Lamarck 3 = *Mytilus edulis* Linné (ab = section transversale dans le test)

Annexe 2.

Tableau 11 : Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (Eau).

Nombre de tubes positifs	Nombre de germes/100ml	Nombre caractéristique	Nombre de germes/100ml
001	3	300	23
010	3	301	39
100	4	302	64
101	7	310	43
110	7	311	75
111	11	312	120
120	11	320	93
200	9	321	150
201	14	322	210
210	15	330	240
211	20	331	460
220	21	332	1100
221	28	333	>2400

Tableau 12 : Table de Mac Grady pour 3 séries de 3 tubes (bivalves).

Nombre caractéristique	Nombre de germes/ml	Nombre caractéristique	Nombre de germes/ml	Nombre caractéristique	Nombre de germes/ml
000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

NB : Le nombre de germes pris du tableau sera multiplier par 10, la chair et de liquide intervalvaire ont été dilués à 1/10.

Tableau 13 : Normes de la qualité requise des eaux de baignades (directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret exécutif n° 91-980 du 20 septembre 1991. J.Off.Comm.Europ et par le décret exécutif N° :93-164 du 10 juillet 1993. JORA N° 46.

Paramètres bactériologiques	Norme guide	Nombre impératif
Coliformes totaux/100ml	500	10000
Coliformes thermotolérants/100ml	100	2000
Streptocoques fécaux/100ml	100	-
Salmonelle	absence	absence

La directive européenne du 8 décembre 1975, reprise par le décret n° 91-980 du 20 septembre 1991, a établi les normes de qualité des eaux de baignade et les a classées en quatre catégories :

- Catégorie A : bonne qualité, respect des valeurs guides et impératives de la directive.
- Catégorie B : qualité moyenne, respect des normes impératives.
- Catégorie C : pouvant momentanément être polluée (entre 5 et 33 % d'échantillons non conformes aux valeurs impératives).
- Catégorie D : mauvaise qualité, trop fréquemment polluée (plus de 33 % d'échantillons non conformes aux normes impératives).

Ce classement attribué en fin de saison, partage d'une part, les eaux conformes (A et B) et d'autre part les eaux non conformes (C et D).

Tableau 14 : Normes de la qualité des eaux conchylicoles (Communauté Européenne, 1991).

Paramètres	Zone A	Zone B	Zone C
Coliformes fécaux (nombre/100g de chair et de liquide intervalvaire)	> 300 et < 1 000 pour 90 % des échantillons	> 6000 et < 60 000 pour 90 % des échantillons	> 60 000 pour 90 % des échantillons
Escherichia coli (nombre/100g de chair et de liquide humide)	> 230 et <1000 pour 90 % des échantillons	> 4 600 et < 46 000 pour 90 % des échantillons	> 46 000 pour 90 % des échantillons

Les eaux conchylicoles sont, comme les eaux de baignade, classées en catégories de qualité. Il existe ainsi quatre zones :

- Zone A : zone où il est possible de récolter les coquillages pour une consommation humaine directe.
- Zone B : zone où les coquillages doivent faire l'objet d'une purification et/ou d'un reparcage d'une durée adaptée dans une zone de qualité A, avant d'être acceptés pour la consommation humaine.
- Zone C : comme la zone B, mais la purification doit être plus poussée ou le reparcage de beaucoup plus longue durée.
- Zone D : zone où il est impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.

Tableau 15: Critères microbiologiques pour les coquillages bivalves (arrêté européen du 23 mars 1993).

Paramètres bactériologiques	Valeur guide
Coliformes thermotolérants	< 2.3.10 ² /100ml de chair et de liquide intervalvaire
Stréptocoques fécaux	<2.5.10 ³ /100ml de chair et de liquide intervalvaire
Salmonelle dans 25 g	Absence
Autre germes pathogènes et toxines	Absence

Tableau 16: Principale industrie déversant dans le Golfe d'Annaba (DEWA, 2002).

Unité industrielle	Lieu d'implantation	Nature des effluents liquides
FERTIAL (ex ASMIDAL)	El6Bouni	Eaux de process (Chargées de résidus chimique) Eaux de refroidissement
EN-FERPHOS	Port	Eaux usées domestiques
SONALGAZ	Port	Eaux refroidissement
ENCG	Port	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
ONAB N° 1	Port	Eaux usées domestiques
ENTPL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
Carreaux-Granito	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques (ponsage)
ORLAIT	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées industrielles (lactosérum)
ENCC	Z.I. Pont Bouchet	Eaux de refroidissement
FERROVIAL	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
HYDRO-CANAL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
14 EN SIDER	Sidi Amar	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
PROSIDER (Chaiba)	Sidi Amar	Eaux usées industrielles
ERWA	Z.I. Meboudja	Eaux de lavages
SNLB	Annaba	Eaux usées domestiques
EMIB	Annaba	Eaux usées industrielles (germe et levure)
SARL PROCOMAC (Carrelage)	Z.I. Meboudja	Eaux usées industrielles (ponçage)
SARL CHOCOTRK	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées industrielles Eaux de lavages
SAEL BELKIRI (Confiserie)	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
CONSERVERIE DE TOMATE	Annaba	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles

Tableau 17: Représentations des rejets domestiques de la wilaya D'Annaba et de leurs milieux récepteurs (DEWA, 2002).

Agglomération W.A	Milieux récepteurs
Sidi Amar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Hadjar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Bouni	Une partie des rejets se déversent vers l'Oued Seybouse et l'autre partie vers la mer en passant par Oued Boudjemaa.
Annaba Ville	Les rejets passent par le réseau principal, se déversent vers la mer en passant par la station de pompage Sidi Brahim.

Tableau 18 : Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d'Annaba DHWA (2008).

N°	Station de pompage	Localisation	Nature de rejets
1	Cap de garde	Annaba	Eaux usées
2	Ain achir	Annaba	Eaux usées
3	Belvédère	Annaba	Eaux usées
4	Refed zahouane	Annaba	Eaux usées
5	La caroube	Annaba	Eaux usées
6	Rizi amor (SP4)	Annaba	Eaux usées
7	Levée de l'aurore (cité enasr)	Annaba	Eaux usées
8	Ancien gare (SP2)	Annaba	Eaux usées+pluviales
9	Sid Brahim (SP1)	Annaba	Eaux usées+pluviales
10	Bouzerad hocine (SP7)	Annaba	Eaux usées
11	Eliza (SP3)	Annaba	Eaux usées+pluviales
12	Plaine Ouest 1(SF1)	Annaba	Eaux usées
13	Plaine Ouest 2(SF2)	Annaba	Eaux usées
14	Cité Rym	Annaba	Eaux usées
15	El Bouni	El Bouni	Eaux usées
16	Allalik	El Bouni	Eaux usées
17	Gharbi issa	El Bouni	Eaux usées
18	Sidi Salem 2	El Bouni	Eaux usées
19	Boukhamir	El Bouni	Eaux usées
20	Boukhadra 5	El Bouni	Eaux usées
21	El Hadjar 4	El Hadjar	Eaux usées
22	Chetaibi	Chetaibi	Eaux usées
23	Oued el aneb	Oued el aneb	Eaux usées

SP : Station de pompage.

SF : Station de forage.

Tableau 19: Données météorologiques (Office National de la Météorologie, 2008)

Mois	Pluviométrie moyenne mensuelle (ml)	Température moyenne mensuelle (°C)	Force du vent
Janvier 08	13.7	11.2	3.1
Février 08	16.5	11.3	2.9
Mars 08	98.5	12.3	3.6
Avril 08	16.0	16.1	4.0
Mai 08	41.9	19.1	3.6
Juin 08	24	21.6	3.8
Juillet 08	7.0	25.3	5.4
Aout 08	0.2	25.6	4.3
Septembre 08	60.0	23.6	3.7
Octobre 08	48.7	19.7	3.3
Novembre 08	40.5	14.8	3.7
Décembre 08	87.3	11.0	3.4

Annexe 3.

○ Milieux de culture.

❖ Bouillon Lactosé bilié au vert brillant / cloche (BLBVB).

Usage :

Milieu de dénombrement des coliformes totaux (48 h à une température de 37°C).

Composition :

-Peptone 10,0g
-Lactose 10,0g
-Bile déshydratée 20,0ml
-Vert brillant 13,0 mg
(pH = 7,4)

Préparation :

40 g par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

Lecture

La cloche de Durham permet le recueil des gaz signant la présence de coliformes, à condition que le milieu ait été agité correctement pour que les bactéries soient bien réparties, y compris sous la cloche. Il est conseillé d'agiter légèrement le milieu plusieurs heures avant la lecture pour favoriser le dégagement de gaz sous la cloche de Durham, qui, autrement, peut ne pas être observé pour les dilutions limites.

Si plusieurs essais sont effectués, on utilise la table statistique de Mac Grady pour déterminer le nombre de coliformes le plus probable (NPP).

On peut déterminer la présence de coliformes thermotolérants ou fécaux en réalisant le test de Mackenzie : repiquage d'une anse de 9 microlitres de chaque tube positif BLBVB à 37 °C dans un nouveau tube BLBVB et un tube d'eau peptonée qui seront incubés à 44 °C). Les tubes positifs à 44 °C permettent de dénombrer les coliformes totaux en utilisant la table de Mac Grady. Si les tubes d'eau peptonée permettent de lire de surcroît la production d'indole, on peut conclure à la présence d'*Escherichia coli* et réaliser de même son dénombrement.

❖ Eau peptonée exempte d'indole (Tryptone water).

Usage :

Recherche de l'indole.

Composition :

-Peptone exempte d'indole 10,0 g
-Chlorure de sodium 5,0 g
(pH=7,2)

Préparation :

15 grammes par litre d'eau distillée. Stérilisation classique.

Lecture :

L'addition de réactif de Kovacs montre la production d'indole par un anneau rouge.

❖ Eau peptonée tamponnée.

Usage :

Utilisée pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sublétaux.

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

Peptone : 10,0.

Sodium chlorure : 5,0.

Phosphate disodique hydraté (9100181) : 9,0.

Phosphate monopotassique : 1,5.

Phosphate disodique anhydre (9101311) : 3,56.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : $7,2 \pm 0,2$.

❖ 0Gélose nutritive.

Usage :

Milieu d'isolement courant surtout utilisé pour la recherche de FMAR (Flore Mésophile Aérobie Revivable)

Composition :

-Extrait de viande 1,0g

-Extrait de levure 2,0g

-Chlorure de sodium 5,0g

-Agar 15,0g

(pH = 7,4)

Préparation :

28 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave.

Ensemencement :

Pour ensemer il s'agit de faire un dégradé sur toute la gélose afin d'isoler plusieurs colonies. Pour cela, avec une anse de platine, prélever une petite goutte de suspension bactérienne puis faire des stries serrées sur la moitié de la boîte de Pétri. Ensuite tourner d'un quart de tour la boîte, stériliser à la flamme l'anse et recommencer les stries. Ensuite tourner encore la boîte d'un quart de tour et refaire encore les stries (après stérilisation de l'anse). De cette manière toute la boîte doit avoir été ensemencée... attention à ne pas brûler la gélose lorsque l'anse est encore très chaude.

Examen macroscopique

- Taille des colonies
- Contour
- Relief
- Surface
- Consistance
- Transparence
- Pigmentation
- Type des colonies
- Exigence

❖ **Gélose Salmonella-Shigella (Gélose SS).**

Usage:

Isolement des *Salmonella* et des *Shigella* mais aussi des *Pseudomonas* ou des *Yersinia enterocolitica*.

Composition :

- Peptone 5.0g
- Extrait de viande 5.0g
- Lactose 10.0g
- Citrate de sodium 10.0g
- Citrate de fer ammoniacal 1.0g
- Sels biliaires 8.5g
- Vert brillant 3.3g
- Rouge neutre 25ml
- Thiosulfate de sodium 8.5g
- Agar 12.0g

(pH = 7,3)

Préparation :

63 g de poudre dissous par ébullition. Se reporter à la notice en raison de variations de la composition (Formule moins inhibitrice des *Shigella* à 5,5 g de sels biliaires par exemple).

Ne pas autoclaver.

Lecture :

Lac - : colonies incolores

Lac + : colonies rouges

Centre noir : H₂S +

Pas de centre noir : H₂S -

Ne cultivent normalement sur ce milieu que les Gram - cultivant facilement.

Toutefois on peut rencontrer des *Enterococcus* tout particulièrement pour certaines compositions.

Les coliformes, comme les bacilles oxydase + ne sont pas inhibés contrairement aux affirmations parfois rencontrées.

❖ **Gélose viande-foie.**

Usage :

Il est principalement utilisé en tube profond pour la détermination du type respiratoire des micro-organismes, mais aussi pour la culture de germes anaérobies stricts tels que les *Clostridium*.

Composition :

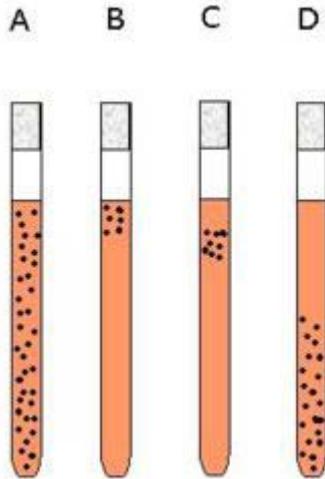
- Base viande foie 30.0g
- Glucose 2.0g
- agar 6.0g

(pH = 7.4)

Préparation :

38 g par litre d'eau distillée. Autoclavage classique. Conditionnement en tubes longs et fins.

Lecture



Résultats après incubation 24H a 37°C

L'absence de culture révèle des bactéries exigeantes comme les Haemophilus NAD dépendants. La hauteur de la culture permet de déterminer le type respiratoire.

❖ King A.

Usage :

Le King A est un milieu de culture utilisé pour mettre en évidence de la pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*.

Composition :

-Peptone dite "A" :.....20,0 g
-Glycérol :.....10,0 g
-Sulfate de potassium :.....10,0 g
-Chlorure de magnésium :.....1,4g
-Agar purifié :.....12,0g
(pH = 7,2)

Préparation :

45 g de poudre par litre d'eau distillée. Stérilisation classique. Ajouter 10 cm³ de glycérol après autoclavage.

Lecture :

La pyocyanine bleuit le milieu. Elle est soluble dans le trichlorométhane (chloroforme). Une coloration rouge traduit la production de pyorubine.

❖ **King B.**

Usage :

Le King B est un milieu de culture qui permet la culture d'être unicellulaire. Mise en évidence de la pyoverdine des *Pseudomonas* du groupe fluorescent.

Composition :

-Peptone dite "B" 20,0g
-Glycérol 10,0g
-Hydrogénophosphate de potassium 1,5g
-Sulfate de magnésium heptahydraté 1.5g
-Agar purifié 12,0g
(pH = 7,2)

Préparation :

37 g de poudre par litre d'eau distillée. Stérilisation classique. Ajouter 10 cm³ de glycérol après autoclavage.

Lecture :

La pyoverdine jaunit le milieu. Cette molécule présente une fluorescence à 340 nm. Elle est insoluble dans le trichlorométhane (chloroforme).

❖ **Litsky (Bouillon glucosé à l'azide de sodium de l'éthyl violet- bouillon EVA)**

Usage :

Milieu de confirmation d'*Enterococcus*.

Composition :

-Peptone 20,0g
-Glucose 5,0g
-Azide de sodium 0,2g
-Ethyl-violet 0.5g
-NaCl 5,0g
-Hydrogénophosphate de potassium 2,7g
-Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g
(pH = 6,8)

Préparation :

35.7g par litre d'eau distillée. Autoclave classique.

Lecture :

Il sert au dénombrement des Streptocoques fécaux. C'est un test confirmatif qui se fait suite au test présomptif au milieu de Rothe La lecture des tube se fait grâce au trouble formé et à l'éventuelle formation d'une pastille violette.

❖ **Rothe (Bouillon Glucosé à l'azide de sodium).**

Usage :

Milieu d'enrichissement en *Enterococcus*.

Composition :

-Peptone 20.0g
-Glucose 5.0g
-Azide de sodium 5.0g
-NaCl. 5.0g
-Hydrogénophosphate de potassium 2.7g
-Dihydrogénophosphate de potassium 2.7g
(pH = 6.8)

Préparation :

36,2 g par litre d'eau distillée (simple concentration) ou 72,4 (double concentration).
Autoclavage classique.

Lecture :

Ce milieu permet l'enrichissement en Entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de Litsky, l'isolement et l'isolement des colonies.

❖ Bouillon au Sélénite (Milieu d'enrichissement pour *Salmonelle-Shigella*).**Usage**

Sélénite cystéine, gélose pour l'enrichissement de *salmonella* qui a été pré enrichie avec de l'eau peptonée tamponnée (EPT).

Composition

Peptone pancréatique de caséine 5.0g
Lactose 4.0g
Monohydrogéo-phosphate de sodium 10.0g
Monohydrogéo- sélénite de sodium 4.0g
Eau distillée 1000ml

❖ Milieu de Chapman au mannitol :

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles (vivant normalement dans un milieu très salé) et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique.

Usage :

Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*.
Dans les pays anglo-saxons, une variante de ce milieu est appelée MSA (mannitol-salt-agar = gélose au mannitol et au sel).

Composition :

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

Peptone :10,0 g
Extrait de viande de bœuf :1,0 g

Chlorure de sodium :75,0 g
Mannitol :10,0 g
Rouge de phénol :0,025 g
Agar-Agar :15,0 g
Eau distillée :qsp 1 Litre
(pH = 7,4)

Préparation :

111 g par litre de milieu Autoclavage classique.

Caractéristiques :

Une base nutritive ordinaire.

Une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les *Staphylococcus*) et inhibe la grande majorité des autres bactéries.

Un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*).

Lecture :

On cultive sur ce milieu les Micrococcaceae et quelques autres (*Bacillus*, *Enterococcus*) et même très rarement des bacilles gram-négatif.

Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies **mannitol** - car elle ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.

- virage au jaune du milieu : les colonies sont **mannitol** + car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.
- remarquons que Chapman est une gélose selective des staphylococcus.

Dans tout les cas, les microorganismes cultivant sur ce milieu ont mis en évidence leur caractère halophile.

❖ **Sulfito-réducteur :**

❖ **Mannitol-Mobilité-Nitrate :**

Usage

Utilisation du mannitol, réduction des nitrates, mobilité en gélose semi-molle.

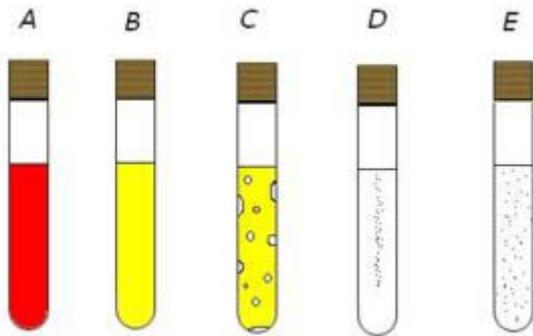
Composition

-hydrolysate trypsique de caséine:.....10,0 g
-mannitol:.....7,5 g
-rouge de phénol:.....0,4 mg
-nitrate de potassium:.....1,0 g
-agar:.....3,5 g
(pH =7.6)

Préparation

22 g par litre. Stérilisation classique.

Lecture



Résultats possibles :

A : pas de dégradation du manitol.

B : Dégradation du manitol.

C : Dégradation du manitol avec production de gaz.

D : Bactérie non mobile, colonies au lieu de l'ensemencement.

E : Bactérie mobile, répartition des colonies dans le milieu.

*Milieu jaune : mannitol+

*Milieu rouge : mannitol-

Pour une bactérie aérobie stricte, la culture sur toute la hauteur accompagnée éventuellement de bulles montre une respiration nitrate. La réduction des nitrates pourra être visualisée par addition des réactifs habituels. Leur acidité entraîne un virage progressif au jaune d'un milieu rouge : une coloration rouge après addition des nitrites 1 et 2 montre donc bien la présence de nitrites.

❖ Triple sugar iron (TSI).

Usage :

Milieu utilisé pour l'identification des entérobactéries. Il permet de voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate. (Idem que Hajna Kligler).

Composition :

- Peptones de caséine 15 g/l
- Peptones de viande 5 g/l
- Extraits de viande 3 g/l

Mode d'action :

La dégradation de sucre est accompagnée d'une production d'acide. Celle-ci est détectée par l'indicateur de pH, le rouge de phénol, qui en milieu basique est rouge et en milieu acide est jaune orange. Le thiosulfate est réduit en sulfures d'hydrogènes par certaines bactéries. Le H_2S réagit avec un sel de Fer pour donner un précipité noir.

Lecture :

Le milieu de départ est translucide et rouge.

-rouge : pas de fermentation, la bactérie est aérobie - Jaune : une fermentation s'est produite ; de l'acide a été produit, la bactérie est anaérobie facultative.
- Gaz formé : du à une fermentation - Couleur noire : H₂S a été produit.

❖ **Kligler-Hajna.**

Usage :

Le milieu de Kligler-Hajna est un milieu permettant la recherche simultanée de :

- L'utilisation du lactose ;
- La fermentation du glucose ;
- La production d'H₂S ;
- La production de gaz ;
- La lysine décarboxylase.
- La B-galactosidase pour les bactéries lactose - (test ONPG).

Composition :

- Peptone 15 g
- Extrait de viande 3 g
- Extrait de levure 3 g
- Peptone pepsique de viande 5 g
- Glucose 1 g
- Lactose 10 g
- Rouge de phénol 25 mg
- Chlorure de sodium 5 g
- Sulfate ferreux..... 0,2 g
- Thiosulfate de sodium 0,3 g
- Agar-agar 11 g

(pH = 7,5)

Les peptones sont riches en lysine. Le milieu est conditionné en tubes avec une pente et un culot.

Ensemencement :

- La pente doit être abondammentensemencée (stries serrées).
- Le culot estensemencé simple piqûre.

Incubation : 37 °C pendant 18 à 24 h (ne pas dépasser ce délai) après avoir dévisser le bouchon partiellement ce qui permet les échanges gazeux.

Lecture, interprétation :

-Interprétation de la pente

Pente rouge : bactérie lactose - (figure 1A);

Pente jaune : bactérie lactose + (figure 1B).

-Interprétation du culot

Culot rouge : bactérie glucose - (figure 1C) ;

Culot jaune : bactérie glucose + (figure 1D).

-Production de gazLa production de gaz lors de l'utilisation des glucides est mise en évidence par le décollement de la gélose et/ou des bulles dans la gélose.

Elle est donc Gaz -

-Production de sulfure d'hydrogène

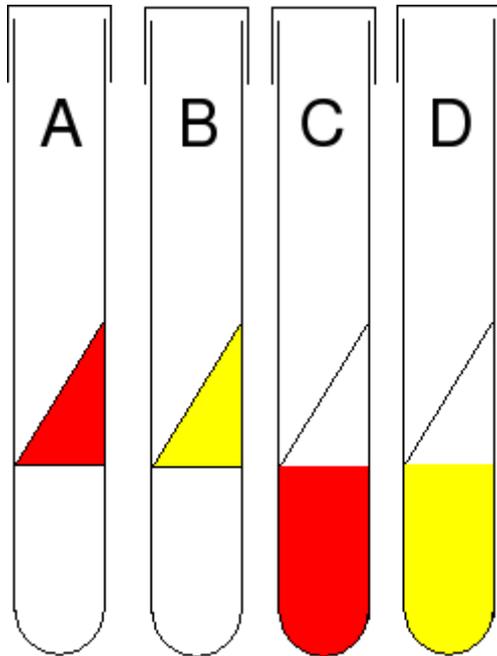
Bactéries H₂S + : précipité noir ;

Bactéries H₂S - : pas de précipité noir

-Présence d'une lysine décarboxylase

Bactéries LDC + : coloration violette (présence de cadavérine) ;

Bactéries LDC - : la solution reste incolore.



○ **Réactifs.**

❖ **Kovacs :**

- Alcool amylique ou isomylique 150ml
 - P.diméthylaminobenzaldéhyde 10.0g
 - Acide chlorhydrique concentré 50ml
- Conserver à +4°C.

❖ **Solution de sulfite de sodium :**

- Sulfite de sodium pur, cristallisé (50% d'H₂O) 1g
- Eau distillée 9g

Préparation :

Stérilisée par chauffage 10 minutes au bain marie d'eau bouillante.

Repartir en petits flacons a usage unique, entièrement remplis et fermés hermétiquement.

Conserver deux semaines à + 4°C.

❖ **Solution d'Alun de fer :**

- Alun de fer 1 g
- Eau distillé sterile 19 g

Ne pas autoclaver.

○ **Coloration gram.**

1-Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée

2-Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité

3-Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration

5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée

4-Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes

5-Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000)

Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne

L'étape 3 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatives ». En effet, celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycane - donc plus fine - qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites « Gram positif » la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une "couche" de peptidoglycane plus importante donc de ce fait ; plus épaisse. Elles resteront alors violettes

L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de redonner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme

Ces différences de coloration et les différences de formes (bacille ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries

Annexe 4.

○ Analyses statistiques :

❖ **Modèle linéaire généralisé: Des germes de l'eau en fonction des sites.**

Factor Type Levels Values
SITE fixed 5 1; 2; 3; 4; 5

1. Analyse de la variance pour E.coli, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
SITE	4	9,6837	4,8699	1,2175	1,99	0,110 ns
TMP	1	1,9753	1,4255	1,4255	2,33	0,133
SALI	1	0,1858	0,0033	0,0033	0,01	0,942
Ph	1	5,7943	5,8228	5,8228	9,52	0,003**
DO	1	0,0365	0,0042	0,0042	0,01	0,935
MES	1	0,2083	0,2083	0,2083	0,34	0,562
Error	50	30,5687	30,5687	0,6114		
Total	59	48,4527				

S = 0,781904 R-Sq = 36,91% R-Sq(adj) = 25,55%

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	15,305	5,543	2,76	0,008
TMP	0,04855	0,03179	1,53	0,133
SALI	-0,0079	0,1077	-0,07	0,942
Ph	-1,8738	0,6072	-3,09	0,003
DO	0,00512	0,06211	0,08	0,935
MES	-1,995	3,418	-0,58	0,562

2. Analyse de la variance pour les Coliformes totaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
SITE	4	24,189	11,761	2,940	2,87	0,032*
TMP	1	4,185	2,492	2,492	2,43	0,125
SALI	1	0,208	0,000	0,000	0,00	0,990
Ph	1	9,237	7,631	7,631	7,44	0,009**
DO	1	0,082	0,042	0,042	0,04	0,841
MES	1	0,075	0,075	0,075	0,07	0,788
Error	50	51,289	51,289	1,026		
Total	59	89,266				

S = 1,01281 R-Sq = 42,54% R-Sq(adj) = 32,20%

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	16,747	7,180	2,33	0,024
TMP	0,06419	0,04118	1,56	0,125
SALI	0,0018	0,1395	0,01	0,990
Ph	-2,1451	0,7865	-2,73	0,009
DO	-0,01619	0,08045	-0,20	0,841
MES	1,196	4,428	0,27	0,788

3. Analyse de la variance pour les Streptocoques totaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
SITE	4	6,3452	3,8834	0,9708	1,45	0,231ns
TMP	1	8,1890	1,5160	1,5160	2,27	0,139
SALI	1	5,1207	2,9301	2,9301	4,38	0,041*
Ph	1	2,4175	2,4127	2,4127	3,61	0,063ns
DO	1	0,0768	0,0682	0,0682	0,10	0,751
MES	1	0,0006	0,0006	0,0006	0,00	0,977
Error	50	33,4510	33,4510	0,6690		
Total	59	55,6007				

S = 0,817936 R-Sq = 39,84% R-Sq(adj) = 29,01%

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	0,727	5,798	0,13	0,901
TMP	0,05007	0,03326	1,51	0,139
SALI	0,2358	0,1127	2,09	0,041
Ph	-1,2062	0,6351	-1,90	0,063
DO	0,02074	0,06497	0,32	0,751
MES	-0,105	3,576	-0,03	0,977

4. Analyse de la variance pour les Streptocoques fécaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
SITE	4	6,9627	4,0463	1,0116	2,77	0,037*
TMP	1	1,7479	0,6013	0,6013	1,65	0,205
SALI	1	1,4836	0,4149	0,4149	1,14	0,292
Ph	1	3,9496	3,3230	3,3230	9,10	0,004**
DO	1	0,0019	0,0014	0,0014	0,00	0,951
MES	1	0,0925	0,0925	0,0925	0,25	0,617
Error	50	18,2549	18,2549	0,3651		
Total	59	32,4931				

S = 0,604234 R-Sq = 43,82% R-Sq(adj) = 33,71%

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	7,949	4,283	1,86	0,069
TMP	0,03153	0,02457	1,28	0,205
SALI	0,08874	0,08324	1,07	0,292
Ph	-1,4155	0,4692	-3,02	0,004
DO	0,00299	0,04800	0,06	0,951
MES	1,329	2,642	0,50	0,617

❖ Modèle linéaire généralisé : Des germes de la moule en fonction des sites.

Facteur Type Niveaux Valeurs
SITE fixe 5 1 2 3 4 5

1. Analyse de la variance pour E.coli, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
TMP	1	1,558	9,485	9,485	5,40	0,024*
SALI	1	17,934	5,197	5,197	2,96	0,092
Ph	1	18,054	3,647	3,647	2,08	0,156
DO	1	6,476	7,622	7,622	4,34	0,042*
MES	1	0,258	1,711	1,711	0,97	0,329
SITE	4	67,469	67,469	16,867	9,60	0,000***
Erreur	50	87,870	87,870	1,757		
Total	59	199,619				

Terme	Coef	Er-T coef	T	P
Constante	21,319	9,398	2,27	0,028
TMP	0,12523	0,05391	2,32	0,024
SALI	-0,3141	0,1826	-1,72	0,092
Ph	-1,483	1,029	-1,44	0,156
DO	0,2193	0,1053	2,08	0,042
MES	5,718	5,795	0,99	0,329

Observations aberrantes pour ECOLI2

Obs	ECOLI2	Ajust	Er-T ajust	Val résid	Val résid norm
15	0,00000	2,74513	0,48514	-2,74513	-2,23R
42	4,47714	1,94289	0,49212	2,53425	2,06R
43	0,00000	2,73179	0,58226	-2,73179	-2,29R

R indique une observation avec une valeur résiduelle normalisée importante.

2. Analyse de la variance pour les Coliformes totaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
TMP	1	3,4408	2,7788	2,7788	12,45	0,001***
SALI	1	2,8761	0,3431	0,3431	1,54	0,221
Ph	1	0,0015	0,0346	0,0346	0,16	0,695
DO	1	0,7103	0,3855	0,3855	1,73	0,195
MES	1	0,5346	0,3472	0,3472	1,56	0,218
SITE	4	0,5092	0,5092	0,1273	0,57	0,685
Erreur	50	11,1582	11,1582	0,2232		
Total	59	19,2308				

Terme	Coef	Er-T coef	T	P
Constante	8,093	3,349	2,42	0,019
TMP	0,06778	0,01921	3,53	0,001
SALI	-0,08069	0,06508	-1,24	0,221
Ph	-0,1445	0,3668	-0,39	0,695
DO	0,04932	0,03753	1,31	0,195
MES	-2,576	2,065	-1,25	0,218

Observations aberrantes pour COLITOT2

Obs	COLITOT2	Ajust	Er-T ajust	Val résid	Val résid norm
14	3,39811	4,56600	0,18267	-1,16789	-2,68R
50	2,77887	4,45631	0,16539	-1,67744	-3,79R

R indique une observation avec une valeur résiduelle normalisée importante.

3. Analyse de la variance pour les Streptocoques totaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
TMP	1	2,9445	0,1787	0,1787	1,00	0,323
SALI	1	0,3361	0,1751	0,1751	0,98	0,328
Ph	1	0,4176	0,1263	0,1263	0,70	0,405
DO	1	1,0013	1,0078	1,0078	5,62	0,022*
MES	1	0,0432	0,0337	0,0337	0,19	0,666
SITE	4	0,7364	0,7364	0,1841	1,03	0,403
Erreur	50	8,9634	8,9634	0,1793		
Total	59	14,4425				

Terme	Coef	Er-T coef	T	P
Constante	5,160	3,002	1,72	0,092
TMP	0,01719	0,01722	1,00	0,323
SALI	0,05764	0,05833	0,99	0,328
Ph	-0,2760	0,3288	-0,84	0,405
DO	-0,07974	0,03363	-2,37	0,022
MES	-0,802	1,851	-0,43	0,666

Observations aberrantes pour STREPTCO

Obs	STREPTCO	Ajust	Er-T ajust	Val résid	Val résid norm
2	3,65331	4,54747	0,15024	-0,89416	-2,26R
13	3,39811	4,47246	0,16167	-1,07435	-2,75R
37	3,39811	4,36857	0,16270	-0,97046	-2,48R
39	5,14613	4,27629	0,16403	0,86984	2,23R
41	3,65331	4,82323	0,16707	-1,16992	-3,01R

R indique une observation avec une valeur résiduelle normalisée importante.

4. Analyse de la variance pour les Streptocoques fécaux, en utilisant la SC ajustée pour les tests :

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
TMP	1	5,2939	0,7941	0,7941	2,94	0,093 ns
SALI	1	0,2852	0,0010	0,0010	0,00	0,953
Ph	1	0,6717	0,0656	0,0656	0,24	0,624
DO	1	2,1734	2,0414	2,0414	7,55	0,008**
MES	1	0,0097	0,0618	0,0618	0,23	0,635
SITE	4	0,9873	0,9873	0,2468	0,91	0,464
Error	50	13,5257	13,5257	0,2705		
Total	59	22,9470				

S = 0,520110 R-Sq = 41,06% R-Sq(adj) = 30,45%

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	6,250	3,687	1,70	0,096
TMP	0,03624	0,02115	1,71	0,093
SALI	-0,00427	0,07166	-0,06	0,953
Ph	-0,1990	0,4039	-0,49	0,624
DO	-0,11350	0,04131	-2,75	0,008**
MES	1,087	2,274	0,48	0,635

Unusual Observations for STREPF

Obs	STREPF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
39	5,14613	4,01465	0,20150	1,13148	2,36 R
41	3,17638	4,72282	0,20524	-1,54644	-3,24 R
50	2,77887	4,06710	0,18210	-1,28823	-2,64 R

R denotes an observation with a large standardized residual.