

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل

École 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 : Aquaculture

Thème :

**Contrôle de la qualité microbiologique et
toxicologique de la moule *Mytilus galloprovincialis*
(Lamarck, 1819) de Bordj El kiffan bateau cassé, et
de la ferme ORCA marine (Ain chrob)**

Présenté par:

- **BOUICH Djamel**
- **RADJA Mohammed**

Soutenu le 07/07/2012 devant le jury suivant :

Mlle. OULD AHMED.N	Maître assistant A (ENSSMAL)	Présidente
Mme. CHAOU.N	Maître assistant A (ENSSMAL)	Promoteur
Mlle. ALOUACHE.S	Maître assistant A (ENSSMAL)	Co promoteur
Mr. BELHASNAT.K	Maître de conférences (ENSSMAL)	Examinateur
Mme. LARIBI .H	Maître assistant A (Université de BLIDA)	Examinatrice

Promotion : 2011-2012

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous remercions ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté, pour réaliser ce mémoire de fin d'études.

Nous tenons à remercier nos promotrices M^{me} Chaou N, maître assistante A (ENSSMAL) et Mme Alouache maître assistante A (ENSSMAL) d'avoir acceptés d'encadrer ce travail, également pour leurs confiance, disponibilité, encouragements, sacrifices et précieux conseils au cours de la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons, à remercier M^{me} Ould hmed N, Maître Assistante A, d'avoir accepté la présidence de ce jury malgré ses nombreuses occupations.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à M^r. BELHASNET .K, Maître de conférences (ENSSMAL) pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit et de participer à ce jury et pour son aide pendant la sortie pour la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont aussi à M^{me} Laribi H, maître assistante A (UNIV de Blida), pour sa participation au jury d'évaluation et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profondes reconnaissances à M^{me} REFES, M^r Yousef, Mr Djamel, les 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 reconnaissants 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.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

À ma très chère mère RACHIDA qui m'a entouré de son amour, son soutien et qui est toujours à mes côtés que Allah la garde Pour moi.

À mon très cher père BOUCIFE qui m'a soutenue et qui m'a encouragé et qui a tout fait pour mon bien que Allah le garde pour moi.

Merci mes parents

À mon plus cher grand père BOUALEM qui m'a soutenue et qui m'a beaucoup aidé et qui compte vraiment pour moi.

À mon cher frère HICHEM (Le M, el kınze, et la route), À ma petite adorable sœur ASMA, mes tantes FATIHA et NADJAT, mes tontons DJILALI (sindid) et AMINE et toutes ma chère famille.

À ma très chère amie Nabila qui m'a aidée énormément.

À mes amis : RACHID, OTHMEN, DJAMEL (salhouf), AMINE, HICHEM, AMMAR, MOUSSA, KWTKA, RIDHA, IDIR, HOCINE, YACINE, YAKOUB, MILOUD, et tous mes amis, surtout de la cité universitaire.

A tous les personnes qui m'ont aidé et encouragé tout au long de cette année.

MOHAMMED.

Liste des figures

Figure 1	: <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck, 1819)	3
Figure 2	: Schéma représentant la face externe de la moule, valve gauche	5
Figure 3	: Anatomie interne de la moule	7
Figure 4	: Nutrition et respiration chez la moule	9
Figure 5	: Répartition géographique de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	11
Figure 6	: les pays producteur de <i>M. galloprovincialis</i> en Afrique	15
Figure 7	: Évolution de la production de <i>M. galloprovincialis</i> en Algérie	15
Figure 8	: Structure de l'acide okadaïque	24
Figure 9	: Structure chimique de la Saxitoxine	25
Figure 10	: Structure de l'acide domoïque (ASP toxine)	26
Figure 11	: localisation du site d'échantillonnage bateau cassé	27
Figure 12	: Localisation du site d'échantillonnage la ferme ORCA marine	28
Figure 13	: Schéma d'analyses toxicologique	36
Figure 14	: résultat des analyses bactériologiques de la moule sauvage	38
Figure 15	: résultat des analyses bactériologiques de la moule d'élevage	39
Figure 16	: comparaison entre les résultats de la qualité microbiologique de la moule d'élevage et la moule sauvage	39

Liste des Tableaux

- Tableau 1 :** Taxonomie de la moule *Mytilus galloprovincialis* í í í í í í í í í í í .í í .3
- Tableau 2 :** Critère de différenciation entre *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus edulis* selon divers auteursí í .í ..í .4
- Tableau 3 :** Taux de filtration de certains mollusques bivalvesí í í í í í í í í í í í í í í í8
- Tableau 4 :** La valeur nutritive d'environ 100g de mouleí í í í í í í í í í í í í í í í ..í 12
- Tableau 5 :** Objectifs de productions tracées par les fermes conchylicoles en Algérieí13
- Tableau 6 :** les principales maladies causées par la consommation des fruits de merí .í ..17
- Tableau 7 :** Critères microbiologiques des zones de production conchylicoleí í í í ...í .22
- Tableau 8 :** Résultats des analyses toxicologiques de la moule d'élevage et sauvageí .í ..42

Sommaire

TABLE DES MATIÈRES

Listes des tableaux et figures

Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités	
I. Étude bibliographique.....	2
I.1. Présentation de l'espèce.....	2
I.1.1. Caractères et taxonomie.....	2
I.1.2. Morphologie et Anatomie.....	5
I.1.2.1. Morphologie.....	5
I.1.2.2. Anatomie interne.....	6
I.1.2.2.1. Charnière et ligament.....	6
I.1.2.2.2. Le corps.....	6
I.1.3. Physiologie de la moule <i>M. galloprovincialis</i>	7
I.1.3.1. Alimentation.....	7
I.1.3.2. les principaux systèmes de la moule.....	9
I.1.3.3. Cycle de reproduction	10
I.1.3.4. Croissance.....	10
I.1.4.Écologie.....	10
I.1.4.1. Répartition géographique	10
I.1.4.2 Répartition bathymétrique.....	11
I.1.5. Valeur nutritive.....	11
I.2. La conchyliculture	12
I.2.1. La mytiliculture en Algérie.....	13
I.2.2. Importance de la mytiliculture.....	13
I.2.3. La production.....	14
I.3. Les risques sanitaires liés à la consommation des coquillages.....	16

I.4. Les paramètres bactériologiques.....	18
I.4.1. La flore bactérienne marine.....	18
I.4.2. Germes indicateurs de contamination fécale.....	18
I.4.2.1. Les coliformes totaux (CT)	19
I.4.2.2. Les coliformes fécaux (CF).....	19
I.4.2.3. <i>Escherichia Coli</i>	20
I.4.2.4 <i>Enterococcus</i>	20
I.4.3. Les germes pathogènes.....	21
I.4.3.1. <i>Salmonella</i>	21
I.4.4. Contexte réglementaire régissant la production des coquillages.....	21
I.5. Les Biotoxines.....	22
I.5.1. Les toxines diarrhéiques DSP (diarrhetic shelfish poison)	23
I.5.2. Les toxines paralysantes PSP (paralytic shelfish poison).....	24
I.5.3. Les toxines amnésiantes ASP (Amnesie shelfish poison).....	25
Chapitre II : Partie expérimentale	
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	27
II.1.Présentation du site.....	27
II.1.1. Bateau cassé.....	27
II.1.2. La ferme «SARL ORCA marine ».....	28
II.2. Prélèvement et transport des échantillons.....	29
II.3. Contrôle de la qualité microbiologique de la moule.....	29
II.3.1. Préparation de la moule (homogénat).....	29
II.3.2. Recherche et dénombrement des germes fécaux par la méthode des NPP (Nombre le Plus Probable).....	30
II.3.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux.....	30
II.3.4. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants et <i>Escherichia-coli</i>	31

II.3.5. Recherche et dénombrement des <i>Streptocoques</i> fécaux.....	31
II.3.6. Recherche des germes pathogènes (<i>salmonella</i>).....	32
II.4. Analyse toxicologique.....	33
II.4.1. Recherche de l'entérotoxine DSP (diarrhetic shelfish poison).....	33
II.4.2. Recherche de la biotoxine paralysante PSP (paralytic shelfish poison).....	34

Chapitre III : Résultats et discussion

III. RÉSULTATS.....	37
III.1. Contrôle de la qualité microbiologique.....	37
Discussion.....	40
III.2. Contrôle de la qualité toxicologique.....	41
III.2.1. L'entérotoxine DSP (diarrhetic shelfish poison).....	41
III.2.2. La biotoxine paralysante PSP (paralytic shelfish poison).....	42
Conclusion.....	43

Introduction

La conchyliculture est la plus ancienne des activités aquacoles (Barnabé, 1991). La mytiliculture est l'une des branches de la conchyliculture qui désigne l'élevage des moules, elle se fait dans les eaux côtières, soit en surface, où les jeunes moules sont répartis sur terrains océaniques situés dans la zone de balancement de la marée (la culture à plat ou la culture sur les bouchots), ou dans des eaux peu profondes (culture en suspension: la table mytilicoles, la soucoupe balastable, et les filières).

L'Algérie possède un littoral très vaste estimé à plus de 1600 km et fournit des sites favorables à la conchyliculture qui est considérée comme une discipline de l'aquaculture.

La conchyliculture en Algérie pratiquée essentiellement en mer ouverte, s'intéresse exclusivement à l'élevage des huîtres (ostréiculture) et des moules (mytilicultures) essentiellement l'espèce *Mytilus galloprovincialis*.

L'espèce *Mytilus galloprovincialis* est un mollusque bivalve rencontré dans les moulières naturelles sur des substrats rocheux de l'étage médiolittoral inférieur ou de l'infra-littoral supérieur.

Ces mollusques bivalves sont des consommateurs primaires peu mobiles, capables de concentrer de large volume d'eau par unité de temps, et sont relativement insensibles vis-à-vis des phycotoxines (Bricelj & Shumway 1998) ceux sont des bioaccumulateurs de toutes sortes de pathogènes ; leurs consommations peuvent avoir des conséquences sur la santé humaine car elles sont de bons vecteurs de transmission des toxines aux autres maillons de la chaîne alimentaire, dont l'homme (Choi *et al.*, 2006, Kvitek *et al.*, 2008) ce qui peut présenter des risques sanitaires aux consommateurs lors de la consommation des moules.

Notre présent travail a pour objectif : le contrôler la qualité microbiologique et toxicologique de la moule *Mytilus galloprovincialis* provenant de la moulière naturelle de bateau cassé et celle d'élevage de la ferme "ORCA marine".

Chapitre I
Généralité

I. Étude bibliographique

I.1. Présentation de l'espèce

La moule est un animal aquatique vit en colonies sur les roches auxquels elles se fixent par des filaments qu'elles sécrètent : le byssus. Elles se déplacent en rompant, les fils du byssus se fixent en sécrétant d'autres.

Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) moule de Méditerranée ou moule d'Espagne (Figure 1) vit surtout en Méditerranée, sur les côtes Atlantiques, et jusque sur certains sites de la Manche (Ferra, 2008).

I.1.1. Caractères et taxonomie

Les moules appartiennent à la classe des bivalves ou lamellibranches (Tableau 1) caractérisée par la présence de deux coquilles secrétées par les deux lobes du manteau et à l'ordre des Filibranches en raison de la structure de leurs branchies qui sont constituées de filaments réfléchies et unis par des touffes de cils (Abada-Boudjema, 1983). Les moules font partie de la famille des mytilidés caractérisés par deux valves égales, un ligament presque toujours externe, une charnière sans dent (ou avec des dents très réduites), un pied allongé et un byssus. Le genre *mytilus* extrêmement répandu dans le monde renferme plusieurs espèces dont *Mytilus galloprovincialis* (Marteil, 1976).

Mytilus galloprovincialis est une espèce qui a été décrite d'une manière précise, en se basant sur les critères morphologiques, par Pallary (1921) (Tableau 2). Cependant il est difficile de la différencier, sur le plan anatomique, de *mytilus edulis*, bien que de nombreux auteurs (List.1902, Lubet.1959, Ricci.1959 et Seed. 1971), considèrent qu'il s'agit de deux espèces différentes alors que d'autres, estiment que *M. galloprovincialis* est une sous-espèce de *M. edulis* (Bouxin.1956, Barzoti et Meluzzi.1968 in Chebab, 1996). Lubet(1959) a dressé un tableau de critères permettant de différencier à l'œil nu l'espèce *M. galloprovincialis* de l'espèce *M. edulis* (Tableau 2). Par la suite, Gosling (1984), et Brock (1985) ont abouti par des études génétiques et immunologiques à l'hypothèse de l'existence d'une même espèce dont la forme varie considérablement.

Tableau 1: taxonomie de la moule *Mytilus galloprovincialis* (source : www.zipcodezoo.com ; it.is.gov)

Embranchement	Mollusques (Linnaeus, 1758)
Classe	Lamellibranche (Linnaeus, 1758)
Sous-classe	Metabranchia
Ordre	Fillibranchia
Sous ordre	Pteriomorpha (Beurlen, 1944)
Super famille	Mytiloidae (Ferussac, 1822)
Famille	Mytilidae (Rafinesque, 1815)
Sous famille	Mytilinae
Genre	Mytilus (Linnaeus, 1758)
Espèce	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck, 1819)



A



B

Figure 1: *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). (Source : <http://www.discoverlife.org>)

A: vue extérieure des coquilles, **B:** vue intérieure des coquilles,

C : empreinte musculaire en forme de 6.

Tableau 2 : Critère de différenciation entre *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus edulis* selon divers auteurs (Chebab, 1996) :

Espèce	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		<i>Mytilus edulis</i>
Auteurs	Pallary 1921	Lubet 1959	Lubet 1959
Critères			
Forme générale (Figure 1)	Trigone dilaté à la base		
Coloration intérieur de la coquille	Gris bleuté à violacé, blanchâtre sous les crochets et irisé de reflet nacrés		
Impression musculaire postérieure	En forme de 6 (six)		
Charnière	Trois dents cardinales en rapport avec chaque valve		
Face externe de la coquille		De couleur noire homogène	De couleur noire, présentant des bandes longitudinales violacées en absence de periostracum
Région postérieure du manteau		De couleur noire violacée	De couleur blanche brunâtre
Muscle adducteur antérieur		Gros, à insertion peu latérale	Petit, à insertion latérale

I.1.2.Morphologie et Anatomie

I.1.2.1. Morphologie

– Aspect extérieur (Figure 2)

La coquille plus ou moins renflée, possède une extrémité pointue et l'autre arrondie, elle comprend deux valves unies par un ligament situé le long de la charnière dorsale. La partie antérieure du mollusque correspond à l'extrémité rétrécie (le crochet) de la coquille, la partie postérieure à la région arrondie. À partir du crochet, on peut observer de fines stries concentriques qui sont des stries d'accroissement, représentant les étapes de la croissance de l'animal. La couleur, généralement bleu noire, peut être toutefois brune, voire jaune (Marteil, 1976).

La taille commune de la moule varie entre 5 et 8 cm ; avec un maximum de 15 cm (Boudjema et Ourari, 2005).

- Aspect intérieur

L'intérieur des valves est d'un bleu ardoisé très foncée, presque noire vers les bords postérieurs et presque blanche sous les crochets (Figure 1) (Djediat, 1993) on peut distinguer les points d'insertion des différents muscles : les muscles adducteurs, les muscles réacteurs du pied, etc. L'insertion des fibres musculaires qui relèvent les bords libres du manteau se traduit par une ligne ou impression parallèle qui joint les impressions des adducteurs. (Marteil, 1976)

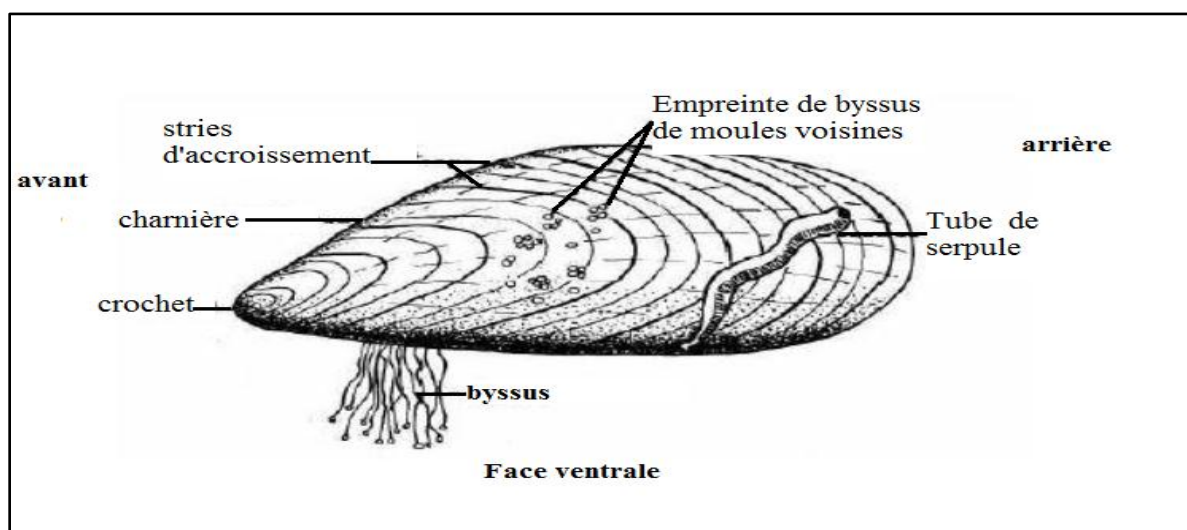


Figure 2 : Schéma représentant la face externe de la moule, valve gauche (Villeneuve, 1965)

I.1.2.2. Anatomie interne (Figure 3)

I.1.2.2.1. Charnière et ligament

La charnière est réduite. Le ligament offre l'aspect d'une étroite bande brunâtre qui court le long de la charnière. Il est essentiellement formé de conchyoline (substance apparentée à la chitine) et est constitué d'une partie externe qui est étirée lors de la fermeture des valves et d'une partie interne que cette fermeture comprime. Ces deux couches, par leur élasticité, tendent à provoquer l'ouverture de la coquille (Marteil, 1976).

I.1.2.2.2. Le corps

❖ Manteau

Il présente deux lobes qui adhèrent étroitement au corps dans la région dorsale. Le manteau joue un rôle dans la circulation de l'eau au niveau des branchies, il participe à la respiration, il assure la formation de la coquille, sa calcification et la sécrétion du ligament (Marteil, 1976).

❖ Muscles adducteurs

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

❖ Pied

Le pied est une saillie musculaire située au-dessous de la masse viscérale (figure 4). Sa grande mobilité est due à l'existence de deux systèmes de faisceaux musculaires, l'un inséré sur les valves, l'autre sans rapport avec elles. (Marteil, 1976).

❖ Byssus

Le byssus est constitué de nombreux filaments terminés par un disque adhésif. Leurs résistance est considérable ; toutefois, la moule peut les rompre les uns après les autres, ce qui lui permet de se déplacer sur son support et de se refixer un peu plus loin. (Marteil, 1976).

❖ Les branchies

Les branchies ou cténidies sont une caractéristique majeur des lamellibranches, elles consistent en deux grands organes en feuilles opérants deux séries de phénomènes, la respiration et la filtration de la nourriture à partir de l'eau. (Helm et *al.*, 2006).

Elles sont au nombre de deux reliées à la masse viscérale par l'intermédiaire de l'axe branchial, chacune est constituée de deux rangées de filaments aplatis, ces filaments se dirigent vers la face ventrale du mollusque (branche directe ou descendante), se recourbent brusquement, puis remontent vers la face dorsale (branche réfléchie ou ascendante)

Les filaments sont tous semblables et disposés en séries uniformes (branchies « lisses »).

(Marteil, 1976).

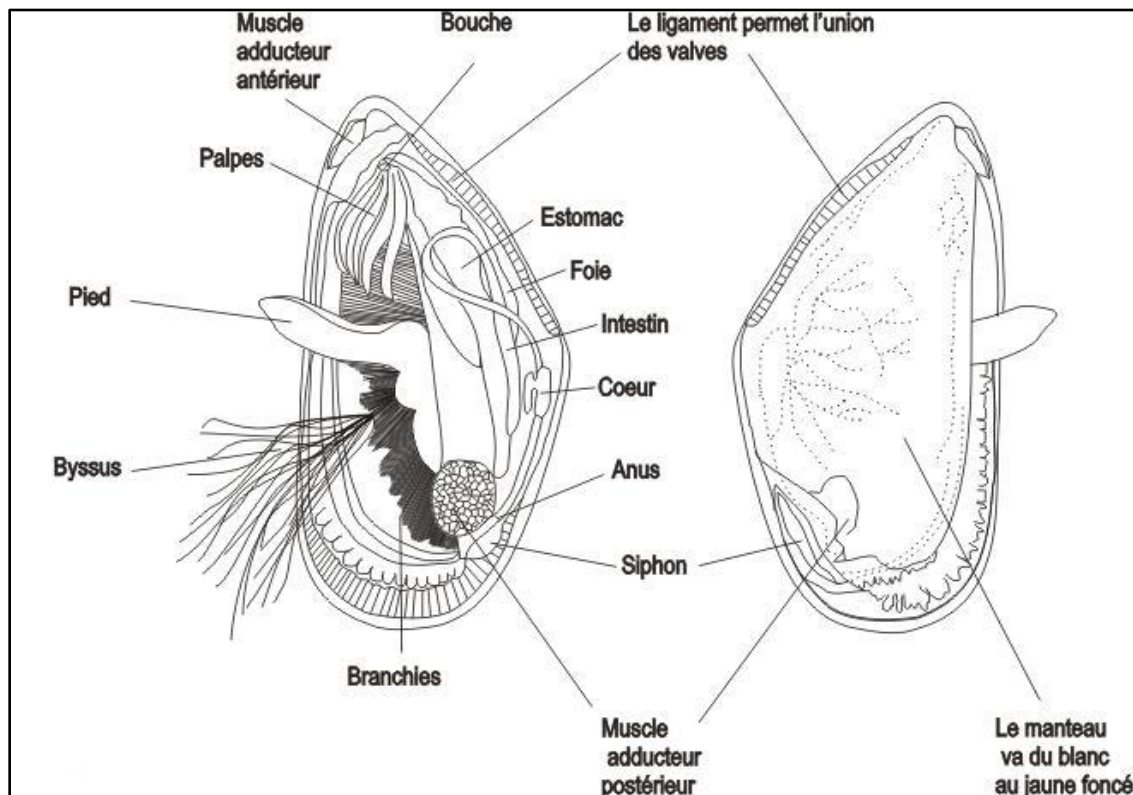


Figure 3 : Anatomie interne de la moule (Marteil, 1976)

I.1.3. Physiologie de la moule *M. galloprovincialis*

I.1.3.1. Alimentation (Figure 4)

La moule *mytilus galloprovincialis* comme la plus part des mollusques bivalves, est un suspensivore, elle consomme les particules en suspension dans l'eau filtrée par ses branchies (Roberts *et al.*, 1995). La moule ingère la plupart des particules présentes dans le milieu qui l'entoure : diatomées, dinoflagellés détritiques organiques, bactéries, flagellés et protozoaires divers, spores, fragment d'algues, débris inorganique (Marteil, 1976).

La moule utilise son appareil branchial pour filtrer les particules en suspension. La collecte des particules en suspension dans l'eau est assurée par les branchies. Une fois captées, ces particules sont dirigées vers les sillons marginaux (jonction des branches directes et réfléchies des filaments branchiaux) ou dorsaux (extrémités des branches réfléchies) et convoyées vers les palpes labiaux et la bouche. La digestion, presque exclusivement intracellulaire, a lieu dans les cellules des tubules digestifs et dans les phagocytes du sang. Les éléments non digérés sont rejetés avec les fèces. (Marteil, 1976).

Selon Barnabé (1989) la vitesse de filtration est définie par la quantité de l'eau exprimée en litre, épurée à 100 %, par heure, par individu ou par gramme de poids sec.

La moule peut filtrer l'eau pendant 18,5 à 24 heures par jours sans interruption avec une vitesse moyenne de 20 L/h (Tableau 3). Cependant, la durée et le temps de filtration varient en fonction des différents paramètres à savoir : la température, la salinité, l'oxygène dissous, la concentration et la nature des éléments en suspension. (Marteil, 1976).

Tableau 3 : Taux de filtration de certains mollusques bivalves (Guillaud et Romana., 1996)

Espèce de bivalves	Volume d'eau filtrée	
	Litre/heure/gramme chair	de Litre/heure/kg d'animal vivant (estimation)
Moules	3,5 à 13	175 à 650
Coques	3,5 à 9	140 à 360
Huître creuses	4 à 5,5	100 à 150
Palourdes	< 3	< 150

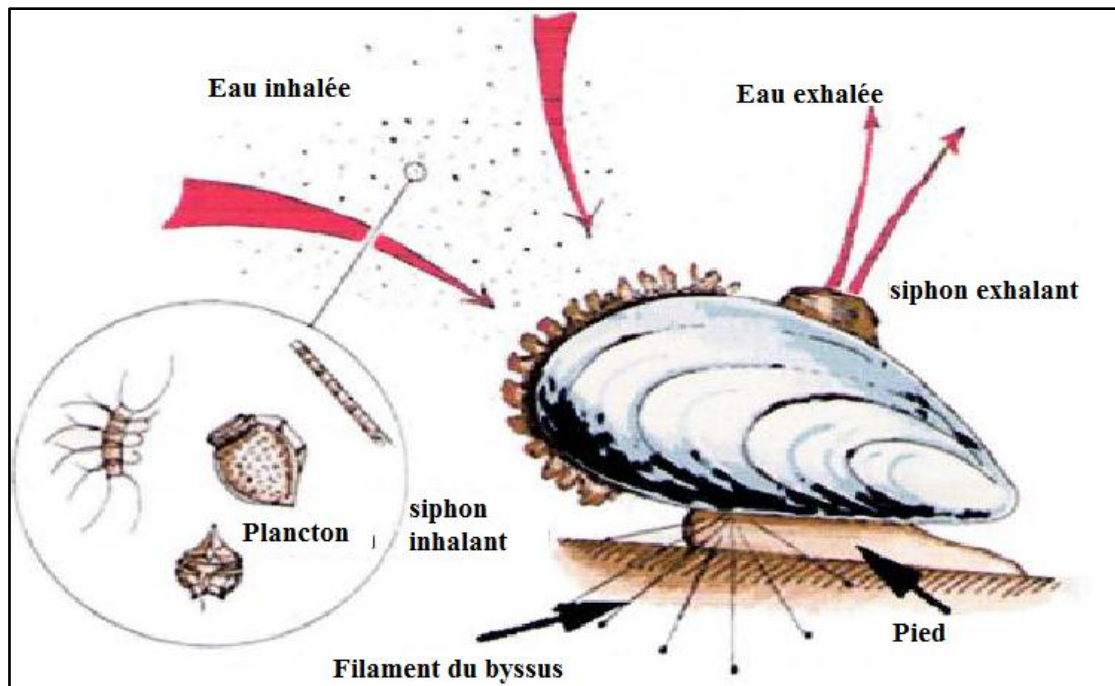


Figure 4 : Nutrition et respiration chez la moule (Lars-Ove Loo, 2000).

I.1.3.2. les principaux systèmes de la moule

La moule compte pour sa survie sur six systèmes :

- ❖ **Le système digestif** Représenté par une bouche située à la partie antérieure du corps et l'œsophage très court, débouche sur l'estomac.
- ❖ **Le système circulatoire** Le cœur, situé sur la face dorsale du corps, comprend deux oreillettes et un ventricule : il est entouré d'une mince membrane transparente : le péricarde (membrane séreuse, formé de deux feuillets, qui enveloppe le cœur).
- ❖ **Le système excréteur** Comprend deux reins, disposés de chaque côté du corps entre le péricarde et le muscle adducteur postérieur et des glandes péricardiques auriculaires qui sont particulièrement développées chez la moule et entourent les oreillettes.
- ❖ **Le système nerveux** C'est un système rudimentaire représenté par trois paires de ganglions.
- ❖ **Le système reproducteur** Chez la moule, la glande génitale ou gonade s'étend de façon diffuse dans le manteau.
- ❖ **Le système respiratoire** les branchies ont une double fonction; la respiration et l'alimentation. Toutefois, le manteau participe aussi à la respiration grâce à un

échange direct de gaz avec l'eau de l'environnement (Marteil, 1976). La moule respire en extrayant une partie de l'oxygène qui est dissous dans l'eau circulant entre ces lamelles. De nombreux vaisseaux sanguins minuscules y extraient l'oxygène tout en rejetant les déchets gazeux de CO₂ (Bayan *et al.*, 1976 in pelvin 2000)

I.1.3.3. Cycle de reproduction

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

L'âge de la première reproduction est atteint très tôt, vers 6 à 8 mois quand les conditions sont favorables. La fécondation donne naissance à une larve véligère en 24 heures qui reste pélagique pendant une durée de 3 à 5 semaines en fonction de la température de l'eau. Cette larve secrète très tôt une coquille rudimentaire et transparente. Au moment de la métamorphose, la jeune moule tombe sur le fond et se fixe à l'aide de son byssus. Elle se transforme en un individu semblable à l'adulte au bout de 2 mois. (Lern, 2004).

I.1.3.4. Croissance

La croissance des moules dépend principalement de la richesse en éléments nutritifs du milieu dans lequel ils vivent et des possibilités qu'ils ont d'utiliser cette richesse. Divers facteurs tels la température, la salinité, le pH, la turbidité et le temps d'émersion, agissent sur le rythme de la filtration ou sa durée. (Marteil, 1976)

I.1.4. Écologie

I.1.4.1. Répartition géographique (Figure 5)

Selon Lubet (1959), *Mytilus galloprovincialis* est dite lusitano-mauritanienne, elle est présente en Mer Noire, en Adriatique, en Méditerranée, sur les côtes du Portugal, les côtes atlantiques de l'Espagne, de France, en Manche occidentale, elle est récoltée aussi en Grande Bretagne (Lubet, 1973). Sur les côtes de l'atlantique Marocain, elle est présente à partir de la baie d'Agadir (Naciri, 1998). *Mytilus galloprovincialis* est présente aussi à L'Ouest de l'Afrique du Sud (Crant et Chery 1985, in Chebab, 1996), sur les côtes Japonaises (Hosomi,

1978 in Djediat, 1993), la nouvelle Zélande et la Californie (Mcdonald et Koehn, 1991 in Naciri, 1998). Les aires de répartitions sont reportées au niveau de figure 5 en rouge pour les régions où l'espèce est la plus abondante et en jaune pour les endroits de faible abondance et où la présence est peu probable.

I.1.4.2 Répartition bathymétrique

Fixée par son byssus sur des fonds très variés durs (rocheux graveleux) ou même meubles (sableux, vaseux), dans des zones littorales et à faible profondeur, elles forment souvent des communautés denses (Poutiers, 1993 in Bensam et Behloul, 2009).

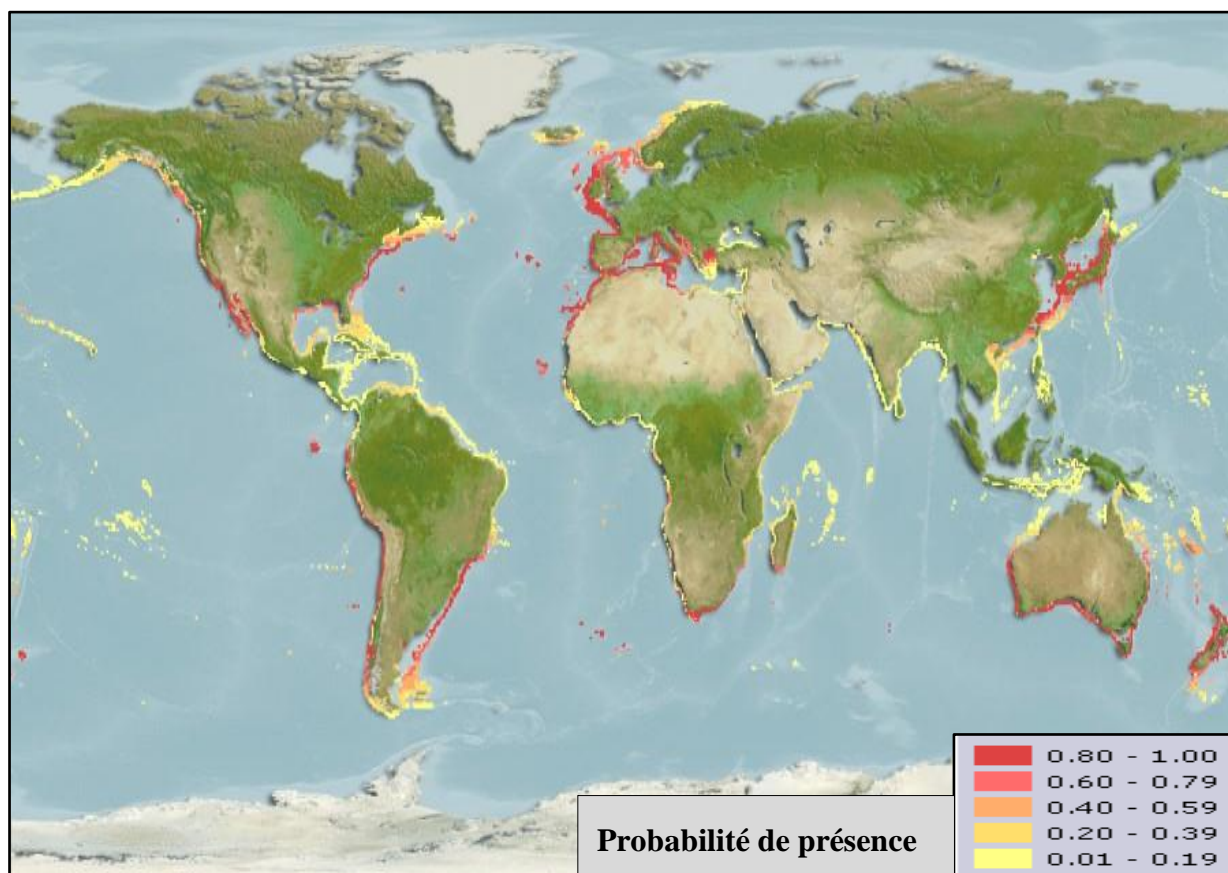


Figure 5 : Répartition géographique de *Mytilus galloprovincialis*
<http://www.aquamaps.org/receive.php>

I.1.5. Valeur nutritive

Les moules constituent pour l'homme, une source de nourriture ; en raison de leur contenance en nutriments important: Phosphore, Fer, Zinc, Sélénium, Vitamine B1 (Thiamine), Vitamine B2 (riboflavine) et Vitamine B12 (une portion de 100 g de moules comble dix fois les besoins quotidiens en vitamine B12) et en éléments moins importants

comme : Cuivre, vitamine B3 (niacine), Acide folique. Manganèse, Iode et Acide pantothénique (vitamine B5). Elles présentent aussi des teneurs intéressantes en protéines, glucides et lipides (Saoudi, 2009) (Tableau 4)

Tableau 4 : La valeur nutritive d'environ 100g de moule (Anonyme, 2005).

Poids/ Volume	<i>Mytilus galloprovincialis</i> , 100g (environ 12 moules moyennes)
Calories	172
Protéines	23.8g
Glucides	7.4g
Lipides	4.5g
Fibres alimentaires	0.0g

I.2. La conchyliculture

La conchyliculture est la plus ancienne des activités aquacoles (Barnabé, 1991). La mytiliculture est l'une des branches de la conchyliculture qui désigne l'élevage des moules, elle se fait dans les eaux côtières, soit en surface, où les jeunes moules sont répartis sur terrains océanique situés dans la zone de balancement de la marée (la culture à plat ou la culture sur les bouchots), ou dans des eaux peu profondes (culture en suspension: la table mytilicoles, la soucoupe balastable, et les filières). La légende attribue le premier élevage de moule à un naufragé Irlandais Patrice Walton, réfugié dans la baie de l'Aiguillon cherchant à attraper des oiseaux, il posa des filets tendus sur des perches (Marteil, 1979).

I.2.1. La mytiliculture en Algérie

L'aquaculture algérienne est en phase de démarrage en matière de production, actuellement la conchyliculture est pratiquée par un opérateur privé, produisant quelques dizaines de tonnes de moules méditerranéennes et d'huîtres creuses du Pacifique. (FAO, 2010)

En perspective du développement de cette branche d'activité très lucrative ou l'investissement est relativement peu onéreux par rapport à d'autres activités aquacoles, le ministère de la pêche et des ressources halieutiques a mis en place un programme répartie sur 05 zones de productions et prévoit l'installation de 25 exploitations de conchyliculture en mer ouverte (Boutouchent et Mila, 2005). Le MPRH (ministère de la Pêche et des Ressources halieutiques) Algérien a donné en 2007, des prévisions pour la production conchylicole (Tableau 5), cependant jusqu'à l'heure actuelle, ces objectifs n'ont jamais été atteints.

Tableau 5 : Objectifs de productions tracées par les fermes conchylicoles en Algérie

Wilayas	Sites	Objectifs de production annuelle
Alger	Ain Chrob	50 T de moule et huître
Alger	Ain Chrob	50 T de moule en démarrage
Tipaza	Ain Tagourait	50 T de moule
Tipaza	Gouraya	50 T de moule
Tlemcen	Maârouf	50 T de moule

I.2.2. Importance de la mytiliculture

❖ Importance économique

Les moules peuvent constituer une source de protéines bon marché, elles sont de plus en plus consommées crues ou cuites, il est facile d'en faire des conserves et elles entrent dans la fabrication de plats cuisinés (Lubet et Dardignac, 1976 in Petersen *et al.*, 2010), ce qui fait de la moule l'espèce la plus largement cultivée en aquaculture, avec une production globale en 2006 de 1.8 million de tonnes et évalué à plus de 1.2 milliards de Dollar US (FAO, 2008 ; Petersen *et al.*, 2010).

❖ Importance écologique

L'élevage des bivalves joue un rôle crucial dans les écosystèmes côtiers, en raison des interactions écologiques entre les stocks cultivés et leur environnement, (Dowd 2005 in Thomas *et al.*, 2006). La conchyliculture, un facteur de diminution de la matière organique en suspension contribue au maintien d'un équilibre trophique et à réguler le développement des blooms phytoplanctoniques et d'éclaircissement des eaux (Berger, 2007).

Les moules ont déjà été largement utilisées lors de programmes de surveillance de la qualité des eaux littorales (le RNO, Réseau National d'Observation de l'IFREMER; le Mussel Watch, le programme européen BIOMAR, “*Biochemical Markers of Environmental Contamination in Marine Ecosystems*”). (Devier, 2003).

I.2.3. La production

Selon la FAO en 2008, la conchyliculture représentait 24,9% de la production aquacole mondiale avec une production de 13 millions de tonnes (en stagnation par rapport à 2007) pour un chiffre d'affaires de 13.2 milliards de dollars US. (FAO, 2010)

La conchyliculture est essentiellement asiatique, mais elle est présente sur les autres continents, à l'exception de l'Afrique (pour des productions significatives). Les principales espèces composant la production de mollusques en 2008 étaient les huîtres (31,8 pour cent), les palourdes et les clams (24,6 pour cent), les moules (12,4 pour cent) et les pétoncles (10,7 pour cent). Globalement, la production de mollusques a augmenté à un rythme moyen de 3,7% par an entre 2000 et 2008. (FAO, 2010).

La production mondiale de la moule *mytilus galloprovincialis* en 2010 est de 107 488 tonnes avec un chiffre d'affaire de 106 275 000 de dollar US. La production algérienne est de 4 tonnes (Figure 6 et 7) pour un chiffre d'affaires de 13 000 Dollars US qui reste très timide par rapport à une très grande superficie de littoral.

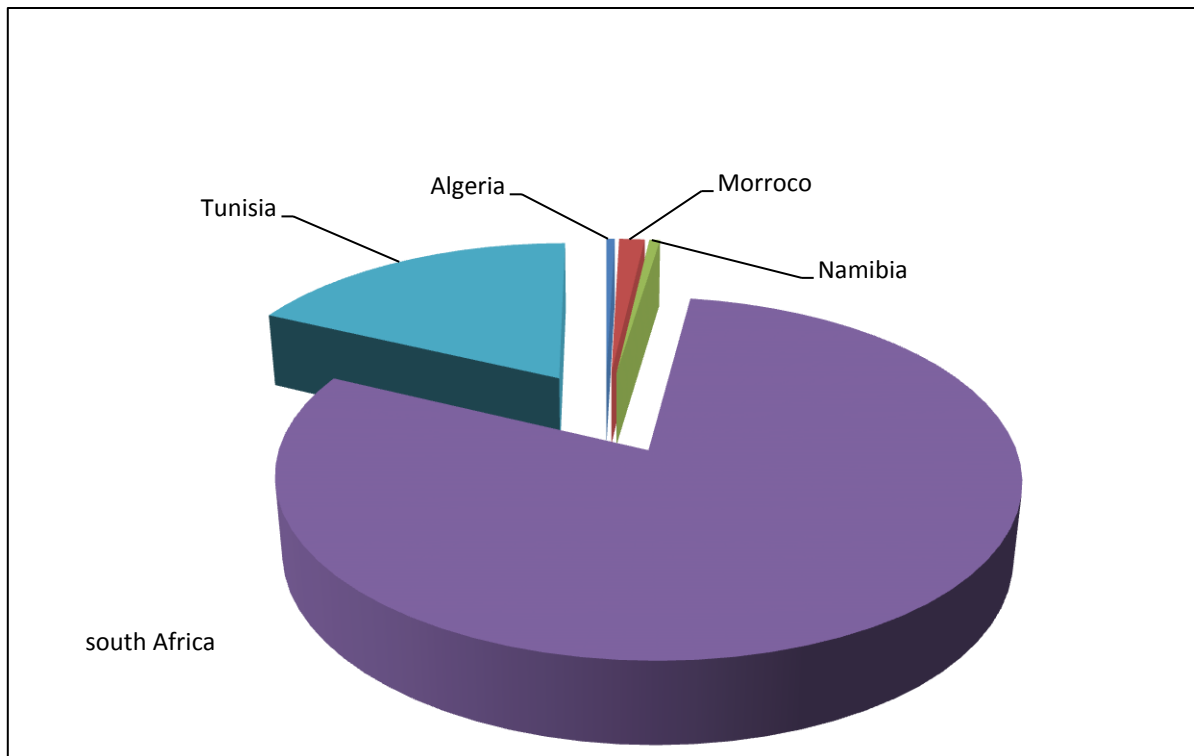


Figure 6: les pays producteur de *M. galloprovincialis* en Afrique. (D'après l'FAO, 2010)

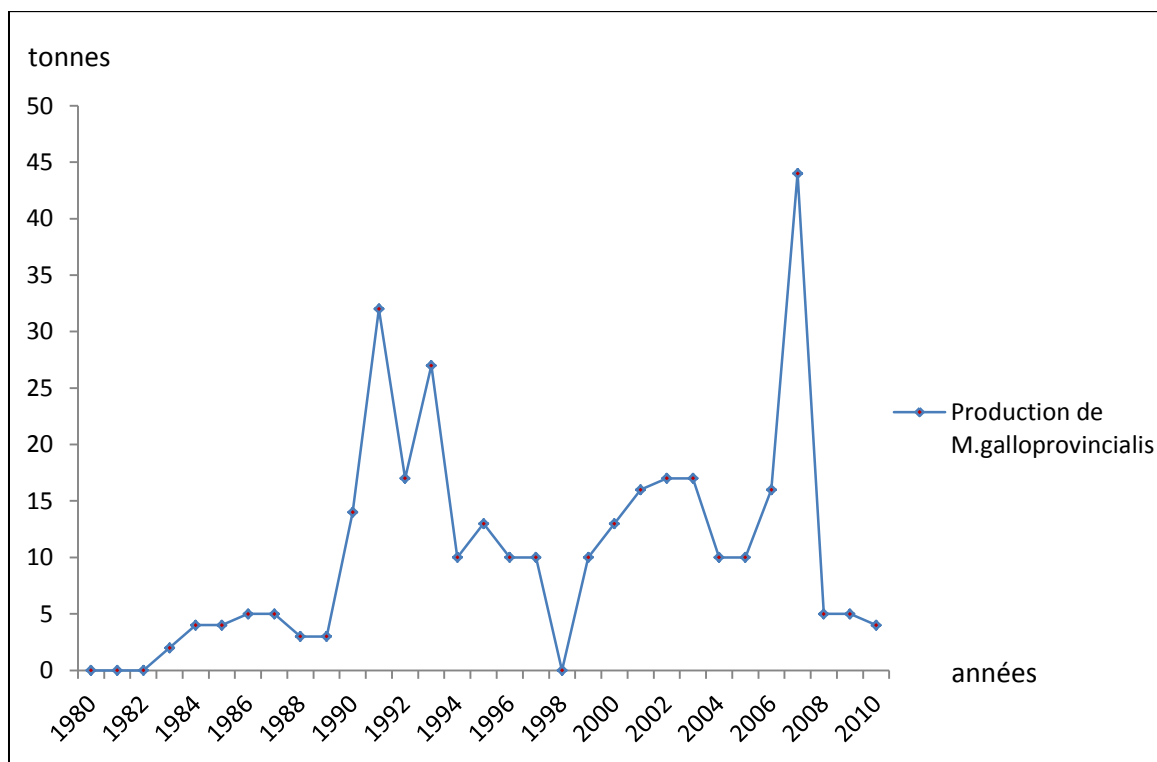


Figure 7: Évolution de la production de *M. galloprovincialis* en Algérie. (D'après l'FAO, 2010)

I.3. Les risques sanitaires liés à la consommation des coquillages

Les bivalves dans le milieu marin jouent un rôle de « piègeur » de bactéries en raison de leur capacité de filtration importante. Cette accumulation de bactéries dépend de la nature des germes et de l'état physiologique des bivalves (Guillaud et Romana, 1996).

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

L'ingestion des moules peut représenter un danger pour la santé de l'homme. Ces accidents d'origines bactériennes ou virales résultent soit par la contamination directe des moules due aux eaux polluées dans lesquelles elles vivent (causé par les rejets des eaux usées, les réseaux d'égouts, les déchets des hôpitaux et des usines sans traitement au préalable), soit lors du transport, de la manutention ou de la préparation du fruit de mer en vue de la consommation. Elles peuvent provoquer des diarrhées et des hépatites, D'autres troubles peuvent affecter l'appareil respiratoire et circulatoire, le système nerveux ou le squelette.

Les premiers cas d'intoxication ont été signalés en 1793 en Colombie anglaise, où plusieurs membres d'un équipage ayant consommé des moules cueillies dans un port furent pris quelques heures après de troubles, entraînant la mort de certains d'entre eux (Cerbom, 1964). Ce n'est qu'en 1890 que Cameron avait pour la première fois soupçonné les moules comme source possible de typhoïde (Quillien, 1980). La consommation des moules non contrôlée a entraîné en 1980, dans la région du Languedoc-Roussillon, plus de deux mille cas d'intoxication (Vivares, 1991).

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

Le tableau 6 résume les risques sanitaires dus à des germes liés à la consommation de moules infectées

Tableau 6 : les principales maladies causées par la consommation des fruits de mer (Sutra *et al.*, 1998 ;Singleton , 1999)

Maladies	Micro-organismes responsables	Symptômes	Site d'attaque	Durée totale de TIA d'origine	Véhicule de transmission	Hôte	réservoir
Gastro-entérite	<i>E. coli</i> Entérotoxigène (ETEC)	-Diarrhée liquide non sanguinolente -Crampe légère, nausées peu de fièvre	Intestin	De 3 jours à 3 semaines	Coquillage ou fruit de mer	Enfants moins de 4 ans et personnes âgées	Matières fécales humaines
	<i>E. coli</i> Entéro-hémorragique (EHEC)	-vomissements, crampes abdominales, -Diarrhée très liquide contenant uniquement du sang, pas de fièvre, parfois la mort.	Système nerveux central, intestin, cø ur, rein	< 24 h	Coquillage ou fruit de mer		Matières fécales humaines
	<i>E. coli</i> Entéro-pathogène EPEC	Des graves diarrhées liquides, nausées, vomissement, crampes abdominales, céphalites et fièvre.	Intestin, parfois l'intestin grêle	2 semaines	Coquillage ou fruit de mer	nourrissants	Matières fécales humaines
salmonellose	Salmonelle	Diarrhée, fièvre, douleurs abdominales et vomissement	Voie gastro-intestinal, intestin grêle, le gros intestin	10 jours et 24 jours	Coquillage	Personnes âgées	Tube digestif de mammifères y compris l'homme
Toxi-infection alimentaire rare	Streptocoque fécaux		Voie gastro-intestinal, intestin grêle, le gros intestin		fruit de mer	Enfants et personnes âgées	

I.4. Les paramètres bactériologiques

I.4.1. La flore bactérienne marine

Dans les écosystèmes aquatiques, les organismes les plus nombreux sont les bactéries. Leur rôle est fondamental dans l'équilibre écologique des milieux aquatiques, principalement par la régulation des cycles biogéochimique et énergétique (Bianchi *et al.*, 1989).

Les bactéries marines diffèrent physiologiquement de celles qui ont des habitats non marins ; elles sont très adaptées aux conditions très spéciales offertes par le milieu marin (salinité, pH, oxygénation réduite, basses températures et des pressions souvent considérables) (Morita et Colwell, 1974).

Dans le milieu marin, les bactéries servent de nourriture à de nombreux organismes marins, elles favorisent la fixation d'algues ou de larves sur certains substrats, elles permettent également la dégradation de certains polluants tels que naphthalène, pesticides, cellulose, hydrocarbures, etc. Cependant, leur effet peut être nuisible. Certaines bactéries ont la capacité de concentrer des polluants tels que les métaux lourds (mercure) ; leur consommation par des mollusques filtreurs ou des vers peut contaminer la chaîne alimentaire (Equinox, 1990).

La composition de la microflore commensale chez les bivalves est conditionnée par les conditions de l'environnement dont la température, la salinité et l'oxygène, sont les paramètres les plus importants. Cette flore saprophyte généralement non pathogène est représentée chez les bivalves par les genres : *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* et *Vibrio*. L'exploitation côtière des bivalves reflète les influences terrestres qui engendrent la présence d'autres bactéries d'origine anthropique tels que les entérobactéries et les entérocoques (China *et al.*, 2003).

Ces bactéries ont à la fois un rôle en pathologie et un intérêt épidémiologique (Brisou et Denis, 1978 ; Ghautier et Pietri, 1989).

I.4.2. Germes indicateurs de contamination fécale

Les indicateurs de contamination fécale permettent d'apprécier, avec plus ou moins de sûreté ou de précocité, le risque d'une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer des microorganismes pathogènes qui regroupent des coliformes, des *Escherichia coli* et des entérocoques (Rodier *et al.*, 2009).

I.4.2.1. Les coliformes totaux (CT)

Sous ce terme est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et qui partagent certaines caractéristiques biochimiques. La définition suivante a été adoptée par l'Organisation internationale de standardisation (ISO). Le terme « coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, Gram négatifs, oxydase négatifs, 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 d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C. Les coliformes comprennent entre autres les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*.

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. (RODIER *et al.*, 2009). 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).

I.4.2.2. Les coliformes fécaux (CF)

Le groupe des coliformes fécaux comprend entre autres les espèces suivantes: *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Moellerella wisconsensis*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*. (RODIER *et al.*, 2009)

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (Barthe *et al.*, 1998; Edberg *et al.*, 2000).

Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe *et al.*, 1998; OMS, 2000).

C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS, 1994; Robertson, 1995).

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

I.4.2.3. *Escherichia coli*

Le terme « *E. coli* » correspond à des coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C, ont les caractères biochimiques propres à cette espèce. La présence d'*Escherichia coli* dans une eau (comme dans un aliment) représente le meilleur indice de contamination fécale d'origine humaine ou animal. En effet, *E. coli* ne fait pas partie de la flore microbienne du sol et des eaux, mais de celle de la partie terminale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. Cependant, c'est un germe très sensible aux conditions hostiles de l'environnement. Il est considéré comme un très bon indicateur de contamination fécal récente (OMS, 2000 ; Rodier et al, 2009).

I.4.2.4 *Enterococcus*

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

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

Buttiaux (1958) a souligné l'intérêt de l'association «*Escherichia coli*- *Enterococcus faecalis*» Dans la recherche des contaminations alimentaire. Ces germes, hôtes habituels de l'intestin de l'homme et des animaux, constituent un excellent indice de souillure fécale.

I.4.3. germe pathogène

I.4.3.1. *Salmonella*

Les *Salmonelles* sont des Entérobactéries bacilles, asporulées, Gram-, mobiles grâce à une ciliature péritriche, oxydase-, aéro-anaérobies facultatives, lactose -, -galactosidase -, uréase -, indole-, H₂S+, citrate+ (Guiraud, 1998). Elles possèdent des antigènes dits (O), (H) et (Vi) qui permettent la classification sérologique de ces bactéries. Les *Salmonelles* 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'aquaculture (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 sérovars. 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).

I.4.4. Contexte réglementaire régissant la production des coquillages

Selon les normes en vigueur fixées par l'article 7 de l'arrêté du 30 mai 1997 correspondant au 8 juin 1997 par le ministère de l'agriculture et de la pêche (Tableau 7), les indicateurs de contamination retenus sont les coliformes fécaux, *Escherichia coli* et *Salmonella*, à raison de deux échantillons par an.

Les valeurs représentées dans le tableau 7, sont les valeurs guides et impératives pour chaque germe.

Tableau 7: Critères microbiologiques des zones de production conchylicole (Joradp, 1997).

Classes	Critères microbiologiques	Conditions et modalités
Zone A Salubre	90% des valeurs < 300 C.F. ou < 230 <i>E.coli</i> / 100g* et jamais > 1000	Les coquillages vivants sont récoltés et consommés directement sans passage par un centre de purification.
Zone B peu contaminée	90% des valeurs < 6000 C.F. ou 4600 <i>E.coli</i> / 100g* et jamais > 60000 ou 46000 <i>E.coli</i> /	Les coquillages vivants doivent subir un repassage dans une zone salubre pendant 1 à 2 mois ou bien on les met dans un centre de purification pendant 24 à 48h.
Zone C fortement contaminée	90% des valeurs < 60000 C.F. ou 46000 <i>E.coli</i> / 100g*	Les coquillages vivants sont mis au centre de purification pendant plus de 48 h ou bien dans une zone salubre pendant 2 mois.
Zone D Interdite	Zones de production ne satisfaisant pas aux conditions exigibles pour un classement A, B ou C, ou n'ayant pas fait l'objet d'une étude de zone : zones portuaires, zones de rejet d'effluents.	Les coquillages ne doivent pas être récoltés ni consommés (exploitation interdite).

* par 100 g de chair et de liquide intervalvaire.

1.5. Les Biotoxines

Les phycotoxines sont des métabolites secondaires synthétisés par quelques espèces appartenant à deux classes de phytoplancton toxinogènes : les dinoflagellés et les diatomées. Leurs efflorescences peuvent alors être directement toxiques pour la faune marine, soit toxique pour les consommateurs via les coquillages ou les poissons. (Amzil *et al.*, 2001)

Les algues microscopiques planctoniques constituent la nourriture de base pour un bon nombre d'organismes vivants des océans, notamment pour les bivalves filtreurs commercialisés (moules, huîtres, coquilles Saint-Jacques et palourdes) ainsi que pour les larves de crustacés et de poissons. Dans la plupart des cas, les proliférations ou les efflorescences algales sont bénéfiques pour la faune et l'aquaculture. Toutefois sous certaines conditions hydrologiques et climatologiques, des espèces peuvent se développer si intensément qu'elles en arrivent à modifier la couleur apparente de la surface des mers et à conduire à des épisodes d'eaux colorées (Reizopoulou *et al.*, 2008).

L'origine algale de certaines intoxications faisant suite à la consommation de produits de la mer n'a été découverte qu'en 1937 par Sommer et Meyer pour les toxines paralysante PSP (paralytic Shellfish poisoning) et en 1979 pour la ciguatera (Yasumoto *et al.*, 1979). Depuis les années soixante-dix, on observe une augmentation globale du nombre d'épisodes toxiques liés aux phycotoxines (Hallegraeff 1995, Bricelj & Shumway 1998a, 1998b).

Les empoisonnements les plus communs sont liés à l'ingestion de la toxine PSP (paralytic Shellfish poisoning) qui dans des cas extrêmes peut entraîner la mort par paralysie respiratoire (Gallacher et Smith, 1999), la toxine DSP (Diarrhetic Shellfish poisoning) qui cause des troubles gastro-intestinaux sévères et la toxine ASP (Amnesic Shellfish poisoning) qui peut conduire à des dommages cérébraux permanents avec des pertes de mémoire (Quilliam, 1999). Au cours de cette étude nous nous sommes intéressées aux toxines paralysantes et aux toxines diarrhéiques.

I.5.1. Les toxines diarrhéiques DSP (diarrhetic shellfish poisoning)

L'appellation « toxines diarrhéiques » comprend différents composés qui sont des polyéthers cycliques, moyennement polaires (liposolubles) se répartissant en trois familles : les dinophysistoxines (DTXs) à fonction acide carboxylique dont la principale est l'acide okadaïque, les pecténotoxines (PTXs) et les yessotoxines toxines sulfatées. (Amzil *et al.*, 2001)

Dans les années soixante, un premier cas d'intoxication gastro-intestinale d'origine non bactérienne, à la suite de la consommation de mollusques bivalves a eu lieu au Pays Bas (Kat 1979). Ce phénomène s'est reproduit en 1971, 1976, 1979 et 1981 avec, à chaque fois, la présence de *Dinophysis acuminata* dans le tractus digestifs des moules contaminées.

Cependant, ce n'est que dans les années soixante-dix qu'un lien a été établi entre la toxicité des mollusques bivalves et la présence de *Dinophysis fortii*, suite à l'intoxication de 150 personnes (Yasumoto *et al.*, 1978, Yasumoto *et al.*, 1980).

L'élucidation de la structure de l'agent actif : la dinophysistoxine (DTX-1) a été effectuée à la suite de l'isolement et de l'identification de la molécule active l'acide okadaïque (AO) (Figure 8), extrait et purifié à partir des éponges *Halichondria okadai* (côtes japonnaises) et *H. melanodocia* (côtes de Floride) (Tachibana *et al.*, 1981).

L'AO est substitué en DTX1 (dinophysistoxines) ou DTX2, il peut provoquer chez le consommateur de coquillages contaminés, une intoxication dont les effets apparaissent en

moins de douze heures après ingestion et peuvent durer trois jours. Les principaux symptômes sont des diarrhées, douleurs abdominales, nausées et vomissement.

L'OA agit en inhibant les phosphatases, enzymes impliquées dans les processus de la multiplication cellulaire. L'inhibition de ces dernières entraîne une accumulation de protéines phosphorylées dans le cytoplasme, ce qui peut provoquer une contraction des muscles lisses et expliquer l'activité de promotion tumorale démontrée chez la souris (Arendt *et al.*, 1995 et Chen *et al.*, 2006).

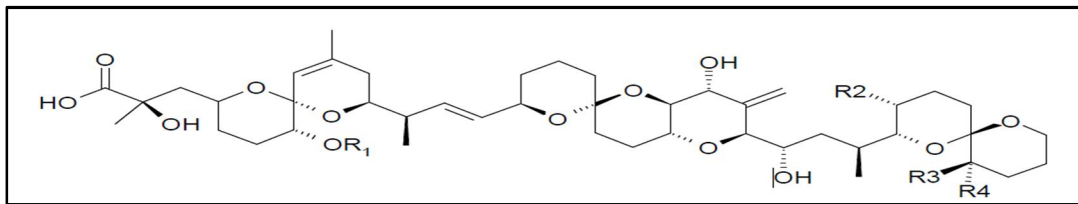


Figure 8 : Structure de l'acide okadaïque (DAO, 2006)

I.5.2. Les toxines paralysante PSP (paralytic shellfish poisoning)

La première description d'une intoxication par consommation de mollusques bivalves contenant des toxines paralysantes date de 1793. Elle a été relatée dans le carnet de bord d'un des navires commandés par le capitaine Vancouver, lors d'une escale sur la côte Ouest du Canada. Ce premier cas a été réellement associé aux toxines paralysantes en 1927 (Kao 1993). Puis dans les années trente, un test sur les souris a été mis en place pour éviter toute intoxication due à la consommation de mollusques bivalves. En 1957, une équipe japonaise a découvert l'origine des intoxications et a isolé le principe actif et lui a donné le nom de saxitoxine (STX) (Amzil *et al.*, 2001).

Cette famille de toxines est produite par des microalgues marines mais également par des cyanobactéries d'eau douce.

Les microalgues marines productrices de toxines paralysantes appartiennent toutes à la classe des Dinoflagellés. Les Dinoflagellés peuplent toutes les eaux, marines ou douces, mais seuls les Dinoflagellés marins peuvent synthétiser des toxines. À ce jour, environ vingt espèces de Dinoflagellés capables de produire des toxines paralysantes ont été répertoriées. (Estrada *et al.*, 2007 ; Vale, 2008).

Les toxines responsables d'intoxication paralysante par la consommation de fruits de mer forment une famille composée de 21 molécules chimiquement proches, dérivées de la

saxitoxine (Figure 9). Ces composés sont des tétrahydropurines polaires de faible poids moléculaire, thermostables, stables en milieu acide et instables en milieu alcalin (car susceptibles de s'oxyder) (Oshima, 1995).

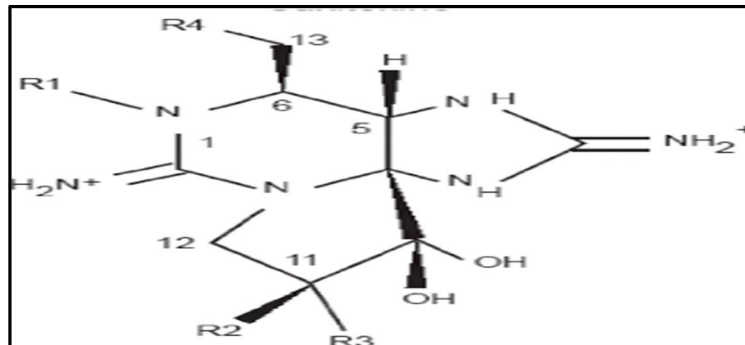


Figure 9 : Structure chimique de la Saxitoxine (DAO, 2006)

Ces intoxications entraînent une paralysie musculaire et dans les cas les plus graves, peuvent être mortelles lorsque le système respiratoire est atteint. La STX agit en bloquant les canaux Na^+ , empêchant la naissance d'un potentiel d'action au niveau des cellules excitables, ce qui peut entraîner la mort par paralysie des muscles respiratoires quand la dose est suffisante (Cheun *et al.*, 1996).

Les symptômes apparaissent entre 5 et 30 minutes après ingestion, ceux sont essentiellement des symptômes neurologiques accompagnés de troubles gastro-intestinaux. Une paralysie du muscle respiratoire peut être à l'origine du décès du patient.

I.5.3. Les toxines amnésiantes ASP (amnesic shellfish poisoning)

Cette toxine est produite par un diatomé du genre *Pseudo-nitzschia*. La plupart des espèces ne sont pas réputées toxiques (*P.delicatissima*, *P.fraudulenta*, *P.pungens*). Cependant, les deux espèces toxiques connues sont : *Pseudodelicatissima* et *P.multiseris*.

Les cellules de *Pseudo-nitzschia* sont de forme allongée, et sont souvent assemblées en chaînes. Leur taille et leur largeur sont très variables d'une espèce à l'autre (50-140µm de longueur et 1,5-3,5µm de largeur). Des proliférations de *Pseudo-nitzschia* sont observées très régulièrement, en particulier au printemps.

Les toxines ASP touchent surtout les pectinidés. Elles correspondent à l'acide domoïque (AD) (Figure 10) et à ces isomères. Elles sont thermostables et ont une action amnésiante. Chez le consommateur de coquillage contaminé, elles provoquent une intoxication dont les

premiers symptômes (diarrhées, vomissements) apparaissent dans un délai de 2 à 24 heures. Entre 24 et 48 heures, des symptômes neurologiques sont observés (maux de tête persistants, troubles de l'équilibre ou de la vue). Dans les cas les plus graves, il apparaît une perte de mémoire, des altérations de la conscience et parfois des convulsions et un coma (Frémy et Lassus, 2001).

La méthode d'analyse de phycotoxines amnésiantes est une analyse chimique en HPLC couplée à une détection par ultraviolet, un résultat est considéré comme positif lorsque l'échantillon contient plus de 20 µg d'acide domoïque /100 g de chair (Décret 96/121-JO n°59,1997 ; IFREMER, 2006 ; Ligard, 2008).

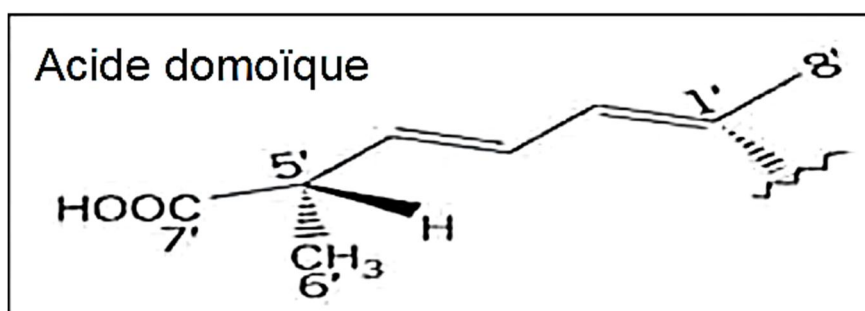


Figure 10 : Structure de l'acide domoïque (ASP toxine) (Dao, 2006).

Chapitre II
Partie
Expérimentale

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'intérêt des expérimentations mises en œuvre dans ce travail est le contrôle de la salubrité de la moule *mytilus galloprovincialis*. Ce travail est réparti en deux volets : le premier est un contrôle de la qualité microbiologique de la moule et le deuxième volet consiste en une mise au point de techniques de recherche des toxines : DSP (diarrhetic shelfish poison) et PSP (paralytic shelfish poison).

II.1. Présentation du site

II.1.1. Bordj EL Kiffan " Bateau cassé "

Le site de notre étude « Bateau cassé » où on a prélevé des moules sauvages est situé à Ford de l'eau, Bordj EL Kiffan (Figure 11), à l'Est de la wilaya d'Alger, c'est une zone d'agglomération qui contient une plage de baignade qui se situe pas loin de l'embouchure de oued-el hamize. La distance entre les deux zones de prélèvement est de 300 mètre. Les coordonnées géographiques de positionnement sont : Latitude : 36° 46'8" N ; longitude : 3° 13'27" E.

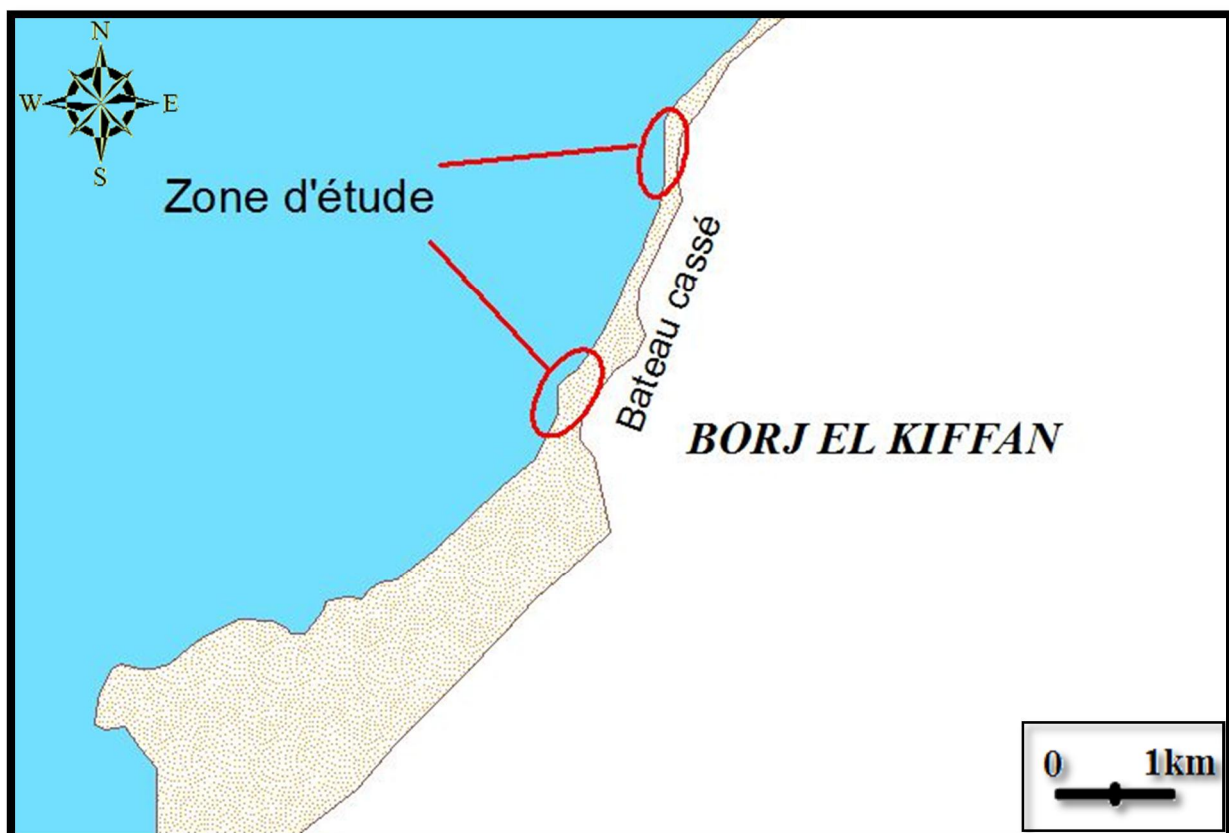


Figure 11 : localisation du site d'échantillonnage bateau cassé.

II.1.2. La ferme «SARL ORCA marine »

La ferme conchylicole ORCA Marine a été créée en octobre 1987 pour l'élevage des moules et des huitres. Elle est rentrée en phase d'expérimentation en 1990, et en phase d'exploitation en 2003. Elle est conçue de 2000 m² à terre et 5000m² en mer.

Le site de notre étude « Ain Chrob » (ex Surcouf) (Figure 12) est une plage de la commune d'Ain Taya wilaya d'Alger située en dehors de la baie d'Alger, à 30 km à l'Est d'Alger, les coordonnées géographiques de positionnement de ce dernier sont : Latitude : 36°47'33" N ; longitude : 3°18'11"

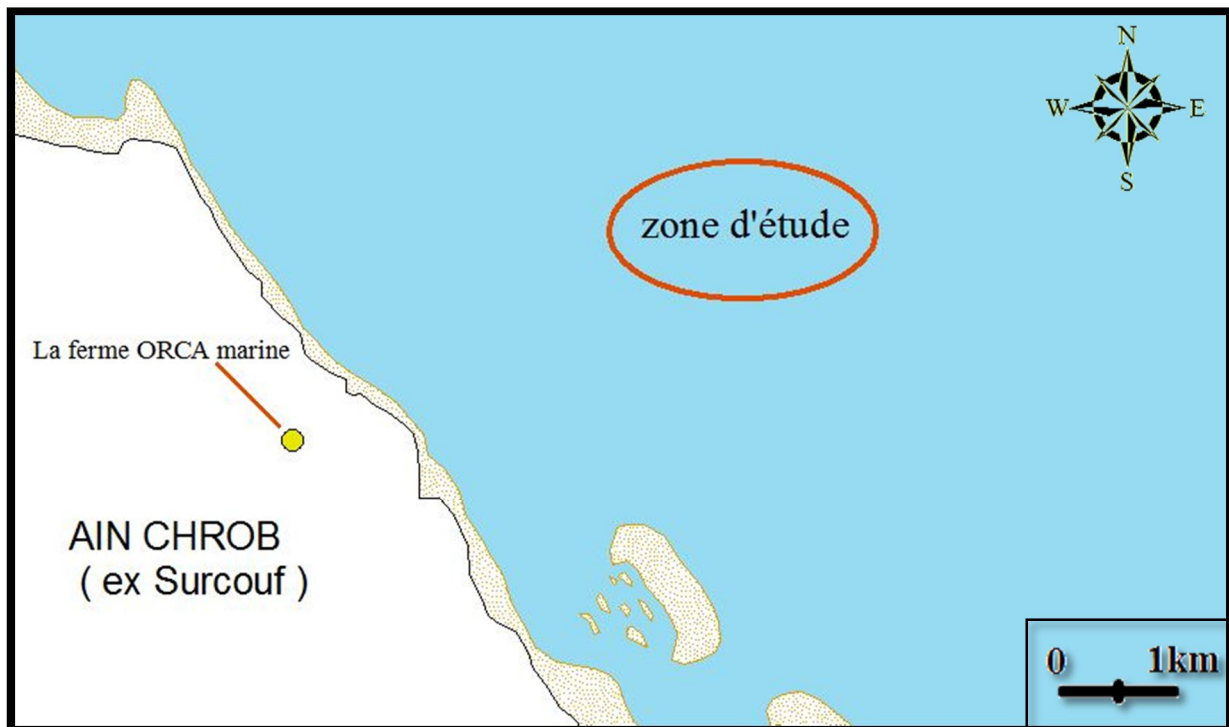


Figure 12 : Localisation du site d'échantillonnage la ferme ORCA marine.

Le site d'élevage se situe à peu près à 800 m de la plage ; il est soumis à l'influence de l'hydrodynamisme sans aucune protection. L'hydrodynamisme de la région intéressant, le site est représenté d'une part par la houle qui est essentiellement de direction Nord-Est et Nord-Ouest pouvant dépasser 3,25 m par seconde en hiver et d'autre part, par les courants côtiers locaux, les plus importants sont dus à la houle est représentent les courants de dérive et de retour (Us Naval Weather service.SS.M.O, 1991 in Chebab, 1996).

II.2. Prélèvement et transport des échantillons

Environ 5 kg de moules ont été récoltés le 09 avril 2012 et le 16 avril 2012 respectivement de Bateau cassé et de la ferme ORCA marine. Afin de maintenir les moules vivantes, elles ont été placées dans une glacière contenant de l'eau de mer du même site et transportées directement au laboratoire.

Au niveau du laboratoire les échantillons ont été mis dans un aquarium remplis d'eau de mer prélevée également du même endroit. L'aération du bassin est nécessaire pour conserver les moules vivantes le plus longtemps possible.

II.3. Contrôle de la qualité microbiologique de la moule

II.3.1. Préparation de la moule (homogénat) (d'après Delarras, 2003)

L'analyse est effectuée sur la chair et le liquide intervalvaire. Les moules ont été traitées comme suit :

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

II.3.2. Recherche et dénombrement des germes fécaux par la méthode des NPP (Nombre le Plus Probable)

La méthode utilisée pour la détermination des coliformes fécaux et des *Enterococcus* est la méthode de fermentation en tube multiples qui est basée sur l'ensemencement d'une série de trois tubes contenant des milieux de culture liquides, cette méthode est une estimation statistique du nombre de micro-organismes supposés distribués dans l'échantillon de manière parfaitement aléatoire (loi de Poisson). Dans ce type de méthode, les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. Un nombre caractéristique est formé à partir des tubes positifs et lu dans la table des NPP spécifique au coquillage, qui exprime le nombre de bactéries dans 100g de chair et de liquide intervalvaire. (Delarras, 2003).

➤ Préparation des dilutions

À partir de la solution mère (1/3), on prépare deux dilutions ($1/10^{\text{ème}}$ et $1/100^{\text{ème}}$), dans des flacons contenant 45 ml d'eau physiologique stérile.

II.3.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

La recherche des coliformes totaux par NPP a été réalisée sur le BVBL (bouillon lactosé + vert brillant) (Delarras, 2003). On prépare trois tubes pour chaque dilution. Les tubes sont ensemencés à l'aide d'une micropipette :

- Trois tubes de BVBL simple concentré : ensemencé par 1 ml de la solution mère.
- Trois tubes de BVBL simple concentré : ensemencé par 1 ml de la dilution $1/10^{\text{ème}}$.
- Trois tubes de BVBL simple concentré : ensemencé par 1 ml de la dilution $1/100^{\text{ème}}$.

Les tubes ont été incubés dans l'étuve à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture

Après la période d'incubation, l'apparition d'un trouble et la production du gaz dans la cloche de Durham signifie une croissance microbienne et fermentation du lactose, cela est considéré comme une réaction positive pour la recherche des coliformes totaux. Le nombre caractéristique formé est lu dans la table de NPP spécifique aux coquillages. Le résultat obtenu exprime le nombre des coliformes totaux présents dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire (Delarras, 2003).

II.3.4. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants et *Escherichia coli*

La recherche des coliformes fécaux et *Escherichia coli* se fait à partir des tubes positifs de BVBL (bouillon lactosé + vert brillant) selon le test de Mackenzie :

- Inoculer un tube de BVBL.
- Inoculer un tube d'eau peptonée exempt d'indole.

Après on les incube dans l'étuve à 44 °C pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture

Pour les tubes de BVBL la croissance bactérienne se traduit par le trouble et le dégagement de gaz dans la cloche de Durham, ceci confirme la présence des coliformes fécaux.

La présence d'*E.coli* est mise en évidence par la production de l'indole dans les tubes positifs d'eau peptonée exempt d'indole. Cette production se traduit par l'apparition d'un anneau rouge après l'ajout du réactif de Kovacs.

Selon la table de NPP spécifique aux coquillages et pour chaque test (BVBL, eau peptonée exempt d'indole), à partir du nombre des tubes positifs on obtient le nombre des coliformes fécaux et d'*E.coli* dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire (Delarras, 2003).

II.3.5. Recherche et dénombrement des *Streptocoques fécaux*

La recherche des *Streptocoques fécaux* repose sur deux tests qui sont :

a) Test présomptif

On utilise le milieu Rothe qui contient l'azide de sodium qui est considéré comme un agent sélectif pour la recherche des *Streptocoques fécaux* (Delarras, 2003).

Le test se fait par un ensemencement d'une série de 3 tubes contenant le milieu Rothe, on utilise 3 tubes pour chaque dilution :

- 1) 3 tubes de 10 ml de Rothe ensemencé par 1ml de la solution mère.
- 2) 3 tubes de 10 ml de Rothe ensemencé par 1ml de la solution diluée au (1/10^{ème}).
- 3) 3 tubes de 10 ml de Rothe ensemencé par 1ml de la solution diluée au (1/100^{ème}).

Après l'ensemencement on les incube dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecture

Les tubes qui montrent un trouble sont présomptifs de la présence des *Streptocoques fécaux*.

b) Test confirmatif

Pour confirmer les résultats obtenus à partir du test présomptif, on effectue pour chaque tube positif un ensemencement sur milieu Litsky qui contient en plus de l'azide de sodium, un deuxième agent sélectif : l'éthyle violet.

Après ensemencement, on les incube dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

➤ Lecture

Les tubes présentant un trouble avec une pastille violette ou blanchâtre au fond du tube sont confirmatifs de la présence des *Streptocoques fécaux*. Pour exprimer le nombre de streptocoques par 100g de chair et de liquide intervalvaire on se réfère à la table des NPP spécifique aux coquillages (Delarras, 2003).

II.3.6. Recherche des germes pathogènes (*salmonella*)

La recherche des salmonelles a été effectuée selon un protocole qui contient 3 étapes :

❖ Pré-enrichissement

La solution mère (1/3) de 75 ml préparé préalablement est mise en contact avec 75 ml d'eau peptonée tamponnée.

La solution obtenue est incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

❖ Enrichissement

L'enrichissement s'effectue à partir de la solution obtenue précédemment par un ensemencement sur le bouillon au sélénite-cystine (SFB) simple et double concentré :

- 10ml de la solution de pré-enrichissement est placée dans 10ml de bouillon SFB double concentré additionné de deux disques d'additif SFB.
- 1ml de la solution de pré-enrichissement est placé dans 10ml de bouillon SFB simple concentré additionné d'un disque d'additif SFB.

Les deux tubes ont été incubés à 37°C pendant 18 heures.

❖ Isolement

L'isolement se fait à partir de chaque tube SFB (double et simple concentré) sur la surface de la gélose Hecktoen additionnée de l'additif Hecktoen. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ **lecture**

Les *Salmonelles* ne fermentant ni le lactose ni le saccharose, donc les colonies suspectes ont une couleur vertes avec ou sans centre noir indicateur de la production de H₂S. La confirmation de la présence des *Salmonelles* se fait comme suit:

- Coloration de Gram (bacille Gram négatif).
- Test d'oxydase (négatif).
- Test sur milieu TSI afin de confirmer la fermentation du glucose, la non fermentation du lactose avec une production de H₂S.
- Une identification biochimique par galerie API20E.

II.4. Analyse toxicologique

II.4.1. Recherche de l'entérotoxine DSP (diarrhetic shelfish poison) : méthode de bio essai selon YASUMOTO *et al.*, 1984 modifiée (IFREMER, 2006) (Figure 13)

La recherche des toxines DSP nécessite des tests in vivo sur des souris, selon la méthode bio essai de YASUMOTO *et al.*, 1984 modifié en 2006.

➤ **préparation des échantillons :**

- Prendre des moules encore vivants et non endommagés.
- Laver soigneusement l'extérieur des coquillages sous l'eau courante et les brosser de façon à éliminer les souillures externes.
- Désinfecter la moule par l'eau de javel.
- Ouvrir la moule avec un couteau ou un scalpel en suivant la même démarche que celle décrite dans la partie contrôle microbiologique.

➤ **Mode opératoire**

- Déposer 10g d'hépatopancréas homogénéisé dans un bécher.
- Réaliser pour les 10g d'hépatopancréas trois séries d'extractions à l'acétone à température ambiante.
- Le surnageant est récupéré après chaque série d'extraction.
- Les fractions acétoniques sont évaporées dans un rot à vapeur à 60°C, jusqu'à l'obtention d'un petit volume.
- On ajoute une solution de tween 60 à la solution acétonique.
- 1ml de la solution préparée est injecté par voie intrapéritonéale à un lot de 3 souris blanches de race NØMERY, avec un poids de 20 ± 2g.

➤ **lecture**

On observe les souris pendant 5 heures, la mort des souris indique la présence de l'acide okadaïque.

On laisse les souris pendant 24 heures, et on note le nombre des souris mortes avant et après 5 heures.

➤ **Toxicité**

La période d'observation pour déterminer le temps de survie est réduite à 5 heures (toxicité rapide de l'acide okadaïque). S'il y a mort des souris avant 5h, ceci implique une réponse positive de la présence de la DSP (acide okadaïque).

Pour plus de sécurité, les souris sont maintenues en observation pendant 24h (IFREMER, 2006). La mort de deux souris sur trois indique la présence d'importantes concentrations de l'enterotoxine DSP.

Le test a été répété deux fois.

II.4.2. Recherche de la biotoxine paralysante PSP (paralytic shellfish poison) : méthode de bio-essai (AOAC international, 1995) (Figure 13)

➤ **préparation des échantillons**

- Prendre des coquillages encore vivants et non endommagés.
- Laver soigneusement l'extérieur des coquillages sous l'eau courante et les brosser de façon à éliminer les souillures externes.
- Désinfecter la moule par l'eau de javel.
- Ouvrir la moule avec un couteau ou un scalpel.

➤ **Mode opératoire**

- Prendre 150 g de chair égouttés.
- Le prélèvement est broyé dans un mixeur.
- Peser 100 g de chair homogénéisé dans un bécher de 1 L.
- Ajouter 100ml de HCl 0,1 Normale.
- Faire bouillir pendant 5 minutes.
- Compléter le volume à 200 ml avec l'eau distillée.
- On agite soigneusement la solution obtenue.
- Après centrifugation, on récupère le surnageant dans un bécher stérile.

- On injecte 1ml de surnageant par voie intrapéritonéale à un lot de 3 souris blanches de race NØMERY, chacune des souri pèse entre $20 \pm 2g$.
- Le test a été répété deux fois.

➤ **lecture**

Chronométrer le temps de mort des souris avec précision. Les symptômes caractéristiques des toxines paralysantes présentés par les souris sont : des sauts, des convulsions suivis de la mort par arrêt respiratoire.

Si la mort des souris survient avant 5 minutes de l'injection on peut déduire la présence de la saxitoxine.

Le temps de survie des souris est exprimé en Unité de Souris (US) à l'aide d'une table (tableau annexe). Une unité de souris est définie comme la quantité de toxine qui injecté par voie IP, tue une souris en 15 minutes. les US sont converties en μg équivalent de saxitoxine à l'aide d'un facteur de conversion

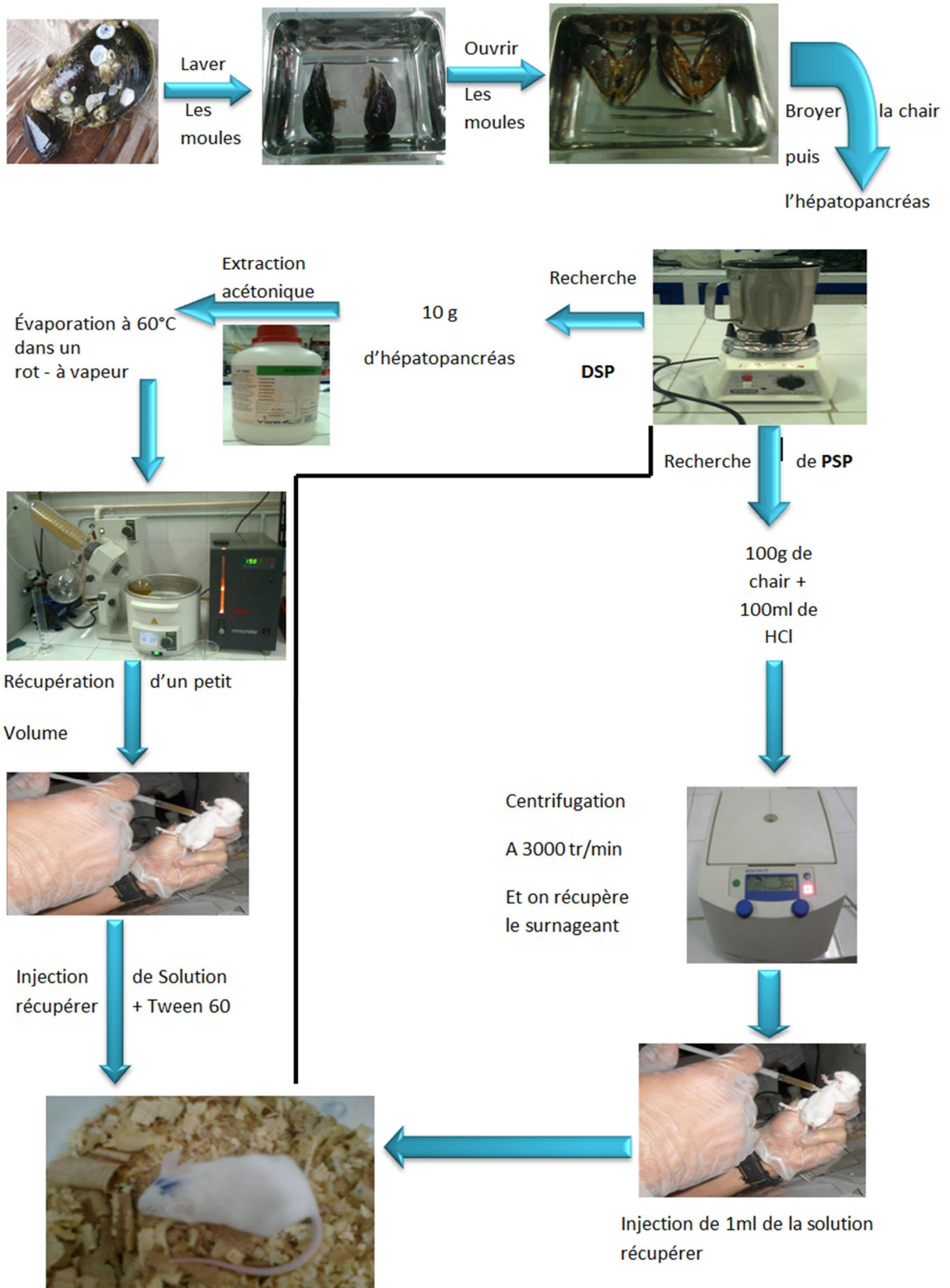


Figure 13 : Schéma d'analyses toxicologique

Chapitre III

Résultats

&

Discussion

III. RÉSULTATS

III.1. Contrôle de la qualité microbiologique

Le dénombrement des germes indicateurs de pollution a été réalisé par la méthode des NPP spécifique aux coquillages qui exprime le résultat dans 100g de chair et de liquide intervalvaire. Les résultats obtenus sont les suivants :

➤ **Coliformes totaux (CT)**

Le résultat positif obtenu après une incubation du milieu BVBL ensemencé pendant 48 heures nous a donné un nombre supérieur à 72000cellules/ 100g de chair et de liquide intervalvaire pour les moules sauvages et une concentration de 33000 cellules/ 100g de chair et de liquide intervalvaire pour les moules d'élevage. (Figure 14 et 15 et 16)

➤ **Coliformes thermotolérants (fécaux)**

Vu que le risque sanitaire lié aux coliformes totaux (CF) est généralement faible (Chevalier, 2003), il est important de rechercher les coliformes thermotolérants et spécialement *E.coli*. En effet cette dernière est considérée comme le meilleur indicateur de contamination fécale (Rodier *et al.*, 2009).

Les résultats des analyses ont montré que la concentration des coliformes thermotolérants dans les moules sauvages est proche de celle des coliformes totaux qui dépasse les 72000 cellules/100 g de chair et de liquide intervalvaire. Alors que la charge en coliformes fécaux chez les moules d'élevage a été de 2250 cellules/100 g de chair et liquide intervalvaire. (Figure 14 et 15 et 16)

➤ ***Escherichia coli***

La recherche et le dénombrement de *E.coli* a montré la présence d'une concentration inférieure à 90 cellules/100g de chair et de liquide intervalvaire dans les deux échantillons de moules (sauvage et d'élevage). Ce résultat reste loin de la valeur guide de 230 cellule/100g de chair et de liquide intervalvaire. (Delarras, 2003). (Figure 14 et 15 et 16)

➤ ***Enterococcus***

La recherche du genre *Enterococcus* dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire a donné un résultat de 13800 dans l'échantillon sauvage et de 7800 dans l'échantillon d'élevage. (Figure 14 et 15 et 16)

- Recherche de *Salmonella*

L'absence des colonies vertes sur le milieu Hecktoen confirme une absence de l'agent pathogène *Salmonella* dans 25 g de chair et de liquide intervalvaire dans les deux échantillons de moules (sauvage et d'élevage). (Figure 14 et 15 et 16)

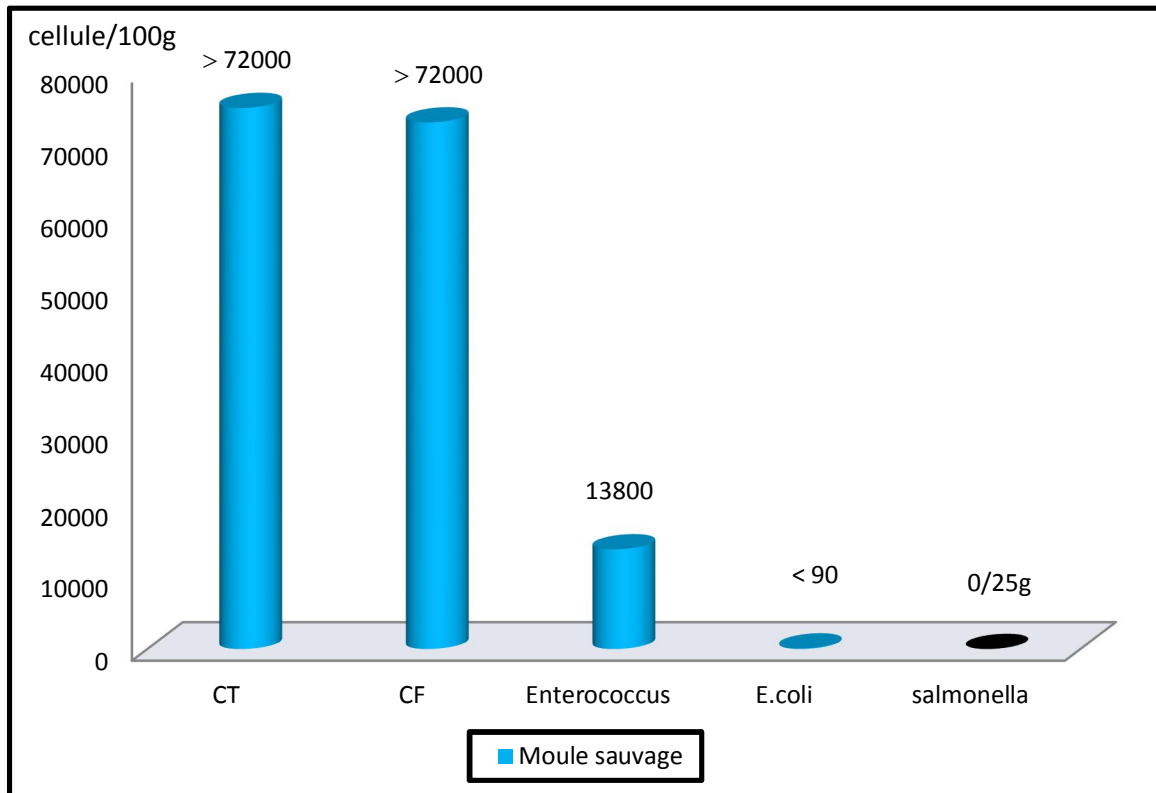


Figure 14 : résultat des analyses bactériologiques de la moule sauvage.

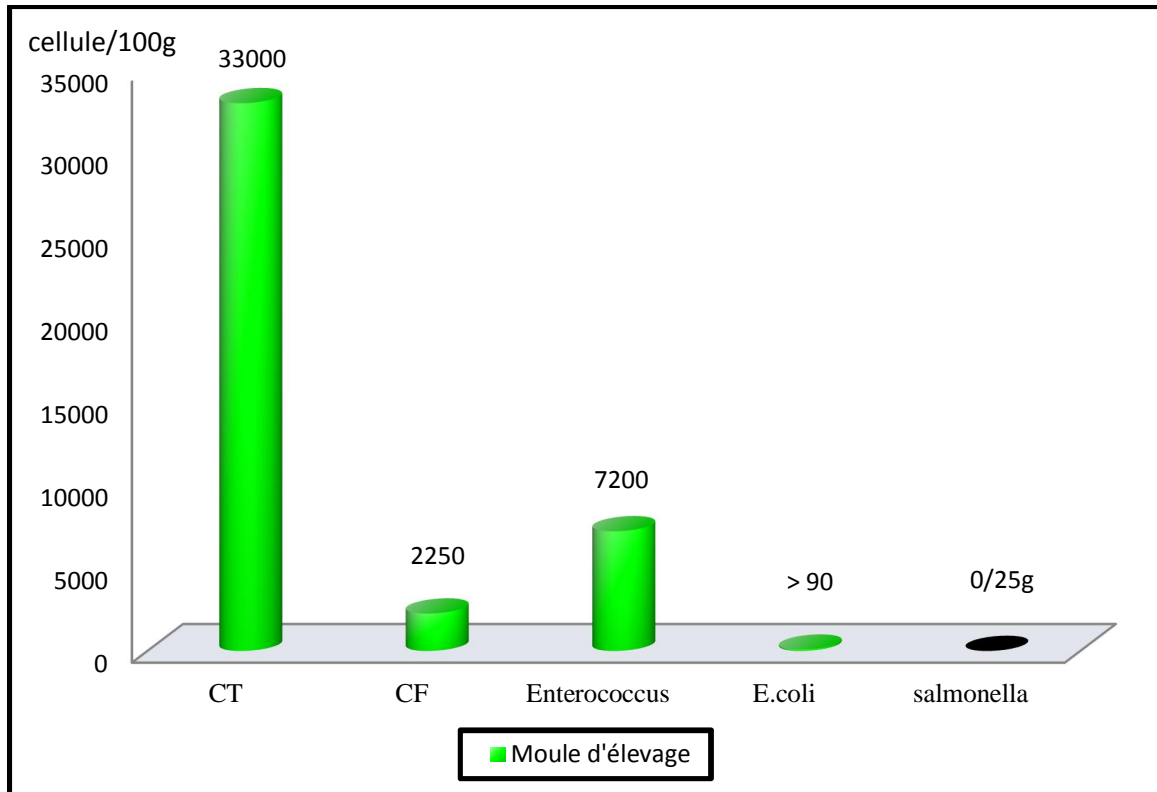


Figure 15 : résultat des analyses bactériologiques de la moule d'élevage.

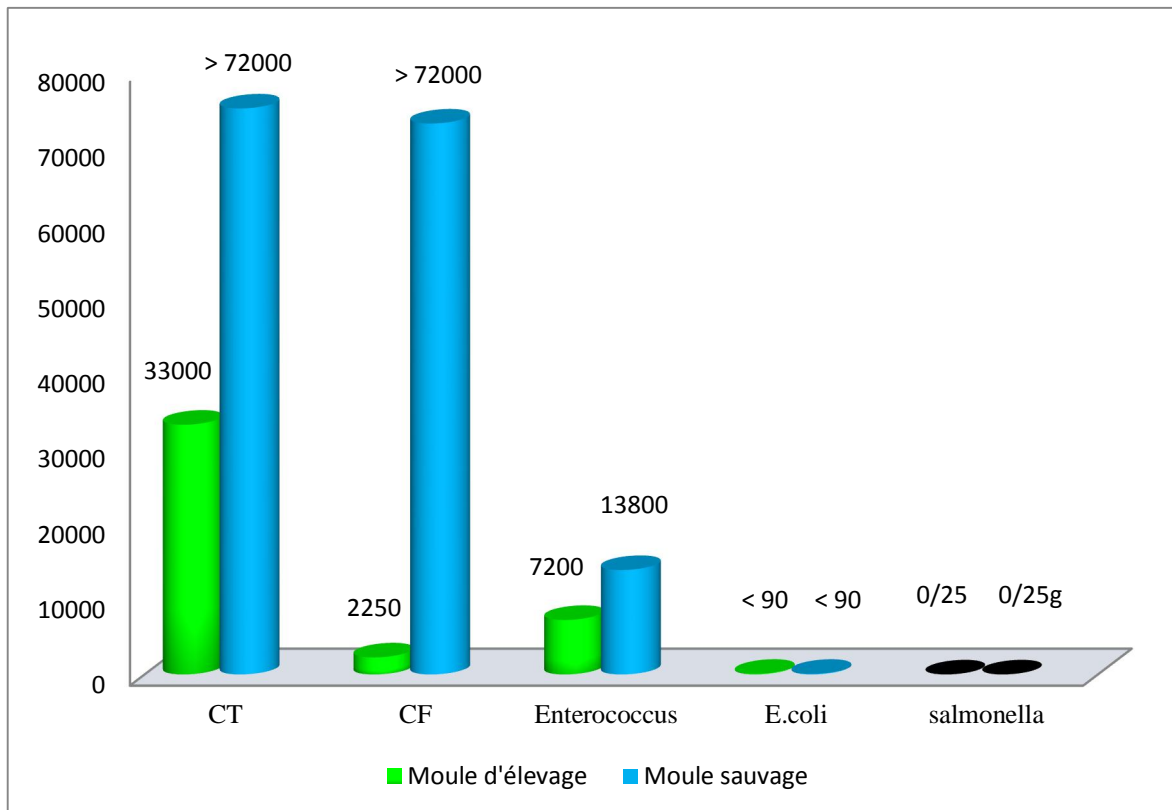


Figure 16 : comparaison entre les résultats de la qualité microbiologique de la moule d'élevage et la moule sauvage.

Discussion

La réglementation n'exige pas une valeur limite pour les coliformes totaux, mais on a remarqué que les valeurs obtenues sont très élevées spécialement pour les moules sauvages. Ces résultats traduisent l'état du milieu. En effet, les moules sauvages se trouvent dans un site exposé à la pollution anthropique apportée par Oued El hamiz qui se trouve à proximité du site de prélèvement. Cependant, les moules d'élevage qui se trouvent dans une zone conchylicole montrent un niveau élevé qui peut s'expliquer par les conditions climatiques mauvaises qui ont favorisé la remise en suspension des microorganismes. Si on compare ce résultat à celui retrouvé dans le même mois en 2008 par Chikh (2008) ou en 2009 par Loumachi (2009), nous constatons que la charge est largement supérieure par rapport à 2270 coliformes NPP/100g en 2008 et 276 coliformes/100g en 2009. Ce qui nous mène à recommander une surveillance du site.

En ce qui concerne les coliformes fécaux, les résultats obtenus ont été supérieurs à la norme fixée à 300 cellules/100 g et qui ne doit jamais dépasser les 1000 cellules/100g. Ces valeurs peuvent s'expliquer de la même manière que pour les coliformes totaux, par une contamination du site sauvage et par une remise en suspension des germes dans le site d'élevage causée par les mauvaises conditions météorologiques. On se basant sur cette norme, les moules des deux sites ne sont pas consommables. Cependant, ces dernières années la réglementation des zones conchylicoles exige la recherche uniquement d'*E.coli*.

Encore une fois nous suggérons un suivi de la qualité microbiologique de la zone d'élevage qui n'a pas montré des taux aussi élevés durant les mêmes mois des années 2008 et 2009 (Chikh, 2008 ; Loumachi, 2009).

Les valeurs obtenues pour *E. coli* ont été trouvées largement inférieures à la norme (voir annexe) qui est de 230 cellules /100g. Selon la réglementation les moules prélevés dans les deux sites (bateau cassé et Ain Chrob) peuvent être consommés directement sur la base de la charge en *E. coli* qui est < 90cellules/100g et absence de *Salmonella*, en dépit de la forte charge en d'autres coliformes.

Les *Enterococcus* ont été trouvés à des taux élevés dans les moules sauvages par rapport aux moules d'élevage. Cependant, il n'existe pas de norme pour la présence des *Enterocoques* dans les moules surtout que ces derniers peuvent être d'origine tellurique. Il est à signaler encore une fois que la charge retrouvée dans les moules d'élevages est supérieure à celle retrouvée dans les années 2008 et 2009 par Chikh (2008) et Loumachi (2009) respectivement, ce qui nous pousse à recommander une surveillance de la zone d'élevage.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que la qualité microbiologique des moules d'élevages est meilleure à celle des moules sauvages qui proviennent de bateau cassé. On a remarqué que leurs concentrations bactériennes dépassent parfois les normes, mais ces valeurs restent inférieures à celle obtenues dans le site bateau cassé et elles peuvent s'expliquer par la remise en suspension des bactéries par les mauvaises conditions météorologiques de la période de prélèvement. En effet, le site d'élevage a été bien choisi selon les critères de la conchyliculture pour assurer une bonne croissance et une bonne qualité de la chair et surtout éviter tout risque sanitaire pour le consommateur. Cependant, d'après les résultats obtenus, un suivi permanent de la qualité microbiologique du site est vivement recommandé.

En ce qui concerne le site des moules sauvages situé dans une zone polluée par des rejets domestiques, nous recommandons un contrôle périodique afin de caractériser cette zone surtout que les moules de cette région sont consommés directement par les riverains sans aucun contrôle. Effectivement la norme est respectée pour la salubrité de ces moules, mais avec une forte charge pour les indicateurs fécaux, ceci peut entraîner des risques sanitaires.

Il faut également, vérifier la présence des métaux lourds dans une zone sujette à la pollution.

III.2. Contrôle de la qualité toxicologique

Les risques sanitaires liés à la consommation des moules ne sont pas dû uniquement à la contamination bactérienne mais également aux toxines.

III.2.1. L'entérotoxine DSP (diarrhetic shellfish poison)

Pendant les 5 heures d'observation après l'injection, aucune mortalité n'a été signalée, ce qui indique une absence de la toxine diarrhéique DSP dans la moule sauvage. Par mesure de sécurité la durée d'observation a été prolongée jusqu'à 24 heures et on a obtenu le même résultat (Tableau 8)

Concernant les moules d'élevage, les résultats obtenus sont positifs (présence des toxines), car les trois souris injectées meurent durant les 5h d'observation recommandée. (Tableau 8)

La mort des trois souris dans une courte durée a prouvé la présence de l'acide okadaïque qui possède une toxicité rapide ce qui implique une présence des dinoflagellés du genre *Dinophysis* qui sont des microalgues toxiques. Ce qui nous permet de déduire que notre zone d'étude est contaminée par une pollution biologique causée probablement par les conditions météorologiques, car la semaine qui a précédé le prélèvement ainsi que le jour même, la mer était agitée avec de forts courants marins.

III.2.2. La biotoxine paralysante PSP (paralytic shellfish poison)

Les trois souris ont survécu à l'injection. Ce résultat confirme l'absence de la saxitoxine dans les moules sauvages. (Tableau 8)

Par contre, pour les moules d'élevage les résultats étaient également positifs comme pour la DSP, car les trois souris ont présenté les symptômes de la toxine paralysante PSP juste après l'injection ; ces symptômes sont des sauts, des convulsions suivies par la mort avant l'écoulement des 5 minutes recommandées. (Tableau 8)

Les résultats obtenus peuvent être liés aux mauvaises conditions météorologiques, car l'agitation de l'eau de mer emmène avec elle des microalgues toxiques qui sont les *dinoflagellés* du genre *Alexandrium*. Ces derniers secrètent des toxines paralysantes ce qui représente un vrai danger pour la santé humaine.

Tableau 8 : Résultats des analyses toxicologiques de la moule d'élevage et sauvage.

Type de moule \ Toxines	nombre des souris mortes par la DSP	nombre des souris morte par la PSP
Moule sauvage	0/3	0/3
Moule d'élevage	3/3	3/3

Conclusion

Ce travail a révèlé la qualité des moules sauvages qui ont été destinées à la consommation humaine sans aucun contrôle sanitaire, ainsi le contrôle de la qualité des moules d'élevage.

Les résultats microbiologiques obtenus ont montré que les moules sauvages et d'élevages sont propres à la consommation selon les normes exigées. Cependant, elles contiennent une forte charge en CF et CT.

Les toxines (DSP et PSP) ont été retrouvées uniquement dans les moules d'élevage, ceci peut être expliqué par les rejets de la station d'épuration, les mauvaises conditions météorologiques, les forts courants marins qui ont sévi dans la région la semaine précédant le prélèvement ainsi que le jour même.

La consommation des moules en Algérie est en progression ces dernières années d'où l'importance d'effectuer des contrôles périodiques sur les moules ainsi que sur le site afin d'assurer la bonne santé des consommateurs. Pour cela on préconise :

- Le choix et la préservation des sites d'implantation des zones d'élevages conchylicoles qui doit être soumis aux normes internationales qui assurent le bien et le bon développement des produits conchylicoles.
- Mise en place d'un suivi et une surveillance de l'hygiène des zones de développement des moules sauvages, et en particulier la zone conchylicole durant toute l'année.
- L'amélioration des méthodes de collecte et l'utilisation des méthodes appropriées.
- De compléter cette étude, par la recherche des métaux lourds et des contaminants viraux...etc
- La caractérisation et l'identification du site de Bordj El Kiffan (Bateau cassé).



Bibliographie

- Abada-boudjema Y.M., 1983.** Etude dynamique de deux populations de moules *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Perna perna* (L.) de Bordj El Kiffan (baie d'Alger). *Thèse de Doctorat 3ème Cycle*, U.S.T.H.B , Alger : 115p.
- Amzil Z., Vernoux JP., Pottier I., 2001.** Les principales classes de phycotoxines. In: Frémy JM, Lassus P., (eds) *Toxines d'algues dans l'alimentation*. Ifremer : 10 -30 p.
- Anderson D.M., New York 1989.** Toxicalgical blooms and red tides: A global perspective. In: T. Okaichi, D.M. Anderson and T. Nemoto, Editors, *Red Tides: Biology. Environ. Sci. Tox*, Elsevier, 11-21. Hallegraeff G.M. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycol.* 32 :279-99.
- Anonyme., 1993.** Circuits eau de mer traitement et matériaux. Ed, paris 35-37 p.
- Arendt T., Holzer M., Fruth R., Bruckner M.K., Gartner U.,1995.** Paired helical filament-like phosphorylation of tau, deposition of beta/A4-amyloid and memory impairment in rat induced by chronic inhibition of phosphatase 1 and 2A. *Neurosci.* 69 : 691 -698.
- Barnabé G., 1989.** Aquaculture volume I. Lavoisier tec et Doc. 565p.
- Barthe C., Perron J., et Perron J.M.R., 1998.** *Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable*. Document de travail (version préliminaire), ministère de l'Environnement du Québec : 155 p.
- Bensam H., Behloul M., 2009.** Étude physicochimique et biologique d'un site conchylicole: cas de la ferme "ORCA marine" Ain Taya avec essai de reproduction artificielle des espèces en élevage. *Mémoire ingénieur en science de la mer (spécialité aquaculture)* (ENSSMAL) : 51 p.
- Béraud J., 2004.** Le technicien d'analyses biologiques. Ed. Lavoisier, Paris : 2081p.
- Berger C., Romaniv M., Sourribesm V., Barral M., 2007.** Recueil des bonnes pratiques environnementales en conchyliculture : 45p.
- Bianchi M., Marthy D., Bertrand J.C., Caumette P., Gauthier M., 1989.** Les microorganismes du domaine océanique. Edit. Masson : 447p.
- Bouchaira M., Menai A., 1999.** Analyse de la situation aquacole du lac El Mellah et proposition d'un projet de création d'une ferme piscicole marine. Mémoire d'ingénieur en aquaculture. ISMAL : 77 p.

- Boudjema A et Ourari S., 2005.** Description du centre conchylicole pilote du CNDPA et proposition d'un plan de gestion. Mémoire d'ingénieur (option aquaculture). ISMAL : 51p.
- Boumhras M., 2008.** Evaluation de la toxicité des moules (*mytilus galloprovincialis*) issues de Jorf Lasfar (JL) et Oualidia (OL) sur la moelle osseuse chez le rat. Université Hassan 1er, Faculté des Sciences et Techniques de Settat ó DESA.
- 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.
- Boutouchent T et Mila 2005.** Étude technico-économique pour l'installation et le fonctionnement d'un centre conchylicole pilote dans la wilaya de Tipaza (Algérie). Thèse de master Européen. Option aménagement et gestion des produits aquatiques : 76p
- Brahimi S., 2011.** Ecologie, Biologie d'un Mollusque Bivalve Pectinidés *Chlamys varia* (Linnaeus, 1758) de la région d'Alger, Thèse de Magistère, U.S.T.H.B : 96 p.
- Bricelj VM., Shumway SE 1998.** An overview of the occurrence and transfer kinetics of paralytic shellfish toxins in Bivalve molluscs. In: Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T (eds) Harmful Algae: p 431-436.
- Bricelj V.M., Shumway SE 1998.** Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfert kinetics and biotransformation. *Fisheries Science*, 6:315-383.
- Brisou J.F., Denis F., 1978.** Hygiène de l'environnement maritime. Edit. *Masson* : 248p.
- GAUTHIER M., PIETRI C., 1989.** Devenir des bactéries et virus entériques en mer. Microorganismes dans les écosystèmes océaniques. Edit. *Masson* : 447p.
- Brisou j., Vargues H., Cadeillan J., 1962.** La contamination bactérienne des moules de la baie d'Alger. Arch. Inst. Pasteur d'Alger. P : 210-219
- CEAEQ (2000).** *Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane.* Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec : 24 p.
- Cerbom 1964.** Pollution marine par les micro-organismes et les produits pétroliers. Symposium de Monaco.
- Chebab B., 1996.** Influence sur la reproduction de l'immersion permanente de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) placée en élevage. Contribution à l'amélioration des techniques de captage en milieu naturel, thèse de magister USTHB, 172p.

Chen B., Cheng M., Hong D., Sun F., Zhu C., 2006. Okadaic acid induced cyclin B1 expression and mitotic catastrophe in rat cortex. *Neurosci. Lett.* 406 : 178-182.

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

Cheun B.S., Loughran M., Hayashi T., Nagashima Y., Watanabe E.,1998. Use of a channel biosensor for the assay of paralytic shellfish toxins *Toxicon.* 36 : 1371 -1381.

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

Choi MC., Yu PKN., Hsieh DPH., Lam PKS., 2006. Trophic transfer of paralytic shellfish toxins from clams (*Ruditapes philippinarum*) to gastropods (*Nassarius festivus*).

Chemosphere 64:1642-1649

DAO sp., 2006. Phytoplancton et phyto-toxine : un problème de santé publique (WWW.aret.asso.fr)

Dellarras C., Bernard A., 2003. Surveillance sanitaire et microbiologie des eaux .Ed. *Lavoisier*, Paris : 246 p.

Devier M.H., 2003. Étude intégrée sur l'impact des différentes classes de contaminants (composés organostanniques, métaux, hap, pcb) sur les moules. Bioaccumulation et réponses biochimiques. *Thèse de doctorat spécialité : chimie analytique et environnement.* Université bordeaux I : 309p.

Djediat C., 1993. Etude histo-physiologique et ultra structurale de la gonade femelle de *Mytilus galloprovincialis* LMK, Mollusque bivalve lamellibranche. Estimation de la maturité sexuelle de la population. Thèse de magister histo-cytologie (option biologie marine) ; ISN, USTHB Alger : 90p.

Edberg SC., Rice EW., Karlin RJ et Allen MJ 2000. *Escherichia coli* : the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88 : 106S-116S.

Equinoxe n° spécial., 1990. Le magazine des ressources vivantes de la mer « environnement littoral » : p32 - 54.

- Estrada A., Ascencio F., Contreras RG., Cerejido M., Shoshani L., Torres R., Lagos N., 2007.** Absorption of paralyzing toxins from the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* in giant lions-paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Journal of Shellfish Research* 26:1309-1309.
- FAO 2011.** Vue générale du secteur aquacole national Algérie. Département des pêches et de l'aquaculture de la FAO. (www.fao.org).
- Frémy JP., Lassus P., 2001. Toxines d'algues dans l'alimentation. Ed. Ifremer : 560p.
- Gaujous D., 1995.** La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire .Ed. Technique et Document, Paris : 220 p.
- Gendron L., Weise A.M., Fréchette M., Ouellet P., Mckindsey C.W et Girard L., 2003.** Evaluation du potentiel des moules d'élevages (*Mytilus edulis*) à ingérer des larves de homard (*homarus americanus*) de stade I. rapport canadien à l'industrie sur les sciences halieutique et aquaculture : 274p.
- Guillaud J.F., Romana A., 1996.** La mer et les rejets urbains : 243p.
- Guiraud J.P., 1998.** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod : 652p.
- Hallegraeff GM., 1995.** Harmful algal blooms: a global overview. In: Hallegraeff GMea (ed) Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides N°33 UNESCO : p 1-22.
- Helm M., Bourne N et Lovatelli A., 2006.** (comp. /éd.) Ecloserie de bivalves. Un manuel pratique. FAO Document technique sur les pêches. No. 471. Rome, FAO. 2006 : 184p.
- Joradp., 1997.** Journal Officiel de la République Algérienne et Populaire, Jora
dp N° 71, Décret N° 01-139,1997.
- Kao CY., 1993.** Paralytic shellfish poisoning. In: Falconer IR (ed) Algal Toxins in Seafood and drinking water. Academic Press, San Diego: p 75-86.
- Kvitek RG., Goldberg JD., Smith GJ., Doucette GJ et Silver MW., 2008.** Domoic acid contamination within eight representative species from the benthic food web of Monterey Bay, California, USA. *Marine Ecology-Progress Series* 367:35-47
- Lars-Ove-Loo., 2000.** Aquascope .T jamo Marine Biological Laboratory. Stomstad. Suede.
- LECLAIRE L., 1973.** La sédimentation holocène sur le versant méridional du bassin Algéro-Baléares (précontinent algérien). *Mém. Mus. Hist. Nat.*, 24: 391 p.
- LERN., 2004.** La moule. *Laboratoire Environnement Ressources de Normandie*. P5.

Ligeard CH., 2008. note d'information DPMA/SDA/O2008-9601 date : 12 mars 2008 ministère de l'Agriculture et de la pêche. Direction des pêches maritimes et de l'Aquaculture sous-direction de l'Aquaculture.

Loumachi M., 2009. *Étude et caractérisation de la résistance aux bêtalactamines chez des bactéries isolées de la moules d'élevage "Mytilus galloprovincialis" ainsi que de son environnement.* Mémoire d'ingénieure en aquaculture. ENSSMAL : 48p.

Lubet P., 1959. Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilidés et les pectinidés (Moll. Bival). Rev, trav, inst, pêche marti. 23,4 pp. 389-548.

Classe de 1 M, BORDAS : 336P.

Lubet P., 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule mytilus galloprovincialis (LMK, 1819). Synop FAO sur. Les pêches (88). P : 1-49

Marteil L., 1978. La conchyliculture française : biologie de l'huître et de la moule : 319p.

Meziane, H., Sefasfa, F., 2008. Conception et mise en place de collecteurs pour naissains de bivalves au niveau de la station conchylicole d'Ain Tagourait (W. Tipaza). Mémoire DEUA (Option aquaculture). ISMAL : 43 p.

Millot C., Taupier-letage I. et Benzohra M., 1986. Preliminary results of the Mediproduct V experiment. *Reports of the 30 th congress and plenary assembly of ICSEM*, Palma de Majorque: 175P.

Morita R Y., Colwell R., 1974. Effect of the ocean environment on microbial activities. Edit. Colwell et Morita. Univ. Park Press, Baltimore: 587p.

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

Naciri M., 1998. Dynamique d'une population de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.), vivant sur la côte atlantique marocaine. *Bulletin de l'institut scientifique, Rabat. N° 21.* P 43-

O.M.S., 1994. *Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 ó recommandations.* Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p. Robertson, W (1995) Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : *Air intérieur et Eau potable*, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval : p. 179-193.

O.M.S., 2000. *Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 ó critères d'hygiène et documentation à l'appui.* Organisation mondiale de la Santé, 2e édition : 1050 p

- Oshima Y., 1995.** Chemical and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins in marine organisms. In: Lavoisier Publishine ILP (ed) Harmful Marine Algal Blooms. Lassus, P., Arzul, G., Erard-Le Denn, E., Gentien, P., Marcaillou-Le baut, C.
- Pelvin C., 2000.** Aptitude de quatre tests simples à qualifier la vitalité de moules soumises à des épreuves graduelles. *Mém DESS "analyse et valorisation des produit naturels". Université de bretagne-sud* : P35.
- Pettersen.A.K, Turchini G.M., Jahangard S., Brett A., Ingram , Craig D.H., Sherman., 2010.** Aquaculture. Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae.ELSEVIER. 9 : P 115-124.
- Quillien, J., 1980.** L'inspection sanitaire des coquillages, thèse de doctorat E.N.V de Toulouse.
- Reizopoulou S., Stroglyoudi E., Giannakourou A., Pagou K., Hatzianestis I., Pyrgaki C., Graneli E., 2008.** Okadaic acid accumulation in macrofilter feeders subjected to natural blooms of *Dinophysis acuminata*. Harmful. Algae. 7 : 228-234.
- Roberts S., Bennett A., Bernard F., Blanchot J., Bougrier S., Buestel D., Caisey X., Cochard J.C., Dormoy J.M., Geairon P., Jonquières G., Pellan A., Pouvreau S., Prou J., Remoissenet G., Stiger V., Teissier H et Tiapari J., 1995.** Etude de la respiration et de la filtration de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. Programme général de recherche sur la nacre, action de recherche n°8 Ecophysiologie, *Rapport final* ; Centre IFREMER-COP de Vairao., Centre ORSTOM de Nouméa., Centre IFREMER de la Tremblade, VAAM : 95p.
- Rodier J., Legube B., Merlet N., 2009.** L'analyse de l'eau. 9^{ème} Édition, Dunod, Paris : 1511p.
- Sutra L., federichi M., Jouve J.L., 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire polytechnica. Paris édition : 308 p.
- Singleton P., 1999.** Guide sous marin du bassin méditerranéenne. Faune et Flore.
- Tachibana V., Scheuner PJ., Tsukitani Y., Kikuchi H., Vanenden D., Clardy J., Gopichand Y., Schmitz FJ., 1981.** Okadaic acid, a cytotoxic polyether from two sponges of the genus *Halichondria*. Journal of American chemistry society 103:2469-2471.
- Troadec J.P.,1985.** Revue économique de la conchyliculture. Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (aqua.net) : 06p.

Thomas H., Galley F.M., Batista R., Braithwaite Jon King., Andy R., Beaumont.,2009. Optimization of larval culture of the mussel *Mytilus edulis* aquacult Int, Foi 10.1007/s10499-9245-7.

Yasumoto T., Nakajima I., Oshima Y., Bagnis R., 1979. A new toxic dinoflagellate found in association with ciguatera. In: D.L. Taylor and H. Selinger, Editors, Toxic Dinoflagellate Bloom, Elsevier : 65-70.

Yasumoto T., Oshima Y., Yamaguchi M., 1978. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in Tohoku district. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 44:1249-1255;

Yasumoto T., Oshima Y., Sugawara W., Fukuyo Y., Oguri H., Igarashi T., Fujita N., 1980. Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of diarrhetic shellfish poisoning. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 46:1405-1411.

Vale P., 2008. Complex profiles of hydrophobic paralytic shellfish poisoning compounds in *Gymnodinium catenatum* identified by liquid chromatography with fluorescence detection and mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1195:85-93.

Villeneuve F et Desire ch., 1965. Zoologie, collection de science naturelle pat Charle Desire.

Vivares C., 1991. Consommer les coquillages est-il dangereux ? .Contamination, surveillance et santé publique. La recherche 2.

Volume. 2 : 540p.

Site web

(www.fao.org).

IFREMER (2006). <http://www.ifremer.fr/aquaculture/conchyliculture/>

www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/

<http://www.aquamaps.org/receive.php>

<http://www.discoverlife.org>

<http://www.panoramio.com>

<http://www.mytiliculture.com>

www.zipcodezoo.com

www.itis.gov

www.huitre-normandie.com

Annexes

Annexe I

Tableau : relation temps de mort et mouse unit (unité souris) pour la PSP

Temps de mort	Unité souris	Temps de morts	Unité souris	Temps de morts	Unité souris
2 : 00	7,67	4 :15	2 ,32	8 :15	1.22
2 : 05	7,04	4 :20	2,26	8 :30	1.20
2 : 10	6,52	4 :25	2,21	8 :45	1.18
2 : 15	6,06	4 :30	2,16	9 :00	1.16
2 : 20	5,66	4 :35	2,12	9 :30	1.13
2 : 25	5,32	4 :40	2,08	10 :00	1.11
2 : 30	5,00	4 :45	2,04	10 :30	1.09
2 : 35	4,73	4 :50	2,00	11 :00	1.075
2 : 40	4,48	4 :55	1,96	11 :30	1.06
2 : 45	4,26	5 :00	1,92	12 :00	1.05
2 : 50	4,06	5 :05	1,89	13	1.03
2 : 55	3,88	5 :10	1,86	14	1.015
3 : 00	3,70	5 :15	1,83	15	1.000
3 : 05	3,57	5 :20	1,80	16	0.99
3 : 10	3,43	5 :30	1,74	17	0.98
3 : 15	3,31	5 :40	1,69	18	0.972
3 : 20	3,19	5 :45	1,67	19	0.965
3 : 25	3,08	5 :50	1,64	20	0.96
3 : 30	2,98	6 :00	1,60	21	0.954
3 : 35	2,88	6 :15	1,54	22	0.948
3 : 40	2,79	6 :30	1,48	23	0.942
3 : 45	2,71	6 :45	1,43	24	0.937
3 : 50	2,63	7 :00	1,39	25	0.934
3 : 55	2,56	7 :15	1,35	30	0.917
4 : 00	2,50	7 :30	1,31	40	0.898
4 : 05	2,44	7 :45	1,28	60	0.875
4 : 10	2,38	8 :00	1,25		

Annexe II

Table de NPP

Nombre le plus probable de micro-organismes dans 100 g de chair et de liquide intervalvaire.

Nombre des tubes positifs			Nombre le plus probable NPP	Catégorie	Limites de confiance			
1ml	0,1ml	00,1ml			95%	99%		
0	0	0	< 90					
0	0	1	90	3	3	285	0	420
0	1	0	90	2	3	300	0	480
0	1	1		0				
0	2	0	186	3	36	510	15	750
0	3	0		0				
1	0	0	108	1	6	510	3	750
1	0	1	216	2	36	510	15	750
1	0	2		0				
1	1	0	222	1	39	600	18	810
1	1	1	330	3	105	1050	54	1380
1	2	0	330	2	108	1050	57	1380
1	2	1	450	3	135	1140	72	1560
1	3	0	480	3	135	1140	72	1560
2	0	0	276	1	45	1050	21	1380
2	0	1	420	2	108	1050	57	1380
2	0	2		0				
2	1	0	450	1	111	1140	60	1560
2	1	1	600	2	135	1140	72	1560
2	1	2		0				
2	2	0	630	1	135	1200	72	1660
2	2	1	840	3	261	2820	153	4260
2	2	2		0				
2	3	0	870	3	251	2820	153	4250
2	3	1		0				
3	0	0	690	1	138	2820	75	4250
3	0	1	1140	1	264	3120	156	4710
3	0	2	1920	3	480	5430	300	7500
3	0	3		0				
3	1	0	1290	1	273	5430	159	7500
3	1	1	2250	1	510	5970	330	8100
3	1	2	3600	3	1050	10800	630	13200
3	1	3						
3	2	0	2790	1	540	10800	360	12900
3	2	1	4500	1	1050	11400	660	15600
3	2	2	6300	2	1050	12000	750	16600
3	2	3	8700	3	2700	29700	1380	45600
3	3	0	7200	1	1080	29700	780	45600
3	3	1	13800	1	2730	59400	1410	84000
3	3	2	33000	1	5460	121500	3420	171000
3	3	3	>72000					

Annexes III

Germe	Norme
<i>E. Coli</i>	230 cellule / 100g de chair et de liquide intervalvaire
<i>CF</i>	300 cellules et ne doit jamais dépasser 1000 cellule / 100g de chair et de liquide intervalvaire
<i>Salmonella</i>	Absence dans 25 g de chair et de liquide intervalvaire

Figure III. 1 : les normes bactériologiques.

Toxines	Norme
DSP	Absence
PSP	80 µg/ 100 g de chaire.

Figure III. 2 : les normes toxicologiques.