

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة 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 DIPLOME
D'INGENIEUR D'ETAT EN SCIENCES DE LA MER

OPTION : ENVIRONNEMENT

Thème :

**Détermination de l'influence des rejets des eaux usées
brutes sur la qualité bactériologique et physicochimique
des eaux de mer. Cas d'EL KATTER (a proximité de port
de Cherchell, wilaya de TIPAZA**

Présenté par:

TAZI Cherif

TOUAHIR Nawal

Soutenu le 21/07 /2011 devant le jury suivant :

Mr	REFES W.	MCB	Président
M ^{me}	BENTCHIKOU L.	MA	Examinatrice
M ^{me}	HALLADJ F.	MA	Examinatrice (univ. Boumerdes)
M ^{lle}	AMROUCHE L.	MA	Promotrice
M ^{lle}	BENHABILES W.	MA	Co-directrice
Mr	MEDJIEH	Directeur STEP Tipaza	invité

Promotion : 2010-2011

Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté, pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions Monsieur **REFES.W**, maître de conférences (ENSSMAL), qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Nous remercions Mademoiselle **AMROUCHE.L**, maître assistante(ENSSMAL) pour avoir acceptée d'encadrer ce travail, pour sa confiance, sa disponibilité, ses encouragements et ses précieux conseils au cours de la réalisation de ce mémoire. Sans oublier M^{elle} **BENHABILES.W**, maître assistante pour avoir accepté de co-encadrer ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Madame **BENTCHIKOU.L**, maître assistante(ENSSMAL), Madame **HALLADJ.F**, Maître assistante (UNIV. Boumerdes) pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit et de participer à ce jury.

Nos profondes reconnaissances à Madame **REFES**, Monsieur **MEKKI**, Madame **EDDALIA**, Monsieur **YUSEF**, Monsieur **BOUDJELLAL** et bien sur **MOSTAFA**, personnels de la bibliothèque de l'ENSSMAL, ainsi que toutes les personnes qui nous a aidé du près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

Nous somme reconnaissant à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation et à toute personne qui nous a appris une lettre ou une phrase, qu'ils trouvent ici notre reconnaissance et un petit fruit de leurs sueurs.

Dédicaces

À mes très, très chers parents, source d'amour
et d'affection ;

À mes très chers frères, Nawal, Mo7a,
Chambal, Linda et Rachid qui comptent
énormément pour moi ;

À tous mes autres proches exclusivement mes
grand-père mes tantes Nadia et Monira;

À mes chers amis, 7amitto, Bernouli,
abda9iw, Mimira , Bahoo et Batbouta à qui je
tiens plus particulièrement ; j'espère que je
n'ai oublié personne ;

À toutes les personnes qui m'ont soutenu et
encouragé tout au long de cette année ;

Ainsi qu'à tous ceux qui me connaissent à
l'ENSSMAL et avec qui j'ai passé cinq ans
inoubliables ;

À vous tous qui m'aimez ;

À mon cœur fofo'ti

À Nawal, mon binôme qui est sérieuse et
toujours en bonne humeur;

Je dédie ce travail.

09/07/2011

Cherif

TAZI

Liste des tableaux

Tableau II.1. Dénombrement et recherche des Coliformes, Staphylocoques et des levures dans la flore contenue dans les oursins.	46
Tableau III.1. Valeurs extrêmes et moyennes et l'écart type des sels nutritifs des eaux de surface de Cherchell.	60
Tableau III.2. Valeurs des différents indices granulométriques et des quartiles (Q25, Q50, Q75) aux niveaux des trois stations.	72
Tableau III.5. Les souches identifiées.	71
Tableau III.3. Taux de pélites dans les trios stations de Cherchell.	73
Tableau III.4. concentrations moyennes/100g de chair + liquide du système aquifère.	76

Liste des figures

Figure I.1. Classification de la pollution.....	2
Figure I.2. Espèces chimiques majoritaires situées sur l'échelle d'oxydoréduction et réactions de transformation de l'azote dans l'environnement marin.....	9
Figure II.1. Situation géographique de Cherchell.....	21
Figure II.2. Description du port de Cherchell.....	22
Figure II.3. Localisation des stations de prélèvement d'eau de mer et les points de rejets.....	23
Figure II.4. Localisation des stations de prélèvement d'eau pour l'analyse des hydrocarbures.....	24
Figure II.5. Localisation des stations de prélèvement des sédiments.....	24
Figure II.6. Localisation des stations de prélèvement des oursins.....	25
Figure II.7. pH-mètre de terrain.....	27
Figure II.8. conductimètre de terrain.....	27
Figure II.9. Benne Van Veen.....	28
Figure II.10. Four à moufle.....	30
Figure II.11. Dispositif de tamisage des sédiments.....	33
Figure II.12. Dispositif de filtration Sur membrane.....	36
Figure II.13. Technique de dénombrement des Coliformes.....	37
Figure II.14. Technique de dénombrement des streptocoques fécaux.....	38
Figure II.15. Technique de dénombrement des staphylocoques.....	39
Figure II.16. Technique de recherche des bactéries sulfite réductrices.....	40
Figure II.17. Technique de recherche des salmonelles.....	41
Figure II.18. Technique de recherche des vibrions.....	42
Figure II.19. Technique de préparation des dilutions.....	43
Figure II.20. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale par la méthode des NPP dans les sédiments.....	49
Figure II.21. Test de catalase.....	50
Figure II.22. Test d'oxydase.....	51

Figure II.23. Test de TSI.....	52
Figure III.1. Variation des moyennes de la température en fonction des stations.....	53
Figure III.2. Variation des moyennes de la température par rapport les zone.....	54
Figure III.3. Variation des moyennes de la salinité en fonction des stations.....	55
Figure III.4. Variation de la salinité entre les différentes parties.....	55
Figure III.5. Variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations.....	56
Figure III.6. variation de la salinité entre les différentes parties.....	56
Figure III.7. Variation des valeurs moyennes de la conductivité..... en fonction des stations.	57
Figure III.8. Variation des valeurs moyennes de la salinité et de la conductivité en fonction des stations.	57
Figure III.9. Variation de la valeur moyenne de la DBO ₅ en fonction des stations.....	58
Figure III.10. Variation des moyennes de MES en fonction des stations.....	58
Figure III.11. Variation de MES entre les déférentes parties.....	59
Figure III.12. Variation des moyennes des taux de matières organique..... en fonction des stations.	59
Figure III.13. Variation des moyennes des taux de matières organiques..... en fonction des parties.	60
Figure III.14. Variation moyenne des sels nutritifs dans les eaux de surface.....	61
Figure III.15. Variation des concentrations moyennes des nitrates..... en fonction des stations.	61
Figure III.16. Variations des concentrations moyennes des nitrites..... en fonction des stations.	62
Figure III.17. Variation des concentrations moyennes de l'ammonium..... en fonction des stations.	63
Figure III.18. Variation des concentrations des orthophosphates..... en fonction des stations.	63
Figure III.19. Variations des concentrations moyennes des silicates..... en fonction des stations.	64
Figure III.20. Variations des moyennes de concentration de la chlorophylle <i>a</i> et les phéopigments en fonction des stations.	65

Figure III.21. Concentrations des hydrocarbures dans l'eau en fonction des stations.....	66
Figure III.22. Variations des concentrations moyennes des Coliformes totaux(CT)..... en fonction des stations.	67
Figure III.23. Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux (CF)..... en fonction des stations.	68
Figure III.24. Variations des concentrations moyennes des streptocoques fécaux (SF)..... en fonction des stations.	69
Figure III.25. Variations des concentrations moyennes des Staphylocoques (Staph)..... en fonction des stations.	69
Figure III.26. Variations des concentrations moyennes des Anaérobies..... Sulfitoréducteurs (ASR) en fonction des stations.	70
Figure III.27. Variation du taux de matières organiques dans les sédiments..... en fonction des stations.	73
Figure III.28. Variations des concentrations des coliformes totaux (CT)..... dans les sédiments en fonction des stations.	74
Figure III.29. Variations des concentrations des coliformes fécaux (CF)..... dans le sédiment en fonction des station.	75
Figure III.30. Variation des concentrations des streptocoques fécaux (SF) dans..... les sédiments en fonction des stations.	76

Liste d'abréviation

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **ASR** : Anaérobies sulfitoréducteurs
- **Cd** : Le cadmium
- **CF** : Les coliformes fécaux
- **[CH₃Hg]⁺** : Le méthyle mercure
- **Cl ‰** : Chlorinité
- **CODB** : Carbone organique dissous biodégradable
- **COT** : Carbone organique total
- **CT** : Les Coliformes totaux
- **DBO₅** : Demande biochimique en oxygène
- **DCO** : Demande chimique en oxygène
- **DM** : Dilution Mère
- **EDS** : Eau Distillée Stérile
- **E_H** : Potentiel redox
- **EPA** : Eau Peptonée alcaline
- **gélose BEA** : Gélose Bile-Esculine-Azide.
- **GPS** : Système de positionnement global.
- **Hg** : Le Mercure
- **Hg²⁺** : Mercure divalent
- **ISO** : International Standard Organization
- **Q₅₀** : La médiane
- **(Q₂₅)** : Le 1^{er} quartile
- **(Q₇₅)** : Le 3^{ème} quartile
- **MES** : La matière en suspension
- **MO** : Matière organique
- **MOP** : la matière organique particulaire
- **mS/cm** : m Siemence/cm
- **N** : Azote
- **NaCl** : Chlorure de sodium

- **NaOH** : Hydroxide de sodium
- **(NO₂⁻)**, : Nitrites
- **NH₃** : Ammoniac
- **NH₄⁺**, : Ammonium
- **NPP** : Nombre le plus probable
- **OD** : L'oxygène dissous
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- **ONEDD** : Office national de l'environnement et de développement durable
- **P** : Le phosphore
- **Pb** : Le plomb
- **pH** : Le potentiel d'Hydrogène
- **PO₄⁻³** , **HPO₄⁻²** , **H₂PO₄⁻** : Orthophosphates
- **PSU** : Pratical Salinity Unit
- **S** : salinité
- **S_O** : Indice de classement Sorting de Trask
- **SF** : Les streptocoques fécaux
- **SFB** : Bouillon au sélénite de sodium
- **Si** : Silicium
- **SK** : Indice d'asymétrie Skewness
- **SODIS** : Solar disinfection
- **SS** : Salmonella et Shigilla
- **T** : température
- **WTW** : Wissenschaftliche Technische Workstätten
- **NTU** : Unité de turbidité

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction générale

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Définition de la pollution marine	2
2. Les différents types de pollution	2
3. Les caractéristiques de la pollution	3
3.1 Les caractéristiques physico-chimiques	3
3.1.1. La température(T)	3
3.1.2. La salinité (S)	3
3.1.3. Le potentiel d'Hydrogène (pH)	4
3.1.4. La Conductivité	4
3.1.5. L'oxygène dissous (OD)	4
3.1.6. Le Potentiel redox(E_H)	5
3.1.7. La Turbidité	5
3.1.8. La matière en suspension(M.E.S)	5
3.2. Les critères de la pollution organique	6
3.2.1. Matière organique(MO)	6
3.2.2. Demande chimique en oxygène(DCO)	6
3.2.3. La demande biochimique en oxygène (DBO ₅)	6
3.2.4. Carbone organique dissous biodégradable(CODB)	6
3.2.5. Carbone organique total (COT)	7
3.3. Les sels nutritifs	7
3.3.1. Les différentes origines des sels nutritifs dans l'océan	7
a. Les sources internes	7
b. Les sources externes	7
3.3.2. Les différentes formes des sels nutritifs	7
3.3.2.1. L'azote (N)	7
a) L'azote ammoniacal ($NH_4^+ - NH_3$)	8
b) L'azote nitreux (NO_2^-)	8
c) L'azote nitrique (NO_3^-)	8
3.3.2.2. Le phosphore (P)	9
❖ Eutrophisation	9
3.3.2.3. Silicium(Si)	10
3.4. Les métaux lourds (éléments toxiques)	10
3.4.1. Le Mercure(Hg)	10
3.4.2. Le plomb(Pb)	10
3.4.3. Le cadmium(Cd)	11
3.5. Les micropolluants organiques	11
3.5.1. Hydrocarbures	11

3.5.1.1. Catégories d'hydrocarbures	11
3.5.1.2. Les rejets d'hydrocarbures dans l'eau	11
3.5.1.3. Comportement et devenir des hydrocarbures en mer	12
3.5.1.4. Effets des hydrocarbures	12
❖ Effets écologiques	12
3.5.2. Détergents (agents de surface)	12
3.5.3. Pesticides	13
3.5.4. Chlorophénols	13
4. Paramètres microbiologiques	13
4.1. Germes indicateurs de contamination fécale	13
4.1.1. Les Coliformes totaux (CT)	13
4.1.2. Les coliformes fécaux ou thermotolérants (CF)	14
❖ Intérêt hygiénique de la recherche des coliformes dans l'eau	14
4.1.3. Les streptocoques fécaux(SF)	14
4.2. Les germes pathogènes	15
4.2.1. Les Staphylocoques	15
4.2.2. Les Salmonelles	15
4.2.3. Les Vibrions	16
4.2.4. Les Clostridium Sulfitoréducteurs	16
4.3. Les champignons	17
4.3.1. Les moisissures	17
4.3.2. Les levures	17
4.4. Les virus	17
4.5. Les parasites	18
4.5.1. Les Protozoaires	18
4.5.2. Les Helminthes	18
5. Autres paramètres	18
a. La chlorophylle	18
b. Phéopigments	18
c. La coloration	18
d. Odeur	19
6. Travaux en mer	19
6.1. Prélèvement	19
6.2. Echantillonnage	19
6.3. Conservation	19
6.4. Analyse(s)	20
6.5. Dragage	20
6.5.1. Impacts sur l'environnement marin	20
• Effets sur la Physicochimie de l'eau	20
• Effets sur les organismes	20

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude	21
1.1. Situation géographique	21
1.2. Description du port de Cherchell	22
1.3. Source de pollution	22
1.3.1. Sources de pollution dans le port	23
1.3.2. Source de pollution hors le port	23
1.4. Choix et localisations des stations de prélèvement:	23
2. Condition des moyens de prélèvement	26
a. Le flaconnage	26
b. Les filtres	26
3. Travaux effectués en mer	26
3.1. Prélèvement d'eau de mer	26
3.2. Mesures in situ	27
3.2.1. La température	27
3.2.2. Le pH	29
3.2.3. La Salinité / la conductivité	27
3.3. Prélèvement des oursins	28
3.4. Prélèvement de sédiment	28
4. Travaux effectués au laboratoire	28
4.1. Analyse des paramètres physico-chimiques	28
4.1.1. La demande biochimique en oxygène (DBO ₅)	28
4.1.2. Mesure de la matière en suspension (MES)	29
4.1.3. La matière organique dans l'eau de mer (MOP)	29
4.1.4. Dosage de la chlorophylle <i>a</i> par fluorométrie	30
4.1.5. Dosage des sels nutritifs	31
4.1.6. Dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer par spectrométrie infrarouge	32
4.2. Analyse granulométrique	33
4.2.1. Matière organique dans le sédiment	34
4.3. Analyse microbiologique	34
4.3.1. Analyse bactériologique de l'eau de mer	35
4.3.1.1. Dénombrement des Coliformes, Streptocoques fécaux et des staphylocoques	36
4.3.1.2. Dénombrement des germes sulfitoréducteurs	40
4.3.1.3. Recherche des Salmonelles et les Vibrions	41
4.3.2. Dénombrement et recherche de la flore contenue dans les oursins	43
4.3.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes par incorporation en milieu gélosé	43
4.3.2.2. Recherche et dénombrement par étalement en surface	44
a. Dénombrement des Streptocoques fécaux	44
b. Recherche et dénombrement des staphylocoques	45

c. Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures	45
4.3.2.3. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)	45
4.3.2.3. Recherche des salmonelles	45
4.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries dans les sédiments	47
4.3.3.1. Dénombrement des coliformes et des streptocoques fécaux en milieu liquide par la détermination du nombre le plus probable (NPP).	47
4.3.3.2. Dénombrement des anaérobies sulfitoréductrices (ASR)	48
4.3.3.3. Recherche des salmonelles	48
5. Techniques de caractérisation et d'identification de quelques bactéries	50
5.1. Coloration de Gram	50
5.2. Test de la catalase	50
5.3. Test d'oxydase	51
5.4. Test TSI	51
4.4. Identification par la méthode des galeries API 20	52

Chapitre III : Résultats & Discussion

1. Résultats d'analyses des eaux de surface	53
1.1 Variation des paramètres physico-chimiques	53
1.1.1 La température	53
1.1.2 La salinité	54
1.1.3 Le potentiel d'Hydrogène	56
1.1.4 Conductivité	57
1.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO ₅)	58
1.1.6. Matières en suspension (MES)	58
1.1.7. Matière organique particulaire(MOP)	59
1.1.8. Variation des sels nutritifs :	60
1.1.9. Chlorophylle a et phéopigments:	65
1.1.10. Les hydrocarbures dans l'eau	66
1.2. Analyse microbiologique	67
1.2.1. Résultats de recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans les eaux de surface.	67
1.2.1.1. Les Coliformes totaux	67
1.2.1.2. Les Coliformes thermotolérants « Fécaux »	68
1.2.1.3. Les Streptocoques Fécaux	68
1.2.1.4. Les Staphylocoques	69
1.2.1.5. Les Anaérobies Sulfitoréducteurs (ASR)	70
1.2.2. Résultats d'identification des germes pathogènes	70
a. Les Salmonelles	70
b. Les Vibrionacées	71
2. Résultats des analyses des sédiments	72

2.1. Analyse granulométrique des sédiments	72
a. Résultats de l'analyse granulométrique	72
b. Interprétation de l'analyse granulométrique	72
2.1.1. Résultats et discussion de l'analyse de la fraction pélitiques	73
a. Résultats de l'analyse de la fraction pélitiques	73
b. Interprétation des résultats de l'analyse de la fraction pélitiques	73
2.1.2. La matière organique dans le sédiment	73
2.2. Evaluation des paramètres bactériologiques des sédiments	74
2.2.1. Résultat de recherche et estimation des germes indicateurs de pollution	74
2.2.1.1. Coliformes totaux	74
2.2.1.2. Coliformes fécaux	75
2.2.1.3. Streptocoques fécaux	75
2.2.1.4. Dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) au niveau des sédiments	76
2.2.1.5. Salmonelles	76
3. Evaluation des paramètres bactériologiques des oursins	76

Conclusion générale

Bibliographie

Annexes

INTRODUCTION



Introduction

Le littoral Algérien est de plus en plus affecté par l'activité humaine ; plus de 60 % de la population se trouve près du littoral. Cette forte densité entraîne des agressions permanentes notamment par le déversement des rejets d'eaux usées domestiques et industrielles directement en mer sans traitement préalable.

Ces derniers sont la source principale de la pollution microbiologique du milieu marin qui constitue une menace pour la santé publique lors de la baignade ou lors de la consommation des produits de la mer contaminés.

La ville de Cherchell n'échappe pas à ce fléau. Elle subit des agressions intensives dues au déversement continu des eaux résiduaires de façon anarchique.

Le choix porté sur la ville de Cherchell n'est pas fortuit étant donné que cette région constitue un pôle touristique de plus en plus important dans le pays, avec ses deux musées dédiés aux vestiges romains laissés dans la ville (amphithéâtre, statues romaines, mosaïques, monuments architecturaux, etc.), son port de pêche et la découverte d'un canon de 02 mètre de long, datant du XVI^{ème} siècle enseveli sous les sédiments marins lors de l'aménagement du port, qui a fait de ce fond marin un superbe site archéologique.

Elle est aussi caractérisée par ces prestigieuses plages «mer et soleil» de Tizirine qui faisait autrefois la fierté des Cherchellois, et celle de Sidi Braham el Ghobrini, anciennement fréquentée exclusivement par la gent féminine ainsi que celle de la petite plage située à proximité du port, aujourd'hui défigurée par l'extension monumentale du port de Cherchell et l'existence d'un grand rejet d'eaux usées.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'impact des déversements des eaux résiduaires sans aucun traitement préalable sur la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux, des sédiments et des oursins du port et ses alentours et ceci à travers une campagne de prélèvement ayant lieu du mois de Mars au mois de Mai de l'année en cours.

Ce mémoire s'articule autour de trois grands volets :

Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique qui concerne la pollution marine, les différents paramètres physico-chimiques et bactériologiques.

Le second chapitre présente et décrit la zone d'étude ainsi le matériel utilisé en mer et au laboratoire et des méthodes appliquées dans les différentes analyses.

Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des différents résultats des paramètres physico-chimiques et bactériologiques obtenus

Enfin, sur la base des données recueillies, nous souhaitons pouvoir conclure sur la présence ou pas d'une charge polluante au niveau des trois matrices analysées.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I

1. Définition de la pollution marine

Selon **Brisou et Denis, 1978**, le Groupe des Experts Scientifiques et Aspect de Protection de l'Environnement Marin (GESAMP) définit la pollution marine comme « introduction par l'homme directement ou indirectement ,de substance ou d'énergie dans le milieu marin y compris les estuaires occasionnant des effets néfastes tels que nuisance envers les ressources biologiques ,risques pour la santé de l'homme ,entraves aux activités maritimes y compris la pêche ,altération de la qualité de l'eau de mer , du point de vue de son utilisation et dégradation des valeurs d'agrément».

2. Les différents types de pollution

Il existe deux principaux critères utilisés pour classer les polluants en milieu marin. Il s'agit de son origine (urbaine, industrielle et agricole) et de sa nature (chimique, biologique ou physique). (**Galaf et Ghannam, 2003**) (figure I.1).

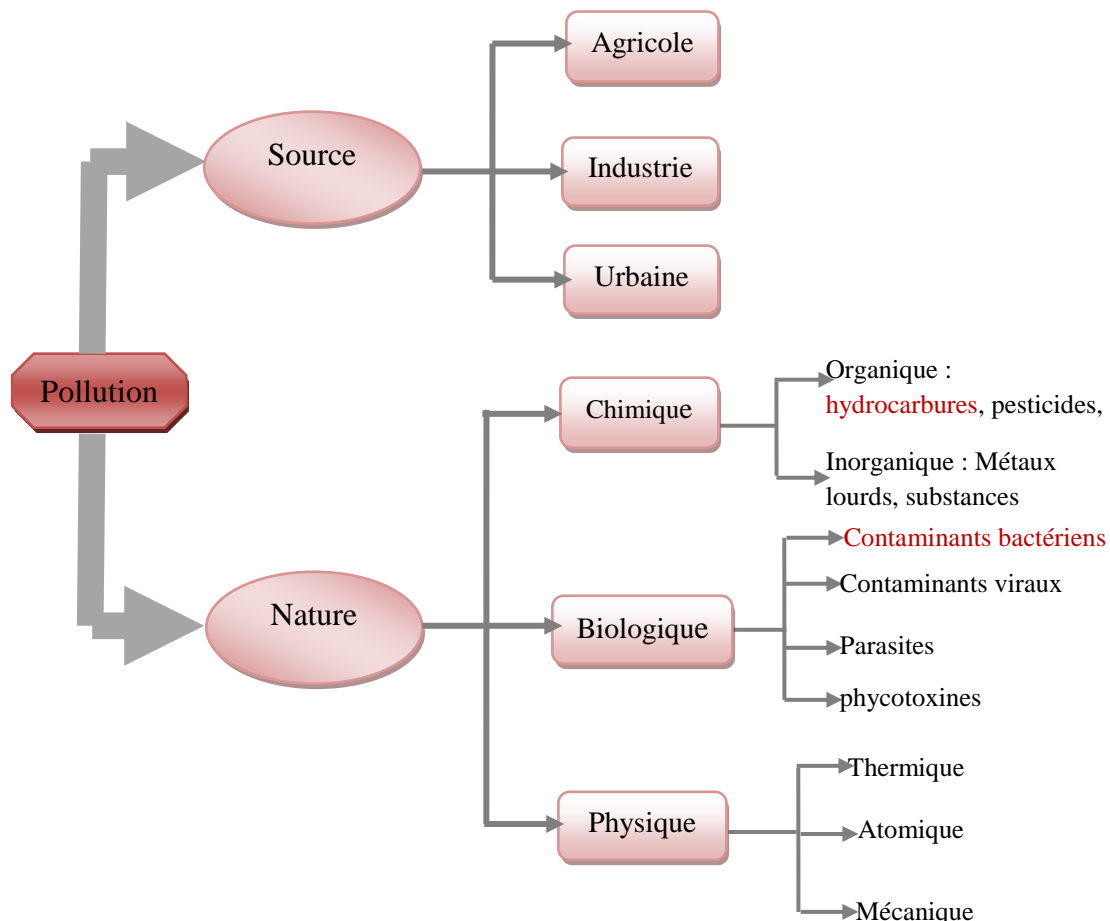


Figure I.1. Classification de la pollution

3. Les caractéristiques de la pollution

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**).

3.1 Les caractéristiques physico-chimiques

Il s'agit des paramètres facilement mesurables et qu'il est généralement utile de connaître. Ces paramètres peuvent être mesurés en continu par des sondes installées dans des stations d'observation de la qualité des eaux (**Gaujous, 1995**).

3.1.1. La température(T)

La mesure de la température est indispensable pour le traitement ou l'interprétation d'autres paramètres tels que : la saturation des gaz dissous, la mesure du pH (**Aminot et Kérouel, 2004**). Elle joue un rôle dans la solubilité des sels, sur la conductivité électrique du milieu et la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels, etc. (**Rodier et al, 2005**).

La température influe sur l'activité biologique dont dépend la production totale, et sur la répartition des espèces (Préférences thermiques) (**Aminot et Kérouel, 2004**). D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air (**Rodier et al, 2005**).

3.1.2. La salinité (S)

Selon **Sorensen(1902)** : « *La salinité est la masse, en gramme, des substances solides contenues dans un kilogramme d'eau de mer, quand les ions bromure et iodure sont remplacés par leur équivalent de chlorure, les carbonates convertis en oxydes et toute la matière organique oxydée.* » (**Aminot et Chaussepied, 1983**). Le symbole utilisé pour la salinité est : $S^{\circ}/_{\infty}$

$$S^{\circ}/_{\infty} = 1,805 \times Cl^{\circ}/_{\infty} + 0,030$$

Sorensen(1902)

$Cl^{\circ}/_{\infty}$: la chlorinité (la masse d'halogénures, exprimée en chlorure, obtenue à partir de 1 Kg d'eau de mer).

En milieux côtiers et estuariens, la salinité est le traceur idéal des mélanges entre l'eau douce et l'eau de mer. La mesure très précise de la salinité (couplée à la température) sert à calculer la masse volumique de l'eau de mer, paramètre nécessaire à la connaissance de la circulation océanique (**Aminot et Kérouel, 2004**).

3.1.3. Le potentiel d'Hydrogène (pH)

C'est une grandeur utilisée pour caractériser le degré d'acidité ou de basicité de milieu. (**Le Pimpec et al, 2002**). Le pH est défini comme le cologarithme décimal de l'activité de l'ion H^+ ($pH = -\log_{aH} = -\log_{YH} C_H$) (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

Le pH de l'eau de mer, voisin de 8,2, est fixé par la présence des carbonates, $CO_2_HCO_3^-_CO_3^{-2}$. Sa modification est due à la modification des concentrations en CO_2 (respiration, photosynthèse, échange air-océan) ou en CO_3^{-2} (précipitation, certains rejets industriels ou les apports d'eaux continentales) (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

La mesure du pH renseigne sur la qualité de l'eau : dans les eaux naturelles non soumises aux rejets, le pH dépend de l'origine de ces eaux et de la nature géologique du terrain (**Le Pimpec et al, 2002**).

3.1.4. La Conductivité

La conductivité d'une eau indique son aptitude à conduire le courant électrique. Cette aptitude dépend de la teneur de l'eau en sels dissous (salinité). Elle est l'inverse de sa résistivité électrique (**Le Pimpec et al, 2002**).

Conductivité = 1/résistivité

Conductivité : $\mu\text{ohm/cm}$ ou $\mu\text{S/cm}$.

Résistivité¹ : $\mu\text{ohm.cm}$.

La conductivité augmente si les sels dissous augmentent (**Le Pimpec et al, 2002**). Du fait de la proportionnalité des concentrations des différents ions, elle permet de déterminer la salinité avec une grande précision (**Aminot et Kérouel, 2004**). Elle varie en fonction de la température. (**Rodier et al, 2005**). Elle permet donc une bonne appréciation des matières dissoutes, ce qui facilite la localisation d'une source de pollution (**Le Pimpec et al, 2002**).

3.1.5. L'oxygène dissous (OD)

L'oxygène dissous se réfère à la molécule de dioxygène O_2 en solution dans l'eau (**Aminot et Kérouel, 2004**). C'est un paramètre important du milieu qui gouverne la majorité des processus biologiques des écosystèmes aquatiques (**Aminot et Chaussepied, 1983**). Sa solubilité dans l'eau dépend de différents facteurs, dont la température, la pression et la force ionique du milieu (**Rejsek, 2002**).

L'oxygène dissous est un paramètre d'une extrême importance pour apprécier l'impact d'une pollution organique. En effet, les bactéries dites aérobies consomment l'oxygène de l'eau pour dégrader la matière organique. Cependant, une valeur normale d'oxygène n'exclut pas la présence de pollution (**Le Pimpec et al, 2002**).

3.1.6. Le Potentiel redox(E_H)

Le potentiel d'oxydoréduction (redox) est une des caractéristiques fondamentales des milieux aquatiques, au même titre que la température, le pH ou l'oxygène dissous. La mesure du potentiel Redox permet de caractériser le milieu, de suivre, notamment en absence d'oxygène, les évolutions de certaines substances, et l'activité microbienne qui y est toujours liée. Elle est en fonction de l'équilibre des formes réduites et oxydées des composés chimiques (**Gaujous, 1995**).

3.1.7. La Turbidité

La turbidité représente l'opacité d'un milieu trouble. C'est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes. Elle est causée, dans les eaux, par la présence de matières en suspension (MES) fines, comme les argiles, les limons, les grains de silice et les microorganismes. Une faible part de la turbidité peut être due également à la présence de matières colloïdales d'origine organique ou minérale. L'unité de la turbidité est le NTU (**Rejsek, 2002**). Elle est en fonction de la concentration, de la taille, de la forme et des coefficients de réflexion ou de réfraction des particules présentes. (**Aminot et Chaussepied, 1983**). La plupart des eaux superficielles ont une turbidité importante et variable selon les conditions extérieures alors que les eaux souterraines qui subissent la filtration par le sol ont une turbidité faible. (**Rejsek, 2002**). Les mesures de turbidité ont un grand intérêt dans le contrôle de l'épuration des eaux brutes. (**Rodier et al. 2005**)

3.1.8. La matière en suspension (M.E.S)

C'est l'ensemble des particules minérales et/ou organiques présentes dans une eau naturelle ou polluée. Elles représentent une cause essentielle de turbidité de l'eau (**Ramade, 2000**). Ce sont des particules solides dont la taille est supérieure à $10\mu\text{m}$, dispersées dans l'eau sans être chimiquement liées avec elle. De ce fait, leur élimination est assez simple car elles décantent de manière spontanée et peuvent être retirées de l'eau par des procédés physiques simples (décantation, filtration) (**Rejsek, 2002**).

Les concentrations en matières en suspension sont très faibles en milieu océanique, surtout en profondeur. Par contre, elles sont fortes en milieu côtier et estuarien. Elles subissent des variations saisonnières : plancton, apports terrigènes, tempêtes (**Aminot et Kérouel, 2004**).

3.2. Les critères de la pollution organique

3.2.1. Matière organique(MO)

Elle est composée de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et de l'azote. Ces matières proviennent soit de l'érosion des sols, de la décomposition de matières animales ou végétales qui se trouvent dans l'eau. Elles se décomposent du fait de leur instabilité chimique et par l'action des microorganismes de l'eau en formant des composés de plus en plus simples (**Rejsek, 2002**). Elle est répartie en deux fractions : la matière organique dissoute et la matière organique particulaire. (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

3.2.2. Demande chimique en oxygène(DCO)

C'est la quantité d'oxygène consommée par voie chimique dans les conditions de l'essai pour assurer la dégradation des matières réductrices. On admet que la DCO est une mesure représentative de la charge organique d'une eau (**Le Pimpec et al, 2002**). La DCO étant fonction des caractéristiques des matières présentes, de leurs proportions respectives, des possibilités d'oxydation, etc. (**Rodier et al, 2005**). La mesure de la DCO est effectuée sur les eaux résiduaires (effluents, aval immédiat des rejets). Elle n'est pas applicable aux eaux naturelles ou faiblement polluées (manque de précision) (**Le Pimpec et al, 2002**). Plus une eau est chargée de matières organiques, plus la demande en oxygène cédée par voie chimique est importante (**Rejsek, 2002**). Elle est exprimé en mg/l. (**Ramade, 2000**).

3.2.3. La demande biochimique en oxygène (DBO₅)

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

La DBO s'exprime en milligrammes d'oxygène par jour et par habitant (mg/j/hb). (**Ramade, 2000**).

3.2.4. Carbone organique dissous biodégradable(CODB)

Quantité maximum de carbone organique dissous exprimée en mg/l consommée par la biomasse pendant la durée d'incubation. C'est un paramètre clé dans le contrôle de la reviviscence bactérienne dans les réseaux d'eau potable. Elle est utilisable pour l'étude de la qualité des eaux douces de surface, ou des eaux résiduaires (**Rodier et al, 2005**).

$$\text{CODB (mg/l)} = \text{COD}_0 - \text{COD}_t$$

COD₀ : concentration moyenne en COD au temps 0 (avant ajout de l'inoculum) dans chaque flacon.

COD_t : concentration moyenne du COD minimum atteint au cours de l'incubation de chaque flacon.

3.2.5. Carbone organique total (COT)

Le carbone organique est constitué d'une grande diversité de composés organiques à plusieurs états d'oxydation dont certains sont susceptibles d'être oxydés par des procédés chimiques ou biologiques. Sa détermination porte sur les composés organiques fixes ou volatils, naturels ou synthétique, présents dans les eaux résiduaires (cellulose, sucres, huiles, etc.) (**Rodier et al, 2005**).

3.3. Les sels nutritifs

Les sels nutritifs constituent un "outil" très important pour l'étude chimique et dynamique des masses d'eaux océaniques. Les sels nutritifs dissous dans l'eau de mer sont transportés par les courants océaniques d'une part et constituent une base alimentaire du cycle biologique de la biomasse océanique d'autre part (**Boulahdid, 1987**).

3.3.1. Les différentes origines des sels nutritifs dans l'océan

a. Les sources internes

La régénération des sels nutritifs dissous dans l'océan se fait principalement à partir de l'oxydation des déchets organiques le long de la colonne d'eau de mer. Dans une moindre mesure, les sels nutritifs sont régénérés à partir des sédiments marins (**Boulahdid, 1987**).

b. Les sources externes

Ce sont les apports continentaux fluviaux, éoliens et hydrothermaux englobant les processus naturels (biologie, géologie, ...) et la pollution anthropogénique (industrie, produits fertilisants, détergents, ...) (**Boulahdid, 1987**).

3.3.2. Les différentes formes des sels nutritifs

3.3.2.1. L'azote (N)

L'azote est un élément de grande importance dans les écosystèmes marins. Il est un constituant majeur des organismes vivants, IL est aussi considéré comme le nutriment limitant la production primaire (**Luc-Henri, 2007**). Il existe sous trois formes essentielles selon le degré d'oxydation : Nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ammonium (NH_4^+), ainsi que l'urée ou les acides aminés. Ce sont les formes d'azote utilisables par le phytoplancton (**Copin –Montégut, 1996**).

Le cycle de l'azote en milieu marin est caractérisé par une remarquable diversité. D'un côté les écosystèmes pélagiques sont définis par une faible concentration en azote bio-disponible pour les organismes vivants (aussi appelé azote fixé et symbolisé par N_R). D'autre part, les milieux côtiers et estuariens sont constamment enrichis en N_R par l'apport des rivières et des eaux souterraines (**Luc-Henri, 2007**).

a) L'azote ammoniacal ($NH_4^+ - NH_3$)

Il est présent sous deux formes en solution, l'ammoniac (NH_3) et l'ammonium (NH_4^+) dont les proportions relatives dépendent du pH, de la température et de la salinité. Dans les eaux marines et estuariennes, l'ammonium est très prédominant. La forme NH_3 est plus toxique pour la vie aquatique. L'azote ammoniacal provient des excréctions animales et de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés. Il est utilisé par le phytoplancton comme source d'azote et oxydé par les bactéries nitrifiantes (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

b) L'azote nitreux (NO_2^-)

C'est une forme oxygénée de l'azote peu stable, qui s'insère dans le cycle de l'azote entre l'azote ammoniacal (NH_4^+) et l'azote nitrique (NO_3^-). La présence des nitrites est due soit à l'oxydation bactérienne des sels ammoniacaux (voie aérobie), soit à la réduction des nitrates (voie anaérobie); ainsi on peut trouver dans le milieu des nitrites issus de la présence de nitrates par défaut d'oxygène dissous. Les nitrites tout comme les sels ammoniacaux sont des indicateurs typiques de pollution des eaux. Une eau renfermant des nitrites peut être considérée comme suspecte voire toxique pour les poissons même à de faibles concentrations (**Rejsek, 2002**).

c) L'azote nitrique (NO_3^-)

L'ion nitrate est la forme oxydée stable de l'azote en solution aqueuse. Il entre dans le cycle de l'azote comme support principal de la croissance du phytoplancton. Il est ensuite régénéré à partir des formes organiques par les bactéries. Les eaux océaniques profondes sont riches en nitrate (jusqu'à $40\mu\text{mol/l}$) qui peuvent enrichir les couches supérieures dans les couches de remontée d'eau (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

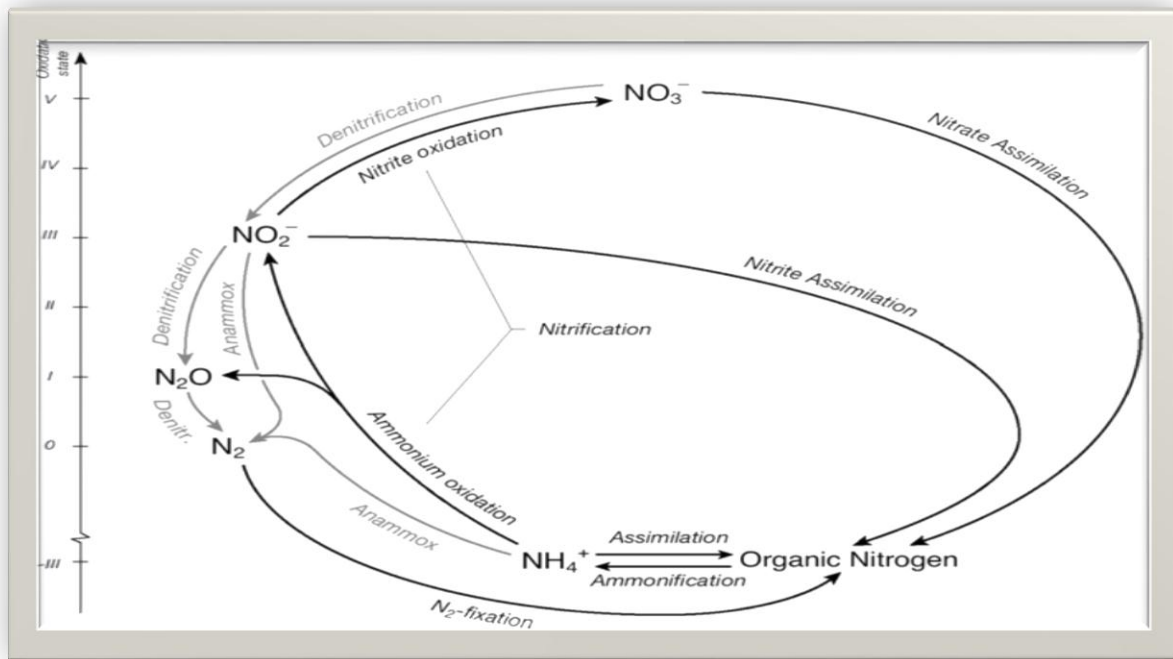


Figure I.2. Espèces chimiques majoritaires situées sur l'échelle d'oxydoréduction et réactions de transformation de l'azote dans l'environnement marin (Copin –Montégut, 1996). Les processus symbolisés par les traits gris sont ceux se déroulant uniquement en milieu anoxique (Gruber, sous presse).

3.3.2.2. Le phosphore (P)

Le phosphore est un élément nutritif dont la forme minérale majoritaire, orthophosphates, est essentiel à la vie aquatique. Dans l'eau de mer, les orthophosphates sont présents sous forme PO_4^{-3} (10%), HPO_4^{-2} (90%) et $\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$ (1%). Les teneurs en orthophosphates sont normalement assez faibles en surface en milieu océanique et côtier non pollué et ils augmentent avec la profondeur. Les fortes concentrations en orthophosphates représentent un indice d'enrichissement d'origine domestique et agricole, sont considérées comme l'origine du phénomène d'eutrophisation. (Aminot et Chaussepied, 1983)

❖ Eutrophisation

C'est un phénomène qui résulte d'un enrichissement naturel ou artificiel produit par divers pollutions d'origine anthropiques des eaux continentales ou littorales en sels minéraux nutritifs (phosphates, nitrates, etc.). Elle se caractérise par une prolifération d'algues et de plantes supérieures aquatiques qui peut conduire à une désoxygénation des couches profondes des eaux lacustres exposées à l'eutrophisation (Ramade, 2000).

3.3.2.3. Silicium(Si)

Le silicium est un élément nutritif car il entre dans la composition des squelettes de certaines espèces phytoplanctoniques (diatomées, radiolaires,...etc.) auxquelles il est indispensable .Il se présente sous forme : Si(OH)_4 (95%) et Si(OH)_3^- (5%) au pH de l'eau de mer. Les concentrations des eaux océaniques de surface peuvent être très basses ($<1\mu\text{mol/l}$) et elles s'élèvent progressivement lorsque l'on se rapproche des côtes et en particulier dans les estuaires(**Aminot et Chaussepied, 1983**). La régénération de la silice et des carbonates de calcium se fait par la dissolution des tests et squelettes siliciques et calcaires le long de la colonne d'eau pendant leur chute en profondeur. (**Boulahdid, 1987**).

3.4. Les métaux lourds (éléments toxiques)

Ils peuvent également être des polluants réductibles, ils sont bien entendus naturellement présents dans l'environnement marin où ils se présentent sous forme d'ions, de composés et de molécules complexes variables (**Lacaze, 1996 in Alzieu et al, 1999**).

3.4.1. Le Mercure(Hg)

La propriété chimique la plus importante du mercure du point de vue de l'environnement est sa faculté à former des liaisons covalentes stables avec le carbone et en particulier des composés alkyles dont le plus toxique est le méthylmercure. Il existe trois formes chimiques principales du mercure en milieu naturel : le mercure élémentaire(Hg), le mercure divalent (Hg^{2+}), le méthyle mercure $[\text{CH}_3\text{Hg}]^+$. C'est le plus volatil de tous les métaux. Il se trouve rarement dans la nature sous forme de métal liquide (**Cossa, 1990**). Il est responsable d'une intoxication chronique : atteinte rénale, troubles neurologiques et caractériels, gingivites et stomatites. La limite des rejets industriels en mer est de $0,05\text{mg/l}$ Hg arrêté du 1^{er} mars 1993(**Gaujous, 1995**).

3.4.2. Le plomb(Pb)

Le plomb existe sous trois formes essentielles: le plomb dissous, le plomb colloïdal et le plomb particulaire. Il présente une forte affinité pour la matière particulaire (**Cossa et al. 1993**). C'est un métal toxique responsable de saturnisme : atteinte neurophysiologique (fatigue, retard intellectuel chez les enfants, cardio-vasculaire...etc. Il présente une toxicité aiguë sur les organismes à partir de $0,1\text{mg/l}$, il se concentre de plus le long de la chaîne alimentaire. La limite des rejets industriels en mer est de $0,5\text{mg/l}$ Pb, arrêté du 1^{er} mars 1993. (**Gaujous1995**).

3.4.3. Le cadmium(Cd)

Le Cadmium existe sous forme dissoute, colloïdale et particulaire dans les eaux naturelles. Il est adsorbé par les oxydes, la quantité adsorbé augmente avec le pH et diminue avec la force ionique. Les fleuves sont une source importante d'apport de Cadmium à l'océan. Dans les sédiments, l'adsorption du Cadmium est principalement en relation avec les concentrations en carbone organique (**Gonzalez *et al*,1999 in Casas, 2005**). Il présente une toxicité aiguë sur les organismes supérieurs et des algues à partir de 0,1 mg/l ; les bactéries y sont moins sensibles. Le Cadmium se concentre dans la chaîne trophique et devient hautement toxique. C'est un poisson cumulatif (cycle biologique 10-30 ans). La limite des rejets industriels en mer est de 0,2 mg/l Cd, arrêté du 1 er mars 1993. (**Gaujous, 1995**).

3.5. Les micropolluants organiques

3.5.1. Hydrocarbures

Ce sont des composés organiques constitués principalement de carbone et d'hydrogène et présentent des composés chimiques dans différentes structures qui changent en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques (**Gaujous, 1995**).

3.5.1.1. Catégories d'hydrocarbures

- Les hydrocarbures paraffiniques.
- Les hydrocarbures naphténiques.
- Les composés oléfiniques.
- Les composés aromatiques.
- Les Composés hétéro-atomique (asphaltènes).

3.5.1.2. Les rejets d'hydrocarbures dans l'eau

La présence des hydrocarbures dans l'eau de mer est due essentiellement :

- Au transport maritime : accidents (marées noires), rejets de cales, fuites, nettoyage des citernes.
- Au déversement aux terminaux pétroliers.
- A l'exploitation pétrolière en mer.
- A l'activité industrielle : raffinage et pétrochimie.
- Aux Résidus d'huile usée.
- A des apports atmosphériques.
- Aux eaux de ruissellement, en zones urbaines.

3.5.1.3. Comportement et devenir des hydrocarbures en mer

Le devenir des hydrocarbures en mer peut se résumer en phénomènes suivants :

- Etalement
- Déplacement
- Evaporation
- Dissolution ou solubilisation
- Emulsification
- Oxydation et biodégradation
- Sédimentation

3.5.1.4. Effets des hydrocarbures

❖ Effets écologiques

• *La toxicité aiguë* : les aromatiques sont les plus toxiques, Suivis des composés oléfiniques, naphthéniques, et paraffiniques (généralement pas toxiques).

• *Les effets physiques* : ils sont liés au comportement physique des hydrocarbures, dans l'eau (insolubles) : Suppression de l'oxygénation (film de surface), suppression des transferts alimentaires et colmatage des branchies.

• *Les effets synergiques* : les hydrocarbures peuvent concentrer des micropolluants peu solubles dans l'eau et permettre ainsi leur absorption par les organismes vivants (les pesticides).

• *Les effets sur les médiateurs chimiques* : en perturbant les relations écologiques liées aux chimio-médiateurs, les hydrocarbures peuvent modifier le comportement des êtres vivants et l'équilibre écologique (blocage des organes chimiorécepteurs ou l'induction de fausses réponses).

3.5.2. Détergents (agents de surface).

Ce sont des composés chimiques qui, dissous ou mis en suspension dans un liquide, sont préférentiellement adsorbés à une interface, ce qui détermine un ensemble de propriétés physico-chimiques ou chimiques d'intérêt pratique.ils éliminent facilement les graisses et autres salissures à la surface de matériaux divers (**Ramade, 2000**). On distingue, selon la nature du groupement polaire hydrophile : *Les agents de surface anioniques, cationiques, non ioniques et les amphotères* (**Rodier et al, 2005**).

3.5.3. Pesticides

Ces substances chimiques minérales ou organiques de synthèse sont utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures, les animaux nuisibles et les agents vecteurs d'affections parasitaires ou microbiologiques de l'homme et des animaux domestiques (**Ramade, 2000**). Les principales familles de pesticides sont : *DDT, les organophosphorés, les herbicides, triazines*. Ils sont très peu solubles dans l'eau et se concentrent dans les huiles, les sédiments et les parties lipidiques des organismes. La toxicité des pesticides est directement liée à leur persistance dans les sols ou les eaux, ainsi à leur bioaccumulation¹ dans certains tissus (**Cardot, 1999**).

3.5.4. Chlorophénols

La présence des Chlorophénols dans la nature est due essentiellement à leur utilisation dans les industries du bois (agent de protection et de préservation du bois), dans les milieux agricoles (herbicides ou fongicides) et les techniques de chloration des eaux. Ils confèrent à l'eau un mauvais goût et une mauvaise odeur (**Rodier et al, 2005**).

4. Paramètres microbiologiques

4.1. Germes indicateurs de contamination fécale

Les bactéries sont couramment recherchées dans l'eau, principalement comme témoins de contamination fécale. Elles peuvent être sensibles, c'est-à-dire qu'on les rencontre assez fréquemment, spécifiques, c'est-à-dire d'origine fécale stricte, résistantes, c'est-à-dire qu'elles subsistent longtemps dans le milieu extérieur (**Goujaus, 1995**).

4.1.1. Les Coliformes totaux (CT)

Ils regroupent un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Enterobacteriaceae*. Selon (**ISO**) : le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatif, oxydase négatif, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose et le mannitol avec production de gaz en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C. Les coliformes comprennent les genres : *Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Yersinia, Serratia* (**Rodier et al, 2005**). Ils sont présents en très grand nombre dans l'intestin et les selles de l'homme (**Goujaus, 1995**). De nombreux coliformes ne sont pas dangereux du point de vue sanitaire sauf en cas de prolifération extrêmement abondante ou de réceptivité particulière de consommateur. (**Guiraud, 1998**).

¹ Est le processus par lequel un organisme vivant absorbe une substance à une vitesse plus grande que celle avec laquelle il l'excrète ou la métabolise.

4.1.2. Les coliformes fécaux ou thermotolérants (CF)

Ils correspondent à des coliformes qui sont capables de se développer à 44°C (**Rodier et al, 2005**). Elles peuvent être associées dans un aliment contaminé à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonelle*, *Shigella*, les *Yersinia* et certains biotypes d'*E. Coli*(O157). Leur développement est possible sur de nombreux milieux entre -2 et 50°C et entre pH 4,4 et 9. (**Guiraud, 1998**).

E. coli : c'est des colibacilles, lactose⁺, gazogènes, réalisant une fermentation acide mixte (**RM+**, **VP-**). (**Guiraud, 1998**). Elles produisent de l'indole à partir de tryptophane, à 44°C (**Rodier et al, 2005**). Elles peuvent être responsables de maladies diarrhéiques ou de maladies extra-intestinales. Les *E. coli* n'existent normalement pas dans l'eau et le sol. Leur présence est le témoin d'une contamination fécale qui rend l'eau impropre à la consommation (**Béraud, 2004**).

❖ Intérêt hygiénique de la recherche des coliformes dans l'eau

Les coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance. Par ailleurs, leur résistance aux agents antiseptiques, et notamment au chlore et à ces dérivés, est voisine de la résistance des bactéries pathogènes vis-à-vis desquelles ce type de traitement est instauré ; ils constituent donc des indicateurs d'efficacité de traitement. (**Rodier et al, 2005**).

4.1.3. Les streptocoques fécaux(SF)

Les streptocoques fécaux sont des coques Gram⁺, sphériques allongés, formant des chaînettes ou des paires, non sporulés. Ils sont dépourvus de cytochrome et de catalase. Ils peuvent se développer en aérobiose, un métabolisme fermentatif et sont considérés comme des anaérobies tolérant l'oxygène (**Béraud, 2004**). C'est l'ensemble des streptocoques possédant la substance (acide tiechoïque) antigénique caractéristique du groupe D de Lancefield tels que: *Enterococcus faecalis*, *E.faecium*, *E.durans*, *E.hirae*, *Streptococcus peals*, *S.suis* et *S. equinus* (**Rodier et al, 2005**). Ils sont les témoins de contamination fécale sensibles, spécifiques et assez résistants (y compris en milieu salé). Ils n'ont pas de pouvoir pathogène important (**Gaujous, 1995**). Le dénombrement des streptocoques fécaux présumés sont rarement effectués indépendamment des dénombrements de coliformes et coliformes fécaux présumés (**Rodier et al, 2005**).

4.2. Les germes pathogènes

4.2.1. Les Staphylocoques

Ils appartiennent à la famille des Micrococcaceae et sont désormais rapprochés des genres *Enterococcus*, *Bacillus* et *Listeria*. Les Staphylocoques apparaissent comme des cocci Gram⁺ de 0,5 à 1µm de diamètre. Ils peuvent être isolés, en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas. Ce sont des germes aéro-anaérobie facultatifs (**Béraud, 2004**). Ils sont immobiles, non sporulés, non capsulés et catalase⁺. Ce sont des germes ubiquitaires que l'on retrouve dans l'air, le sol et les eaux et ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont souvent thermorésistants (mais ne survivent pas à la pasteurisation), halophiles, peu exigeants de point de vue nutritif. Ils sont inhibés par un pH acide (pH<4 pour la croissance, pH<5 pour la toxinogénèse) (**Guiraud, 1998**). Les principales espèces de *Staphylocoques* : *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.saprophyticus* (**Béraud, 2004**). Les Staphylocoques sont capables de produire des enterotoxines² (pathogènes) (**Bourgeois, 1990**).

La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique c'est surtout dans les eaux destinées à la baignade, et particulièrement dans les eaux de piscine (**Rodier et al, 2005**).

4.2.2. Les Salmonelles

Les *Salmonella* sont des Entérobactéries bacilles, asporulées, Gram-, mobiles grâce à une ciliature péritriche, oxydase-, aéro-anaérobies facultatives, lactose -,β-galactosidase -,uréase -, indole-, H₂S⁺, citrate⁺ (**Guiraud,1998**). Elles possèdent des antigènes dits (O)³, (H)⁴ et (Vi)⁵ qui permettent la classification sérologique de ces bactéries. Les *Salmonella* sont pour la plupart des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux .Seules les espèces *S.typhi* et *S.paratyphi A* sont strictement adaptées à l'homme. La contamination de l'homme se fait par voie buccale (**Béraud, 2004**). Elles sont éliminées par les selles et peuvent contaminer l'eau (épidémies locales) et les bassins d'ostréiculture (**Gaujous, 1995**).

Elles résistent bien dans le milieu extérieur. On les retrouve surtout dans les produits d'origine animale (œufs, lait, viande, poisson...), l'eau polluée et les produits consommés crus. Les infections à *Salmonella* peuvent donner lieu à trois types de manifestations cliniques : fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, toxi-infections alimentaires, troubles non digestifs impliquant divers

² Ce sont de petites protéines constituées d'une simple chaîne d'acides aminés repliée sur elle-même sous une forme globulaire.

³ (**Antigènes somatiques**) Ce sont les antigènes de la paroi bactériennes, de nature polysaccharidique (L.P.S=endotoxine). Ils sont thermostables et alcoolostables.

⁴ (**Antigènes flagellaires**) Ils sont constitués d'une protéine, la flagelline, dont la composition en acides aminés est constante pour un types antigénique déterminé.

⁵ (**Antigènes capsulaires ou d'enveloppe**) Ce sont les antigènes de virulence. Ils sont de nature polysaccharidiques A ou B ou de nature protéique L.

sérovars⁶. Elles sont aptes à se multiplier abondamment si les conditions de développement sont favorables ; aux basses températures (5-10°C) la croissance est très lente mais peut être significative (Guiraud, 1998). Elles supportent une gamme de pH allant de 4,5 à 9 avec un optimum de 6,5 à 7,5 (Bourgeois, 1990).

4.2.3. Les Vibrions

La famille des *Vibrionaceae* est composée des genres: *Vibrio*, *Photobacterium*, *Listonella* et *Shewanella*. Le genre *Vibrio* constitue un groupe bactérien composé de bacilles Gram⁻, non sporulés, droit ou incurvés. Toutes les espèces sont mobiles, aéroanaérobies facultatives, utilisant les glucides par voie fermentative sans production de gaz et présentant une réaction à l'oxydase positive (sauf pour *V.metschnikovii* et *V. gazogènes*) (Béraud, 2004).

Ils sont catalase+, généralement nitrate réductase+. Leur température optimale de croissance est comprise entre 20 et 30°C pour les saprophytes et proche de 37°C pour les pathogènes (Guiraud, 1998). Les *Vibrio* se cultivent à pH alcalin (8,6 à 9) (Béraud, 2004). On subdivise les *Vibrio* en deux groupes en fonction de leur exigence ou non en chlorure de sodium : les espèces halophiles nécessitent pour leur croissance du NaCl comme *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* et les espèces non halophiles comme *V. cholerae* poussent en l'absence de NaCl (Béraud, 2004).

Les *V. cholerae* sont des germes qui contaminent l'eau, les coquillages et les poissons ou divers autres produits consommés crus (lait, légumes...) et ont une origine fécale. Ils sont robustes et peuvent survivre longtemps dans la nature. Ils causent des toxi-infections intestinales (Guiraud, 1998).

4.2.4. Les Clostridium Sulfitoréducteurs

Les Clostridium correspondent à la famille des Clostridiaceae. Ils sont souvent de grande taille, isolés ou en chaînettes. Ils sont catalase-, mésophiles et acceptent des variations assez importantes de pH et de température. (Guiraud, 1998). Ce sont des bacilles Gram⁺, mobiles, trapus à faces parallèles ou légèrement convexes, à extrémités coupées nettes ou arrondies, généralement mobiles, parfois capsulés, sporulés dans les conditions défavorables. La spore⁷ est arrondie ou ovalaire, elle déforme le corps bactérien, et peut être en position centrale, subterminale ou terminale. Leur métabolisme repose sur une anaérobiose stricte. La spore présente une grande résistance aux facteurs physicochimiques, en particulier thermorésistance à l'ébullition simple

⁶ (*sérotypes*) C'est la structure antigénique d'une souche constitue sa véritable carte d'identité. Elle peut s'établir à l'aide de sérums agglutinants polyvalents et monovalents (sérum anti-O- sérum anti-H).

⁷ C'est une structure de résistance qui se forme dans la cellule lorsque les conditions deviennent défavorables, par exemple, en cas d'épuisement des nutriments.

nécessitant l'autoclavage (température de 120°C) pendant une durée suffisante. L'habitat de *Clostridium* est diversifié : sol, végétaux, avec éventuel commensalisme digestif. Leur pouvoir pathogène est dû aux toxines protéiques. Les *Clostridium* comprennent les espèces : *Cl. perfringens*, *Cl. tetani*, *Cl. botulinum*, *Cl. difficile*...etc. (Béraud, 2004). Ils sont capables de réduire les sulfites (sulfite de sodium) présents dans le milieu de culture en sulfures ; ceux-ci se combinent avec un sel de fer pour donner du sulfure de fer noir (colonies entourées d'un halo noir). (Dellarras, 2007). Les *Clostridium*s sont recherchés dans les eaux comme témoins de contamination fécale ancienne, fréquents et très résistants (Goujaus, 1995).

4.3. Les champignons

Les moisissures et les levures sont des microorganismes eucaryotes hétérotrophes du groupe de champignons (Guiraud, 1998).

4.3.1. Les moisissures

Ce sont des champignons microscopiques filamenteux. Les cellules sont organisées en mycélium. Certaines sont des parasites des végétaux (plus rarement des animaux), d'autres sont saprophytes, se développant sur des déchets organiques et contaminant les produits alimentaires. Elles sont des aérobies, acidophiles ($3 < \text{pH} < 7$), mésophiles ($20^\circ \leq T \leq 30^\circ \text{C}$), osmophiles, halophiles. Certaines sont toxigènes et libèrent dans l'aliment des mycotoxines qui représentent un grave danger du point de vue sanitaire comme : *Aspergillus clavatus*.

4.3.2. Les levures

Ce sont des champignons microscopiques unicellulaires. Les cellules sont souvent rondes à ovales. Leur métabolisme est oxydatif ou mixte (oxydatif et fermentatif). Elles sont acidophiles ($3 < \text{pH} < 7,5$), mésophiles ($25-28^\circ \text{C}$). Parmi les levures pathogènes : *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*..., mais elles ne causent pas de maladies ou d'intoxication alimentaire.

4.4. Les virus

Ce sont des microorganismes très petits, constitués d'une membrane protéique (capside) contenant un acide nucléique (ADN ou ARN). Ils ne peuvent se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule vivante infestée (parasite absolu) (Gaujous, 1995).

Les virus sont des agents pathogènes des animaux et des végétaux. Certains sont transmissibles par les aliments. D'autres appelés bactériophages (virus de bactéries) fécaux peuvent être recherchés comme témoins de contamination fécale (résistants) (Guiraud, 1998).

Les principaux virus pathogènes rencontrés dans l'eau sont des entérovirus (les hépatites A et B, *poliovirus*). D'autres virus, transmis par l'eau, sont responsables de gastro-entérites

(*Coronavirus, Calicivirus, Astrovirus*), de diarrhées plus ou moins graves (*Rotavirus*). (**Gaujous, 1995**).

4.5. Les parasites

Ce sont des organismes vivants au dépendent d'un autre être vivant nommé « hôte ». L'hôte apporte au parasite un milieu favorable à sa survie. L'association parasite-hôte est plus au moins néfaste à l'hôte (**Béraud, 2004**). Les principales parasitoses sont dues:

4.5.1. Les Protozoaires

Ce sont des êtres unicellulaires eucaryotes responsables de parasites chez l'homme. Ce sont les agents de l'amibiase, de la giardiase, du paludisme, de la cryptosporidiose...etc. Chez l'hôte, certains protozoaires sont intracellulaires comme paludisme, d'autres extracellulaires comme giardiase. Ces parasites ont un stade actif, forme de développement et de multiplication, stade kystique qui résiste à la dessiccation et à l'activité gastrique (**Schaechter, 1999**).

4.5.2. Les Helminthes

Ce sont des êtres multicellulaires (métazoaires) plus nombreux que les protozoaires comme les nématodes intestinaux, trématodes, cestodes et insectes. Ils sont extracellulaires, kystes, parasitent le tube digestif (**Schaechter, 1999**).

5 .Autres paramètres

a. La chlorophylle

La chlorophylle *a* est le principal pigment photosynthétique des plantes .Elle est mesurée en tant qu'indicateur de la biomasse des micro-algues, organismes qui sont à la base de la chaîne alimentaire. (**Aminot et Kérouel, 2004**).

b. Phéopigments

Dans les milieux strictement marins, les phéopigments résultent du broutage et de la dégradation des cellules, par conséquent ne sont pas physiologiquement actifs. Ils sont rarement absents dans les eaux côtières et toujours présentes en eaux estuariennes turbides (**Aminot et Kérouel, 2004**).

c. La coloration

C'est un paramètre essentiel de la « pollution esthétique ». Toute fois, son origine peut être naturelle. En effet, certaines eaux très peu minéralisées contiennent des substances humiques fortement colorées. Dans le cas de l'eutrophisation, la pullulation d'algues ou des bactéries colore l'eau en vert ou en rouge. Le même effet peut être produit par la présence de colorants chimiques, phénols et dérivés. (**Gaujous, 1995**).

d. Odeur

C'est l'ensemble des sensations perçues par l'organe olfactif flairant certaines substances volatiles. Une eau destinée à l'alimentation doit être inodore. En effet, toute odeur est un signe de pollution ou de la présence des matières en décomposition. (**Rodier et al, 2005**).

6. Travaux en mer

6.1. Prélèvement

C'est l'opération qui consiste à prendre un certain volume représentatif du milieu à étudier ; le prélèvement est remonté à bord du bateau à l'aide d'une bouteille de prélèvement. (**Aminot et Kérouel, 2004**).

▪ Stratégie de prélèvement

La stratégie de prélèvement dans l'espace et dans le temps doit- elle tenir compte de nombreux facteurs. (**Aminot et Kérouel, 2004**).

- **La fréquence** dépend des courants, des marées, des crues et des poussées de plancton, etc.
- **Le maillage horizontal** est en fonction du site, de l'emplacement d'émissaires d'eaux usées, des embouchures de rivières, de la topographie du fond,
- **les immersions** sont en fonction de mélange des masses d'eaux et des gradients verticaux.

6.2. Echantillonnage

Il consiste à soutirer des fractions du prélèvement, les échantillons, destinés chacun à une ou plusieurs analyse(s). (**Aminot et Kérouel, 2004**). L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau (gaz dissous, matières en suspension, etc.).(**Rodier et al, 2005**). Le prélèvement et l'échantillonnage représentent des étapes primordiales dans l'acquisition des résultats. (**Aminot et Kérouel, 2004**).

6.3. Conservation

Une source de froid est Indispensable pour la conservation de certains échantillons, elle sera un congélateur électrique, une glacière portative avec des réserves de froid suffisantes doit être prévus.(**Aminot et Kérouel, 2004**). La congélation permet de conserver pour l'essentiel les propriétés chimiques des échantillons, d'éviter une contamination avec le milieu ambiant et les pertes d'éléments volatils tel que le mercure. (**Charlou et Joanny, 1983**).

6.4. Analyse(s)

C'est l'ensemble des techniques destinées à évaluer la composition chimique et biologique de tel ou tel constituant d'un milieu terrestre ou aquatique. Ces dernières font appel à des méthodes de microanalyse très diverses surtout en ce qui concerne l'étude de polluants présents à l'état de trace.

6.5. Dragage

Les dragages sont effectués au moment de la construction du port mais également de façon périodique pour enlever les sédiments qui se sont accumulés dans les chenaux et les darses (dragages d'entretien). (Alzieu et al., 1999).

6.5.1. Impacts sur l'environnement marin (Alzieu et al. 1999).

- **Effets sur la Physicochimie de l'eau**

Les opérations de dragage et le dépôt des produits prélevés sont susceptibles d'altérer l'environnement marin selon plusieurs modalités.

- ✓ L'immersion de déblais de dragage peut provoquer l'apparition de zones déficitaires en oxygène dissous.
- ✓ L'augmentation de la turbidité des eaux par l'immersion de sédiments fins peut avoir des effets négatifs sur la qualité des eaux.
- ✓ Contamination des sédiments lors des dragages d'entretien des grands ports industriels
- ✓ Le relargage de substances toxiques est à l'origine de problèmes environnementaux potentiels
- ✓ Le relargage de substances stimulant la production végétale comme les sels nutritifs et, en particulier, l'ammonium.

- **Effets sur les organismes**

Les différents impacts potentiels concernent les modifications physiques des habitats de certaines espèces et plus particulièrement des espèces benthiques, l'inhibition ou la stimulation des populations résultant de changements dans la qualité physico-chimique de l'eau ou les perturbations introduites dans les habitudes des espèces migratrices.

MATÉRIEL ET
MÉTHODES

II

1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Situation géographique

Cherchell est une ville côtière, située à environ 100 Km à l'ouest d'Alger, Positionnée à $2^{\circ} 11'$ de longitude Est et $36^{\circ} 5'$ de latitude Nord. Elle est entièrement construite sur une falaise située à une vingtaine de mètres au-dessus du niveau de la mer.



Figure II.1. Situation géographique de Cherchell (Google Earth2009 modifié par Tazi et Touahir).

Le port de Cherchell se trouve à l'extrémité Est de la corniche de Dahra, il est encadré à l'ouest par l'oued Messelmoune et à l'Est par les Oueds Bella et Hachem situés respectivement à 15 Km, 3 Km et 5 Km du port.

De l'Est à l'Ouest du port, la crête de la falaise n'atteint que 6 à 10 m au-dessus du niveau de la mer.

Ses coordonnées Lambert s'établissent comme suit :

- Longitude Est $2^{\circ} 11' 04''$.
- Latitude Nord $36^{\circ} 36' 44''$

1.2. Description du port de Cherchell

Le port est subdivisé en cinq (5) bassins aménagés pour permettre l'accostage des petits bateaux ou embarcations. (**figure II.2**).

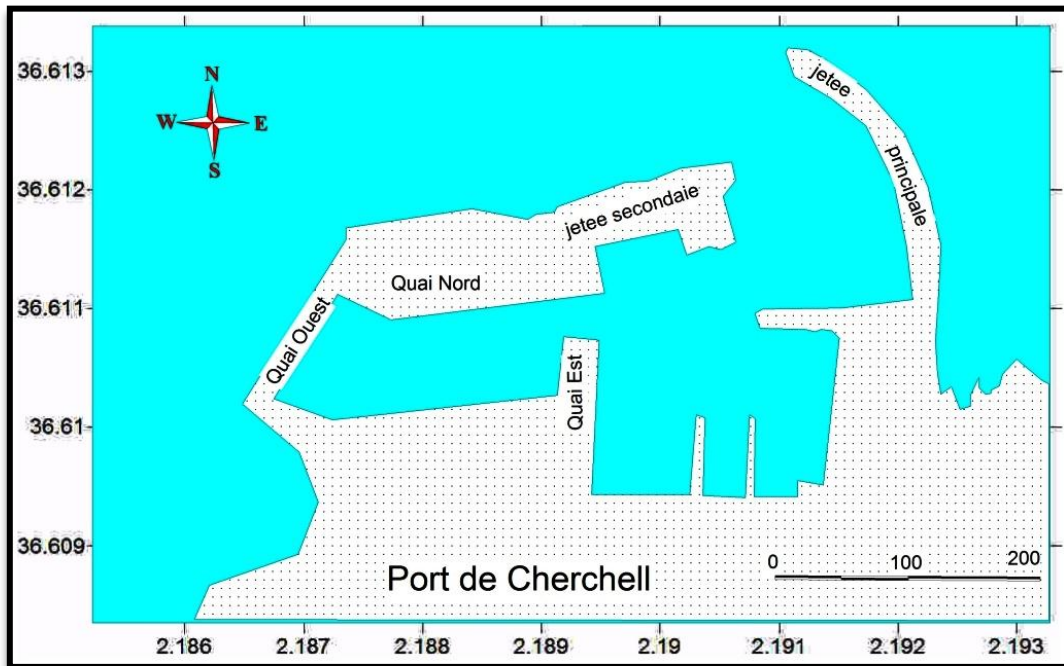


Figure II.2. Description du port de Cherchell (Tazi et Touahir,2011)

Le port qui couvre une superficie de 20 000 m² est protégé par des ouvrages contre la houle, et qui servent de délimitation. Ils sont protégés par des enrochements naturels.

Ces ouvrages comprennent :

- une jetée principale ayant une longueur de 412 m se termine par un musoir, jouant un rôle de protection contre les houles dominantes, donc elle bloque le transit sédimentaire transporté par les houles qui provoquent un envasement.
- une jetée Sud, secondaire de 60 m.

la profondeur des bassins varie entre 2.5 m et 5 m. En ce qui concerne la passe d'entrée elle est de 5m.

1.3. Source de pollution

Le développement et l'augmentation continue du nombre de population de la ville de Cherchell, produit d'énormes quantités d'eaux usées déversées directement dans le milieu marin.

1.3.1. Sources de pollution dans le port

Il existe une pollution dans le port due au :

- Déversement continu des eaux résiduaires et domestiques qui favorise la prolifération en moyenne de plus d'un milliard de bactérie par litre.
- Déversement des huiles de vidange par les chalutiers se fait directement à l'intérieur du bassin portuaire et discrètement vis-à-vis des gardes côtes.
- Les rejets des travaux d'entretien des embarcations (peinture, casiers, filets, ...) S'effectue dans le port.

1.3.2. Source de pollution hors le port

Il existe plusieurs points de déversement des eaux urbaines plantés le long de la côte, environ quatre égouts de grand débit volumique.

1.4. Choix et localisations des stations de prélèvement:

L'objectif de notre étude est d'évaluer la qualité des eaux du port de Cherchell ainsi qu'une partie de la plage Est et la plage Ouest en analysant les paramètres physico-chimiques et bactériologiques. Dix sept(17) stations ont été choisies pour le prélèvement d'eau et trois (3) pour le sédiment et quatre en ce qui concerne les oursins en fonction de l'intensité de la pollution.

La localisation des stations de prélèvement a été effectuée à l'aide d'un GPS (system de positionnement globale). (annexe IV).

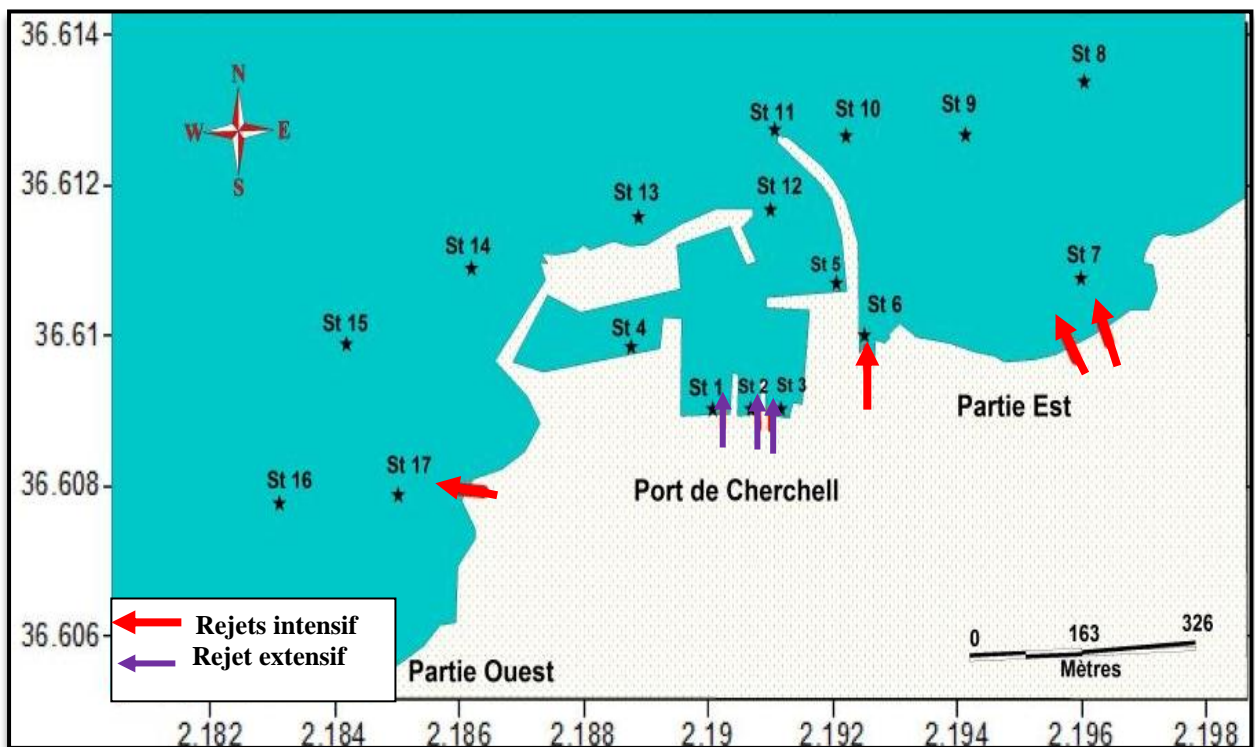


Figure II.3. Localisation des stations de prélèvement d'eau de mer et les points de rejets (Tazi et Touahir ,2011)

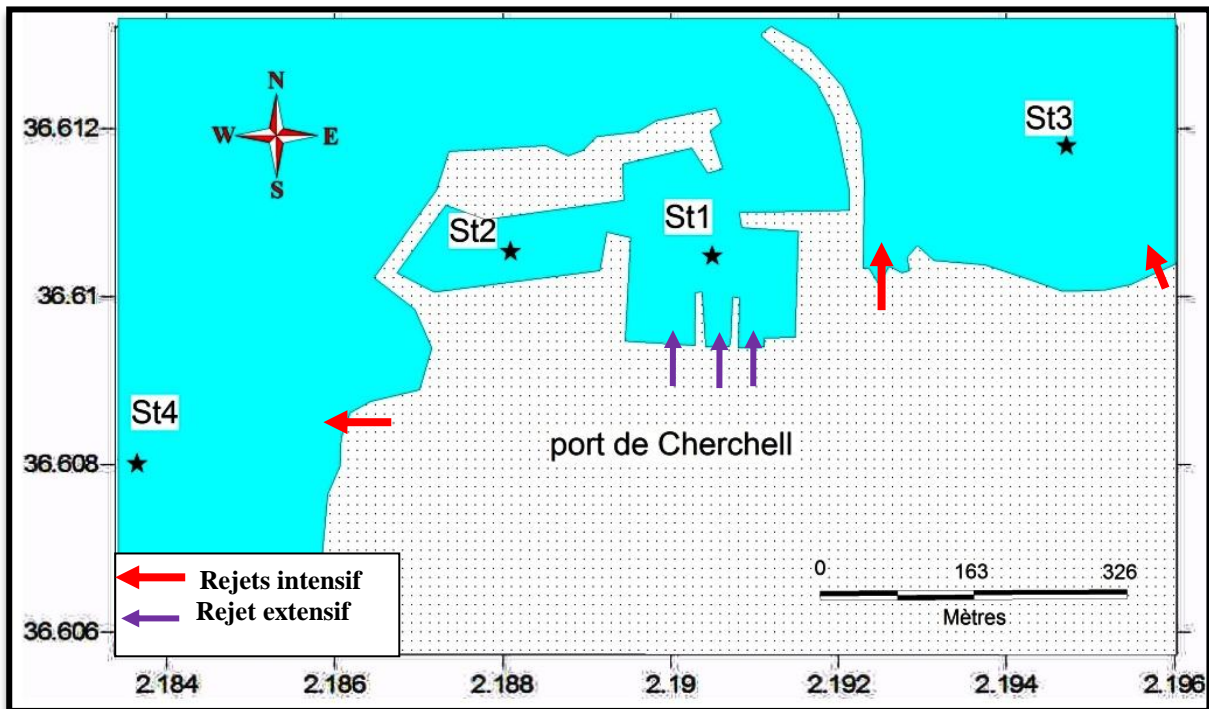


Figure II.4. Localisation des stations de prélèvement d'eau pour l'analyse des hydrocarbures (Tazi et Touahir,2011)

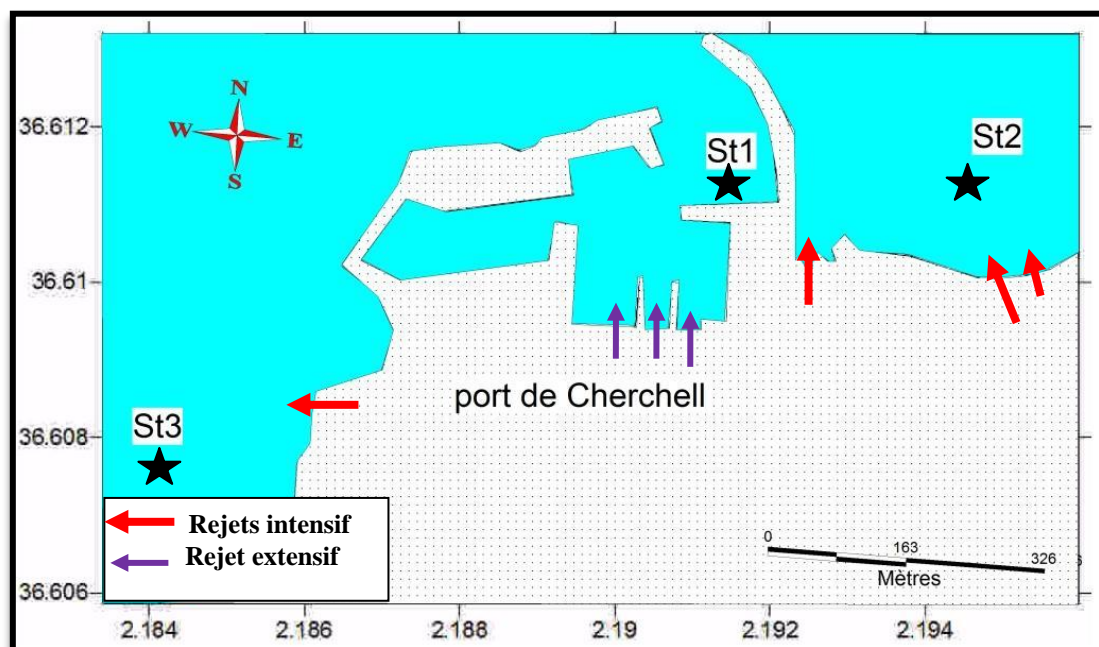


Figure II.5. Localisation des stations de prélèvement des sédiments (Tazi et Touahir ,2011)

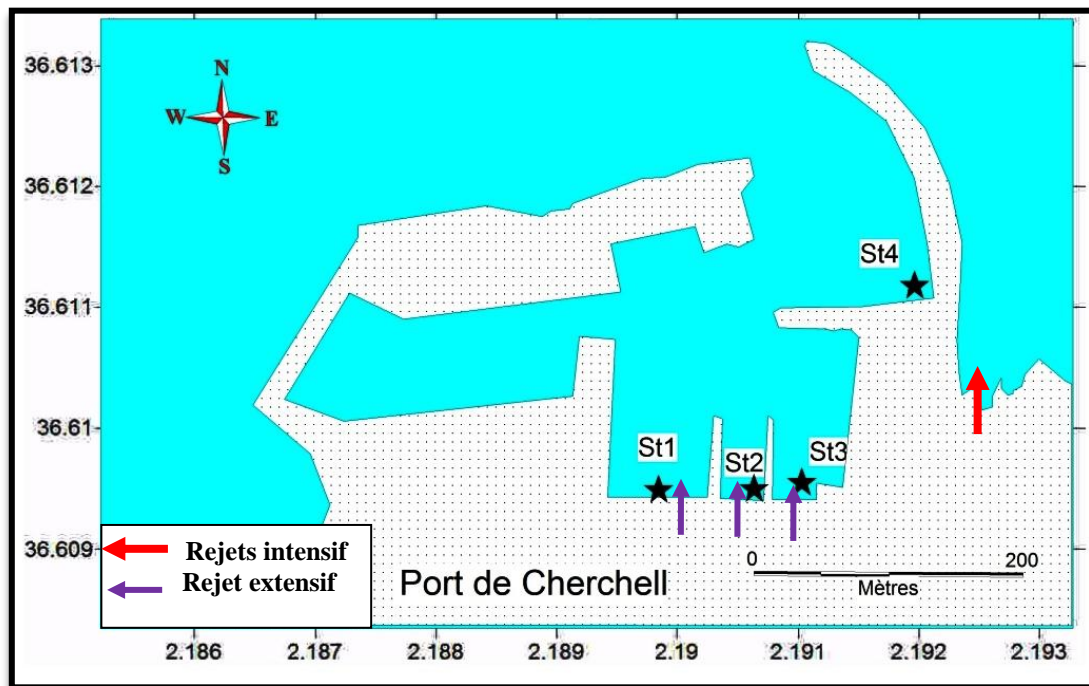


Figure II.6. Localisation des stations de prélèvement des oursins (Tazi et Touahir ,2011)

2. Condition des moyens de prélèvement

A fin de minimiser les risques de contamination, on a procédé à un prétraitement rigoureux des moyens de collecte (flacons) et du dispositif de filtration des échantillons d'eau de mer.

a. Le flaconnage

Le choix des flacons dépend de l'élément à analyser, du mode et la durée de conservation. Avant tout usage les flacons sont rincés à l'eau acidulée (5% d'HCl) puis plusieurs fois à l'eau distillée.

Pour l'analyse physico-chimique, on a utilisé des bouteilles en polyéthylène de 120 ml. Lors du prélèvement, chaque flacon est rincé deux fois avec l'eau de l'échantillon avant son remplissage.

Pour l'analyse microbiologique, on a utilisé des flacons en verre de 500 ml et de 250 ml. Ces flacons ont été préalablement stérilisés à la chaleur humide dans un autoclave pendant 20 min à 120°C ou à la chaleur sèche dans une étuve à 180°C pendant 1h.

b. Les filtres

Les filtres destinés à recueillir la matière en suspension et le dosage de la chlorophylle sont macérés pendant 24 heures dans l'eau acidulée (5% d'HCl) puis sont rincés à l'eau distillée et séchés dans une étuve à 70°C pendant deux heures. Ces filtres sont soumis au refroidissement dans un dessiccateur pour être ensuite pesés (GF/C) et conservés à l'abri de la poussière dans des boîtes individuelles numérotées.

3. Travaux effectués en mer

Les travaux en mer ont été réalisés à bord d'une embarcation, entre 05/04/2011 et 24/05/2011 à raison de trois sorties sur le terrain.

3.1. Prélèvement d'eau de mer

Les prélèvements d'eau ont été effectués à la main à une profondeur de 15 à 30 cm sous la surface d'eau pour l'analyse bactériologique et la mesure des paramètres physico-chimique (la matière en suspension(M.E.S), la matière organique(MO), la demande biochimique en oxygène (DBO₅), les sels nutritifs et la chlorophylle).

Les bouteilles sont étiquetées et remis directement dans une glacière dans la quelle sont transportées à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

3.2. Mesures in situ

La température de l'eau, le pH, la conductivité et la salinité ont été mesurés *in situ*.

3.2.1. La température

Dans notre étude on a pris la valeur de la température qui est affichée sur un conductimètre de marque WTW type 315 i/S (**figure II.8**). La précision est de l'ordre $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

3.2.2. Le pH

Le pH de l'eau a été mesuré par la méthode électrochimique à l'aide d'un pH-mètre de terrain de marque WTW type pH 315 i/S (**figure II.7**) et avec précision $\pm 0,01$. L'électrode en verre, rincée après chaque manipulation avec l'eau distillée et légèrement essuyée est immédiatement plongée dans les flacons d'échantillon. L'étalonnage de l'appareil est effectué avec des solutions étalons à pH connu.



Figure II.7: pH-mètre de terrain

3.2.3. La Salinité / la conductivité

Elles sont mesurés à l'aide d'un conductimètre de marque WTW type 315 i/S (**figure II.8**) qui a une précision de $\pm 0,1\text{PSU}$ et $\pm 0,1 \text{ mS/cm}$. Les résultats sont exprimés respectivement en PSU (unité pratique de salinité) et mS/cm.



Figure II.8 : conductimètre de terrain

3.3. Prélèvement des oursins

Comme les mollusques, les oursins sont des organismes filtreurs et sont sensibles à la pollution. Ce sont donc de bons indicateurs de pollution. Ils ont été récoltés au niveau du port et mis dans une glacière. Ils ont fait l'objet des analyses bactériologiques.

3.4. Prélèvement de sédiment

Il est réalisé à l'aide d'une benne inoxydable de type « Van Veen » (figure II.9) qui collecte le sédiment marin superficiel sur une superficie et une profondeur données. Sur le bateau, la benne est ouverte et le contenu en est collecté dans des sacs en plastique destinés aux analyses bactériologiques, granulométriques. L'échantillon étant étiqueté doit être aussitôt mis dans la glacière puis transporté au laboratoire.



Figure II.9 : Benne Van Veen

4. Travaux effectués au laboratoire

4.1. Analyse des paramètres physico-chimiques

4.1.1. La demande biochimique en oxygène (DBO₅)

La mesure de la DBO₅ a été effectuée à l'aide d'un DBO-mètre de marque « WTW ». C'est une méthode manométrique avec des manomètres, de marque Oxi -Top à affichage numérique, qui se fixent directement sur les flacons de DBO.

Mode opératoire :

- La prise d'essais est de 250ml.
- Introduire 250ml dans un flacon brun en verre contenant un aimant d'agitation magnétique.
- Remplir le ruban en caoutchouc dans le goulot de la bouteille en pastilles de soude NaOH
- Fermer les flacons par les têtes et mettre à 0 en appuyant au même temps sur S et M.
- La température est équilibrée par un thermostat réglé à 20°C.
- Les échantillons sont incubés à l'obscurité dans une armoire thermorégulatrice fermée à clef pendant cinq jours.

- La lecture des résultats se fait selon la formule suivante :

$$\text{DBO}_5 \text{ (mg/l)} = \text{X} * \text{F}$$

- ✓ **X** : valeur affichée après 5 jours
- ✓ **F** = Facteur variant en fonction du volume d'eau utilisé, (lu à partir du catalogue).

4.1.2. Mesure de la matière en suspension (MES)

Pour chaque échantillon, on filtre un volume représentatif d'eau (250ml) à travers un filtre Wattman GF/C de porosité 0,45µm. Le filtre est séché et pesé avant et après filtration. La différence de poids entre les deux pesées nous renseigne sur la charge de M.E.S.

La précision sur la concentration des (MES) dépend du volume d'eau filtré et la sensibilité de la balance (**Aminot et Chaussepied, 1983** et **Rodier et al., 2005**). Le mode opératoire et le matériel utilisé pour la mesure de M.E.S sont détaillés en **annexe I**.

- Les concentrations sont calculées selon la formule suivante :

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

- Où :
- ✓ **[M.E.S]** : 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 filtrée (litre).

4.1.3. La matière organique dans l'eau de mer (MOP)

La méthode décrite par Rodier, 1984 consiste à sécher des filtres d'eau de mer dans un four à moufle à 450°C pendant deux heures afin de brûler toute la matière organique suivant ces étapes :

- Mettre les filtres précédant dans des creusets en porcelaine numérotés.
- Peser les creusets contenant les filtres dans une balance **PioneerTM** de précision 10⁻⁴g(**P1**).
- Placer les creusets au four de marque **MIHM-VOGT 76131**(**figure II.10**) à 450°C pendant deux heures.
- Laisser refroidir.
- Peser les creusets avec les filtres(**P2**).



Figure II.10 : four à moufle

- Le calcul de la matière organique particulaire se fait comme suit :

$$\text{MOP (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)}{P_1} \times 100$$

- ✓ MOP : matière organique particulaire (%).
- ✓ P₁ : Poids du filtre avant séchage (mg).
- ✓ P₂ : Poids du filtre après séchage (mg).

4.1.4. Dosage de la chlorophylle *a* par fluorométrie

La concentration en chlorophylle *a* a été déterminée selon la méthode fluorimétrique de Yench et Menzel (1963) adaptée par Holm-Hansen et Rieman (1978) pour l'extraction des pigments à l'aide du méthanol. Elle a été élaborée pour une application en milieu marin, a l'avantage d'être très sensible et ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon.

a. Principe de la méthode de dosage

Le phytoplancton est recueilli sur un filtre (GF/F), de porosité environ 0,45µm et de diamètre 25mm) et repris dans une solution de méthanol. Les pigments chlorophylliens sont excités par un faisceau lumineux à 450 nm. La fluorescence émise est mesurée à 670 nm.

Le mode opératoire pour le dosage de la chlorophylle, le matériel utilisé, les réactifs, les étalons et les courbes d'étalonnage sont détaillés dans l'**annexe I**.

b. Calcul des concentrations

Les concentrations de chlorophylle dans les extraits du méthanol sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage. Elles sont évaluées d'après la formule de Lorenzen (1967) *in* (Aminot et Chaussepied, 1983) :

$$[\text{Chlorophylle } a] (\mu\text{g/l}) = \text{IF}_0/\text{K}_0 \times \text{VE}/\text{VF}$$

$$[\text{Phéopigments } a] (\mu\text{g/l}) = \text{IF}_0 - \text{IF}_a / \text{K}_0 - \text{K}_a \times \text{VE}/\text{VF}$$

Où :

IF0 : Intensité de fluorescence avant acidification (U.A) ;

IFa : Intensité de fluorescence après acidification (U.A) ;

K0 : Coefficient d'étalonnage établie avec de la chlorophylle *a* pure avant acidification ;

Ka : Coefficient d'étalonnage établie avec de la chlorophylle *a* pure après acidification ;

VE : Le volume d'extraction (VE = 6ml) ;

VF : Le volume de l'échantillon filtré (VF = 250 ml).

4.1.5. Dosage des sels nutritifs

a. Méthode d'analyse

Dans notre étude, le dosage des sels nutritifs (NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , SiO_2 et NH_4^+) s'est fait par colorimétrie à flux continu sur chaîne automatisée « **Auto Analyser San Plus** » S.F.A.S troisième génération (**Annexe I**) selon les protocoles définis par **SKALAR, 1998**.

Le mode opératoire détaillé pour le dosage de chaque sel ainsi que les réactifs utilisés sont consignés en **annexe I**.

b. Principe

Le principe de dosage des sels nutritifs est basé sur une réaction de coloration. En effet ces sels réagissent dans certaines conditions (T° , C, pH, Catalyseur ...) avec des réactifs spécifiques pour donner naissance à une coloration absorbant la lumière à une certaine longueur d'ondes (λ). L'absorption de l'énergie lumineuse dépend de l'intensité de la coloration, de même ce dernier est d'autant plus importante que la solution est concentrée en sel dosé. La colorimétrie est basée sur la loi de Beer-Lambert qui est exprimée par l'expression suivante :

$$A = D.O = \text{Log} (I/I_0) = \epsilon * I * C$$

✓ **I₀** : Intensité lumineuse incidente

✓ **I** : Intensité lumineuse émergente.

✓ **ε** : Coefficient d'extinction molaire.

✓ **C** : Concentration de la solution absorbante en mol/l.

✓ **A** : Absorbance de la solution.

✓ **D.O** : Densité optique de la solution.

4.1.6. Dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer par spectrométrie infrarouge

a. Principe

Les hydrocarbures sont extraits du substrat à étudier par le tétrachlorure de carbone. l'extrait est purifié sur un adsorbant afin de retenir les composés polaires et l'éluat est analysé par spectrométrie infrarouge. (Aminot et Chaussepied,1983).

b. Appareillage et matériel

Le matériel utilisé doit être lavé (détergent, acide sulfochromique) et abondamment rincé à l'eau distillée et au tétrachlorure de carbone.

- Ampoule à décanter .
- Eprovettes graduées.
- Colonne de chromatographie
- Agitateur mécanique d'ampoule.
- Spectromètre infrarouge.

c. Mode opératoire

Le dosage des hydrocarbures est fait en trois étapes : Extraction, Purification, Mesure.

Le mode opératoire est détaillé en **annexe I**.

d. Calcul et expression des résultats

La concentration en hydrocarbures dans les échantillons d'eau se calcule comme suit :

$$[\text{Hydrocarbures}] \text{ mg } \cdot \text{l}^{-1} = C \frac{V_0}{V} \frac{V_1}{V_p}$$

Avec :

C : concentration en hydrocarbures dans l'extrait de CCl_4 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

V_0 : volume de CCl_4 ajouté à l'eau.

V_p : volume aliquote de l'extrait soumis à la purification sur Florisil (ml).

V_1 : volume total après purification sur Florisil (ml).

V : volume d'échantillon d'eau extrait (l).

4.2. Analyse granulométrique

La granulométrie consiste à évaluer le pourcentage de la masse totale correspondant à la dimension de particules. (Rivière, 1977).

a. Mode opératoire :

- Déposer les échantillons dans des boîtes de Pétri en verre ;
- Séchage à 105°C pendant 24h dans une étuve ;
- La prise d'essais 200 à 300g ;
- Faire passer sous un courant d'eau « robinet » dans un tamis de 40 µm de diamètre afin de soustraire la fraction fine (pélites) ;
- Remettre les échantillons dans l'étuve à 105°C pendant 24h ;
- Peser une deuxième fois ;
- Tamiser mécaniquement sur une tamiseuse électrique (**figure II.11**).
- Peser le refus de chaque tamis.



Figure II.11: dispositif de tamisage des sédiments :

Le diamètre des mailles de la série de tamis qu'on a utilisé dans l'ordre décroissant sont : 800 µm- 630 µm -500 µm -400 µm -315 µm -250 µm-200 µm-160 µm- 140 µm- 100 µm -80 µm - 63µm.50 µm ,40 µm. Chaque tamisage dure 15 minutes.

b. Traitement des données

A partir des masses cumulées sont calculés les pourcentages cumulés. Des courbes cumulatives ont été établies propres à chaque station, sur du papier semi logarithmique.

- En ordonnée le pourcentage cumulé.
- En abscisse le diamètre du grain estimé en micron.

Cela nous permettra de comparer les échantillons et de déterminer graphiquement les différents paramètres grâce auxquels nous calculerons les indices granulométriques.

c. La fraction fine

L'étude de la fraction fine consiste, d'abord à évaluer pour chaque échantillon, le pourcentage de cette fraction fine inférieure à 40 µm :

$$P_p(\%) = ((P_i - P_f) / P_i) * 100$$

- ✓ P_p : pourcentage des pélites.
- ✓ P_i : poids initial (g).
- ✓ P_f : poids final (g).

d. Les indices granulométriques

❖ Les paramètres centraux :

- **La médiane Q_2** : Elle correspond au diamètre du grain dont l'ordonnée est à 50% du poids total du sédiment.
- **Le 1^{er} quartile (Q_{25})** : Correspond au diamètre du grain représentant 25% en poids du sédiment.
- **Le 3^{ème} quartile (Q_{75})** : Correspond au diamètre du grain représentant 75 % en poids du sédiment.

❖ Les indices de classement :

- **Indice de classement Sorting de Trask (S_0)** : Il permet d'étudier le classement des sédiments

$$SO = (Q75/Q25)^{1/2}$$

- **Indice d'asymétrie Skewness (SK)** : Il permet d'évaluer la tendance des sédiments vers le grossier, ou vers le fin.

$$SK = (Q75*Q25) / (Q50)^2$$

4.2.1. Matière organique dans le sédiment

L'une des méthodes d'évaluation de la teneur de la matière organique dans le sédiment, est la perte au feu. (Rodier,1996).

- Décongélation du sédiment.
- Mettre le sédiment dans des creusets et sécher à l'étuve (70°C pendant 24h).
- Peser les échantillons avec une balance de précision (10^{-4} g) de marque Pioneer™ (W_1).
- Mettre les échantillons au four à moufle à 600°C pendant 2h.
- Repeser les échantillons (W_2).

La différence du poids entre W_1 et W_2 représente le poids de la matière organique contenu dans le sédiment.

- Le pourcentage de la matière organique dans le sédiment est calculé par la formule suivante :

$$M.O (\%) = ((W1-W2) / W1) * 100$$

4.3. Analyse microbiologique

Les germes recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux dont *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux. Ces germes sont peu ou pas pathogènes, ils sont révélateurs de contamination fécale et entraînent par leur abondance la présomption de contamination plus dangereuse (Figarella et al, 2001).

Les germes supplémentaires dénombrés sont les indicateurs de proximité ou d'une contamination fécale ancienne : les staphylocoques, les sulfitoréducteurs ainsi que les mycètes (levures et moisissures au niveau de la chair des oursins). Les vibrions et les salmonelles ont aussi été recherchés (présence ou absence).

Au total, trois matrices ont fait l'objet de l'examen bactériologique : Eau de mer, sédiments et oursins.

4.3.1. Analyse bactériologique de l'eau de mer

Nous avons opté pour la méthode de filtration sur membrane pour estimer la charge bactérienne contenue dans l'eau de mer. C'est la méthode de concentration la plus utilisée au laboratoire, pour sa facilité et sa reproductibilité.

Elle consiste à recueillir, sur une membrane stérile un volume donné de produits à analyser (eau usée, eau de consommation et l'eau de mer), la membrane est ensuite déposée sur un milieu nutritif convenable ; après incubation, les colonies sont dénombrées et identifiées (Champiat et Larpent, 1994).

a. Matériel :

- Dispositif de filtration de marque « Sartorius stedim ». (figure II.12).
- Deux bec-Bunsen de manière à ménager une zone de travail stérile, et à pouvoir stériliser le matériel ;
- Boîtes de Pétri avec les milieux de culture spécifiques pour chaque germe ;
- Membranes d'ester de cellulose, filtrantes, de marque MILLIPORE, quadrillées et stériles (en emballage individuel) de porosité de $0.45\mu\text{m}$ et de 47 mm de diamètre susceptibles de retenir les bactéries ;
- Deux Incubateurs (l'un réglé à 37°C et l'autre à 44°C), Pompe à vide, Pincettes stérilisées et Pipettes.

b. Mode opératoire

- Stériliser le dispositif de filtration ;
- Mettre en place le dispositif ;
- Poser stérilement la membrane stérile ;
- filtrer un volume d'échantillon (100ml) ;
- Déposer le filtre sur le milieu adéquat, sans faire de bulles d'air et sans la retourner;
- Inscrire sur la boîte de Pétri, le numéro de l'échantillon et la date ;
- Placer les boîtes de Pétri en position inverse et les Incuber à une température adéquate ;
- Flamber l'ensemble godet-base pour une autre manipulation.



Figure II.12: Dispositif de filtration Sur membrane.

✚ La composition des milieux de culture et des réactifs utilisés est consignée en **annexe II**.

4.3.1.1. Dénombrement des Coliformes, Streptocoques fécaux et des staphylocoques :**a. Dénombrement des Coliformes totaux et Coliformes thermotolérants «fécaux»**

Cette méthode conduit à un dénombrement présomptif des coliformes totaux et des coliformes fécaux sur un milieu gélosé lactosé (gélose au tergitol). Les boîtes destinées à la recherche des coliformes totaux ont été incubées à 37°C pendant 24h à 48h, alors que celles destinées à la recherche des coliformes fécaux ont été incubées à 44°C pendant 24h à 48h. (**Figure II.13**). Le nombre de colonies trouvées sera exprimé en Unité Formante de Colonie dans 100 ml d'eau analysée (UFC/100ml).

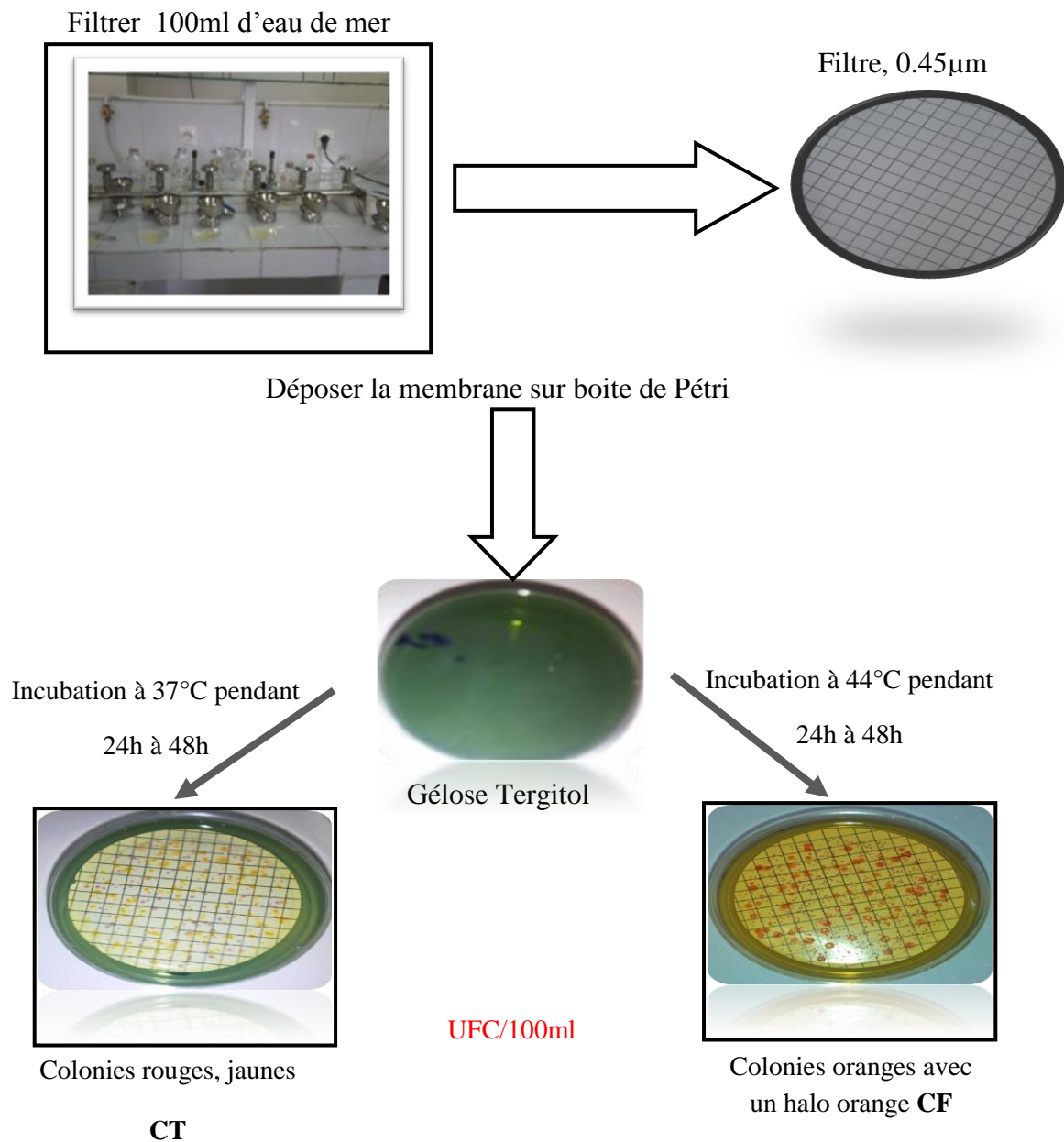


Figure II.13 : Technique de dénombrement des Coliformes

b. Dénombrement des Streptocoques fécaux

Deux tests sont effectués. Le premier est présomptif et réalisé sur le milieu de Slanetz et Bartley. Le second est confirmatif et réalisé sur gélose BEA. Les colonies noires sur le BEA ont été identifiées (coloration de Gram, test de la catalase et la galerie Api 20 Strep).(figure II.14).

Filtration de 100ml d'échantillon

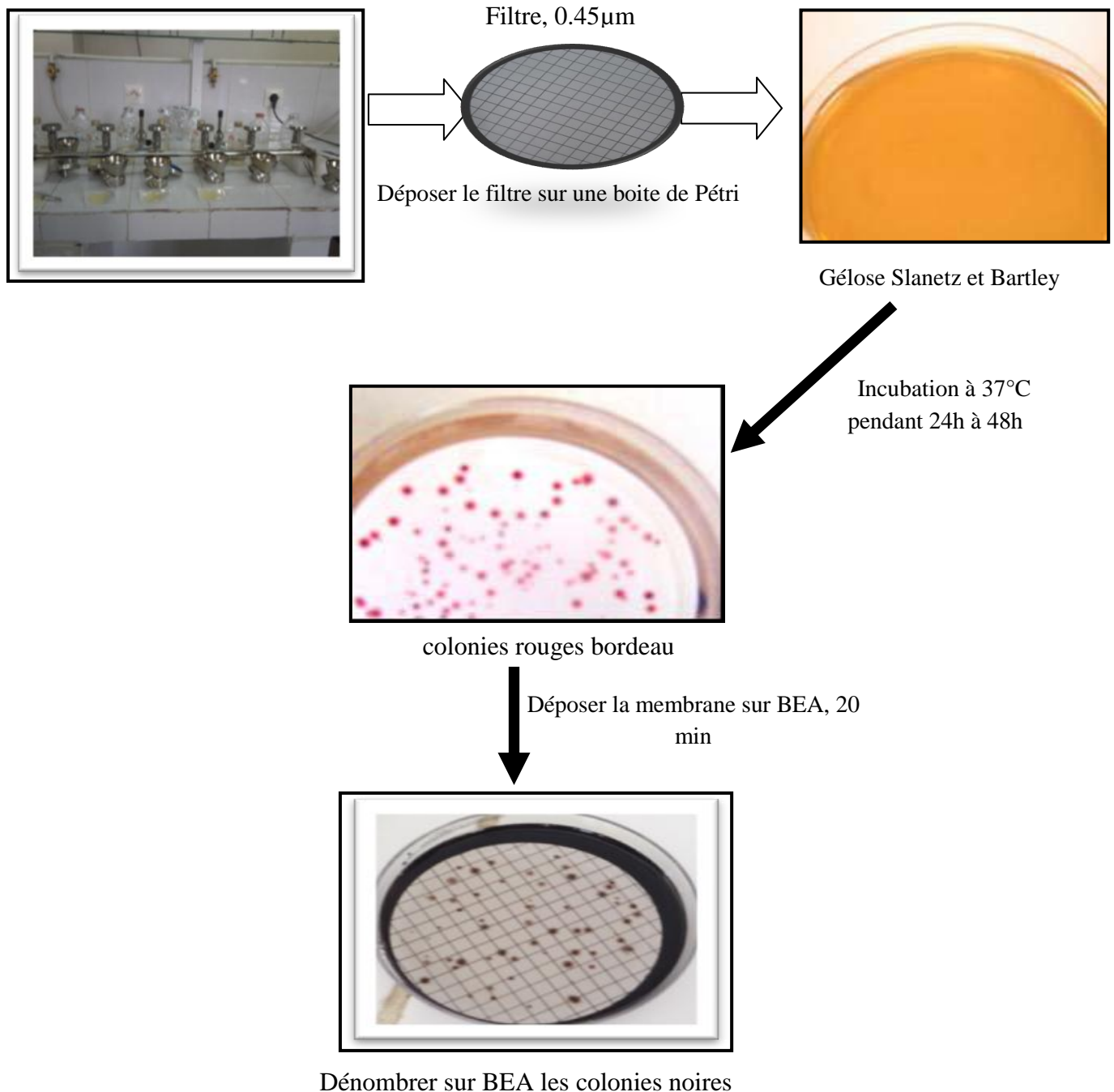


Figure II.14: Technique de dénombrement des streptocoques fécaux.

c). Dénombrement des Staphylocoques

Parmi les staphylocoques, c'est le *S.aureus* qui est dénombré sur milieu Chapman. Les colonies jaunes dorées suspectes sont dénombrées et ont fait l'objet d'une identification (coloration de gram, test de la catalase et la galerie Api 20 Staph). (**figure II.15**).

Filtrer 100ml d'eau d'échantillon

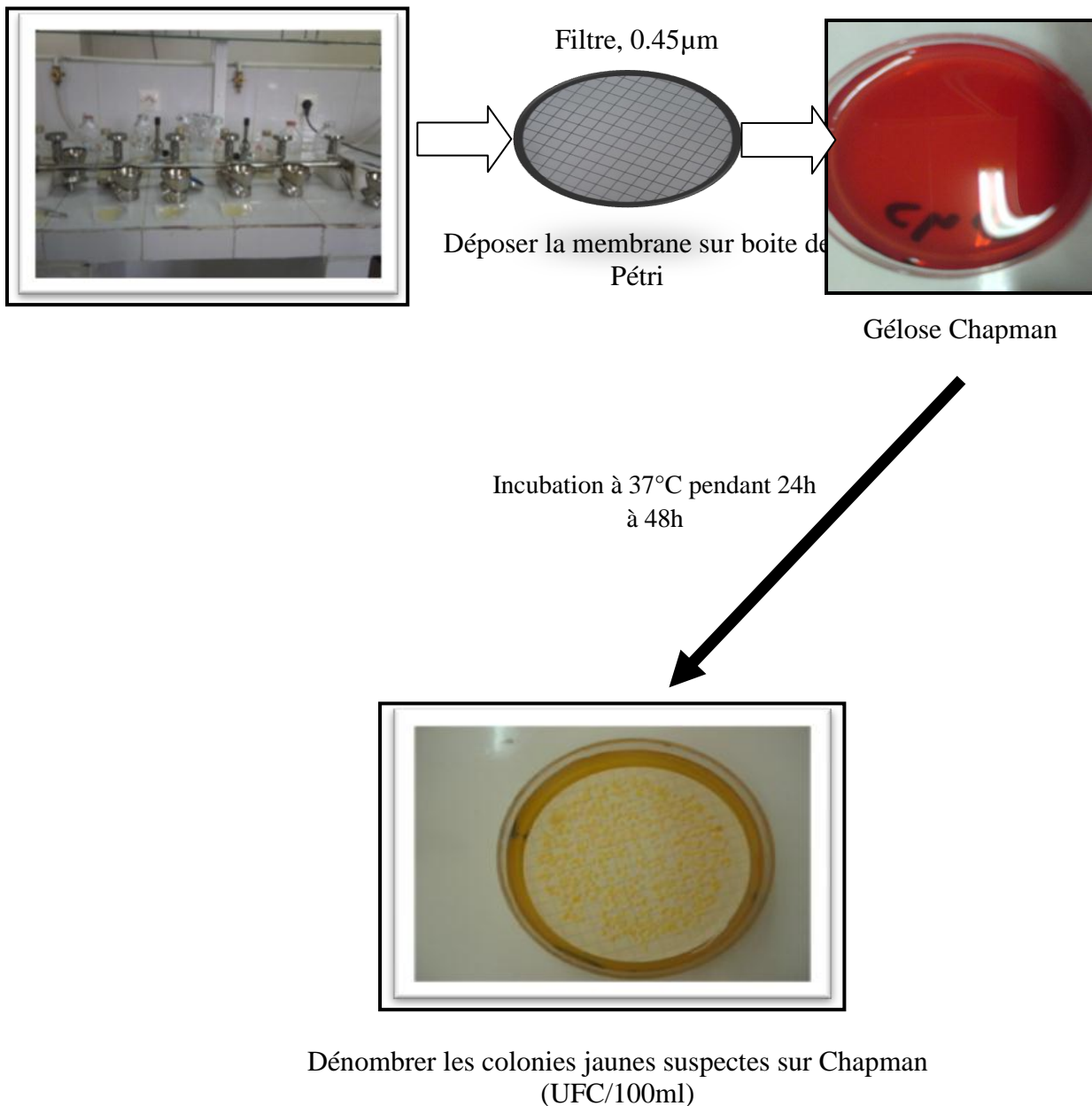


Figure II.15: Technique de dénombrement des staphylocoques.

4.3.1.2. Dénombrement des germes sulfitoréducteurs

Ces indicateurs de contamination fécale ancienne sont dénombrés sur gélose viande foie additionné à deux additifs (Alun de fer et sulfite de sodium), les spores se manifestent sous forme de colonies entourées d'un halo noir. Le résultat s'exprime en nombre de spore par 100ml (**Rodier et al,2005**).(figure II.16).

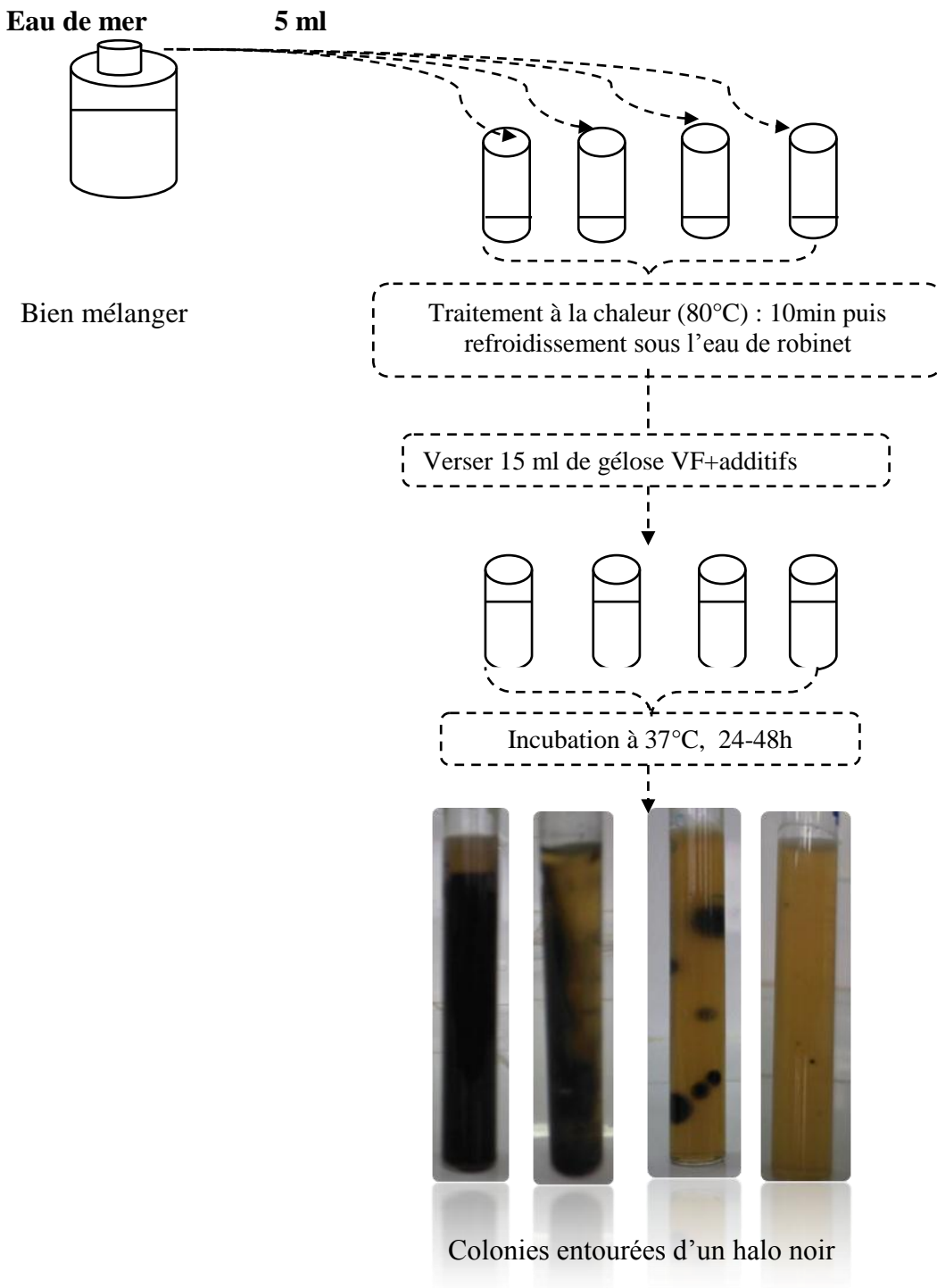


Figure II.16: Technique de recherche des bactéries sulfitoréductrices.

4.3.1.3. Recherche des Salmonelles et les Vibrions

La recherche des Salmonelles et Vibrion sont effectuées par la méthode qualitative, réalisée en trois étapes successives : Enrichissement, isolement et identification biochimique (**figure II.17et figure II.18**).

**1^{er}
enrichissement**



Membrane après filtration de 500 ml
d'eau de mer dans 100 ml SFB(S/C)
+ disques SFB

Incubation 18h -24h à 37°C



1ml
+
disques SFB
2^{eme} enrichissement

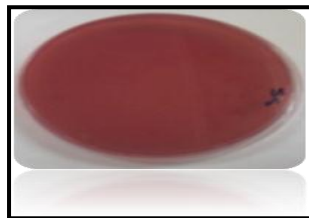


SFB(S/C) 10ml

Incubation 18h -24h à 37°C

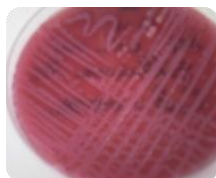


Isolement

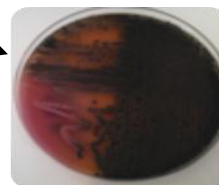


Gélose SS

18h -24h à 37°C



colonies roses, absence
des *Salmonelles*



Colonies centre noires ,
suspicion des *Salmonelles*

Identification API20E

Figure II.17: Technique de recherche des salmonelles.

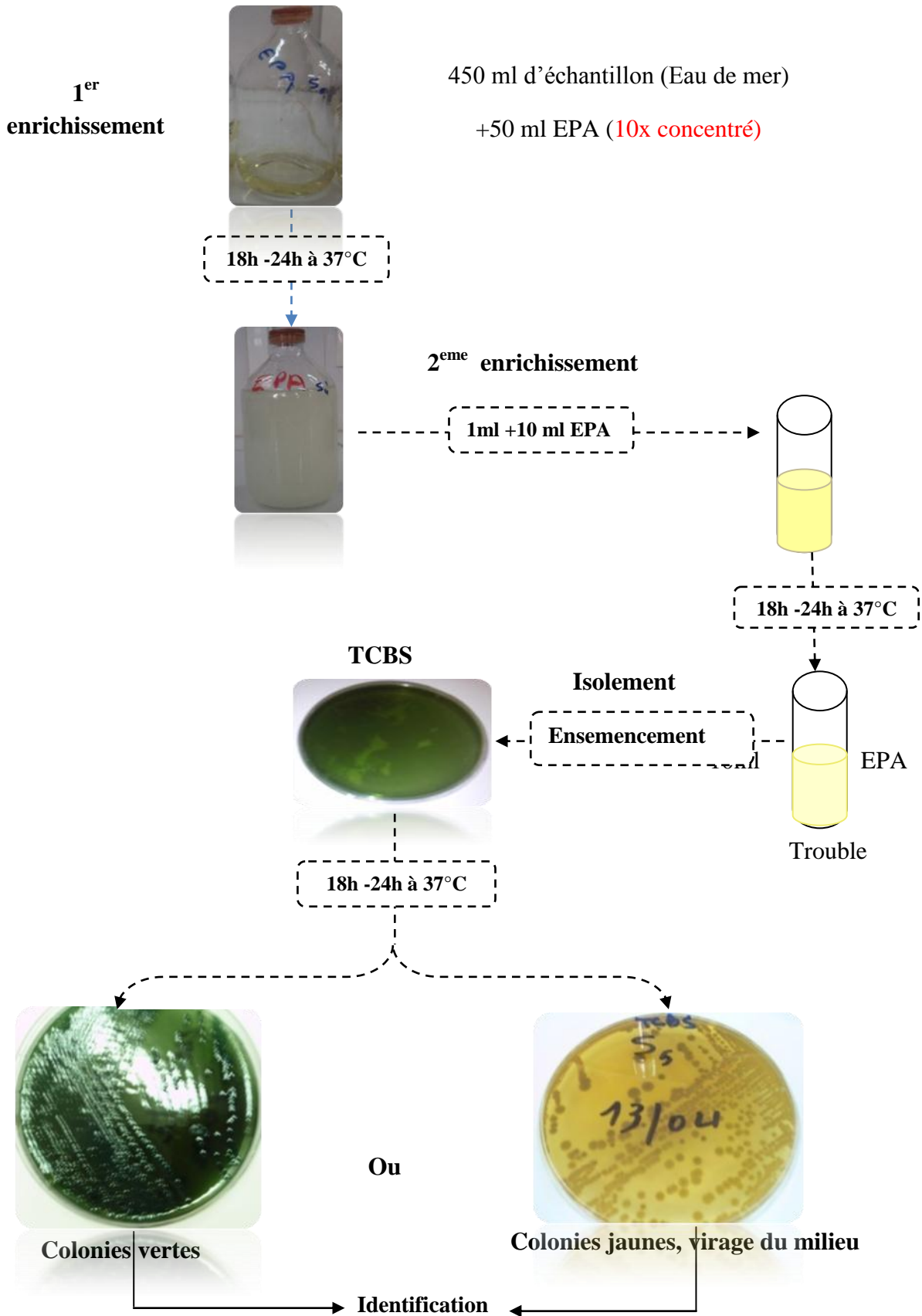


Figure II.18: Technique de recherche des vibrions.

4.3.2. Dénombrement et recherche de la flore contenue dans les oursins

Notre étude consiste à l'analyse bactériologique des oursins afin de comparer les résultats avec ceux obtenus pour les eaux de surface dans lesquelles ils se trouvent naturellement. Les différentes étapes de préparation de la suspension mère et des dilutions sont illustrées dans la **figure II.19**.

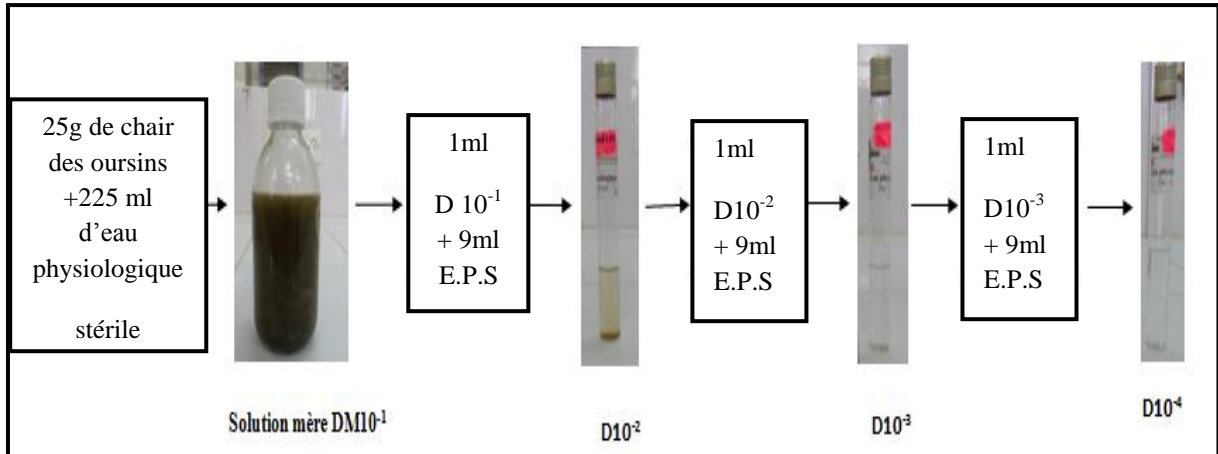


Figure II.19 : Technique de préparation des dilutions

4.3.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes par incorporation en milieu gélosé

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, mettre 20 gouttes de chaque dilution sur le fond d'une boîte de Pétri petite, répéter l'opération deux fois pour chaque dilution, Numéroter successivement, couler sur la gélose de désoxycholate 1‰ fondue puis refroidie à 45°C. Bien homogénéiser l'inoculum et la gélose en faisant des mouvements circulaires et de va et vient en forme de « 8 » et laisser solidifier. Incuber les boîtes pendant 24 - 48 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les thermotolérants. (**tableau II. I**).

➤ Lecture :

Le dénombrement des coliformes se fait par comptage des colonies roses sous formes lenticulaire.

Evaluation du nombre de CT :

Retenir les boîtes de deux dilutions successives donnant un nombre comprise entre 15 et 150 colonies.

$$CT = \frac{\sum \text{ du nbre des colonies des 2 boîtes retenues}}{1,1 \cdot d}$$

1,1 : constante

d : première dilution retenue

Evaluation du nombre des CF :

- Retenir les boîtes de deux dilutions successives donnant un nombre compris entre 15 et 150 colonies.
 - Prendre de chaque boîte au minimum 3 colonies suspectes.
 - Faire le test de l'urée indole.
- Première lecture de la première dilution retenue:

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

b : nombre de colonies repiquées qui sont indole⁺ et urée⁻.

A : nombre de colonies repiquées (minimum 3).

C : nombre total de colonies par boîte retenue.

- Première lecture de la deuxième dilution retenue:

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

Le nombre de coliformes fécaux dont *E. coli* est donné par la formule suivante :

$$CF(E. coli) = \frac{a_1 + a_2}{1,1 \cdot d}$$

d : dilution de la première boîte retenue pour a_1 .

4.3.2.2. Recherche et dénombrement par étalement en surface**a. Dénombrement des Streptocoques fécaux**

- Transférer à l'aide d'une pipette stérile, deux gouttes (100µl) de chaque dilution sur des petites boîtes de Pétri contenant le milieu Slanetz et Bartley;
- Étaler soigneusement l'inoculum à l'aide d'un râteau stérile pour chaque boîte ;
- Incuber les boîtes couvercle en bas à 37°C pendant 24-48 heures.

➤ **Lecture**

Les colonies apparaîtront comme dans le cas de l'analyse de l'eau, c'est-à-dire rouges bordeaux, un test confirmatif sur bouillon Evalitsky sera nécessaire pour confirmer s'il s'agit de streptocoques fécaux.

b. Recherche et dénombrement des staphylocoques

On procède de la même manière que précédemment en utilisant un milieu gélosé Baird Parker, après incubation à 37°C pendant 24 -48heures. Les colonies suspectes apparaîtront noires.

(Tableau I).

c. Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures

A partir des dilutions préparées, Etaler 2 gouttes (100µl) sur une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud+ Chloramphénicol, à l'aide d'un râteau stérile, puis mettre les boîtes dans un endroit propre à la température ambiante (28°C). La lecture se fait quotidiennement pendant 5 jours.

(Tableau II.1)

4.3.2.3. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)

➤ **Mode opératoire**





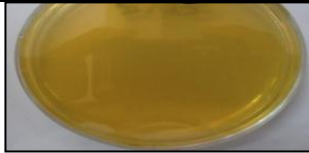

- Prélever 1ml, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, de chaque dilution dans un tube à essai stérile et vide ;
- Mettre les échantillons dans un bain marie à 80°C pendant 10 minutes pour éliminer toutes les formes végétatives;
- Refroidir immédiatement sous l'eau du robinet;
- Ajouter 19 ml de la gélose viande-foie additionnée à deux additifs (sulfites de sodium et Alun de fer);
- Laisser solidifier puis incuber à 37°C pendant 24-48 heures

➤ **Lecture** : Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir. Les résultats sont exprimés par gramme de chair.(voir figure II.16).

4.3.2.3. Recherche des salmonelles

A partir des dilutions 10^{-1} ensemercer 1ml dans un tube contenant 10ml de SFB et rajouter deux disques de l'additif SFB pour la recherche des salmonelles. La suite de la manipulation est analogue à celle effectuée pour l'eau. (Voir figure II.17).

Tableau II.1 : Dénombrement et recherche des Coliformes, Staphylocoques et des levures dans la flore contenue dans les oursins

Germe recherché	Sélectivité du milieu d'ensemencement	Aspect du milieu avant utilisation	Volume d'échantillon	T° et durée d'incubation	Aspect du milieu après
coliformes	2 inhibiteurs des bactéries Gram ⁺ à faible concentration : - le désoxycholate (sels biliaires) - le citrate de sodium.	 Gélose lactosée au désoxycholate 0.1%	1ml ou 20 gouttes en profondeur	coliformes totaux : 24 -48 h à 37°C. les thermotolérants : 24-48 h à 44°C.	 Colonies roses : bactéries lactose ⁺ (coliformes)
Staphylocoques	-une base nutritive riche. -Accélérateurs de la croissance : le pyruvate de sodium et le glycolle -2 inhibiteurs :le chlorure de lithium ,le tellurite de potassium	 Milieu Baird Parker	2 gouttes en surfaces (100µl)	24 à 48 h à 37°C	 Colonies noires
Levures et Moisissures	Chloramphénicol	 Sabouraud	2gouttes en surface (100µl)	20 - 25°C de 3 à 5 jours	

4.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries dans les sédiments

3.3.3.1. Dénombrement des coliformes et des streptocoques fécaux en milieu liquide par la détermination du nombre le plus probable (NPP).

C'est une estimation statistique du nombre de germes dans un milieu liquide (**Joy et Raynaud., 2003**).

Dans notre étude, trois tubes d'un milieu convenablement choisi sontensemencés par 1ml de la suspension mer et de chaque dilution effectuée. La présence des bactéries se traduit par l'apparition d'un trouble, dégagement de gaz, dépôt au fond.

La détermination du nombre caractéristique (le nombre de tubes positifs) permettra l'établissement du nombre le plus probable à l'aide de la table de Mc Grady (**Annexe II**) qui donne pour chaque chiffre caractéristique le nombre de cellules le plus probable dans un 1ml du tube utilisé. (**Brisou et Denis ., 1980 in Rodier et al ., 2005**).

➤ Mode opératoire

- Décongeler le sédiment à analyser ;
- Peser 25g devant un bec benzène et lui rajouter 225 ml d'eau distillée stérile dans un flacon stérile, bien homogénéiser le tout (dilution mère : 10^{-1}) ;
- Prendre 10 ml à l'aide d'une pipette graduée stérile de DM pour la mettre dans un tube stérile (10^{-1}), de même préparer d'autres dilutions : 10^{-2} et 10^{-3} . (**Voir figure 16**)

a. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux

A partir de chaque dilution, prélever 01 ml et ensemencer une série de trois tubes contenant 10 ml du bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) et une cloche de Durham. L'incubation se fait à 37°C pour les tubes destinés au dénombrement des coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux pendant 24 h à 48 h.(**figure II.20**).

➤ Lecture

Les tubes présentant un trouble avec production de gaz au niveau de la cloche sont considérés comme positifs.

✚ Le résultat est donné en nombre de germes pour 100ml en se référant à la table NPP.

b. Dénombrement des streptocoques fécaux. (figure II.20)

La technique de recherche des Streptocoques fécaux nécessite deux tests :

- **Test présomptif** : réalisé sur le milieu de Rothe simple concentration pour l'ensemencement des dilutions.
- **Test confirmatif** : se fait par repiquage des tubes positifs sur le milieu d'Eva Litsky.
- **Lecture** : Après incubation à 37°C pendant 24 h à 48 h :

Milieu de Rothe : les tubes positifs présentent un trouble.

Milieu d'Eva Litsky : les tubes positifs présentent un trouble accompagné d'une pastille violette au fond.

4.3.3.2. Dénombrement des anaérobies sulfite réductrices (ASR)

Procéder de la même manière que pour le dénombrement des clostridium chez les oursins.

(Voir 4.3.2.3).

3.3.3.3. Recherche des salmonelles

Procéder de la même manière que pour la recherche des salmonelles chez les oursins. (Voir 4.3.2.3.).

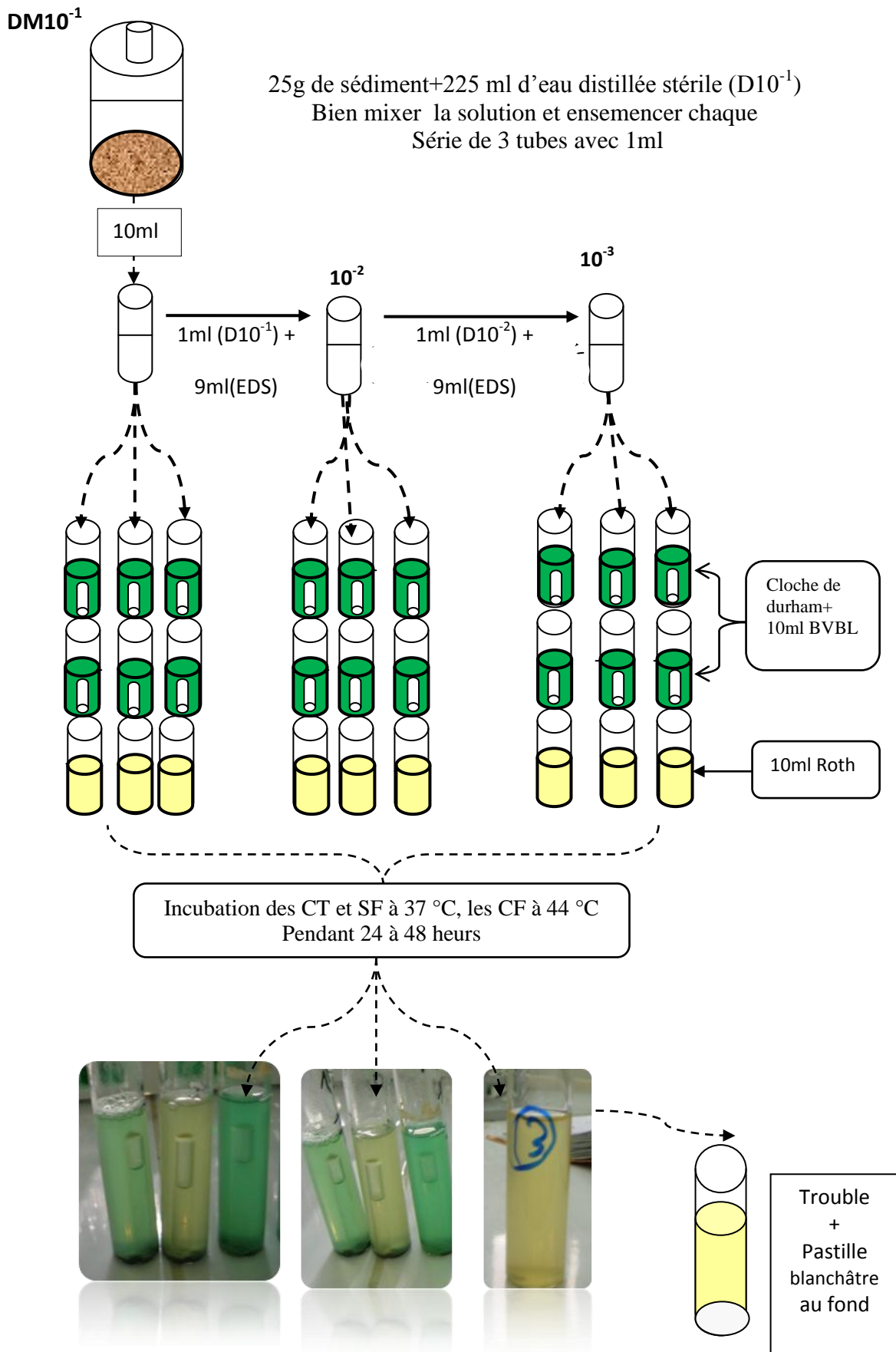


Figure II.20: Dénombrement des indicateurs de contamination fécale par la méthode des NPP dans les sédiments.

5. Techniques de caractérisation et d'identification de quelques bactéries :

5.1. Coloration de Gram

Cette coloration des cellules bactériennes permet à la fois de connaître la morphologie des bactéries et de les classer en deux groupes en fonction de leur capacité ou non à retenir la coloration violette du cristal violet dans les conditions opératoires. Cette division découle principalement de différences dans la structure des parois cellulaires des deux groupes. (**Jean et Monique,1997**).

Protocole de la coloration de Gram

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure.
- Recouvrir le frottis de violet de Gentiane ; laisser agir une minute ; rincer à l'eau ordinaire.
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant une minute ; rincer à l'eau ordinaire.
- Décolorer à l'alcool à 95%, 45 secondes ; rincer à l'eau ordinaire.
- Recolorer avec la Fushine pendant 20 secondes ; rincer à l'eau ordinaire.
- Sécher au –dessus de la flamme d'un bec benzène.

Les cellules Gram négatif apparaissent roses et les cellules Gram positif apparaissent sous une couleur violette (**Singleton et Sainsbury, 1984**)

5.2. Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plus part des bactéries aérobies strictes et certaines anaérobies facultatives. Elle permet de détruire des peroxydes formés au cours de réaction de l'oxydation (**Dellarras et Bernard ., 2003**) .

Technique

Prélever une colonie et déposer sur une lame propre. Ajouter une goutte de H₂O₂ sur les bactéries.

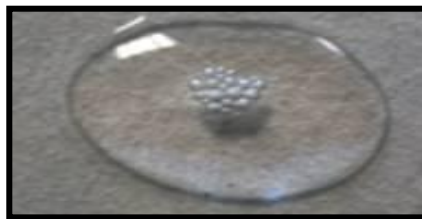
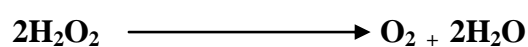


Figure II.21 : Test de catalase

➤ Lecture

Si la souche examinée possède une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses. La réaction catalysée est la suivante :



5.3. Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase est l'un des critères les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celles des bacilles à (Gram -). Elle consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi quinonique rose violacé. (Jean et Guy,1996).

➤ Technique

Ce test est réalisé à l'aide des disques d'oxydase de marque « HIMEDIA® ».

- Imprégner le disque par une goutte d'eau distillée stérile ;
- Prendre une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la déposer sur le disque.

➤ Lecture

- ✓ Apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes donc la bactérie possède le cytochrome oxydase (**oxydase+**)
- ✓ Autre couleur , la bactérie est **oxydase-**.



Figure II.22 : Test d'oxydase

5.4. Test TSI

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

a. Mode opératoire

- A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemercer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures.

b. Lecture

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

➤ **La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :**

(1) Fermentation de glucose

- culot rouge : glucose non fermenté
- culot jaune : glucose fermenté

(2) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

(3) Production de gaz

- apparition de gaz dans le culot.

(4) Formation d'H₂S

- formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

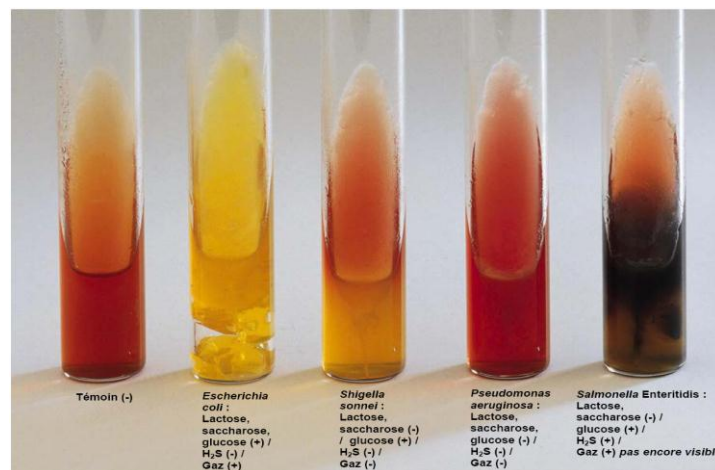


Figure II.23 : Test de TSI

5.5. Identification par la méthode des galeries API 20

Principe

Les galeries API 20 comportent 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne d'une densité adéquat qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

Dans notre étude différentes galeries API ont été utilisées pour l'identification des différents germes à titre d'exemple : API 20 STREP pour les streptocoques, API20 STAPH pour les staphylocoques et API 20 E pour les entérobactéries dont les coliformes et salmonelles et qui peut être utilisée pour l'identification des non entérobactéries (Vibrio, Pseudomonas). Le mode opératoire détaillé est consigné en **annexe II**.

RÉSULTATS ET
DISCUSSION

III

Dans le cadre de notre étude, l'échantillonnage a été effectué à raison de trois sorties pour une période allant de mois de Mars au mois de Mai.

Pour l'analyse de l'eau, au total dix sept stations ont été choisies dont six au niveau du port, six dans la partie Est et cinq dans la partie Ouest .

En ce qui concerne les sédiments, nous avons optés pour trois stations pour l'analyse granulométrique et bactériologique. Quand aux oursins nous les avons prélevés au niveau du port (04 stations).

Les échantillons ont fait l'objet des analyses physico-chimiques et bactériologiques (eau, sédiments et oursins), et les taux obtenus ont été comparés aux normes Algériennes en vigueur (JORA ,1993). (Annexe V).

1. Résultats d'analyses des eaux de surface

1.1. Variation des paramètres physico-chimiques

Suite à un problème technique, les mesures des paramètres physico-chimiques n'ont pas pu être effectuées au niveau des stations S6, S11 et S 13.

Un tableau présentant les valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques est consigné en **annexe V**. Ces paramètres ont été pris à 30cm de la surface de l'eau.

1.1.1 La température

La température en surface varie entre 19,2 C° et 20,8 C° avec une moyenne de 19,9c° et écart type de 0,49.

La valeur minimum est observée au niveau de port (S12) et la valeur maximale est observée au niveau de la partie Est (S9).(figure III.1).

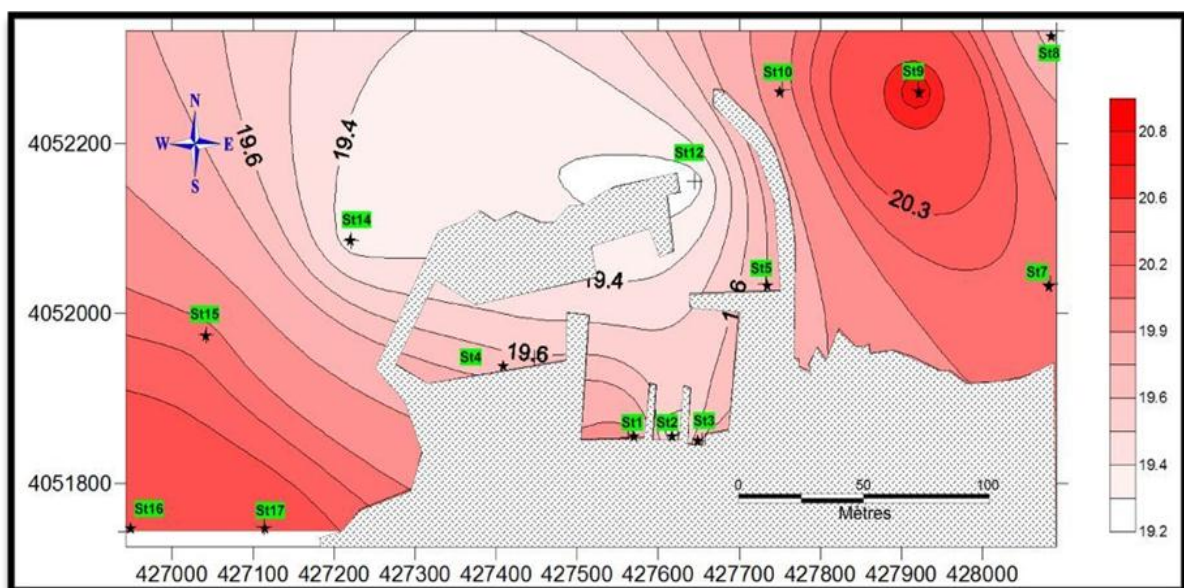


Figure III.1. Variation des moyennes de la température en fonction des stations(Tazi Touahir,2011)

En général, c'est au niveau du port que les valeurs les plus basses sont relevées, ceci peut être expliqué par le fait que c'est un milieu fermé et qu'il n'y a pas beaucoup de brassage des eaux, elles sont sous l'influence directe de la température de l'air, elles sont saisonnières et restent inférieures aux normes algériennes (30 °C). (**figure III.2**).

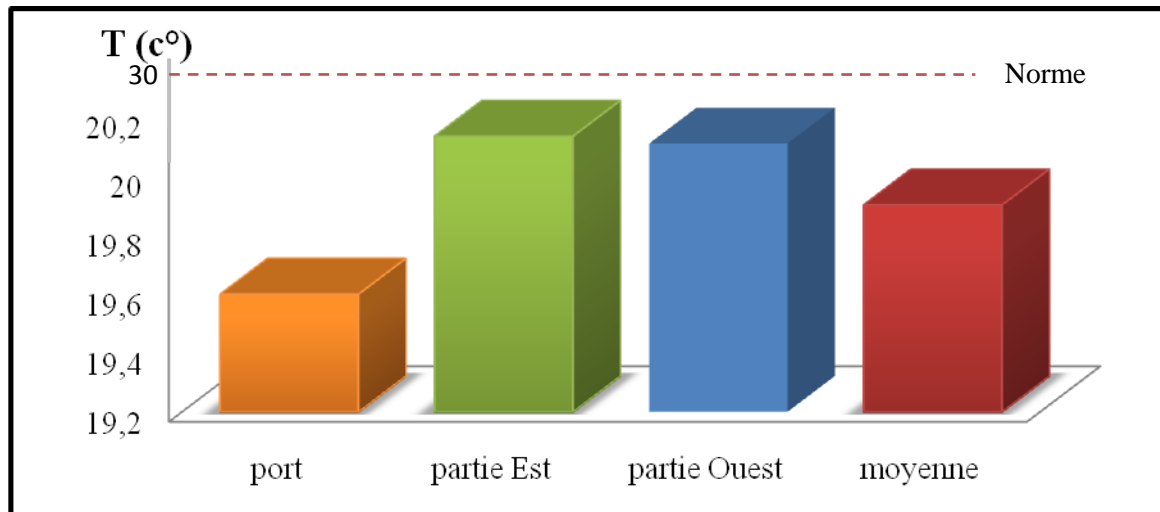


Figure III.2. Variation des moyennes de la température par rapport les zone

Les taux élevés de température enregistrés au niveau de la partie Est et Ouest sont probablement sous l'influence de celles des effluents rejetés à haut débit.

1.1.2 La salinité

Les valeurs de la salinité mesurée varient entre 34,95 et 36,35 PSU avec une moyenne de 35,87 PSU et un écart type de 0,49

La salinité des eaux méditerranéennes, est comprise entre 37.8 et 39.39 ‰, (**Taleb , 1970 in bachouche , 2010**). Les faibles taux de salinité peuvent s'expliquer par la l'apport intensif des égouts en eau douce surtout durant la deuxième sortie (Mai) où il y avait une forte précipitation.

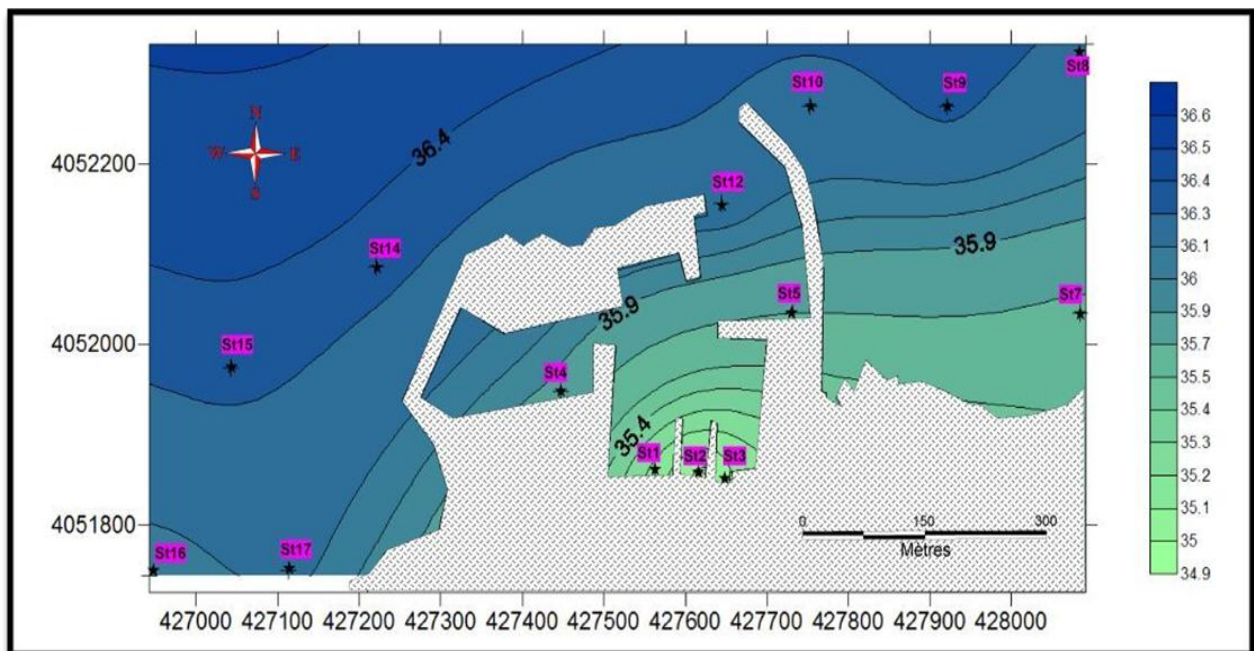


Figure III.3. Variation des moyennes de la salinité en fonction des stations(Tazi et Touahir,2011)

La basse salinité au niveau du port revient aux apports des eaux de pluies et des eaux usées (urbaines et l’eau provenant de la vidange des bateaux et du déballastage) et à la nature fermée du port et probablement aussi à la faible évaporation des eaux stagnantes du port durant la période d’échantillonnage.

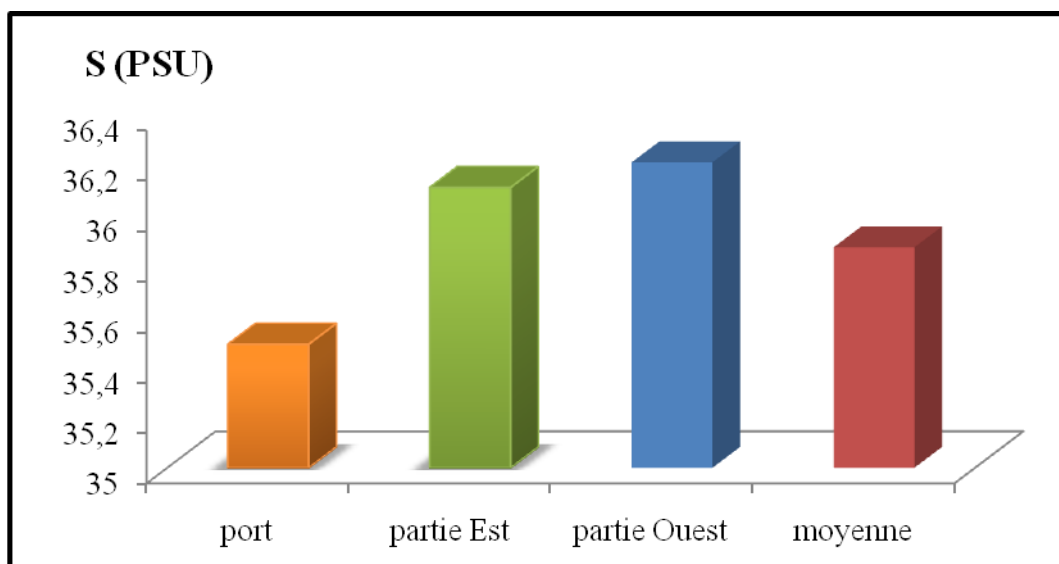


Figure III.4. Variation de la salinité entre les différentes parties

1.1.3 Le potentiel d'Hydrogène

Les valeurs du pH sont comprises entre une valeur maximale de 8.11 et une valeur minimale de 7,96 avec une moyenne de 8.03 et un écart type de 0,04.

La valeur moyenne du pH (8,03) est inférieure à celle de l'eau de mer qui est de 8,3 (Aminot et Kérouel, 2004), mais elle reste conforme aux normes algériennes.

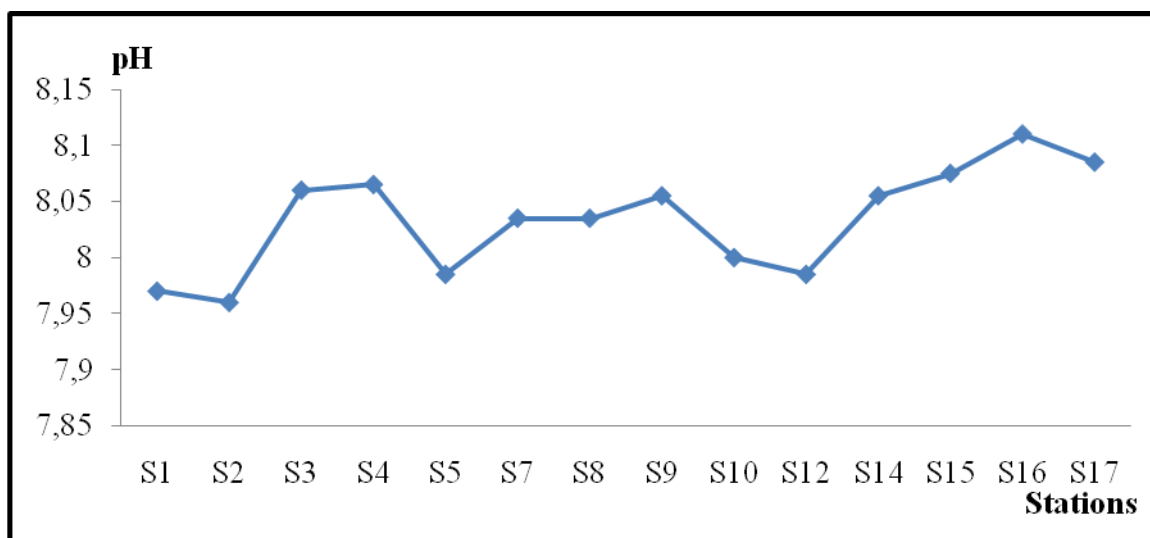


Figure III.5. Variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations.

Ces valeurs moyennes du pH sont plus ou moins homogènes sur l'ensemble des stations. Cependant les plus faibles valeurs sont observées au niveau du port, dues aux rejets d'eaux usées et à une acidification du milieu provoquée par le processus de la dégradation de la matière organique. Le renouvellement des eaux qu'est assez long, contrairement aux deux parties Est et Ouest qui présentent un fort mélange des eaux de rejet avec l'eau de mer. (figure III.6).

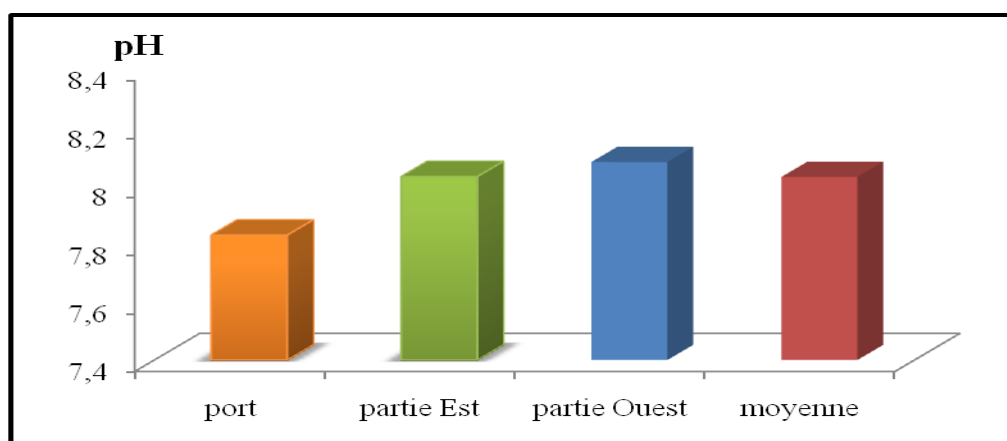


Figure III.6. Variation de la salinité entre les différentes parties

1.1.4 Conductivité

La conductivité varie entre 53,1 et 55,1ms/cm, dont la moyenne et l'écart type sont de 54,5ms/cm et 0,73 respectivement.(figure III.7).

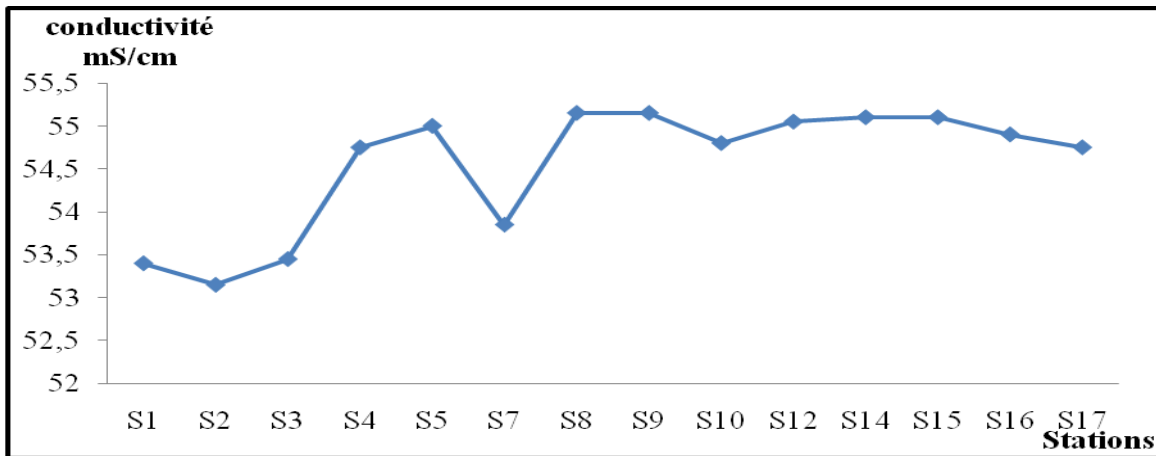


Figure III.7. Variation des valeurs moyennes de la conductivité en fonction des stations.

Plus une eau est salée, mieux elle conduit le courant, La courbe ci-dessous montre la correspondance conductivité/salinité, nous remarquons que l'évolution de la conductivité est proportionnelle à la salinité. (figure III.8).

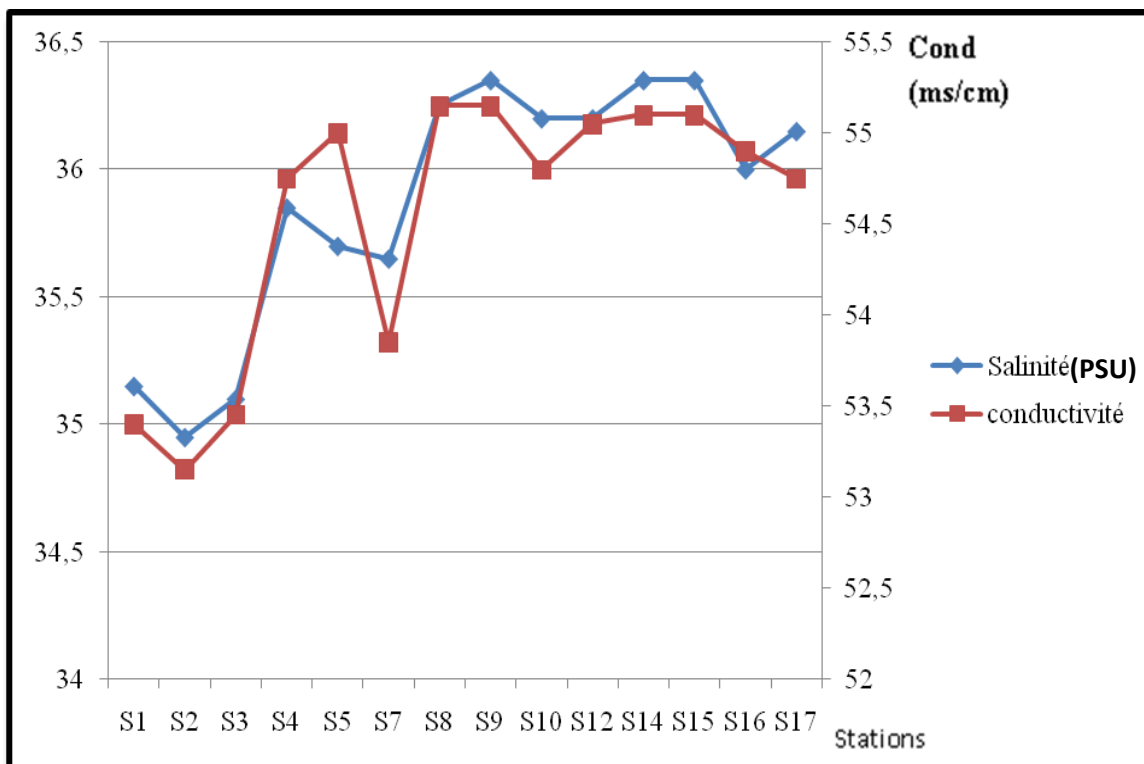


Figure III.8. Variation des valeurs moyennes de la salinité et de la conductivité en fonction des stations

1.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO₅)

Faute de moyens et de temps, seules quelques stations ont fait l'objet de cette analyse. Il s'agit de St2, St3, St5, St9 et St15. Un tableau présentant les valeurs moyennes de DBO₅ est consigné en (annexe V).

Pour les cinq stations, la DBO₅ est inférieure à la norme de rejet des eaux usées ou épurées en mer (15mg/l), néanmoins elle est non négligeable pour nos échantillons. Celle-ci devrait être nulle. La DBO₅ est un important indice utilisé pour quantifier la charge polluante organique biodégradable dans l'eau.

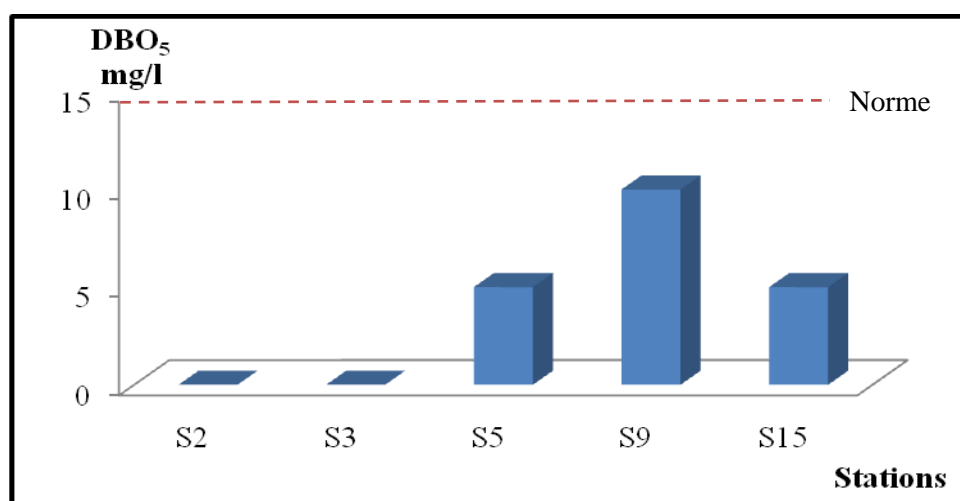


Figure III.9. Variation de la valeur moyenne de la DBO₅ en fonction des stations

1.1.6. Matières en suspension (MES)

Les concentrations en MES au niveau des stations (St6, St11 et St 13) n'ont pas pu être effectuées. Un tableau présentant les valeurs moyennes de MES et MO est consigné en annexe V.

Les valeurs de la MES varient entre 9,7 et 65,4 mg/l avec une valeur moyenne de 33,08 mg/l et un écart type de 19,65.(figure III.10).

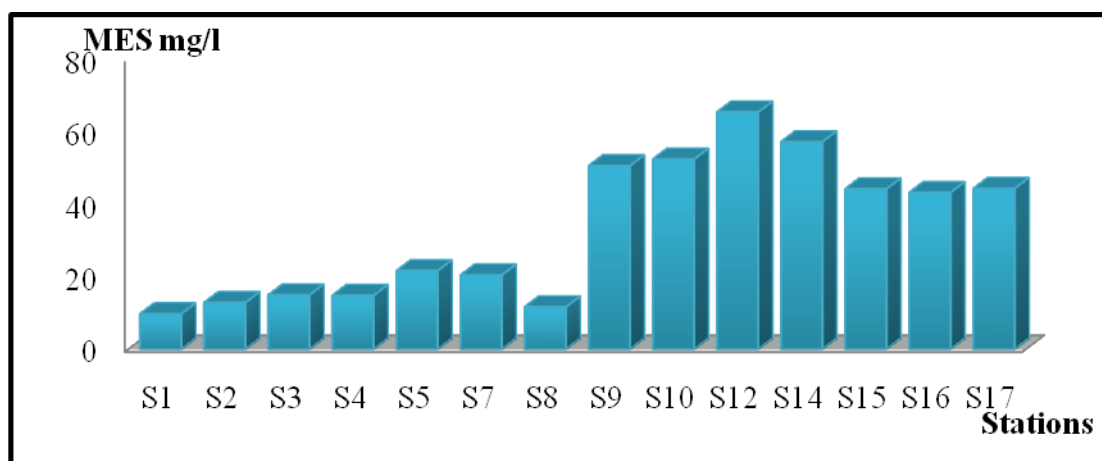


Figure III.10. Variation des moyennes de MES en fonction des stations.

La teneur élevée au niveau de la station 12 est due à la circulation continue des bateaux (passe d'entrée) qui agitent et remettent en suspension les sédiments décantés, à l'inverse de la station 1.

La partie Ouest a une charge élevée (47,23 mg/l), cela est du probablement à la présence d'un rejet. Par contre le port connaît une faible teneur en MES puisque ses eaux sont calmes et stagnantes à l'exception de la passe d'entrée.

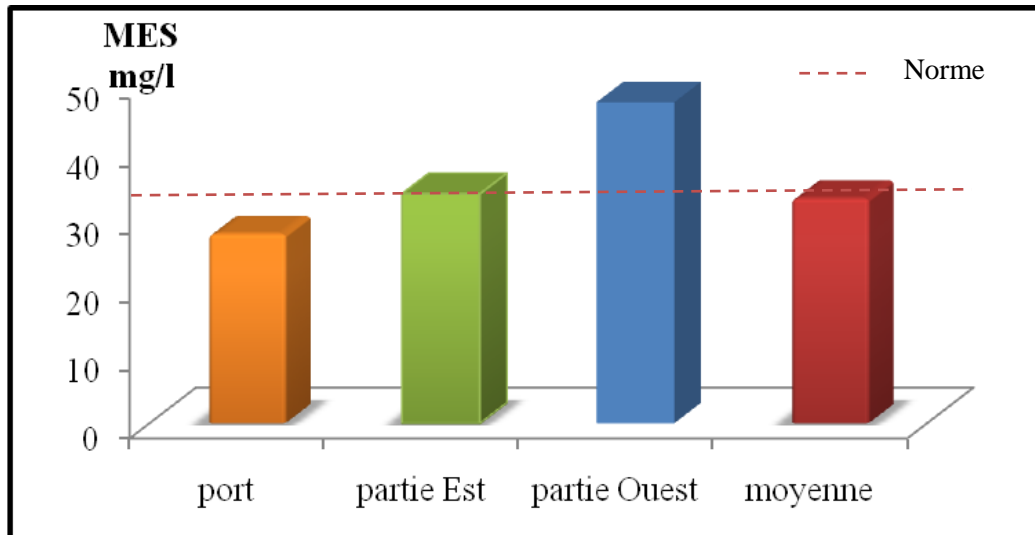


Figure III.11. Variation de MES entre les différentes parties

1.1.7. Matière organique particulaire(MOP)

les pourcentages de la matière organique particulaire varient entre un minimum de 2.74% (S17) et un maximum de 10.59 % au niveau de S9 avec une moyenne de 6.24 et un écart- type de 2.31. (figure III.12).

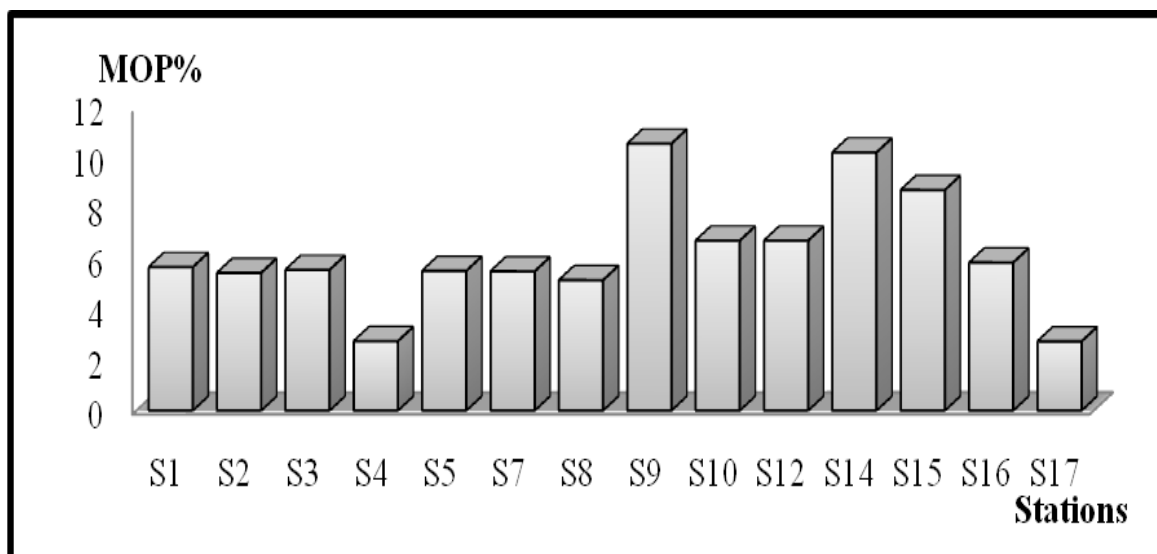


Figure III.12. Variation des moyennes des taux de matières organique en fonction des stations.

Les taux élevés ont été observés au niveau de la partie Est et Ouest ceci peut être expliquer par le fait que la matière organique particulaire est d'origine continentale soit sous forme de débris figurés soit sous forme d'un complexe argilo-humique ainsi la biomasse bactérienne.(Cauwet, 1985). Dans les zones côtières qui sont soumises à des rejets, cette fraction devient plus importante.(Aminot et Chaussepied, 1983).

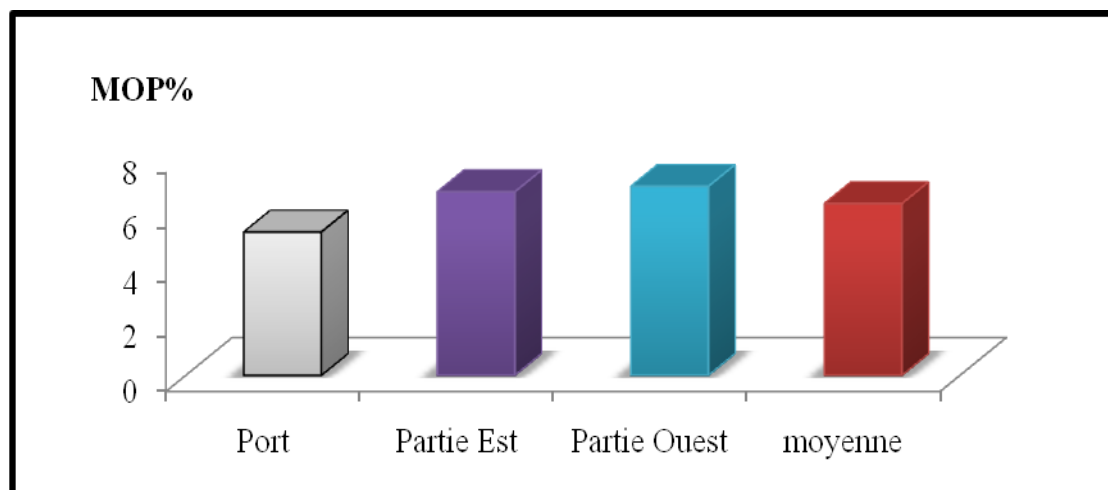


Figure III.13. Variation des moyennes des taux de matières organiques en fonction des parties.

1.1.8. Variation des sels nutritifs :

Le tableau ci-dessous montre les concentrations minimales, maximales, moyenne et écart type des sels nutritifs dans les eaux de surface de Cherchell. Un autre tableau présentant les valeurs moyennes des sels nutritifs est consigné en (annexe IV).

Tableau III.1. Valeurs extrêmes et moyennes et l'écart type des sels nutritifs des eaux de surface de Cherchell.

	[NO ₃ ⁻] (μmol/l)	[NO ₂ ⁻] (μmol/l)	[NH ₄ ⁺] (μmol/l)	[PO ₄ ⁻³] (μmol/l)	[SiO ₂] (μmol/l)
Minimum	0,008	0,04	2,14	0,23	0,95
Maximum	1,34	0,31	15,07	1,84	9,99
Moyenne	0,37	0,11	4,85	0,47	5,85
Ecart type	0,46	0,09	3,56	0,46	2,16

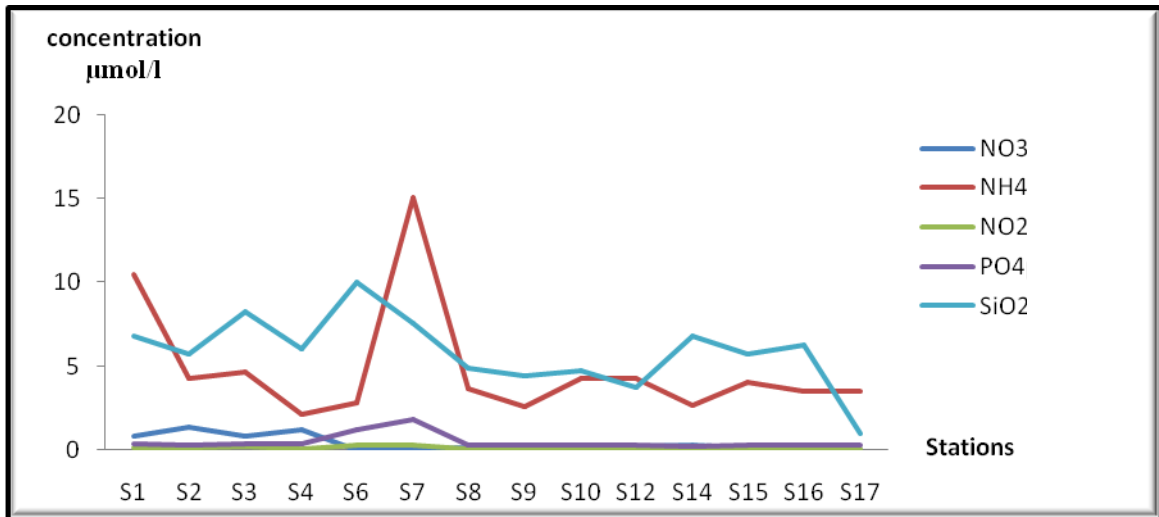


Figure III.14. Variation moyenne des sels nutritifs dans les eaux de surface

D’après la figure ci-dessus, nous constatons que les concentrations sont élevées en ammonium $[NH_4^+]$ et en orthosilicate $[SiO_2]$, à l’inverse de celles des nitrates $[NO_3^-]$, des nitrites $[NO_2^-]$ et des orthophosphates $[PO_4^{3-}]$ qui sont faibles.

Les teneurs élevées en ammonium peuvent être dues soit au phénomène d’ammonification par l’abondance de la matière organique et azotée, soit à la réduction des nitrites ou des nitrates (la dénitrification), ce qui explique les faibles taux enregistrés de ces derniers.

1.1.8.1. Variations des nitrates :

Les nitrates varient entre $[0,008 - 1,34]$ avec une moyenne de $0,37 \mu\text{mol/l}$ et un écart type $0,46 \mu\text{mol/l}$.

Les concentrations les plus élevées en nitrates ont été observées au niveau des stations du port (S1, S2, S3 et S4), ceci peut être dues aux activités anthropiques et à l’oxydation des matières azotées par les bactéries. Rappelons aussi qu’il existe des rejets au niveau de ses bassins.

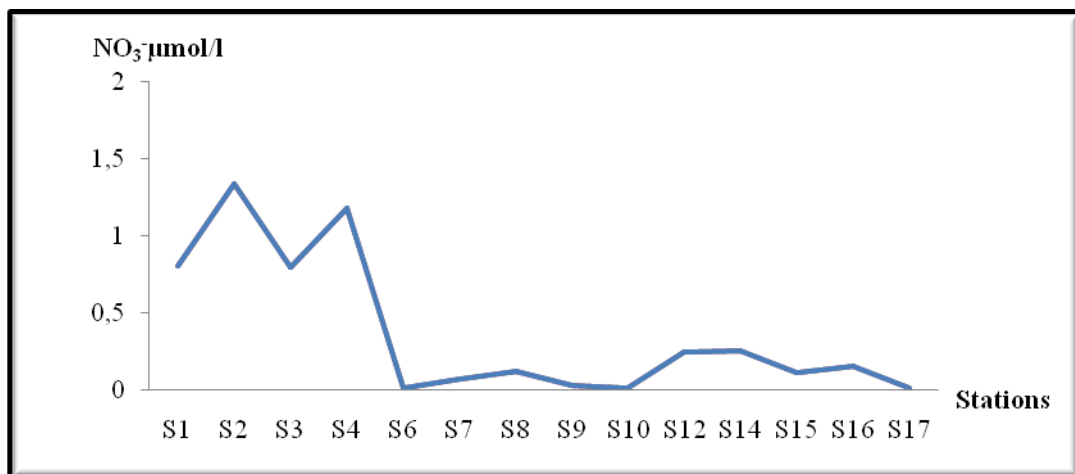


Figure III.15. Variation des concentrations moyennes des nitrates en fonction des stations

Par contre les teneurs ont été faibles dans la partie Est du port (S6, S7, S8, S9 et S10) ,la partie Ouest (S14, S15, S16 et S17) et au niveau de la passe d'entrée (S12) sont peut être dues à une forte activité photosynthétique et à une faible régénération bactérienne.(figure III.15).

1.1.8.2. Variations des nitrites :

Les valeurs de nitrites varient entre [0,04- 0,31] avec une moyenne de 0,11 $\mu\text{mol/l}$ et un écart type 0,09 $\mu\text{mol/l}$.

Les concentrations élevées ont été observé au niveau des stations portuaires (S1, S2et S3) et dans la partie Est (S6 et S7), ceci s'explique par l'oxydation de l'ammonium originaire certainement de la matière organique issue de la charge polluante de ces eaux usées des rejets près de ces stations (figure).

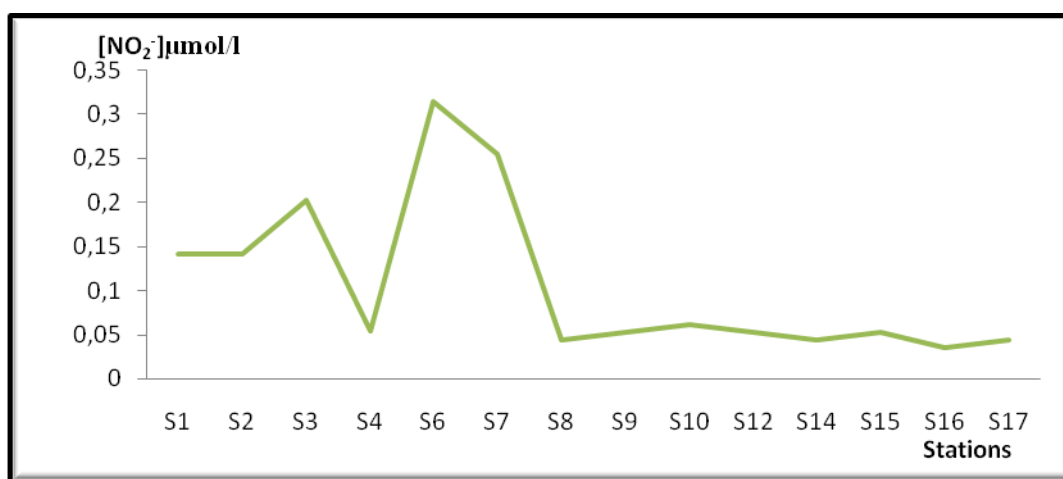


Figure III.16. Variations des concentrations moyennes des nitrites en fonction des stations

Par ailleurs, les teneurs en nitrites sont faibles et relativement homogènes au niveau des stations S8, S9 et S10 (partie Est), S12 (passe d'entrée) et S14, S15, S16 et S17 (partie Ouest).C'est peut être du au fait que cet ion est un élément intermédiaire dans la réaction de dénitrification.

1.1.8.3. Variations de l'ammonium :

Les valeurs de l'ammonium sont comprises entre la valeur minimale 2,14 $\mu\text{mol/l}$ au niveau de la station (S4) et la valeur maximale 15,07 $\mu\text{mol/l}$ au niveau de la station (S7) avec une moyenne de 4,85 $\mu\text{mol/l}$ et un écart type de 3,56.

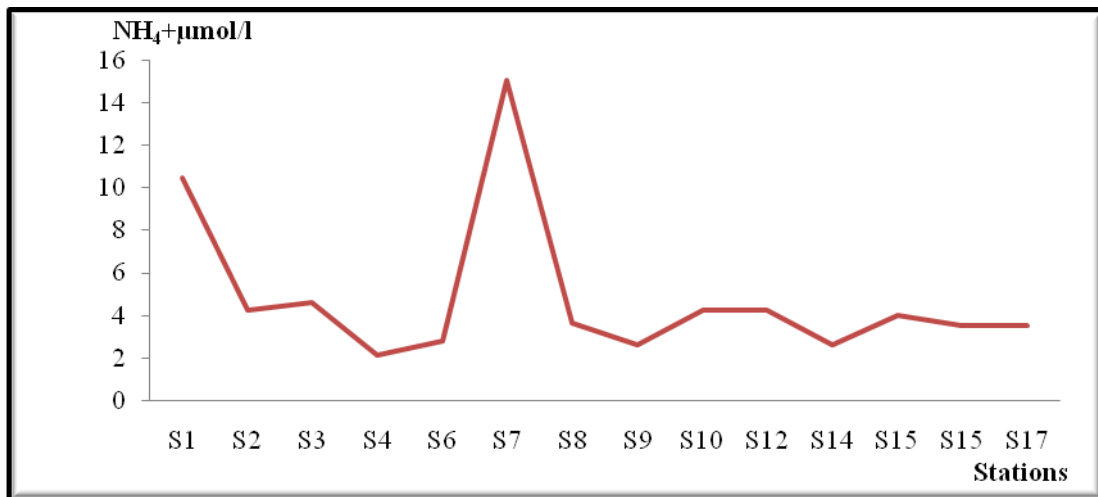


Figure III.17. Variation des concentrations moyennes de l’ammonium en fonction des stations

Les concentrations les plus élevées ont été enregistré au niveau des stations S7 et S1, qui sont à proximité des rejets. (**figure III.17**).

Les faibles teneurs dans la partie Est (S8 et S9), Ouest et la passe d’entrée peuvent être expliqué par le phénomène de dilution.

D’après Aminot et Chaussepied (1983), dans les eaux côtières non polluées, les concentrations sont généralement inférieure à 1 µmol /l, ce qui n’est pas le cas de la zone d’étude surtout Lorsque l’on se rapproche des émissaires urbains où les concentrations peuvent atteindre plus d’une dizaine de µmol/l. Dans ces conditions l’ammonium devient alors un bon traceur de la pollution .

1.1.8.4. Variations des orthophosphates :

Les concentrations en orthophosphates varient entre [0.23-1,84] avec une moyenne de 0.47µmol/l et un écart type 0,46.

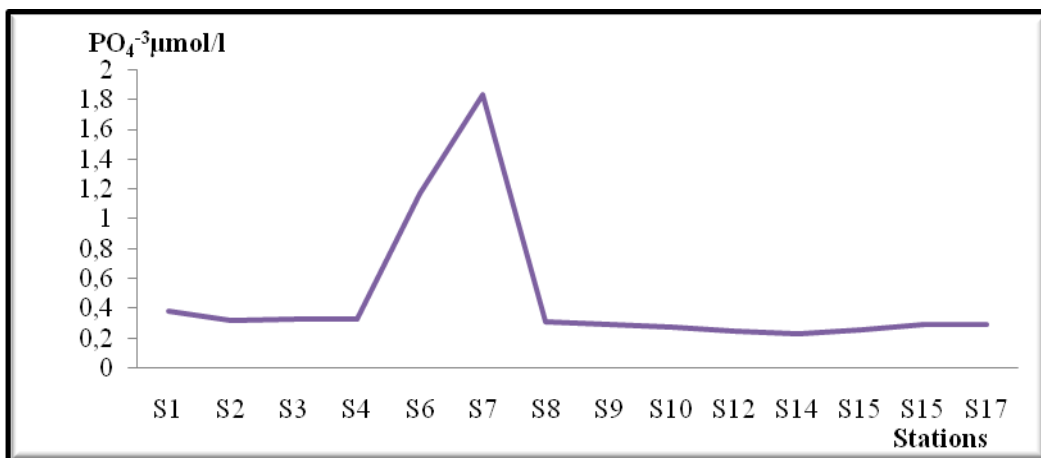


Figure III.18. Variation des concentrations des orthophosphates en fonction des stations

Les teneurs les plus importantes sont enregistrées au niveau de la partie Est à coté du port de Cherchell (S6 et S7), cela s'explique par le fait que les orthophosphates proviennent de la dégradation de la matière organique ou des polyphosphates utilisés pour le traitement des eaux ou comme adjuvants actifs dans les détergents.

Par contre dans le port, la passe d'entrée, la partie Ouest, et certaines stations de la partie Est (S8,S9,S10) les valeurs sont homogènes et faibles **(figure III.18)**.

1.1.8.5. Variations des silicates

Les teneurs en silice varient entre 0,95 à 9,99 $\mu\text{mol/l}$, avec une moyenne de 5,85 $\mu\text{mol/l}$ et un écart type de 2,16 $\mu\text{mol/l}$.

Les fortes concentrations sont enregistrées au niveau du port et au niveau des stations S7, S14, S15 et S16 avec un maximum dans la station S6. **(figure III.19)**.

Cette richesse en silice dissoute peut être en relation avec les apports côtiers et celui des rejets et/ou encore avec la dissolution des tests siliciques et la diffusion à partir des sédiments marins **(Houma et al , 2009)**.

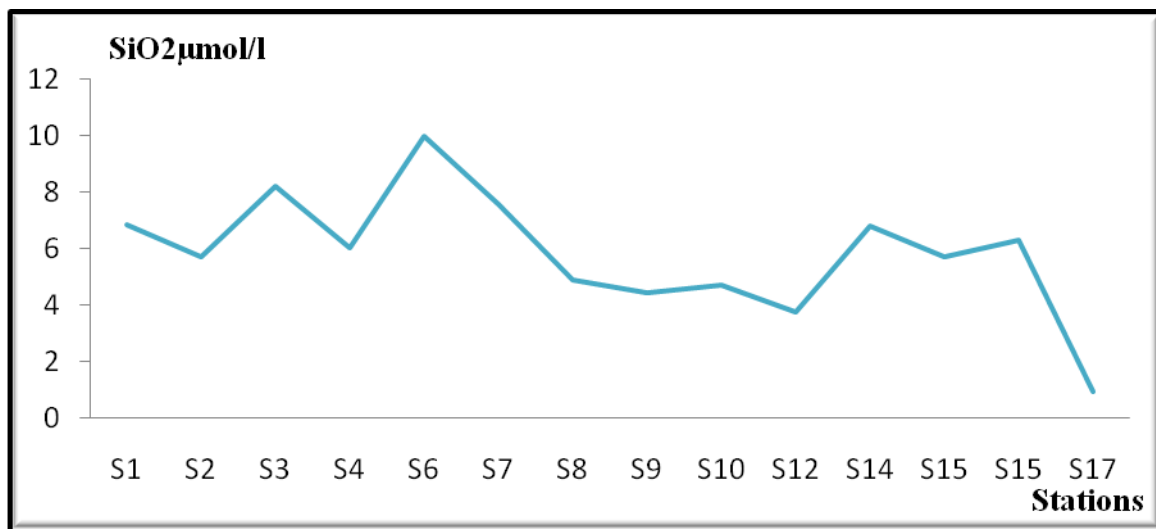


Figure III.19. Variations des concentrations moyennes des silicates en fonction des stations

1.1.9. Chlorophylle *a* et phéopigments:

Les valeurs moyennes de la chlorophylle *a* et des phéopigments sont consignés dans un tableau en **annexe V**.

La mesure de la charge en chlorophylle *a* et en phéopigments est réalisée pour toutes les 17 stations.

La concentration moyenne en chlorophylle *a* a montré une variation allant de 0.04 µg/l à 0.35 µg/l, une moyenne de 0.15µg/l et un écart type de 0.08

Nombreuses stations ont un risque d'eutrophisation avec des concentrations supérieures à 0.1µg/l (1mg/m³) à cause de l'abondance en sels nutritifs et la température caractéristique de cette période favorable au développement du phytoplancton. (Djagoua et al, 2006)

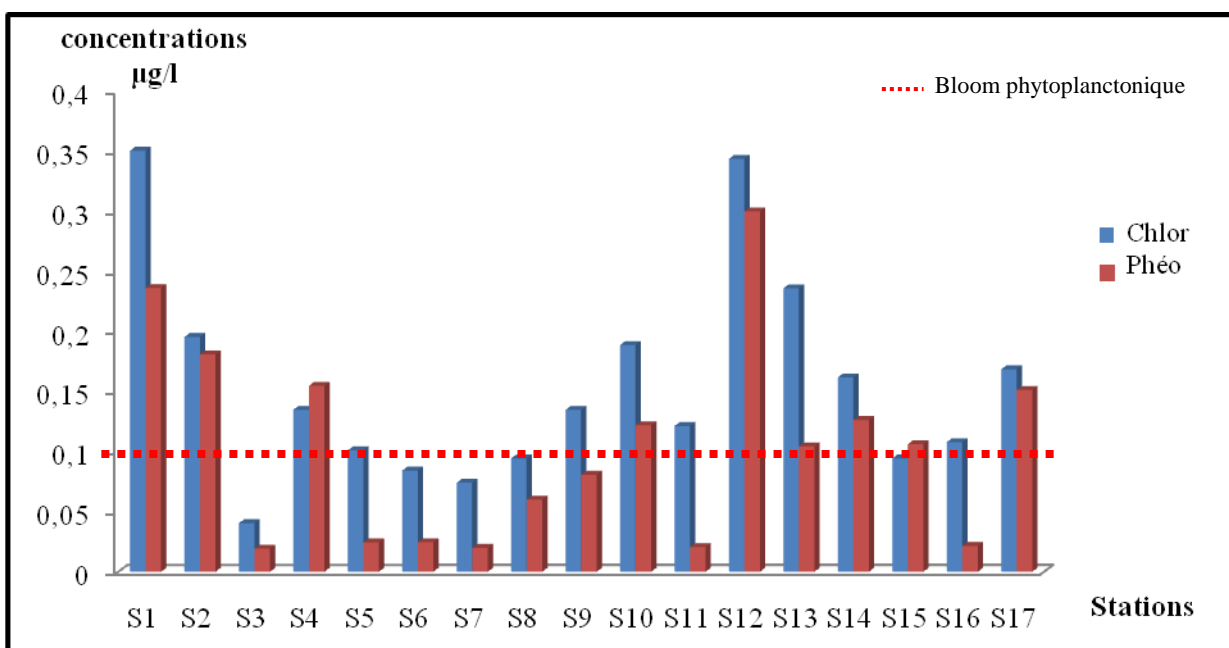


Figure III.20. Variations des moyennes de concentration de la chlorophylle *a* et les phéopigments en fonction des stations.

Pour toutes les stations, la valeur de chlorophylle est supérieure à celle du phéopigments sauf pour les deux stations (St4 et St15). (figure III.20).

1.1.10. Les hydrocarbures dans l'eau

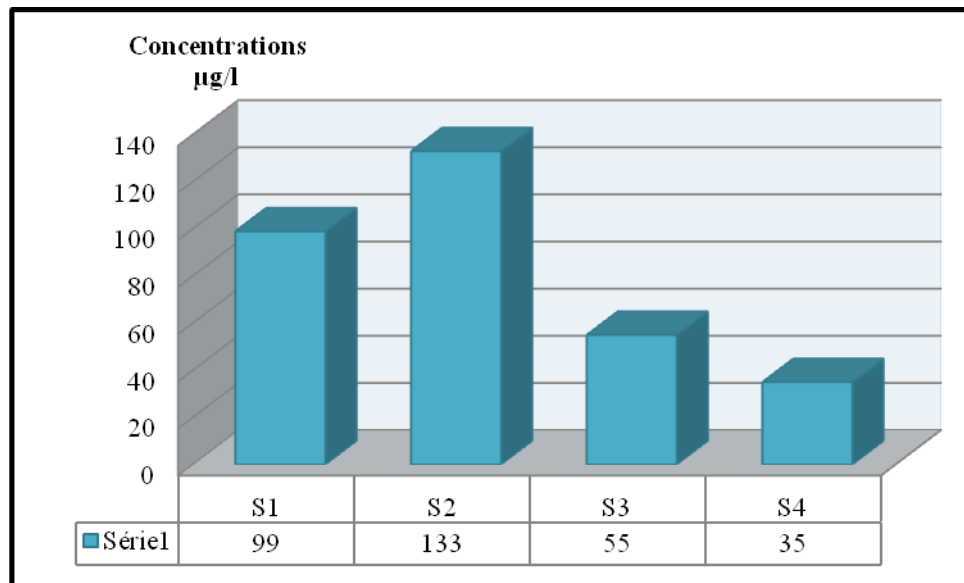


Figure III.21. Concentrations des hydrocarbures totaux dans l'eau en fonction des stations

Les concentrations des hydrocarbures totaux varient entre un minimum 35µg/l au niveau de St4 et un maximum 133 µg/l au niveau de St2 avec une moyenne de 80.5 et un écartype de 44.04.

Les fortes teneurs ont été enregistrés au niveau du port (St1, St2). Ces valeurs traduisent probablement une pollution localisée due à un déballastage récent ou bien à des activités maritimes diverses tels que nettoyage de soute, rejets ou déversement d'huiles usées...etc.

Selon **PNUE 1995**, les analyses effectuées sur les échantillons d'eau prélevés aux différentes stations ont montré qu'elles sont supérieures aux normes de l'eau de mer qui est entre 0-5 µg/l.

1.2. Analyse microbiologique

Un tableau présentant les valeurs des concentrations moyennes des germes recherchés dans l'eau est consigné en **annexe V**.

1.2.1. Résultats de recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans les eaux de surface.

1.2.1.1. Les Coliformes totaux

La charge moyenne en coliformes totaux n'a pas pu être comptabilisée dans la majorité des stations, à l'exception de sept stations qui sont représentées dans la figure ci-dessous.

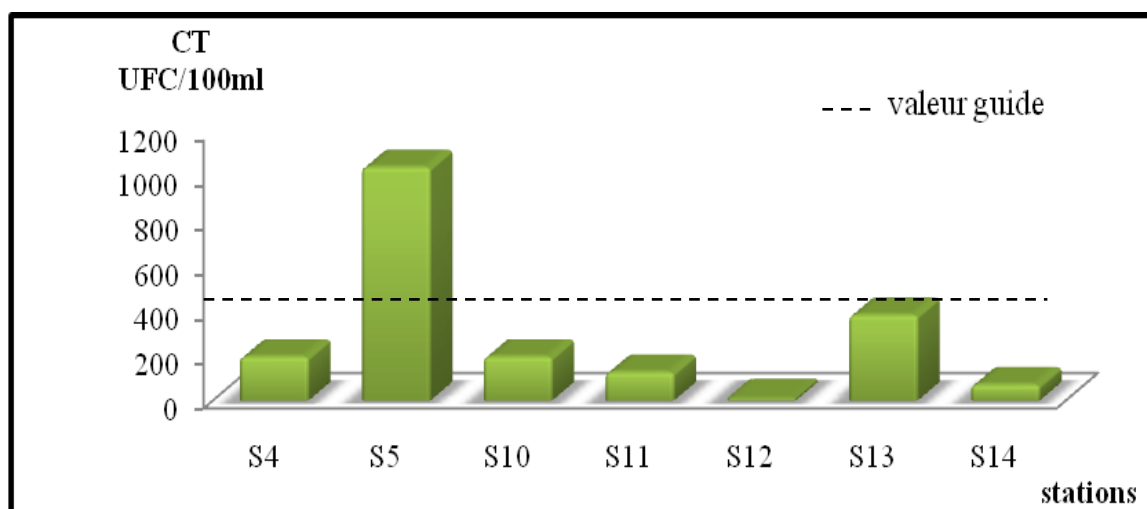


Figure III.22. Variations des concentrations moyennes des Coliformes totaux (CT) en fonction des stations

La concentration moyenne en CT dans ces stations est inférieure à la valeur guide (500 CT/100 ml). (JORA, 1993), sauf pour S5 qui se situe près de la passe d'entrée où nous enregistrons la plus grande valeur. C'est certainement dû à la remise en suspension des particules du fond, lié au déferlement des vagues et au passage des bateaux. (figure III.22).

Quant aux restes stations dont les boîtes présentées des colonies confluentes et indénombrables et cela malgré la série de dilution effectuée. Ces résultats montrent que les concentrations dépassent largement le nombre impératif fixé par l'OMS en 1995 (10000 CT/100ml). Il est à signaler que ces stations sont situées à proximité des rejets.

- ⇒ **Valeurs guide** : caractérise une qualité pour la baignade.
- ⇒ **Valeur impérative** : 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.

1.2.1.2. Les Coliformes thermotolérants « Fécaux »

Dans cette étude, nous avons ciblées les coliformes d'origine fécale dont *E.coli* car c'est l'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien.

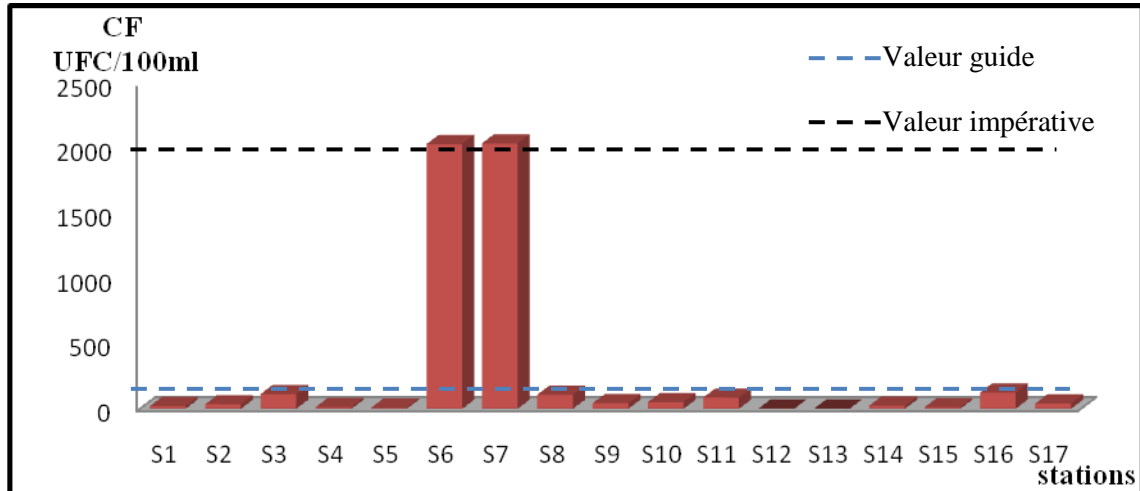


Figure III.23. Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux (CF) en fonction des stations.

Les valeurs moyennes varient entre 02 CF/100 ml au niveau de la station 12 et 2040 CF/100ml au niveau de S6 et S7, Ce dernier taux dépasse la valeur impérative : 2000 CF/ 100 ml (JORA, 1993 et OMS, 1995). Cela apparaît très logique vu la petite distance qui les sépare des deux point de rejets caractérisés par l'apport important des contaminants fécaux. (figure III.23).

1.2.1.3. Les Streptocoques Fécaux

Les streptocoques fécaux sont de bons témoins d'une contamination fécale et d'un manque d'hygiène, ils résistent dans le milieu marin et cela grâce à leurs caractéristiques physiologiques qui leur confèrent une meilleure adaptation par rapport aux autres germes indicateurs.(Alzieu et al., 1999; Gauthier et al., 1991 et WHO, 2003).

La contamination des eaux de surface en streptocoques fécaux au niveau de toutes les statons est inférieure à la valeur guide 100 SF UFC/100ml. (JORA, 1993) . (figure III.24).

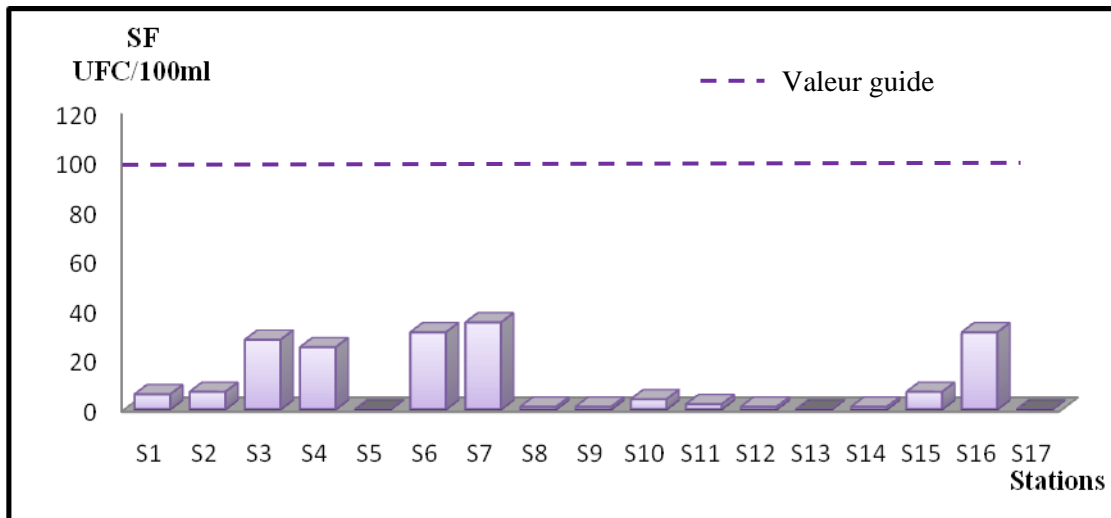


Figure III.24. Variations des concentrations moyennes des streptocoques fécaux (SF) en fonction des stations.

1.2.1.4. Les Staphylocoques

Les staphylocoques sont de bons indicateurs de proximité. Leur présence en grand nombre à coté des coliformes et streptocoques fécaux, rend probable celle des germes pathogènes dont l’isolement est souvent difficile. (Rodier *et al.*, 2005).

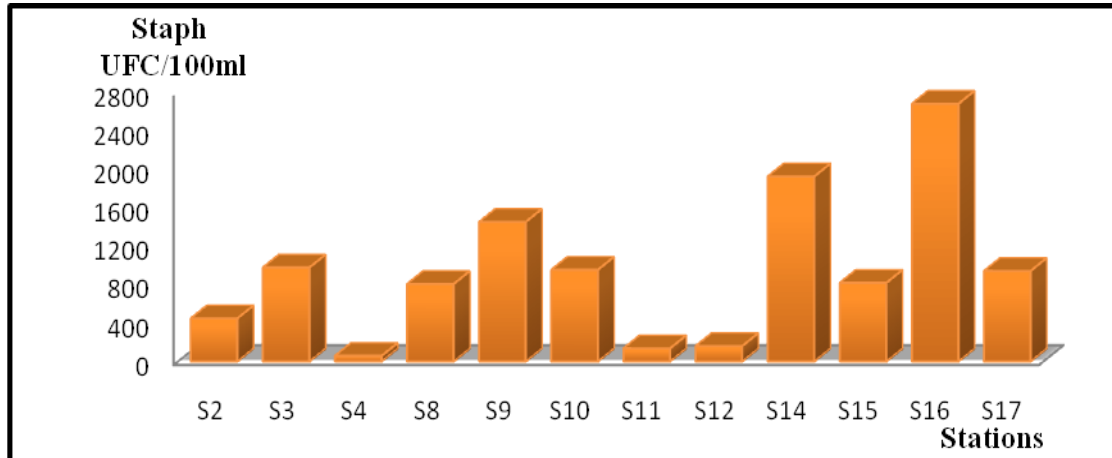


Figure III.25. Variations des concentrations moyennes des Staphylocoques (Staph) en fonction des stations.

Les concentrations moyennes en staphylocoques montrent des fluctuations importantes selon les stations. Pour les stations S1, S5, S6, S7 et S13 dont les boîtes ensemencées sur milieu Chapman représentent des colonies confluentes et indénombrables et cela malgré la dilution des échantillon d’eau de mer, ce qui reflète la richesse de l’environnement marin en micro-organismes.

Les fortes charges se localisent au niveau la partie Ouest (S14, S15 et S17) avec un maximum au niveau de S16, ensuite viennent celles la partie Est (S8, S9 et S10) et enfin celles du port S2 et S3 avec le taux le plus faible au niveau de la station 4 avec 58 Staph /100ml (**figure III.25**).

1.2.1.5. Les Anaérobies Sulfitoréducteurs (ASR)

Ce groupe se compose de microorganismes anaérobies sporigènes, dont le plus caractéristique, *Clostridium perfringens*, est normalement présent dans les fèces, en grand nombre. (**Emmanuel, 2003**).

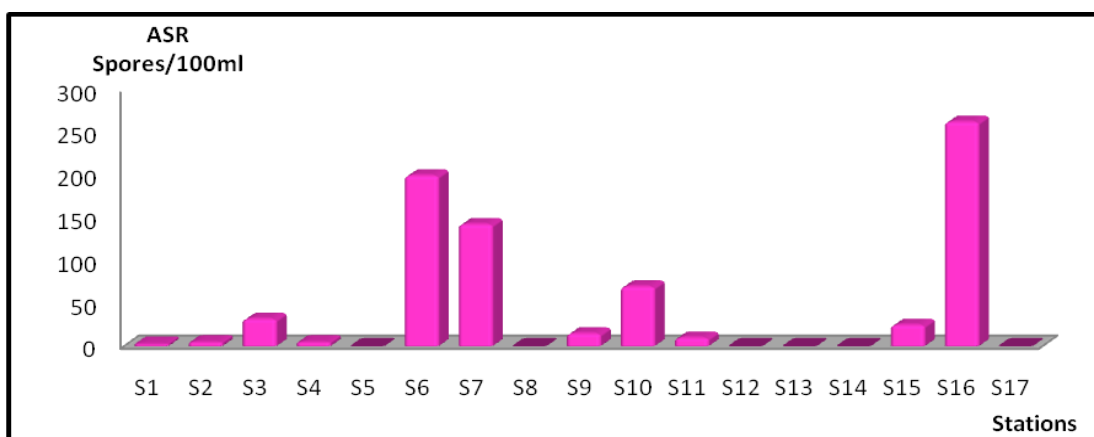


Figure III.26. Variations des concentrations moyennes des Anaérobies Sulfitoréducteurs (ASR) en fonction des stations.

Les résultats du dénombrement des anaérobies Sulfitoréducteurs varient entre 0 et 263 spores/100ml. De fortes concentrations ont été observées aux niveaux de : S6, S7 et avec un maximum dans la station 16 (stations situées près des rejets).(**figure III.26**).

1.2.2. Résultats d'identification des germes pathogènes

A l'aide des différents tests d'identification précités en méthodologie, nous avons identifié un certain nombre de bactéries plus ou moins pathogènes, dont les plus importants, ainsi que les étapes suivies pour leur identification, sont résumés comme suit :

1.2.2.1. Les Salmonelles

Après plusieurs repiquages des colonies suspectées sur milieu SS, à partir des cultures pures, nous avons procédé à l'identification des espèces.

- Coloration de Gram : bacilles Gram(-).
- Test d'oxydase : oxydase (-).
- Le test de la catalase : catalase (-).

- TSI : lactose(-) et saccharose (-), glucose(+) avec gaz(+) et H₂S (+)
- Identification biochimique à l'aide de la galerie API 20 E

1.2.2.2. Les Vibrionacées

Des colonies vertes et jaunes sur gélose TCBS ont fait l'objet d'une identification :

- Coloration de Gram : bacilles incurvés Gram(-).
- Test d'oxydase : oxydase (+).
- Le test de la catalase : catalase (+).
- Identification biochimique à l'aide de la galerie API 20^E.

Tableau III.5. Identification des quelques souches bactériennes

Matrices	stations	Espèces identifiées
Eau	S12	<i>Vibrio alginolyticus</i>
	S14	<i>Vibrio metschnikoveii</i>
	S16	<i>Aeromonas hydrophila.</i>
	S15	<i>Salmonella enterica Arizonae ;</i>
	S1	<i>Salmonella spp</i>
	S7	<i>Salmonella spp</i>
	S1	<i>Streptococcus faecalis</i>
	S2	<i>S. faecalis</i>
	S3	<i>S.faecium</i>
	S16	<i>Staphylococcus aureus</i>
	S9	<i>Staphylococcus spp</i>
	S17	<i>S.aureus</i>
	S14	<i>S.aureus</i>
	S2	<i>Clostridium perfringens</i>
	S3	<i>Clostridium perfringens</i>
S4	<i>Clostridium perfringens</i>	
Sediment	S1	<i>Salmonella enterica Arizonae</i>
Oursins	S5	<i>Salmonella enterica Arizonae ;</i>
	S2	<i>Salmonella enterica Enterica</i>

2. Résultats des analyses des sédiments

2.1. Analyse granulométrique des sédiments

a. Résultats de l'analyse granulométrique

Les résultats de l'analyse granulométrique des sédiments de surface prélevés au niveau des trois stations, sont représentés ci-après dans le tableau.

Tableau III.2. Valeurs des différents indices granulométriques et des quartiles (Q25, Q50, Q75) aux niveaux des trois stations.

Stations	Q25 (μm)	Q50 (μm)	Q75 (μm)	S ₀	SK
S1	60	94	175	1.70	1.18
S2	57	92	170	1.72	1.14
S3	60	92	161	1.63	1.14

b. Interprétation de l'analyse granulométrique

un tableau présentant les diamètres des grains et appellations correspondants à la norme française (AFNOR.1994) est consigné en **annexe V**.

La médiane Q50 :

D'une façon générale, les sédiments sont relativement homogènes et la médiane varie entre 94 μm (station S1) et 92 μm (station S2 et S3), et la moyenne du Q50 est de 93 μm .

Selon Rivière, 1977 c'est le diamètre du grain moyen représentant 50% en poids du sédiment qui permet de définir la nature du sédiment, donc les sédiments sont plutôt dominés par des sables fins.

Le 1er quartile Q25 :

Les valeurs du Q25 varient entre 57 μm au niveau de la station S2 et 60 μm au niveau de S1 et S3 avec une moyenne du Q25 est de 59 μm .

Le 2ème quartile Q75 :

Dans les trois stations, les valeurs du Q75 varient entre 161 μm (S3) et 175 μm (S 2), La moyenne du Q75 est de 169 μm .

Indice de classement Sorting de Trask (S_0) :

Les valeurs de S_0 dans les trois stations varient entre [1.63-1.72] avec une moyenne de S_0 qui est égale à 1.68. D'après la classification de Sorting de Trask (**annexe III**) les sédiments sont bien classés.

2.1.1. Résultats et discussion de l'analyse de la fraction pélitiques**a. Résultats de l'analyse de la fraction pélitiques**

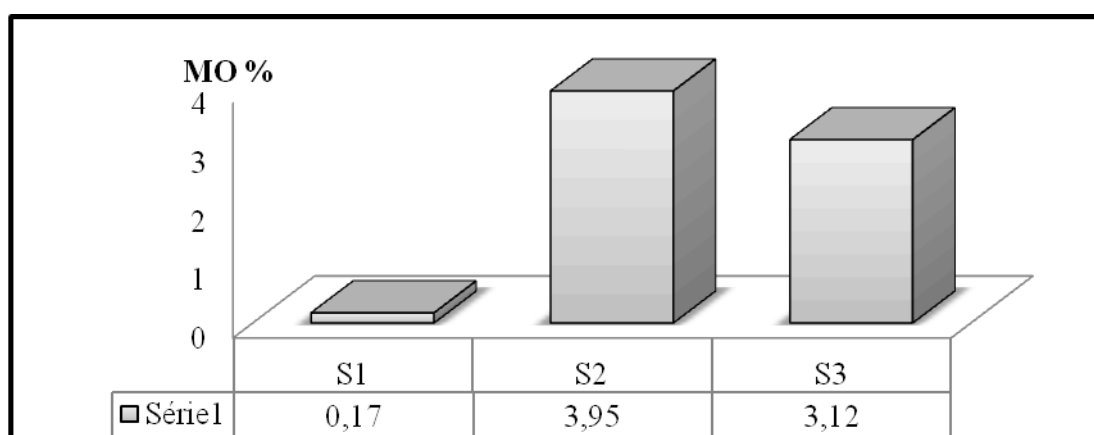
Les résultats de l'analyse de la fraction pélitiques dans les trois stations sont représentés dans le tableau.

Tableau III.3 : Taux de pélites dans les trois stations de Cherchell.

Station	Taux de pélites(%)
S1	1.95
S2	1.22
S3	3.79

b. Interprétation des résultats de l'analyse de la fraction pélitiques

Le pourcentage des pélites s'échelonne entre 1.95% (S1) et 3.79% (S3). nous remarquons que les taux de pélites au niveau de trois stations sont assez faibles. Ces taux faibles sont dus aux forts gradients de courant (stations à l'extérieur du port).

2.1.2. La matière organique dans le sédiment**Figure III.27.** Variation du taux de matières organiques dans les sédiments en fonction des stations.

Les pourcentage de la matière organique dans les trois stations varient entre un minimum de 0.17 % et maximum de 3,95 % avec une moyenne de 2.41 et un écart type de 1.99. (**Figure III.27**) Ces taux sont faibles par rapport à ceux obtenus dans l'eau ceci peut être expliquer par le fait de la charge des bactéries qui dégradent la matière organique dans ces stations.

D'après **Chamley 1987**, les teneurs dépassant 1% sont considérées pour la mer Méditerranée comme très élevées.

2.2. Evaluation des paramètres bactériologiques des sédiments

La zone de Cherchell (port, partie Est et Ouest) reçoit des eaux usées d'origine urbaine. Ces rejets, contiennent un grand nombre de bactéries, dont certaines peuvent être pathogènes pour l'homme.

À leur arrivée en mer, une partie des microorganismes des eaux usées est diluée dans la colonne d'eau tandis qu'une autre partie, fixée aux particules, se dépose dans les sédiments.

Trois stations ont été choisies pour l'analyse bactériologique des sédiments, une au niveau du port (passe d'entrée) et deux autres à l'extérieur l'une se situe dans la partie Est et l'autre dans la partie Ouest.

2.2.1. Résultat de recherche et estimation des germes indicateurs de pollution

2.2.1.1. Coliformes totaux

L'évaluation de la qualité bactériologique des sédiments a été réalisée par la méthode de fermentation en tubes multiples nommée aussi la méthode du nombre le plus probable (NPP).

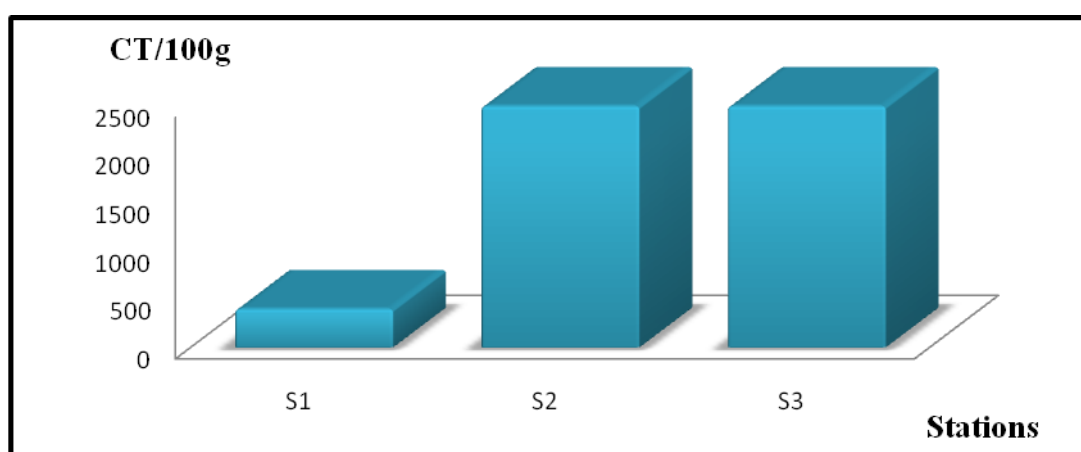


Figure III.28. Variations des concentrations des coliformes totaux (CT) dans les sédiments en fonction des stations.

D'après l'histogramme ci-dessus on constate que la concentration la plus élevée a été enregistré au niveau de S2 et S3 (2500 CT/100g). Ces deux stations se localisent respectivement dans la partie Est et Ouest où on a trouvé les taux les plus élevés en Coliformes totaux dans l'eau.

Alors la valeur la plus faible est relevée au niveau de la passe d'entrée (S1) qui correspond à la station S12 (point de prélèvement des eaux de surface) où on a enregistré une concentration qui est égale à 13 UFC/100ml.

2.2.1.2. Coliformes fécaux

Au niveau de S1 et S2 la concentration en Coliformes fécaux est égale à 0 bactérie /100g, par contre au niveau de la station 3, on a enregistré un taux élevé soit 2500 CF/100g qui d'ailleurs égale à celle des CT. Cela nous amène à conclure la totalité des CT dénombrés au niveau de S3 sont des coliformes thermotolérants (**figure III.29**).

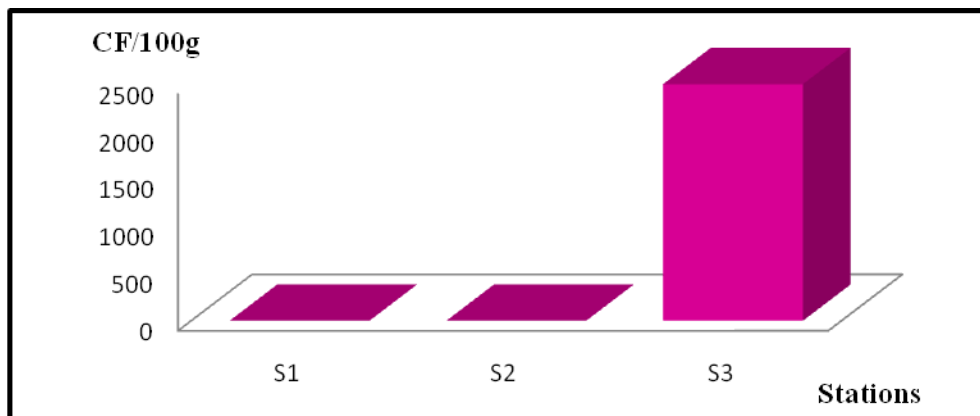


Figure III.29. Variations des concentrations des coliformes fécaux (CF) dans le sédiment en fonction des station.

2.2.1.3. Streptocoques fécaux

Même observations sont rapportées en ce qui concerne les deux stations (S2 et S3) qui relèvent la charge en Streptocoques fécaux la plus élevée, ce qui apparaît logique par le fait que la pollution est très importante au niveau de ces points de prélèvement et aussi du fait qu'ils sont résistants et supportent les grandes variations de pH. (**figure III.30**).

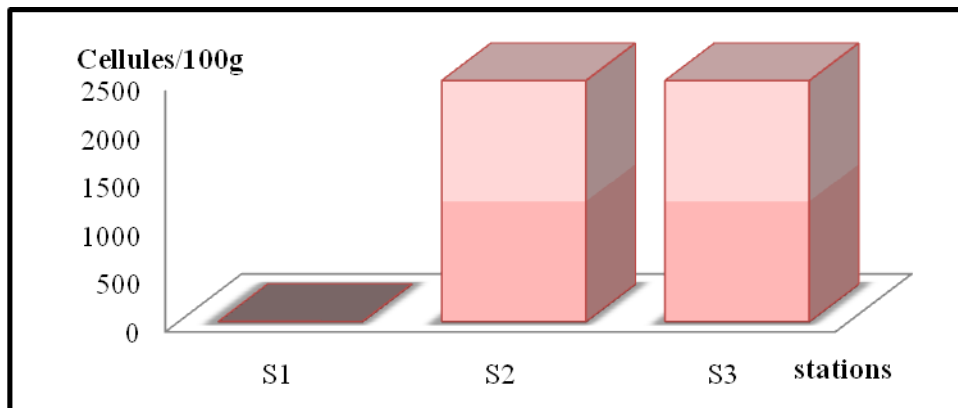


Figure III.30. Variation des concentrations des streptocoques fécaux (SF) dans les sédiments en fonction des stations.

2.2.1.4. Dénombrement des anaérobies sulfitoréducteurs (ASR) au niveau des sédiments

Aucune spore de ASR n'a été trouvée au niveau des sédiments des trois stations, on pourrait l'expliquer en partie que la forme sporulée étant légère, flotte au lieu de s'adsorber aux fines particules.

2.2.1.5. Salmonelles

Après enrichissement et ensemencement sur milieu SS, des colonies roses sont identifiées. Ces dernières sont des colonies typiques et caractéristiques des salmonelles. Par conséquent, il y a présence de salmonelles dans 100g de sédiments analysés.

3. Evaluation des paramètres bactériologiques des oursins

Dans notre étude nous avons utilisé les oursins comme indicateur de pollution des eaux littorales. Ils ingèrent le phytoplancton, base essentielle de leur nourriture mais concentrent également dans leur tractus digestif et leurs tissus, les polluants chimiques et les microorganismes présents dans le milieu environnant.

Les germes recherchés sont:

- Coliformes totaux et fécaux,
- Streptocoques fécaux
- Staphylocoques
- Anaérobies sulfitoréducteurs (ASR)
- Levures et moisissures
- Salmonelles

Les taux moyens des germes recherchés sont consignés dans le tableau ci-après.

Tableau III.4. concentrations moyennes/100g de chair + liquide du système aquifère.

Germes/stations	CT	CF	SF	Staph	Clostridium	Moisissures
S1	83000	4000	26000	68000	30000	69000
S2	67000	6000	5000	450000	47000	26000
S3	44000	4200	1000	59000	4000	5000
S4	0	0	0	6000	1000	1000

Au regard du tableau, les oursins récoltés au niveau du port sont très contaminés et bien sûr impropre à la consommation. Les concentrations en ces germes au niveau de la chair sont énormément élevées par rapport à celles obtenues dans l'eau où ils sont prélevés. Ceci s'explique par le fait que les oursins sont des excellents bioaccumulateurs de pollution. Rappelons aussi que ces stations sont situées au niveau du port, au niveau des bassins où il a été signalé la présence de rejets des eaux résiduaires. De plus, on a signalé la présence d'une salmonelle dans 25g de chair ce qui confirme la contamination du milieu.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'impact des déversements des eaux résiduaires sans aucun traitement préalable sur la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de Cherchell.

A cet effet, trois matrices ont été étudiées. Il s'agit des eaux de surfaces, des sédiments et des oursins qui ont été utilisés comme indicateurs de pollution.

Sur 17 stations de prélèvement d'eau, 6 ont effectués au niveaux de port, 6 autres au niveau de la partie Est et enfin 5 au niveaux de la partie Ouest, L'analyse des paramètres physico-chimiques a permis de faire les constatations suivantes:

- Le potentiel d'hydrogène et la température mesurés in situ restent conforme aux normes Algérienne (**JORA, 2006**).
- Par contre, la salinité est faible par rapport à celle de la méditerranée, ceci est expliqué par les apports continentaux des différents rejets qui se déversent dans la zone.
- La charge moyenne en MES reste en général proche de la norme Algériennes (**JORA, 2006**) sauf dans la partie Ouest.
- Le dosage de la chlorophylle montre que, sur les 17 stations analysées, 12 stations ont un risque d'eutrophisation à cause de déversement des eaux riches en sels nutritifs en plus des conditions climatiques favorables (T°, ensoleillement..) coïncidant avec la période de floraison algale.
- Les concentrations des hydrocarbures totaux montrent que les quarts stations sont le siège d'une pollution significative.

Une appréciation de la qualité bactériologique de ces stations montre qu'elles possèdent une charge bactériologique assez importante concernant :

- les coliformes totaux, dont la charge moyenne n'a pas pu être estimée dans la majorité stations.
- Les bactéries Sulfitoréductrices, bien qu'elles ne soient pas considérées comme de bons indicateurs de pollution d'origine fécale, elles restent tout de même dangereuse par leur faculté de sporuler et de produire de toxines. l'espèce la plus fréquemment retrouvée est *Clostridium perfringens* (Rejsek, 2002) .
- Les staphylocoques dont *S.aureus* considérées comme indicateurs de proximité.
- Les salmonelles et les vibrions ont été identifiés dans la majorité des stations.

Bien qu'il n'existe pas de normes concernant les sédiments, ils ont été comme même comparés aux normes des eaux de mer à titre indicatif, les taux moyens enregistrés des coliformes totaux et fécaux restent inférieurs aux normes. Par ailleurs aucune spore de sulfitoréducteurs n'a été retrouvée dans 100g de sédiments . Ceci peut être dû au fait de la remobilisation continue des sédiments par les courants (pélites $\leq 3\%$).

En revanche, les oursins collectés au niveau du port semblent être très contaminés et par conséquent impropres à la consommation.

A l'issue des informations recueillies, l'état de cette portion du littoral de Cherchell nécessite une prise en charge qui doit être rapidement mise en œuvre pour assurer le développement durable de la façade maritime de notre pays et cela en mettant en place des stations d'épurations équipées par des techniques de désinfection (SODIS, photo catalyse, ozone,.....etc.), en contrôlant le déballastage et vidange des bateaux au niveau du port, en évaluant les risques sanitaires de façon plus précise incluant la détermination d'autres indicateurs biologiques de pollution notamment les parasites comme *Cryptosporidium spp.* et le benthos tels que *Capitella capitata* et *Cardium exigum...* et en fin en déterminant la concentration des métaux lourds au niveau des sédiments.

BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

Alzieu C., Abarnou A., Bassoullet A et Boutuer B., 1999. Dragage et environnement marin :

Etats des connaissances. Ed. Ifremer. 223p.

A.F.N.O.R., 1994. Qualité des sols. Recueil des normes françaises. AFNOR. 1994. 250p.

Aminot A et Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin .Ed. CNEXO, Paris. 395p.

Aminot A et Kérouel R., 2004. Hydrologie des écosystèmes marins : Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, France.336p.

Bachouche S., Belkessa R., Houma F et Amrouche L., 2009. Devenir et quantités des sédiments à draguer dans le port d'Alger. 2^{ème} congrès International (Eaux, déchets et environnement) Union des pays de la Méditerranée, El Djadida le 12 et 13 Nov. 2009.

Bachouche S., 2010. Les ports d'Alger et de Bouharoun : Etude des paramètres granulométrique, biologique et de pollution dans les sédiments et l'eau en vue d'une opération de dragage. *Thèse de magister en pollution marine et écotoxicologie.* 127p.

Beraud J., 2004. Le technicien d'analyses biologiques. Ed. Lavoisier, Paris. 2081p.

Boulahdid M., 1987. Analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer : Etude du mélange des masses d'eaux et de l'oxydation de la matière organique dans l'océan. *Thèse de Doctorat en géochimie fondamentale.* Ed, France. 266p.

Bourgeois C.M., 1990. Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire (Tome I). Ed. Lavoisier Tech et Doc, Paris. 422p.

Brisou J.F et Denis F., 1978. Hygiène de l'environnement maritime. Ed. Masson. 248p.

Brisou J.F et Denis F.A., 1980. Technique de surveillance de l'environnement maritime. Ed. Masson, 206 p.

Cardot Claude., 1999. Les traitements des eaux : Procédés physico-chimiques et biologiques. Ed. Ellipses. 250p.

Casas S., 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. *Thèse de doctorat en océanologie biologique, environnement marin.* Université du Sud Toulon, France. 363p.

Chamley H., 1987. La sédimentologie. Ed Dunod, Paris.175 p.

- Charlou J. L et Joanny M., 1993.** Dosage du mercure et d'autres métaux (Pb, Zn, Cu, Cd, Co, Ni, Cr, Mn) dans les sédiments marins par absorption atomique : Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre National pour l'Exploitations des Océans, Paris. 395p.
- Copin–Montégut G., 1996.** Chimie de l'eau de mer. Collection « synthèse ». Institut Océanographique de Paris. 319p.
- Cossa, D et Lassus P., 1989.** Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. Ed. Ifremer.111p.
- Cossa Daniel., 1990.** Le Mercure en milieu marin : Biogéochimie et écotoxicologie. Ed. Ifremer.130p.
- Cossa, D., Elbaz-Poulichet,F., Gnassia-Barelli,M. et Romeo, M.,1993.** Le plomb en milieu marin : Biogéochimie et écotoxicologie. Ed. Ifremer. 75p.
- Champiat D et Larpent J.P., 1994.** Biologie des eaux méthodes et techniques. Ed. Masson, Paris. 374p.
- Cauwet G., 1985.** Dynamique de la matière organique dans les milieux marins et polyhalins son rôle dans les processus géochimiques aux interfaces. *Thèse de doctorat, mention océanologie.* 389P.
- Dellarras C., Bernard A., 2003.** Surveillance sanitaire et microbiologie des eaux .Ed. Lavoisier, Paris. 246 p.
- Dellarras C., 2007.** Microbiologie pratique pour laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed Médicales internationales. Lavoisier, paris. 476p.
- Djagoua E., Kouadio A., Pierre L et Mahaman B., 2006.** Variabilité saisonnière et interannuelle de la chlorophylle en surface de la mer sur le plateau continental de la cote d'ivoire à l'aide des images de seawifs de 1997à 2004.
- Emmanuel E., 2003.** Evaluation des risques sanitaires et ecotoxicologiques lies aux effluents hospitaliers. *Thèse de doctorat.* N° d'ordre : 04 ISAL 004. L.S.E. ENTPE ;LAEPSI INSA de Lyon. 260p.
- Figarella J et Leyral G., 1996.** Microbiologie et techniques (Tome I). Ed. Bordeaux.157p.
- Figarella J., Leyral G., Terret M., 2001.** Microbiologie générale et appliquée. Ed. Jacques Lanore. 285p.
- Galaf F et Ghannam S. 2003.** Contribution à l'élaboration d'un manuel et d'un site web sur la pollution du milieu marin. *Mémoire de troisième cycle. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II Rabat.* 101p.

Gaujous D., 1995. La pollution des milieux aquatiques : aide mémoire .Ed. Technique et Document, Paris. 220 p.

Gauthier M J., Munro P M., et Breittmayer., 1991. Adaptation des enterobactéries pathogènes a l'eau de mer (modèle E. Coli). *PNUE/OMS*, n° 49 : 33-41.

Guiraud JP., 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. 652p.

Houma F., 2009. Modélisation et Cartographie de la Pollution Marine et de la Bathymétrie à partir de l'Imagerie Satellitaire. *Thèse Doctorat Univ Paris 12*. 214 p.

Institut Pasteur de Paris., 1978. Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. 1^{ère} édition. 573p.

Jean P et Monique L., 1997. Mémento technique de microbiologie. 3^{ème} édition. Ed. Lavoisier.1039p.

Joy B et Reynaud A., 2003. Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses. Ed. Techniques et Documentation, Paris. 356p.

Journal officiel de la république algérienne, 1993. Principaux critères de qualité des eaux de baignade. Extrait de l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993.Techniques et Documentation. Paris .356 p.

Le Pimpec P., Linénard A., Bonnard R., Lafont M., Cazin B., Bossard Ph., Hubert B et Bray M., 2002. Guide pratique de l'agent préleveur : chargé de la police des milieux aquatiques. Ed Maurice Merlin. 159p.

Luc-Henri B., 2007. Le cycle de l'azote en milieu marin. Extrait d'un Séminaire littéraire (CHIM 6013). A-102 (Rémi-Rossignol).

Nolwenn Corvaisien., 2000. Polluants et pollution. Ed. Limoge ,OIE. 61p.

OMS (Organisation Mondiale de Santé), 1995. Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicole. Partie V. Contrôle de qualité. V67.

PNUE., 1995. Etat des milieux marins et du littoral de la région méditerranéen UNEP (OCA)/MED IG.5/INFR. Athènes. 111p.

Quéguiner B., 2007. Le cycle océanique de l'azote. *Master d'océanographie*. Centre d'Océanologie de Marseille.33p.

Ramade F.,2000. Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ed. Ediscience international, Paris.690p.

Rejsek F ., 2002. Analyse de l'eau : Aspects et réglementaire et technique. Ed CRDP d'Aquitaine ,France . 358p.

Riambault P et Boudjellal B., 1997. Dosage de la chlorophylle par fluorométrie : Recueil des données de la campagne MINOS (Méditerranéens Investigation Oligotrophe Systems). Master (MAST III). Ed. Thierry Moutin et Patrick Riambault. INSU, CNRS, GDR 869 (PSOO). Ifremer. 96p.

Rodier J., Beiffe H., Bournaud M., Broutin J. P., Geoffay C. H., Kovacsik G., Laporte J., Patee E., Plissier M., Rodi L., et Vial J., 1984. L'analyse de l'eau de mer : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 7^{ème} édition. Ed. Dunod, Paris.1367 p.

Rodier J., 1996. L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduelles, eau de mer. 8^{ème} édition. Ed. Dunod, Paris. 385-401p.

Rodier J., Bazin C., Broutin J.-P., Chambon P., Champsaur H et Rodi L., 2005. L'analyse de l'eau : eaux naturelle, eaux résiduaires et l'eau de mer. 8^{ème} Ed. Dunod, paris. 1383p.

Schaechter., 1999. Microbiologie et pathologie infectieuse. Ed. Bruxelles : De Boeck. 973p.

Singleton P et Sainsbury D., 1984. Bactériologies. Ed. Masson.158 p.

Skalar analytical., 1998. Manuel San Plus Analyser: SA 1050(Random Access Auto Sampler). Breda(Netherlands). 23P.

Wood E. P. K., Amstrong F. A. J. et Richard F. A., 1967. Determination of nitrate in seawater by cadmium-cooper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assc. U.K.*, 47: 23-31.

ANNEXES



ANNEXES

➡ Annexe I

1. Mode opératoire pour la mesure des (MES)

1.1. Principe de la méthode de mesure

La méthode consiste à filtrer l'eau de mer sur des membranes filtrantes afin de retenir les particules de taille supérieure à $0.45\mu\text{m}$. La membrane est séchée et pesée avant et après filtration. La différence de poids permet de connaître la masse sèche totale de matières en suspension dans le volume filtré correspondant. (Aminot et Chaussepied, 1983).

1.2. Matériel utilisé

- Dispositif de filtration sous vide de marque Sartorius.
- Des membranes filtrantes Whatman ($\varnothing=0.45\mu\text{m}$).
- Une étuve de marque NEMMERT
- Balance de précision de marque PionnerTM (au $1/10000$ g).
- Eprouvette graduée de 250 ml, pinces non oxydables et des boîtes avec couvercles.
- Dessiccateur.

1.3. Mode opératoire

Il consiste en trois étapes

a) Préparation des filtres au laboratoire

- Les filtres GF/C sont mis dans l'eau acidulée (HCl à 5%) pendant 24 heures, rincés abondamment à l'eau distillée, puis séchés à l'étuve pendant 24 heures à 70°C ;
- Placer chaque filtre dans une boîte à filtre préalablement étiquetée, et placer dans un dessiccateur pour refroidir ;
- Peser le filtre pour avoir P1 mg ;
- Replacer aussitôt chaque filtre dans sa boîte, à l'abri de la poussière.

b) Filtration de l'eau de mer

- Agiter l'échantillon prélevé avant sa filtration ;
- Mesurer aussitôt le volume à filtrer (VF= 250 ml) ;
- Placer un filtre et le centrer dans le dispositif de filtration ;
- Verser l'échantillon sur le filtre et appliquer le vide et filtrer progressivement tout le volume mesuré ;
- Supprimer l'aspiration dès que le filtre est à sec et verser alors 5 à 10 ml d'eau distillée ;

- o Remettre chaque filtre dans sa boîte numérotée ;
- o Mettre les boîtes à sécher immédiatement.

c) Séchage et pesée des filtres

- o Mettre les boîtes contenant les filtres, sans le couvercle, dans une étuve exempte de poussières à 105°C pendant 2 h ;
- o Laisser refroidir dans un dessiccateur et n'en sortir les filtres que juste avant la pesée ;
- o Peser chaque filtre P2 mg.

1.4. Calculs et expression des résultats

Le calcul de la concentration en MES s'est fait avec la formule suivante

$$[M.E.S](mg/l) = (P1 - P2) / V$$

P1 = poids du filtre avant filtration (mg).
 P2 = poids du filtre après filtration (mg).
 V = volume filtré (l).

Tartrate de potassium et de sodium

2. Dosage des sels nutritifs

2.1. Dosage de l'ammonium

I. Réactifs

a. Solution tampon

Produits chimiques exigés :

C4H4O6KNa.4H2O	33 g.
Citrate de sodium C6H5O7Na3.2H2O	24 g.
Acide sulfurique H2SO4 (1N).....	x ml.
Eau distillée H2O.....	1000 ml.
Brij 35 (30 %).....	2 ml.

Préparation

Dissoudre le tartrate de potassium et de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajouter le citrate de sodium et dissoudre. Ajuster le pH à 5 avec la solution d'acide sulfurique. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le Brij 35 et mélanger.

Note :

La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

a. Solution de phénol

Produits chimiques exigés :

Phénol C_6H_5OH6g.
Hydroxyde de sodium $NaOH$40 g.
Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation

Dissoudre le phénol dans ± 50 ml d'eau distillée. Ajouter l'hydroxyde de sodium. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 semaine.

b. Solution d'hypochlorite de sodium

Produits chimiques exigés :

Solution d'hypochlorite de sodium $NaClO$
(13 % de chlore actif).....200 ml.
Eau distillée H_2O800 ml.

Préparation

Diluer la solution d'hypochlorite de sodium dans ± 700 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

c. Solution de nitroprussiate de sodium

Produits chimiques exigés :

Nitroprussiate de sodium $Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$0,5 g.
Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation

Dissoudre le nitroprussiate de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note :

Conserver dans une bouteille à couleur sombre.

La solution est stable pendant 1 semaine.

Conserver à $4^\circ C$ quand la solution n'est pas utilisée.

b. Liquide de rinçage :

Eau fraîchement distillée H_2O .

II. Préparation des solutions étalons

a. Solution mère de 100 ppm N (*)

Produits chimiques exigés :

Chlorure d'ammonium NH_4Cl0,3819 g.
Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation

Dissoudre le chlorure d'ammonium dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 mois. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution fille de 10 ppm N

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm N dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm Si chaque semaine et les standards chaque jour.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en $\mu\text{moles/l}$ de NH_4^+ .

Dosage des nitrites + nitrates :

I. Réactifs :

a. Solution tampon :

Chlorure d'ammonium NH_4Cl 50 g.
Solution d'ammonium NH_4OH (25%)..... \pm 1 ml.
Hydroxyde de sodium NaOH5g.
Eau distillée H_2O1000 ml.
Bridj 35 (30%).....3 ml.

Préparation :

Dissoudre le chlorure d'ammonium dans 800 ml d'eau distillée. Ajuster le ph 8,2 avec la solution d'ammonium. Ajouter l'hydroxyde de sodium et dissoudre. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée, ajouter le Bridj 35 et mélanger.

Note : La solution est stable pendant une semaine. Conserver à 4°C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Réactifs colorants :

Produits chimiques exigés :

Acide o-phosphorique H_3PO_4 (85%).....50 ml.
Sulfanilamide $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$10 g.
 α -Naphtyléthylène diamine dihydrochloride $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$0,5g.
Eau distillée H_2O850 ml.

Préparation :

Diluer l'acide o-phosphorique H_3PO_4 dans ± 750 ml d'eau distillée. Ajouter le Sulfanilamide $C_6H_8N_2O_2S$ et le α -Naphthyléthylène diamine dihydrochloride $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ et dissoudre. Ajouter 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant deux semaines. Conserver dans une bouteille à couleur sombre.

c. Liquide de rinçage :

Eau fraîchement distillée H_2O (régénérée chaque semaine).

II. Préparation des solution étalons :

a. Solution mère de 100 ppm N (*) :

Produits chimiques exigés :

Nitrate de sodium $NaNO_3$0,6068g.

Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation :

Dissoudre le nitrate de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 4 semaines. Conserver à $4^\circ C$ quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution fille de 10 ppm N :

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm N dans 100 ml d'eau distillée.

Note : préparer la solution fille à 10 ppm chaque semaine et les standard chaque jour.

(*) : les concentration des solution étalons sont transformées en $\mu\text{moles/l}$ de $N-NO_3^-$ ou de $N-NO_2^-$ puis en $\mu\text{moles/l}$ de NO_3^- ou de NO_2^- .

III. Préparation de la colonne réductrice :

a. Solution d'acide chlorhydrique (4N) :

Produits chimiques exigés :

Acide chlorhydrique HCl (32%).....400 ml.

Eau distillée H_2O600 ml.

Préparation : diluer l'acide chlorhydrique dans 600 ml d'eau distillée.

b. Cadmium :

Produits chimiques exigés :

Granule de cadmium taille 0,3-1 mm (tamisé).....2,5g.

Procédure de remplissage :

- 1- Les granules de cadmium sont mélangées avec ± 30 ml de la solution d'acide chlorhydrique (4N).

- 2- Agiter pendant une minute.
- 3- Ajouter environ 50 ml de solution de sulfate de cuivre et agiter pendant 5 minutes.
- 4- Laver la saleté entre les granules avec l'eau distillée.
- 5- Sécher les granules de cadmium.
- 6- Ajouter, à l'aide d'un entonnoir, les granules dans une colonne sèche, en secouant de temps en temps pour empaqueter la colonne de deux côtés.
- 7- Remplir jusqu'à ± 5 mm du sommet.
- 8- Placer un petit morceau de tube en polyéthylène, dans la colonne pour éviter que les granules ne sortent de la colonne.
- 9- Remplir la colonne, à l'aide d'une seringue contenant la solution tampon (réactif a préparé précédemment).
- 10- Placer la colonne dans le système.

Note : Eviter que l'air entre dans la colonne.

Les granules de cadmium activés peuvent être stockés sec, dans une bouteille bien fermée.

Dosage des orthophosphates :

I. Réactifs

a. Solution de molybdate d'ammonium :

Produits chimiques exigés :

Tartrate de potassium et d'antimoine

$K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 5H_2O$230 mg.

Acide sulfurique H_2SO_4 (97%).....69,4 ml.

Molybdate d'ammonium $(NH_4^+)6Mo_7O_{24} \cdot H_2O$6g.

Eau distillée H_2O1000 ml.

FFD6.....2 ml.

Préparation :

Dissoudre le tartrate de potassium et d'antimoine dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajouter soigneusement l'acide sulfurique en mélangeant constamment. Ajouter le molybdate d'ammonium et dissoudre. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note :

Ne pas employer de cuillères en métal pour le molybdate d'ammonium. La sensibilité peut être augmenter de 50 % en employant 35 ml d'acide sulfurique concentré au lieu de 69,4 ml. Avec 35 ml l'interférence des silicates est 10 % pour 300 ppb Si et 10 % pour 10 ppb P.

Le pH final doit être inférieur à 1. La solution est stable pendant 5 jours. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution d'acide ascorbique

Produits chimiques exigés :

Acide ascorbique $C_6H_8O_6$6g.
Acétone C_3H_6O60 ml.
Eau distillée H_2O1000 ml.
FFD6.....2 ml.

Préparation

Dissoudre l'acide ascorbique dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajouter l'acétone. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 5 jours. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

c. Liquide de rinçage

Eau fraîchement distillée H_2O (régénérée chaque semaine).

II. Préparation des solutions étalons

a. Solution mère de 100 ppm P (*)

Produits chimiques exigés :

Dihydrogène o-phosphate de potassium KH_2PO_40,4394 g.
Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation

Dissoudre le dihydrogène o-phosphate de potassium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 4 semaines. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

2-2- Solution fille de 10 ppm P

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm P dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm P chaque semaine et les standards chaque jour.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en $\mu\text{moles/l}$ de PO_4^{3-} .

Dosage des silicates

I. Réactifs

a. Solution d'acide sulfurique

Produits chimiques exigés :

Acide sulfurique H_2SO_4 (97 %).....10 ml.
Eau distillée H_2O1000 ml.

FFD6.....2 ml.

Préparation

Diluer l'acide sulfurique dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note :

La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4°C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution de molybdate d'ammonium

Produits chimiques exigés :

Molybdate d'ammonium (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O.....20g.

Eau distillée H₂O.....1000 ml.

FFD6.....2 ml.

Préparation

Dissoudre le molybdate d'ammonium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note :

Conserver dans une bouteille de polyéthylène. La solution est stable pendant 1 jour. Ne pas utiliser de cuillères en métal pour le molybdate d'ammonium.

c. Solution d'acide oxalique

Produits chimiques exigés :

Acide oxalique C₂H₂O₄.2H₂O.....44g.

Eau distillée H₂O.....1000 ml.

Préparation

Dissoudre l'acide oxalique dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée et mélanger.

Note :

Conserver dans une bouteille de polyéthylène. La solution est stable pendant 1 mois. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

d. Liquide de rinçage

Eau fraîchement distillée H₂O.

Note :

Changer l'eau quotidiennement. Conserver dans une bouteille en polyéthylène.

Préparation des solutions étalons

a. Solution mère de 100 ppm Si (*)

Produits chimiques exigés :

Métasilicate de sodium $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$1,0119 g.

Eau distillée H_2O1000 ml.

Préparation

Dissoudre le métasilicate de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 mois. Conserver dans une bouteille en polyéthylène.

b. Solution fille de 10 ppm Si

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm Si dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm Si chaque semaine et les standards chaque jour. Conserver dans une bouteille en polyéthylène.



Photo AI.1. Auto-analyser SAN Plus Système de marque SKALAR, 1998.

❖ Les courbes d'étalonnages

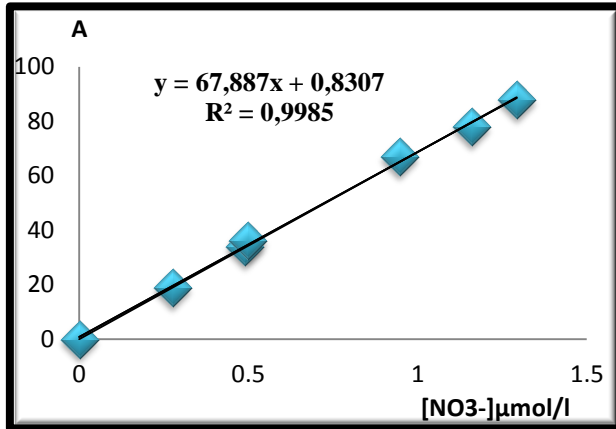


Figure AI.1. Courbe d'étalonnage pour les nitrates

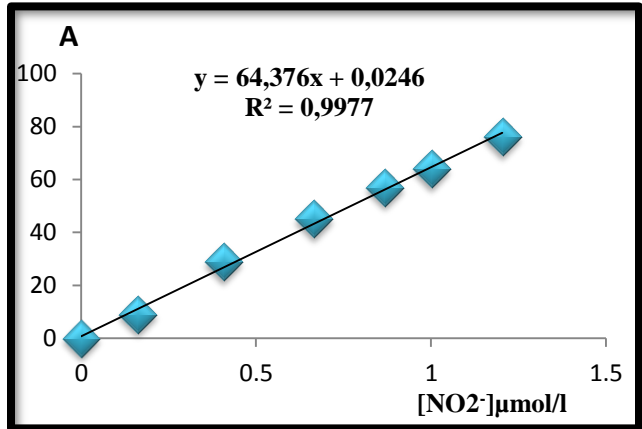


Figure AI.2. Courbe d'étalonnage pour les nitrites

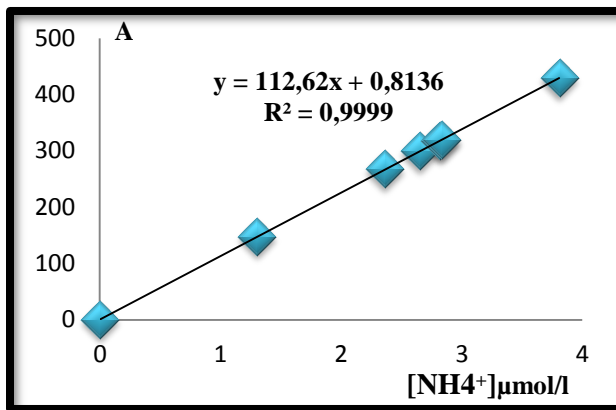


Figure AI.3. Courbe d'étalonnage pour l'ammonium.

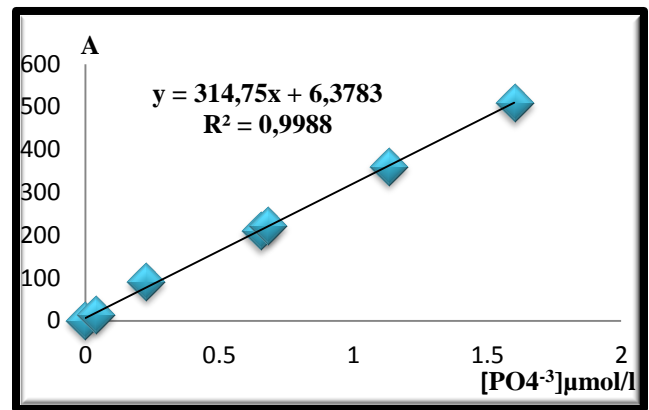


Figure AI.4. Courbe d'étalonnage pour le phosphate.

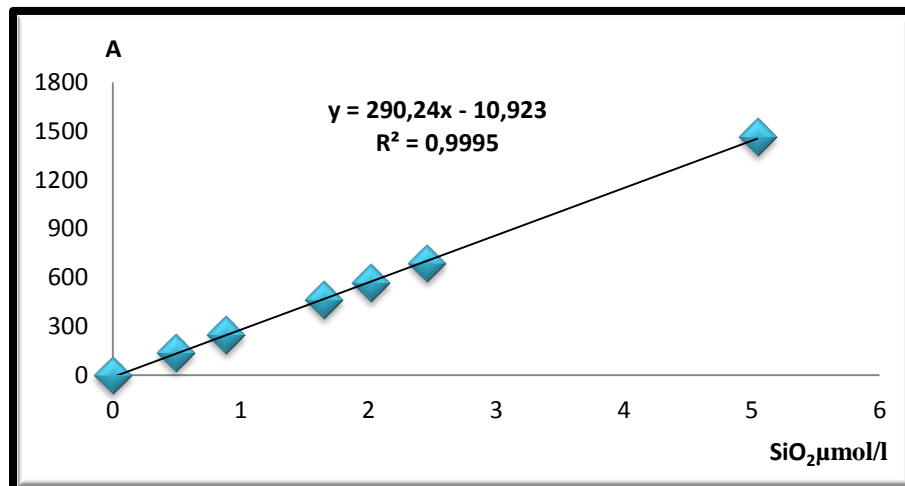


Figure AI.5. Courbe d'étalonnage pour La Silice

3. Dosage de la chlorophylle *a* par fluorométrie

La concentration en chlorophylle *a* a été déterminée selon la méthode fluorimétrique de Yentsch et Menzel (1963) adaptée par Holm-Hansen et Rieman (1978) pour l'extraction des pigments à l'aide du méthanol. Elle a été élaborée pour une application en milieu marin, a l'avantage d'être très sensible et ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon.

a. Principe de la méthode de dosage

Le phytoplancton est recueilli sur un filtre en fibre de verre (GF/F, de porosité environ 0,45µm et de diamètre 25mm) et repris dans une solution de méthanol. Les pigments chlorophylliens sont excités par un faisceau lumineux à 450 nm. La fluorescence émise est mesurée à 670 nm.

b. Appareillage et matériel

Le matériel utilisé doit être exempt de toute trace de contaminant organique, inorganique ou biologique. Une procédure de lavage adéquate est de rigueur.

- Equipement de filtration de marque « **Sartorius stedim** » avec filtres en fibre de verre (GF/F, de porosité environ 0,45µm et de diamètre 25mm).
- Tubes de mesure en verre.
- Centrifugeuse **Hettich ZENTRIFUGEN** de type EBA 30, avec 12 postes de porte-Filtre.
- Spectrophotomètre fluorescence de marque **HITACHI**, modèle 650 S, équipé d'une lampe « Xénon » qui est la source du rayonnement UV.
- Cuve en quartz de 1 cm de trajet optique, pinces, éprouvettes.

c. Réactifs et étalons

- Solution de méthanol pur à 99.7% pour l'extraction.
- Solution de carbonate de magnésium (MgCO₃) à 1% (Ajouter 1 g de MgCO₃ en poudre fine dans 100 ml d'eau déminéralisée).
- Solution mère de chlorophylle *a* à une concentration de 0.1 µg/l (conserver au congélateur)
- Solutions étalons de chlorophylle *a* dans méthanol 99.7 %, à des concentrations de 2, 5, 10, 15, 20 µg/l.
- Acide chlorhydrique (HCL) 0,5 N.

d. Protocole analytique

- Appliquer 2 ml de solution de carbonate de magnésium sur une membrane(Whatman GF/F) de 0,45 µm, et filtrer 250ml de l'échantillon avec une pression inférieure à 100 mmHg ;
- le filtre est plié sur quatre et enrobé dans du papier aluminium déjà étiqueté. Ensuite les filtres sont conservés dans un congélateur ;
- Ajouter 6 ml de méthanol à 99.7 % dans les tubes qui contiennent les échantillons à doser ;
- Les tubes sont ensuite bouchés et placés à l'obscurité dans un réfrigérateur (5 °C), pour une période d'extraction de 30 minutes ;
- Homogénéiser les échantillons on les plaçant dans un centrifugeuse pendant 5 min et 3000 tours/min ;
- Calibrer le spectrophotomètre fluorescence à l'aide d'une série de cinq standards, et un blanc du méthanol ;
- Remplir la cuvette en quartz avec l'échantillon et prendre la lecture fluorimétrique IF₀ ;
- Acidifier l'échantillon avec 10 µl de HCl de 0.5N et prendre de nouveau une lecture fluorimétrique IF_a ;
- Rincer la cuvette avec le méthanol, avant de faire une nouvelle mesure ;
- Éviter d'exposer les échantillons à la lumière et procéder le plus rapidement possible afin de minimiser la dégradation de la chlorophylle *a* par la lumière et la chaleur.

e. Calcul des concentrations

Les concentrations de chlorophylle dans les extraits du méthanol sont déterminées à partir de la droite d'étalonnage. Elles sont évalués d'après la formule de Lorenzen (1967) *in* (Aminot et Chaussepied, 1983) :

$$[\textit{Chlorophylle } a](\mu\text{g/l}) = \text{IF}_0/\text{K}_0 \times \text{VE}/\text{VF}$$

$$[\textit{Phéopigments } a] (\mu\text{g/l}) = (\text{IF}_0 - \text{IF}_a) / (\text{K}_0 - \text{K}_a) \times \text{VE}/\text{VF}$$

IF₀ : Intensité de fluorescence avant acidification (U.A) ;

IF_a : Intensité de fluorescence après acidification (U.A) ;

K₀ : Coefficient d'étalonnage établie avec de la chlorophylle *a* pure avant acidification ;

Ka : Coefficient d'étalonnage établie avec de la chlorophylle *a* pure après acidification ;

V_E : Le volume d'extraction ($V_E = 6\text{ml}$) ;

V_F : Le volume de l'échantillon filtré ($V_F = 250\text{ ml}$).

❖ **Les courbes d'étalonnages**

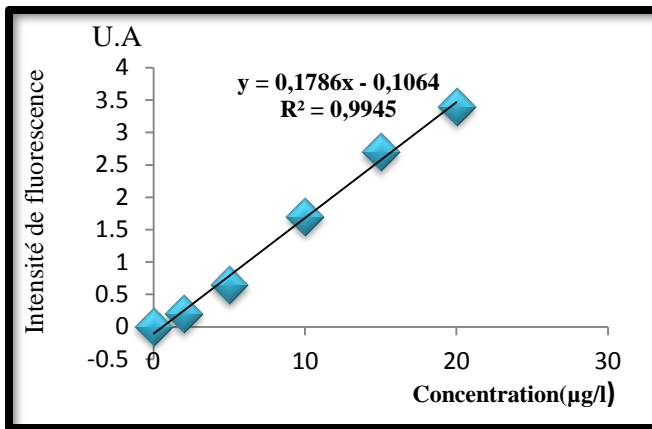


Figure AL.6. Droite d'étalonnage de la chlorophylle 670nm avant acidification.

	IFO	IFa	C(µg/l)
Méthanol	0	0	0
SDT1	0,2	0,1	2
SDT2	0,65	0,35	5
SDT3	1,7	0,55	10
SDT4	2,7	0,8	15
SDT5	3,4	1,05	20

Tableau AL.1. Concentration des standards avant et après acidification

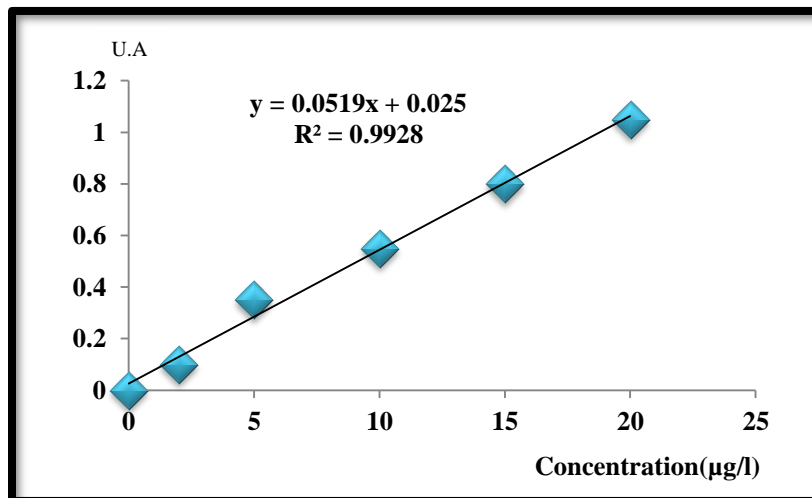


Figure AL.7. Droite d'étalonnage de la chlorophylle 670nm après acidification.

4. dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer par spectrométrie infrarouge

a. principe

les hydrocarbures sont extraits du substrat à étudier par le tétrachlorure de carbone. L'extrait est purifié sur un adsorbant afin de retenir les composés polaires et l'éluat est analysé par spectrométrie infrarouge.

b. Appareillage et matériel

Le matériel utilisé doit être lavé (détergent, acide sulfochromique) et abondamment rincé à l'eau distillée et au tétrachlorure de carbone.

- Ampoule à décanter.
- Eprovettes graduées.
- Colonne de chromatographie.
- Agitateur mécanique d'ampoule.
- Spectromètre infrarouge.

c. Réactifs

- Acide chlorhydrique.
- Sulfate de sodium anhydre.
- Tétrachlorure de carbone.
- Agent absorbant : Florisil.

d. Mode opératoire

⇒ Extraction

- Verser dans une ampoule à décanter le volume total 2L ; soit (V) ;
- Prendre un volume de tétrachlorure de carbone d'environ 100ml ; soit V_0 ;
- Agiter l'ampoule pendant 15 min et laisser reposer 10 min ;
- Soutirer l'extrait qui constitue la phase inférieure ;
- Déshydrater cet extrait en ajoutant sulfate de sodium anhydre.

⇒ Purification

- Placer dans la colonne de chromatographie 1.5 à 2g de Florisil ;
- Laver le Florisil en laissant écouler sur la colonne 20ml au moins de tétrachlorure de carbone que l'on éliminera ;
- Faire passer sur la colonne exactement 20ml de l'extrait ;
- Recueillir le liquide dans une éprouvette graduée ;

- Ajouter, dès que le sommet de la colonne arrive à sec, à nouveau 4ml de CCl₄ en tête de colonne ;
- Recueillir l'éluat dans la même éprouvette ;
- Mesurer le volume total collecté (V₁)
 - ⇒ **Mesure**
- Cette étape a été effectuée au niveau de ONEDD.

e. Calcul et expression des résultats

Les concentration d'hydrocarbures dans les échantillons d'eau se calculent comme suit :

$$[\text{Hydrocarbures}] \text{ mg.l}^{-1} = C \frac{V_0}{V} \frac{V_1}{V_p}$$

Avec :

C : concentration d'hydrocarbures dans l'extrait de CCl₄ (mg. l⁻¹).

V₀ : volume de CCl₄ ajouté à l'eau.

V_p : volume aliquote de l'extrait soumis à la purification sur Florisil (ml).

V₁ : volume total après purification sur Florisil (ml).

V : volume d'échantillon d'eau extrait (l).

➤ Annexe II

La composition des milieux de culture utilisés

◆ Milieu de Baird Parker :

Composition	Quantité (g/L)
Hydrolysate tryptique de caséine	10
Extrait de viande de bœuf	5
Extrait de levure	1
Pyruvate de sodium	10
Chlorure de lithium	5
Glycocolle	12
Agar	20

PH : 6,8, Autoclaver à 120 C° pendant 15minutes.

◆ 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, Stériliser 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 ₂ HPO 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.

◆ 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 viande-foie :**

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°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. Stérilisation à l'autoclave : 121°C pendant 15 minutes.

♦ **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.

♦ **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.

♦ **Bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	10
Lactose	10
Bile	20
Vert brillant	0,013

pH : 7,4. Autoclaver à 121°C pendant 15minutes.

♦ **Gélose au désoxycholate 1‰**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2
Lactose	10
Citrate ferrique	1
Citrate de sodium	1
Désoxycholate de sodium	1
Rouge neutre	0,03
Agar	15

pH= 7,3 (environ). Ne pas autoclaver.

♦ **Gélose de Sabouraud**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone Chapoteaut	10
Glucose massé	20
Agar	15

pH final = 6-6,3. Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes .

◆ **Milieu de Litsky :**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate bipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azothydrate de sodium	0,3
Ethyl violet	0,0005

pH final = 6,8-7. Autoclaver à 115°C pendant 20 minutes.

◆ **Milieu de Rothe**

Composition	Quantité (g/l)
Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate bipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azothydrate de sodium	0,2

pH final = 6,8-7. Autoclaver à 115°C pendant 20 minutes.

◆ **Milieu TSI :**

Composition	Quantité (g/l)
peptone	20
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Citrate ferrique	0.3
Thiosulfate de sodium	0.3
Lactose	10
Saccharose	10
Glucose	1
Rouge de phénol	q.s.
Agar	12

pH= 7.4 (environ). Autoclaver à 121°C pendant 15min.

Tableau AII.1. Nombre le plus probable (NPP) dans le cas du système a trois tubes (**Brisou et Denis.1980**)

Table de Mc Grady

Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.1	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

❖ **Méthode d'Identification par galeries API**

a. Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation ;
- Recouvrir la boîte avec son couvercle ;
- Incrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

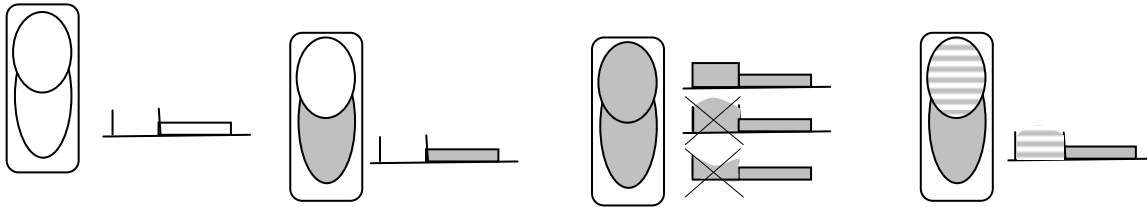
b. Préparation de l'inoculum :

- Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau physiologique stérile. La suspension doit avoir une densité suffisante .

c. Inoculation de la galerie :

- remplir les cupules de suspension en évitant les bulles d'air.

➤ Mode de remplissage



<p>Cupule vide</p>	<p>Cupules simples ex : GEL</p> <p>Remplir la partie inférieure</p>	<p>Cupules encadrées ex : <u>CIT</u> ; <u>VP</u></p> <p>Remplir la cupule en entier</p>	<p>Cupules soulignées ex : <u>H₂S</u></p> <p>Remplir la partie inférieure puis compléter avec de l'huile de vaseline</p>
---------------------------	---	---	---

d. Incubation

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures pour : Api 20 E, Api Staph et Api 20 Strep.

e. Lecture et identification

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au catalogue de Lecture ;
- Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs.

➡ **Annexe III**

Analyse granulométrique

Tableau AIII.1. classement des sédiments selon S_0

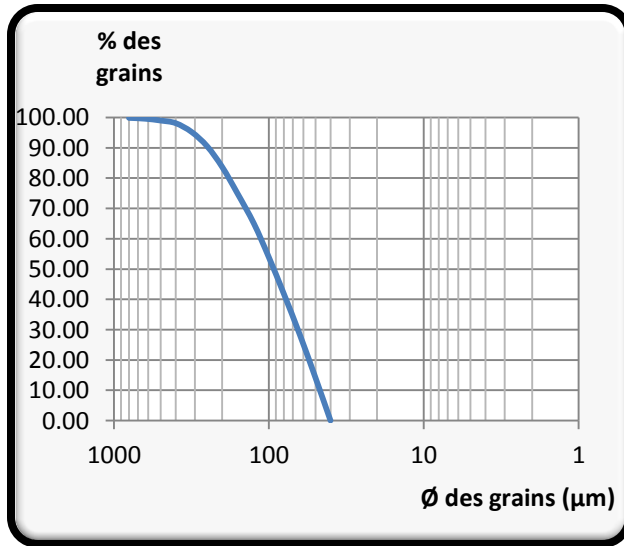
S_0	1.0-1.5	1.5-2.5	2.5-3.0	3.0-4.0	4.0
Classement	Très bien classé	Bien classé	Normalement cassé	Faiblement classé	Mal classé

Tableau AIII.2.Diamètres des grains et appellations correspondants à la norme française.

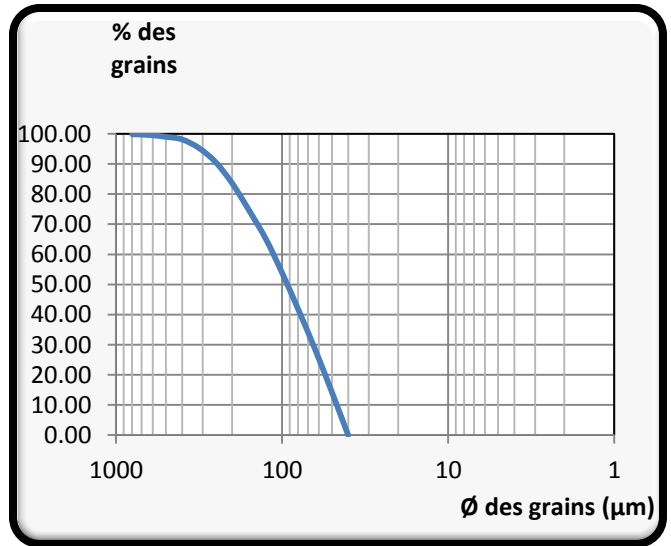
Diamètre maximum	Appellation	Diamètre minimum
200 mm	Cailloux	20 mm
20 mm	Graviers	2 mm
2 mm	gros sables	0,2 mm
0,2 mm	sables fins	20 μm
20 μm	Limons	2 μm
2 μm	Argiles	< 2 μm

Source : AFNOR.1994

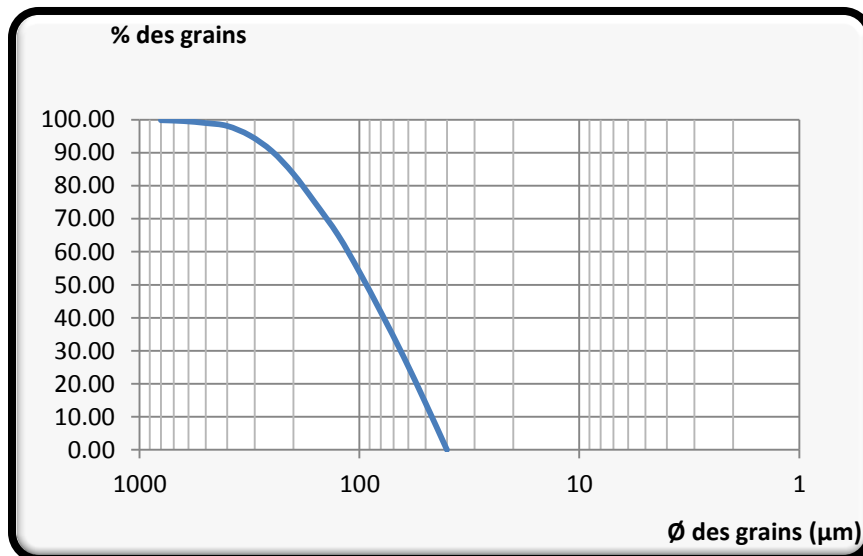
❖ Les courbes granulométrique des stations étudiées



Station 1



Station II



Station III

➡ Annexe V

Tableau AV.1. positionnements géographique des stations de prélèvement d'eau.

stations	l'altitude	Longitude
S1	36°36'33.7"	2°11'25.0"
S2	36°36'33.6"	2°11'26.5"
S3	36°36'39.7"	2°11'08.9"
S4	36°36'37.01"	2°11'19.3"
S5	36°36'39.98"	2°11'0.88"
S6	36°36'37.83"	2°11'32.82"
S7	36°36'40.0"	2°11'44.8"
S8	36°36'50.0"	2°11'45.4"
S9	36°36'47.4"	2°11'39.6"
S10	36°36'47.5"	2°11'33.1"
S11	36°36'47.86"	2°11'27.56"
S12	36°36'43.8"	2°11'27.3"
S13	36°36'43.79"	2°11'19.68"
S14	36°36'41.48"	2°11'10.04"
S15	36°36'36.7"	2°11'02.4"
S16	36°36'30.1"	2°10'58.1"
S17	36°36'30.1"	2°11'05.8"

Tableau AV.2. Positionnements des stations de prélèvement des sédiments.

Stations	l'altitude	Longitude
S1	36° 36' 39.8"	02° 11' 31.0"
S2	36 36' 41.1"	02° 11' 43.7"
S3	36 36' 27.1"	02° 11' 02.4"

Tableau AV.3. valeurs moyennes de la température, salinité, pH et la conductivité.

stations	T(c°)	S (PSU)	pH	C (ms/cm)
S1	20	35,1	7,97	53,4
S2	19,3	34,9	7,96	53,1
S3	19,7	35,1	8,06	53,4
S4	19,6	35,8	8,06	54,7
S5	19,7	35,7	7,98	55
S7	20,1	35,6	8,03	53,8
S8	19,5	36,2	8,03	55,1
S9	20,8	36,3	8,05	55,1
S10	20	36,2	8	54,8
S12	19,2	36,2	7,98	55,0
S14	19,3	36,3	8,05	55,1
S15	20,1	36,3	8,07	55,1
S16	20,5	36	8,11	54,9
S17	20,4	36,1	8,08	54,7

Tableau AV.4. Les valeurs moyennes de la température, la salinité, le pH et la conductivité en fonction des parties

parties	T(c°)	S (PSU)	pH	C (ms/cm)
Port	19,6	35,4	7,83	54,1
Partie Est	20,1	36,1	8,03	54,7
Partie Ouest	20,1	36,2	8,08	54,9
moyenne	19,9	35,8	8,03	54,5

Tableau AV.5. Les valeurs de la demande biologique en oxygène (DBO₅).

Stations	DBO₅ (mg/l)
S2	0
S3	0
S5	5
S9	10
S15	5

Tableau AV.6. Les valeurs moyennes de MES et de MOP.

Station	MES (mg/l)	MOP %
S1	9,7	5.69
S2	12,8	5.46
S3	14,9	5.58
S4	14,8	2.75
S5	21,6	5.54
S7	20,4	5.52
S8	11,6	5.17
S9	50,6	10.59
S10	52,4	6.74
S12	65,4	6.74
S14	57,2	10.24
S15	44,2	8.75
S16	43,2	5.87
S17	44,3	2.74

Tableau AV.7. Les valeurs de MES et de MOP en fonction des parties.

parties	MES (mg/l)	MOP%
Port	27,84	5.24
Partie Est	33,76	6.71
Partie Ouest	47,23	6.91
moyenne	36,27	6.28

Tableau AV.8. Concentrations de la chlorophylle *a* et des phéopigments.

Stations	Chlorophylle <i>a</i> (µg/l)	Phéopigments (µg/l)
S1	0,35	0,23
S2	0,19	0,18
S3	0,04	0,01
S4	0,13	0,15
S5	0,10	0,02
S6	0,08	0,02
S7	0,07	0,01
S8	0,09	0,06
S9	0,13	0,08
S10	0,18	0,12
S11	0,12	0,02
S12	0,34	0,3
S13	0,23	0,10
S14	0,16	0,12
S15	0,09	0,10
S16	0,10	0,02
S17	0,16	0,15

Tableau AV.9. Les concentrations de la chlorophylle *a* et des phéopigments en fonction des parties.

parties	Chlorophylle <i>a</i> (µg/l)	Phéopigments (µg/l)
Port	0,19	0,15
Partie Est	0,11	0,05
Partie Ouest	0,15	0,10
moyenne	0,15	0,10

Tableau AV.10. Concentrations moyennes des sels nutritifs.

stations	NO ₃ ⁻ µmol/l	NO ₂ ⁻ µmol/l	NH ₄ ⁺ µmol/l	PO ₄ ⁻³ µmol/l	SIO ₂ µmol/l
S1	0,8018	0,1410	10,4894	0,3820	6,8317
S2	1,3405	0,1410	4,2662	0,3140	5,7034
S3	0,7940	0,2026	4,6440	0,3232	8,2215
S4	1,1822	0,0541	2,1358	0,3277	6,0201
S5	//	//	//	//	//
S6	0,0116	0,3146	2,7967	1,1721	9,9906
S7	0,0677	0,2555	15,0737	1,8364	7,5702
S8	0,1175	0,0441	3,6385	0,3048	4,8826
S9	0,0279	0,0529	2,6160	0,2938	4,4383
S10	0,0078	0,0617	4,2804	0,2718	4,7034
S11	//	//	//	//	//
S12	0,2434	0,0529	4,2378	0,2479	3,7312
S13	//	//	//	//	//
S14	0,2522	0,0441	2,6358	0,2277	6,8015
S15	0,1087	0,0529	4,0333	0,2589	5,7228
S16	0,1534	0,0352	3,5050	0,2920	6,2942
S17	0,0098	0,0441	3,5249	0,2920	0,9443

Tableau AV.11. Concentrations moyennes des germes recherchés dans l'eau.

Germes/stations	CT	CF	SF	Staph	Clostridium
S1	ind	20	6	ind	3
S2	ind	34	7	449	5
S3	ind	113	28	980	32
S4	197	14	25	58	5
S5	1046	8	0	ind	0
S6	ind	2040	31	ind	200
S7	ind	2045	35	ind	143
S8	ind	108	1	808	0
S9	ind	42	1	1456	15
S10	197	51	4	956	70
S11	128	86	2	136	10
S12	13	2	1	160	0
S13	384	0	0	ind	0
S14	72	24	1	1929	0
S15	ind	12	7	820	25
S16	ind	124	31	2688	263
S17	ind	40	0	944	0

Tableau AV.12. Principaux critères de qualité des eaux de baignade (Décret n° 93-16 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
Physico-chimiques			
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 – 8.5
OD	% saturation en O ₂	-	80-120
Transparence	Mètre	2	-
Autres substances	-	-	Ne doit pas contenir des substances capable de nuire la santé de baigneur