

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهينة الساحل
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME D'INGENIEUR
EN SCIENCES DE LA MER

OPTION : *Environnement marin*

Sujet :

*Evaluation des risques sanitaires liés aux déversements des effluents
hospitaliers en mer : cas de la plage R'Mila de la commune de Bab El Oued.*

Présenté par :

M^{elle} MEGDOUD Kahina.

Devant le jury composé de :

**M^{me} FEZAA N.
M DRICHE M.
M^{me} ALAMIR H.
M^{elle} AMROUCHE L.**

**Présidente
Examinateur
Examinatrice
Promotrice**

PROMOTION : 2009

Remerciements

Au terme de ce travail, je suis très honorée de pouvoir remercier toutes les personnes qui m'ont apporté aide et soutien.

Il m'est agréable d'exprimer mes plus vifs remerciements à Madame FEZAA N., Enseignante à l'ENSSMAL, qui me fait le privilège d'accepter la présidence de ce jury en dépit de ses lourdes responsabilités. Qu'elle trouve dans ces lignes le témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

J'apprécie vivement l'honneur que me fait Monsieur DRICHE M., Enseignant à l'ENSSMAL, en acceptant de juger ce travail malgré ses nombreuses taches.

C'est un immense plaisir pour moi d'avoir Madame ALAMIR H., Chercheur à l'IPA, dans le jury ; Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour avoir bien voulu apporter un jugement sur ce mémoire. Qu'elle me soit permise de l'assurer de mon profond respect.

La personne à qui je dois le plus se trouve être ma promotrice. C'est à elle que je dois d'avoir pu faire ce travail. Je la remercie sincèrement, pour avoir encadré ce travail et pour la confiance et l'autonomie qu'elle m'a accordée ; ainsi pour sa présence continue, son aide, ses conseils, ses recommandations et ses encouragements. Mademoiselle AMROUCHE L., est une agréable promotrice.

Je ne la remercierai jamais assez.

Je n'aurai garde d'oublier l'aide de Monsieur Brahim le pêcheur qui était à notre disposition durant toute la période d'échantillonnage.

Je dois une reconnaissance particulière à mes deux amis AROUN M et BELHARET M, de m'avoir accompagné si souvent sur le terrain par tous les temps et de m'avoir aidé au laboratoire.

Mes respects et remerciements aux ingénieurs et techniciens supérieurs du laboratoire de L'ENSSMAL qui ont mis à ma disposition toutes les conditions nécessaires pour la réalisation des manipulations.

Je tiens à remercier vivement les bibliothécaires qui m'ont aimablement servi et de m'avoir fourni toute la documentation nécessaire.

Je tiens aussi à remercier mes collègues étudiants à l'ENSSMAL et amis de la cité universitaires Delly Ibrahim.

Je ne saurais passer sous silence l'aide négligeable de ma famille : toute mon affection et ma reconnaissance à mes très chers parents, à mes frères et à mes sœurs.

Je n'aurai garde d'oublier tout le personnel de l'ENSSMAL qui a, de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail.

sommaire

Introduction	1
CHAPITRE I: Généralités	
I.1. Généralités sur la pollution marine.....	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Types de pollution	3
I.1.3. Paramètres de la pollution	4
I.1.3.1. Paramètres physico-chimiques	4
I.1.3.2. Paramètres bactériologiques	5
I.1.4. Autoépuration des eaux de mer	6
I.2. La contamination bactérienne des eaux de mer.....	7
I.2.1. Le comportement des bactéries entériques en mer	7
I.2.2. Caractéristique d'un indicateur de contamination fécale	8
I.2.3. Les bactéries indicatrices de la contamination fécale.....	9
I.2.4. Les techniques d'évaluation de la qualité bactériologiques du milieu marin	11
I.2.5. La qualité bactériologique des eaux de baignades	12
I.3. Généralités sur les effluents hospitaliers	14
I.3.1. Les différents rejets hospitaliers	14
I.3.1.1. Les rejets de nature domestique.....	14
I.3.1.2. Les rejets de nature spécifique à l'hôpital	15
CHAPITRE II: Matériel et méthodes	
II.1. Présentation de la zone d'étude	17
II.1.1. Situation géographique.....	17
II.1.2. description de la zone d'étude.....	17
II.1.3. Données météorologiques et hydrographiques de la zone d'étude	19
II.1.3.1. Les vents.....	19
II.1.3.2. Pluviométrie	19
II.1.3.3. Température	20
II.1.3.4. Les houles	20
II.1.3.5. Les courants.....	21
II.1.3.5.1. Courants généraux	21
II.1.3.5.2. Courants côtiers.....	21
II.1.3.6. Marée et niveau d'eau	21
II.2. Le choix des stations et échantillonnage.....	21
II.3. Méthodes d'analyse.....	22
II.3.1. Etude paramétrique	22
II.3.1.1. La température et potentiel hydrogène.....	22

II.3.1.2. La salinité et la conductivité	23
II.3.1.3. Oxygène dissous	23
II.3.1.4. demande biochimique en oxygène (DBO ₅).....	23
II.3.1.5. Matière en suspension (MES)	23
II.3.1.6. La matière organique particulaire (MOP)	24
II.3.2. Etudes bactériologiques.....	25
II.3.2.1. Prélèvement	25
II.3.2.2. Méthodes de dénombrement	25
II.3.2.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries dans l'eau par la technique MF.....	26
II.3.2.2.2. Recherche et dénombrement des bactéries dans les moules	34
II.3.2.2.3. Techniques de caractérisation et d'identification des bactéries recherchées	38
CHAPITRE III. Résultats et discussions	
III.1. Résultats des paramètres physico-chimiques.....	44
II.1.1. La température.....	44
III.1.2. La salinité.....	45
III.1.3. Potentiel Hydrogène (pH)	45
III.1.4. L'oxygène dissous	46
III.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO ₅)	46
III.1.6. La matière en suspension (MES)	47
III.2. Résultats des analyses bactériologiques de l'eau de mer.....	48
III.2.1. Les coliformes totaux.....	48
III.2.2. Coliformes fécaux	48
III.2.3. Les Streptocoques fécaux	49
III.2.4. Les staphylocoques	50
III.2.5. Les sulfito-réducteurs.....	50
III.3. Résultats des analyses bactériologiques des moules.....	51
Discussion générale	55
Conclusion et perspective	59
Références bibliographique	
Annexes	

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures :

Figure 1: Présentation de la zone d'étude (Plage R'MILA) (APPL, 2003).....	18
Figure 2: Localisation du grand collecteur de Oued M'Kecel « 1 ^{ère} sortie » (Google earth, 2009)	19
Figure 3: Histogrammes des valeurs moyennes de la température, précipitation et la vitesse du vent dans la zone de Bab El Oued de Janvier au Mai 2009.....	20
Figure 4: Localisation des stations de prélèvement (Google earth, 2009).....	22
Figure 5: Four à moufle avec creusets.	25
Figure 6 : Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane.....	27
Figure 7 : Technique de dénombrement des bactéries sulfito-réductrices dans l'eau.	30
Figure 8: Technique d'enrichissement des salmonelles dans l'eau par la méthode MF.....	31
Figure 9 : Technique de d'enrichissement des vibrions dans l'eau.	33
Figure 10 : Dilution mère contenant 25g de chaire et 225ml de TSE.....	34
Figure 11 : Préparation des dilutions.	35
Figure 12 : Coloration de Gram.	39
Figure 13 : Résultats du test catalase.	40
Figure 14: Résultats du test coagulase	40
Figure 15 : Disque « Ox » qui sert à la détermination de l'oxydase des bactéries.	41
Figure 16: Inoculation de la galerie : Exemple d'une galerie API 20E	42
Figure 17: Identification sur galerie API 20.	43
Figure 18 : variation des valeurs moyennes de la température en fonction des stations.	44
Figure 19 : variation des valeurs moyennes de la salinité en fonction des stations.....	45
Figure 20 : variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations.	46
Figure 21 : variation des valeurs moyennes de l'oxygène dissous en fonction des stations.	46
Figure 22 : Variation de la DBO ₅ en fonction des stations.....	47
Figure 23 : Variation des concentrations moyennes des MES en fonction des stations.....	47
Figure 24 : variation des valeurs moyennes de la MOP en fonction des stations.....	48
Figure 25 : Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux en fonction des stations.	49
Figure 26 : Variation des concentrations moyennes des Streptocoques fécaux en fonction des stations.	49
Figure 27 : Variation des concentrations moyennes des Staphylocoques en fonction des stations.....	50
Figure 28 : Variation des concentrations moyennes des sulfito-réducteurs en fonction des stations... ..	50
Figure 29 : Variation des concentrations des microorganismes dans les moules.....	51
Figure 30 : Identification de quelques Entérobactéries par galerie API 20 E.....	53
Figure 31 : Variation des paramètres physico-chimiques en fonction des stations.	56

Figure 32 : Variation des concentrations moyennes des germes indicateurs de pollution fécale en fonction des stations.....	57
--	----

Liste des tableaux :

Tableau 1 : les principales sources de pollution.	3
Tableau 2: Microorganismes intéressant la surveillance de l'environnement maritime.....	6
Tableau 3: Principaux critères de qualité des eaux de baignade.....	12
Tableau 4 : Dénombrement des CT, CF, SF et staphylocoques par la méthode de filtration sur membrane.....	28
Tableau 5: Couleur des colonies sur la gélose SS.....	32
Tableau 6: Profil morphologique et biochimique de quelques bactéries recherchées (Bacilles Gram ⁻)	52
Tableau 7 : Profil morphologique et biochimique de quelques bactéries recherchées (bacilles Gram ⁺)	53

Liste des abréviations :

APPL : Agence de Promotion et de Protection du Littoral

BEA : Gélose Bile- Esculine

CF: Coliformes Fécaux

CT: Coliformes Totaux

DBO: Demande Biologique en Oxygène

DM : dilution mère

EPA : Eau peptonée alcaline

GNAB : Gélose nutritive alcaline biliée

LEM : Laboratoire des Etudes Maritimes

MES: Matière En Suspension

MOP: Matière Organique Particulaire

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ONEDD : Observatoire National de l'Environnement et du Développement Durable

PCA : Plate Count Agar

PH : Potentiel d'Hydrogène

PNUE: Programme des Nations Unies pour l'Environnement

PSU : Unité Pratique de Salinité

SF: Streptocoque Fécaux

SFB : Sélinite F-Bouillon

SS : Gélose Salmonella- Shigella

TCBS : Thiosulfates, Citrate, Bile, Saccharose

TSE : Tryptone Sel Eau

VBRL : Milieu Gélosé à base Lactose, Vert Brillant

WTW: Wissenschaftlich Technische Werkstätten

Introduction

La mer possède une grande capacité d'autoépuration et c'est un univers peu favorable au développement de la majorité des germes pathogènes, cependant l'évacuation incontrôlée des eaux usées transforme les eaux côtières en un milieu propice à leur développement. Selon l'OMS (1995), 80% des maladies qui affectent la population de la planète sont liées en grandes parties à l'insuffisance de l'évacuation des matières fécales.

En Algérie, l'une des causes majeures de la pollution marine reste la contamination bactérienne par les eaux usées. Il est à noter que plus de 70% des villes côtières algériennes n'ont pas leurs réseaux d'assainissement raccordés à des stations d'épuration, certaines bien qu'existantes sont inopérantes depuis plusieurs années et les rejets se font exclusivement dans la mer et dans les Oueds. En effet, plus de 54% des plages de l'algérois qui s'étendent sur 12.160 mètres linéaires, sont interdites à la baignade à cause de la pollution (communiqué des services de la wilaya d'Alger, mai 2007).

Les plages de la commune de Bab El Oued n'échappent à ce fléau. Longtemps interdites à la baignade, elles ont été réouvertes au public depuis 2003. La plage R'MILA de 112 mètres de longueur reçoit les effluents de cette commune et une partie de ceux de Bouzaréah par le biais de l'Oued M'Kesssel dont le débit est de plus de 2500m³/h (ONEDD, 2009).

Cette commune est l'une des plus vieilles d'Alger. Elle rassemble un total de 10 établissements de santé et un centre Hospitalo-universitaire qui représente, à lui seul, 7 % de sa superficie. Les effluents rejetés sont souvent caractérisés par leur importante charge en micro-organismes entériques, ce qui constituerait une éventuelle menace pour la santé publique (APC de Bab El Oued, 2009).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer le risque infectieux lié au déversement des effluents sur cette plage, sachant que celle-ci est ouverte au public gratuitement et très fréquentée par les adolescents. Il y a aussi une activité de pêche artisanale (une dizaine de pêcheurs) dans ce secteur.

Pour se faire une campagne de prélèvements des eaux et des moules sauvages a été réalisée du mois de mars au mois de mai.

Le plan du présent travail est le suivant :

La partie I est une synthèse des informations sur la pollution marine et la caractérisation physico-chimique et bactériologique des effluents liquides provenant des établissements de santé.

La partie II est axée sur la description de la zone d'étude et les méthodes des analyses physico-chimiques et bactériologiques des eaux littorales et des moules.

La partie III est consacrée à l'interprétation des résultats obtenus pour enfin conclure sur le risque éventuel de santé publique.

I.1. Généralités sur la pollution marine:

I.1.1. Définition :

La pollution des milieux aquatiques est définie par l'OMS comme étant : « *toute modification des propriétés physiques, chimiques ou biologiques, ou tout rejet de substances liquides, gazeuses ou solides dans l'eau de façon à créer une nuisance ou à rendre cette eau dangereuse ou préjudiciable du point de vue, soit de la santé, de la sécurité et du bien être publique, soit de ses usages destinés à des fins domestiques, commerciales, industrielles, agricoles, récréatives et autres, soit de la faune sauvage et aquatique.* »

I.1.2. Types de pollution :

Le tableau (1) résume les différents types de pollution ainsi leurs nature et agent causal.

Tableau 1 : les principales sources de pollution (ZILLOX, 2000).

Type de pollution	Nature chimique	Source ou agent causal
1- Physique		
Pollution thermique	Rejets d'eau chaude	Centrales électriques
Pollution radioactive	Radio-isotopes	Installations nucléaires
2- Chimique		
Pollution par les fertilisants	nitrates – phosphates	agriculture (lessives)
Pollution par des métaux et métalloïdes toxiques	mercure, cadmium, plomb, aluminium, arsenic,... etc.	industrie, agriculture, combustions (pluies acides)
Pollution par les insecticides et pesticides	insecticides, herbicides, fongicides	agriculture (industrie)
Pollution par les détersifs	agents tensioactifs	effluents domestiques
Pollution par les hydrocarbures	pétrole brut et ses dérivés	industrie pétrolière, transports
Pollution par des composés organochlorés	PCB, insecticides, solvants chlorés	industries
Pollution par les autres composés organiques de synthèse	très nombreuses molécules (plus de 70 000 !)	industries (usages dispersifs pour certains)
3- Organique		
Pollution par matières fermenticides	glucides, lipides, protides	effluents domestiques, agricoles, d'industries agro-alimentaires, du bois (papeteries)

4- Microbiologique		
Pollution par microorganismes	bactéries, virus entériques, champignons	effluents urbains, élevages, secteur agroalimentaire

I.1.3. Paramètres de la pollution :

I.1.3.1. Paramètres physico-chimiques :

Les phénomènes de pollution se traduisent généralement par des modifications des caractéristiques physicochimiques du milieu récepteur.

Un des moyens d'étude de la pollution consistera donc à mesurer par des analyses, ces caractéristiques au niveau du rejet, du milieu naturel ou du milieu pollué (GAUJOUS, 1995).

➤ La coloration :

La coloration est un paramètre essentiel de la « pollution esthétique », elle a pour origine :

- Naturelle : Certaines eaux très peu minéralisées contiennent des substances humiques fortement colorées
- Eutrophisation : pullulation d'algues ou de bactéries colorant l'eau en vert ou en rouge
- Chimique : colorants des tanneries, des teintureries (GAUJOUS, 1995).

➤ La température :

C'est un facteur écologique important du milieu marin, il influe sur le métabolisme cellulaire des organismes marins ainsi que la densité de l'eau et joue donc un rôle primordial dans les phénomènes de stratification des eaux de mer (GAUJOUS, 1995).

➤ Le potentiel d'Hydrogène (pH) :

C'est un paramètre qui nous permet de mesurer l'acidité ou la basicité d'une eau. (GOMELLA et GUERREE, 1978).

Le pH de l'eau de mer est proche de 8,2 et il est principalement fixé par la présence des carbonates : CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-} . La modification des concentrations en CO_2 (Respiration, photosynthèse ou échange air-mer) ou en CO_3^- (précipitation) entraîne donc une modification du pH (AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983).

➤ La salinité :

La mesure de la salinité est importante dans l'étude du milieu marin par son influence sur l'eau de mer, elle permet de connaître la circulation océanique, d'identifier les masses d'eaux d'origines différentes et de suivre leur mélange au large comme à la côte ou dans les estuaires. La grandeur de la salinité représente la proportion des sels minéraux dissous dans l'eau de mer.

En méditerranée, elle est voisine de 38 à 39 PSU, mais près des côtes, elle varie entre 36 et 37 PSU (AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983).

➤ **Les matières en suspension (MES) :**

L'eau tient en suspension de nombreuses particules qui jouent le rôle de matières adsorbantes des microorganismes, sans qu'il y ait intervention de réaction chimiques (BRISOUS et DENIS, 1979). Ces microorganismes ne peuvent être adsorbés que sur les particules comprises entre 1 et 20µm de diamètre (WOOD, 1963 in AUBERT et DESEROTTE, 1972).

Leur action est surtout mécanique: elles augmentent la turbidité de l'eau et modifient la nature des fonds, changeant ainsi la flore et la faune. Elles peuvent adsorber à leur surface des polluants chimiques et des germes (GAUJOUS, 1995).

➤ **Oxygène dissous :**

C'est un paramètre important gouvernant la majorité des processus biologiques du milieu aquatique. Sa concentration est la résultante des facteurs physiques (échange air- océan), chimiques (photosynthèse) et biologiques (RODIER *et al*, 2005).

L'analyse de l'oxygène dissous est le test clé pour le contrôle d'une eau polluée ou non, mais à condition qu'il n'y est aucune source d'erreur ou d'interférence (AMINOT et CHAUSSEPIED, 1983).

L'oxygène n'entre que pour **21 %** en volume dans la composition de l'atmosphère alors qu'il représente environ **35 %** du volume des gaz dissous à pression normale. La valeur maximum de la solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend :

- de la température de l'eau;
- de la salinité de l'eau;
- de la pression atmosphérique au lieu de l'observation;
- de la pression de vapeur saturante (qui est en fonction de la température de l'air) ;
- et de l'effet de houle.

➤ **Demande biochimique en oxygène (DBO₅) :**

Elle est définie comme étant la quantité d'oxygène consommée dans les conditions de l'essai, c'est-à-dire après incubation de l'échantillon durant 5 jours, à 20°C et dans l'obscurité, par certaines matières présentes dans l'eau, principalement pour assurer leur dégradation par voie biologique (RODIER *et al*, 2005).

Dans les effluents domestiques, elle varie entre 250 et 300mg (O₂)/l (LARPENT et LARPENT GOURGAUD, 1997).

I.1.3.2. Paramètres bactériologiques :

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes soit celles

qui les accompagnent et qui sont en plus grand nombre, en particulier dans l'intestin de l'homme et sont par leur présence indicatrices d'une contamination fécale, donc des maladies associées au péril fécal.

De très nombreuses recherches ont permis de dresser un bilan des micro-organismes contaminant le milieu marin littoral. Le tableau 2 ne citera ici que les bactéries et les virus les plus marquants, principalement d'origine entérique ou marine, pouvant avoir un impact sur la santé humaine.

Tableau 2: Microorganismes intéressant la surveillance de l'environnement maritime (BRISOU et DENIS, 1980):

	Recherche classique	Recherche occasionnelle
	Témoins de contamination fécale	Agents pathogènes occasionnels
Bactéries	Escherichia coli Streptocoques fécaux Clostridium sulfito-réducteurs Bifidobacterium	Staphylocoques Erysipelothrix Salmonella, Shigella Autre entérobactéries Vibron cholérique paraahaemolyticus Clostridium botulinum.
Virus	Humains Poliovirus Virus de l'Hépatite A	Virus coxsackie Echovirus Reovirus Adenovirus Rotavirus Virus de l'Hépatite B
	Bactériophages d'Escherichia coli de Salmonelles	-
Parasites	-	Candida Protistes Œufs d'helminthes Anisakis

I.1.4. L'auto épuration des eaux de mer:

L'auto épuration des eaux marine est le retour spontané à la normale d'un écosystème accidentellement modifié physiquement, chimiquement, biologiquement ou le tout à la fois. Il est capital de saisir l'importance du terme « accidentellement » car en cas de pollution permanente il n'y a plus d'auto épuration possible et de retour à l'équilibre.

Les premières recherches dans ce domaine (DEGIAXA, 1889 in GAUTHIER et PIETRI, 1989) avaient clairement démontré que les microorganismes allochtones, comme les coliformes, survivent mal dans les eaux marines, bien que les causes de cette disparition n'aient été clairement discernées.

Par la suite, de très nombreux travaux ont été entrepris pour analyser ce phénomène, aussi bien *in situ* qu'au laboratoire. Jusqu'aux années 70, il était admis que les bactéries pathogènes d'origine humaine étaient détruites en quelques heures dans l'eau de mer.

I.2. La contamination bactérienne des eaux de mer :

En dehors de l'augmentation progressive et alarmante du volume des eaux usées sur l'ensemble du littoral marin, due à la croissance des populations des villes côtières, la principale cause des pollutions bactériennes au niveau des plages réside dans le fonctionnement partiel ou défectueux des stations d'épuration (GAUTHIER, 1978) et dans l'installation anarchique des émissaires d'eaux usées le long des côtes, souvent trop voisins du rivage ou mal situés par rapport aux courants dominant. De cet état de fait, a résulté une importante pollution organique et bactérienne des zones littorales habitées.

I.2.1. Le comportement des bactéries entériques en mer :

La mer a toujours été l'exutoire de la majorité des cours d'eau et le réceptacle des eaux résiduaires de l'activité humaine (GAUJOUS, 1995).

Une fois déversées dans les océans les bactéries peuvent être retrouvées sous diverses formes.

➤ Les formes libres :

Cette forme est peu favorable et n'autorise pratiquement aucune forme de croissance. La survie ne peut que modestement se prolonger. Elle place la cellule en situation de carence car les germes n'ayant rencontré aucun support, aucun refuge, restent libres mais vulnérables. Ils représentent une minorité en péril et sont incapables de reproduction et par conséquent appelés à disparaître (BRISOUS et DENIS, 1978).

➤ Les formes de résistance :

Certaines bactéries doivent s'adapter à des habitats contrastés et survivre dans un milieu hostile à des variations de température, de pH et à des carences nutritionnelles.

▪ Les spores :

Elles sont l'une des formes de résistance et d'évolution que prennent certaines bactéries pour survivre dans des conditions hostiles et attendre les conditions plus propices afin qu'elles puissent germer et donner de nouvelles cellules végétatives identiques aux cellules originelles (BRISOU et DENIS, 1978 ; LECLERC et *al*, 1995).

▪ **Les formes L :**

Elles représentent des états par lesquels toutes les bactéries peuvent passer à un moment de leur existence. Le passage des bactéries à cet état de résistance, a été retrouvé dans les eaux des égouts et de rivières et chez les mollusques. Ils restent le plus souvent inaperçus faute de mise en œuvre des techniques appropriées (BRISOU et DENIS, 1978).

➤ **Les formes adsorbées :**

L'adsorption d'une particule correspond à la fixation sur une autre sans intervention d'une réaction d'ordre chimique. L'adsorption constitue un état très favorable pour la survie bactérienne. En effet, les matériaux favorables à la survie des bactéries, sont rassemblés aux doses maximales à la surface des particules adsorbantes ; ce qui permet aux microorganismes de trouver des conditions de survie acceptable.

➤ **Les formes absorbées :**

Vecteur passif en cas de simple adsorption, le plancton devient vecteur actif, conservateur, véhicule de microorganismes s'il les absorbe. Ces organismes jouent alors de réservoirs et de vecteurs de nombreux agents pathogènes pour l'homme et les animaux (BRISOU et DENIS, 1978).

I.2.2. Caractéristique d'un indicateur de contamination fécale :

La flore de contamination fécale est constituée de microorganismes appartenant à la flore intestinale qui est susceptible de croître dans les milieux extérieurs ou d'y persister (entérocoques, entérobactéries). Pour apprécier le risque, les contrôles de la salubrité de l'eau portent sur la recherche et la numération des témoins nommés germes indicateurs de contamination fécale (FIGARELLA et al, 2001).

Le choix de ces indicateurs doit répondre à certaines exigences (LARPENT et LARPENT GOURGAUD, 1997) :

- Etre présents quand les pathogènes le sont ;
- Etre toujours présents en plus grandes concentrations que les germes pathogènes à surveiller ;
- Etre incapable de se multiplier dans le milieu marin ;
- Etre plus résistant que les germes pathogènes dans l'environnement aquatique et aux désinfectants ;
- Etre mis en évidence, dénombrés et identifiés à l'aide de techniques simples.

Les microorganismes fécaux qui répondent à toutes ces conditions sont très peu nombreux, voire existants ; c'est ainsi que quelques témoins ont été choisis, il s'agit des coliformes, des streptocoques fécaux du groupe D de Lancfield et parfois les *Clostridium perfringens* (OMS, 1989).

La raison de ce choix tient essentiellement au fait que la numération de ces bactéries est beaucoup plus simple et rapide entre 24 à 48 heures ; que celles des germes pathogène ; généralement plusieurs jours avec nécessité d'identification sérologique (GAUTHIER et PIERTRI, 1989).

La présence simultanée des coliformes et des entérocoques suffit à confirmer qu'il y a pollution (BRISOU et DENIS, 1978).

I.2.3. Les bactéries indicatrices de la contamination fécale :

➤ Les coliformes totaux :

L'expression « coliformes totaux » regroupe plusieurs espèces bactériennes de la famille des Entérobactéries qui sont aérobies et anaérobies facultatives, à Gram négatif, asporulées en forme de bâtonnet, oxydase négative (CEAEQ, 2005). Ils sont capables de croître en présence de sels biliaries et fermentent le lactose en produisant de l'acide et du gaz en 48 heures à des températures de 35 à 37°C (RODIER et al, 2005). Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (CEAEQ, 2000). La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes (coliformes totaux) sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine, est capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement d'un désinfectant mais il est d'un intérêt nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale (RODIER et al, 2005).

➤ Les coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Elmund et al., 1999; Santé Canada, 1991; Edberg et al., 2000 in INSPQ, 2003).

Les coliformes fécaux thermotolérants sont considérés d'origine humaine (GAUJOUS, 1995). Lorsqu'on les trouve ; ils dénotent une pollution fécale récente car ils ne se propagent pas dans le milieu marin. Il a été signalé des taux de disparition (T-90) correspondant à une réduction de 90% du nombre de CF d'une à trois heures qui dépendent de la salinité, de la température et des rayonnements solaires (PNUE/OMS, 1977).

Les coliformes fécaux répondent aux critères de bons indicateurs, la principale difficulté qui s'attache à leur emploi, est la survie relativement courte en eau de mer, ce qui peut exiger un recours à des indicateurs supplémentaires (PNUE/OMS, 1977).

➤ Les streptocoques fécaux :

L'expression « streptocoques fécaux » regroupe toutes les bactéries à Gram positif de forme oblongue ou de cocci sphériques légèrement ovales, catalase négative (PNUE/OMS, 1977). Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes (LECLERC et al, 1995).

Selon la classification sérologique de Lancefield, le groupe des streptocoques fécaux (streptocoques du groupe D) comprend essentiellement : *S. bovis*, *S. equinus*, *S. durans*, *S. hirae*, *S. suis*, *S. faecalis* et *S. faecium*, car les autres streptocoques ont une origine fécale douteuse. Ils sont

des témoins de contamination fécale assez résistant y compris dans les milieux salés (GAUJOURS, 1995).

Ils peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9,6, on peut par conséquent les utiliser comme indicateurs d'organismes pathogènes qui ont une résistance au pH élevé (PNUE/OMS, 1977).

➤ **Les clostridiiums sulfito-réducteurs :**

Ils peuvent être considérés comme des germes fécaux, ce sont aussi des germes telluriques et de ce fait aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence. Dans une telle optique d'interprétation il y a intérêt à ne chercher que les espèces les plus susceptibles d'être d'origine fécale, c'est le cas en particulier de *Clostridium perfringens* (RODIER et al, 2005). Les *Clostridium perfringens* sont des bâtonnets anaérobies, Gram positif, sporulant et qui réduisent les sulfites en sulfures en 24 à 48 heures (PNUE/OMS, 1977).

Ils sont employés comme indicateurs dans l'étude des pollutions du littoral pour un certain nombre de raisons (PNUE/OMS, 1977).

- Ils se trouvent en abondance dans les eaux usées qui sont principalement d'origine humaine ;
- Ils ne se multiplient pas dans les sédiments ;
- Ils survivent dans les sédiments, ce qui permet de déceler une pollution ancienne ou intermittente (RODIER et al, 2005).

➤ **Les salmonelles :**

Elles appartiennent au groupe des Entérobactéries; elles sont en forme de bâtonnet, Gram négatif, anaérobies facultatives. Les salmonelles sont pathogènes pour l'Homme et peuvent causer des fièvres entériques, des gastroentérites et des septicémies (CEAEQ, 2005). Ce sont des microorganismes non sporulant, habituellement mobiles grâce à des flagelles péritriches ou immobiles, mésophiles avec une température optimale de croissance 37°C (Bourgeois, 1990). Les salmonelles fermentent le glucose, le maltose et le mannitol, avec production de gaz, mais elles ne fermentent pas le saccharose. Elles réduisent le sulfite en sulfure et décarboxylent la lysine.

Dans le milieu marin, les exutoires d'eaux usées constituent la principale source de pollution par les salmonelles (LECLERC et al, 1995).

Le genre *Salmonella* comprend de nombreuses espèces pathogènes. La contamination se fait par ingestion de l'eau de mer ou à la suite d'une consommation des fruits de mer. Des sérotypes tels que *Salmonella* Typhi, *salmonella* Paratyphi A, certaines souches de *Salmonella* Paratyphi B sont strictement humains ; d'autres concernent les animaux (bovins, volailles...), mais les sérotypes les plus nombreux sont ubiquistes (DELARRAS et TREBAOL, 2003).

➤ Les staphylocoques :

Ces bactéries appartiennent à la famille des Micrococcaceae (BERGEY, 1984). Ce sont des cocci à Gram positif arrangés en paires, en tétrades ou en grappes. Ils sont immobiles, aérobies ou anaérobies facultatifs, asporulés (OMS, 1995). Ils sont catalase (+) et fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (LECLERC et al, 1995).

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou « staphylocoque doré » possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (LECLERC et al, 1995).

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

La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (GAUJOUS, 1995 et RODIER et al, 2005).

➤ Les vibrions :

Cette famille comprend des bacilles à Gram négatif qui sont soit mobiles par une ciliature polaire péritriche contenue dans une gaine, ou bien immobile. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, réduisent les nitrates et dégradent des glucides par métabolisme fermentatif. Au sein de cette famille, on distingue 4 genres : *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* et *Photobacterium*.

Le genre *Vibrio* revêt une importance particulière dans la contamination des eaux et des fruits de mer. La plupart des vibrions sont d'origine marine, ils ne se multiplient qu'en présence de NaCl (FAO, 1996). On distingue une trentaine d'espèces différentes, les plus importantes qui sont réputées pathogènes pour l'homme sont : *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus*.

V. cholerae est l'espèce la plus connue du genre *vibrio*. Elle ne se trouve pas à l'état naturel dans l'eau propre, mais elle est introduite par les eaux usées non traitées.

I.2.4. Les techniques d'évaluation de la qualité bactériologiques du milieu marin :

Il existe plusieurs méthodes de dénombrement des bactéries dans les eaux de mer. La plus part sont basées sur la mise en culture des échantillons dans ou sur des milieux nutritifs sélectifs.

I.2.4.1. La méthode de filtration sur membrane :

Cette technique consiste à filtrer sur des membranes montées dans un appareil à filtration un volume d'eau brute (ou diluée), puis à appliquer ces membranes sur des milieux sélectifs, coulés en boîtes de Pétri. Après incubation, les colonies développées seront dénombrées et éventuellement prélevées pour être confirmées ou étudiées.

Cette méthode a été mise au point dès 1929 par Cholodny. L'avantage de cette méthode est sa simplicité, sa rapidité, sa rentabilité et l'économie du temps (BRISOU et DENIS, 1980).

I.2.4.2. La méthode de fermentation en tubes multiples ou méthode du nombre le plus probable (NPP) :

Cette méthode est une estimation statistique du nombre des microorganismes supposés être distribués dans l'eau d'une manière parfaitement aléatoire (loi de poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide (Rodier et al, 2005). Pour l'application de cette technique, plusieurs dilutions sont réalisées pour chaque échantillon à analyser et pour chaque dilution, plusieurs tubes sont ensemencés (généralement de 3 à 5). La réplique des microorganismes est constatée par la production d'une turbidité, d'un acide ou d'un gaz dans le tube. Le nombre de tubes positifs est alors compté pour chaque dilution et des tables permettent d'estimer le nombre des microorganismes dans l'échantillon original.

II.2.5. La qualité bactériologique des eaux de baignades :

La qualité des eaux de baignade est principalement mesurée par la teneur de contamination fécale (coliformes, streptocoques) qui accompagnent fréquemment des germes pathogènes, porteurs de maladies, dont la détection est plus difficile.

Selon l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993, les eaux de baignade doivent répondre aux normes suivantes :

Tableau 3: Principaux critères de qualité des eaux de baignade (Extrait de l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993)

Paramètres microbiologiques	Unités	Valeur guide	Valeur impérative
Coliformes totaux	/100ml	500	10 000
<i>Escherichia coli</i> / 100 ml	/100ml	100	2 000
Streptocoques fécaux/ 100 ml	/100ml	100	-
Salmonelles	1L	-	0
Vibrion cholérique	/450ml	-	0

- **Valeurs guide** : caractérise une bonne qualité pour la baignade.

- **Valeurs limites** : constitue la limite supérieure au-delà de laquelle l'eau est considérée de mauvaise qualité (baignade interdite).

- Les eaux dont les concentrations sont comprises entre les valeurs guides et valeurs limites sont de qualité acceptable et doivent faire l'objet d'une surveillance continue.

I.2.6. Risques sanitaires liés aux contaminants bactériens :

Les impacts associés à la contamination bactérienne des eaux littorales affectent la qualité de l'eau elle-même mais aussi celle des cheptels présents sur les sites soumis aux contaminations. C'est l'homme : l'utilisateur du littoral en qualité de « baigneur » ou de « consommateur de fruit de mer » qui suscite un grand intérêt.

I.2.6.1. Risques liés à la baignade :

Dans le domaine des eaux de baignade comme pour la consommation des coquillages, l'ingestion est le mode d'agression le plus important. Un baigneur ingère de l'ordre de 75 à 100ml d'eau en moyenne lorsqu'il nage la tête sous l'eau (POGGI, 1990).

Lorsque les eaux sont polluées, elles demeurent des agents non négligeables de diffusion de certaines maladies parmi lesquelles on retrouve :

- **Les affections cutano-muqueuses :**

- **Maladie de la sphère O.R.L et oculaire :**

Les conjonctivites sont les maladies majeures liées au séjour sur les sables de plage et les eaux de mer. Les responsables de ces affections appartiennent au groupe des « Chlamydozoons » qui peuvent préparer le terrain à d'autres bactéries (staphylocoques) et les virus (adénovirus). (BRISOU et DENIS, 1978).

Les affections de la sphère ORL sont aussi fréquentes, provoquées généralement par les streptocoques du groupe D de Lancfield (BRISOU et DENIS, 1978).

- **Les dermatoses :**

Les incidents cutanés sont fréquents chez les baigneurs et les sujets fréquentant les sables de plage. Elles connaissent des origines diverses : Les bactéries banales telles que les staphylocoques, les streptocoques, les microcoques (*Micrococcus epidermis*) sont à l'origine des furonculoses, abcès et des panaris auxquelles il faut ajouter les affections génito-urinaires provoquées par les « chlamydiae » généralement (BRISOU et DENIS, 1978).

I.2.6.2. Risques liés à la consommation des fruits de mer :

Les germes présents dans une eau s'accumulent dans les coquillages filtreurs.

- Les salmonelloses (typhoïde, paratyphoïde, toxi-infection, gastro-intestinal) restent à la première des affections bactériennes transmises par les fruits de mer.
- Les vibrioses :

Vibrio cholerae : reste l'un des plus redoutables puisque c'est le germe responsable du choléra endemo-épidémique.

Vibrio parahaemolyticus : a été reconnu responsable de gastro-entérite aiguës, parfois mortelles (BRISOU et DENIS, 1978 ; POGGI, 1990 ; EBERLIN, 1997).

I.3. Généralités sur les effluents hospitaliers :

L'hôpital est un grand consommateur d'eau, en effet par comparaison avec la consommation en milieu domestique. Se rajoute également à cette consommation d'eau de distribution publique, les eaux spéciales utilisées par l'hôpital (eau stérile par exemple).

Par conséquent, si les volumes d'eau entrant dans l'hôpital sont importants, les volumes rejetés dans le réseau d'assainissement public le sont également ; ces rejets pouvant générer une pollution de l'environnement.

Les usages de l'eau à l'hôpital sont très variés ; usage alimentaire, sanitaire, technique et thérapeutique..., et génèrent donc différents types d'effluents.

Pour avoir une première approche des effluents hospitaliers il est nécessaire tout d'abord d'identifier l'origine des rejets et de connaître ensuite les risques qu'ils peuvent générer.

I.3.1. Les différents rejets hospitaliers (EMMANUEL, 2003) :

On distingue deux catégories de rejet dans les établissements de santé :

- les rejets de nature domestique ;
- les rejets spécifiques aux hôpitaux.

I.3.1.1. Les rejets de nature domestique :

Dans cette catégorie, on retrouve les rejets des cuisines, les rejets de produits détergents, les rejets des garages et ateliers, enfin ceux de la blanchisserie.

➤ Les rejets des cuisines :

La confection des repas pose principalement le problème de rejet d'eaux grasses. Celles-ci outre les problèmes de putréfaction qu'elles génèrent, provoquent des dépôts dans les canalisations et le colmatage du réseau d'assainissement.

➤ Les rejets de produits détergents et d'entretien :

La consommation de détergents et de produits d'entretien dans un hôpital est considérable compte tenu de l'usage intensif qu'il en est fait : blanchisserie, nettoyage des surfaces, nettoyage du matériel médicochirurgical, toilette des patients et du personnel.

Pour connaître approximativement les volumes de détergents et de produits d'entretien rejetés, il suffit de se référer aux bons de commande.

Les risques de pollution par ces rejets sont surtout liés à leur nature chimique, leur caractère non biodégradable pour certaines et leurs utilisations intensives.

➤ Les rejets des garages et ateliers :

Les garages et les ateliers utilisent des produits chimiques (détergents, savons, huiles...). On peut donc également parler de pollution chimique par les rejets occasionnés, avec cependant une pollution moindre pour les ateliers, les quantités utilisées étant moins importantes.

I.3.1.2. Les rejets de nature spécifique à l'hôpital (DARSY et al, 2002) :

Ces rejets sont spécifiques d'une part de l'activité de soins concernant de nombreux services et d'autre part de l'activité de certains services.

➤ Les rejets spécifiques communs aux différents services de soins :

On retrouve dans cette catégorie de rejet tout ce qui est relatif :

- aux produits désinfectants et antiseptiques ;
- aux rejets de germes pathogènes ;
- les eaux de cadavres lavées ou venant du cimetière ;
- aux médicaments ;
- aux métaux lourds (mercure).

➤ Les rejets de produits désinfectants et antiseptiques :

L'hôpital est un gros consommateur de produits désinfectants et antiseptiques, compte tenu des problèmes d'hygiène qu'on y rencontre.

Les principaux produits désinfectants utilisés pour la désinfection des sols et des surfaces ou encore pour la désinfection des instruments et des matériels sont :

- soit des produits chlorés, le plus courant étant l'eau de javel.
- soit des produits contenant des aldéhydes tels que par exemple le glutaraldéhyde pour la désinfection de certains matériels médicochirurgicaux (endoscopes, fibroscopes...) ou encore le formaldéhyde sous forme liquide employé pour la désinfection des circuits d'hémodialyse.
- soit des produits contenant des dérivés.

Les antiseptiques, produits chimiques utilisés pour lutter contre les infections bactériennes des peaux, des plaies sont principalement le soluté de Dakin (dérivé chloré), la Bétadine et la chlorhexidine.

➤ Les rejets contenant des éléments pathogènes :

L'hôpital est un lieu où sont concentrées des personnes potentiellement porteuses de germes pathogènes et où peuvent se développer des infections nosocomiales. Il se pose alors la problématique de savoir si l'hôpital peut-être générateur d'une pollution bactériologique.

En effet, il peut exister plusieurs sources de rejet d'éléments pathogènes à l'hôpital. Des germes bactériologiques, viraux et/ou parasitaires peuvent être évacués avec les eaux vannes et avec les produits d'analyses des laboratoires s'il n'existe pas de systèmes de récupération ou de traitement spécifiques.

De plus, du fait de l'utilisation quelquefois intensive d'antibiotiques à l'hôpital certaines souches bactériennes peuvent développer des facultés de poly résistance aux antibiotiques. Le danger de pollution peut donc être accentué par la présence de ces germes dans le réseau d'assainissement public.

Cependant, il reste à démontrer que la composition bactérienne des eaux usées hospitalières est notablement différente de celle des eaux usées domestiques et que ses éléments pathogènes sont en concentration suffisante pour causer des maladies et donc parler de contamination.

➤ **Les rejets médicamenteux (CORVAISIER, 2000) :**

Les médicaments utilisés dans les établissements de santé sont variés et représentent des quantités importantes. On peut citer à titre d'exemple, les analgésiques les antipyrétiques, les antibiotiques - les antiviraux - les antifongiques, les immunodépresseurs et les anticancéreux.

Les consommations peuvent bien sûr varier suivant l'établissement et les services de soins. Pour avoir une approche quantitative, il faut se référer aux feuilles de commande adressées à la pharmacie par les différents services de l'hôpital.

On distingue deux voies d'élimination des médicaments, la première et la plus conséquente concerne les excréta et les liquides biologiques, la seconde le circuit d'élimination des médicaments non utilisés et du matériel souillé.

L'élimination des médicaments non utilisés ou périmés est faite, dans certains cas, via les éviers et les vidoirs des services. Cela est évidemment un cas extrême de négligence mais malheureusement il peut se rencontrer dans certains établissements.

➤ **Les laboratoires d'analyses et la pharmacie :**

Dans le cadre de leurs activités (travaux et analyses, nettoyage des appareils), les laboratoires utilisent différents produits chimiques (solvants, acides, bases, produits radioactifs, des produits de rinçage...) et manipulent des liquides biologiques (sang, urines, selles, expectorations, cellules...) plus ou moins infectieux.

Ces produits présentent des dangers pour l'environnement et pour l'Homme rendant nécessaire des mesures particulières d'utilisation et d'élimination.

En considérant que la plupart des produits les plus dangereux sont en principe récupérés dans des containers, il n'en reste pas moins que la plupart des lavages et rinçages ainsi que certains liquides biologiques négatifs en culture sont évacués au réseau d'égout.

La pharmacie utilise également dans ses activités des produits chimiques dangereux pour l'environnement et la santé publique. Cependant, de par sa fonction de pharmacovigilance celle-ci est plus apte à évaluer les risques et par conséquent à prendre des mesures adaptées pour éviter ces risques de pollution.

II.1. Présentation de la zone d'étude :

II.1.1. Situation géographique :

La commune de Bab-El-Oued, située sur le littoral algérois, est localisée à 2 Km à l'Ouest du centre d'Alger. C'est l'un des quartiers les plus vieux d'Alger, complètement urbanisé, détient un réseau routier important qui le relie avec plusieurs communes avoisinantes, d'où sa situation stratégique.

La commune de Bab El Oued couvre une surface de 1,4 Km² et s'étend sur 1,6 Km de côte. Elle est limitée :

- Au Nord Est par la mer Méditerranée.
- Au Nord Ouest par la commune de Bologhine.
- Au Sud Est par la commune Casbah.
- Au Sud Ouest par la commune de Oued Koriche
- A l'Ouest par la commune de Bouzaréah.

II.1.2. description de la zone d'étude :

Notre zone d'étude, la plage R'MILA qui fait partie de la commune de Bab El Oued, elle est insérée entre la plage EL KETTANI à l'Est et le stade FERHANI à l'Ouest (Figure1).

➤ **Caractéristiques techniques de la plage** (APPL, 2008):

- Statut de la plage: Autorisé à la baignade depuis 2004 ;
- Longueur : 112m ;
- Largeur : 35m (été), 25m (hiver) ;
- Nature : Sable fin à moyen ;
- Capacité de baigneurs : 171 personnes.

➤ **Nombres de rejets existants au niveau de la plage :**

- Nombre de collecteur: un collecteur des eaux usées de l'Oued M'Kecel «1^{ère} embouchure de L'Oued » avec un débit de 2500m³/h et pendant la période estivale ce rejet sera dévié vers Kaa Essour (ONEDD, 2009) (Figure2).
- Nombre de fosses : 01.



Figure 1: Présentation de la zone d'étude (Plage R'MILA) (APPL, 2003).



Figure 2: Localisation du grand collecteur de Oued M'Kecel « 1^{ère} sortie » (Google earth, 2009)

II.1.3. Données météorologiques et hydrographiques de la zone d'étude :

II.1.3.1. Les vents :

Des observations effectuées entre janvier 1976 et novembre 1981 au Cap Caxine à l'Ouest d'Alger, ont permis de préciser le régime et la vitesse des vents dans la région.

Les vents du secteur NE ($N60^\circ$) sont les plus fréquents avec près de 30% des observations. Ces vents sont mieux marqués en été. Leur vitesse se répartit entre 1 et 30 nœuds, toutefois pour près de 20% de ces observations la vitesse est de 6 à 10 nœuds.

Les vents du secteur WSW ($N260^\circ$) sont bien représentés avec plus de 20% des observations. Ils soufflent principalement en hiver. La vitesse de ces vents est de 6 à 10 nœuds pour 17% des observations mais peut atteindre 30 nœuds (0,23%).

Les vents du secteur SSE ($N180^\circ$), les moins représentés avec moins de 10% des observations, sont mieux marqués en automne et en hiver. Leur vitesse est de 6 à 10 nœuds pour près de 9% des observations (LEM, 2006).

II.1.3.2. Pluviométrie :

Les précipitations sur la région varient de 600 à 1000 mm et tombent en 80 jours en moyenne. Elles sont très irrégulièrement réparties à l'échelle annuelle.

On observe une croissance rapide de la pluviosité de septembre à décembre puis une décroissance plus lente jusqu'en juin et enfin des pluies quasiment nulles en juillet et en août.

Les précipitations se répartissent essentiellement (50%) au cours des mois de novembre, décembre et janvier (LEM, 2006).

II.1.3.3. Température :

La baie d'Alger en générale et la zone de Bab El Oued en particulier se distingue par deux périodes dans le cycle saisonnier annuel (LEM 2006) :

- La première, chaude, s'étale de Mai à Octobre avec un maximum en Août (39,2°C).
- La seconde, relativement froide, couvre les autres mois de l'année avec un minimum en Février (3°C).

- Les valeurs moyennes enregistrées au niveau de la zone des trois paramètres précédents sont représentées sur la figure3 (LEM, 2009).

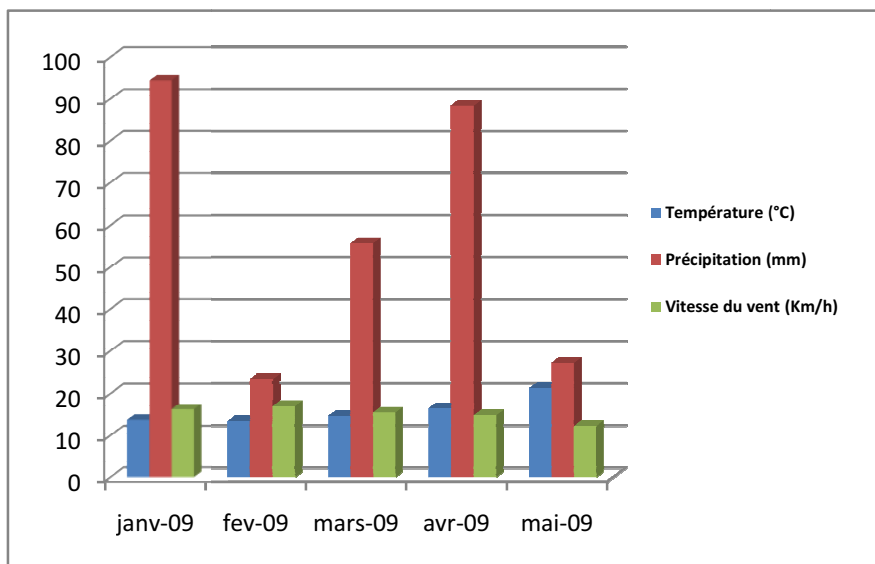


Figure 3: Histogrammes des valeurs moyennes de la température, précipitation et la vitesse du vent dans la zone de Bab El Oued de Janvier au Mai 2009.

II.1.3.4. Les houles (LEM, 2006) :

Des données de houles provenant de cinq sources différentes ont été analysées. Les écarts entre les résultats obtenus à partir de ces différentes sources restent dans les limites admissibles.

De ces résultats, il ressort qu'il y a une période hivernale avec prédominance au large des houles de secteurs NE à E, les houles de secteur N étant régulièrement réparties tout au long de l'année.

Les tempêtes les plus fréquentes proviennent néanmoins du secteur N, mais celles de NE, plus rares sont plus destructrices, la direction la plus défavorable étant N30°.

Dans le secteur Rais Hamidou- Alger, la dérive générale et la dérive littorale sont parallèles et orientées vers l'Est.

Les houles d'été atteignent la zone Alger- Rais hamidou de manière frontale. Ce secteur se trouve donc fortement attaqué par ces houles ce qui pourrait expliquer l'absence quasi-totale de plages.

II.1.3.5. Les courants :

II.1.3.5.1. Courants généraux :

Le courant général des eaux Atlantiques venant de Gibraltar vers l'Est reste généralement dans un ordre de grandeur de 0,5 à 1m/s au large de la côte algérienne (LEM, 2006).

II.1.3.5.2. Courants côtiers:

En prenant les informations de plus de 8000 observations enregistrées au large par le Koninkrijk Nederland Météo- Logisch Institut (KMNI), les courants côtiers les plus significatifs sont dus à la houle. Les courants le long des côtes Algériennes sont généralement faibles en direction Ouest et Est. Selon la même source, les courants côtiers dominants (environ 75% du temps) ont une vitesse de 0.25m/s, et 24% de temps la vitesse est inférieure à 0.5 m/s, Seulement 1% du temps la vitesse est supérieure à 1m/s (AICHIOU et ECHCHATABI, 2006).

II.1.3.6. Marée et niveau d'eau (LEM, 2006) :

La marée dans la méditerranée et sur la côte d'Alger est très faible et dépassent rarement 0,20m avec des périodes de 24 et de 12 heures environ.

En plus de la marée astronomique, le niveau d'eau sur la côte algéroise change, cela est dû entre autres à la pression barométrique et le vent. Mais au total la variation du niveau d'eau reste faible. Les hautes eaux sont généralement observées en saison hivernales. Les basses mers sont généralement observées à la suite d'une anti-dépression pour un vent très faible (Toutes directions).

II.2. Le choix des stations et échantillonnage:

L'une des principales sources de la contamination de la plage R'Mila est les eaux apportées par l'égout, qui sont rejetées en mer sans aucun prétraitement. De ce fait, il est primordial d'étudier et de comprendre la provenance et la propagation des rejets en mer afin d'évaluer le taux de pollution de cette plage, tout en analysant les paramètres physicochimiques et bactériologiques.

Dans notre étude, deux matrices ont fait l'objet de l'examen bactériologique : Eau de mer et moules sauvages.

Pour l'analyse des eaux, notre stratégie d'échantillonnage est basée sur le recouvrement global de toute la zone fréquentée par les baigneurs. Six stations ont été choisies à cet effet en fonction de la largeur de la plage et de la distance par rapport à la côte (Voir Figure 4).

Les moules, organismes filtreurs de grandes quantités d'eau, sont d'excellents indicateurs de pollution. Ils ont été prélevés au niveau de la plage El KITANI, une plage mitoyenne à la plage R'MILA. Les coordonnées lombaires de la station sont les suivantes :

Latitude (N) : 36°47' 39,45''

Longitude (E) : 3°03' 40,18''

➤ **Les prélèvements :**

Au niveau de chaque station, un prélèvement d'eau en surface a été effectué pour l'analyse bactériologique, la mesure des matières en suspension (MES) et des matières organique particulaire (MOP) et la mesure de la demande biochimique en oxygène (DBO₅).

La température, la salinité, la conductivité, l'oxygène dissous et le pH ont été mesurés in situ à la surface de chaque station.

Les prélèvements sont étalés sur une période de six semaines entre Mars et Mai 2009.

Le rythme d'échantillonnage était d'une fois par semaine, la fréquence étant souvent conditionnée par les conditions météorologiques. Les prélèvements ont été réalisés au bord d'une petite embarcation.



Figure 4: Localisation des stations de prélèvement (Google earth, 2009).

II.3. Méthodes d'analyse :

II.3.1. Etude paramétrique :

II.3.1.1. La température et potentiel Hydrogène:

Pour l'estimation simultanée de la température et du pH sur le terrain, la méthode retenue est la méthode électrochimique en raison de sa simplicité et sa rapidité.

Pour notre étude, nous avons utilisé un pH mètre de terrain de marque **Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW »**. Cet appareil est muni d'une électrode en verre que l'on

plonge dans l'eau de mer, ensuite les valeurs s'affichent. L'électrode en verre, rincée à chaque fois, à l'eau distillée et légèrement essuyée est immédiatement plongée dans le flacon d'échantillon. L'appareil est étalonné avant son utilisation.

II.3.1.2. La salinité et la conductivité :

Pour mesurer ces deux paramètres on a procédé de la même façon que dans la mesure du pH et de la température sauf dans ce cas on a utilisé un conductimètre de marque **Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW »**

II.3.1.3. Oxygène dissous :

Oxygène dissous a été mesuré in situ à l'aide d'un oxymètre de marque **Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW »**.

II.3.1.4. demande biochimique en oxygène (DBO₅):

C'est une méthode manométrique avec des manomètres de marque OxiTop à affichage numérique qui se fixent directement sur le flacon DBO.

➤ Mode opératoire (RODIER et al, 2005) :

- La prise d'essai est de 250ml ;
- Introduire 250ml dans un flacon brun en verre contenant un aimant d'agitation magnétique ;
- Mettre la capsule qui contient deux pastilles de soude (NaOH) dans la bouteille ;
- Les bouchons doivent être fermés à moitié pendant 15 minutes ; puis on procède à leur fermeture complète.
- L'agitation est ensuite enclenchée par un dispositif adéquat ;
- La température est équilibrée par un thermostat réglé à 20°C ;
- Les échantillons sont incubés en obscurité pendant 5 jours ;
- Lecture des résultats.

II.3.1.5. Matière en suspension (MES):

➤ Principe de la méthode :

La mesure des matières en suspension repose sur la méthode qui consiste à faire passer l'eau à travers un filtre et de retenir toutes les particules de taille supérieure à 0,45µm de diamètre. Le filtre est séché et pesé avant et après filtration. La différence des poids entre les deux pesées (P₁, P₂) permet de connaître la masse sèche totale de la matière en suspension dans le volume d'eau correspondant (AMINOT et al, 1983).

➤ Appareillage :

- Un dispositif de filtration sous vide de marque **Sartorius**.
- Des membranes filtrantes de type **Whatman** GF/C de diamètre 47mm (Ø= 0.45µm).
- Une balance de précision 10.⁻³

- Une étuve de marque **MEMMERT**

➤ **Mode opératoire :**

- Macérer les filtres destinés à recueillir la MES pendant 24 heures dans l'eau acidulée (5% d'HCl) ;
- Rincer les filtres avec de l'eau distillée et séchés dans une étuve à 70°C pendant deux heures ;
- Laisser les filtres refroidir pour être ensuite pesés et conservés à l'abri de la poussière dans des boîtes individuelles numérotées ;
- Placer les filtres dans le dispositif de filtration ;
- Homogénéiser l'échantillon ;
- Verser 250ml de l'échantillon et appliquer le vide ;
- Enlever les filtres et les mettre dans l'étuve (70°C pendant 2h) pour le séchage ;
- Peser les filtres après filtration.

➤ **Calcul et expression des résultats :**

La concentration des MES est donnée par l'expression suivante :

$$[\text{MES}] \text{ (mg/l)} = (\text{P}_2 - \text{P}_1)/\text{V}$$

- **[MES]** : Concentration de la matière en suspension (mg/l).
- **P₁** : Poids du filtre sec avant filtration (mg).
- **P₂** : Poids du filtre sec après filtration (mg).
- **V** : Volume d'eau filtré.

II.3.1.6. La matière organique particulaire (MOP) :

Les filtres utilisés pour la détermination de la matière en suspension dans l'eau de mer sont mis dans des creusets, et pesés avec précision, soit P₁ ce poids.

Après les avoir passé au four à moufle (Figure5) à 450°C pendant deux heures, les creusets et les filtres sont à nouveau peser, soit P₂ ce poids. La différence de ces deux poids (P₁, P₂) nous donne le poids de la matière organique brûlée.

$$\text{M.O (mg/l)} = (\text{P}_1 - \text{P}_2)/\text{V}$$

Avec :

P₁ : Poids du creuset et du filtre avant séchage.

P₂ : Poids du creuset et du filtre après séchage.

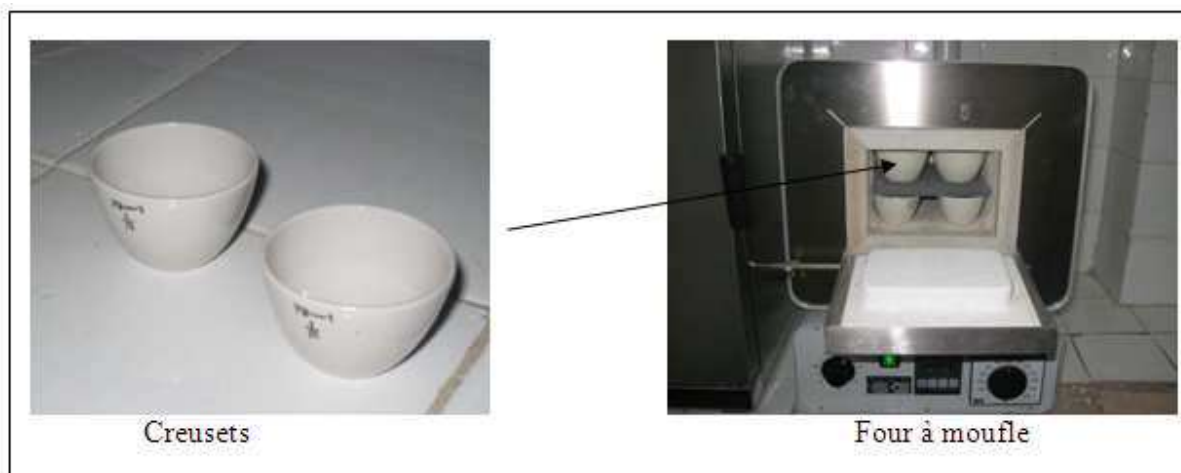


Figure 5: Four à moufle avec creusets.

II.3.2. Etudes bactériologiques :

Les germes test recherchés sont les coliformes thermotolerants, *E.coli*, coliformes totaux, streptocoques du groupe D, les staphylocoques, les Clostridium, les vibrions et les salmonelles.

II.3.2.1. Prélèvement :

Un examen bactériologique doit être effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans des flacons stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle, correctement transporté au laboratoire et analysé après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes (MAUL et al, 1989).

- Les échantillons sont prélevés dans des flacons en verre de 500 ml, stérilisés au four à 170°C pendant 10 minutes.
- Les flacons sont ouverts, remplis et refermés sous l'eau pour éviter toute contamination avec l'air (il est conseillé de ne pas remplir entièrement la bouteille et de laisser un espace vide suffisant pour l'homogénéisation).
- Les échantillons sont transportés dans une glacière (4°C) à l'abri de la lumière.
- Pour éviter les modifications de la teneur initiale, l'analyse ne doit pas excéder 24 heures.

II.3.2.2. Méthodes de dénombrement :

Dans cette étude on a opté pour la méthode de dénombrement : La méthode de filtration sur membrane (MF) afin d'avoir une estimation plus exacte sur la charge bactérienne dans la zone d'étude.

II.3.2.2.1. Recherche et dénombrement des bactéries dans l'eau par la technique MF :**➤ Matériel :**

- Dispositif de filtration (Figure6).
- Bec-bunsen pour la stérilisation de la zone de travail.
- Boîtes de Pétri avec les milieux de culture spécifiques pour chaque germe.
- Membranes d'ester de cellulose, filtrantes, quadrillées et stériles (en emballage individuel) de porosité de 0.45 μ m et de 47 mm de diamètre susceptible de retenir les bactéries.
- Incubateur (Etuve) dont la température est ajustée selon le germe étudié.
- Pompe à vide.
- Pincés stérilisées.
- Pipettes.

➤ Mode opératoire

La réalisation de la technique de filtration sur membrane a été faite selon les recommandations suivantes :

Devant un bec-bunsen et sur une paillasse javellisée ;

- Lavage et stérilisation de l'équipement de filtration ;
- Flamber l'entonnoir, le support et la plaque poreuse de l'appareil puis refroidir avec de l'eau ;
- A l'aide d'une pince flambée et refroidie, prélever une membrane stérile en la saisissant par son bord extérieur et la déposer sur la plaque poreuse ;
- Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement ;
- Verser dans chaque entonnoir un volume d'échantillon bien homogénéisé ;
- Appliquer le vide jusqu'à filtration totale de l'échantillon ;
- Retirer l'entonnoir et déposer la membrane filtrante à l'aide d'une pince stérile sur un milieu adapté aux bactéries recherchées ;
- Déposer la membrane en la déroulant pour tenir un contact étroit avec la gélose.
- Incrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et le volume filtré ;
- Placer les boîtes de Pétri en position inverse pour empêcher la condensation sur les membranes et les incubées à une température donnée et pendant une durée spécifique pour chaque germe ;
- Flamber le dispositif par le bec-bunsen après chaque échantillon filtré, afin d'éviter toute contamination possible.





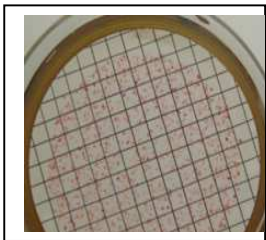
Figure 6 : Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane.


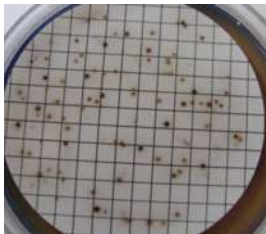

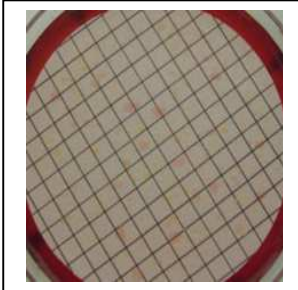
- 1 : Support à filtre ;
- 2 : Fiole de récupération des eaux filtrées ;
- 3 : Pompe à vide.

a. Dénombrement des coliformes, de streptocoques fécaux et des staphylocoques:

L'exactitude et la facilité des dénombrements de colonies bactériennes sur les membranes après incubation sont étroitement liées à la quantité d'eau à filtrée sur ces membranes (DELARRAS et TREABOL, 2003). Le tableau suivant nous résume la procédure à suivre pour le dénombrement des ces germes.

Tableau 4 : Dénombrement des CT, CF, SF et staphylocoques par la méthode de filtration sur membrane.

Germes recherchés	Milieu sélectif utilisé	Sélectivité du milieu	Volum e filtré	Température et durée d'incubation	Aspect du milieu après incubation
Totaux	 Tergitol-TTC	Tergitol 7 est un agent tensioactif inhibiteur de bactéries Gram ⁺ et Gram ⁻ (<i>Proteus</i>)	50ml*	35±2°C pendant 24 heures	-Colonie rose rouge : réduction du TTC. -Colonie jaune : absence de réduction du TTC. Halo bleu-vert : lactose -. Halo jaune : lactose+. <i>E. coli</i> et <i>Enterobacter aerogenes</i> donnent des colonies jaunes Les autres coliformes donnent des colonies rouges
Coliformes				44±0,5°C pendant 24 heures	
Fécaux					
Streptocoques fécaux (Streptocoques du groupe D)	Test présomptif  Slanetz	contient un inhibiteur des Gram ⁻ , qui sélectionne les Streptocoques : l'azide de sodium.	100ml	37°C pendant 24 à 48 heures	Les Entérocoques donnent des colonies de taille moyenne, roses ou rouges. 

	<p>Test confirmatif</p>  <p>BEA (gélose Bile-Esculine-Azide)</p>	<p>C'est un milieu sélectif des streptocoques peu exigeants. Il contient 2 inhibiteurs :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la bile de bœuf - azide de sodium 	<ul style="list-style-type: none"> - Transférer la membrane du test présomptif sur le milieu BEA ; - Laisser sur la paillasse à la température ambiante pendant 20 minutes. 		<p>Colonies présentant une couleur noire à brun, esculine⁺ : typique des streptocoques du groupe D</p> 
<p>Staphylocoques</p>	 <p>Chapman</p>	<p>-Concentration élevée en NaCl : Isolement sélectif de <i>Staphylococcus</i> tolérant les fortes concentrations en NaCl.</p>	<p>50ml</p>	<p>37°C pendant 24 heures</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies entourées d'une zone jaune, mannitol⁺ : <i>S. aureus</i>, <i>S.saprophyticus</i>... - Colonies entourées d'une zone rouge ou pourpre, mannitol⁻ : <i>S. epidermidis</i>, <i>S. hominis</i>... 

b. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices :

Pour le dénombrement des spores des anaérobies sulfitoréducteurs, on utilise le milieu à base de viande- foie additionné d'une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de Sulfite de Sodium par flacon de 250ml, les spores se manifestent sous forme de colonies entourées d'un halo noir. Le résultat s'exprime en nombre de spore par 100 ml (RODIER et al, 2005).

Les spores qui se sont développées en anaérobiose sont des bactéries produisant à partir des sulfites, des sulfures qui se précipitent avec les ions de fer : *Clostridium* sulfitoréducteurs.

• Mode opératoire :

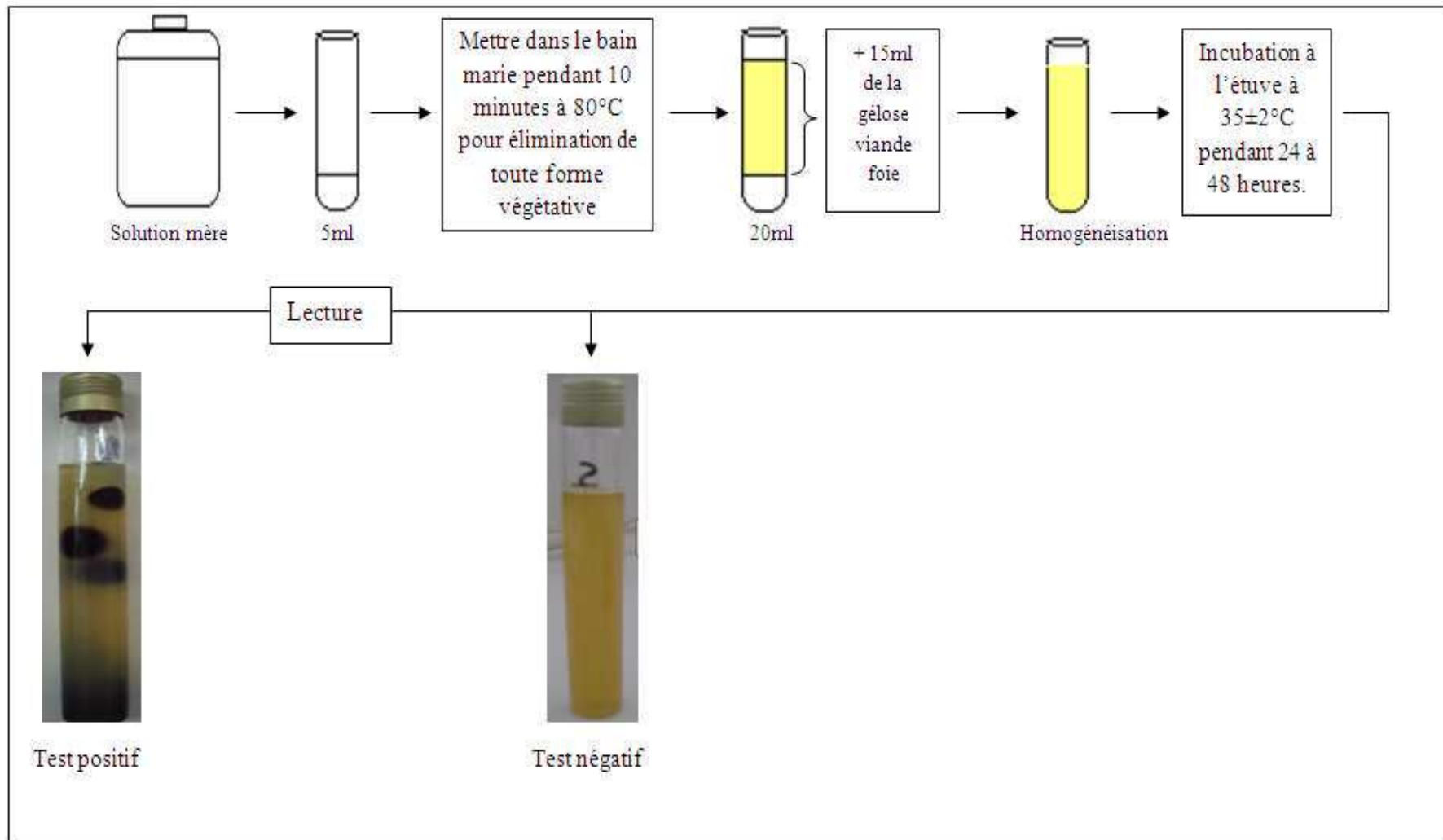


Figure 7 : Technique de dénombrement des bactéries sulfito-réductrices dans l'eau.

c. Recherche des germes pathogènes :

La recherche des Salmonelles et des Vibriions est effectuée par la méthode qualitative, réalisée en trois étapes successives : Enrichissement, isolement et identification biochimique (RODIER, 2005).

1. Les salmonelles :

➤ Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement des salmonelles est le bouillon au sélénite de sodium « SFB » qui favorise leur développement plus abondamment que les coliformes Gram⁻ et entérocoques Gram⁺ en 24 heures sous l'action du sélénite de sodium (DELARRAS et TREBAOL, 2003). La figure 8 résume les différentes étapes de cet enrichissement :

Après avoir obtenue une culture éventuellement enrichie en salmonelles, il faudra ensuite faire des isoléments sur des milieux sélectifs d'isolement pour salmonelles.

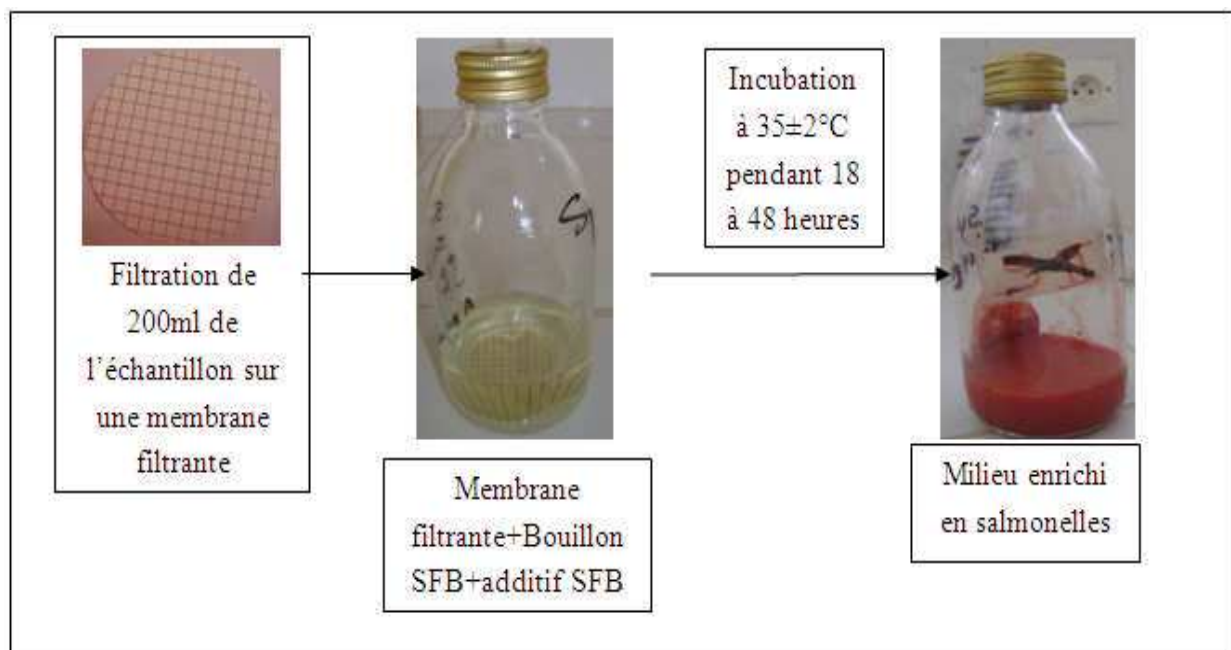


Figure 8 : Technique d'enrichissement des salmonelles dans l'eau par la méthode MF.

➤ Isolement :

L'isolement se fait par ensemencement du milieu sélectif solide SS (gélose Salmonelles, Shigelles) à partir du bouillon d'enrichissement « SFB » puis incubation à 37°C pendant 24 heures.

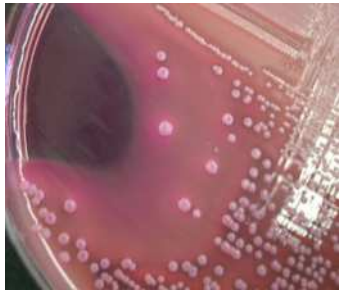


➤ **Lecture et interprétation du milieu :**

Le milieu SS contient 3 inhibiteurs :

- sels biliaires ;
- vert brillant ;
- forte concentration en citrate de sodium.

Ceux-ci empêchent la poussée de toutes bactéries Gram⁺, et rendent difficile la croissance des bactéries Gram⁻ autres que *Salmonella* et *Shigella*. Après incubation, on procède à l'observation macroscopique des cultures obtenues, la couleur des colonies développées dont l'interprétation est apportée dans le tableau suivant :

Tableau 5: Couleur des colonies sur la gélose SS (DELARRAS ET TREBAOL, 2007).

Couleur des colonies	Métabolisme	Espèces bactériennes suspectées
Rose à rouge 	Lactose ⁺	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogene</i> <i>Klebsiella</i> <i>Shigella sonnei</i>
Incolores*, transparentes 	Lactose ⁻	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , autres entérobactéries
Incolore*, à centre noir 	Lactose ⁻ , H ₂ S ⁺	<i>Salmonella spp.</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus mirabilis</i> } Pas d'envahissement du milieu

*En réalité la couleur est beige (comme celle d'une gélose nutritive).

➤ **Identification biochimique :**

Après obtention de colonies pures, l'identification a été réalisée à l'aide de différents tests biochimiques (Voir II.3.2.2.3. Techniques de caractérisation et d'identification des bactéries recherchées).

2. Vibrions :

➤ Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement des vibrions est l'eau peptonée alcaline (EPA) 10 fois concentrée. Au 50ml d'EPA, on ajoute 450ml d'eau de mer puis l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

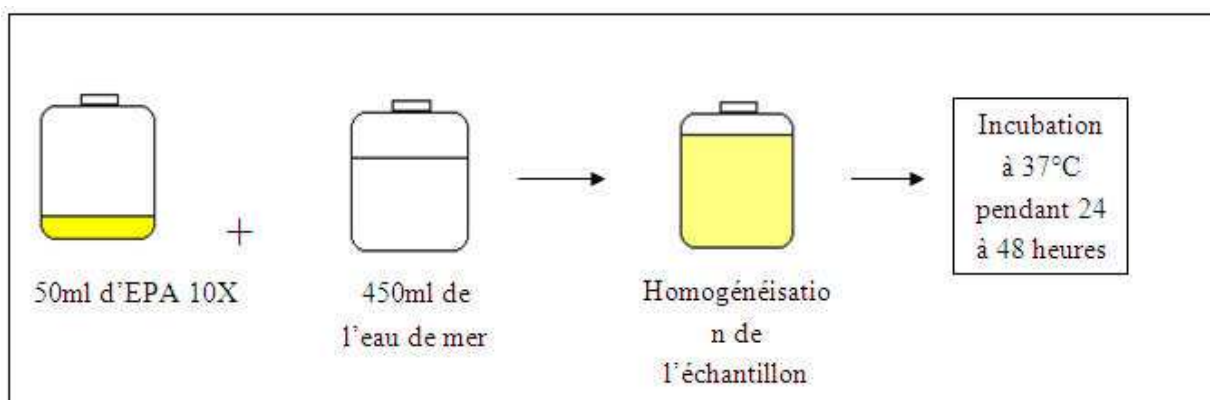


Figure 9 : Technique de d'enrichissement des vibrions dans l'eau.

➤ Isolement :

A partir du milieu d'enrichissement on procède à l'étalement d'une goutte prélevée à la surface du flacon d'EPA sur gélose Nutritive Alcaline Biliée (GNAB) ou sur milieu Thiosulfate, Citrate, Bile, Saccharose (TCBS), L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ La lecture :

✓ Sur TCBS :

Les colonies apparaissent en :

- Petites colonies Vertes claires avec virage du milieu vers l'orange (réduction du saccharose).
- colonies jaune brunes : *Vibrio cholerae*
- colonies jaunes translucides de grande taille
- Colonies incolore au centre vert : *Vibrio parahaemolyticus*
- Colonies orange saumon
- Colonies marron de grande taille
- Colonies orange bombées, d'autres sont transparentes.

✓ Sur GNAB :

Les colonies observées sur gélose GNAB sont des colonies transparentes légèrement bleutées, luisantes avec contour régulier (ressemble à une goutte d'eau).

II.3.2.2. Recherche et dénombrement des bactéries dans les moules :**a. Prélèvement et transport des échantillons** (DELARRAS et TREBAOL, 2003. Modifié):

- Prélever des moules vivantes en nombre suffisant pour obtenir au moins 50g de chaire et de liquide inter-valvaire.
- Placer les moules dans des sacs en matière plastique à usage unique, étanches et résistants, puis les transporter dans des glacières isotherme à une température comprise entre +2 et +15°C.
- Au laboratoire, conserver les échantillons au froid (+6±2°C) jusqu'à leur analyse, sans dépasser 24 heures d'attente.

b. Préparation de la suspension mère des moules :

Prendre les moules encore vivantes et non endommagées et procéder comme suit :

- Laver soigneusement l'extérieur des moules sous eau courante potable et les brosser de façon à éliminer les souillures externes ;
- Mettre les moules dans un récipient stérile, verser dessus de l'acide biocide, rincer à l'eau distillée stérile, les égoutter ;
- Ouvrir stérilement les moules à l'aide d'un couteau à huitre ou d'un scalpel stérile ;
- Recueillir le liquide inter-valvaire et la chaire des moules dans un bol stérile ;
- Peser et introduire aseptiquement 25g de chaire dans un sachet stérile de type « Stomacher 400 » contenant au préalable 225ml de diluant soit le TSE (Tryptone Sel Eau) ;
- Homogénéiser pendant 6 à 8 minutes dans un broyeur stomacher ;
- Laisser reposer la suspension préparée pendant 15 à 30 minutes à température ambiante, temps de revivification des germes.
- La suspension qu'on obtiendra constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution 10^{-1} .
- Préparer deux échantillons de cette dilution, l'un servira à la recherche des salmonelles, l'autre à la recherche des autres germes.



Figure 10 : Dilution mère contenant 25g de chaire et 225ml de TSE

c. Préparation des dilutions:

- A partir de la dilution mère, introduire aseptiquement à l'aide d'une micropipette stérile, 1ml dans un tube à vis stérile contenant 9ml du diluant TSE, La dilution obtenue correspond à la dilution 10^{-2} .

- Prélever 1 ml de la précédente dilution 10^{-2} et introduire dans un tube à vis contenant 9ml du diluant TSE, ce qui nous donne la dilution 10^{-3} .

Le schéma suivant nous résume les étapes à suivre pour la réalisation des dilutions.

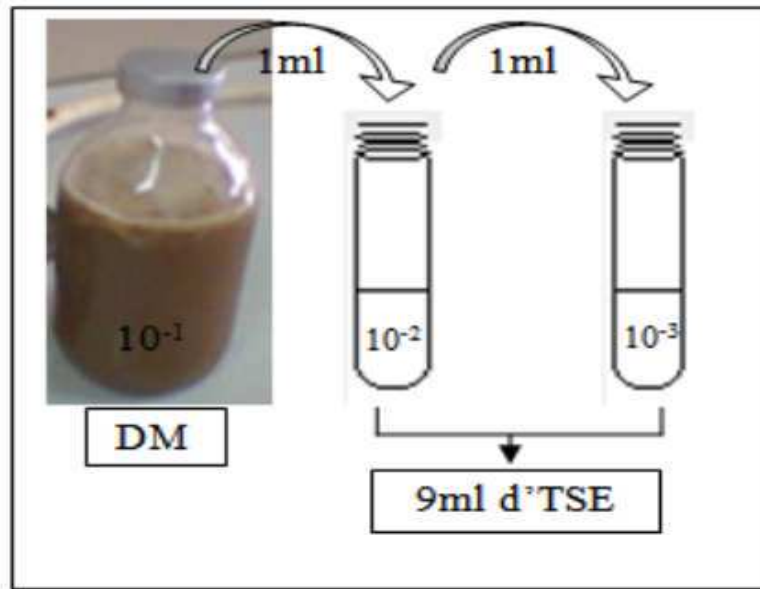


Figure 11 : Préparation des dilutions.

d. Recherche et dénombrement des coliformes et de la flore totale:

➤ Technique d'ensemencement en profondeur :

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1ml dans chaque boîte de Pétri vide préparée à cet usage ;
- Numéroté successivement, couler sur la première série la gélose PCA fondue puis refroidie à 45°C pour la recherche des germes totaux, et la gélose Lactosée au cristal Violet pour la recherche des CT et CF ;
- Bien homogénéiser l'inoculum et la gélose en faisant des mouvements circulaires et de va et vient en forme de « 8 » et laisser solidifier.

➤ Incubation :

- La flore anaérobie mésophile totale : 30°C . } Pendant 24 à 72 heures
- Les Coliformes totaux : $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. }
- Les coliformes fécaux : $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. } Pendant 24h

➤ **lecture :**

Retenir deux boîtes de deux dilutions successives ayant une numération entre 15 et 150 colonies.

◆ **Les coliformes totaux :**

La concentration des coliformes totaux par gramme de chair est calculée comme suit :

$$CT/g = \frac{\Sigma \text{des colonies dénombrées sur les deux boîtes}}{1,1 * d}$$

d : 1^{ère} dilution retenue.

◆ **Les coliformes thrmotolérants :**

Prendre de chacune des deux boîtes retenues au minimum 3 colonies suspectes d'*E.coli*, puis faire les deux tests urée et indole à 44°C.

- **1^{ère} Boîte (1^{ère} dilution retenue) :**

$$a_1 = \frac{b}{A} C$$

a₁ : nombre d'*E.coli* ;
 b : nombre de colonies repiquées (indole⁺ et Urée⁻ à 44°C) ;
 A : nombres de colonies repiquées ;
 C : nombre de colonies dans toute la boîte.

- **2^{ème} boîte :**

$$a_2 = \frac{b}{A} C$$

a₂ : nombre d'*E.coli* ;
 b : nombre de colonies repiquées (indole⁺ et Urée⁻ à 44°C) ;
 A : nombres de colonies repiquées ;
 C : nombre de colonies dans toute la boîte.

➔

$$CF/g = \frac{a_1 + a_2}{1,1 * d}$$

d : 1^{ère} dilution retenue

e. Recherche et dénombrement des staphylocoques :➤ **Technique d'ensemencement en surface :**

- Transférer à l'aide d'une pipette stérile, 4 gouttes de dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , à la surface d'une plaque de gélose Baird Parker ;
- Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de la gélose à l'aide d'un râtelier stérile pour chaque boîte (essayer de ne pas toucher les bords de la boîte).
- Incuber les boîtes couvercle en bas à 37°C pendant 48 heures.

➤ **lecture :**

Ce milieu contient une base nutritive riche, des accélérateurs de la croissance (le pyruvate de sodium et le glycolle) ainsi que 2 inhibiteurs : le chlorure de lithium et le tellurite de potassium. Les caractères morphologiques des colonies de *Staphylococcus aureus* sur ce milieu sont les suivantes :

- Colonie à centre noir : réduction du tellurite en tellure
- Halo clair autour des colonies : protéolyse des protéines du jaune d'œuf.
- Liseré blanc opaque autour des colonies : présence d'une lécithinase hydrolysant les lécithines en choline et diglycéride.

L'évaluation du nombre de bactéries par ml se fait selon la formule suivante :

$$N = \frac{n}{V} \times d$$

N : Nombre de bactéries par ml (UFC/ml)

n : Nombre de colonies compté

d : dilution de l'échantillon

V : Volume de l'inoculum (ml)

f. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs :➤ **Mode opératoire :**

- Prélever 1ml, à l'aide d'une micropipette stérile, de chaque dilution dans un tube à essai vide ;
- Incuber les tubes dans un bain marie à 80°C pendant 10 minutes pour éliminer toutes les formes végétatives;
- Refroidir immédiatement et compléter avec la gélose viande foie additionnée des additifs sulfites de sodium et Alun de fer;
- Laisser solidifier puis incuber à 37°C pendant 48 heures.

➤ **Lecture :**

Retenir les tubes contenant des colonies noires (qui sont en réalité blanches mais entourées d'une auréole noire). Ils feront l'objet d'une identification biochimique.

g. Recherche et dénombrement des Salmonelles :

Les Salmonelles font l'objet d'une prise d'essai de 25g à part. Elles sont recherchées et identifiées selon le protocole suivant :

➤ Pré enrichissement :

Incuber le flacon de la Dilution mère (DM) à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

➤ 1^{er} enrichissement :

Après incubation, transférer la DM dans un bouillon SFB et ajouter 20 disques d'additifs SFB (Sélénite acide de Sodium) puis réincuber à 37°C pendant 24 heures

➤ 1^{er} isolement :

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, prélever une goutte du flacon du 1^{er} enrichissement et l'ensemencer sur le milieu Hektoen en faisant des stries et l'incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ 2^{ème} enrichissement :

A partir du tube du 1^{er} enrichissement prélever 1ml à l'aide d'une micropipette et l'introduire dans un tube contenant le milieu SFB pour lequel on ajoute un disque d'additif SFB, incuber pendant 24 heures à 37°C.

➤ 2^{ème} isolement :

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une goutte du tube du 2^{ème} enrichissement et l'ensemencer sur le milieu Hektoen en faisant des stries et l'incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ lecture :

Les salmonelles se présentent souvent sous forme de colonies bleu-vert à centre noir sur gélose Hektoen. Ces colonies feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique.

II.3.2.2.3. Techniques de caractérisation et d'identification des bactéries recherchées:

Afin de déterminer le profil biochimique et morphologique des bactéries isolées appartenant aux groupes des coliformes, streptocoques fécaux, salmonelles, vibrions, sulfitoréducteurs et staphylocoques, une série de tests a été réalisée, il s'agit de :

a. Coloration de Gram :

Cette coloration ancienne, découverte par Hans Christian Joachim Gram en 1884, modifiée à plusieurs reprises, demeure fondamentale plus de 120 ans plus tard, en bactériologie.

La coloration de Gram permet de diviser le monde bactérien en deux groupes distincts (Gram⁺ et Gram⁻), mais certaines bactéries peuvent présenter un Gram variable (DELARRAS, 2007).

Cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des cultures bactériennes avant toute identification.

➤ Principe de la méthode :

Sur le frottis bactérien préparé, le 1^{er} colorant, le violet de gentiane, va colorer en violet les bactéries, puis le Lugol (solution iodo-iodurée) libère de l'iode qui va fixer le colorant précédent. Un complexe iode-cristal violet se forme ; il sera solubilisé par l'alcool à 95° lors de la phase de décoloration, uniquement pour les bactéries Gram⁻. Le 2^{ème} colorant, dit de contraste, fuchsine, va colorer en rose les bactéries Gram⁻, les bactéries Gram⁺, non décolorées par l'alcool, ont conservé leur couleur violette.

➤ Mode opératoire :

- Au moyen d'une boucle d'inoculation, on dépose un peu d'eau sur une lame en verre propre de microscope ;
- avec la même boucle, on mélange à cette eau un tout petit peu de matériel prélevé sur une colonie pour obtenir une suspension de cellules ;
- Toujours avec la même boucle, étaler cette suspension sur une surface d'un ou deux centimètres carrés et on laisse sécher pour obtenir ce qu'on appelle « un frottis » ;
- Le frottis est ensuite fixé par des passages rapides dans la flamme d'un bec bunsen ;
- Recouvrir le frottis avec du violet de gentiane, laisser agir une minute, rincer avec de l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et laisser agir pendant une minute (généralement on fixe le colorant précédent avec deux bains du Lugol séparés par 20 secondes) ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95° pendant 45 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 20 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- Sécher et Observer au microscope à l'huile à immersion au grossissement $\times 1000$.

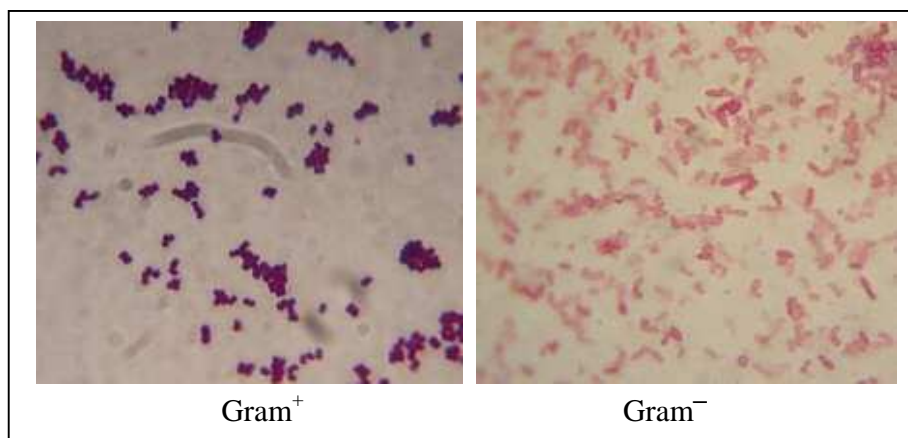


Figure 12 : Coloration de Gram.

b. Recherche de la catalase :**➤ Principe :**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle permet de détruire des peroxydes formés au cours des réactions

d'oxydation. L'eau oxygénée est décomposée, en présence de cette enzyme, en eau et en oxygène qui se dégage.

➤ **Mode opératoire et lecture :**

Sur une lame porte-objet propre, déposer une goutte d'eau oxygénée 10 volumes (peroxyde d'hydrogène « H_2O_2 » à 10%), puis émulsionner une anse de bactéries prélevée sur la culture en milieu gélosé de la souche. Si un dégagement de bulles de gaz (Oxygène) apparaît, le test est dit positif.

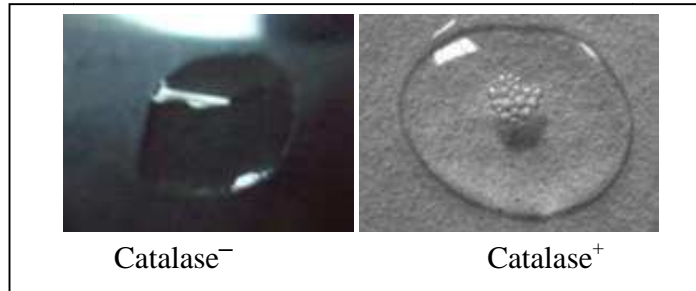


Figure 13 : Résultats du test catalase.

c. Recherche de la coagulase :

Ce test détecte la présence d'une enzyme « la coagulase » qui coagule le plasma en formant des caillots. Ce test est utilisé principalement pour différencier les espèces de staphylocoques coagulase⁺ (*S. aureus*), des espèces coagulase⁻ (*S. epidermidis*).

➤ **Mode opératoire :**

Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 4 gouttes (environ 0,5ml) de plasma de lapin réhydraté et y introduire 5 colonies suspectées d'une culture pure de staphylocoques, puis incuber la suspension bactérienne à 37°C pendant 24 heures. Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures, ainsi qu'après 24 heures pour observer la coagulation éventuelle du plasma.

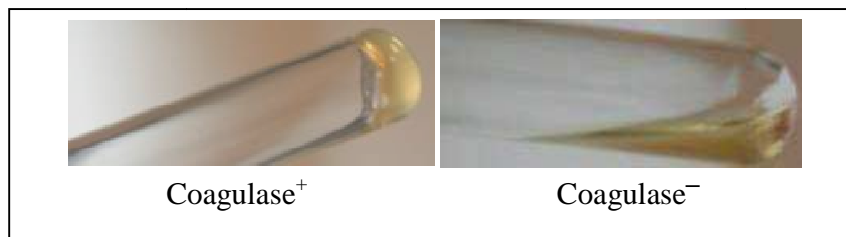


Figure 14: Résultats du test coagulase

d. Recherche de l'oxydase :

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes. La recherche de cette enzyme est utile dans le diagnostic des bacilles à Gram⁻. Les entérobactéries dont *E.coli* sont oxydases(-) alors que les vibrionacées sont oxydase (+).

➤ Mode opératoire :

Imbiber un disque « Ox » commercialisé avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, puis prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque. Une coloration violet foncée, apparaît immédiatement ou en quelques secondes : Test oxydase⁺.

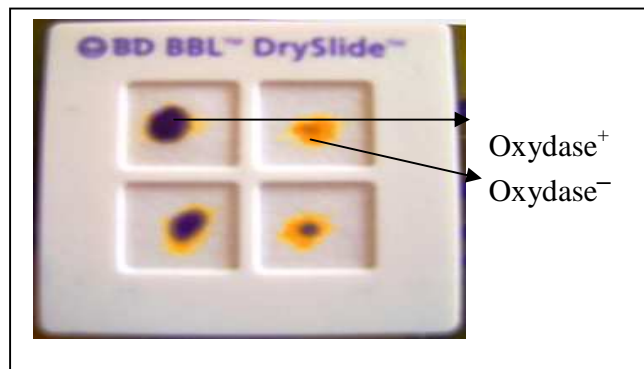


Figure 15 : Disque « Ox » qui sert à la détermination de l'oxydase des bactéries.

e. Identification par la galerie API :

La galerie API est un système standardisé pour l'identification des bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent) contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques.

➤ Mode opératoire :**◆ Préparation de la galerie :**

- mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être rempli. Eliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier.
- Placer la galerie sur le fond de la boîte, elle doit être manipulée avec la pince.
- Recouvrir la boîte avec son couvercle.
- Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

◆ Préparation de l'inoculum :

- Réaliser une suspension de la souche à étudier. La suspension doit avoir une densité suffisante comme il est indiqué ci-dessous :

5 colonies distinctes dans 5 mL	trouble correspondant au tube 0,5 de l'échelle McFarland	trouble correspondant au tube 4 de l'échelle McFarland
	Api 20 E Api Staph Api 20 A	Api 20 Strep

◆ **Inoculation de la galerie (Figure 16) :**

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulle au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).
 - ✓ Pour les tests encadrés, remplir tube et cupule ;
 - ✓ Pour les tests soulignés, créer une anaérobiose et empêcher la volatilisation des produits métabolisés en remplissant leur cupule d'huile de vaseline stérile;
 - ✓ Pour les autres, remplir uniquement les tubes (et non les cupules) ;
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à l'étuve en respectant les exigences de l'espèce recherchée en termes de température et de temps.

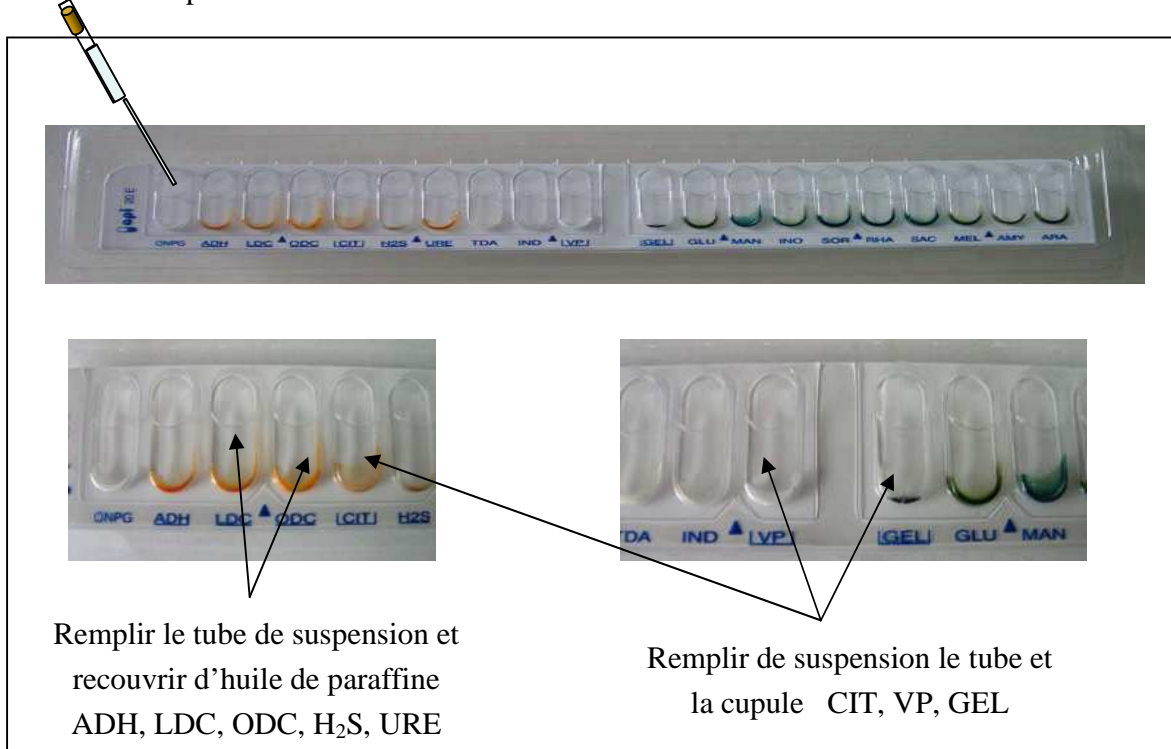


Figure 16: Inoculation de la galerie : Exemple d'une galerie API 20E

◆ **Interprétation et identification :**

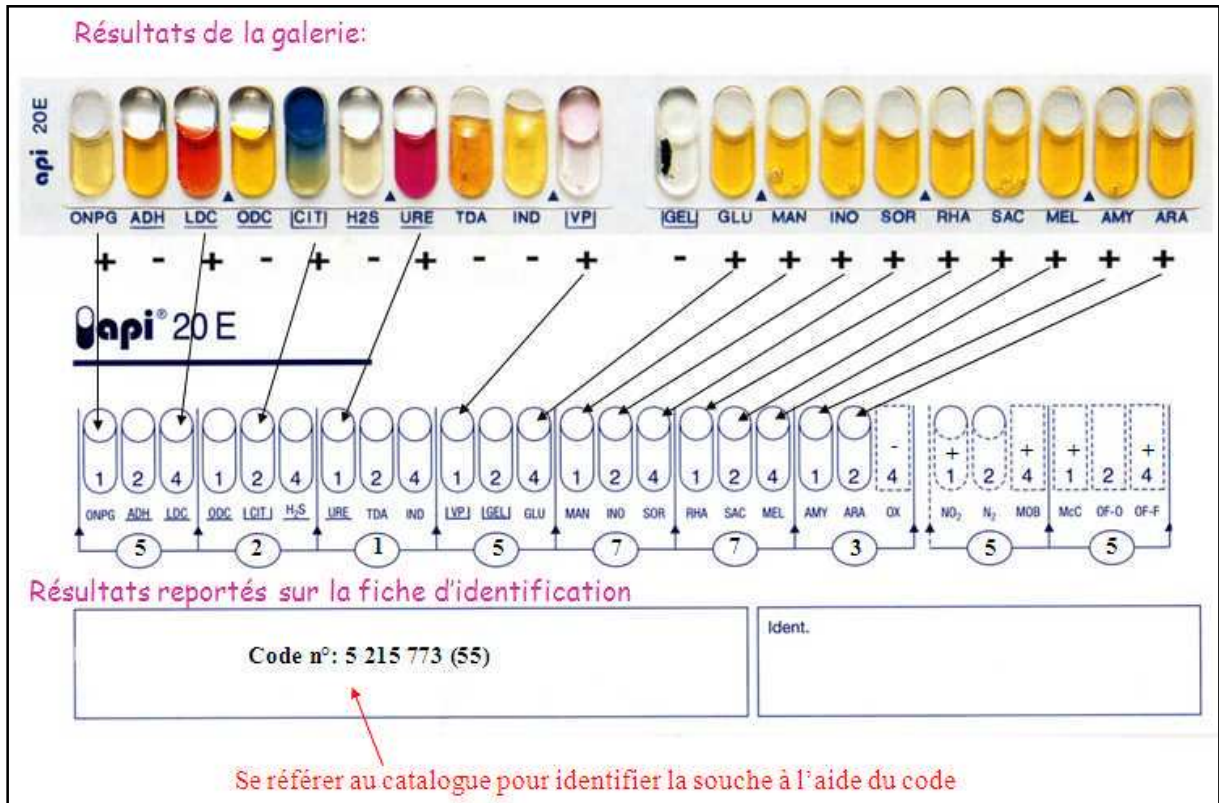


Figure 17: Identification sur galerie API 20.

III.1. Les paramètres physico-chimiques :

II.1.1. La température :

Les valeurs de la température fluctuent selon les stations de prélèvements. Elles sont comprises entre 15,95°C au niveau de la station S₆ et 17,05°C à la station S₄.

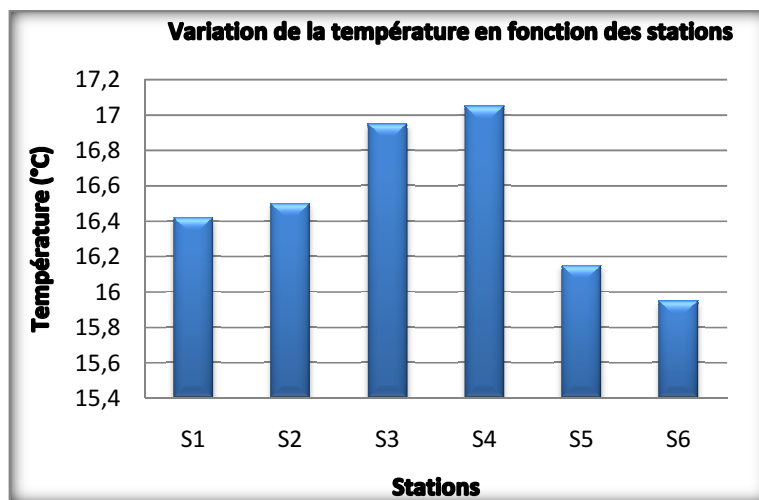


Figure 18 : variation des valeurs moyennes de la température en fonction des stations.

Au regard de la figure (18) on observe trois intervalles de température :

- Le premier est représenté par les températures moyennes enregistrées au niveau des deux stations « S₁ et S₂ », ces valeurs peuvent être expliquées par le fait que l'eau est peu profonde (très proche de la côte) dans ces deux stations, donc elle a tendance à être chauffée plus rapidement que l'eau des stations du large.
- L'intervalle des températures élevées enregistré au voisinage de l'égout « S₃ et S₄ », cette augmentation peut être due à l'apport des eaux usées qui présentent des températures élevées par rapport à l'eau de mer et qui vont augmenter légèrement celles des eaux proche du rejet.
- Les basses températures sont enregistrées au fur et à mesure qu'on s'éloigne du rejet et de la côte « S₅, S₆ ».

III.1.2. La salinité :

En Méditerranée, la salinité est voisine de 38 à 39 PSU au large, mais près des côtes, elle varie entre 36 et 37 PSU (AMINOT et CHAUSSPIED, 1983).

En général et au cours de notre étude les valeurs de la salinité enregistrées sont tout à fait celles attendues, en effet, les faibles valeurs ont été enregistrées au point de mélange des eaux usées et des eaux de mer, puis les valeurs augmentent progressivement en s'éloignant du rejet.

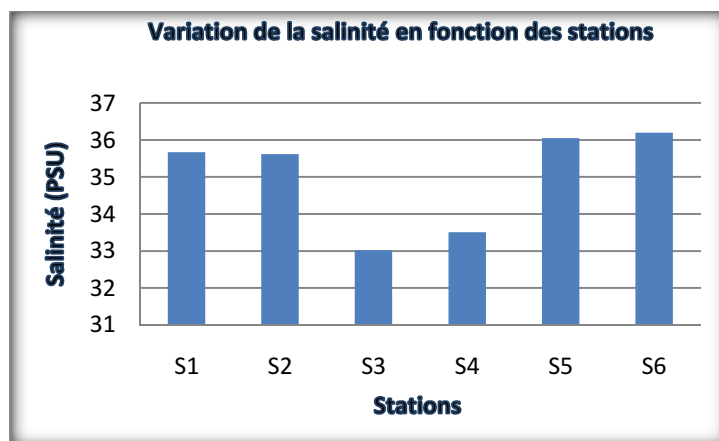


Figure 19 : variation des valeurs moyennes de la salinité en fonction des stations.

La figure (19) montre que les valeurs moyennes de la salinité enregistrées au niveau des stations (S₁, S₂, S₅, et S₆) sont voisines des valeurs de la salinité observées près des côtes.

Plus on s'approche du point de déversement des eaux usées (S₃ et S₄), on observe une nette diminution des valeurs de la salinité et on a enregistré au niveau du S₃ une valeur de 33,02 PSU, ce qui reflète l'apport important en eau douce par le collecteur.

III.1.3. Potentiel Hydrogène (pH) :

Le pH est l'un des paramètres les plus importants de la qualité des eaux qu'on doit prendre en considération au cours de notre étude. Les valeurs moyennes du pH mesurées dans l'ensemble des stations indiquent des fluctuations entre 7,24 et 7,85.

Les valeurs les plus faibles sont enregistrées au niveau des deux stations S₃ et S₄ (7,24 et 7,27), cette diminution du pH s'explique essentiellement par le mélange des eaux usées avec l'eau de mer.

Néanmoins ces taux restent compris entre les valeurs guide et limite selon le journal officiel algérien de 1993 (6-8).

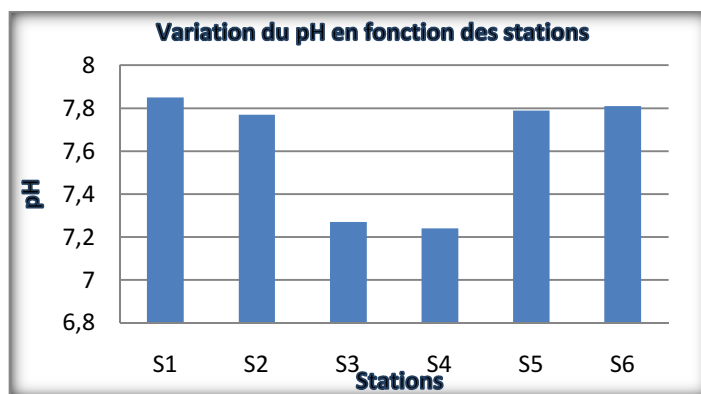


Figure 20 : variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations.

III.1.4. L'oxygène dissous :

La figure ci-dessous, nous montre que les valeurs moyennes de l'oxygène dissous les plus faibles sont enregistrées au niveau des deux stations proche du point de déversement (S3 et S4). Cette diminution peut s'expliquer par la présence d'un biofilm qui favorise l'anaérobiose et par l'élévation de la température. Néanmoins, ces taux tendent à se normaliser en allant vers le large S5 et S6.

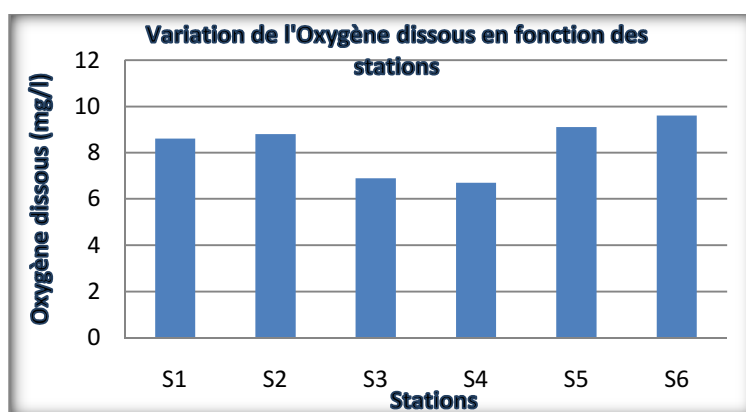


Figure 21 : variation des valeurs moyennes de l'oxygène dissous en fonction des stations.

III.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO₅) :

L'objectif de l'analyse de ce paramètre est de déterminer le degré de la pollution organique et de son oxydation par voie biologique dans l'eau de mer.

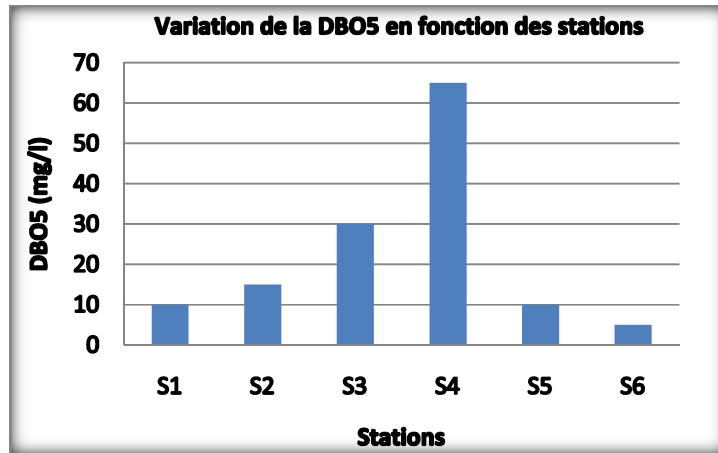


Figure 22 : Variation de la DBO₅ en fonction des stations.

Une observation de la figure (22), nous permet de déduire que les valeurs les plus élevées de la DBO₅ (30 et 65mg/l) sont enregistrées respectivement au niveau des stations les plus proches du collecteur des effluents de Oued M'Kessel (S₃ et S₄). Ces résultats laissent suggérer que les effluents rejetés ont une DBO₅ supérieure aux normes de rejet selon JOA de 1993 (35mg/l). (Voir annexe III)

La diminution de la DBO₅ au niveau des stations (S₂, S₁, S₅ et S₆) est due essentiellement au phénomène de l'autoépuration des eaux marines.

III.1.6. La matière en suspension (MES) :

Il est connu que les eaux usées représentent la source la plus importante des MES en milieu marin, ce qui fait que la charge en MES sera élevée près du rejet (S₃ et S₄) et plus on s'éloigne de ce dernier les charges diminuent progressivement (S₁, S₂, S₅ et S₆).

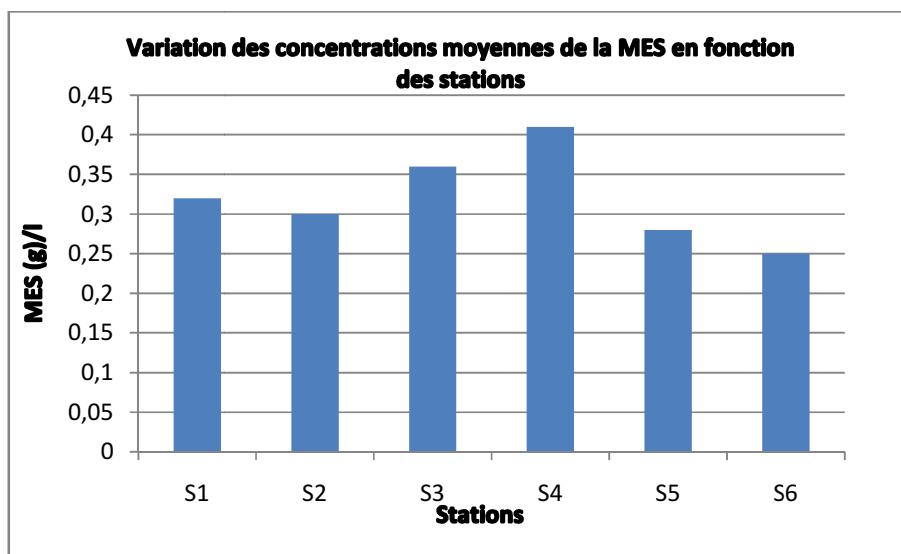


Figure 23 : Variation des concentrations moyennes des MES en fonction des stations.

III.1.7. La matière organique (MO) :

La variation des concentrations moyennes de la matière organique le long des stations est semblable à celles des MES (voir Figure 24), Les fortes charges sont enregistrées au niveau des deux stations S₃ et S₄ (0,23g/l et 0,29g/l). Puis on observe la diminution de la charge en s'éloignant du rejet et en allant vers le large. La faible valeur est enregistrée au niveau de S₆ (0,11g/l).

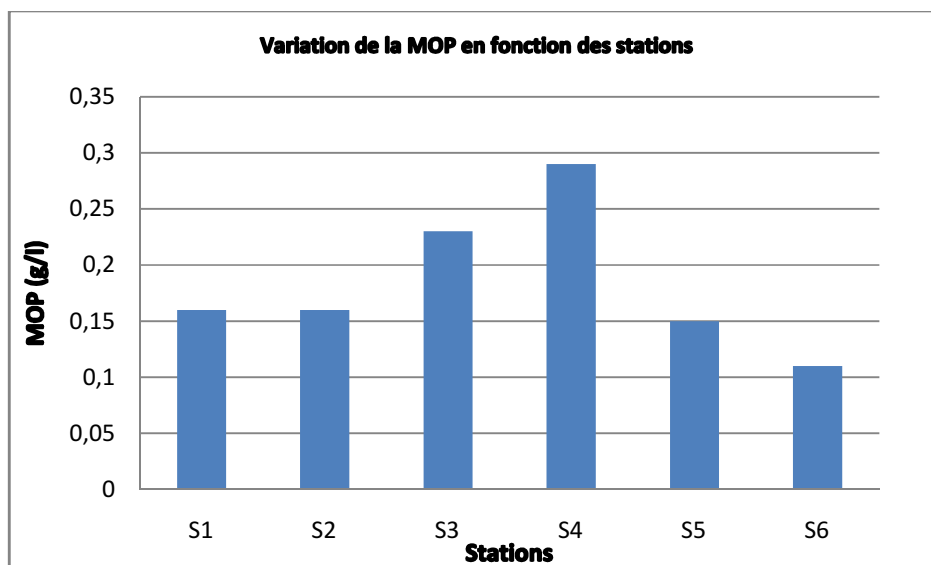


Figure 24 : variation des valeurs moyennes de la MOP en fonction des stations.

III.2. Résultats des analyses bactériologiques de l'eau de mer :

III.2.1. Les coliformes totaux :

. En ce qui concerne les coliformes totaux, on a obtenu des boîtes avec des colonies confluentes et indénombrables pour toutes les stations et ceci malgré les dilutions effectuées. Ils dépassent largement le nombre impératif fixé par l'OMS en 1995 (10000 CT/100ml) ce qui traduit une forte pollution du site par ce rejet d'eaux usées.

III.2.2. Coliformes fécaux :

Toutes les valeurs enregistrées au niveau des six stations sont comprises entre les normes guide (100CF/100ml) et les normes impératives (2000CF/100ml).

Les concentrations les plus élevées sont enregistrées au niveau de S₃ et S₄ qui sont dans l'ordre 1816 CF/100ml et 1712 CF/100ml et plus on s'éloigne du rejet, l'effectif des coliformes fécaux est réduit de plus de 48% pour la station S₂ et plus de 50% pour les stations S₁, S₅ et S₆.

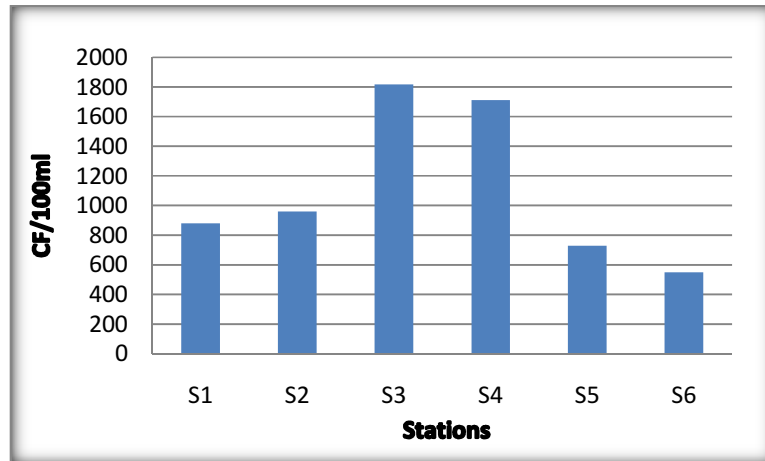


Figure 25 : Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux en fonction des stations.

III.2.3. Les Streptocoques fécaux :

Les streptocoques sont des excellents indicateurs de pollution fécale, et ce sont les germes qui survivent le plus dans les eaux de mer et cela grâce à leurs caractéristiques physiologiques qui leur confèrent une meilleure adaptation par rapport aux autres germes indicateurs (OMS, 1977).

La courbe d'évolution des teneurs en streptocoques fécaux (Figure26) suit la même évolution que les autres germes. Toutes les stations présentent des concentrations moyennes plus élevées que les normes de salubrité qui sont de 100SF/100ml. Bien que la S₆ présente la plus faible valeur (392SF/100ml).

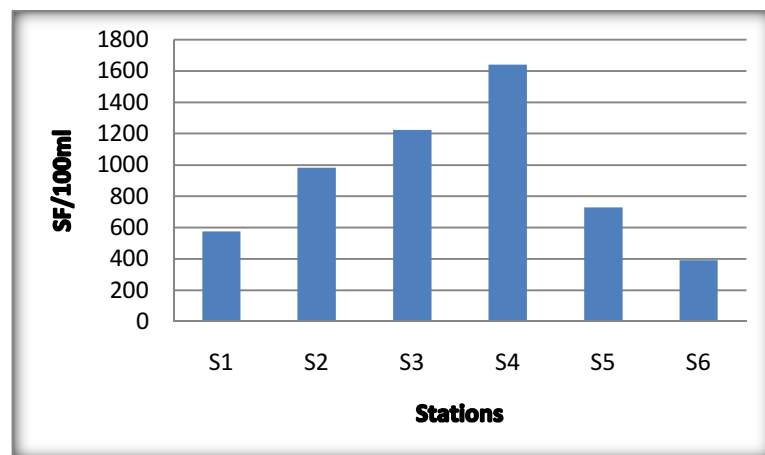


Figure 26 : Variation des concentrations moyennes des Streptocoques fécaux en fonction des stations.

III.2.4. Les staphylocoques :

La figure (27) montre que les concentrations des staphylocoques sont très élevées par rapport aux autres germes surtout au niveau de la station S₄ où on enregistre une concentration de 4192 UFC/100ml, puis on note des concentrations qui diminuent au fur et à mesure qu'on s'éloigne du rejet.

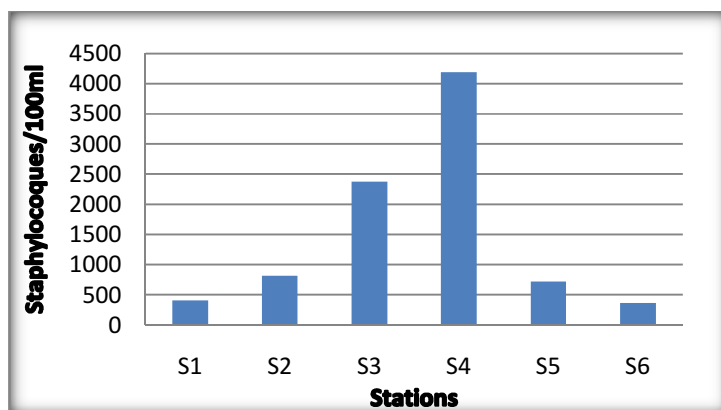


Figure 27 : Variation des concentrations moyennes des Staphylocoques en fonction des stations.

III.2.5. Les anaérobies sulfito-réducteurs :

Selon la figure ci-dessous, on remarque que les valeurs moyennes des deux stations S₃ et S₄ n'apparaissent pas, cela est due aux fortes concentrations enregistrées en anaérobie sulfitoréducteurs et qui étaient indénombrables. En ce qui concerne, les taux des concentrations diminuent progressivement jusqu'au large.

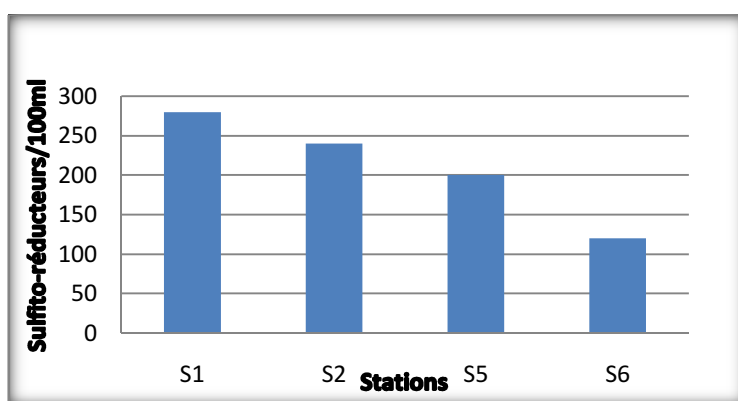


Figure 28 : Variation des concentrations moyennes des sulfito-réducteurs en fonction des stations.

III.3. Résultats des analyses bactériologiques des moules :

L'étude des variations des concentrations bactériennes par 100g de chair des moules prélevées en surface (figure29), met en évidence l'abondance des CT, CF et SF (*S. aureus*).

La concentration la plus élevée est représentée par les CT (25800UFC/100g), et plus de 40% de cette concentration est représentée par les CF (10400UFC/100g). Bien que les taux en Staphylocoques n'apparaissent pas clairement au niveau de cette illustration, il n'en demeure pas moins qu'ils sont de l'ordre de 100 *S.aureus* /100g de chair.

Lorsque ces germes sont mis en évidence dans un échantillon de moules, ils sont le signe d'une contamination par la matière fécale et constituent un véritable danger pour la consommation de moules, en plus leur origine qui laisse craindre la présence simultanée de germes pathogènes pour l'homme.

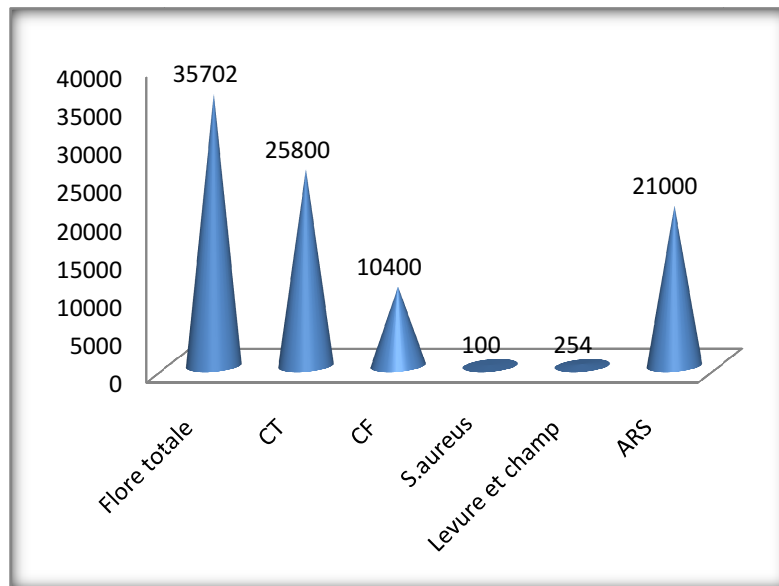


Figure 29 : Variation des concentrations des microorganismes dans les moules.

La comparaison des concentrations bactériennes entre la matrice eau et la moule montre une différence notable, ceci est expliqué par le phénomène de bioaccumulation.

III.4. Caractérisation de quelques bactéries recherchées :

Tableau 6: Profil morphologique et biochimique de quelques bactéries identifiées (Bacilles, Gram-).

Familles	Enterobacteriaceae						Vibrionaceae		Aeromonadaceae	
		Coliformes				Shigelles	Salmonelles	Vibrions		Aeromonas
Aspect des cellules	Bacilles	Bacilles	Bacilles	Bacilles	Bacilles	Bacilles	Bacilles incurvé	Bacilles incurvé	Bacilles	
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Catalase	-	-	V	-	-	-	V	V	V	
Production de gaz	+	-	+	+	+	-	+	+	+	
Oxydase	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	V	V	
LDC	+	-	-	-	+	-	+	-	V	
ODC	+	+	-	+	-	-	+	-	-	
ADH	-	-	+	+	-	+	+	+	V	
Uréase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Indole	+	-	-	-	-	-	-	V	V	
VP	-	-	-	+	+	+	-	-	+	
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H2S	-	+	+	-	-	-	+	-	-	
CIT	-	+	+	+	+	-	-	-	+	
Espèces	<i>E coli</i>	<i>Citrobacter braakii.</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>S. Arizonae</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V .metschnikoveii</i>	<i>A .hydrophila</i>

V : variable selon la souche isolée

Tableau 7: Profil morphologique et biochimique de quelques bactéries identifiées (Cocci, Gram+)

Genres	Streptococcus	Staphylococcus
Caractères		
Aspect des cellules	Paires en chaînettes	Coques en amas
Gram	+	+
Catalase	-	+
Production de gaz	-	+
Coagulase	-	+
Esculinase	+	/
espèce	<i>S. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>



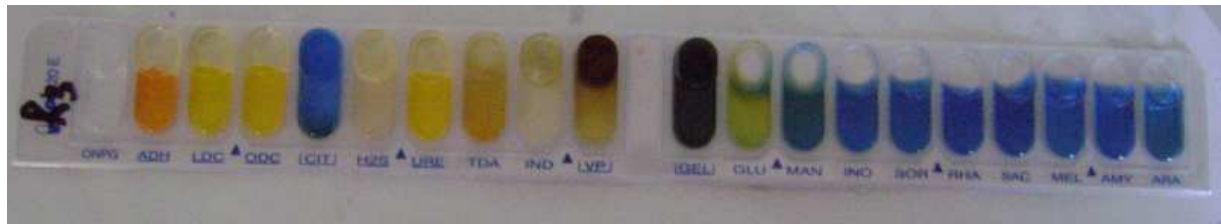
Escherichia coli



Proteus mirabilis



Salmonella spp.



Providencia sturrii



Shigella



Galerie Api 20 STAPH.



Api20A; Clostridium



Api 20 STREP; *Streptococcus faecalis*

Figure 30 : Galeries de quelques bactéries Gram+.

Discussion générale :

Afin d'évaluer la qualité bactériologique de l'eau de mer et le risque éventuel de santé publique au niveau de la plage « R'Mila », deux paramètres, physico-chimiques et bactériologiques ont été étudiés. A cet effet, nous avons utilisé la technique de filtration sur membrane (MF) pour le dénombrement des indicateurs de contamination fécale et indicateurs de proximité. Les germes pathogènes tels que les salmonelles, les vibrions et les anaérobies sulfitoréducteurs ont également été recherchés.

Par ailleurs des moules prélevées en surface au niveau de la plage avoisinante « El Kettani » ont été utilisées comme bioindicateurs de pollution et ont fait l'objet des analyses bactériologiques.

La figure (31) ci-après résume l'évolution des paramètres physico-chimiques en fonction des stations. On constate que les perturbations les plus importantes sont enregistrées au niveau des stations S3 et S4 qui sont exposées directement aux effluents rejetés par le collecteur de Oued M'Kessel.

En effet, les taux les plus bas en oxygène dissous, pH et en salinité sont observés à leurs niveaux et inversement pour les MES, les MOP, la DBO5 et la température. Les valeurs tendent à se normaliser progressivement en allant vers le large (S6) Figure (31).

Les mêmes observations sont faites en ce qui concerne les indicateurs de contamination fécale et les staphylocoques. Les concentrations les plus élevées sont mesurées au niveau de S3 et S4 et les plus faibles au niveau de S6.

Bien que les taux en coliformes fécaux soient compris entre les valeurs guide et impérative (500 CF/100ml et 2000CF /100ml) pour toutes les stations, la présence prépondérante des streptocoques, des staphylocoques ainsi que les sulfitoréducteurs jette un doute sur la qualité bactériologique de ces eaux. La résistance des streptocoques fécaux en milieu marin n'est plus à démontrer. Ils peuvent, en effet, se maintenir dans l'eau de mer et dans la masse viscérale des mollusques, alors que l'on constate la disparition totale d'*Escherichia coli*. (FAUVEL, 1967).

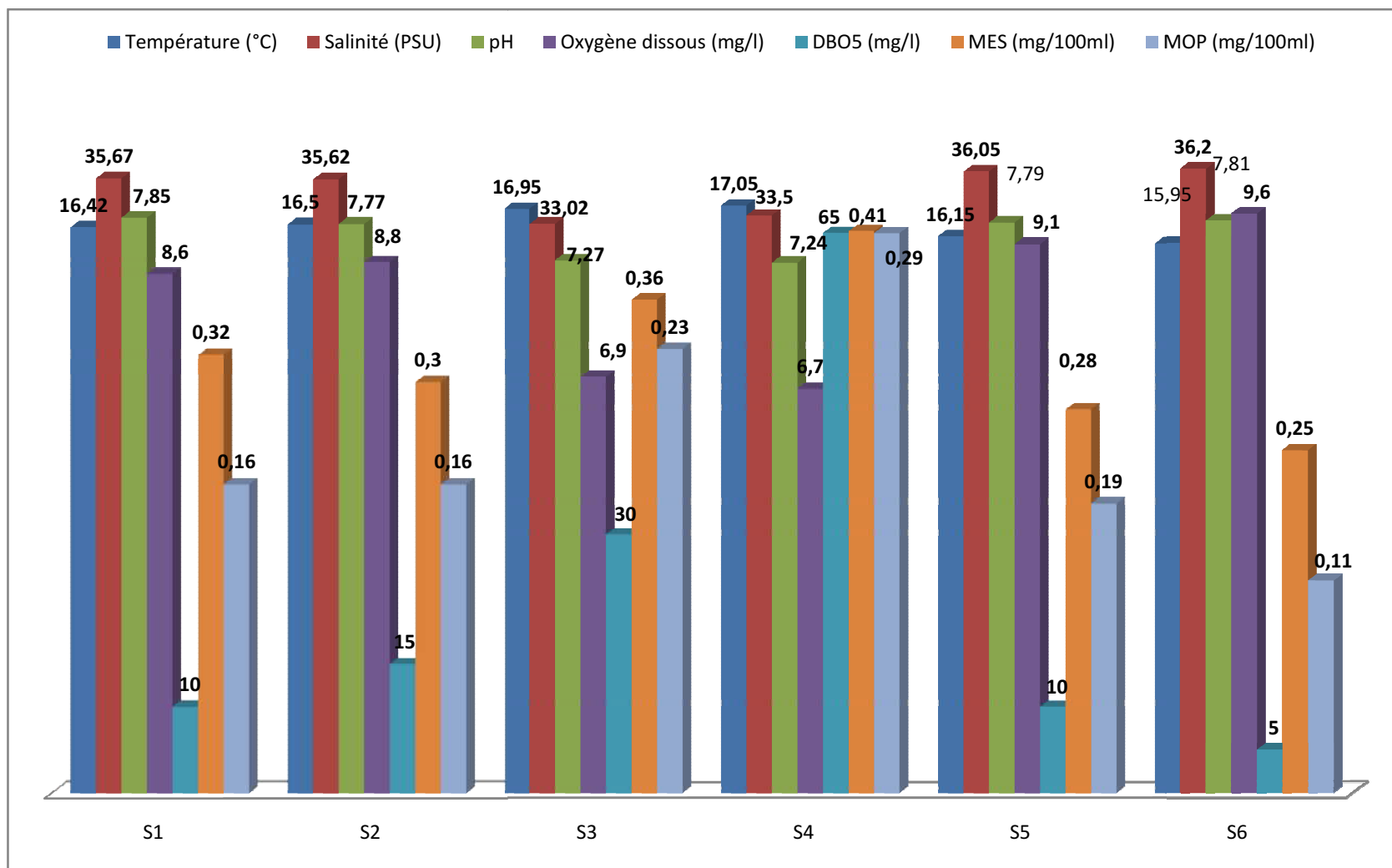


Figure 31 : Variation des paramètres physico-chimiques en fonction des stations.

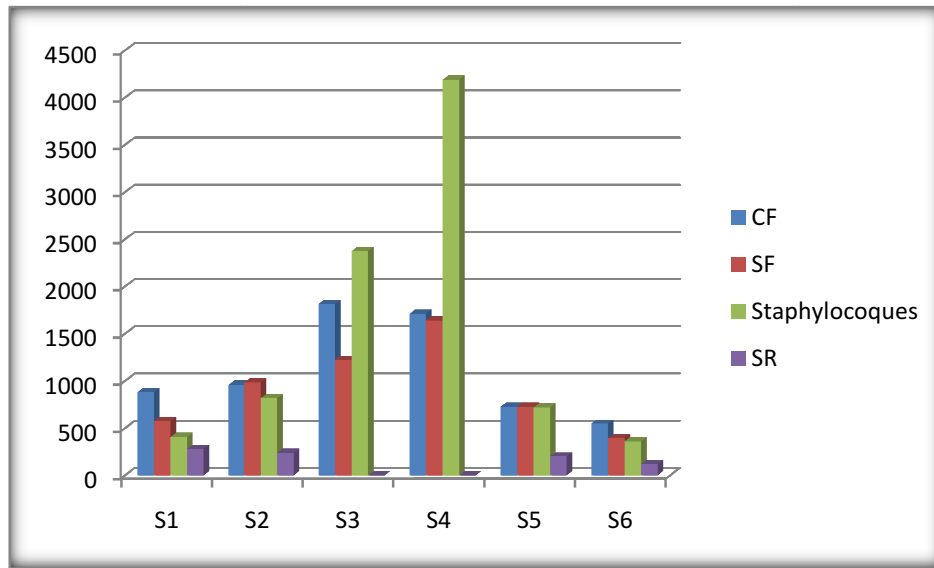


Figure 32 : Variation des concentrations moyennes des germes indicateurs de pollution fécale en fonction des stations.

Parmi les staphylocoques, c'est *S.aureus* qui est le plus redouté. Ce germe doré possède l'aptitude d'élaborer des entérotoxines qui provoquent des intoxications alimentaires causant des vomissements, des nausées et des diarrhées (FAO, 1996). Les symptômes ne durent généralement pas plus de 24 heures, mais dans les cas graves, la déshydratation peut conduire au choc ou collapsus. Cette espèce a été retrouvée en grande concentration dans la chair des moules analysées.

Malgré l'absence de normes pour les sulfitoréducteurs, plusieurs auteurs recommandent la surveillance de *C.perfringens* pour en tirer une indication de la contamination virale en raison de sa plus grande résistance par rapport aux autres bactéries.

Les fortes concentrations en germes fécaux et de proximité dans les tissus des moules viennent confirmer la forte pollution de cette portion du littoral.

Egalement, l'identification des souches isolées des eaux et des moules a fait ressortir une large gamme de bactéries entériques (*Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter braakii*, *Enterobacter cloacea*, *Pseudomonas Citrobacter freundii* ...). Ces germes possèdent des enterotoxines qui peuvent être à l'origine de nombreuses infections.

A cela s'ajoute la présence de germes pathogènes tels que *Salmonella Arizonaea*, *Salmonella Oranienburg*, *Shigella spp*, *Aeromonas hydrophila* et *Vibrio fluvialis*.

L'ensemble des données confirme l'existence d'un danger potentiel pour la santé publique. Les effluents hospitaliers et urbains ramenés essentiellement par l'oued M'Kessel et à moindre mesure par l'oued de Kaa Essour, constituent la principale source de contamination de cette zone.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a pour objectif l'évaluation des risques sanitaires liés aux déversements des effluents hospitaliers en mer.

Les analyses bactériologiques portées sur les germes microbiens dits « témoins de contamination fécale » dans les eaux et les moules font ressortir que les concentrations bactériennes décroissent au fur et à mesure qu'on s'éloigne du point de rejet. Cette diminution est due aux phénomènes de dilution, d'antagonisme et de prédation.

Bien que les taux en coliformes fécaux soient inférieurs à la valeur impérative dans l'ensemble des stations, les concentrations moyennes des streptocoques fécaux, des staphylocoques dont *S.aureus* et des sulfitoréducteurs restent élevées. Elles sont d'autant plus élevées dans les moules à cause des phénomènes de bioaccumulation et bioconcentration que dans les eaux avoisinantes. Egalement pour les paramètres physico-chimiques des eaux qui sont nettement perturbés aux niveaux des stations proches du point de rejet par rapport à celles du large.

Par ailleurs, la présence des espèces bactériennes typiques des effluents hospitaliers telles que *Providencia stuartii*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacea*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* et autres, rend ces eaux suspectes. A cela s'ajoute l'identification des espèces potentiellement pathogènes comme *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio fluvialis*, *Salmonella Arizonae*, *Shigella spp* et *Costridium perfringens*.

A l'issue des informations recueillies, les eaux usées générées par les établissements de santé implantés dans cette zone semblent constituer un réel danger pour la santé publique et l'environnement littoral. La déviation du rejet vers le collecteur de Kaa Essour pendant la période estivale ne paraît pas une bonne solution du fait que les courants de surfaces les ramènent vers la plage.

Ces informations ainsi rapportées, nous conduisent à formuler l'hypothèse de risques pour la santé humaine et pour les écosystèmes aquatiques. Ainsi, il serait intéressant à l'avenir de valider ces résultats par des méthodes d'évaluation des risques sanitaires et environnementaux. Un scénario devra être élaboré à cet effet et s'articulera autour de l'identification du danger, de l'étude de la relation dose-réponse, de l'estimation de l'exposition et de la caractérisation des risques. Il semble important de procéder aux dosages des substances chimiques éventuellement présentes. La détermination d'autres indicateurs biologiques de pollution fécale des eaux notamment les *Cryptosporidium spp.* et les entérovirus, couplés à des études épidémiologiques doivent être effectués.

Références bibliographique

- **ABD EL RAHMANE H., ANNON R., ET DAHIL K., 2000.** Travaux d'aménagement du front de mer de Bab El Oued (FERHANI EL KETTANI). Mémoire d'ingénieur en sciences de la mer. ISMAL. 50p.
- **ABDERRAHMANI K., KHEDIMI F., 2008.** Baie d'Alger : Etude de quelques paramètres de gestion du littoral et apport de la télédétection. Mémoire d'ingénieur en sciences de la mer. ISMAL. 65p.
- **AMINOT A., CHASSEPIED M., 1983.** Manuel des analyses chimique en milieu marin. (CNEXO). Ed ISBN, 396p.
- **AMINOT A., KEROUEL R., 2004.** Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, 336p.
- **AGENCE DE PROTECTION ET DE PROMOTION DU LITTORAL., 2003.** Caret des plages de la commune de Bab El Oued.
- **AGENCE DE PROTECTION ET DE PROMOTION DU LITTORAL., 2008.** Documents internes. 1-2p.
- **ASSEMBLEE POPULAIRE COMMUNALE DE BAB EL OUED., 2009.** Documents internes.
- **ASSEFSAF A., SAHLI A., 1986.** Contribution à l'étude de la pollution d'origine fécale au niveau des plages de la baie Est de Bou Ismaïl. Mémoire de TS en sciences de la mer. ISMAL, 65p.
- **AUBERT J., DESEROTTE N., 1972.** Note sur le rôle de la sédimentation dans l'épuration des eaux résiduaires. Revue internationale d'océanographie médicale. Tome 27 : 41-69.
- **BOURGEOIS C.M., 1990.** Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire (Tome I). Ed. Lavoisier Technique et documentation. Paris. 422p.
- **BRISOU J.F., DENIS F., 1978.** Hygiène de l'environnement maritime. Ed. Masson.284p.

- **BRISOU J.F., DENIS F.A., 1980.** Technique de surveillance de l'environnement maritime. Ed. Masson, 206p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2005.** Recherche et dénombrement des coliformes totaux : méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – Col 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 20 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2005.** Recherche et dénombrement des bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives : méthode par incorporation à la gélose. MA. 700 – BHA35 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 15 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2005.** Recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* : méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – PSE 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 18 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2005.** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (thermotolérants) et confirmation à l'espèce *Escherichia coli* : méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – Fec.Ec 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 20 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2006.** Recherche et dénombrement simultanés des coliformes totaux et d'*Escherichia coli* dans l'eau potable avec le milieu de culture MI : méthode par filtration sur membrane, MA. 700 – Ecctmi. 1.0, Rév.1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 24 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2006.** Recherche et dénombrement des entérocoques : méthode par filtration sur membrane, MA. 700 – Ent 1.0, Rév. 3, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 23 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2006.** Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* : Méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – STA 1.0, Rév. 3, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 19 p.

- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2006.** Recherche et dénombrement d'Escherichia coli thermotolérant : méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture mTEC modifié. MA. 700 – Ec-mTEC 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 20 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2007.** Recherche des salmonelles : méthode présence/absence, MA. 700 – Sal-PA 1.0, Rév. 1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 25 p.
- **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., 2009.** Recherche des coliformes totaux et de Escherichia coli avec le milieu de culture Colilert® : méthode présence/absence, MA. 700 – Ecct. 1.0, Rév. 1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 9 p.
- **CORVAISIER N., 2000.** Les substances médicamenteuses rejetées dans les eaux usées urbaines. Office Internationale de l'Eau. 13p.
- **DARSY C., LESCURE V., PAYOT V., ROLAND G., 2002.** Effluents des établissements hospitaliers : teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. Office Internationale de l'Eau. 10p.
- **DELARRAS C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed. Lavoisier technique et documentation. 476p.
- **DELARRAS C., TREBAOL B., 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Ed. Lavoisier : technique et documentation. Paris. 269p.
- **EBERLIN T., 1997.** Les infections microbiennes : agents infectieux (Tome I). Ed. Nathan. Paris. 128p.
- **EMMANUEL EVENS., 2003.** Thèse de doctorat : Evaluation des risques sanitaires et ecotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. N° d'ordre : 04 ISAL 004. L.S.E. ENTPE ; LAEPSI INSA de Lyon. 260 p.
- **FAUVEL Y., 1967.** Capacité de survie des streptocoques fécaux en eau de mer traitée. Rev. Trau. Inst. Pêches marit. 31 (1). 97-101.

- **FIGARELLA J., LEYRAL G., TERRET M., 2001.** Microbiologie générale et appliquée. Ed. Jacques Lanore. 285p.
- **GAUJOUS D., 1995.** La pollution des milieux aquatiques. Ed. Lavoisier technique et documentation. Paris. 220p.
- **GAUTHIER M., PIETRI C., 1989.** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Ed. Masson.447p.
- **GOMELLA C., GUERREE H., 1978.** Le traitement des eaux publiques industrielles et privées. Ed. Eyrolles. Paris.262p.
- **GOUNNI S.I., HABLAL., 2004.** Pollution microbiologique ; analyse bactériologique des produits de la mer : Moule. Mémoire de DEUA en sciences de la mer. ISMAL. 47p.
- **GROUPE SCIENTIFIQUE SUE L'EAU., 2003.** Coliformes fécaux, Dans Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, Institut national de santé publique du Québec, 3 p.
- **GROUPE SCIENTIFIQUE SUR L'EAU., 2003.** Coliformes totaux, Dans Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, Institut national de santé publique du Québec, 4 p.
- **HADJ SAID N., TAKLIT N., 2006.** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des eaux de baignade « Palm Beach » dans les côtes algéroises. Mémoire d'ingénieur en sciences de la mer. ISMAL. 56p.
- **INSTITUT PASTEUR DE PARIS., 1978.** Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur, 1^{ère} édition. 573p.
- **LACAZE J.C., 1996.** Pollution des mers. Ed. Flammarion. Paris. 127p.
- **LARPENT J.P., LARPENT-GOURAUD M., 1997.** Mémento technique de microbiologie. Ed. Lavoisier technique et documentation. 1039p.
- **LECLERC H., GAILLARD J.L., SIMONET M., 1995.** Microbiologie générale: La bactérie et le monde bactérien. Ed. Doin. 535p.
- **LABORATOIRE DES ETUDES MARITIMES., 2006.** Documents internes. 6-7p.
- **LEROY J.B., 1986.** Pollution des eaux. Collection : que sais-je ? Paris. 127p.

- **LOURGUIOUL.H ; 2006.** Étude hydrologique du barrage de Boukourdane (wilaya de Tipaza) .Thèse de Magistère en environnement et écosystème littoraux I.S. 77p.
- **MAULA et al ; 1989.** Stratégies d'échantillonnage pour analyse microbiologique sur réseaux de distribution d'eau. Ed. Lavoisier technique et documentation.112p.
- **OBSERVATOIRE NATIONAL DE L'ENVIRONNEMENT ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE., 2009.** Documents internes.
- **PNUE/OMS., 1977.** Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, COPENHAGUE : 168p.
- **POGGI R et al., 1995.** Purification des coquillages. Ed. Ifremer. Brest. 432p.
- **POMMEPUY M., 1987.** Capacité d'acceptation du milieu. Bactériologie de la rade de Brest. Ed. IFREMER. Brest, Paris.60p.
- **RODIER J., BAZIN C., BROUTIN J.P., CHAMBON P., CHAMPSAUR H., et RODI L., 2005.** L'analyse de l'eau ; eaux naturelles ; eaux résiduelles ; eaux de mer. Ed. DUNOD, 1383p.
- **SAMARI N., 2008.** Qualité physico-chimique, sels nutritifs et bactériologique dans la baie de Bou-Ismaïl et le port de Bou-Haroun. Mémoire d'ingénieur en sciences de la mer. ISMAL. 79p.
- **SINGLETON P., 1999.** Bactériologie. Ed. DUNOD. Paris. 415p.
- **TOUZI H., 1999.** Contribution à la surveillance de la qualité bactériologique des eaux de la plage Ouest de Sidi Fredj. Mémoire de DEUA. ISMAL. 41p.
- **ZILLIOX L., 2000.** Pollution et épuration des eaux. Université de tous les savoirs. 11p.

Annexe I :

- Les valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques enregistrées au niveau des stations :

Station	Température (°C)	Salinité (PSU)	pH	O _D (mg/l)	DBO ₅ (mg/l)	MES (g/l)	MOP (g/l)
S ₁	17,05	35,67	7,85	8,6	10	0,32	0,16
S ₂	16,7	35,62	7,77	8,8	15	0,3	0,16
S ₃	16,95	33,02	7,27	9,1	30	0,36	0,23
S ₄	16,42	33,5	7,24	9,6	65	0,41	0,29
S ₅	16,15	36,05	7,79	6,5	10	0,28	0,15
S ₆	15,95	36,2	7,81	7	5	0,25	0,11

- Les concentrations moyennes des paramètres bactériologiques enregistrées au niveau des stations :

Station	CT (UFC/100ml)	CF (UFC/100ml)	SF (UFC/100ml)	Staphylocoques (UFC/100ml)	ASR (UFC/100ml)
S ₁	-	880	576	408	280
S ₂	-	960	984	816	240
S ₃	-	1816	1224	2376	-
S ₄	-	1712	1640	4192	-
S ₅	-	728	728	720	200
S ₆	-	548	392	360	120

- Les résultats brutes obtenues de l'analyse des moules :

Germes recherchés	Concentration (UFC/g)
Flore totale	35702
CT	25800
CF	10400
Streptocoques aureus	100
Levures et champignons	254
ARS	21000

Annexe II :

- Les coordonnées géographiques des stations :

Stations	Longitude(N)	Latitude (E)
S ₁	36°47'45.31''	3°3'14.87''
S ₁	36°47'42.58''	3°3'15.88''
S ₃	36°47'39.70''	3°3'15.33''
S ₄	36°47'37.10''	3°3'20.20''
S ₅	36°47'40.63''	3°3'21.58''
S ₆	36°47'44.38''	3°3'21.50''

Annexe III

Normes de salubrité :

- **Principaux critères de qualité des eaux de baignade (Extrait de l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993)**

Paramètres microbiologiques	Unités	Valeurs guide	Valeur impérative
Coliformes totaux	/100ml	500	10 000
<i>Escherichia coli</i> / 100 ml	/100ml	100	2 000
Streptocoques fécaux/ 100 ml	/100ml	100	-
Salmonelles	ll	-	0
Vibrion cholérique	/450ml	-	0
Paramètres Physicochimiques			
Coloration	mg/l	-	Pas de changement anormal de la couleur (0)
Huiles minérales	mg/l	0,3	Pas de film visible à la surface de l'eau et absence d'odeur
pH	-	-	6 - 8
Oxygène dissous	% saturation en O ₂	-	80 - 120
Transparence	Mètre	2	-
Autres substances	-	-	Ne doit pas contenir des substances capables de nuire la santé des baigneurs

- **Valeurs guide** : caractérise une bonne qualité pour la baignade.
- **Valeurs limites** : constitue la limite supérieure au-delà de laquelle l'eau est considérée de mauvaise qualité (baignade interdite).
- Les eaux dont les concentrations sont comprises entre les valeurs guides et valeurs limites sont de qualité acceptable et doivent faire l'objet d'une surveillance continue.

➤ **Valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels (journal officiel de la république algérienne N°26 : 24Rabie Elaouel 427 23avril 2006).**

Paramètres	Unité	Valeurs limites	Tolérances aux valeurs limites anciennes installations
Température	°C	30	30
pH	-	6 ,5à 8,5	6,5 à 8,5
MES	mg/l	35	40
Azote Kjeldahl	mg/l	30	40
Phosphore total	mg/l	10	15
DCO	mg/l	120	130
DBO5	mg/l	35	40
Aluminium	mg/l	3	5
Substances toxiques bioaccumulables	mg/l	0,005	0,01
Cyanures	mg/l	0,1	0,15
Fluor et composés	mg/l	15	20
Indice de phénols	mg/l	0,3	0,5
Hydrocarbures totaux	mg/l	10	15
Huiles et graisses	mg/l	20	30
Cadmium	mg/l	0,2	0,25
Cuivre total	mg/l	0,5	1
Mercure total	mg/l	0,01	0,05
Plomb total	mg/l	0,5	0,75
Chrome total	mg/l	0,5	0,75
Etain total	mg/l	2	2,5
Manganèse	mg/l	1	1,5
Nickel total	mg/l	0,5	0,75
Zinc total	mg/l	3	5
Fer	mg/l	3	5
Composés organochlorés	mg/l	5	7

Annexe IV

Les milieux de culture et d'enrichissement :

➤ Gélose Chapman :

Composition	Quantité (g/l)
Extrait de viande de bœuf	1
Peptone de caséine et de viande	10
Chlorure de sodium	75
D Mannitol	10
Agar	15
Rouge de phénol	0,025

- pH : 7,5
- Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 121°C.

➤ Milieu de Slanetz et Bartley :

Composition chimique	Quantité (g/l)
Tryptone	20
Extrait de levure	5
Glucose	2
Monohydrophosphate de potassium (K_2HPO_4)	4
Azide de sodium	0,4
Chlorure de triphényltétrazolium (TTC)	0,05
Agar	10

- pH : 7,2±0,2
- Ne pas autoclave, ne pas refondre.

➤ Gélose viande-foie-sulfite-citrate-gélose :

Composition	Quantité (g/L)
Base viande-foie	30
Glucose	2
Amidon	2
Sulfite de sodium	1
Citrate de fer ammoniacal	0,5
Agar	11

- pH : 7,6±0,2
- Stérilisation à l'autoclave : 121±1°C pendant 15 minutes.

➤ **Gélose thiosulfate-citrate-bile-saccharose (TCBS) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Extrait de levure	5
Citrate de sodium	10
Chlorure de sodium	10
Thiosulfate de sodium	10
Bile de bœuf	8
Citrate de fer	1
Saccharose	20
Bleu de bromothymol	0,04
Bleu de thymol	0,04
Agar	14

- pH : 8,6±0,2
- Ne pas autoclaver.

➤ **Bile-esculine-azide (BEA):**

Composition	Quantité (g/l)
Tryptone	17
Peptone	3
Extrait de levure	5
Bile de boeuf déshydratée	10
Chlorure de sodium	5
Esculine	1
Citrate de fer et d'ammonium	0,5
Azoture de sodium ou azide de sodium	0,15
Agar	15

- pH : 7,1±0,2
- Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

➤ **Gélose lactosée au TTC et au Tergitol :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Extrait de levure	6
Extrait de viande	5
Lactose	20
Bleu de bromothymol	0,05
Agar	12,75

- pH : 7,2±0,2
- Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 115±1°C.

➤ **Eau peptonée salée alcaline (EPA) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	40
NaCl	60

- pH : 8,6
- Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 121°C.

➤ **Gélose PCA :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone de caséine	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar	15

- pH : 7,0
- Stérilisation à l'autoclave : 15minutes à 120°C.

➤ **Gélose-nutritive-alcaline-biliée (GNAB) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Extrait de viande de bœuf	10
NaCl	20
Laurylsulfate de sodium	0,1
Saccharose	10
Carbonate de sodium	5
Agar	10

- pH : 9,2

➤ **Gélose Salmonelles-Shigelles (SS) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	5
Extrait de viande de bœuf	5
Sels biliaires	4,2
Citrate de sodium	10
Citrate de fer	2
Lactose	10
Rouge neutre	0,025
Vert brillant	0,3 (mg)
Thiosulfate de sodium	8,5
Agar	12

- pH : 7,3±0,2 à 25°C.
- Ne pas autoclaver.

➤ **Bouillon au sélénite de sodium (SFB) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone de viande	5
Lactose	4
Sélénite de sodium	4
Phosphate dipotassique	3,5
Phosphate monopotassique	6,5

- pH : 7,0±0,2 à 25°C.
- Ne pas autoclaver.

➤ **Gélose Hektoen :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone de viande	12
Extrait de levure	3
Sels biliaires	9
Lactose	12
Saccharose	12
Salicine	2
Chlorure de sodium	5
Hyposulfite de sodium	5
Citrate de fer ammoniacal	1,5
Bleu de bromothymol	0,064
Fuchsine acide	0,04
Agar	13,5

- Ph : 7,6
- Ne pas autoclaver.