

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEINGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE NATIONAL DES SCIENCES DE LA MER ET
DE L'AMENAGEMENT DU LITTORAL



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
D'INGENIEUR D'ETAT EN SCIENCES DE LA MER

OPTION : Aquaculture

ÉTUDE ET CARACTÉRISATION DE LA RÉSISTANCE AUX
BÉTALACTAMINES CHEZ DES BACTÉRIES ISOLÉES DE LA
MOULE D'ÉLEVAGE "*Mytilus galloprovincialis*" AINSI
QUE DE SON ENVIRONNEMENT

Préparé par : LOUMACHI Menad

Présenté devant la commission d'examen formée de :

Présidente	Mme. HAOUI N.	Maître assistante classe A (E.N.S.S.M.A.L.)
Examinatrice	Mme. BOUFROUCHE F.	Maître assistante (U.S.T.H.B.)
Examineur	Mr. LOURGUIOUI H.	Maître assistant (E.S.S.M.A.L)
Promotrice	Mlle. ALOUACHE S.	Maître assistante classe A (E.N.S.S.M.A.L)

DEDICACES

Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers à mon cœur, pour ma mère, puis ma mère, puis ma mère et à mon père, que le Bon Dieu les protège pour moi.

Je le dédie à toute ma famille en particulier mon frère TAREK, et mes sœurs AMEL ET MESSAAD.

Grand dédicace à ma grande mère, mes oncles ABDELLEAH, FODEL, NOURDINE ET SAMIR. À mes tantes AICHA, NACERA, HAFIDA, MARYAMA et SAMIRA leurs époux (femmes) et enfants

Sans oublier, mes oncles et tantes du côté paternel, oncle SAID, RABEH et MOUSSA, tante FATIMA, TAKLIT et HOUHOU leurs époux (femmes) et enfants que le Bon Dieu les protège dans leur vie et les accepte au Paradis.

Je tiens vivement à dédier ce travail à mes cousins et cousines : RANIA, CHANEZ, NOUR EL HOUDA, MOHAMED ILYES, YASMINE, NIHEL, AYMEN, HANA, ABDELLEAH, HATEM, SAMI, SARA et SMAIL.

Mes amis HANAFI, RACHID, YUCEF, MOHAMED, ABD ELKADER, AIACHI, MADJID, NABIL, ABDOU, SID ALI, AMINE, SOFIANE, NADIR et BELAID.

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens tout d'abord à remercier Dieu pour sa clémence, sa miséricorde, pour m'avoir donné le courage et la volonté d'accomplir ce modeste travail.

Le travail présenté ici est la concrétisation d'une étroite collaboration entre notre Ecole ; ENSSMAL et le laboratoire de génétique, à la faculté des sciences biologiques, USTHB, dirigé par le Professeur BAKOUR R.

C'est un plaisir autant qu'un devoir d'exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à toute les personnes ayant contribué, chacune à sa manière, pour le bon déroulement de ma formation, ainsi qu'à la réalisation de ce modeste travail.

A cet effet je tiens à remercier

-Ma gratitude à Melle. ALOUACHE pour avoir proposé ce sujet, m'avoir guidé et assisté tout au long de ce travail.

-Mr. KHOUDJA propriétaire de la ferme conchylicole de Ain Taya, qui nous a fourni du matériel biologique « la moule » qui constitue l'ossature de notre étude, pour aussi sa grande sympathie, sa générosité et sa gentillesse.

-Ma gratitude et reconnaissance au professeur BAKOUR R., directeur de l'équipe de génétique à la faculté des sciences biologiques, d'avoir laissé les portes de son laboratoire ouvertes à plein temps afin de réaliser ce travail ainsi qu'à toute son équipe.

-Mme REFES, pour son aide précieux au laboratoire de microbiologie au niveau de l'école.

Je le dois aussi pour

-Madame HAOUI N. d'avoir, en dépit de ses nombreuses occupations, accepté de présider ce jury.

-Monsieur LOURGVIOUI H. qui a bien voulu examiner et corriger ce travail, qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

-Madame BOUFROUCHE F, qui a bien voulu juger ce travail. Je suis honoré de lui exprimer mes plus vifs remerciements.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : La morphologie interne de la moule.

Figure 2 : La répartition géographique des bivalves dans le monde.

Figure 3: Les principales stratégies des antibiotiques utilisées pour inhiber la croissance des bactéries.

Figure 4 : Structures chimiques de quelques β -lactamines.

Figure 5 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Figure 6 : Positionnement de la ferme conchylicole à Ain Chrob- Ain Taya.

Figure 7 : Dissection de la moule.

Figure 8 : Schéma de la disposition des antibiotiques.

Figure 9 : Description de l'image de synergie

Figure 10 : Résultats d'analyse bactériologique de l'eau pour les deux prélèvements (24 Mars et 06 Avril 2009)

Figure 11 : Résultats d'analyse bactériologique de la moule des deux échantillons (24 Mars et 06 Avril 2009).

Figure 12 : Taux de résistance des souches de la flore totale isolées des deux prélèvements vis-à-vis des bêta-lactamines.

Figure 13 : Taux de résistance des souches des coliformes totaux isolées des deux prélèvements d'eau vis-à-vis des bêta-lactamines.

Figure 14 : Nombre de souches résistantes aux antibiotiques isolées de l'eau de mer et de la moule.

Figure 15 : Illustration d'un test d'antagonisme positif.

Figure 16 : Illustration de la production d'une BLSE.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : La valeur nutritive d'environ 100g de moule.

Tableau II : Taux de filtration de certains mollusques bivalves.

Tableau III : Objectifs de productions tracées par les fermes conchylicoles en Algérie.

Tableau IV : Critères microbiologiques des zones de production conchylicole.

Tableau V : Les différentes mesures de paramètres physico-chimiques des deux échantillons (24 Mars 2009 et 06 Avril 2009).

Tableau VI : Identification des espèces de bactérie étudiées.

Tableau VII : Antibiotypes des souches vis-à-vis des antibiotiques

Tableau VIII : Nom des espèces qui présentent un test d'antagonisme positif

Sommaire

Introduction	1
I. Généralités	
I.1. La moule	2
I.1.1. Systématique de la moule	2
I.1.2. Morphologie de la moule	2
I.1.2.1. La coquille	2
I.1.2.1.1. Aspect extérieur et intérieur de la coquille	2
I.1.2.1.2. Charnière et ligament	2
I.1.2.2. Le corps	3
I.1.2.2.1. Manteau	3
I.1.2.2.2. Muscles adducteurs	3
I.1.2.2.3. Pied	3
I.1.2.2.4. Branchies	3
I.1.3. Les principaux systèmes de la moule	4
I.1.4. Cycle de reproduction	4
I.1.5. Ecologie et répartition géographique	5
I.1.6. Alimentation	6
I.1.6.1. Régime alimentaire	6
I.1.6.2. Valeur nutritive	6
I.1.7. Le mode trophique	7
I.1.7.1. La température	7
I.1.7.2. La salinité	7
I.1.7.3. L'oxygène dissous	8
I.1.8. La conchyliculture en Algérie	8
I.1.9. Devenir des bactéries dans l'eau de mer et leur concentration dans les mollusques	9
I.1.9.1. Devenir des bactéries	9
I.1.9.2. Facteurs influant sur la teneur microbienne globale	9
I.1.9.2.1. Facteurs physiques	9
I.1.9.2.2. Facteurs chimiques	9
I.1.9.2.3. Les matières organiques	10
I.1.9.2.4. La salinité	10
I.1.9.3. L'autoépuration des coquillages	10
I.1.10. Les risques sanitaires liés à la consommation des coquillages	10

I.1.11. Les bactéries.....	11
I.1.11.1. Les bactéries pathogènes.....	11
I.1.11.2. Les bactéries indicatrices.....	12
I.1.11.2.1. Les coliformes totaux (CT)	12
I.1.11.2.2. Les coliformes fécaux (CF)	12
I.1.11.2.3. <i>Escherichia coli</i>.....	13
I.1.11.2.4 <i>Enterococcus</i>.....	13
I.1.11.2.5. <i>Salmonella</i>.....	14
I.1.12. Contexte réglementaire régissant la production des coquillages.....	14
I.2. La résistance aux antibiotiques.....	16
I.2.1. Les antibiotiques.....	16
I.2.1.1. Classification et mode d'action.....	16
I.2.1.2. Les paramètres d'activité d'un antibiotique.....	17
I.2.2. Les bêta-lactamines.....	18
I.2.2.1. Définition.....	18
I.2.2.2. Mécanisme d'action des bêta-lactamines.....	18
I.2.2.3. Classification.....	18
I.2.2.4. Résistance aux antibiotiques.....	20
I.2.2.4.1. Résistance naturelle.....	20
I.2.2.4.2. Résistance acquise.....	21
I.2.2.5. Mécanismes de résistances aux β-lactamines.....	21
I.2.2.5.1. L'imperméabilité.....	21
I.2.2.5.2. Le système d'efflux.....	21
I.2.2.5.3. La modification de la cible.....	21
I.2.2.5.4. Mécanisme enzymatique.....	22
I.2.2.6. La résistance aux antibiotiques en milieu aquatique.....	23
II. MATERIEL ET METHODES	
II.1. Présentation de la zone d'étude.....	25
II.2. Contrôle de la qualité microbiologique de la moule et de son milieu d'élevage.....	26
II.2.1. Prélèvement et transport des échantillons.....	26
II.2.2. Analyse des paramètres physico-chimiques.....	26
II.2.3. Analyse microbiologique.....	27
II.2.3.1. Analyse microbiologique de la moule.....	27

II.2.3.1.1. Préparation de la moule (homogénéat).....	27
II.2.3.1.2. La recherche des germes fécaux par la méthode des NPP.....	28
II.2.3.1.2.1. Recherche des coliformes totaux.....	28
II.2.3.1.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants – <i>Escherichia coli</i>	28
II.2.3.1.2.3. Recherche et dénombrement des <i>Enterococcus</i>	29
II.2.3.1.3. Recherche des germes pathogènes : <i>Salmonella</i>	29
II.2.3.2. Analyse microbiologique de l'eau.....	30
II.2.3.2.1. Recherche des coliformes totaux, fécaux et <i>E.coli</i>	30
II.2.3.2.2. Recherche des <i>Enterococcus</i>	30
II.2.3.2.3. Recherche des germes pathogènes : <i>Salmonella</i>	31
II.3. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines dans l'eau.....	32
II.4. Caractérisation de la résistance chez les bactéries isolées de la moule et de son milieu	32
II.4.1. Identification bactériennes par galerie API 20 E.....	32
II.4.2. L'antibiogramme par la méthode de diffusion d'antibiotiques en milieu gélosé.....	33
II.4.3. Test d'antagonisme.....	34
II.4.4. Test de synergie.....	35

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Contrôle de la qualité de la moule et de son milieu d'élevage.....	36
III.1.1 Résultats des paramètres physico-chimiques.....	36
III.1.2. Résultats des analyses bactériologiques des moules et de l'eau de mer.....	37
III.1.2.1. Dénombrement des indicateurs de contamination dans l'eau de mer.....	37
III.1.2.2. Dénombrement des indicateurs de contamination dans les moules.....	39
III.2. La prévalence de la résistance bactérienne dans l'eau.....	40
III.3. Caractérisation de la résistance aux antibiotiques chez des bactéries isolées de l'eau et de la moule.....	42
III.3.1. Isolement et identification des souches résistantes.....	42
III.3.2. Étude de la résistance aux antibiotiques.....	43
III.3.3. La production d'une céphalosporinase inductible : Test d'antagonisme.....	46
III.3.4. Production de β -lactamase à Spectre Elargi.....	47
Conclusion	48

Références bibliographiques

Introduction

Les toxi-infections alimentaires dues principalement aux bactéries, virus, parasites et polluants toxiques sont la principale cause de morbidité à travers le monde. Celles avec des syndromes diarrhéiques sont le plus souvent banales sauf chez les personnes vulnérables avec une immunité diminuée tel que les enfants, les femmes enceintes et les immunodéprimées. Le traitement de choix pour ces gastroentérites nécessite souvent le remplacement du liquide et des électrolytes perdus. Les antibiotiques sont couramment prescrits pour les cas les plus sévères.

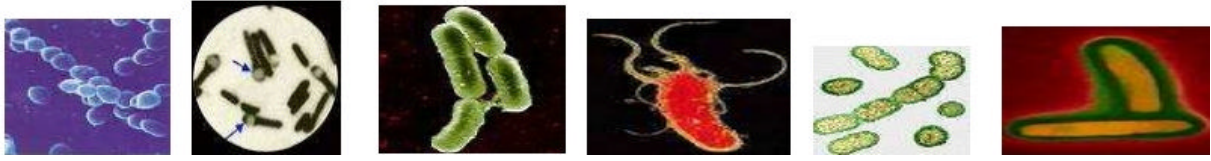
La contamination des aliments par des bactéries résistantes aux antibiotiques peut être un problème majeur de santé publique car il est possible que les déterminants des gènes codant pour la résistance aux antibiotiques portés par des éléments génétiques mobiles peuvent être transférés à d'autres bactéries humaines de signification clinique.

Comme dans de nombreux autres pays en développement, l'hygiène des denrées alimentaires et les matières premières, l'épidémiologie de la résistance aux antimicrobiens sont à leur débuts. En outre, l'absence de contrôles stricts sur l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine et en particulier dans les systèmes de production animale comme facteur de croissance augmente le risque de contamination des produits alimentaires par des germes multirésistants.

Les fruits de mer et spécialement les bivalves sont des filtreurs dont la qualité dépend de celle de leur milieu. Leur consommation souvent crue augmente le risque d'intoxication alimentaire. A cet effet, cette étude a été réalisée afin de fournir un profil de l'antibiorésistance chez des souches isolées à partir de moule d'élevage « *Mytilus galloprovincialis* » ainsi que de son milieu environnant.

Pour ce faire nous avons adopté le plan suivant :

- Contrôle de la salubrité microbiologique des moules ainsi que de la zone d'élevage.
- Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines chez des bactéries isolées de l'eau
- Caractérisation de la résistance aux antibiotiques pour les bactéries isolées de la moules et de l'eau.



Généralités



I. Généralités

I.1. La moule

I.1.1. Systématique de la moule

La moule est un animal aquatique dont le corps est mou d'où le nom de mollusque, enveloppé dans une coquille (bivalve) calcaire. Elle vit en colonies sur les rochers auxquels elles se fixent par des filaments qu'elles sécrètent : le byssus, elles se déplacent en rompant, les fils du byssus se fixent en sécrétant autres (**Roger, 1978**).

Les moules appartiennent à la classe des bivalves ou lamellibranches. Il existe plusieurs classifications des bivalves selon que les auteurs tiennent compte de la forme de la coquille, de celle de la charnière ou de la structure des branchies. Les moules appartiennent au genre *Mytilus* sont extrêmement répandu dans le monde (**Marteil, 1976**). Leur classification taxonomique est (**Lamarck 1819**) :

Embranchement	:	Mollusques
Classe	:	Lamellibranche
Ordre	:	Fillibranche
Sous ordre	:	Anisomyaria
Super famille	:	Mytiloidea
Famille	:	Mytilidae
Sous famille	:	Mytilinae
Genre	:	<i>Mytilus</i>
Espèce	:	<i>Galloprovincialis</i>

I.1.2. Morphologie de la moule (figure 1)

I.1.2.1. La coquille

I.1.2.1.1. Aspect extérieur et intérieur de la coquille

La coquille est plus ou moins renflée, pointue à l'une des extrémités et arrondie à l'autre, comprend deux valves égales qui sont unies par un ligament situé le long de la charnière dorsale, elle est généralement bleu-noire et peut toutefois être brune, voire jaune.

Comme la montre la figure 1, l'intérieur des valves est lisse et bleuâtre (**Marteil, 1976**).

I.1.2.1.2. Charnière et ligament

La charnière est réduite et l'union des valves est assurée à peu près exclusivement par le ligament. Ce dernier est essentiellement formé de conchyoline (substance apparentée à la chitine) (**Marteil, 1976**).

I.1.2.2. Le corps

I.1.2.2.1. Manteau

Il présente deux lobes qui adhèrent étroitement au corps dans la région dorsale, il est d'une couleur qui va du blanc au jaune plus ou moins foncé. Le manteau joue un rôle non négligeable dans la circulation de l'eau au niveau des branchies, il participe à la respiration, il assure la formation de la coquille, sa calcification et la sécrétion du ligament (**Marteil, 1976**).

I.1.2.2.2. Muscles adducteurs

Deux muscles adducteurs dont l'un, l'antérieur, est réduit, s'opposent à l'action mécanique du ligament : par leur contraction ils ferment la coquille (**Marteil, 1976**).

I.1.2.2.3. Pied

Le pied est une saillie musculaire située au-dessous de la masse viscérale. Sa grande mobilité est due à l'existence de deux systèmes de faisceaux musculaires (**Marteil, 1976**).

I.1.2.2.4. Branchies

Les branchies sont au nombre de deux. Reliées à la masse viscérale par l'intermédiaire de l'axe branchial, chacune est constituée par deux rangées de filaments aplatis.

Elles sont avant tout les organes de la respiration, car c'est à leur niveau que la majeure partie du sang s'oxygène ; mais son rôle principal est de retenir les particules en suspension dans l'alimentation. Ce sont elles enfin qui créent le courant d'eau sans lequel le mollusque ne peut vivre (**Marteil, 1976**).

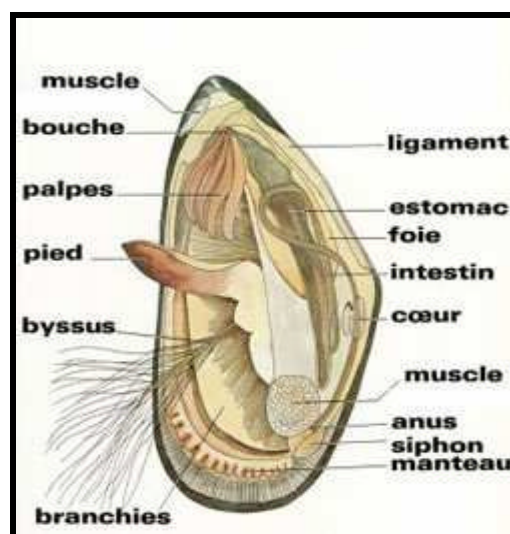


Figure 1 : La morphologie interne de la moule (**Marteil, 1976**).

I.1.3. Les principaux systèmes de la moule

La moule compte pour sa survie sur six systèmes :

- **Le système digestif** ; représenté par une bouche située à la partie antérieure du corps et l'œsophage très court, débouche sur l'estomac.
- **Le système circulatoire** ; le cœur, situé sur la face dorsale du corps, comprend deux oreillettes et un ventricule : il est entouré d'une mince membrane transparente : le péricarde.
- **Le système excréteur** ; comprend deux reins, disposés de chaque côté du corps entre le péricarde et le muscle adducteur postérieur et des glandes péricardiques auriculaires qui sont particulièrement développées chez la moule et entourent les oreillettes.
- **Le système nerveux** ; c'est un système rudimentaire représenté par trois paires de ganglions.
- **Le système reproducteur** ; chez la moule, la glande génitale ou gonade s'étend de façon diffuse dans le manteau.
- **Le système respiratoire** ; Les branchies sont au nombre de deux. Reliées à la masse viscérale par l'intermédiaire de l'axe branchial, chacune est constituée de deux rangées de filaments aplatis. Ces derniers ont une double fonction : la respiration et l'alimentation, respectivement, le ravitaillement en oxygène dissous et en plancton qu'il soit végétal ou animal. Toutefois, le manteau participe aussi à la respiration grâce à un échange direct de gaz avec l'eau de l'environnement (**Marteil, 1976**).

I.1.4. Cycle de reproduction

Les moules sont gonochoriques à sexes séparés et présentent plus d'un cycle de reproduction annuel. Le cycle de développement de la moule passe par deux phases : phase planctonique ; où les larves sont capables de nager, sans que la coquille ne soit formée. Et une phase sédentaire ; la larve, arrivée au moment de sa métamorphose et ayant trouvé un support convenable pour se fixer (**Marteil, 1976**).

I.1.5. Ecologie et répartition géographique

La moule vit fixée par son byssus sur des fonds dur très variés, dans la zone littorale et à des faibles profondeurs. Sa répartition bathymétrique est limitée vers la haute mer par le temps d'immersion (médio littoral- inférieur) et vers le bas, dans l'infra littoral (**Chinzi et al, 1998**).

La moule s'adapte à des conditions de milieu très variés et peut supporter de brusques variations de l'environnement.

Les moules qui appartiennent au genre *Mytilus* sont extrêmement répandus dans le monde. On en rencontre depuis les régions tropicales jusque dans les mers polaires, depuis la limite supérieure de hautes mers jusqu'à 6-9 m de profondeur, plus rarement 17 m (Mer du Nord) et même 30-40 m (Mer Baltique) (**Quero et Vayne, 1998**).

Mytilus galloprovincialis est commune surtout en Méditerranée, en particulier, sur les côtes algériennes, cette espèce est la plus dominante à côté de *Perna perna* et *Mytilus edulis* (**Gosling, 2003**), elle est trouvée également sur les côtes atlantiques et jusqu'à la Manche occidentale (**Marteil, 1976**). On la trouve aussi sur les côtes de la mer Noire, l'Adriatique, sur les côtes atlantiques de la France, de l'Espagne, du Portugal et du Maroc (**Lubet, 1973**) et au Japon (**Hosmi, 1978**).

Elle est également retrouvée dans les eaux saumâtres des lagunes côtières, comme le cas du lac Mellah en Algérie (**Gimazane, 1982**).

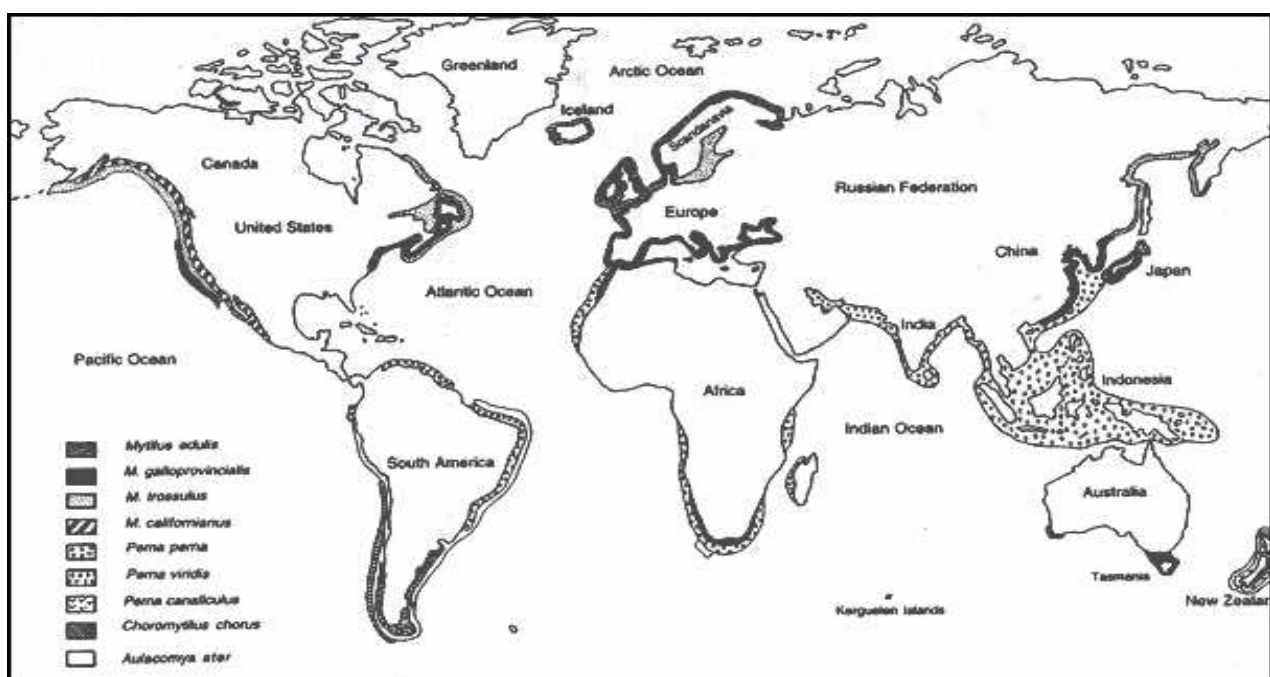


Figure 2 : La répartition géographique des bivalves dans le monde (**Gosling, 2003**).

I.1.6. Alimentation

I.1.6.1. Régime alimentaire

Comme tous les filtreurs, la moule vit, pour l'essentiel, aux dépens des particules en suspension dans l'eau (**Dardignac-corbeil, 1989**), elle se nourrit de petits éléments (phytoplancton, zooplancton, bactérie, fragment d'algues, des débris, vase...etc.), qu'elle tamise avec ses branchies (**MPRH, 2001**).

La qualité des aliments en suspension joue un rôle important. Si l'eau contient une grande proportion d'éléments sans valeur nutritive (grain de sable ou des particules de vase), la moule est obligée de filtrer des quantités très importantes pour récupérer les particules nutritives dont elle a besoin ; elle peut avoir bien du mal à assurer sa ration journalière. Sa croissance est alors ralentie, voire stoppée. (**MPRH, 2001**).

I.1.6.2. Valeur nutritive (www.passeportsante.net)

Les moules constituent pour l'homme, une source de nourriture ; en raison de leur teneur en nutriments importants : Phosphore, Fer, Zinc, Sélénium, Vitamine B1 (thiamine), Vitamine B2 (riboflavine) et Vitamine B12 (Une portion de 100 g de moules comble dix fois les besoins quotidiens en vitamine B12). Et puis en éléments moins importants : Cuivre, Vitamine B3 (niacine), Acide folique, Manganèse, Iode et Acide pantothénique ([vitamine B5](#)). Elles présentent aussi des teneurs intéressantes en protéines, glucides et lipides (Tableau 1).

Tableau I : La valeur nutritive d'environ 100g de moule (**Anonyme, 2005**).

Poids/ Volume	Moules bleues, bouillies ou vapeur, 100g (environ 12 moules moyennes)
Calories	172
Protéines	23.8g
Glucides	7.4g
Lipides	4.5g
Fibres alimentaires	0.0g

I.1.7. Le mode trophique

La filtration est le mode trophique de la moule, elle s'effectue au niveau des branchies. Une fois captées, Les particules (diatomées, dinoflagellés, détritiques organiques, bactéries, flagellés et protozoaires, matière en suspension « MES ») sont attirées par un courant d'eau créé par les bandes ciliaires et dirigées vers les sillons marginaux ou dorsaux et convoyées vers les palpes labiaux et la bouche. La digestion est presque exclusivement intracellulaire, les éléments non digérés sont rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur (Marteil, 1976).

Tableau II : Taux de filtration de certains mollusques bivalves (Deslous-Paoli *et al.* in Guillaud, Romana, 1996).

Espèces de Bivalves	Volume d'eau filtrée	
	Litre/heure/gramme de chair	Litre/heure/kg d'animal vivant (estimation)
Moules	3.5 à 13	175 à 650
Coques	3.5 à 9	140 à 360
Huîtres creuses	4 à 5.5	100 à 150
Palourdes	~3	~150

La moule peut filtrer l'eau pendant 18.5 à 24 heures par jours sans interruption avec une vitesse moyenne de 20 l/h. Cependant, la durée et le temps de filtration varient en fonction des différents paramètres à savoir (Marteil, 1976) :

I.1.7.1. La température

La température est l'un des phénomènes les plus facilement perceptibles et mesurables. Son influence sur le comportement des mollusques est communément admise mais elle mérite d'être succinctement précisée (Deltreil, 1974).

La majorité des bivalves marins tolèrent une large gamme de température qui oscille entre 3°C et 44°C (Rosling, 2003). *Mytilus galloprovincialis* trouve une très bonne croissance et filtration entre 23°C et 28 ° C. Elle est ralentie en dehors de cet intervalle (Marteil, 1976 ; Riva et Masse, 1983).

I.1.7.2. La salinité

La caractéristique principale de l'eau de mer est d'être salée. Parmi les sels dissous, certaines substances existent à de très fortes concentrations comme les ions chlore (Cl) et sodium (Na).

Selon **Ranzoni, 1963 in Marteil, 1976**, *Mytilus galloprovincialis* trouve une bonne filtration entre 30 PSU et 38 PSU. En dehors de cet intervalle la filtration est ralentie voire même stoppée pour des valeurs inférieures à 15 PSU ou supérieures à 40 PSU.

I.1.7.3. L'oxygène dissous

C'est le plus important des gaz en ce qui concerne la vie des animaux. Sa raréfaction ou une chute brutale de sa pression partielle peut entraîner la mort de nombreux mollusques.

Sa concentration (exprimée en millilitres ou en milligrammes d'oxygène dissous par litre d'eau de mer ou par pourcentage de saturation) est la résultante d'actions de facteurs antagonistes mettant en jeu des processus physiques, chimiques et biologiques (**Deltreil, 1974**).

L'oxygène dissous a également une certaine incidence sur la filtration. Chez *Mytilus galloprovincialis*, la filtration nécessite au moins une quantité de 3 mg/l d'oxygène dissous (**Marteil, 1976**).

I.1.8. La conchyliculture en Algérie

En plus de nos 1200 km de côtes, le littoral algérien bénéficie de l'influence du courant atlantique concentré en pigments chlorophylliens et en phytoplancton, de la nourriture variée donc, pour les coquillages filtreurs. Par ailleurs, la conchyliculture représente aussi une solution pour protéger nos ressources marines. Face aux pressions constatées, exercées par l'homme sur le littoral et aux dégradations de l'environnement marin, la conchyliculture littorale constitue un des outils de gestion intégrée de la bande côtière et des ressources littorales les plus performantes.

Le MPRH Algérien a donné en 2007, des prévisions pour la production conchylicole (tableau III), cependant jusqu'à l'heure actuelle, ces objectifs sont très loin.

Tableau III : Objectifs de productions tracées par les fermes conchylicoles en Algérie (Ministère de la pêche et des ressources halieutiques, 2007)

Wilayas	Sites	Objectifs de production annuelle
Alger	Ain Chrob	50 T de moule et d'huître
Alger	Ain Chrob	50 T de moule en démarrage
Tipaza	Ain Tagourait	50 T de moule
Tipaza	Gouraya	50 T de moule
Tlemcen	Maârouf	50 T de moule

I.1.9. Devenir des bactéries dans l'eau de mer et leur concentration dans les mollusques

I.1.9.1. Devenir des bactéries

Le mouvement de l'eau provoqué par les vagues et les courants de surface permet la dilution, la diffusion des rejets chargés en bactéries.

Le délai de survie et le nombre de ces bactéries augmentent lorsqu'elles sont piégées dans le sédiment après décantation. Ces micro-organismes évoluent vers un état de dormance et demeurent car leur pouvoir pathogène est conservé (**Colwell, 1987**).

Des expériences *in vitro*, ont montré qu'il existait trois phases distinctes permettant la survie des germes :

- Une phase de repos au cours de laquelle la population bactérienne enregistre une légère augmentation, puis une baisse.
- Une phase de mortalité de la population bactérienne.
- Une phase finale pendant laquelle est constatée la survie des germes les plus résistants, qui se sont acclimatés, ou adaptés au nouveau milieu (**Plusquellec, 1990**).

I.1.9.2. Facteurs influant sur la teneur microbienne globale

I.1.9.2.1. Facteurs physiques

- La marée, tout au moins sur les côtes qui la subissent, est un élément important qui intervient pour entraîner les contaminants vers le large.
- L'éclairement participe, grâce aux radiations ultraviolettes, aux phénomènes d'épuration, mais seulement dans la couche d'eau superficielle.
- Quant à la température, son influence est difficile à mettre en évidence en milieu ouvert. Il en est autrement en milieu confiné.

I.1.9.2.2. Facteurs chimiques

L'action de l'oxygène dissous dans le processus d'épuration est connue. Les séries d'analyses sur le littoral atlantique ont montré, au point de rejet des effluents, une teneur faible ou nulle en oxygène, qui augmente au fur et à mesure qu'on s'en éloigne, tandis que la microflore entérique diminue. Il est naturellement difficile d'établir une relation de cause à effet dans le cas d'un tel milieu où d'autres phénomènes interviennent simultanément (**Mazières, 1963**).

I.1.9.2.3. Les matières organiques

Celles-ci accompagnent les pollutions d'égout, en fournissant à la microflore un matériel de survie indispensable. Selon **Brisou (1970)**, le facteur nutritif est le facteur essentiel de la raréfaction des bactéries dans les eaux naturelles.

I.1.9.2.4. La salinité

La salinité est paramètre qui influe sur la survie des bactéries dans l'environnement. En effet, **Mazières (1963)** a remarqué une certaine accoutumance des germes au milieu, compte tenu de la disparition massive dans la première partie du parcours. Cette dernière se manifeste de façon plus sensible lorsque les salinités restent peu élevées. Il en est de même lorsque les microbes sont émis dans un milieu très chloruré mais dont cette chloruration varie peu d'amont en aval. Par contre, lorsque l'émission a lieu dans des eaux peu ou pas salées mais dont la salinité augmente rapidement, la disparition des coliformes est plus rapide.

I.1.9.3. L'autoépuration des coquillages

L'autoépuration des coquillages est un phénomène physiologique qui met en œuvre le processus de « drinking », comme les mollusques ont la propriété de filtrer des grandes quantités d'eau à travers leurs appareils digestifs, il est possible de les placer dans des eaux propres, ou ayant subit déjà une désinfection par des moyens physique et chimiques et leur permet de s'autoépurer (**Plusquellec, 1990**).

I.1.10. Les risques sanitaires liés à la consommation des coquillages

Les bivalves dans le milieu marin jouent un rôle de « piègeurs » de bactéries en raison de leur capacité de filtration importante d'une part (Tableau 3), et d'autre part ils donnent la chance de survie aux bactéries qu'elles retiennent, quelque soit leur nature. Cette accumulation de bactéries dépend de la nature des germes et de l'état physiologique des bivalves (**Guillaud et Romana, 1996**).

Les germes de contamination se concentrent non seulement dans le liquide intervalvaire, mais aussi dans les différents segments du corps, à savoir l'hépatopancréas, les branchies, les muscles adducteurs des valves et le manteau (**Brisou et al., 1962**).

L'ingestion des coquillages peut représenter un danger pour la santé de l'homme. Ces accidents d'origine bactériennes ou virales résultent soit par la contamination directe des coquillages dues aux eaux polluées dans lesquelles ils vivent, soit lors du transport, de la manutention ou de la préparation du fruit de mer en vue de la consommation, ils peuvent provoquer des diarrhées et des hépatites, ce sont d'ailleurs les manifestations les plus fréquentes des toxi-infections alimentaires.

Le 1^{er} cas d'intoxication a été signalé en 1793 en Colombie anglaise, où plusieurs membres d'un équipage ayant consommés des moules cueillies dans un port, furent pris quelques heures après des troubles, entraînant la mort de certains d'entre eux (**Cerbom, 1964**).

En 1990, plus de deux cents cas ont été enregistrés en France à la suite de consommation de moules importées du Danemark (**Vivares, 1991**).

En France pendant l'année 1990 toujours, les produits de la mer ont été incriminés dans 29 des 225 cas de toxi-infections alimentaires collectives pour lesquels l'aliment en cause avait pu être retrouvé (**Pignault et al., 1991 in Poggi et Le Gall, 1995**).

Les risques liés à la consommation des coquillages sont essentiellement liés à quelques bactéries, virus et toxines. Dans notre étude, nous nous intéressons uniquement aux problèmes bactériens.

I.1.11. Les bactéries

I.1.11.1. Les bactéries pathogènes

Ces germes proviennent le plus souvent des côtes polluées par les égouts, les effluents et d'autres sources de pollution. Ils peuvent également être natifs du milieu marin.

Les bivalves peuvent être des vecteurs de nombreux germes pathogènes dont les plus fréquents peuvent engendrer des infections et des maladies épidémiques ou sporadiques tel que *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. algineticus* et *V. vulnificus*) et *Clostridium* représenté principalement par *C. botulinum* et *C. perfringens*. (**Hackney et Dicharry, 1988. in China et al., 2003**). Cependant, plusieurs d'autres pathogènes comme *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*,...etc. ont également été isolés (**Elliot et Kvenberg, 2000 ; Rocourt et al. 2000. in China 2003**).

I.1.11.2. Les bactéries indicatrices

Ce sont des germes d'origine fécale qui existent dans le même environnement que les germes pathogènes mais en nombre plus élevé. Ils sont facilement détectables et essentiellement représentés par les coliformes, les *E. coli*, *E. faecalis* (entérocoques), les *Clostridium* ; les principaux groupes sont :

I.1.11.2.1. Les coliformes totaux (CT)

Les coliformes totaux sont définis par l'organisation internationale de standardisation (ISO), comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, non sporogène, Gram négatifs, oxydase négatif, facultativement anaérobies, capable de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agent de surface possédant des activités inhibitrice similaire, et capable de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48heures, à des températures de 35-37°C. Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (Rodier, 2005).

I.1.11.2.2. Les coliformes fécaux (CF)

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux possédants les mêmes caractères cités précédemment et sont capable de fermenter le lactose à une température de 44,5 ° C (Rodier, 2005). L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (80-90% des thermotolérants détectés) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. Bien en que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination fécale, mais plusieurs coliformes fécaux proviennent des matières organiques tels que les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de transformation alimentaire (Barthe et al., 1994 ; 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 pollution produite par les matières fécales (CEAEQ, 2000).

I.1.11.2.3. *Escherichia coli*

Coliforme fécale qui produit de l'indole à partir du tryptophane à $44^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$. La présence d'*Escherichia coli* dans une eau (comme dans un aliment) représente le meilleur indice de contamination fécale d'origine humaine ou animale. En effet, *E.coli* ne fait pas partie de la flore microbienne du sol et des eaux, mais de celle de la partie terminale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. Cependant, c'est un germe très sensible aux conditions hostiles de l'environnement. Il est considéré comme un très bon indicateur de contamination fécale récente (OMS, 2000 ; Rodier, 2005).

I.1.11.2.4 *Enterococcus*

La classification générale des Streptocoques fécaux a été modifiée dans les années 80 par la création d'un nouveau genre, *Enterococcus* parmi les espèces appartenant antérieurement au genre *Enterococcus* de groupe sérologique D de la classification de Lancefield. *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les deux espèces les plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen *et al.*, 1977 ; Gleeson et Gray, 1997 in Chevalier, 2003). Quant aux *Streptocoques* du groupe D susceptibles de contaminer les eaux d'approvisionnement, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus*.

L'intérêt à l'égard des entérocoques s'explique par le fait que, comparativement aux coliformes, ils sont plus résistants à des conditions environnementales difficiles et persistent plus longtemps dans l'eau (Chevalier, 2003).

Buttiaux (1958) a souligné l'intérêt de l'association « *Escherichia coli* *Enterococcus faecalis* » dans la recherche des contaminations alimentaires. Ces germes, hôtes habituels de l'intestin de l'homme et des animaux, constituent un excellent indice de souillure fécale. L'entérocoque a une durée de vie nettement plus longue que les coliformes. D'une manière générale, on peut dire que pour une charge microbienne donnée, le nombre des Streptocoques fécaux est généralement plus faible que celui d'*Escherichia coli* et dans des conditions de sédimentation favorables, l'entérocoque disparaît plus vite qu'*Escherichia coli* de la couche d'eau superficielle, mais subsiste longtemps sur le fond.

I.1.11.2.5. *Salmonella*

Les *Salmonelles* sont des entérobactéries dont le caractère essentiel est de ne pas fermenter le lactose. Ces dernières font partie de la flore commensale des humains et des animaux à sang chaud. Elles sont responsables après pénétration par voie orale, de nombreuses toxi-infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives. Elles peuvent être éliminées dans les selles des sujets malades ou porteurs asymptomatiques (sains) (Rodier, 2005).

I.1.12. Contexte réglementaire régissant la production des coquillages

Selon les normes en vigueur fixées par l'article 7 de l'arrêté du 3 Safar 1418 correspondant au 8 juin 1997 par le ministère de l'agriculture et de la pêche (Tableau 4), les indicateurs de contamination retenus sont les coliformes fécaux, *Escherichia coli* et *Salmonelle*, à raison deux échantillons par an.

Les valeurs représentées dans le tableau IV, représentent les valeurs guides et impératives pour chaque germe.

Tableau IV : Critères microbiologiques des zones de production conchylicole (JORADP N°71, Décret N° 01-139, 1997)

Classes	Critères microbiologiques	Conditions et modalités
Zone A Salubre	90% des valeurs < 300 C.F. ou < 230 <i>E. coli</i> / 100g* et jamais > 1000	Les coquillages vivants sont récoltés et consommés directement sans passage par un centre de purification.
Zone B Peu contaminée	90% des valeurs < 6000 C.F. ou 4600 <i>E. coli</i> / 100g* et jamais > 60 000 ou 46 000 <i>E. coli</i>	Les coquillages vivants doivent subir un reparcage dans une zone salubre pendant 1 à 2 mois ou bien on les met dans un centre de purification pendant 24 à 48h.
Zone C Fortement contaminée	90% des valeurs < 60 000 C.F. ou 46 000 <i>E. coli</i> / 100g*	Les coquillages vivants sont mis au centre de purification pendant plus de 48h ou bien dans une zone salubre pendant 2 mois.
Zone D Interdite	Zones de production ne satisfaisant pas aux conditions exigibles pour un classement A, B ou C, ou n'ayant pas fait l'objet d'une étude de zone : zones portuaires, zones de rejet d'effluents.	Les coquillages ne doivent pas être récoltés ni consommés (Exploitation interdite).

* par 100 g de chair et de liquide intervalvaire.

➤ Pour la Qualité requise des eaux conchylicoles, concernant le pH, la température, la coloration, la matière en suspension, la salinité, l'oxygène dissous ainsi les hydrocarbures d'origine pétrolière, les substances organo-halogénées, les métaux lourds et les substances influençant le goût du coquillage ; décrite par la Directive du conseil des communautés européennes du 30 Octobre 1979, on les retrouve regroupés dans un tableau en annexe 1.

I.2. La résistance aux antibiotiques

I.2.1. Les antibiotiques

Lorsque notre corps est « débordé » par l'attaque de bactéries, l'organisme ne peut pas toujours se défendre seul, il a besoin d'aide. Les antibiotiques sont donc parfois nécessaires pour éliminer les bactéries ou empêcher leur prolifération et renforcer les défenses du corps. Il s'agit de molécules capables d'inhiber à faible concentration la croissance bactérienne et pas ou peu toxiques à cette concentration pour les cellules de l'hôte.

À l'origine, les antibiotiques sont des molécules synthétisées par des micro-organismes : champignons et bactéries, notamment ceux qui vivent dans le sol. Ils ont un effet ciblé sur les bactéries et sont totalement inefficaces sur les virus. Actuellement, l'arsenal thérapeutique comprend des agents anti- bactériens semi-synthétiques, obtenus à partir de la modification chimique d'antibiotiques « naturels », et des molécules entièrement synthétiques (entièrement chimiques).

In vitro, les antibiotiques agissent selon deux modes d'action. Soit ils sont bactéricides, ils tuent les bactéries, soit ils sont bactériostatiques, ils ralentissent leur croissance, leur multiplication. Toutefois la concentration à laquelle ils sont administrés peut influencer ce mode d'action. Certains antibiotiques bactériostatiques deviennent bactéricides à forte dose.

I.2.1.1. Classification et mode d'action

Les agents antibactériens peuvent être classés selon leur structure chimique en 16 familles: les bêta-lactamines, la vancomycine, la fosfomycine, les aminosides, les phénicoles, les tétracyclines, les macrolides, les lincosamides, les streptogramines, l'acide fusidique, les sulfamides, les quinolones, les rifamycines, les nitro-imidazoles, les nitrofuranes et les polymyxines (Colmen et al., 1994).

Leur classification selon le mode d'action nous permet de déterminer cinq mécanismes d'action qui peuvent toucher soit la structure bactérienne, soit une fonction métabolique ; il s'agit de (Colmen et al., 1994) :

- Action sur la paroi bactérienne : bêta-lactamines.
- Action sur la structure de la membrane plasmique : polypeptides (colistine).
- Action sur la synthèse protéique : aminosides, macrolides, lincosamides, cloramphénicol, tétracycline.

- Action sur les acides nucléiques : quinolones.
- Interférence avec le métabolisme de la bactérie : exemple sulfamides.

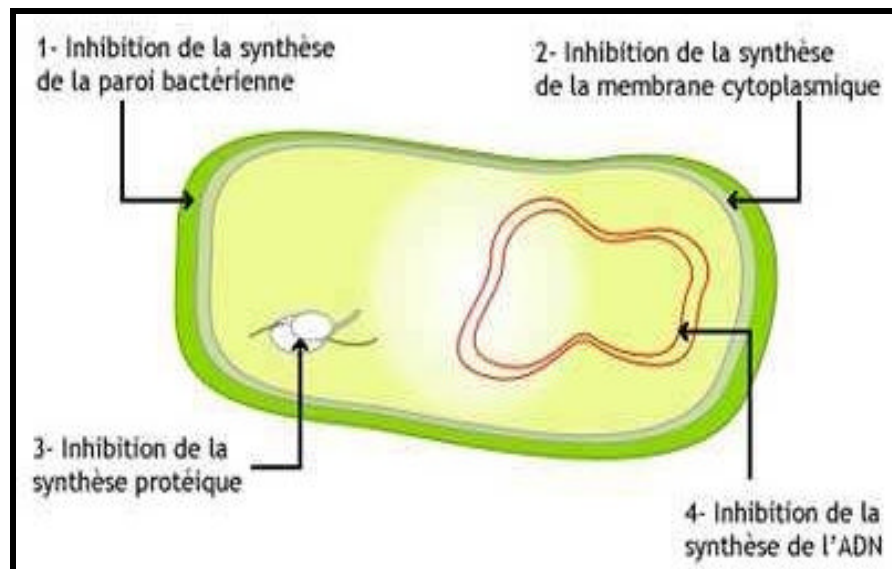


Figure 3: Les principales stratégies des antibiotiques utilisées pour inhiber la croissance des bactéries (SCHLEMMER et JARLIER, 2008).

I.2.1.2. Les paramètres d'activité d'un antibiotique

De nombreux paramètres sont à prendre en compte pour définir l'activité d'un antibiotique sur un germe.

- Le spectre d'activité d'un antibiotique est la liste des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique agit. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps suite à l'apparition de résistances bactériennes.
- La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) correspond à la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) totalement la multiplication bactérienne, après 18 à 24 heures de contact à 37°.
- La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est la plus faible concentration permettant de détruire (bactéricide) 99,9% des bactéries après 18 à 24 heures de contact avec l'antibiotique.
- La CMI et la CMB sont caractéristiques d'un antibiotique pour une souche donnée.
 - Quand le rapport $CMB / CMI = 1$, l'antibiotique est dit "bactéricide absolu"
 - Quand le rapport CMB / CMI proche de 1, l'antibiotique est dit "bactéricide"
 - Quand le rapport $CMB / CMI > 2$ l'antibiotique est dit "bactériostatique"

I.2.2. Les bêta-lactamines

I.2.2.1. Définition

Les β -lactamines représentent une classe majeure d'antibiotiques. Elles renferment un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence constante d'un cycle β -lactame indispensable à l'activité antibiotique et leur faible toxicité associée à un mode d'action complexe sur des protéines liant la pénicilline (PLP) (Cavallo *et al.*, 2004).

I.2.2.2. Mécanisme d'action des bêta-lactamines

Le mode d'action est identique pour toutes les bêta-lactamines, elles agissent de manière directe sur la paroi bactérienne (Figure 3) en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (Cavallo *et al.*, 2004 in Chettih et Sifi, 2007). Le mécanisme d'action des bêta-lactamines peut être résumé comme suit :

- Pénétration de l'antibiotique à travers la paroi bactérienne par les porines.
- Fixation aux PLP (protéines de liaison à la pénicilline) : ce sont des protéines localisées au niveau de la membrane externe avec une activité de carboxypeptidase ou transpeptidase terminale de l'assemblage du peptidoglycane.
- Inhibition de la transpeptidation (par analogie de structure avec le dipeptide).
- Activation des autolysines (élimination ou inactivation d'un inhibiteur de ces enzymes, qui sont des hydrolases).
- Mort bactérienne, accompagnée d'une lyse cellulaire.

I.2.2.3. Classification

La famille des β -lactamines se compose de quatre groupes de molécules : les pénames, les céphèmes, les monolactames et les pénèmes, auxquels il faut ajouter les inhibiteurs de β -lactamases dont certaines structures sont incluses dans ces groupes (figure 4). La structure de base des β -lactamines est le noyau β -lactame qui contient la structure carbonyle lactame indispensable à l'activité de ces molécules (Bryskier, 1999).

- Les pénames renferment les pénicillines, les oxa-1-pénames et les carbapénames. Ces composés sont constitués de trois parties, un noyau thiazolidine fixé sur un cycle β -lactame et une chaîne latérale sur le C6 qui permet de les différencier. On distingue 7 groupes dont les aminopénicillines (ampicilline), les ureidopénicillines (pipéracilline) et les carboxypénicillines (ticarcilline) (Bryskier, 1999).

- Les céphèmes se caractérisent par un cycle β -lactame auquel est accolé un hexa-cycle insaturé (dihydrothiazine). Il existe plusieurs classifications des céphèmes : chimique, microbiologique et pharmacologique. Sur le plan chimique, les céphèmes peuvent être divisés en trois groupes en fonction de l'atome en position 1 du cycle hexa-atomique : soufre (céphalosporines), méthylène (carbacéphèmes) ou oxygène (oxa-1-céphèmes). Chaque groupe peut être subdivisé en fonction de la présence ou non en 7-a d'un groupement méthoxy : les céphamycines (céfoxitine) et les céphalosporines vraies. Les céphalosporines sont traditionnellement divisées en première, deuxième, troisième et quatrième génération (**Bryskier, 1999**).
- Le groupe des pénèmes renferme des molécules synthétiques. Il se caractérise par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé attaché au cycle β -lactame. En fonction de l'hétéro-atome fixée en position 1, on distingue trois groupes : les pénèmes (1-soufre), les carbapénèmes et les oxa-1-pénèmes. Les carbapénèmes possèdent un large spectre antibactérien incluant les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Bryskier, 1999**).
- Les monolactames se caractérisent par une structure monocyclique (noyau β -lactame). Les monolactames naturels sont de faibles agents antibactériens mais ils se caractérisent par une très bonne stabilité à l'action des β -lactamases. Le premier monolactame développé et utilisé en clinique est l'aztréonam qui dérive d'un monolactame naturel isolé de *Chromobacterium violaceum* et possède une activité primaire sur les bactéries à Gram négatif (**Bryskier, 1999**).

Les inhibiteurs de β -lactamases sont des β -lactamines ayant en commun un noyau pénème où l'atome de soufre est remplacé par un atome d'oxygène pour l'acide clavulanique, et par un soufre pour le sulbactam et tazobactam. Ces derniers ont une faible activité bactérienne, mais ils sont intéressants par leur effet neutralisant des β -lactamases (**Bryskier, 1999**).

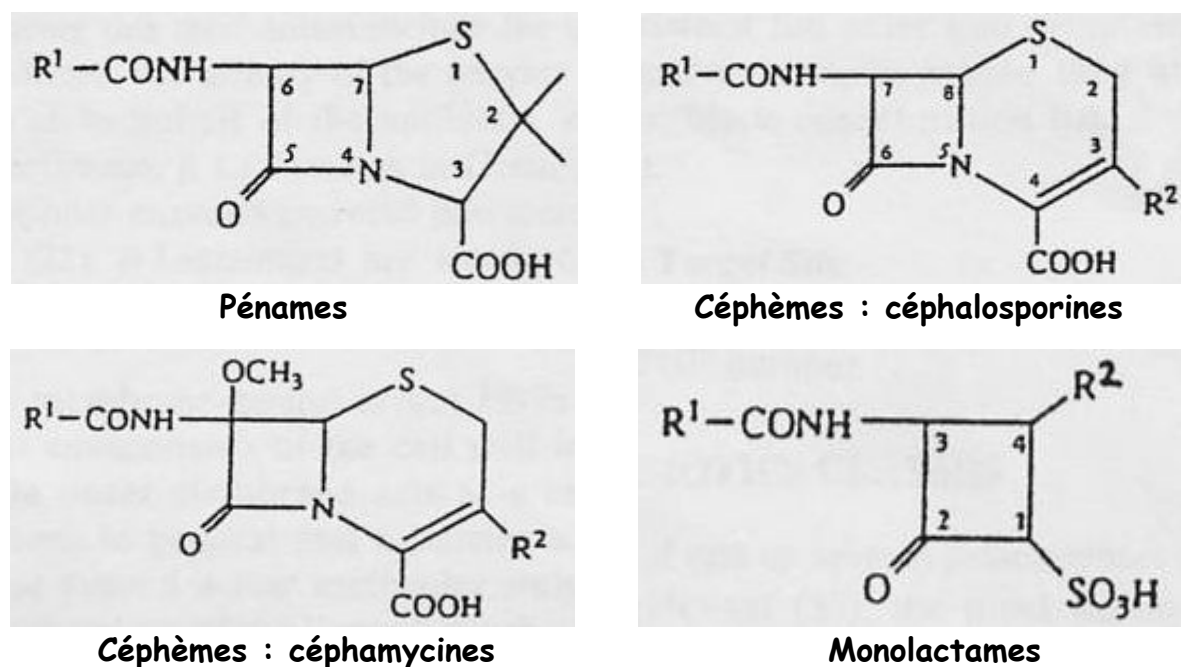


Figure 4 : Structures chimiques de quelques β -lactamines (Cavallo, 2001)

I.2.2.4. Résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses en début des années 40. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactérienne et la dissémination des souches multi-résistantes. La résistance bactérienne aux antibiotiques se distingue par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Mainardi *et al.*, 1996).

Sur le plan génétique, la résistance aux antibiotiques résulte soit d'une résistance naturelle soit d'une résistance acquise :

I.2.2.4.1. Résistance naturelle

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe. Elle est toujours transmissible à la descendance et détermine le phénotype sauvage des espèces bactériennes. Elle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques (Andreu et Mainardi, 2003).

I.2.2.4.2. Résistance acquise

C'est une résistance propre à certaines souches d'une espèce naturellement sensible à l'antibiotique. Elle se manifeste sous l'effet d'une pression de sélection et résulte soit d'une mutation, soit le plus souvent d'un apport de gènes par le biais de plasmides, transposons ou intégrons (**Jarlier et al., 1988**).

Les résistances extrachromosomiques sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises), contagieuses et se transmettent horizontalement entre les bactéries d'une même espèce voir même éloignées. Elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques pour entraîner une multi-résistance (**Martinez et Baquero, 2000 ; Davies, 1997**).

I.2.2.5. Mécanismes de résistances aux β -lactamines

Il y a plusieurs mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques :

I.2.2.5.1. L'imperméabilité

C'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance naturelle. Mais peut être acquise par une mutation affectant la structure ou le nombre des porines. C'est chez *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Serratia*, *klebsiella* et *Pseudomonas aeruginosa* que ce mécanisme a le plus d'importance : une ou plusieurs modifications des porines sont à l'origine d'une résistance acquise aux β -lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, aux triméthoprimes et aux tétracyclines.

I.2.2.5.2. Le système d'efflux

L'hyper-expression des systèmes d'efflux représente un mécanisme de résistance aux antibiotiques très répandu chez les entérobactéries. Cette hyperproduction résulte d'une sélection d'une mutation, elle consiste à rejeter les antibiotiques dans le milieu extérieur grâce à des protéines membranaires agissant comme pompes moléculaires (**Van Bambeke et al., 2003**).

I.2.2.5.3. La modification de la cible

Une modification des PLP est principalement décrite chez les bactéries à Gram négatif. La modification d'affinité des PLP résulte de deux mécanismes :

- Diminution de l'affinité des PLP pour les β -lactamines
- Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP ayant naturellement une faible affinité pour les β -lactamines.

I.2.2.5.4. Mécanisme enzymatique

Il constitue le principal mécanisme de résistance des bactéries à Gram négatif, ce qui n'exclue en rien son existence rare chez les bactéries à Gram positif (Pierre & Gutmann, 1994).

Il s'agit de la production de β -lactamases capables d'hydrolyser le noyau β -lactame et d'inactiver la molécule d'antibiotique sur le plan structurel. Il existe quatre classes : A, C et D qui sont des pénicillinases et céphalosporinases à site actif serine et une classe B, représentée majoritairement par de métallobapénémases (Cavallo, 2001).

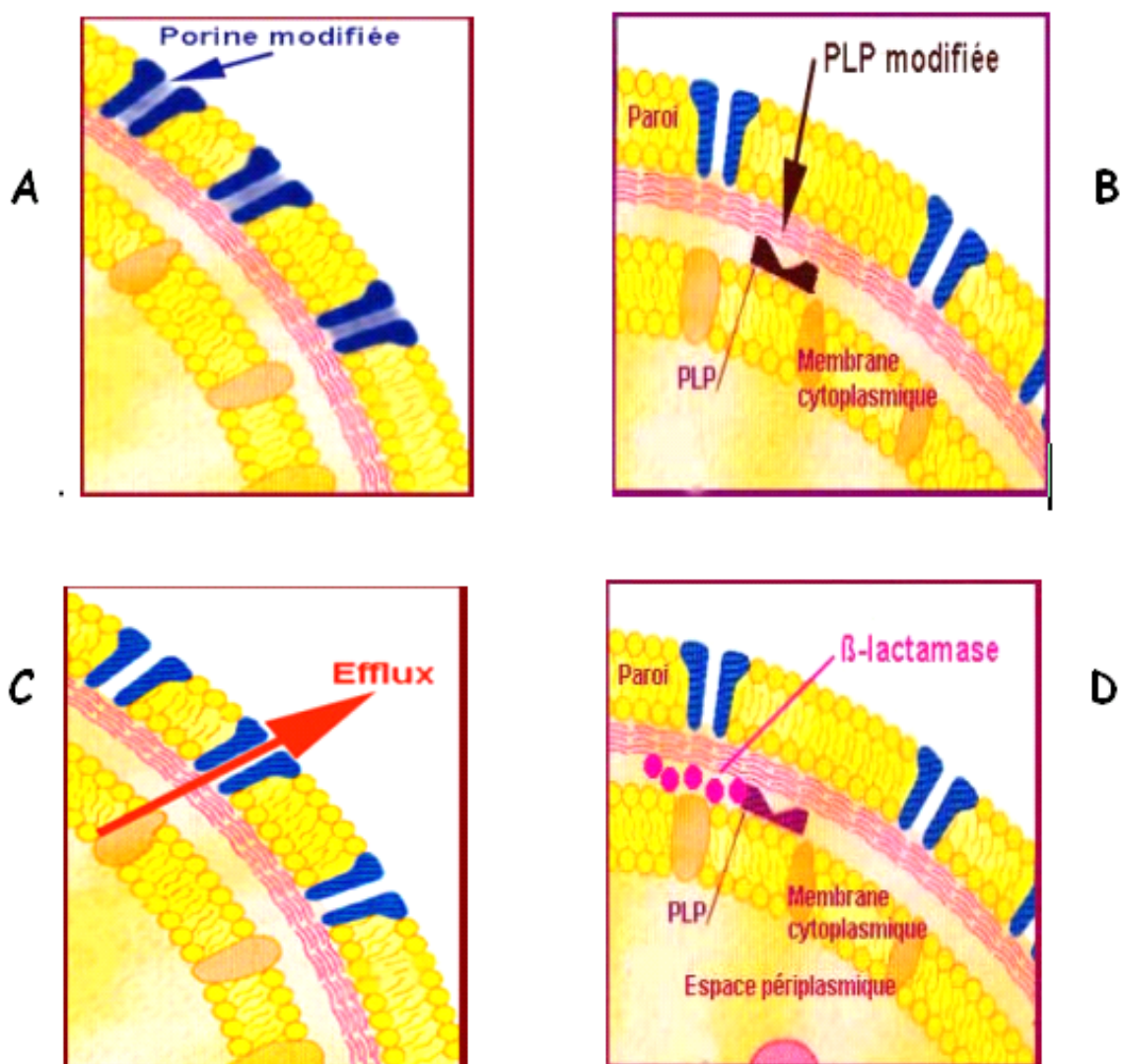


Figure 5 : Schéma représentant les différents mécanismes de résistances.

I.2.2.6. La résistance aux antibiotiques en milieu aquatique

Les produits de la mer constituent une part importante de nourriture pour la population mondiale et jouent un rôle crucial dans l'économie des pays ainsi que dans l'environnement aquatique comme un composant biotique naturel. Au cours des dernières décennies, l'urbanisation et l'industrialisation incontrôlées ont provoqué un grave problème de pollution due à l'évacuation des eaux usées et les effluents industriels dans la plupart des masses d'eau naturelles, en particulier celles contaminées par les produits chimiques toxiques et les bactéries pathogènes résistantes aux divers métaux et aux antibiotiques (**Kummemer, 2004**).

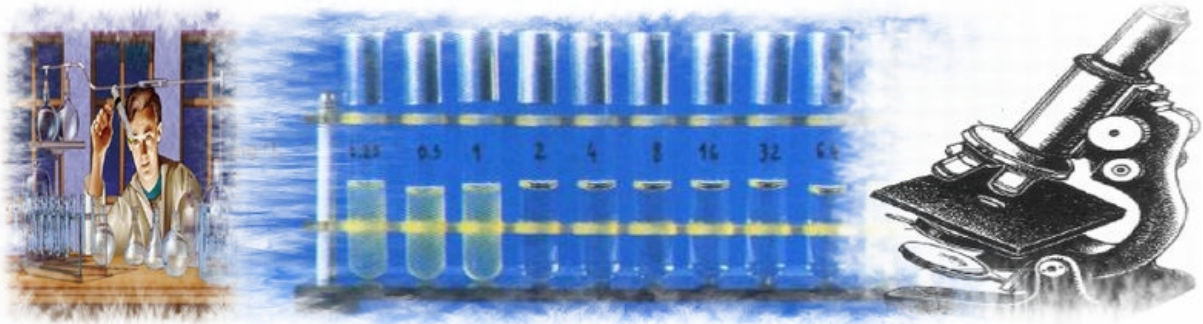
L'utilisation abusive de ces antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire a provoqué le développement de la résistance parmi la flore intestinale de l'homme et des animaux. (**Levine & Edelman, 1984 ; Carneiro et al., 2006**). La gestion du risque associé à cette utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance permet de discuter des enjeux de santé publique et de santé animale. En effet, La production de denrées d'origine animale est un processus économique qui suppose un profit pour le producteur avec deux considérations économiques : la première, consiste dans le fait qu'il est plus économique de prévenir une maladie que de la traiter surtout quand celle-ci affecte plus l'animal que l'homme. Le second bénéfice, réside dans la meilleure conversion de l'aliment par les animaux lors de l'utilisation de faible dose dans l'aliment. Au départ, les molécules autorisées appartenaient à des familles pas ou peu utilisées en médecine humaine (orthosomycines, glycophospholipides, macrolides, streptogramines, polypeptides. Cependant, ces dernières années, la quantité d'antibiotiques utilisé en production animale, alors que des antibiotiques équivalents étaient utilisés à l'hôpital, contribuait à dévaloriser l'image de sécurité sanitaire des denrées produites (**Kummemer, 2004 ; Sanders, 2005**).

Cette résistance acquise aux antibiotiques observée, nécessite des données en termes de prévalence des bactéries pathogènes pour l'homme et l'animal, de pourcentage de résistance par espèce bactérienne et de lien avec l'utilisation des antibiotiques. Une revue des programmes de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale existant dans l'union européenne avait été établie fin 2000 (**Gnanou et Sanders, 2000 in Sanders, 2005**). Depuis, plusieurs programmes ont été établi selon les recommandations européennes (**Caprioli et al., 2000 in Sanders, 2005**) et internationales (**Franklin et al., 2001 in Sanders, 2005**). En France, le système de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries pathogènes des bovins a été élargi aux bactéries de la volaille et du porc (**Sanders,**

2005). En France, ces programmes de surveillance sont coordonnés par l'Agence Française de Sécurité Sanitaires des Aliments (AFSSA), avec le soutien du Ministère de l'Agriculture **(Sanders, 2005).**

La résistance acquise aux antibiotiques est considérée comme un risque majeur de santé publique. Le principal souci est que les vétérinaires et les médecins partagent un arsenal thérapeutique limité à une dizaine de familles d'antibiotiques, dont l'extension vers de nouvelles familles sera vraisemblablement limitée dans les prochaines années. Or chaque utilisation d'antibiotique contribue globalement à augmenter la résistance des bactéries pathogènes et commensales **(Kummemer, 2004 ; Pathak et Gopal, 2005).** Le passage de ces germes ainsi que les gènes de résistance de l'animal vers l'homme fait incriminer la chaîne alimentaire **(McPhearson et al., 1991 ; Teuber, 1999 ; Lateef, 2005).** Plusieurs travaux ont confirmé le rôle des aliments crus comme réservoir de bactéries résistantes aux antibiotiques possédant un pool d'éléments génétiques mobiles **(Van et al., 2007).** Ces éléments sont capables via les transferts horizontaux, de disséminer des gènes de résistance aux antibiotiques à d'autres agents pathogènes humains et provoquer ainsi des échecs thérapeutiques **(Sanders, 2005).** Des démarches adaptées aux différents types d'animaux (production intensive, animaux de compagnie, aquaculture) ont été développées pour améliorer leur utilisation et réduire la pression de sélection et le risque de dissémination de la résistance acquise **(Sanders, 2005).**

Matériel et Méthodes



II. MATERIEL ET METHODES

Ce travail a pour objectif l'identification des bactéries résistantes aux antibiotiques isolées de la moule d'élevage « *Mytilus galloprovincialis* ». Il est fractionné en deux parties : la première concerne le contrôle de la qualité microbiologique de la moule ainsi que de son milieu d'élevage, la deuxième partie traite de l'étude de l'antibiorésistance des souches isolées de l'eau et des moules.

II.1. Présentation de la zone d'étude (figure 6)

Le site de prélèvement « Aïn Chrob » (ex Surcouf) est une plage de la commune de Aïn Taya wilaya d'Alger située en dehors de la baie d'Alger. C'est une plage qui présente une granulométrie de fond de sable grossier et de fin granite, ouverte et soumise à des renouvellements d'eau (Chebab 1996).

Le site d'élevage se situe à peu près à 800 m de la plage ; il est soumis à l'influence de l'hydrodynamisme sans aucune protection. L'hydrodynamisme de la région intéressant le site est représenté d'une part par la houle qui est essentiellement de direction Nord-Est et Nord- Ouest pouvant dépasser 3,25 m/s en hiver et d'autre part, par les courants, côtiers locaux, les plus importants sont dus à la houle et représentent les courants de dérive et de retour (US

Naval Weather Service.SS.M.O, 1991 in Chebab, 1996).



Figure 6: Positionnement de la ferme conchylicole de Ain Chrob - Ain Taya (Google Earth, 2009)

II.2. Contrôle de la qualité microbiologique de la moule et de son milieu d'élevage

II.2.1. Prélèvement et transport des échantillons

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate pour lequel le plus grand soin doit être apporté. Il conditionne les résultats analytiques et les interprétations qui en seront données par la suite.

Notre étude a été réalisée au niveau de la ferme conchylicole ORCA-marine de Ain Taya. Deux prélèvements d'eau de mer et de moules ont été effectués durant le mois de Mars et Avril 2009. Le 24 Mars 2009, temps ensoleillé, 22°C, humidité 53%, vent NE 14km/h, mer calme, le prélèvement a été réalisé à 9h15. Pour le deuxième prélèvement, le 06 Avril 2009, temps ensoleillé, 22°C, mer très calme, l'échantillonnage a été fait aux environs de 10h10.

Les prélèvements d'eau sont effectués à environ 20 cm de la surface en utilisant des flacons stériles de 500ml et de 250ml, alors que les coquillages (moules) récoltés sont mis dans des sachets en plastiques à usage unique. Les échantillons sont transportés, dans un coffret isotherme (glacière + glaciols) au laboratoire et analysés dans les 24h.

II.2.2. Analyse des paramètres physico-chimiques

La mesure des paramètres physico-chimiques a été réalisée *in-situ* à l'aide d'appareils portables. L'analyse nous a permis de mesurer le pH (pH-mètre WTW pH315i/SET), l'oxygène dissous (oxymètre « OXI 330/SET (WTW) ») la conductivité et la salinité (conductimètre WTW315i). La valeur de la température est une moyenne des valeurs mesurées avec les autres paramètres.

Pour la mesure de la matière en suspension (MES), l'analyse a été faite le jour de l'échantillonnage au niveau du laboratoire en utilisant le protocole décrit par **Rodier, 2005** suivant:

- Agiter 100ml d'échantillon et les filtrer à l'aide d'une rampe de filtration en inox sur un filtre déjà taré (P1).
- Une fois filtrer, placer les filtres à une température de 105°C (étuve Memmert) pendant 2 heures.
- Laisser les filtres refroidir dans un dessiccateur pendant 30 minutes.
- Deuxième prise de poids du filtre (P2).
- Le poids des matières retenues est déterminé par la pesée différentielle du filtre avant et après passage à l'étuve à 105°C pendant 2heures et est exprimé en mg/l.

II.2.3. Analyse microbiologique

II.2.3.1. Analyse microbiologique de la moule

II.2.3.1.1. Préparation de la moule (homogénat)

L'analyse est effectuée sur la chair et le liquide intervalvaire. Les moules sont traitées comme suit (Delarras, 2003):

- Prendre des coquillages encore vivants et non endommagés.
- Laver soigneusement l'extérieur des coquillages sous eau courante et les brosser de façon à éliminer les souillures externes.
- Désinfecter la moule par l'alcool et la flamber rapidement à la chaleur.
- Ouvrir la moule avec un couteau ou un scalpel stérile. Pour ce faire : introduire la lame dans l'ouverture par où sort le byssus (figure 7) et couper le muscle adducteur postérieur, puis retourner la lame, couper en direction opposée le muscle et ouvrir la moule avec des pinces stériles (OMS, 1995).
- Recueillir le liquide intervalvaire et la chair du coquillage dans un bécher stérile et préalablement taré.
- Peser et ajouter un volume d'eau physiologique égal à deux fois le poids de chair plus le liquide intervalvaire (100g pour les germes fécaux et 25g pour les germes pathogène : *Salmonella*).
- Broyer le contenu recueilli à l'aide d'un robot mixeur stérile pendant 2 min, on obtient une suspension au 1/3 qui constitue la solution mère.
- Laisser reposer pendant 15-20 min la suspension préparée, temps de revivification des germes.

Préparation des dilutions

À partir de la suspension mère au 1/3, préparer une série de deux dilutions (1/10, 1/100) dans deux flacons contenant 45ml d'eau physiologique.



Figure 7 : Dissection de la moule

II.2.3.1.2. La recherche des germes fécaux par la méthode des NPP (Nombre le Plus Probable)

La méthode utilisée pour la détermination des coliformes et des *Enterococcus* est la méthode de fermentation en tubes multiples qui est basée sur l'ensemencement d'une série de trois tubes contenant des milieux de culture liquides, puis sur la détermination du nombre le plus probable à partir des tubes positifs en se référant à la table de trois tubes des probabilités spéciale coquillages (Delarras, 2003).

II.2.3.1.2.1. Recherche des coliformes totaux

La recherche des coliformes totaux a été effectuée par la méthode des NPP sur BVBL (Delarras, 2003). On a ensemencé trois séries de 3 tubes de BVBL simple concentré avec 1 ml des solutions 1/3, 1/30 et 1/300.

Incubation de 24-48h à 37°C a été effectuée.

*** Lecture**

- Une croissance microbienne se traduisant par une formation d'un trouble avec production de gaz dans la cloche de Durham est considérée comme une réaction positive pour la recherche des coliformes totaux.
- Le nombre de tubes positifs dans chaque série est reporté dans la table des NPP spécifique aux coquillages pour obtenir le nombre de coliformes totaux présents dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire (Delarras, 2003).

II.2.3.1.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants –*Escherichia coli*

A partir des tubes BVBL positifs (moule), on réalise le test de Mackenzie : C'est l'ensemencement d'un tube de BVBL et un autre d'eau peptonée exempte d'indole. La recherche des coliformes fécaux et d'*E.coli* se fait après l'incubation à 44 °C pendant 24 -48h.

*** Lecture**

- Une croissance avec dégagement de gaz dans la cloche de Durham est confirmative de la présence de coliformes fécaux.
- La production d'indole qui se traduit par l'apparition d'un anneau rouge, après ajout du réactif de Kovac, dans l'eau peptonée exempt d'indole est indicatrice de la présence d'*E. coli*.

- Le nombre de tubes positifs est noté, puis reporté dans la table du nombre le plus probable NPP, afin de déterminer le nombre de coliformes fécaux et d'*Escherichia coli* (Delarras, 2003).

II.2.3.1.2.3. Recherche et dénombrement des *Enterococcus*

Le dénombrement des Streptocoques fécaux s'effectue en deux étapes :

-Test présomptif

Il s'agit d'ensemencer une série de tubes contenant le milieu de Rothe simple concentration. Le milieu de Rothe contient de l'azide de sodium qui est considéré comme agent sélectif pour la recherche des Streptocoques (Delarras 2003).

1^{ère} série : 3 tubes de 10 ml de Rothe + 1 ml de la solution mère.

2^{ème} série : 3 tubes de 10 ml de Rothe + 1 ml de la solution 10^{-1} .

3^{ème} série : 3 tubes de 10ml de Rothe + 1 ml de la solution 10^{-2} .

L'incubation se fait à 37 °C pendant 48 heures, les tubes présentant un trouble sont présomptifs de la présence des Streptocoques fécaux.

-Test confirmatif

Chaque tube positif est ensemencé sur le milieu de Litsky qui contient non seulement de l'azide de sodium mais également de l'éthyle violet donc plus sélectif pour la mise en évidence les streptocoques fécaux.

L'incubation s'effectue pendant 24 heures à $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Les tubes présentant un trouble accompagné ou non d'une pastille violette au fond du tube confirment la présence des Streptocoques fécaux. Les résultats sont exprimés en nombre de Streptocoques par 100 g de chair et de liquide intervalvaire à analyser en se référant à la table NPP (Delarras, 2003).

II.2.3.1.3. Recherche des germes pathogènes : *Salmonella*

La recherche des salmonelles a été effectuée dans 25 g de chair et de liquide intervalvaire pour la moule. La méthode utilisée comprend 4 phases successives :

-Un préenrichissement : Ajouter 75ml de la suspension mère à 75ml d'eau peptonée tamponnée stérile Puis incubé à 37 °C pendant 18h.

-Un Enrichissement : À partir de la culture précédente on transfère simultanément :

■ 10 ml dans un tube de bouillon au sélénite-cystine (SFB) double concentration contenant 2 disques de l'additif SFB.

■ 1 ml dans un tube bouillon au sélénite-cystine (SFB) simple concentration additionné d'un disque de l'additif SFB. Incubation à 37 °C pendant 16-18 heures.

-Isolement : Après incubation de 16h à 37°C, un isolement est effectué à partir des tubes SFB D/C ou S/C sur la gélose Hécktoen.

-Lecture et confirmation : Les *Salmonelle* ne fermentant ni le lactose ni le saccharose vont apparaître sous forme de colonies bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

Sélectionner et prélever les colonies présomptives et procéder à l'identification biochimique par galerie API 20E.

II.2.3.2. Analyse microbiologique de l'eau

II.2.3.2.1. Recherche des coliformes totaux, fécaux et *E.coli*

La qualité microbiologique de l'eau prélevée a été déterminée en recherchant les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants et *E.coli*. Cette méthode consiste en la filtration de 100 ml d'échantillon ou de dilution sur une membrane en esters de cellulose, de porosité 0,45 µm placée dans une rampe de filtration en inox de six postes. La membrane est déposée sur la surface d'un milieu contenant le lactose (milieu au tergitol). Les colonies fermentant le lactose sont dénombrés et le résultat est exprimé en UFC /100ml

Technique :

- Agiter soigneusement le flacon d'eau à analyser et filtrer stérilement 100ml d'échantillon.
- Déposer la membrane à la surface d'une gélose au tergitol.
- La recherche des coliformes totaux s'effectue à 35±2°C pendant 24-48h, alors que les coliformes thermotolérants sont recherchés à une température de 44°C pendant 24-48h.

II.2.3.2.2. Recherche des Streptocoques fécaux (*Enterococcus*) :

Leur recherche c'est faite de la même façon que pour les moules, par la méthode des NPP à trois tubes le milieu de Rothe en simple et double concentration Le milieu de Rothe contient de l'azide de sodium qui est considéré comme agent sélectif pour la recherche des *Enterococcus* (Rodier, 2005).

-Test présomptif

1^{ère} série : 3 tubes de 10 ml de Rothe double concentration + 10 ml de l'eau de mer à analyser.

2^{ème} série : 3 tubes de 10 ml de Rothe simple concentration + 1 ml de l'eau de mer à analyser.

3^{ème} série : 3 tubes de 10 ml de Rothe simple concentration + 1 ml de la dilution 10⁻¹.

-Test confirmatif

Chaque tube positif est ensemencé sur le milieu Litsky qui contient non seulement de l'azide de sodium mais également de l'éthyle violet donc plus sélectif pour la mise en évidence des streptocoques fécaux. Après 24 heures d'incubation à 35±2°C, Les tubes présentant un trouble accompagné ou non d'une pastille violette au fond du tube confirment la présence des streptocoques fécaux. Les résultats sont exprimés en nombre de streptocoques par 100 ml d'eau de mer (Rodier, 2005).

II.2.3.2.3. Recherche des germes pathogènes : *Salmonella*

La recherche des salmonelles a été effectuée dans 100ml d'eau selon le protocole suivant :

-Un préenrichissement : Ajouter 100ml d'échantillon à 100ml d'eau peptonée tamponnée stérile Puis incuber à 37 °C pendant 24h.

-Un Enrichissement : À partir de la culture précédente transférez simultanément :

■ 10 ml dans un tube de bouillon au sélénite-cystine (SFB) double concentration contenant 2 disques de l'additif SFB.

■ 1 ml dans un tube bouillon au sélénite-cystine (SFB) simple concentration additionné d'un disque de l'additif SFB. Incubation à 37 °C pendant 16-18 heures.

-Isolement : Après incubation de 16h à 37°C, un isolement est effectué à partir des tubes SFB D/C ou S/C sur la gélose Hécktoen.

-Lecture et confirmation : Les *Salmonelle* ne fermentant ni le lactose ni le saccharose vont apparaître sous forme de colonies bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

Sélectionner et prélever les colonies présomptives et procéder à l'identification biochimique par galerie API 20E.

II.3. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines dans l'eau

L'évaluation de la résistance à six molécules de bêta-lactamines (AMX, TIC, CTX, CAZ, FOX et IMP) a été réalisée chez la flore totale et les coliformes totaux de l'eau. Après filtration de 100ml d'échantillon, les membranes ont été déposées sur le Mueller Hinton (flore totale) ou le tergitol (coliformes) additionné de l'un des antibiotiques : AMX, TIC, CTX, CAZ, FOX et IMP à des concentrations de 64 µg/ml sauf pour l'AMX et L'IMP où la concentration a été de 32 et 16 µg/ml respectivement.

Les mêmes concentrations ont été préparées sur Hécktoen pour isolées les bactéries résistantes à partir de la moule.

Les bactéries isolées feront l'objet d'une caractérisation de leur mécanisme de résistance.

II.4. Caractérisation de la résistance chez les bactéries isolées de la moule et de son milieu

Sur une collection de 19 bactéries (8 souches isolées de la moule et 11 souches isolées de l'eau de mer), nous avons effectué les tests suivants :

II.4.1. Identification biochimique bactériennes par galerie API 20 E

○ Principe

La galerie API 20 E est un système d'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif. Elle comporte 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés prêt à l'emploi. Les milieux desséchés sont réhydratés avec la suspension bactérienne à identifier. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Biomérieux).

○ Technique

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Retirer stérilement la galerie de son emballage et la déposer dans la boîte d'incubation.
- Inscrire nom, référence de la souche et date sur la languette latérale du fond de la boîte.
- Préparer l'inoculum bactérien : réaliser une suspension bactérienne en prenant 1 à 3 colonies bien isolées dans 5 ml d'eau physiologique stérile.
- Inoculer la galerie comme suit :
 - Remplir à l'aide d'une micropipette les tubes et cupules des tests **CIT, VP, GEL**.
 - Remplir uniquement les tubes des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests : **ADH, LCD, ODC, H₂S, URE** en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35± 2°C pendant 24 heures.

○ **Lecture de la galerie**

La lecture de ces galeries API 20E se fait selon les indications du fournisseur (voir la notice d'utilisation des galeries). Après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique fourni par Biomérieux où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation.

II.4.2. L'antibiogramme par la méthode de diffusion d'antibiotiques en milieu gélosé

○ **Principe**

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (**CA-SFM, 2008**). Cette technique est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotique obtenu par diffusion à partir des disques imprégnés d'antibiotique dans un milieu gélosé. Ce gradient est inversement proportionnel à la distance par rapport aux disques.

La croissance des bactéries dessine des halos d'inhibition au tour du disque. La croissance bactérienne s'arrête en présence de la concentration minimale d'inhibition (CMI) autour du disque d'antibiotique (**Courvalin et al., 1985**).

○ **Technique**

- A partir d'une culture jeune (18-24h), préparer dans 5ml d'eau physiologique une suspension bactérienne de 0,5McFarland (10⁸ cellules/ml).
- Ajuster l'inoculum à 10⁷ cellules/ml
- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne de 10⁷ cellules/ml,
- ensemencer la boîte en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée et en tournant la boîte trois fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum,
- Appliquer les disques d'antibiotiques (Annexe 2) à l'aide d'un distributeur stérile selon le schéma de la figure 8.
- Laisser diffuser pendant 15 minutes, à température ambiante,
- Incuber à 35°C pendant 18-24.

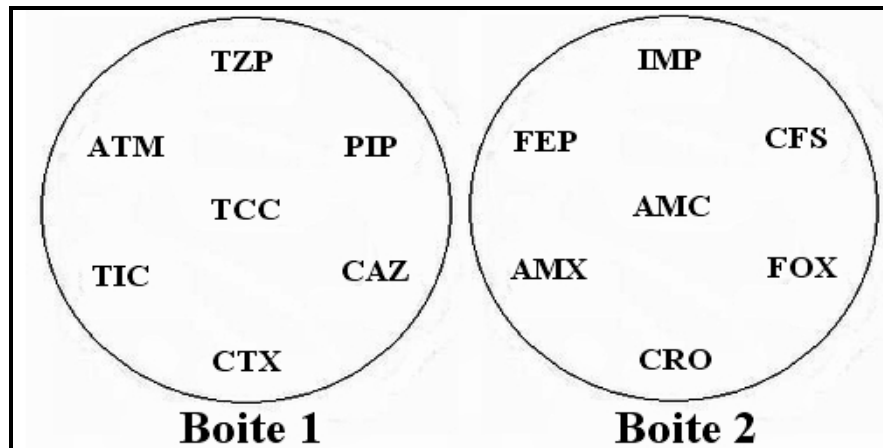


Figure 8 : Schéma de la disposition des antibiotiques (Vedel, 2005).

○ **Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres d’inhibition à l’aide d’un pied à coulisse métallique ou d’une règle, à l’extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture (CA-SFM, 2008)
- Classer les bactéries dans l’une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante selon les valeurs critiques.

II.4.3. Test d’antagonisme

Ce test est basé sur la mise en évidence d’une image d’antagonisme entre un antibiotique inducteur (Cefoxitine ou Imipénème) et un antibiotique actif (Céfépime, Cefpirome, Céfopérazone ou Cefsulodine). Cet antagonisme se traduit par la diminution de l’activité de la β -lactamine initialement active grâce à la production d’une céphalosporinase inductible (Vedel, 2005).

○ **Technique**

La disposition de Vedel (2005), nous permet d’avoir à la fois la résistance aux antibiotiques ainsi que la production de certains enzymes tels que les β -lactamases à spectre élargi ou les céphalosporinases inductibles. Ces dernières sont mises en évidence en déposant un disque d’antibiotique inducteur (Imipénème ou Céfoxitine) à une distance de 3cm du disque d’une β -lactamine active (FEP, CPO, CFS).

○ **Lecture**

La production d'une céphalosporinase inducible se traduit par une diminution nette du rayon d'inhibition de l'antibiotique du côté de l'inducteur (IMP et FOX) caractéristique de l'image d'antagonisme.

II.4.4. Test de synergie

Ce test se base sur la mise à profit d'une synergie entre d'une part, un disque contenant un inhibiteur de β -lactamases et d'autre part, un disque indicateur de l'activité BLSE (une céphalosporine de troisième génération (C3G) et/ou l'aztréoname (ATM) placés à 3 cm centre à centre (figure 9). Cette synergie correspond à une augmentation de la zone d'inhibition de ces antibiotiques du côté du disque contenant l'inhibiteur de β -lactamase (**Vedel, 1994**).

○ **Technique**

- Une suspension de 10^7 cellules/ml de la souche à tester est ensemencée sur une gélose de Mueller Hinton.
- Appliquer les disques de céphalosporines de 3^{ème} génération (CTX, CAZ) et/ou d'ATM à 3 cm centre à centre au tour d'un disque contenant l'acide clavulanique (TCC ou AMC).
- Laisser diffuser sur la paillasse durant 15 minutes.
- Incuber à 33 °C pendant 18heures.

○ **Lecture**

Une souche est dite BLSE s'il y a une augmentation nette de la zone d'inhibition entre au moins un disque indicateur de l'activité BLSE et le disque de l'inhibiteur.

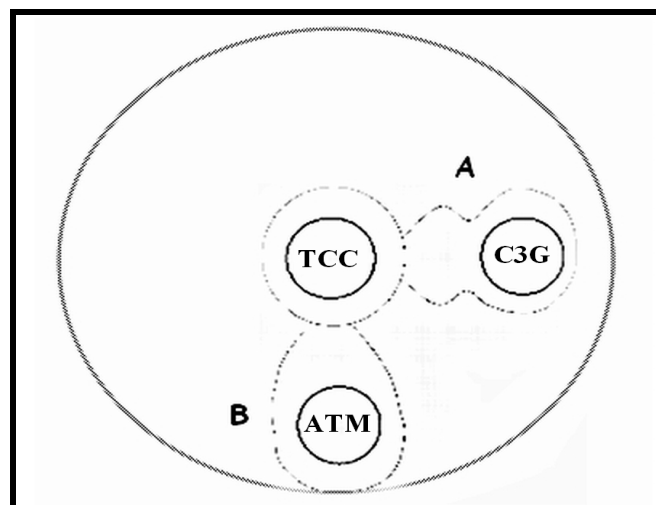
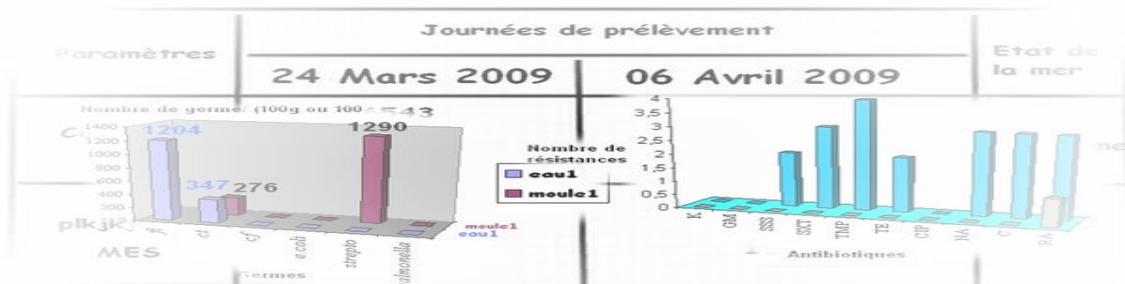


Figure 9 : Description de l'image de synergie (**Rahal, 1999 in Abid F., 2006**)

A: Synergie en bouchon de champagne, **B**: Synergie en entonnoir

Résultats et Discussion



III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de mesure et d'analyse des paramètres physico-chimiques et bactériologiques obtenus durant les six mois d'étude sont reportés en tableau V. Globalement ces analyses permettent de confirmer l'utilité du site en terme d'élevage.

III.1. Contrôle de la salubrité de la moule et de son milieu d'élevage

III.1.1 Résultats des paramètres physico-chimiques

Tableau V : Les différentes mesures de paramètres physico-chimiques des deux échantillons (24 Mars 2009 et 06 Avril 2009).

Paramètres	Mesures par date de prélèvement	
	24 Mars 2009	06 Avril 2009
Température (°C)	14.83	15.7
Salinité (PSU)	37	36.7
Potentiel Hydrogène (pH)	8.32	8.34
Conductivité (µS/cm)	56.4	55.9
Oxygène dissous (mg/l)	7.4 (74%)	7.1 (72%)
Matière En Suspension (mg/l)	220	235

Les résultats de mesure et d'analyse des paramètres physico-chimiques représentés dans le tableau V ont confirmé l'utilité du site en termes d'élevage. En effet, la température qui a une influence sur l'activité bactérienne et sur la croissance et la reproduction des moules sur toute l'année (**Arnaud, 1996**), a été trouvée entre (14.83 – 15.7°C), ce qui reflètent bien la saison printanière de la région.

De même, la salinité et le pH ont été caractéristiques des valeurs de la mer méditerranée et elles sont favorables pour la filtration des moules.

En effet, La salinité de l'eau d'origine Atlantique mélangée avec l'eau méditerranéenne qui coule le long de la côte algérienne d'Ouest en Est n'est, en principe, jamais inférieure à une valeur de l'ordre de 36.15 PSU (**Deltreil, 1973**). Alors que les valeurs du pH fluctuent entre 7 et 8.5 mais se maintiennent en moyenne entre 8 et 8.3. Les pH les plus bas peuvent être mesurés aussi bien en hiver qu'en été. En période de crues, les apports d'eau douce peuvent faire tomber le pH à des valeurs basses.

Le site présente une bonne oxygénation avec des valeurs de 7.4 mg/l pour le 1^{er} prélèvement et 7.1 mg/l pour le second, ce qui est favorable pour une vie conchylicole car une concentration de 3 à 6mg/l est la limite inférieure en dessous de laquelle la vie de la flore et de la faune est mise en péril. En effet, la saturation en oxygène obtenue (74% et 72%) respectivement pour le 1^{ier} et le 2^{ème} prélèvement est comprise entre la valeur guide (80%) et la valeur impérative (70%) de la qualité requise pour les eaux conchylicoles (Annexe 1).

Concernant la matière en suspension, des fortes concentrations ont été retrouvées. Elles sont probablement dues à l'état météorologique qui a précédé les jours de prélèvement et qui a permis la remise en suspension des particules de sédiment et les apports continentaux riches en substances terrigènes.

III.1.2. Résultats des analyses bactériologiques des moules et de l'eau de mer

III.1.2.1. Dénombrement des indicateurs de contamination dans l'eau de mer

Les échantillons destinés à l'analyse bactériologique, ont été accompagnés par la mesure des paramètres physico-chimiques. Ces paramètres étant intimement liés à la résistance et à la croissance de ces germes.

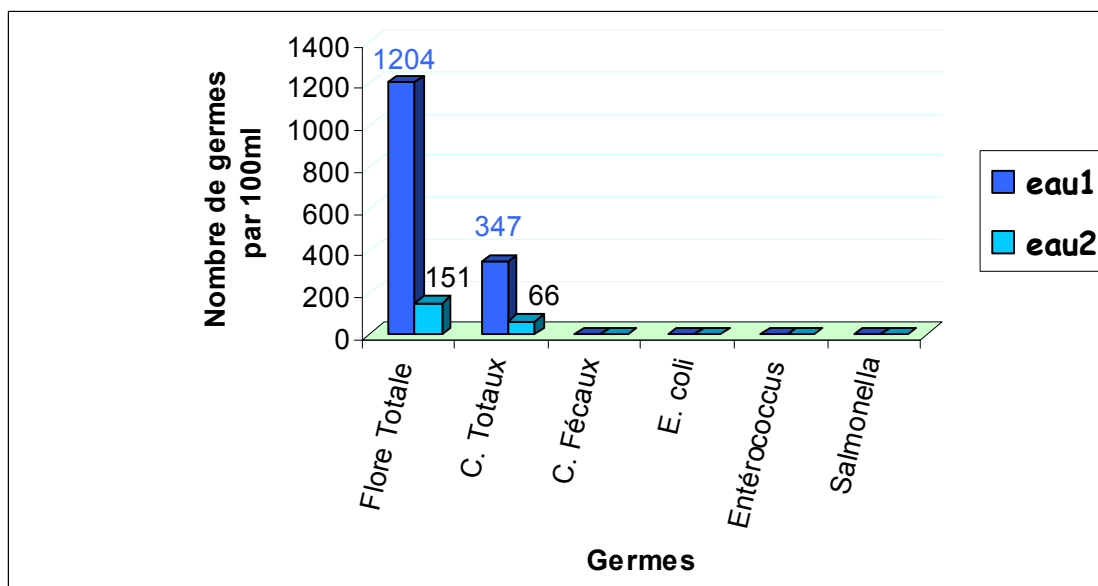


Figure 10 : Résultats d'analyse bactériologique de l'eau
Eau1 : prélèvement du 24 mars 2009 Eau 2 : prélèvement du 06 Avril 2009

Les résultats de l'analyse microbiologique représentés dans la figure (10) a révélé que :

Pour la flore totale

On a remarqué une très grande variation de nombre entre les deux prélèvements, 1204 cellules/100ml pour le prélèvement du 24 Mars et 151 cellules seulement dans 100ml d'eau de mer pour le second prélèvement. Cette charge pourrait être due à la remise en suspension des bactéries à cause des mauvaises conditions climatiques lors des journées précédentes.

Pour les coliformes totaux

L'appréciation des concentrations en coliformes totaux observées en période d'étude a permis de révéler des variations, 347 cellules/100 ml pour le premier prélèvement et 66 cellules/100 ml pour le second. Ces variations restent inférieures à la norme, ceci pourrait être dû soit à la disparition physique (dilution, dispersion) ou bien à la mortalité des bactéries (milieu oligotrophe, compétition, prédation, conditions hostiles). Vu que le risque sanitaire lié aux coliformes totaux est généralement faible et l'origine fécale de ces bactéries est non confirmée il est important de rechercher les coliformes thermotolérants (**Chevalier, 2003**).

Pour les coliformes thermotolérants (fécaux) et *Escherichia coli*

Les résultats obtenus montrent une absence totale de coliformes fécaux et d'*E.coli* dans les 100 ml d'échantillon et ceci pour les deux prélèvements effectués. Ces résultats corroborent ceux retrouvés par **chikh (2008)** l'année précédente dans la même période et Ils pourraient s'expliquer, tout simplement par la fragilité, la sensibilité et la courte durée de vie de ces germes dans le milieu marin trop hostile ; selon **Mezrioui et Baleux (1992)**, les faibles températures de l'ordre de 4°C augmentent la survie bactérienne d'*E .coli*.

Pour les *Streptocoques*

Les résultats ont montré l'absence des *Streptocoques* fécaux dans tous les échantillons d'eau durant la période des prélèvements. Vu que ce germe se caractérise par une bonne résistance aux conditions hostiles, les résultats obtenus ne peuvent prédire que d'une bonne qualité microbiologique de l'eau (**Plusquellec et al, 1986, Rodier, 2005**).

Buttiaux (1958) a montré que dans des conditions de sédimentation favorables, l'entérocoque disparaît plus vite qu'*Escherichia coli* de la couche d'eau superficielle, mais subsiste longtemps dans le fond.

Pour les Salmonelles

C'est le seul germe pathogène recherché en routine. Il a été absent dans les 100ml analysés.

Les faibles concentrations en germe d'origine fécale (coliformes et streptocoques fécaux) pourraient s'expliquer par le fait que l'emplacement de la ferme conchylicole est situé dans une zone soumise à des renouvellements d'eau (Chebab, 1996). Ces résultats indiquent aussi que la zone est de bonne qualité bactériologique.

III.1.2.2. Dénombrement des indicateurs de contamination dans les moules

Les résultats des dénombrements des indicateurs fécaux retrouvés dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire sont représentés dans la figure illustrée ci-dessous (figure 11).

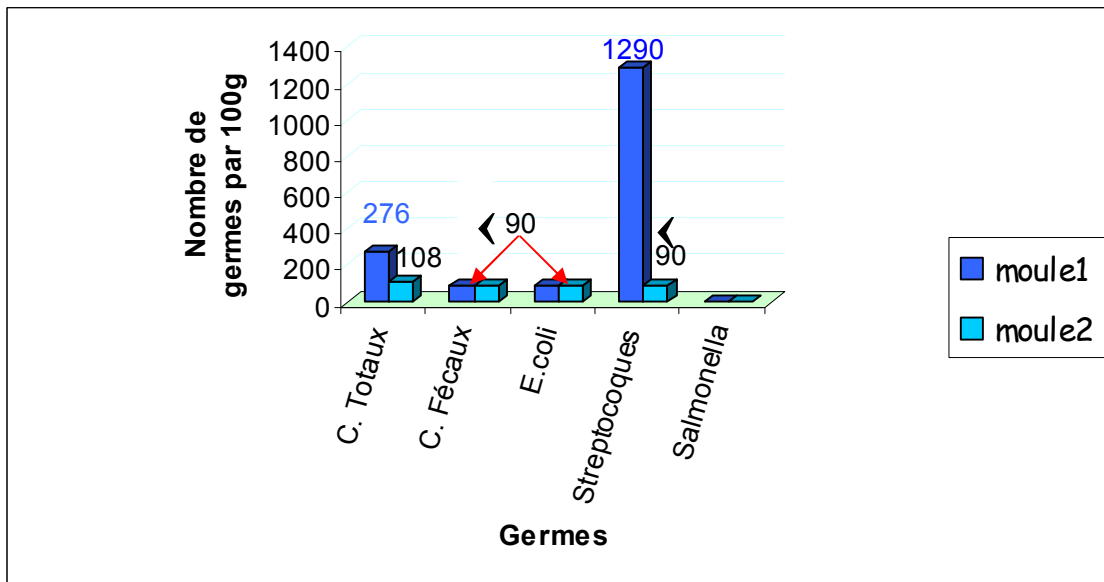


Figure 11 : Résultats d'analyse bactériologique de la moule

Moule 1 : prélèvement du 24 Mars 2009 et Moule 2 : prélèvement du 06 Avril 2009

Pour les coliformes totaux

La concentration des coliformes totaux pendant la période des prélèvements a connu des fluctuations telle que la concentration la plus élevée est enregistrée en mois de Mars (276 cellules/100g), cependant, la valeur minimale enregistrée est de 108 cellules/100g en mois d'Avril.

Si on compare le résultat du mois d'Avril avec celui obtenu par Chikh (2008), on remarque une très grande différence, donc, qui est en moyenne de 2270 cellules/100g pour le même mois ce résultat a été dû à de très mauvaises conditions climatiques l'année d'avant.

Pour les coliformes thermotolérants (fécaux)

Les valeurs des coliformes fécaux ne varient pas dans le temps. En effet, nous avons constaté l'absence de croissance dans les tubes des BVBL, ce qui donne une valeur inférieure à 90 cellules/100g selon la table des NPP spéciale coquillage, cette valeur est inférieure à la valeur guide qui est de 300cellules/100g.

Pour *Escherichia coli*

Selon la table des NPP spéciale coquillage, le nombre d'*E. coli* trouvé est inférieur à 90 cellules/100g dans les prélèvements de moule effectués en période de stage, donc ces moules restent propre à la consommation humaine directe.

Pour les *Enterococcus*

La recherche des Streptocoques a révélé leur présence dans l'échantillonnage du mois de Mars qui dépasse largement la valeur guide (100 cellules/100g), elle est de 1290 cellules/100g.

Ce résultat pourrait être expliqué par la remise en suspension des particules et des bactéries. Pour le mois d'Avril, le résultat a montré une valeur inférieure à 90 cellule/100g.

Pour les Salmonelles

Salmonella est le seul agent pathogène recherché en routine dans les eaux et les produits de la mer. Sa présence n'a pas été observée dans aucun échantillon de moules prélevés (25 g de chair et de liquide intervalvaire).

La comparaison des résultats des analyses microbiologiques de l'eau et de la moule nous a permis de constater une légère différence qui ne peut être significative, contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature (**Guillaud et Romana, 1996**) d'une part ou à ce qui a été retrouvé lors d'une étude réalisée l'année d'avant sur le même site (Chikh, 2008). En effet, il a été rapporté que la moule concentre les germes avec un facteur x (Plusquellec et *al.*, 1986). Les valeurs obtenues peuvent prédire de la bonne qualité des eaux jusqu'au moment de prélèvement.

III.2. La prévalence de la résistance bactérienne dans l'eau

La prévalence de la résistance bactérienne dans l'eau est le calcul du taux de résistance pour chaque antibiotique. Elle a été faite pour la flore totale et les coliformes totaux. Les résultats obtenus sont représentés dans les deux histogrammes suivants : (figures 12 et 13).

De la figure 12, nous constatons que la flore totale du deuxième échantillon présente des taux élevés de résistance par rapport à ceux observés pour la flore totale du premier échantillon, et cela pour AMX, TIC et FOX. Cependant, le taux de résistance au CTX a été légèrement plus élevé dans le premier échantillon alors que la résistance à CAZ a été observée uniquement dans le premier échantillon. Aucune résistance à l'IMP n'a été observée pour les deux prélèvements.

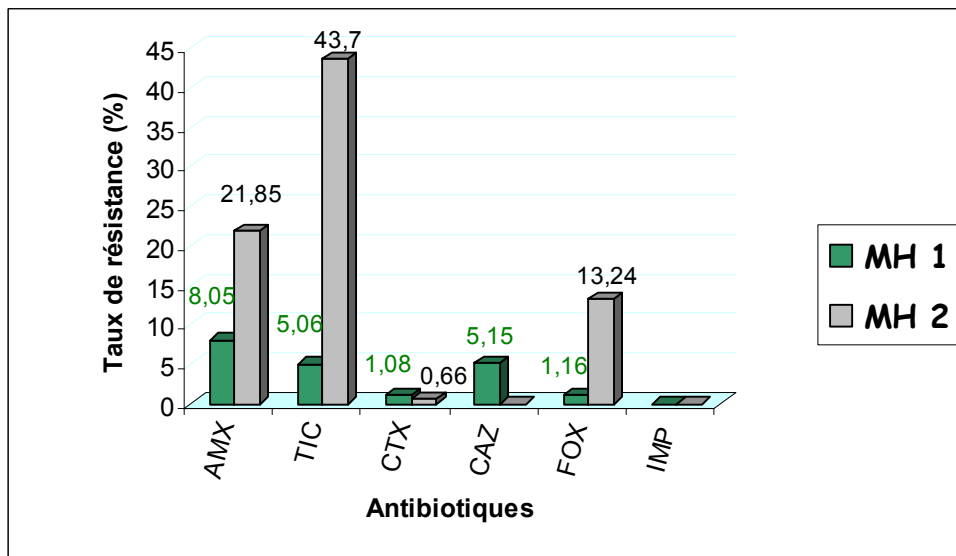


Figure 12 : Taux de résistance de la flore totale isolées des deux prélèvements vis-à-vis des bêta-lactamines (MH1 : 24 Mars et MH2 : 06 Avril 2009).

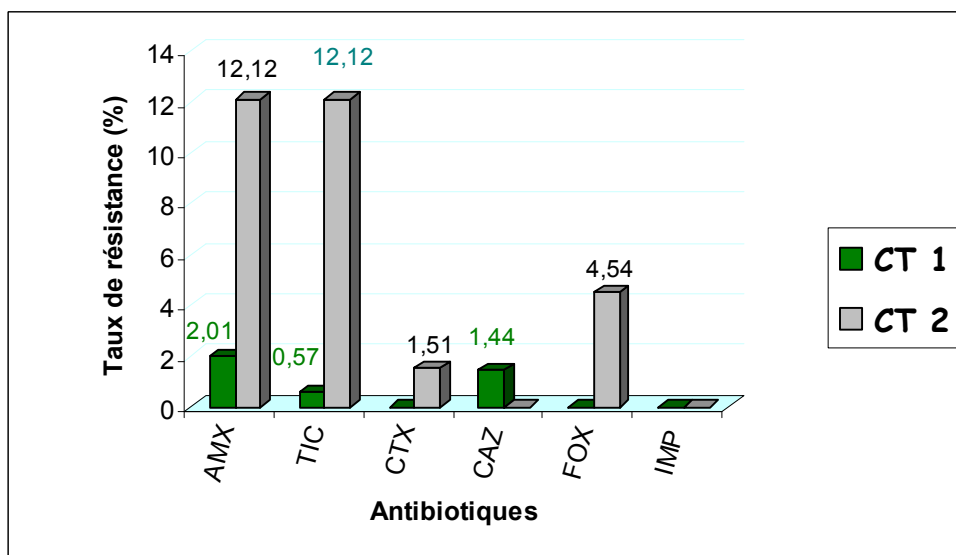


Figure 13 : Taux de résistance des coliformes totaux isolées des deux prélèvements d'eau vis-à-vis des bêta-lactamines (CT1 : échantillon 1, CT2 : échantillon 2)

De la figure 13, on peut tirer les remarques suivantes :

Le taux de résistance des souches de coliformes totaux isolées de l'échantillon du 24 Mars est presque nul avec un maximum de 2.01% de résistance à l'AMX, puis de 1.44% à CAZ.

Par contre chez les bactéries isolées du prélèvement du 06 Avril, le maximum de résistance est enregistré pour TIC et AMX avec 12.12% si non le reste est avec un très bas taux voir 5.54 et 1.51% pour FOX et CTX respectivement. . Ces résistances peuvent être naturelles ou acquises chez les entérobactéries (Vedel, 1997).

III.3. Caractérisation de la résistance aux antibiotiques chez des bactéries isolées de l'eau et de la moule

III.3.1. Isolement et identification des souches résistantes

Dix neuf souches de bactéries résistantes ont été isolées à partir des deux échantillons prélevés. Il s'agit de 8 souches isolées de la moule et 11 souches isolées de l'eau de mer. Leur identification biochimique par galerie API 20 E nous a permis de les assignées aux espèces (tableau VI) : *K. pneumoniae* (n=1), *K. oxytoca* (n=9), *K. terrigena* (n=1), *E. cloacae* (n=3), *P.aeruginosa* (n=3), *P. luteola* (n=1), *V. fluvialis* (n=1). Ces espèces sont dans la majorité des bactéries de l'environnement excepté *K.pneumoniae* mais qui peuvent être incriminées dans des infections humaines.

Tableau VI : Identification des espèces de bactérie isolées.

Antibiotiques	Nombre de souches	Identification de l'espèce	Nom de la souche	Origine
AMX	05	<i>K. oxytoca</i>	M1, M2, M3, M4 et M7	Moule
	03		E5, E7 et E8	Eau
	01	<i>P. luteola</i>	E0	Eau
	02	<i>E. cloacae</i>	E4 et E6	Eau
	01	<i>K. terrigena</i>	E9	Eau
	01	<i>K. pneumo. pneumoniae</i>	E10	Eau
	01	<i>V. fluvialis</i>	M0	Moule
CTX	02	<i>P. aeruginosa</i>	E2 et E3	Eau
IMP	01	<i>P. aeruginosa</i>	E1	Eau
TIC	01	<i>K. oxytoca</i>	M5	Moule
FOX	01	<i>E. cloacae</i>	M6	Moule

Concernant la moule, Deux types bactériens ont été isolés ; il s'agit de *K.oxytoca* et *E.cloacae* et *V. fluvialis*. La première a été isolée sur milieu contenant l'AMX ou TIC ; cette résistance serait naturelle par la production d'une pénicillinase chromosomique de type OXY. Cependant, le deuxième genre a été trouvé résistant pour FOX et ceci serait du soit à l'imperméabilité soit à la production d'une céphalosporinase chromosomique chez le genre *Enterobacter* (Vedel, 1997). Le troisième genre a été isolé sur amoxicilline et ceci serait également dû à une résistance naturelle.

Par contre pour l'eau, nous avons retrouvé des bactéries résistantes à l'AMX et CTX. Cette résistance serait naturelle par la production d'une pénicillinase ou d'une céphalosporinase selon l'espèce considérée. Le seul germe résistant à l'IMP est *P. aeruginosa*. Cette résistance est de type acquis, elle peut être due à l'imperméabilité ou à la production d'une carbapénémase (Vedel, 1997 ; Vedel, 2005)

III.3.2. Étude de la résistance aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité des 19 souches vis-à-vis de 26 antibiotiques dont 16 β-lactamines (AMC et TCC sont des inhibiteurs), par l'antibiogramme (CA-SFM, 2008) a donnée les résultats représentés dans la figure 14:

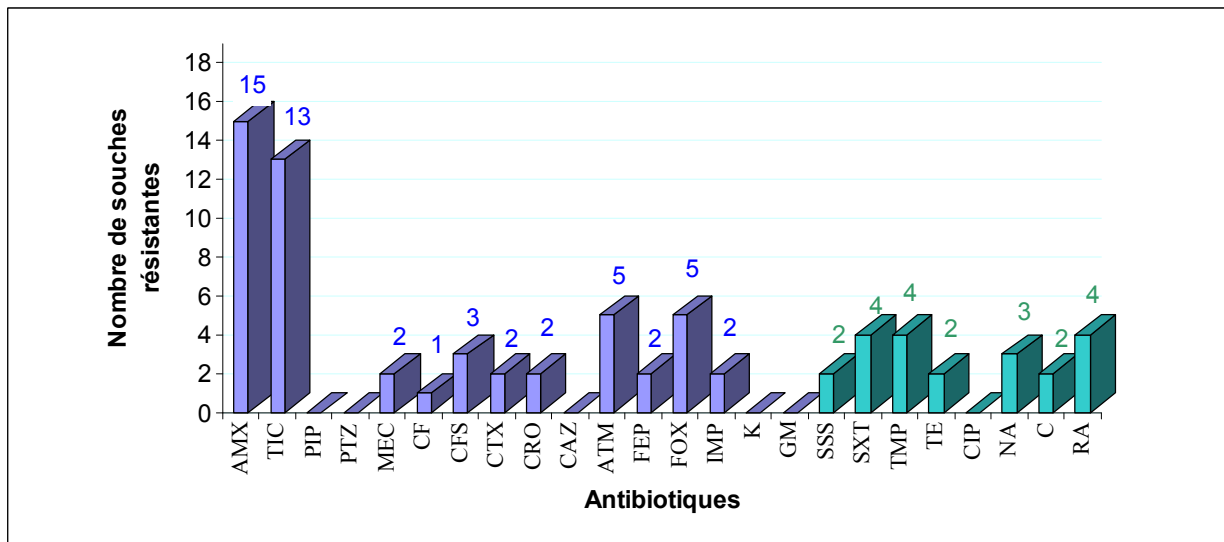


Figure 14 : Nombre de souches résistantes aux antibiotiques isolées de l'eau de mer et de la moule

Nos souches ont présenté une résistance marquée à l'amoxicilline (n=15) et ticarcilline (n=13), et une résistance faible aux autres bêta-lactamines à savoir aztréonam et cefoxitine (n=5), cefsulodine (n=3), CTX, CRO, IMP, MEC et FEP (n=2), Céfaloine (n=1). Une sensibilité totale a été notée pour la Céfotaxime, pipéracilline et pipéracilline-tazobactam.

Concernant les molécules non bêta-lactames, Les bactéries ont présenté de faibles taux de résistance pour les sulfamides, triméthoprim, triméthoprim- sulfamide, acide nalidixique, chloramphénicol et la rifampicine. Les aminosides (GM et K) et les fluoroquinolones restent les molécules les plus actives sur nos souches.

Il faut signaler que les bactéries isolées de la moules ont été sélectionnées sur AMX ou TIC et que leur profil de résistance (tableau VI) est de type naturelle (pénicillinase pour *K. oxyoca*, Céphalosporinase ou imperméabilité pour *E.cloacae* et *V.fluvialis*).

Concernant, les bactéries isolées de l'eau, selon l'antibiotique utilisé pour la sélection nous avons retrouvées des bactéries avec différent profils dont les plus multi-résistantes ont été sélectionnées sur CTX et IMP (E1-E2-E3). Il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa*, un germe pathogène opportuniste ; sa multi-résistance observée est de type acquis (**Vedel, 2005**). Il est à noter également la présence d'une *K. pneumoniae* dans l'eau. Cette bactérie est incriminée dans plusieurs infections nosocomiales de type respiratoire ou urinaire.

Les bactéries isolées de la moule, on a retrouvé une souche résistante à la Rifampicine, une souche résistante au triméthoprim et une seule souche résistante aux sulfamides. Cependant, les bactéries retrouvées dans l'eau ont présenté des résistances à différentes antibiotiques non bêta-lactames à savoir : RA, C, NA, TE, TMP, SXT et SSS. Seule les aminosides et les fluoroquinolones restent complètement actifs sur nos souches.

❖ L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré également que la plus part de nos souches ne sont pas multi résistantes (Tableau VII), allant de 1 à 4 molécules d'antibiotiques réparties dans 16 antibiotypes différents.

Les seules souches multi résistantes proviennent de l'eau et non pas de la moule. La E1, la E2 et la E3 qui résistent à 11 et 12 antibiotiques respectivement.

Tableau VII : Antibiotypes des souches vis-à-vis des antibiotiques

Nom de la souche identification	Antibiotypes (17 Profils)	Nombre de résistances
M7 Moule BVBL AMX C		00
E6 Eau TTC AMX C	FOX	01
M5 Moule BVBL TIC C	AMX	01
E9 Eau TTC AMX C	TIC RA	02
M4 Moule BVBL AMX C	AMX MEC	02
M6 Moule TTC FOX N.C	CF FOX	02
E8 Eau TTC AMX C M3 Moule BVBL AMX C	AMX TIC	02
E10 Eau TTC AMX C	AMX SSS RA	03
M1 Moule BVBL AMX C	AMX TIC MEC	03
M2 Moule BVBL AMX C	AMX TIC RA	03
E4-E7 Eau TTC AMX C	AMX TIC ATM FEP	04
E0 Eau TTC AMX C	AMX TIC SXT RA	04
M0 Moule TTC AMX C	AMX TIC CFS TMP	04
E5 Eau TTC AMX C	AMX TIC CTX ATM	04
E1 Eau TTC IMP N.C	AMX TIC CFS FOX SSS TMP SXT NA C	9
E2 Eau TTC CTX N.C	AMX TIC CRO ATM FOX IMP TMP SXT TE NA C	11
E3 Eau TTC CTX N.C	AMX TIC CFS CTX CRO ATM FOX IMP TMP SXT TE NA	12

III.3.3. La production d'une céphalosporinase inductible : Test d'antagonisme

La production d'une céphalosporinase AmpC à caractère inductible a été mise en évidence par l'utilisation lors de l'antibiogramme de l'imipénème comme inducteur placé à 3 cm des céphalosporines (FEP, CFS) (figure 15). Quatre souches seulement ont présenté l'image d'antagonisme (tableau VIII) ; il s'agit de trois *Pseudomonas aeruginosa* et un *Vibrio fluvialis*. Ce résultat corrobore les données de la littérature qui signalent la production d'une céphalosporinase chromosomique de type inductible chez ces espèces (Vedel, 2005). L'absence de cette image chez les autres bactéries serait dûe soit à l'absence de cette enzyme chez ces souches (*Klebsiella*), soit à une hyperexpression de cette céphalosporinase (*E.cloacae*) (Vedel, 1997).

Tableau VIII : Nom des espèces qui présentent un test d'antagonisme positif

Nom de la souche	Espèce
E1	<i>P. aeruginosa</i>
E2	<i>P. aeruginosa</i>
E3	<i>P. aeruginosa</i>
M0	<i>V. fluvialis</i>

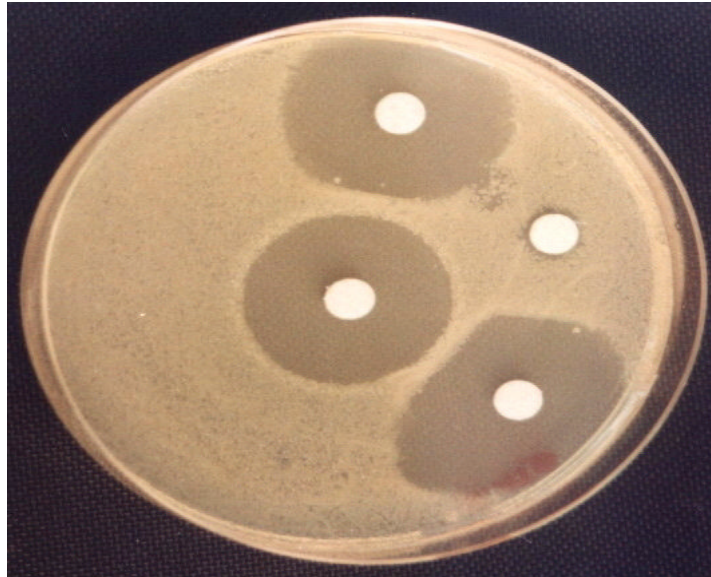


Figure 15 : Illustration d'un test d'antagonisme positif

III.3.4. Production de β -lactamase à spectre élargi

La résistance aux β -lactamines est la plus connue en Algérie vu leur large utilisation en médecine humaine et vétérinaire. Le mécanisme le plus redoutable sur le plan clinique et écologique est la production d'une β -lactamase à spectre élargi. Ce mécanisme est mis en évidence par l'observation d'une image de synergie caractéristique.

Les résultats ont montré la présence d'une image de synergie, entre le disque TCC qui contient l'inhibiteur de β -lactamases (acide-clavulanique) et l'aztréonam (ATM), chez *K. oxytoca* par l'augmentation du diamètre d'inhibition du côté de l'acide-clavulanique (Figure 16). Cependant, cette bactérie présente une pénicillinase chromosomique hyper-exprimée de type OXY-1 capable de donner une image de synergie. Donc elles sont considérées comme des faux positifs pour la production de BLSE (Vedel, 1997).

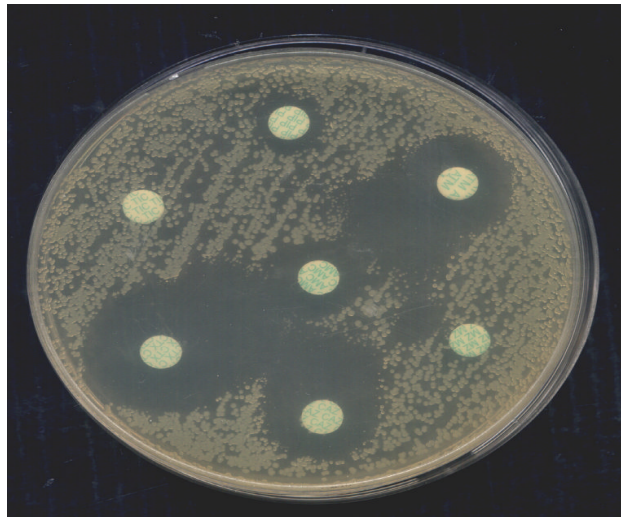


Figure 16 : Illustration de la production d'une BLSE.

La résistance aux C3G est en augmentation et est devenue significative, notamment pour *E. coli* et *K. pneumoniae*. Initialement décrite en CHU, puis dans les hôpitaux généraux, elle est aujourd'hui observée en laboratoire d'analyses médicales, souvent lors de petites épidémies.

La détection des BLSE est aisée pour *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* mais, d'une manière générale, aucune procédure ne possède 100 % de sensibilité. Cette détection devrait être améliorée par l'adoption au niveau européen de nouveaux seuils de concentrations critiques en 2008 avec une concentration inférieure ou égale à 1 mg/L des C3G ou C4G (céfépime, ceftiprome) pour les entérobactéries au lieu de 4 mg/L (Carole, 2007).

Conclusion

L'objectif de ce travail a été l'évaluation de la résistance aux bêta-lactamines chez des bactéries isolées de la moule d'élevage « *Mytilus galloprovincialis* » ainsi que de son milieu d'élevage. Les résultats ont révélé que :

- la zone conchylicole est salubre sur le plan microbiologique et les moules sont destinées à la consommation directe.
- Les taux de résistance aux antibiotiques dans l'eau ont été assez faibles et dû pour la majorité à des résistances naturelles. En effet, il a été observé la prédominance du genre *Klebsiella* qui est naturellement résistant à l'amoxicilline et la ticarcilline
- La détermination et la caractérisation de la résistance chez les souches sélectionnées ont révélé que la majorité des souches font partie de la flore normale de l'environnement et seules trois souches de l'eau étaient multi-résistantes avec des mécanismes acquis.

Contrairement à l'année précédente, cette étude n'a pas montré des mécanismes de résistance effrayants. La zone reste de bonne qualité malgré, qu'il ne faut pas sous-estimer les germes retrouvés qui ont tous été impliqués dans des infections humaines.

En fin, la qualité de la moule dépend de la bonne qualité de son environnement. Pour cela, il est recommandé de réduire les rejets non traités, de réglementer l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation animale et surtout de bien cuire les denrées alimentaires afin de réduire les risques de la résistance aux antibiotiques et celui des bactéries pathogènes provenant d'aliments crus.

Références Bibliographiques
Références Bibliographiques

A

Abid F., Boutefnouchet N., Dekhil M., Bouzerna N.; 2006 : *klebsiella pneumoniae* productrices de béta-lactamases a spèctre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba, Algérie. Scientific Study & Research. Vol. VIII (2). 2007. ISSN 1582-540X

Afri, 1991 : Etangs de Benne, qualité des eaux, hydrologie, matériel particulaire et plancton. Rapport de convention. 25p.

Andreu M. et Mainardi J-L., 2003 : Que doit-on connaître de la microbiologie pour prescrire un antibiotique. La revue du praticien. 53. P : 1545-1553

Arnaud., 1996 : Croissance comparée de *M. galloprovincialis* des étangs de Thau et de Salse, Leucate. Rev. Trav. Inst. Pêches maritimes, 38 (4), p : 357-364.

Azzoune N. et Bekkai N., 2004 : Etude de la résistance aux β -lactamines et fluoroquinolones chez *Salmonella sp.* et *Escherichia coli* d'origine aviaire. Mém. d'Ingénieur en génie biologique. U.S.T.H.B.

B

Baiod N., 1997 : Prévalence, résistance aux antibiotiques et virulence des Salmonelles mineures isolées dans les hôpitaux de la région d'Alger : étude sur 106 souches. Thèse de magister. Opt. Microbiologie. U.S.T.H.B.

Bouchena Y.; Kacioui N. et Ait Lounis Y., 2006 : Contribution à l'étude d'un milieu d'élevage conchylicole ; cas de Ain Tagourait (W. TIPAZA). Mém. d'Ingénieur I.S.M.A.L. Opt. Aquaculture.

Brisou J.; Vargues H. et Cadeillan J., 1962 : La contamination bactérienne des moules de la baie d'Alger. Arch. Inst. Pasteur d'Alger. P : 210-219.

Bryskier A., 1999 : Antibiotique agent antibactérien et antifongique. 1216p.

C

Carole E., 2007 : Modalités de détection des BLSE chez les entérobactéries. OptionBio. Lundi 10 mars 2008. N° 396. P. 18.

Carneiro L.A.M., Lins M.C., Garcia F.R.A., Silva A.P.S., Mauller P.M., 2006: Communiqué de comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr>

Cavallo J-D.; Fabre R.; Jelhl F.; Rapp C. et Garrabé E., 2004 : β -lactamines : β -lactam antibiotics. EMC-Maladies infectieuses 1 : 129-202.

Cerbom, 1964 : Pollution marine par les micro-organismes et les produits pétroliers. Symposium de Monaco.

Chebab, 1996 : Influence sur la reproduction de l'émersion permanente de *Mytilus galloprovincialis*. Thèse de Magister, ISMAL. 150p.

Chettih N. et Sifi M., 2007 : Caractérisation du phénotype β -lactamases à spectre élargi chez des souches cliniques d'entérobactéries à test de synergie positif isolées à l'hôpital Beni Messous. Diplôme d'études supérieures. Opt. Génétique ; U.S.T.H.B.

Chevalier P., 2003 : Coliformes totaux. *Fiches synthèse sur l'eau potable et la santé humaine*, Institut national de santé publique du Québec, 4p.

Chikh Y., 2008 : Détection de souches résistantes aux antibiotiques chez la moule d'élevage *Mytilus galloprovincialis*. Mém. Ingénieur. Opt. Aqua. 50p.

China B., De Schaetzen M A., Daube G. 2003 : Les mollusques bivalves, des aliments dangereux ? *Annales médecine vétérinaire*. 147 : p. 413-422

Colmen K., Athalye M., Clancey A., Davison M., Payne D.J., Perry C.R., Chopra L. 1994: Bacterial resistance mechanisms as therapeutic targets. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 33. p. 1094-1116

Colwell R.R., 1987 : *Journal d'application bactériologique*. 63, 1p.

Courvalin P., Goldstein A., Philippon A. et Sirrot J., 1985 : L'antibiogramme, 1^{ère} édition MPC.

CASFM., 2008 : Communiqué de comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr>

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

D

Delarras C., 2003 : Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 269p

Deltreil J.P. ; Feuillet M. ; Gras P. ; Marin J. ; Marteil, 1974 : La conchyliculture française, 1^{ère} partie : Le milieu naturel et ses variations. *Rev. Trav. Inst. Pêches maritimes*, 38 (3), p : 217-237.

G

Gosling E., 2003: Bivalve Mollusc: Biology, Ecology and Culture. 433p

Guettaf M., 1997 : Contribution de la variation du cycle reproductif (indice gonadique et histologique des gonades) chez *Paracentrotus lividus*. Thèse doctorat. Université de méditerranée Aix-Marseille II (Faculté des sciences de Lumény). 170p.

Guillaud J.F., Romana A., 1996 : La mer et les rejets urbains. 243p.

I

Institut Pasteur, 2008 : Unité des Agents Antibactériens, *Bull. Acad. Vét. France*. Tome 161 - N°1

J

Jarlier V., Nicolas M., Fournier G., Philippon A. 1988: Extended bradspectrum β -lactamases conferring transferable résistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns. *Infection Des.4* (10):143- 149

Joradp, 1997 : Journal Officiel de la Republique Algérienne et Populaire.

L

Lateef A., Oloke J.F., Gueguin kana E B. 2005: The prevalence of bacterial resistance in clinical food, water and some environmental samples in southwest Nigeria. *Environmental Monitoring and assessment* 100. p. 59-69.

Levine M. M., Edelman R., 1984: Enteropatogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated infant diarrhae: epidemiology and pathogenesis. *Epidemiol. Rev.6.* p. 31- 51.

Levy S.B., Miller r V., 1989: Horizontal gene transfer in relation to environmental release of genetically engineered microorganisms. Gene transfer in the environment. McGraw-Hill Publishing Company, New York. p. 405-420.

Le Minor L. et Richerd M., 1993 : Méthodes de laboratoire, pour l'identification des entérobactéries. P. 54-71. Institut Pasteur, Paris, France.

Le Minor L. et Veron M., 1990 : Enterobactéries. In : Bactériologie médicale 2^{ème} Ed. Flammarion-Medecine-Science. P. 413-419.

M

Marteil L., 1976 : La conchyliculture française : Biologie de l'huître et de la moule. 319p.

Mainardi J-L. ; Goldsein F.W. et Gutamann L., 1996 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Maladies infectieuses. 8-006-N-10. P : 1-8.

Morerre J-L. et Pujol R., 2003 : Dictionnaire raisonné de biologie. Ed. Frison- Roche.

M.P.R.H., 2001 : Guide de l'aquaculture, p : 27.

P

Pathak S.P., Gopal K., 2005: Occurrence of antibiotic and metal resistance in bacteria from organs of river fish. *Environmental Research.* 98. p. 100-103.

Peyret M., 1994 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques. Manuel de bactériologie clinique. Vol. 1.P 413-430.

Plusquellec A., Beucher M., Le Gal., 1984 : Deuxième colloque International de bactériologie marine –IFREMER,actes de Colloques n°3. p. 541-548.

Poggi R., 1991 : Impact sanitaire sur des contaminations microbiologiques. La mer et les rejets urbains. IFREMER. Actes de colloques. N° 11. P : 115-132.

R

Riva A., Masse H. 1993 : Etude écophysiological de quelques mollusques bivalves. Bases biologiques de l'aquaculture. IFREMER. Acte de colloques n° 1. p. 45-62.

Rodier J., Broutin J.P., Chambon P., Champsaur H., RODI L., 2005 : L'analyse de l'eau. 8ème Edition, Dunod, Paris. 1383p.

S

Santé Canada, 2005 : *Fichier canadien sur les éléments nutritifs.*

Schlemmer B. et Jarlier V., 2008 : pole santé et sécurité des soins du médiateur de la république CNAMTS - La résistance aux antibiotiques : comment ça marche?

T

Tagmouni L., 1994 : Contribution à la surveillance d'un site conchylicole et comparaison de deux milieux de culture. Mém. DEUA-I.S.M.A.L. 47p.

V

Van Bambeke F. ; Glupezynsk Y.; Pleiat P.; Pechere J. C. et Tulkens P. M., 2003 : Antibiotic efflux pumps in prokaryotic cells : occurrence, impact on resistance and strategies for future of antimicrobial therapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 51; 1055-1065.

Vedel, 1997 : La lecture interprétative facteur de maîtrise de l'antibiogramme. Spectro Biologie. 16 : 31-38.

Vivares C., 1991 : Consommer les coquillages est-il dangereux ? Contamination, surveillance et santé publique. Vol. 2. 540p.

Annexes
Annexes

Tableau 1 : Qualité requise des eaux conchylicoles.

	Paramètres	Guide	Impérative	Méthodes d'analyse des références	Fréquence minimale d'échantillonnage et de mesure
1	pH unité pH		7-9	-Electrométrie La mesure s'effectue <i>in situ</i> en même temps que l'échantillonnage	Trimestrielle
2	Température C°	L'écart de température provoqué par un rejet ne doit pas, dans les eaux conchylicoles influencées par ce rejet, excéder de plus de 2 °C la température mesurée dans les eaux non influencées		-Thermométrie La mesure s'effectue <i>in situ</i> en même temps que l'échantillonnage	Trimestrielle
3	Coloration (après filtration) (mg Pt/l)		La couleur de l'eau après filtration, provoquée par un rejet, ne doit pas, dans les eaux conchylicoles influencées par ce rejet, s'écarter de plus de 100 mg Pt/l de la couleur mesurée dans les eaux non influencées	-Filtration sur membrane filtrante de 0.45 µm de porosité. -Méthode photométrique, aux étalons de l'échelle platine- cobalt	Trimestrielle
4	Matières en suspension (mg/l)		L'accroissement de la teneur en matières en suspension provoqué par un rejet ne doit pas, dans les eaux conchylicoles influencées par ce rejet, excéder de plus de 30% celles mesurées dans les eaux non influencées.	-Filtration sur membrane filtrante de 0,45µm de porosité, séchage à 105°C et pesée. -centrifugation (temps minimal 5minutes, accélération moyenne 2800 à 3200 g), séchage à 105°C et pesée.	Trimestrielle
5	Salinité (‰)	12-38‰	-≤40% -la variation de la salinité provoquée par un rejet ne doit pas, dans les eaux conchylicoles influencées par ce rejet, excéder de plus de 10% la salinité mesurée dans	- Conductimétrie	Mensuelle

			les eaux non influencées.		
6	Oxygène dissous (% de saturation)	$\geq 80\%$	- $\geq 70\%$ (valeur moyenne). -Si une mesure individuelle indique une valeur inférieure à 70%, les mesures sont répétées. -une mesure individuelle ne peut indiquer une valeur inférieure à 60% que lorsqu'il n'y a pas de conséquences nuisibles pour le développement des peuplements des coquillages.	- Méthode de Winkler -Méthode électrochimique	Mensuelle, avec au moins un échantillon représentatif des faibles teneurs en oxygène se présentant le jour du prélèvement. Toutefois, s'il y a présomption de variations diurnes significatives, en moins deux prélèvements par jour seront effectués.
7	Hydrocarbures d'origine pétrolière		Les hydrocarbures ne doivent pas être présents dans l'eau conchylicole en quantité telle : -Qu'ils produisent à la surface de l'eau un film visible et/ou un dépôt sur les coquillages. -Qu'ils provoquent des effets nocifs pour les coquillages.	Examen visuel	Trimestrielle
8	Substances organo-halogénées	La limitation de la concentration de chaque substance dans la chair de coquillage doit être telle qu'elle contribue, conformément à l'article 1 ^{er} , à une bonne qualité des produits conchylicoles.	La concentration de chaque substance dans l'eau conchylicole ou dans la chair de coquillages ne doit pas dépasser un niveau qui provoque des effets nocifs sur les coquillages et leurs larves.	Chromatographie en phase gazeuse après extraction par solvants appropriés et purification.	Semestrielle

9	Métaux Argent Ag Arsenic As Cadmium Cd Chrome Cr Cuivre Cu Mercure Hg Nickel Ni Plomb Pb Zinc Zn (mg/l)	La limitation de la concentration de chaque substance dans la chair de coquillages doit être telle qu'elle contribue. Conformément à l'article 1 ^{er} , à une bonne qualité des produits conchylicoles.	La concentration de chaque substance dans l'eau conchylicole ou dans la chair de coquillage ne doit pas dépasser un niveau qui provoque des effets nocifs sur les coquillages et leurs larves. Les effets de synergie de ces métaux doivent être pris en considération.	Spectrométrie d'absorption atomique, éventuellement précédée d'une concentration et/ou d'une extraction.	Semestrielle
10	Coliformes fécaux/100ml	≤ 300 dans la chair des coquillages et le liquide inter valvaire ⁽¹⁾		Méthode de dilution avec fermentation en substrats liquide dans au moins trois tubes dans trois dilutions. Repiquage des tubes positifs sur milieu de confirmation. Dénombrement selon NPP (nombre le plus probable). Température d'incubation 44±0,5°C	
11	Substances influençant le goût du coquillage		Concentration inférieure à celle susceptible de détériorer le goût du coquillage.	Examen gustatif des coquillages, lorsque la présence d'une telle substance est présumée.	
12	Saxitoxine (produite par les dinoflagellés)				

⁽¹⁾ Toutefois, en attendant l'adoption d'une directive relative à la protection des consommateurs de produits conchylicoles, cette valeur devrait être respectée dans les eaux où vivent les coquillages directement comestibles par l'homme.

Tableau 2 : Les différents antibiotiques utilisés en antibiogramme.

Famille		Antibiotique	Abréviation	La charge (µg)	
B-lactamines	Pénicillines	Amoxicilline	AMX	25	
		Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20/10	
		Ticarcilline	TIC	75	
		Pipéracilline	PIP	75	
		Pipéracilline + tazobactam	PTZ	75/10	
		Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	75/10	
		Mecillinam	MEC	10	
		Mezlocilline	MZ	75	
	Carbapénicilline	Impénème	IMP	10	
	Monobactame	Aztréonam	ATM	30	
	Céphalo-Sporines	CG1	Céfalotine	CF	30
		CG2	Céfoxitine	FOX	30
			Cefsulodine	CFS	30
CG3		Céfotaxime	CTX	30	
		Céftriaxone	CRO	30	
		Céftazidime	CAZ	30	
Non B-lactamines	Quinolones	Acide Nalidixique	NA	30	
	Fluoro-quinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	
	Aminosides	Kanamycine	K	30 UI	
		Gentamycine	GM	10 UI	
	Phénicole	Chloramphénicol	C	30	
	Tétracycline	Tétracycline	TE	30 UI	
	Sulfamides	Sulfamide	SSS	200	
		Triméthoprime	TMP	5	
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole		SXT	1.25/23.75		
Divers	Rifampicine	RA	30		

Tableau 3 : Les résultats de l'antibiogramme des 19 souches étudiées.

Echantillon	PIP	PTZ	ATM	CAZ	CTX	TIC	TCC	IMP	CFS	CF	FOX	FEP	AMX	CRO	AMC/ TC	KAN	GM	SSS	TMP	SXT	TE	CIP	NA	C	MZ	MEC	RA	
Diamètres critiques (mm)	20-12	21-14	23-21	21-19	26-23	22-18	22-18	24-17	22-14	18-12	22-15	22-16	21-14	26-23	21-14	14-10	17-11	17-12	16-12	16-10	16-10	19-17	25-22	20-15	23-19	21-16	22-18	19-14
M0	S	S	S	S	S	R	I	S	I	S	S	S	R	S	R				R	S	S	S	S	S				S
E3	S	S	R	S	R	R	R	R	R		R		R	R	R	S	S	S	R	R	I	S	R	R				I
E2	S	S	R	S	R	R	R	R	Nf		R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	I	S	R	R				I
E1	S	S	R	S	R	R	R	R	R		R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	I	S	R	R				S
M1	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
M2	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
E0	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
M4	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
M3	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
E4	S	S	R	S	S	I	R	S		S	S	R	I	S		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
M6	S	S	S	S	S	S	S	S		R	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
M7			S	S	S	I	S	S		S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
M5			S	S	S	I	S	S		S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E9			S	S	S	R	S	S		S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
E10			S	S	S	I	S	S		S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
E8			S	S	S	R	S	S		S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
E6	S	S	S	S	S	S	S	S		I	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I
E7			R	S	S		S				S	S		S		S	S	S			S	S	S	S				
E5			R	R	S		S				S	S		S		S	S	S			S	S	S	S				