

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer de l'Aménagement du Littoral



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

OPTION: AQUACULTURE

Thème :

## Contribution à l'évaluation de la qualité environnemental d'une ferme aquacole

Présenté par :

BEN ABD EL MOUTALEB Amel Yasmine

CHAMMA Narimane

Soutenu le 04/10/2021 devant la commission du jury suivant :

Mme.Hamdi. S.	Professeur	ENSSMAL	Présidente
Mr. Ait saidi .A.	Maître de conférence B	ENSSMAL	Examineur
Mme. Fellah. H.	Doctorante	ENSSMAL	Examinatrice
Mme. Djahnit. N.	Maître de conférences B	ENSSMAL	Promotrice
Mme. Lounas. R.	Docteur	ENSSMAL	Co-promotrice

Promotion : 2020/2021

## *Remerciements*

En premier lieu, merci et louange à **Dieu**, le tout puissant, de nous avoir accordé le courage, la patience et la détermination pour réaliser ce travail.

Il nous est difficile de citer toutes les personnes alors, on aimerait témoigner notre éternelle reconnaissance par ces quelques mots à toutes les personnes qui ont concouru de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Car comme l'a joliment écrit **Christian Anderson** dans ses romans: « *la reconnaissance est la mémoire de cœur* »

Pour commencer, on tient à remercier gracieusement notre cher encadrante, *Docteur Nora Djahnit*, pour ces conseils précieux, ses remarques avisées, ses encouragements et sa gentillesse. Malgré ses multiples responsabilités et son emploi du temps chargé, elle a toujours été à l'écoute de nos envies et présente pour régler les problèmes rencontrés. C'est pour nous un honneur et une joie d'avoir été sous son aile

Merci également à notre co-encadrante, *Docteur Ryhane Lounas*, pour nous avoir fait découvrir davantage le domaine de l'aquaculture en nous partageant son savoir et son attrait pour ce dernier. Mais aussi pour nous avoir guidé et conseillé tout le long de la réalisation du PFE.

Nous remercions *Madame Hamdi*, professeur à l'ENSSMAL, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Monsieur Ait Saidi A, maître de conférence B à l'ENSSMAL et Madame Fellah H, doctorante à l'ENSSMAL pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit et de participer à ce jury.

Un remerciement très profond au *Monsieur Djerai NourEdinne*, pour tous ses efforts fournis, sa sympathie ainsi que sa pédagogie. Sans vous, on aurait pas pu achever ce travail ! on vous sera éternellement reconnaissantes !

Notre gratitude au Monsieur *Nabil Hadjadji*, merci pour la gentillesse et le service accordés, vous nous avez beaucoup aidés. Ainsi qu'à Monsieur *Bilal Belaidi* et toute l'équipe de

*Cultmare.*

# Dédicaces

Je voudrais remercies tous d'abord, **Dieu**, le tout clément et miséricordieux pour être mon meilleure confident et pour me permettre de réaliser mes rêves. Merci pour me guider et être toujours avec moi.

Je dédie ce mémoire :

A l'être le plus cher à mon cœur, à celui qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celui qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, **à mon père** à qui je voue tous mes sentiments, que son âme repose en paix.

*Daddy, your little girl just made it !*

**A ma mère**, il est clair que mes mots ne pourront en aucun cas représenter mon entière reconnaissance et ma considération pour tous les sacrifices consentis durant toutes ces années. C'est avec le cœur ému que je vous dédie mon succès car je ne serais jamais arrivées où je suis aujourd'hui sans votre soutien et votre amour éternel. *Thanks mom !*

**A Mami et Papi**, merci pour l'amour et les encouragement. Que Dieu vous donne une longue et joyeuse vie. *I love you so much !*

Aux jumelles, **Nada et Kawthar**, que ce travail soit pour eux un exemple de persévérance dans la vie. *You rock magical twins !*

**A Rimel, Nadir et Haithem** merci pour le soutien moral, la patience et la compréhension tout au long de ce projet. *You mean alot to me !*

Merci tous le monde, tous ça c'est grâce à vous !

**Narimane CHAMMA**

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste travail :

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Mouhammed

A ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

A ma chère tante Amina pour son amour encouragement et accueille tout au long de mes études.

A me chère sœurs Nesrine et Ilhem et mon fiancé Aymen qui n'ont pas cessés de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu les protèges et leurs offres la chance et le bonheur.

Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite

**Yasmine Ben Abd El Moutaleb**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b> Principales espèces de bivalve élevées dans le monde .....	6
<b>Tableau I.2.</b> Analyse SWOT de secteur conchylicole en Algérie .....	13
<b>Tableau II.1.</b> Dénombrement et recherche des coliformes et des staphylocoques dans la flore contenue dans la biote. ....	43
<b>Tableau III.1.</b> Valeurs extrêmes et moyennes et l'écart type des sels nutritifs des eaux de surface d'Ain Tagourait .....	57
<b>Tableau III.2.</b> Concentrations moyennes des sels nutritifs.....	58
<b>Tableau III.3.</b> Concentrations de la chlorophylle <i>a</i> et des phéopigments.....	59
<b>Tableau III.4.</b> Valeurs des différents indices granulométriques et des quartiles (Q25, Q50, Q75) aux niveaux des quatre stations.....	60
<b>Tableau III.5.</b> Taux de pélite dans les quatre stations de la ferme.....	61
<b>Tableau III.6.</b> Identification des quelques souches bactériennes dans l'eau par la galerie API 20.....	68
<b>Tableau III.7.</b> Identification des quelques souches bactériennes dans le sédiment par la galerie API 20 .....	74
<b>Tableau III.8.</b> Concentrations des germe recherché /100g de chair + liquide du système aquifère.....	75
<b>Tableau III.9.</b> Identification des quelques souches bactériennes isolées de le biote par la galerie API 20 .....	80

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> Production conchylicole dans les principaux pays producteurs .....	6
<b>Figure I.2.</b> Filière de sub-surface de la ferme Cultures Marines .....	8
<b>Figure I.3.</b> Anatomie de la moule <i>Mytilus edulis</i> .....	9
<b>Figure I.4.</b> Distribution mondiale de la moule <i>Mytilus edulis</i> .....	10
<b>Figure I.5.</b> Anatomie de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> .....	11
<b>Figure I.6.</b> Distribution mondiale de l'huître creuse .....	12
<b>Figure I.7.</b> schéma de cycle biologique de l'azote en mer .....	18
<b>Figure II.1.</b> Localisation géographique du site d'étude Ferme Cultmare, Tipaza).....	23
<b>Figure II.2.</b> Localisation des stations de prélèvement d'eau de mer .....	24
<b>Figure II.3.</b> pH-mètre de terrain .....	26
<b>Figure II.4.</b> Conductimètre de terrain .....	27
<b>Figure II.5</b> Benne Van Veen.....	27
<b>Figure II.6.</b> Four à moufle .....	29
<b>Figure II.7.</b> Dispositif de tamisage des sédiments.....	31
<b>Figure II.8.</b> Dispositif de filtration sur membrane.....	34
<b>Figure II.9.</b> Technique de dénombrement des coliforms .....	35
<b>Figure II.10.</b> Technique de dénombrement des streptocoques fécaux.....	36
<b>Figure II.11.</b> Technique de dénombrement des staphylocoques.....	37
<b>Figure II.12:</b> Technique de recherche des salmonelles.....	38
<b>Figure II.13:</b> Technique de recherche des vibrions.....	39
<b>Figure II.14.</b> Technique de préparation des dilutions.....	40
<b>Figure II.16.</b> Dénombrement des indicateurs de contamination fécale par la méthode des NPP dans les sédiments.....	45
<b>Figure II.17.</b> Test de catalase.....	47
<b>Figure II.18.</b> Test d'oxydase.....	47
<b>Figure II.19.</b> Test de TSI.....	49
<b>Figure II.20.</b> Test coagulas .....	50
<b>Figure III.1.</b> Variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations .....	53
<b>Figure III.2.</b> Variation des valeurs moyennes de la conductivité en fonction des stations.....	54

<b>Figure III.3.</b> Variation des valeurs moyennes de l'oxygène dissous en fonction des stations.....	54
<b>Figure III.4.</b> Variation des moyennes de MES en fonction des stations.....	55
<b>Figure III.5.</b> Variation des moyennes des taux de matières organique en fonction des stations.....	56
<b>Figure III.6.</b> Variation moyenne des sels nutritifs dans les eaux de surface .....	57
<b>Figure III.7.</b> Variations des concentrations moyennes de la FMT en fonction des stations .....	62
<b>Figure III.8.</b> Variations des concentrations moyennes des Coliformes totaux (CT) en fonction des stations.....	62
<b>Figure III.9.</b> Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux (CF) en fonction des stations.....	63
<b>Figure III.10.</b> Variations des concentrations moyennes des streptocoques fécaux (SF) en fonction des stations.....	64
<b>Figures III.11.</b> Aspect microscopique du <i>Streptococcus faecalis</i> en chaînes courtes sous le microscope optique (Gx100).....	65
<b>Figure III.12.</b> Variations des concentrations moyennes des Staphylocoques (Staph) en fonction des stations .....	65
<b>Figure III.13.</b> Aspects microscopique des staphylocoques isolés de l'eau de mer sur Chapman sous le microscope optique (Gx100).....	66
<b>Figure III.14.</b> Aspects microscopique des salmonelle isolés de l'eau de mer sur la gélose SS sous le microscope optique (Gx100) .....	67
<b>Figure III.15.</b> Aspects microscopique des vibrions incurvés et les entérobacéries isolés de l'eau de mer sur TCBS sous le microscope optique (Gx100).....	68
<b>Figure III.16.</b> Aspect des coliformes sur BLBVL.....	69
<b>Figure III.17.</b> Aspect des streptocoques sur BLBVL.....	70
<b>Figure III.18.</b> Aspect des streptocoques sur Evaltsky.....	70
<b>Figure III.19.</b> Aspects des staphylocoques isolés du sédiment sur Chapman.....	71
<b>Figure III.20.</b> Aspect microscopique du <i>staphylococcus aureus</i> sous forme de grappe de raisin sous le microscope optique (Gx100).....	71
<b>Figure III.21.</b> Aspects microscopique des vibrions incurvés et les entérobactéries isolés du sédiment sur TCBS sous le microscope optique (Gx100).....	72

<b>Figure III.22.</b> Aspects des entérobactéries et des vibrions isolés du sédiment sur TCBS.....	73
<b>Figure III.23.</b> Identification des entérobactéries isolé du sédiments par ma galerie API 20 ( cas de <i>E. cloacae</i> ).....	73
<b>Figure III.24.</b> Identification des entérobactéries isolé du sédiments par ma galerie API 20 ( cas de <i>S. liquefaciens</i> ).....	73
<b>Figure III.25.</b> Aspects des staphylocoques isolés du biote sur Chapman.....	77
<b>Figure III.26.</b> Aspect microscopique du <i>staphylococcus aureus</i> sous forme de grappe de raisin sous le microscope optique (Gx100).....	77
<b>Figure III.27.</b> Aspects des <i>Salmonella choleraesuis ssp Arizonae</i> isolés à partir d'échantillon de moules sur la gélose SS.....	78
<b>Figure III.28.</b> Identification du <i>Salmonella choleraesuis ssp Arizona</i> isolé du biote ( les moules) par ma galerie API 20.....	78
<b>Figure III.29.</b> Aspects des vibrions et les entérobactéries isolés à partir d'échantillon des moules et des huîtres sur TCBS.....	79
<b>Figure III.30.</b> Aspect microscopique des vibrions incurvés isolés de sédiments sous le microscope optique(Gx100) .....	79
<b>Figure III.31.</b> Identification du <i>Pseudomonas luteola</i> isolé du biote par la galerie API 20.....	81
<b>Figure III.32.</b> Identification du <i>Stenotrophomonas maltophili</i> isolé du biote par la galerie API 20.....	81

## Liste des abréviations

**C.gigas:** *Crassostrea gigas*

**CF :** Les coliformes fécaux

**Cl ‰ :** Chlorinité

**COT :** Carbone organique total

**CT :** Les Coliformes totaux

**DBO5 :** Demande biochimique en oxygène

**DCO :** Demande chimique en oxygène

**DM :** Dilution Mère

**EDS :** Eau Distillée Stérile

**EPA :** Eau Peptonée alcaline

**et al Et :** collaborateurs

**FAO :** Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**JORA:** Journal Officielle de la République Algérienne

**Gélose BEA :** Gélose Bile-Esculine-Azide.

**GPS :** Système de positionnement global.

**ICF:** indice de contamination fécale.

**ISO:** International Standard Organization

**Q50 :** La médiane

**Q25 :** Le 1er quartile

**Q75 :** Le 3ème quartile

**M.Edilus :** *Mytilus edilus*

**MADRP :** Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche

**MES :** La matière en suspension

**MO :** Matière organique

**MOP :** la matière organique particulière

**mS/cm :** m Siemence/cm

**N :** Azote

**NaCl :** Chlorure de sodium

**NaOH :** Hydroxide de sodium

**NO2- :** Nitrites

**NH<sub>3</sub>** : Ammoniac

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>** : Ammonium

**NPP** : Nombre le plus probable

**NTU** : Unité de turbidité

**OD** : L'oxygène dissous

**P** : Le phosphore

**pH** : Le potentiel d'Hydrogène

**PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>** : Orthophosphates

***S.aurata*** : *Sparus aurata*

**PSU** : Pratical Salinity Unity

**S** : salinité

**SO** : Indice de classement Sorting de Trask

**SF** : Les streptocoques fécaux

**SFB** : Bouillon au sélénite de sodium

**SPA**: Société par action

**SK** : Indice d'asymétrie Skewness

**SS** : Salmonella et Shigilla

**USD** : United States Dollar's

**T** : température

**WTW** : Wissenschaftliche Technische Workstätten

# Sommaire

<b>Introduction générale .....</b>	<b>2</b>
------------------------------------	----------

## **Chapitre I: Synthèse bibliographique**

<b>I. la conchyliculture.....</b>	<b>5</b>
<b>1. présentation de la conchyliculture.....</b>	<b>5</b>
1.1. production aquacole mondiale.....	5
1.2. production aquacole marine algérienne.....	7
1.3. mode d'élevage en Algérie.....	7
<b>2. présentation des espèces produite en Algérie .....</b>	<b>8</b>
2.1. présentation de la moule.....	8
2.1.1. Systématique.....	8
2.1.2. Morphologie.....	8
2.1.3. Écologie.....	9
2.2. Présentation de l'huître.....	10
2.2.1. Systématique.....	10
2.2.2. Morphologie.....	10
2.2.3 Écologie.....	11
<b>3. l'impact de la conchyliculture sur l'environnement méditerranéen.....</b>	<b>12</b>
<b>4. Matrice S.W.O.T du secteur conchylicole en Algérie .....</b>	<b>13</b>
<b>II. Les paramètres physico-chimiques.....</b>	<b>14</b>
<b>1. La pollution marine .....</b>	<b>14</b>
1.1. La température(T) .....	14
1.2. La salinité (S) .....	14
1.3. Le potentiel d'Hydrogène (pH) .....	15
1.4.l'oxygène dissous (OD).....	15
1.5. La turbidité.....	15
1.6. La matière en suspension(M.E.S) .....	16
<b>2. Les critères de la pollution organique .....</b>	<b>16</b>
2.1. Matière organique(MO) .....	16

2.2. Demande chimique en oxygène(DCO) .....	16
<b>3. Les sels nutritifs .....</b>	<b>17</b>
3.1. Les différentes formes des sels nutritifs .....	17
3.1.1. L'azote (N) .....	17
3.2. La silice dissoute (SiO <sub>2</sub> <sup>2-</sup> ).....	18
3.3. Le phosphore (P) .....	19
<b>4. Autres paramètres.....</b>	<b>19</b>
4.1. La chlorophylle <i>a</i> .....	19
4.2. Le sédiment .....	19
<b>III. Étude microbiologique.....</b>	<b>19</b>
<b>1. Germes indicateurs de contamination fécale.....</b>	<b>19</b>
1.1. Les Coliformes totaux (CT) .....	20
1.2. Les coliformes fécaux ou thermotolérants (CF) .....	20
1.3. <i>E. coli</i> .....	20
1.4 . Les streptocoques fécaux.....	20
<b>2. Les germes pathogènes.....</b>	<b>21</b>
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
2.2. <i>Salmonella</i> sp.....	21
2.3. <i>Clostridium perfringens</i> .....	21
2.4. les vibrions.....	21

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>1. Présentation de la zone d'étude .....</b>	<b>23</b>
1.1. Situation géographique .....	23
1.2. Choix et localisations des stations de prélèvement.....	24
<b>2. Conditions et des moyens de prélèvement .....</b>	<b>24</b>
2.1. Le flaconnage.....	24
2.2. Les filtres.....	25
<b>3. Travaux effectués en mer .....</b>	<b>25</b>
3.1. Prélèvement d'eau de mer .....	25
3.2. Mesures in situ .....	25

3.2.1. La température.....	26
3.2.2. Le pH.....	26
3.2.3. La Salinité / la conductivité/ oxygène dissous .....	26
3.3. Prélèvement des huîtres et les moules .....	27
3.4. Prélèvement de sédiment.....	27
<b>4. Travaux effectués au laboratoire .....</b>	<b>28</b>
4.1. Analyse des paramètres physico-chimiques .....	28
4.1.1. Mesure de la matière en suspension (MES).....	28
4.1.2. La matière organique dans l'eau de mer (MOP) .....	28
4.1.3. Dosage de la chlorophylle <i>a</i> par spectrométrie.....	29
4.1.4. Dosage des sels nutritifs .....	30
4.2. Analyse granulométrique .....	31
4.3. Analyse microbiologique.....	33
4.3.1. Analyse bactériologique de l'eau de mer.....	33
4.3.1.1. Dénombrement des Coliformes, Streptocoques fécaux et des staphylocoques .....	34
4.3.1.2. Recherche des Salmonelles et les Vibrions.....	38
4.3.2. Dénombrement et recherche de la flore contenue dans le biote.....	40
4.3.2.1 Recherche et dénombrement des coliformes par incorporation en milieu gélosé.....	40
4.3.2.2. Recherche et dénombrement par étalement en surface.....	42
4.3.2.3. Recherche des salmonelles .....	42
4.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries dans les sédiments.....	43
4.3.3.1. Dénombrement des coliformes et des streptocoques fécaux en milieu liquide par la Détermination du nombre le plus probable (NPP). .....	43
4.3.3.2. Recherche des salmonelles.....	45
4.3.3.3. Recherche des vibriennes.....	45
<b>5. Techniques de caractérisation et d'identification de quelques bactéries.....</b>	<b>46</b>
5.1. Coloration de Gram.....	46
5.2. Test de la catalase.....	46
5.3. Test d'oxydase.....	47

5.4. Test TSI .....	48
5.5. Test de coagulas.....	49
5.6. Identification par la méthode des galeries API 20.....	50

## **Chapitre III : Résultats & Discussion**

<b>1. Analyses des eaux de surface.....</b>	<b>51</b>
1.1. Variation des paramètres physico-chimiques.....	51
1.1.1 Température et Salinité .....	51
1.1.2 Le potentiel d'Hydrogène.....	51
1.1.3 Conductivité.....	52
1.1.4 L'oxygène dissous.....	52
1.1.5 La Matière en suspension (MES).....	53
1.1.6 La Matière organique particulaire dans l'eau.....	54
1.1.7 Variation des sels nutritifs.....	55
1.1.8 Chlorophylle <i>a</i> et phéopigments.....	56
1.2. Analyse granulométrique des sédiments.....	57
1.2.1. Résultats de l'analyse granulométrique.....	57
1.2.2. Interprétation de l'analyse granulométrique.....	57
1.2.3. Résultats et discussion de l'analyse de la fraction péltiques.....	58
<b>II. Analyse microbiologique .....</b>	<b>58</b>
<b>1. Recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans les eaux de surface. ....</b>	<b>59</b>
1.1. La flore mésophile totale (FMT).....	59
1.1.1. Les Coliformes totaux .....	59
1.1.2. Les Coliformes thermotolérants « Fécaux ».....	60
1.1.3. Les Streptocoques fécaux.....	61
1.1.4. Les staphylocoques .....	63
1.1.5. les salmonelles.....	64
1.1.6. Les Vibrionacées .....	65
<b>2. Recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans le sédiment .....</b>	<b>66</b>

2.1. Analyses microbiologiques des sédiments.....	66
2.1.1. Les coliformes .....	66
2.1.2. Les streptocoques fécaux .....	67
2.1.3. Les staphylocoques .....	68
2.1.4. Les salmonelles.....	69
2.1.5. Les vibrionacées.....	70
<b>3. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans le biote.....</b>	<b>72</b>
3.1. Évaluation des paramètres bactériologiques des moules et des huîtres.....	72
3.1.1. Les coliformes.....	73
3.1.2. Les streptocoques fécaux.....	74
3.1.3. Les staphylocoques.....	74
3.1.4. Les salmonelles.....	75
3.1.5. Les vibrions.....	77
3.2. Résultats d'identification des germes pathogènes.....	78
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>81</b>
<b>Bibliographie</b>	
<b>Annexes</b>	

# **Introduction**

Deepak Chopra a une fois dit « *giving and recieving are diffrent expressions of the same flow of energy in the universe* »

L'aquaculture fournit plus de la moitié des produits aquatiques dans le monde et représente 17% des apports en protéines animales à la population mondiale (FAO, 2018). Cette industrie rapporte 243,5 milliards d'USD (FAO, 2018) avec une production aquacole mondiale de 110,2 millions de tonnes en 2016 (FAO, 2018). Les espèces élevées dépendent des conditions environnementales (température, salinité, type de substrat), des sites d'élevage et les techniques de culture utilisées, développées spécifiquement pour chacune d'elles (bassin artificiel, milieu naturel, cage, filière, etc...)(FAO, 2018).

L'aquaculture Algérienne connaît actuellement un grand essor en matière de production. Depuis la création du Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques en 2000, plusieurs plans et programmes de développement ont été élaborés permettant ainsi le démarrage de plusieurs projets privés d'aquaculture dans différentes filières d'activité (FAO, 2006)

La production aquacole actuelle provient de plusieurs branches de l'aquaculture en Algérie, parmi eux on trouve la conchyliculture, autrement dite, l'élevage des mollusques et des crustacés Les mollusques sont le deuxième groupe le plus produit dans le monde (FAO, 2020).

Le littoral Algérien est de plus en plus affecté par l'activité humaine ; plus de 60 % de la population se trouve près du littoral (FAO, 2018). Cette forte densité entraîne des agressions permanentes notamment par le déversement des rejets d'eaux usées domestiques et industrielles directement en mer sans traitement préalable (FAO, 2018).

Ces derniers sont la source principale de la pollution microbiologique du milieu marin qui constitue une menace pour la santé publique lors de la baignade ou lors de la consommation des produits de la mer contaminés (Baudart et Paniel, 2014).

La qualité sanitaire des coquillages est directement dépendante de la qualité des eaux littorales. En particulier, les micro-organismes présents dans l'eau peuvent être concentrés par les

coquillages et constituent un risque sanitaire pour le consommateur. Les bivalves peuvent ainsi être à l'origine de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC). La majorité de ces TIAC sont d'origine bactérienne (*Salmonella* ... ) ou virale (Norovirus, Hépatite A ... )(Mille et Le Moine, 2011).

La grande majorité des micro-organismes pathogènes incriminés dans les TIAC est d'origine fécale(Mille et Le Moine, 2011). Leur présence dans les eaux littorales est principalement liée aux activités anthropiques (assainissement des eaux usées, élevage, eaux pluviales ... ). Ces germes sont transférés jusqu'au littoral soit par des rejets directs (ponctuels ou diffus), soit par les apports des bassins versants. Les bactéries et virus, en arrivant dans les eaux littorales, vont subir les effets de l'hydrodynamisme (transport, dilution), de la sédimentation/ resuspension, et leur survie sera variable en fonction des conditions environnementales (température, salinité et turbidité de l'eau ; rayonnement solaire)(Mille et Le Moine, 2011). La contamination des zones de production va donc dépendre des apports contaminant, des conditions hydrodynamiques et environnementales de la zone littorale, mais aussi du positionnement géographique des zones conchylicoles par rapport aux sources de contamination (temps de transport). La réduction de la pollution à la source reste cependant le principal moyen de limiter les conséquences de ces contaminations d'origine anthropique sur l'activité économique conchylicole. Ces politiques publiques nécessitent des travaux de diagnostic, puis des réalisations d'aménagements, qui peuvent s'avérer complexes et coûteux. La purification des coquillages dans des établissements agréés est une alternative palliative, mais qui présente des limites notamment pour la contamination virale (Mille et Le Moine, 2011).

A la fin du 19<sup>e</sup> m, siècle, les premiers soupçons de cas de fièvre typhoïde liés à la consommation de coquillages apparaissent. Rapidement, le lien entre la qualité sanitaire des coquillages et celle de l'eau a été établi. Les professionnels et les pouvoirs publics prirent alors conscience de la nécessité de prendre des mesures de salubrité afin de protéger les consommateurs et de préserver l'activité économique (Mille et Le Moine, 2011).

On peut dire alors que l'activité conchylicole et la qualité du produits élevés dépend essentiellement de la qualité de l'eau et l'état environnementale de la zone d'élevage **(FAO,2020)**.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'état environnementale du ferme conchylicole Algérienne dans la wilaya de Tipaza, sa qualité physico-chimique et bactériologique du eaux, des sédiments et le biote (moules et huîtres d'élevage de la ferme) du ferme et ceci à travers une campagne de prélèvement ayant lieu le mois du Juin, 2021.

Ce mémoire s'articule autours de trois grands volets :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique qui concerne la conchyliculture Algérienne, la pollution marine, les différents paramètres physico-chimiques et bactériologiques.
- ✓ Le second chapitre présente et décrit la zone d'étude ainsi le matériel utilisé en mer et au laboratoire et des méthodes appliquées dans les différentes analyses.
- ✓ Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des différents résultats des paramètres physico-chimiques et bactériologiques obtenus.

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

**CHAPITRE I:**  
**GENERALITES**

### I. La conchyliculture

La conchyliculture est une forme de l'aquaculture consistant à l'élevage des mollusques conchifères (soit les coquillages en général), mais en réalité ce nom recouvre principalement l'élevage de mollusques marins, avec :

- l'ostréiculture (élevage des huîtres) ;
- la mytiliculture (élevage des moules) ;
- la vénériculture (élevage des palourdes) ;
- la cérastoculture (élevage des coques) ;
- la pectiniculture (élevage des coquilles Saint-Jacques et autres pectinidés) ;
- l'halioticulture (élevage des ormeaux) (FAO, 2016)

#### 1. Présentation de la conchyliculture

##### 1.1. Production aquacole mondiale

La plupart des activités de production de coquillages sont en Asie, représentant 91,99% de production mondiale. Dans ce terme, la Chine occupe la position de leader dans l'industrie (Figure I.1) avec 83,28% de la production (FAO,2018).

Malgré la grande variété d'espèces cultivées, la production de coquillages est principalement dominée par une poignée d'espèces ou de groupes d'espèces dans le monde. En quelque sorte, les mollusques bivalves les plus produits (Tableau I.1) et les plus vendus sont les moules, les palourdes, peigne et huîtres (FAO, 2018).

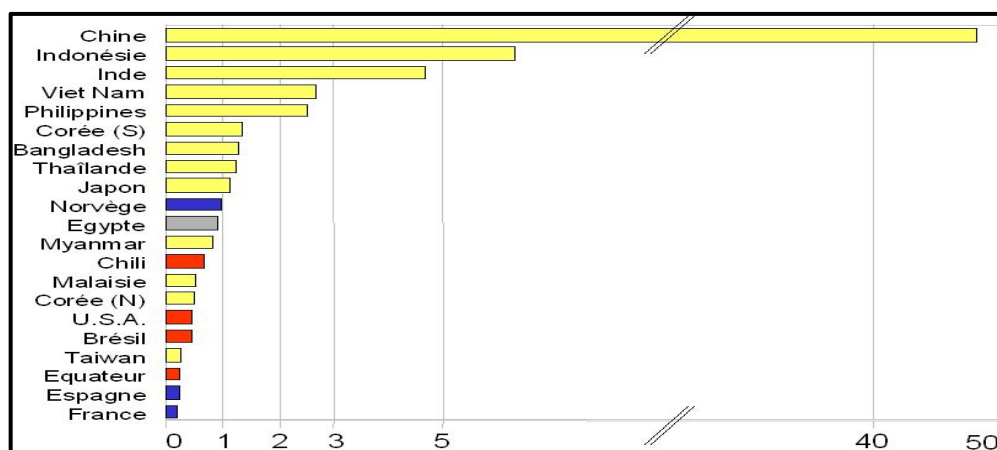


Figure I.1. Production conchylicole dans les principaux pays producteurs (Ifremer, 2018)

Tableau I.1. Principales espèces de bivalve élevées dans le monde (FAO, 2018)

Catégories	2010	2012	2014	2016	% du total (2016)
<b>Mollusques</b>					
Huîtres creuses nca ( <i>Crassostrea</i> spp.)	3 678	3 972	4 374	4 864	28
Palourde japonaise ( <i>Ruditapes philippinarum</i> )	3 605	3 775	4 014	4 229	25
Peignes nca ( <i>Pectinidae</i> )	1 408	1 420	1 650	1 861	11
Mollusques marins nca (Mollusca)	630	1 091	1 135	1 154	7
Moules nca ( <i>Mytilidae</i> )	892	969	1 029	1 100	6
<i>Sinonovacula constricta</i>	714	720	787	823	5
Huître creuse du Pacifique ( <i>Crassostrea gigas</i> )	641	609	624	574	3
Arche granuleuse ( <i>Anadara granosa</i> )	466	390	450	439	3
Moule chilienne ( <i>Mytilus chilensis</i> )	222	244	238	301	2
Autres mollusques	1 808	1 683	1 748	1 795	11
<b>Total mollusques</b>	<b>14 064</b>	<b>14 874</b>	<b>16 047</b>	<b>17 139</b>	<b>100</b>

### 1.2. Production aquacole Algérienne

La mariculture en Algérie est une réalité incontournable, elle est favorisée par des conditions climatiques favorables et d'excellentes eaux côtières (FAO, 2018). La pisciculture Algérienne est basée essentiellement sur la production du loup de mer (*D.labrax*) et de la daurade royale (*S.aurata*) en cage flottantes ou en bassin à terre, tandis que la moule (*M.edulis*) et les huitres (*C.gigas*) sont les espèces clés de la conchyliculture Algérienne (FAO, 2018).

A cet effet, le programme national de développement de l'aquaculture prévoit la production de 80 000 tonnes des produits aquacole y compris les mollusques bivalves **Annexe I**.

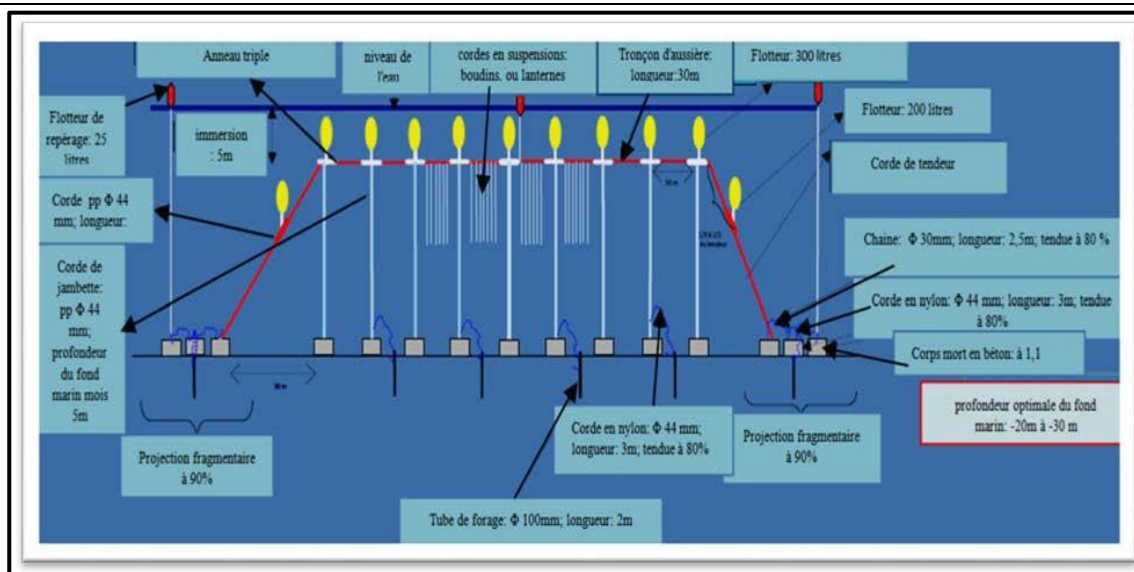
Actuellement, les fermes conchylicoles en Algérie produisent que deux espèces de bivalve, des moules méditerranéennes (*Mytilus galloprovincialis*) et des huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) en culture sur filière de sub-surface (FAO, 2015).

### 1.3. Mode d'élevage en Algérie

En aquaculture marine, la culture est faite sur filière de subsurface. Le principe est de profiter de l'espace de la pleine mer ; échapper à l'emprise des zones abritée, la filière se heurte à des conditions très rigoureuses : la houle, le vent, le courant... (FAO, 2006).

Les filières ressemblent à de grandes cordes à linge de 100 à 200 mètres de long. Ancrées sur des blocs de béton, elles sont soutenues par une série de flotteurs. Des supports, garnis de moules, y sont suspendus (Bompais,1991)

Les filières de sub-surfaces, sont implantées dans des zones où la profondeur est au minimum de 20 à 30 m. La filière d'élevage comprend une aussière supportée par des flotteurs (structure flottante en plastique), tendue aux deux extrémités par des ancrages (corps morts de béton). Les naissains sont chargés dans des supports d'élevage qui comprennent dix étages grillagés en maillages plastique, ces supports sont des enceintes souples appelées lanterne. Ces dernières sont placées sur la corde principale de la filière (aussière) et immergées à 5m de profondeur (**Figure I.2**).



**Figure I.2.** Filière de sub-surface de la ferme Cultures Marines (Source : Culture Marine, 2020)

## 2. Présentation des espèces produites en Algérie

### 2.1. Présentation de la moule

#### 2.1.1. Systématique

**Règne :** Animalia

**Embranchement :** Mollusca

**Classe :** Bivalvia

**Sous classe :** Pteriomorphia

**Ordre :** Mytilidae

**Famille :** Mytilidae

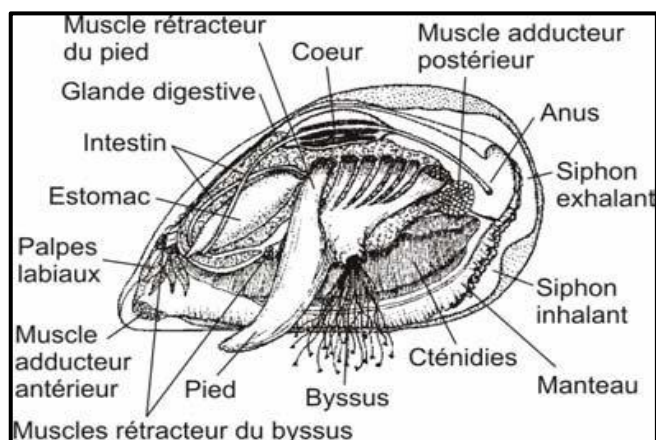
**Genre :** Mytilus

**Espèce :** *Mytilus edulis* ( Linnaeus, 1758)

#### 2.1.2. Morphologie

Coquille solide, équivalente ; inégale, becs à l'extrémité antérieure ; contour approximativement triangulaire. Ligne charnière sans dents mais avec 3 à 12 petites crénelures, sous les ombones. Marge lisse. Ligne palliale large ; cicatrice adductrice antérieure très petite, postérieure grande. Ligament externe très caché, s'étendant sur plus de la moitié de la distance entre les becs et le point le plus haut de la coquille. Sculpture de fines lignes concentriques. Couleur pourpre, bleue, parfois marron, parfois avec des marques radiales proéminentes marron

foncé à pourpre. Périostracum presque noir, brun foncé ou olive ; intérieur blanc perle avec une large bordure de pourpre ou de bleu foncé (FAO, 2020).



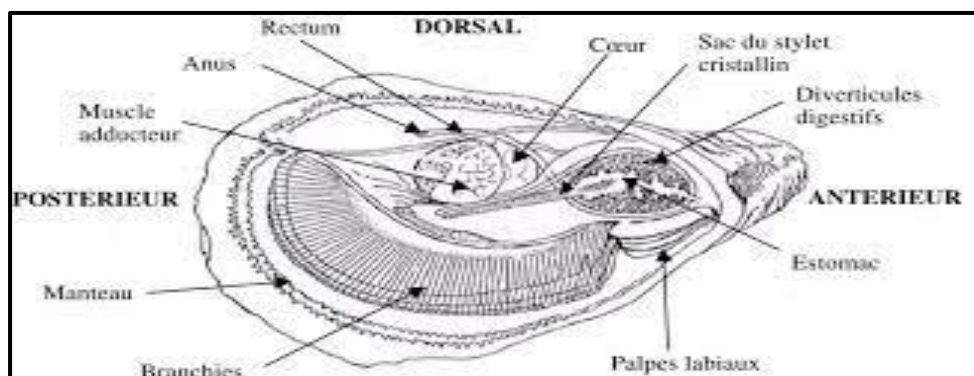
**Figure I.3.** Anatomie de la moule *Mytilus edulis*  
( <http://cncfrance.circum.net/Biologie-des-moules.aspx> )

### 2.1.3. Écologie

En Europe, elle vit sur toutes les côtes qui ont des substrats durs, dans la zone intertidale jusqu'à 40 m de profondeur (**Figure I.4**), attachée par des fils de byssus aux rochers et aux jetées, dans les ports et les estuaires abrités et sur les rivages rocheux de la côte ouverte, vivant parfois en masses denses partout où il y a des surfaces appropriées pour l'attachement. (FAO, 2020).

Le régime alimentaire des moules se compose de phytoplancton et de débris filtrés à partir de l'eau environnante. Les dimensions de l'espèce sont fortement influencées par son biotope : les coquilles intertidales restent souvent petites, dépassant rarement 6 cm, tandis que les coquilles d'eau profonde mesurent facilement 9 cm (FAO, 2020).





**Figure I.5.** Anatomie de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

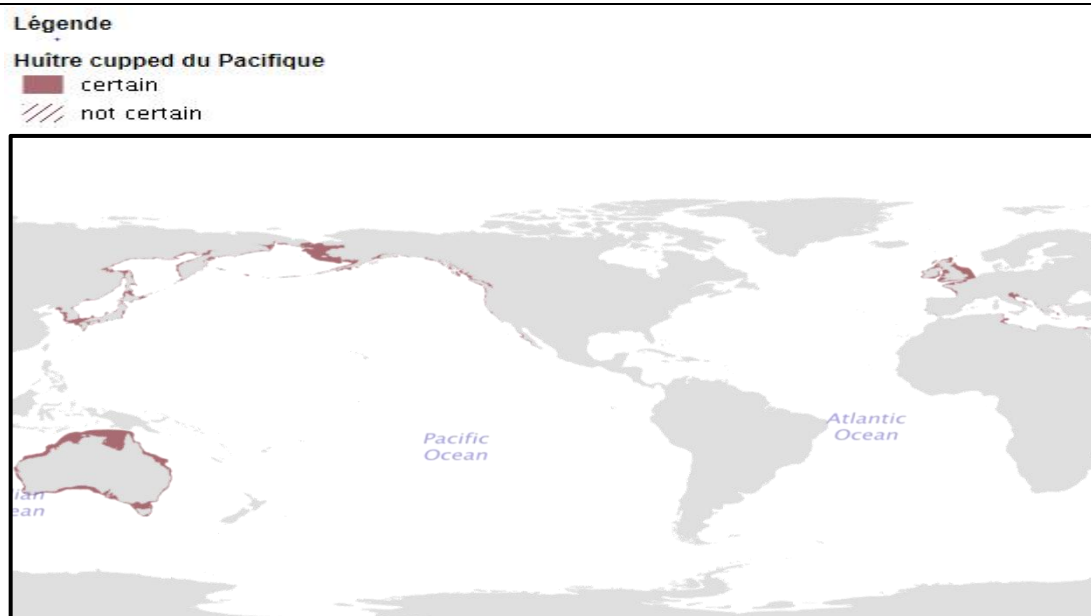
<http://cncfrance.circum.net/Biologie-des-huitres.aspx>

### 2.2.3. Écologie

*C.gigas* est une espèce estuarienne, mais peut également être trouvée dans les zones intertidales et subtidales. Elle préfère s'attacher à des surfaces dures ou rocheuses dans des eaux peu profondes ou abritées jusqu'à 40 m de profondeur, mais lorsque l'habitat privilégié est rare, elle s'attache à des zones boueuses ou sablonneuses (**Figure I.6**).

L'huître du Pacifique se trouve également sur les coquilles d'autres animaux. Les larves s'installent souvent sur la coquille des adultes, et de grandes masses d'huîtres peuvent pousser ensemble pour former des récifs d'huîtres (**FAO, 2006**).

Métropole, Enregistré au Japon, en Corée du Sud, en Sibérie, en Australie, aux États-Unis et au Canada. Il a été introduit en Amérique du Nord du sud-est de l'Alaska à la Basse-Californie. En Europe, des îles britanniques au sud au Portugal et à la Méditerranée. (**FAO, 2006**)



**Figure I.6.** Distribution mondiale de l'huître creuse (FAO, 2006)

### 3. L'impact de la conchyliculture sur L'environnement méditerranéen

La conchyliculture a profondément marqué le milieu dans lequel elle s'est installée et développée. Ces transformations ont à la fois équilibré le fonctionnement lagunaire et rendu exceptionnels des dérèglements épisodiques qui y existaient déjà. Ainsi, en accroissant le transfert vers les sédiments des éléments en suspension dans la colonne d'eau, et donc en éclaircissant l'eau, la conchyliculture a permis l'extension des herbiers sur des secteurs plus profonds qui ne leur étaient pas accessibles auparavant **(Deslous et al, 1998)**

En réinjectant massivement et rapidement des éléments nutritifs dans la colonne d'eau, elle agit favorablement sur la productivité de l'écosystème, même si par sa pression de prédation elle en élimine rapidement les produits (phytoplancton), sans doute favorisant le développement des espèces de petites tailles. elle participe activement à la limitation de l'eutrophisation de ces systèmes sous influence anthropique **(Deslous et al, 1998)**.

Par contre, en concentrant la matière organique sur le sédiment, particulièrement dans les secteurs profonds ou l'installation transitoire de thermoclines limite la pénétration de l'oxygène atmosphérique près du fond **(Deslous et al, 1998)**.

Elle favorise l'apparition d'anoxie et vraisemblablement l'empoisonnement des eaux profondes par des émissions d' $H_2S$  et de  $NH_4^+$ . Ces dérèglements favorisant l'autoépuration de l'écosystème, détruisent les populations benthiques, mais aussi, lorsqu'ils se prolongent, peuvent

atteindre les élevages et les populations pélagiques avec des conséquences économiques graves (Deslous et al, 1998).

#### 4. Matrice SWOT du secteur conchylicole en Algérie

Les raisons à la base de la faible performance du secteur de la conchyliculture dans notre pays sont multiples. Elles sont dues, pour la plupart, à la persistance d'un certain nombre de contraintes aux différents maillons de la chaîne économique du secteur.

A cet égard, La matrice **SWOT** est une méthode d'analyse qui recueille des données brutes qui ne sont qu'un préalable pour aboutir aux solutions dont le secteur de la conchyliculture a besoin. C'est une simple liste de toutes les forces et faiblesses, opportunités et menaces que l'on a pu identifier au cours de l'analyse interne et externe (EUMOFA, 2008).

**Tableau I.2.** Matrice SWOT du secteur conchylicole en Algérie (EUMOFA, 2008).

<b>Forces</b>	<b>Faiblesses</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Animaux filtreurs donc une alimentation gratuite.</li> <li>• La disponibilité en juvéniles : captage de naissains.</li> <li>• C'est une aquaculture traditionnelle donc une habitude de consommation du produit.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Une sensibilité aux agents présents dans la masse d'eau : agents pathogènes ; pollutions.</li> <li>• La fragilité des larves ou la dispersion. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ressource renouvelable en fonction de la productivité du milieu :</li> <li>• variations saisonnières de la productivité.</li> </ul> </li> </ul>
<b>Opportunités</b>	<b>Menaces</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un marché en croissance.</li> <li>• Présence d'une réglementation favorable.</li> <li>• Changement de comportement des consommateurs.</li> <li>• Main d'œuvre disponible et expérimentée dans le domaine de la mer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Investissement financier conséquent.</li> <li>• Une compétition économique mondiale : vente d'animaux vivants, chair mollusques décortiqués Etc.</li> <li>• L'absence d'un régime législatif spécifique à l'aquaculture.</li> </ul>

## II. Les paramètres physico-chimiques

### 1. La pollution marine

Selon **Lacaze (1996)**, La pollution est l'introduction par l'homme, directement ou indirectement, de substances ou d'énergie dans l'environnement marin, ayant pour conséquence des effets néfastes, tels que nuisances pour les ressources vivantes.

La pollution c'est toute modification du flux d'énergie, de l'intensité des rayonnements, de la concentration des constituants chimiques, naturels ou encore l'introduction dans la biosphère de substances chimiques artificielles produites par l'homme (**Ramade, 2000**). Parmi les paramètres influencés par la pollution marine, on a :

#### 1.1. La température

La température est un paramètre important pour la connaissance des masses des eaux. La principale application physico-chimique est la détermination de la valeur de saturation des gaz dissous et en particulier de l'oxygène (**Aminot, 1986**). En eau marine de surface, la température suit le cycle des saisons (**Aminot et Kérouel, 2004**).

Elle joue un rôle dans la solubilité des sels, les gaz, la détermination du pH (**Rodier et al, 1996**) et dans les cycles biologiques qui ont des répercussions sur la pêche et sur l'aquaculture (**Aminot, 1986**).

#### 1.2. La salinité

La salinité représente le contenu en sels dissous d'une eau, elle est le descripteur indispensable en milieu marin et elle s'avère nécessaire à l'interprétation et au traitement de la plupart des autres paramètres (**Aminot et Kérouel, 2004**).

En milieux côtiers, la salinité est le traceur idéal des mélanges entre l'eau douce et l'eau de mer. Elle varie dans la large proportion surtout dans les zones soumises à une influence directe d'un fleuve. En méditerranée, la salinité est voisine de 38-39 PSU (**Aminot et Kérouel, 2004**).

### 1.3. Le potentiel d'hydrogène (pH)

C'est une grandeur utilisée pour caractériser le degré d'acidité ou de basicité du milieu (**Le Pimpec et al, 2002**). Il est en relation avec la concentration en ion hydrogène  $H^+$  présents dans une eau qui lui confère son caractère acide ou basique. Le contrôle du pH permet de maintenir une eau à l'équilibre, en évitant qu'elle soit agressive ou incrustante (**Rejsek, 2002**).

Le pH de l'eau de mer résulte de sa composition ionique, et essentiellement de la présence des carbonates issus de l'échange de dioxyde de carbone entre l'eau et l'atmosphère, ainsi que la dissolution du calcaire. Le système des carbonates comprend, en solution le  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ . Le pH de l'eau de mer est de l'ordre de 8 à 8.3. il est affecté par les processus naturels qui déplacent les équilibres du système carbonique, comme l'efflorescence algale, consommatrice de  $CO_2$ , ou la minéralisation de la matière organique, productrice de  $CO_2$  (**Aminot et Kérouel, 2004**).

### 1.4. L'oxygène dissous (OD)

La mesure de l'oxygène dissous concerne l' $O_2$  moléculaire en solution. L'oxygène intervient dans la plupart des processus biologiques (**Aminot et Kérouel, 2004**) qui ont généralement une influence prépondérante sur la concentration en oxygène. (**Aminot et Chaussied, 1983**). Sa solubilité dans l'eau dépend de différents facteurs, dont la température, la pression et la force ionique du milieu (**Rejsek, 2002**).

La photosynthèse produit de l'oxygène endogène, par contre la dégradation de la matière organique produite par la croissance du phytoplancton ou apportée dans l'environnement de l'extérieur conduit à une saturation insuffisante. Cela se produit lorsque la décomposition de ces matériaux nécessite plus d'oxygène que l'échange avec l'atmosphère ou l'eau ne peut fournir d'oxygène. (**Aminot et Kérouel, 2004**).

### 1.5. La turbidité

La turbidité est la réduction de transparence d'un liquide due à la présence de substances non dissoute (**Aminot et Kérouel, 2004**).

Elle traduit la propriété optique responsable de la dispersion et de l'absorption de la lumière plutôt que de sa transmission en ligne droite à travers l'échantillon (**Aminot et Kérouel, 2004**). Elle est causée, dans les eaux, par la présence de matières en suspension (MES) fines, comme les

argiles, les limons, les grains de silice et les micro organismes. L'unité de la turbidité est le NTU (Rejsek, 2002).

### 1.6. La matière en suspension (MES)

C'est l'ensemble des particules minérales ou organiques présentes dans une eau naturelle ou polluée (Ramade, 2000).

Les MES diminuent la luminosité dans l'eau, donc diminuent la production primaire des eaux (Emillian, 2009). De plus, La pollution par MES modifie le pouvoir absorbant et augmente le pouvoir de colmatage lorsqu'il s'agit de particules fines, avec entre autre de sévère conséquences pour la respiration des animaux aquatiques suite au colmatage de leurs branchies (Ramade, 2000). Elle représente une cause essentielle de turbidité de l'eau (Ramade, 2000).

## 2. Les critères de la pollution organiques

### 2.1. Matière organique (MO)

Désigne l'ensemble des substances oxydables contenues dans un effluent ou un biotope aquatique pollué (Ramade, 2000), Elles se décomposent du fait de leur instabilité chimique et par l'action des microorganismes de l'eau en formant des composés de plus en plus simples (Rejsek, 2002). Elle est répartie en deux fractions : la matière organique dissoute et la matière organique particulaire (Aminot et Chaussepied, 1983).

Ce paramètre correspond à la moyenne pondérée de la demande biochimique en oxygène  $DBO_5$  et de la demande chimique en oxygène DCO. L'excès de la matière organique provoque une désoxygénation des eaux qui peut s'avérer désastreuse pour la vie aquatique (Ramade, 2000).

### 2.2. La demande chimique en $O_2$ (DCO)

Elle présente la quantité totale de pollution oxydable et correspond à la quantité d'oxygène qu'il faut fournir grâce à des réactifs chimiques puissants (Emillian, 2009) pour oxyder les substances organiques à la fois non biodégradables et biodégradables présentes dans les eaux naturelles ou polluées, exprimée en mg/l (Ramade, 2000). Il est admis alors que la DCO est une mesure représentative de la charge organique d'une eau (Le Pimpec et al, 2002).

### 3. Les sels nutritifs

Les sels nutritifs constituent un paramètre très important pour l'étude chimique et dynamique des masses d'eaux océaniques. Ils sont dissous dans l'eau de mer et transportés par les courants océaniques d'une part et constituent une base alimentaire du cycle biologique de la biomasse océanique d'autre part (**Boulaïdid, 1987**). Indirectement, ils peuvent avoir des répercussions sur activités humaines telles que la pisciculture et la conchyliculture car leur disponibilité conditionne la production primaire sur laquelle se développe ensuite l'ensemble de l'activité biologique du milieu (**Aminot et Kérouel, 2004**).

Les éléments nutritifs sont présents dans le milieu aquatique sous diverses formes organique en solution ou dans le matériel particulaire (**Aminot et Kérouel, 2004**).

#### 3.1. Les différentes formes des sels nutritifs

##### 3.1.1. L'azote (N)

L'azote moléculaire  $N_2$  est la forme d'azote la plus abondante dans l'eau de mer. L'azote utilisable est l'azote combiné, sous forme d'ions nitrate  $NO_3^-$ , nitrite  $NO_2^-$  et ammonium  $NH_4^+$  et de composés organiques tels que l'urée (**Copin-Montégut, 1996**).

On distingue les différents degrés d'oxydation: nitrate  $NO_3^-$ , nitrite  $NO_2^-$ , Azote ammoniacal  $NH_4^+$ . Dans ce dernier cas, l'ammonium  $NH_4^+$ , forme prédominante, est le terme qui sera généralement utilisé (**Aminot et Chaussépied, 1983**).

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

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

##### B) L'azote nitreux ( $NO_2^-$ )

C'est une forme oxygénée de l'azote peu stable, qui s'insère dans le cycle de l'azote entre l'azote ammoniacal  $NH_4^+$  et l'azote nitrique  $NO_3^-$ . La présence des nitrites est due soit à l'oxydation

bactérienne des sels ammoniacaux (voie aérobie), soit à la réduction des nitrates (voie anaérobie) (Rejsek, 2002).

Les concentrations enregistrées dans les eaux marines vont de zéro à quelques micromoles par litre d'azote nitreux (Aminot et Chaussapied, 1983) et ils sont tout comme les sels ammoniacaux des indicateurs typiques de la pollution des eaux (Rejsek, 2002).

### C) L'azote nitrique ( $\text{NO}_3^-$ )

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

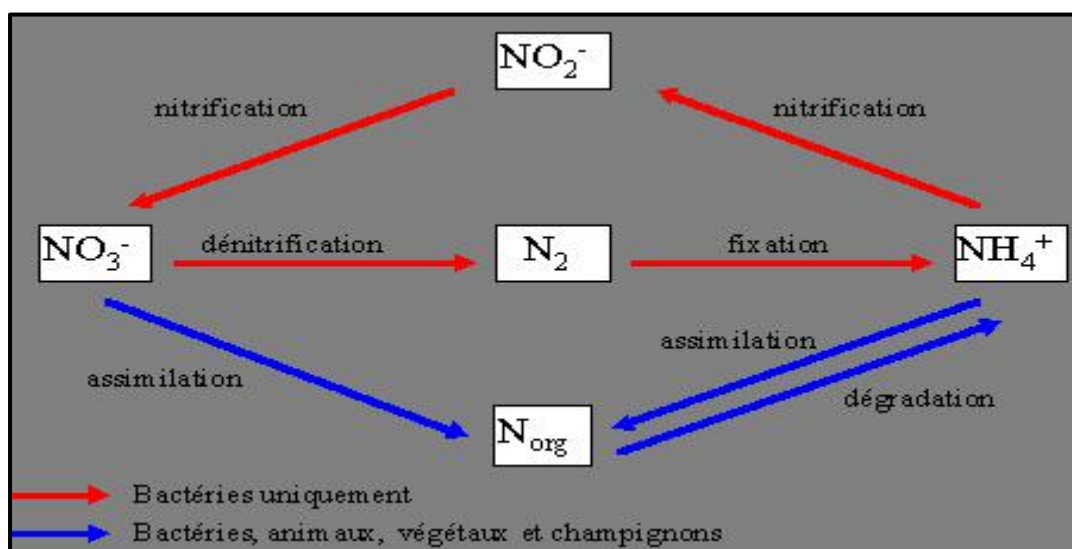


Figure I.7. schéma de cycle biologique de l'azote en mer

( <https://www.suezwaterhandbook.fr/eau-et-generalites/quelles-eaux-a-traiter-pourquoi/les-eaux-naturelles/cycle-de-l-azote>)

### 3.2. La silice dissoute ( $\text{SiO}_2^{2-}$ )

Le silicium est un élément nutritif, il entre dans la composition des squelettes de certaines espèces phytoplanctoniques (diatomées, radiolaires, ...etc.) auxquelles il est indispensable. Il se présente sous deux formes :  $\text{Si(OH)}_4$  (95%) et  $\text{Si(OH)}_3^-$  (5%) au pH de l'eau de mer. Sa concentration dans les eaux océaniques de surface peut être très basses ( $<1 \mu\text{mol/l}$ ) et elle s'élève

progressivement lorsque l'on se rapproche des côtes et en particulier dans les estuaires (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

### 3.3. Le phosphore (P)

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

## 4. Autres paramètres

### 4.1. La chlorophylle

La chlorophylle est un composé chimique indispensable à la photosynthèse. Il existe dans tous les organismes végétaux liés à l'énergie solaire, lui permettant de synthétiser sa propre matière organique carbonée à partir de carbone minéral (**Chaouado Set Hocine, 2008**).

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

### 4.2. Le sédiment

C'est le dépôt de matériel meuble d'origine minéralogique ou biogénique, de nature très varié. Dans les écosystèmes aquatiques continentaux, leur nature et leur composition sont liées à la constitution pétrographique des bassins versants et à la structure de leur couvert végétale et les apports telluriques. On distingue des sédiments d'origine allochtone et autochtone. Les sédiments présents dans les biotopes aquatiques continentaux sont d'origine allochtone (**Ramade, 2000**).

## II. Les paramètres microbiologiques

### 1. Les indicateurs de contamination fécale

Les germes indicateurs de contamination fécale (ICF) témoignent d'un contact plus ou moins probable avec des selles provenant de l'homme ou d'animaux à sang chaud. Leur niveau de spécificité sera fonction de leur ubiquité ou bien de leur capacité à se maintenir dans l'environnement. Les germes fécaux peuvent être des Entérobacteriaceae, des Streptococcus fécaux, des Entérocoques ou des Colistidium sulfitoréducteurs (Caripe t al, 2015).

#### 1.1. Les coliformes totaux

Ils regroupent un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobactériaceae. Le terme Coliformes correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogones, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies et capable 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 (Rodier,2005).

Les coliformes totaux sont des indicateurs permettant d'apprécier l'état d'hygiène générale, leurs présence indique la présence potentielle d'autres pathogènes d'origine fécale (salmonella...) (Carip et al, 2015).

#### 1.2. Les coliformes fécaux

Correspondent à des coliformes thermo-tolérants qui présentent les mêmes propriétés des coliformes après incubation à la température de 44 °C (Rodier,2005).

Ils sont spécifiquement fécaux et témoins d'une contamination récente (Carip et al, 2015).

#### 1.3. *E. Coli*

C'est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et le glucose. La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau, ou l'aliment témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent (Carip et al, 2015).

Ce sont des coliformes thermorésistants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C (Rodier, 2005).

#### 1.4. Les streptocoques Fécaux

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif, disposés en chainettes. ils sont des anaérobies aérotolérants, immobiles, non sporulés, catalase négatifs (**Carip et al, 2015**).

Ces streptocoques sont généralement pris en compte comme des témoins de pollution fécale, car tous ont un habitat fécal (**Rodier, 2005**).

### 2. Les germes pathogènes

#### 2.1. *Staphylococcus aureus*

Appartienne à la famille des Micrococcaceae et sont des coques à Gram positif, immobiles, non sporulés. Ils sont le plus souvent regroupés en en grappe de raisin. Ils sont des aérobies prédominant potentiellement anaérobies, mésophile, catalase positifs, oxydase négatives capable de fermentation du glucose. Les colonies ont une couleur facilement reconnaissable, jaune doré et la bactérie est un pathogène opportuniste, avec un pouvoir invasif de toxi-infection (**Carip et al, 2015**).

#### 2.2. *Salmonella sp*

Sont des bacilles à Gram négatif, mobile aéro-anaérobies facultatifs, incapable de fermenter le lactose ou de produire de l'uréase (**Carip et al, 2015**).

Ces entérobactéries, font parties de la flore commensale des humains et des animaux (**Rodier, 2005**), la plupart sont pathogènes pour l'homme et agent de nombreuses infections comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, de gastro-entérites et toxi-infections alimentaires parfois collective (**Carip et al, 2015**).

#### 2.3. *Clostridium perfringens*

Correspondent à la famille des Clostridiaceae. C'est des bacilles anaérobies stricts, sporulés, catalase négatives extrêmement résistantes à la température et ne possèdent pas de super-oxyde dimustase, ce qui explique leurs intolérance à l'oxygène aussi bien pour la survie et la multiplication. Il fait partie des clostridium sulfitoréductrices qui sont souvent considérés comme des témoins de la pollution fécale ancienne ou intermittente (**Carip et al, 2015**).

## 2.4. Les vibrions

Les bactéries du genre *vibrio* sont des germes aquatiques appartenant à la famille des Vibrionaceae. Ce sont des bactéries à Gram négatif, incurvées et très mobiles capables de se multiplier à de fortes concentrations de sel, ce qui leur permet de coloniser l'eau de mer. Les espèces les plus souvent impliquées dans les pathologies humaines sont *Vibrio cholerae*, *V.parahaemolyticum* et *V.alginolyticus* (Carip et al, 2015).

**Chapitre II:**  
**MATERIEL ET METHODES**

## 1. Présentation de la zone d'étude

### 1.1. Situation géographique

La ferme SPA Cultures Marines ou Cultmare est une ferme aquacole d'élevage de moules et d'huîtres composée de deux concessions à terre et en mer. Elle est localisée dans la baie de BouIsmaïl, à Kouali, à 6 km à l'Est de Tipaza. Les coordonnées géographiques de positionnement du site à terre et de la filière en mer sont respectivement : 36°35'29.32" Nord et 2°30'40.20"Est ; 36°35'58.01" Nord et 2°30'40.15" Est.

La concession à terre est de 2000 m<sup>2</sup> (**Annexe II**), répartie en deux unités : un bloc administratif avec une salle de dégustation, et un hangar de production (**Annexe II**).

Avec une superficie de 36 hectares, la concession en mer accueille 20 filières conchylicoles de sub-surface (16 pour les moules et 4 pour les huîtres) visant une production annuelle de 400 tonnes de moules *Mytilus galloprovincialis* et de 50 tonnes d'huîtres creuse *Crassostrea gigas* triploïdes (**Source : Cultures Marines, 2019**) (**Annexe II**).



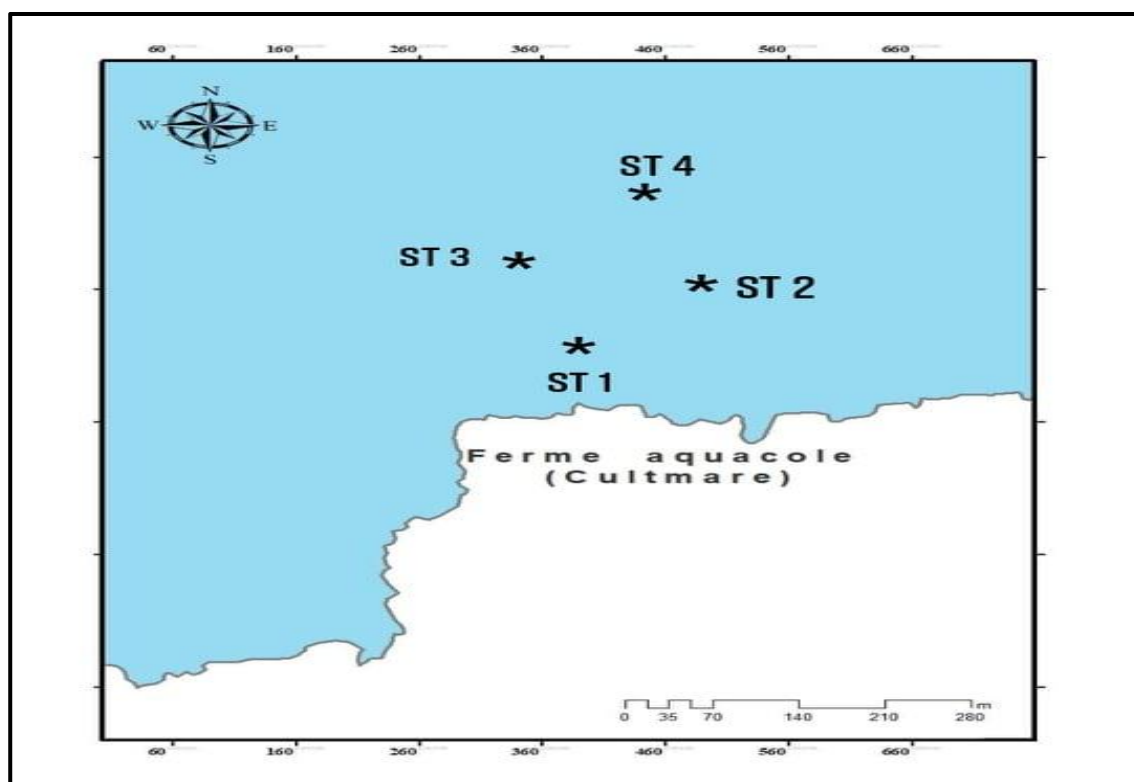
**Figure II.1.** Localisation géographique du site d'étude Ferme Cultmare, Tipaza)

(Google earth, 2021)

## 1.2. Choix et localisations des stations de prélèvement

L'objectif de notre étude est d'évaluer la qualité des eaux de la ferme conchylicole Cultmare en analysant les paramètres physico-chimiques et bactériologiques. Quatre (04) stations ont été choisies pour le prélèvement d'eau et du sédiment. Pour le positionnement des stations, la S1 se localise à l'entrée des filières, S2 à proximité des filières des moules, S3 à proximité des filières d'élevage des huîtres et pour S4, elle se localise à la sortie des filières.

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



**Figure II.2.** Localisation des stations de prélèvement d'eau de mer (Ben abd el moutaleb et Chamma ,2021)

## 1. Conditions et moyens de prélèvement

### 1.1. Le flaconnage

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

Pour l'analyse physico-chimique, on a utilisé des bouteilles en polyéthylène de 1 l et de 500 ml.

Lors du prélèvement, chaque flacon est rincé deux fois avec l'eau de l'échantillon avant son remplissage.

Pour l'analyse microbiologique, on a utilisé des flacons en verre de 500 ml. Ces flacons ont été préalablement stérilisés à la chaleur humide dans un autoclave pendant 20 min à 120°C.

### **1.2. Les filtres**

Les filtres ( GF/C, 47mm) destinés à recueillir la matière en suspension et le dosage de la chlorophylle sont macérés pendant 24 heures dans l'eau acidulée (5% d'HCl) puis sont rincés à l'eau distillée et séchés. Ces filtres sont soumis au refroidissement dans un dessiccateur pour enlever toute trace d'humidité pour être ensuite pesés et conservés à l'abri de la poussière dans des boîtes individuelles numérotées..

## **2. Travaux effectués en mer**

Les travaux en mer ont été réalisés à bord d'une embarcation fournie par la ferme, le 02/06/2021 une seule sortie a été effectuée sur le terrain.

### **2.1. Prélèvement d'eau de mer**

Les prélèvements d'eau ont été effectués manuellement à une profondeur de 15 à 30 cm sous la surface de l'eau pour l'analyse bactériologique (1L pour chaque station) et la mesure des paramètres physico-chimique (la matière en suspension (MES), la matière organique (MO), les sels nutritifs et la chlorophylle) (2L pour chaque station). Les bouteilles sont étiquetées et placées directement dans la glacière, transportées à 4°C et protégées de la lumière.

### **2.2. Mesures in situ**

La température de l'eau, le pH, la conductivité et la salinité ont été mesurés *in situ*, à l'aide d'une valise multiparamètre.

### 2.2.1. La température

Dans notre étude on a pris la valeur de la température qui est affichée sur un conductimètre de marque WTW type 315 i /S (**Figure II.4**). La précision est de l'ordre  $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ .

### 2.2.2. Le pH

Le pH de l'eau a été mesuré par la méthode électrochimique à l'aide d'un pH-mètre de terrain de marque WTW type pH 315 i/S (**Figure II.3**) et avec précision  $\pm 0,01$ . L'électrode en verre, essuyé après chaque manipulation avec du papier générique et immédiatement plongée dans les flacons d'échantillon. L'étalonnage de l'appareil a été effectué juste avant la sortie avec des solutions étalons à pH connu.



**Figure II.3.** pH-mètre de terrain

### 3.2.3. La Salinité / la conductivité / Oxygène dissous

Ces paramètres sont mesurés à l'aide d'un conductimètre de marque WTW type 315 i /S (**Figure II.8**) qui a une précision de  $\pm 0,1\text{PSU}$  et  $\pm 0,1 \text{ mS/cm}$ . Les résultats sont exprimés respectivement en PSU (unité pratique de salinité) et mS/cm. La mesure de l'oxygène dissous, est effectuée *in situ* au moyen d'un oxymètre de type (HANNA, HI9146).



Figure II.4. Conductimètre de terrain

### 2.3. Prélèvement des huîtres et les moules

Comme les huîtres et les moules sont des organismes filtreurs et sont donc sensibles à la pollution. Ce sont cependant de bons indicateurs de la pollution. Ils ont été récoltés au niveau des filières et Transportés directement au laboratoire dans une glacière pour faire l'objet des analyses bactériologiques. (Annexe II).

### 2.4. Prélèvement de sédiment

Il est réalisé à l'aide d'une benne inoxydable de type «Van Veen » (Figure II.5) qui collecte le sédiment marin superficiel sur une superficie et une profondeur données. Sur le bateau, la benne est ouverte et le contenu en est collecté dans des flacons en plastique stérilisés destinés aux analyses bactériologiques et des autres pour granulométrie (500à600g pour chaque station ).

L'échantillon étant étiqueté doit être aussitôt mis dans la glacière puis transporté au laboratoire.



Figure II.5. Benne Van Veen

### 3. Travaux effectués au laboratoire

#### 3.1. Analyse des paramètres physico-chimiques

##### 3.1.1. Mesure de la matière en suspension (MES)

Pour chaque échantillon, on filtre un volume représentatif d'eau (1l) à travers un filtre Wattman GF/C de porosité 0,45µm. Le filtre est séché et pesé avant et après filtration.

La différence de poids entre les deux pesées nous renseigne sur la charge en MES.

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

#### III.

- Les concentrations sont calculées selon la formule suivante:

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

Où :

**[M.E.S]** : Concentration de la matière en suspension (mg/l)

**P1** : Poids du filtre sec avant filtration (mg).

**P2** : Poids du filtre sec après filtration (mg).

**V** : Volume d'eau filtrée (litre).

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

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

- On met les filtres des MES dans des creusets en porcelaine numérotés.
- Peser les creusets contenant les filtres dans une balance **Pioneer<sup>TM</sup>** de précision 10-4 g (**P1**).
- On place les creusets au four de marque **WiseTherm (Figure II.6)** à 450°C pendant deux heures.
- On laisse refroidir.
- On pèse les creusets avec les filtres (**P2**).



Figure II.6. four à moufle

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

$$\text{MOP (\%)} = (P1 - P2) / P1 \times 100$$

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

### 3.1.3. Dosage de la chlorophylle *a* par spectrométrie

Le dosage de la chlorophylle *a*, pigment indispensable à la photosynthèse, sert à estimer la biomasse phytoplanctonique.

Les mesures de spectrophotométrie font appel aux propriétés de la lumière et à la loi de Beer Lambert exprimé par la formule suivante:

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

Avec:

- ✓ I<sub>0</sub> : Intensité lumineuse incidente
- ✓ I : Intensité lumineuse émergente.
- ✓ ε: Coefficient d'extinction molaire.
- ✓ C : Concentration de la solution absorbante en mol/l.

- ✓ **A** : Absorbance de la solution.
- ✓ **D.O** : Densité optique de la solution.

Le phytoplancton est recueilli sur un filtre GF/F (porosité nominale = 0,45  $\mu\text{m}$ ) et repris par un solvant pour extraire les pigments chlorophylliens.

En principe, la méthode s'applique sans restriction; seuls l'appareillage et les possibilités de filtration limitent la gamme (**Annexe V**). De plus, cette méthode a été élaborée pour une application en milieu marin, elle a l'avantage d'être très sensible et elle ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon. Pour la spectrophotométrie, l'absorbance est mesurée à deux longueurs d'onde (665 et 750 nm) (**Garrigue et Di Matteo, 1991 ; Pujo-Pay, 1995**).

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

#### 3.1.4. Dosage des sels nutritifs

##### A. Méthode d'analyse

Dans notre étude, le dosage des sels nutritifs ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{SiO}_2$ ) s'est fait par colorimétrie à flux continu sur chaîne automatisée « **Auto Analyser San Plus** » S.F.A.S troisième génération (**Annexe IV**) selon les protocoles définis par **SKALAR, 1998**.

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

##### B. Principe 4

Le principe de dosage des sels nutritifs est basé sur une réaction de coloration. En effet ces sels réagissent dans certaines conditions ( $T^\circ$ , C, pH, Catalyseur ...) avec des réactifs spécifiques pour donner naissance à une coloration absorbant la lumière à une certaine longueur d'ondes ( $\lambda$ ).

L'absorption de l'énergie lumineuse dépend de l'intensité de la coloration, de même cette dernière est d'autant plus importante que la solution est concentrée en sel dosé.

La colorimétrie est basée sur la loi de Beer-Lambert qui est exprimée par l'expression suivante :

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

## 4.2. Analyse granulométrique

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



Figure II.7. dispositif de tamisage des sédiments

### A. Mode opératoire

- On dépose les échantillons dans des boîtes de Pétri en verre ;
- On sèche à 105°C pendant 24h dans une étuve ;
- La prise d'essais 200 à 300g ;
- On fait passer sous un courant d'eau « robinet » dans un tamis de 40 µm de diamètre afin de soustraire la fraction fine (pélites) ;
- On remet les échantillons dans l'étuve à 105°C pendant 24h ;
- On pèse une deuxième fois ;
- On tamise mécaniquement sur une tamiseuse électrique (Figure II.8).
- On pèse le refus de chaque tamis.

Le diamètre des mailles de la série de tamis qu'on a utilisé dans l'ordre décroissant sont :

800 µm- 630 µm -500 µm -400 µm -315 µm -250 µm-200 µm-160 µm- 140 µm- 100 µm -80 µm - 63µm.50 µm ,40 µm. Chaque tamisage dure 15 minutes.

### B. Traitement des données

A partir des masses cumulées sont calculés les pourcentages cumulés. Des courbes cumulatives ont été établies propres à chaque station.

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

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

### C. La fraction fine

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

$$Pp(\%) = ((Pi - Pf) / Pi) * 100$$

Avec:

- ✓ **Pp**: pourcentage des pélites.
- ✓ **Pi** : poids initial (g).
- ✓ **Pf**: poids final (g).

### D. Les indices granulométriques

- **Les paramètres centraux (Annexe VII)**
- **La médiane Q2**: Elle correspond au diamètre du grain dont l'ordonnée est à 50% du poids total du sédiment.
- **Le 1er quartile (Q25)**: Correspond au diamètre du grain représentant 25% en poids du sédiment.
- **Le 3ème quartile (Q75)**: Correspond au diamètre du grain représentant 75 % en poids du sédiment.
- **Les indices de classement**
- **Indice de classement Sorting de Trask (SO)**: Il permet d'étudier le classement des sédiments

$$SO = (Q75/Q25)1/2$$

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

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

### 4.3. Analyse microbiologique

Les germes recherchés sont les coliformes totaux, les coliformes fécaux dont *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux. Les germes supplémentaires dénombrés sont les indicateurs de proximité ou d'une contamination fécale ancienne : les staphylocoques. Les *vibrio* et les salmonelles ont aussi été recherchés (présence ou absence).

Au total, trois matrices ont fait l'objet de l'examen bactériologique : Eau de mer, sédiments et les moules/ les huîtres.

#### 4.3.1. Analyse bactériologique de l'eau de mer

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

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

#### A. Matériel

- ✓ Dispositif de filtration de marque « **Sartorius stedim** ». (**Figure II.8**).
- ✓ Deux bec-Bunsen de manière à ménager une zone de travail stérile, et à pouvoir stériliser le matériel ;
- ✓ Boîtes de Pétri avec les milieux de culture spécifiques pour chaque germe ;
- ✓ Membranes d'ester de cellulose, filtrantes, de marque MILLIPORE, quadrillées et stériles (en emballage individuel) de porosité de 0.22µm et de 47 mm de diamètre susceptibles de retenir les bactéries ;

- ✓ Deux incubateurs (l'un réglé à 37°C et l'autre à 44 °C), pompe à vide, pinces stérilisées et pipettes.

### **B. Mode opératoire**

- ✓ On stérilise le dispositif de filtration ;
  - ✓ On met en place le dispositif ;
  - ✓ On pose stérilement la membrane stérile ;
  - ✓ On filtre un volume d'échantillon égale à 100ml ;
  - ✓ On dépose le filtre sur le milieu adéquat, sans faire de bulles d'air et sans la retourner;
  - ✓ On inscrit sur la boîte de Pétri, le numéro de l'échantillon et la date ;
  - ✓ On place les boîtes de Pétri en position inverse et les Incuber à une température adéquate ;
  - ✓ On flambe l'ensemble godet-base pour une autre manipulation.
- ◆ La composition des milieux de culture et des réactifs utilisés est consignée en **annexe IV**



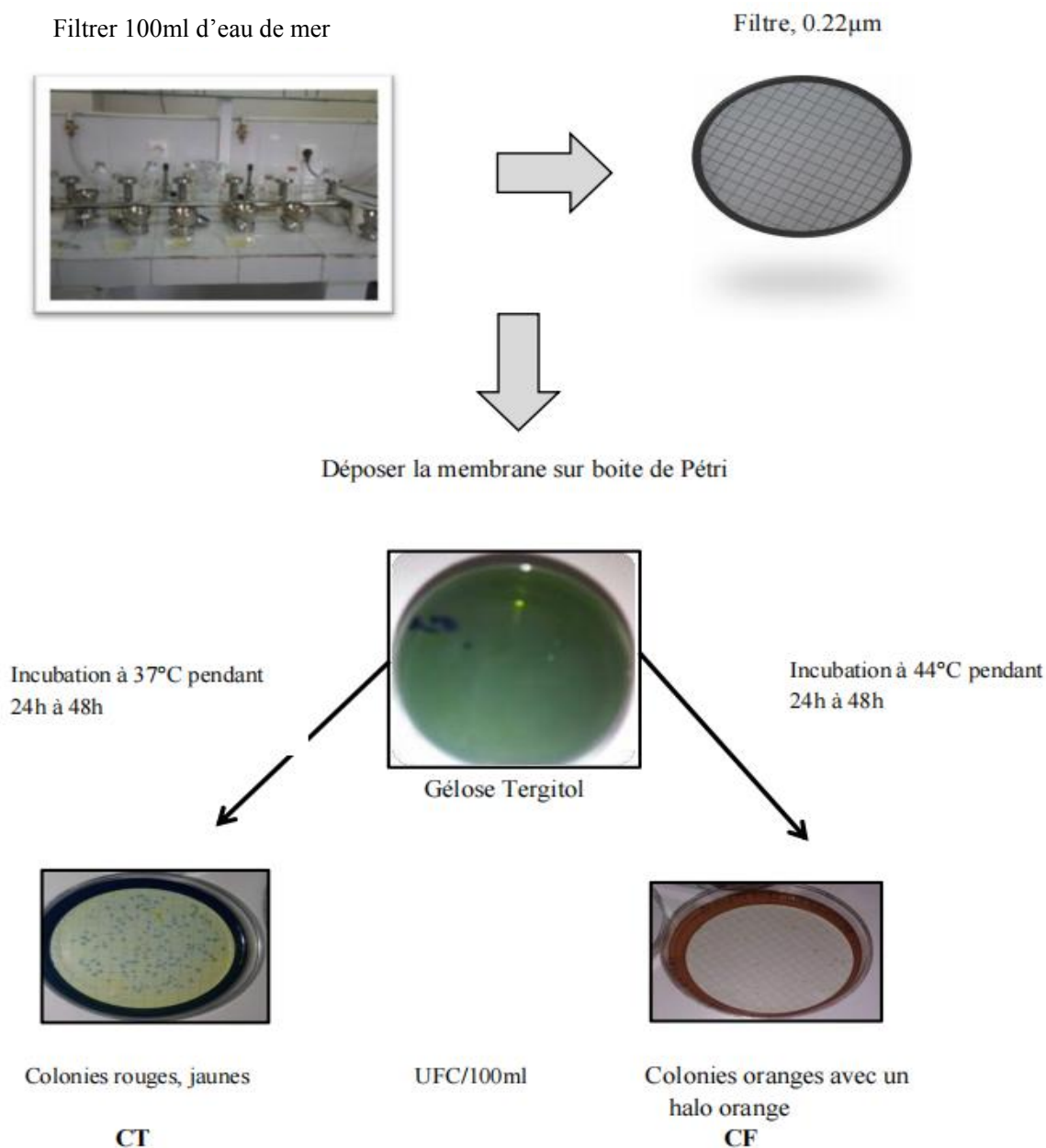
**Figure II.8.** Dispositif de filtration sur membrane.

### **4.3.1.1. Dénombrement des coliformes, streptocoques fécaux et des staphylocoques**

#### **A. Dénombrement des coliformes totaux et coliformes thermotolérants «fécaux»**

Cette méthode conduit à un dénombrement présomptif des coliformes totaux et des

coliformes fécaux sur un milieu gélosé lactosé (gélose au tergitol). Les boîtes destinées à la recherche des coliformes totaux ont été incubées à 37°C pendant 24h à 48h, alors que celles destinées à la recherche des coliformes fécaux ont été incubées à 44°C pendant 24h à 48h. **(Figure II.09)**. Le nombre de colonies trouvées sera exprimé en Unité Formante de Colonie dans 100 ml d'eau analysée (UFC/100ml).



**Figure II.9.** Technique de dénombrement des coliformes

### B. Dénombrement des streptocoques fécaux

Deux tests sont effectués. Le premier est présomptif et réalisé sur le milieu de Slanetz et Bartley. Le second est confirmatif et réalisé sur gélose BEA. Les colonies noires sur le BEA ont été identifiées (coloration de Gram et le test de la catalase)(Figure II.10).

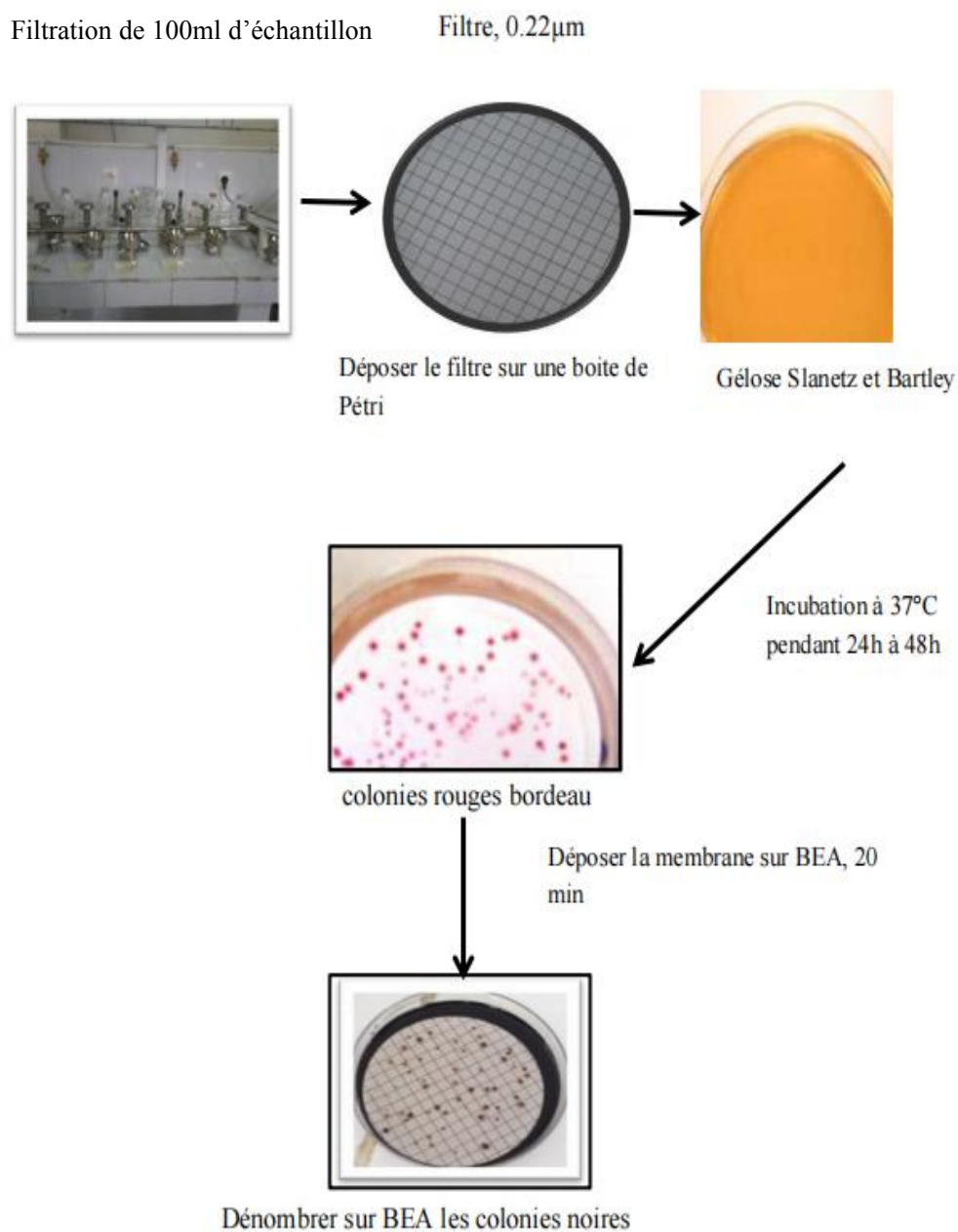


Figure II.10. Technique de dénombrement du streptocoques fécaux

### C. Dénombrement des staphylocoques

Parmi les staphylocoques, c'est le *S.aureus* qui est dénombré sur milieu Chapman.

Les colonies jaunes dorées suspectes sont dénombrées et ont fait l'objet d'une identification (coloration de gram, test de la catalase et le test de la coagulase).

(Figure II.11).

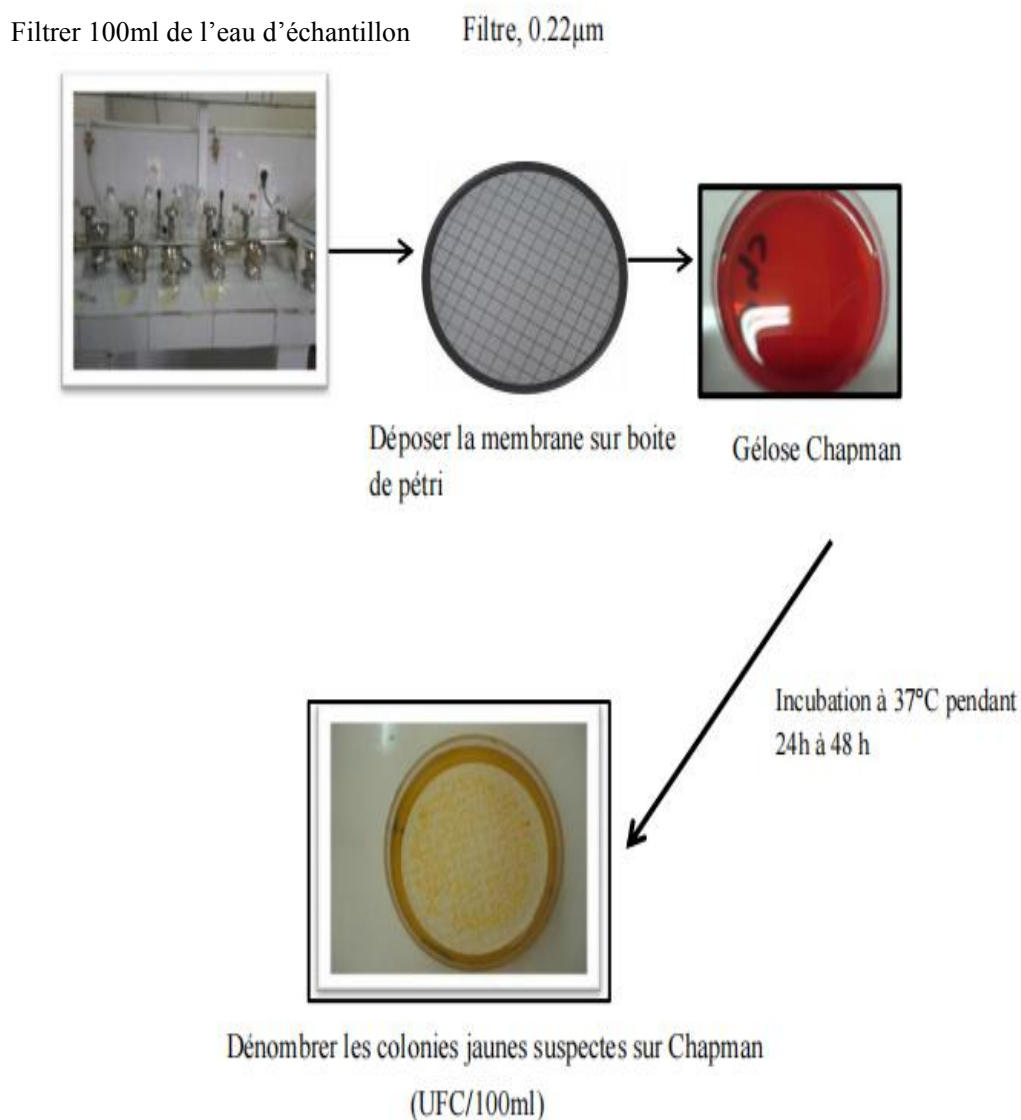
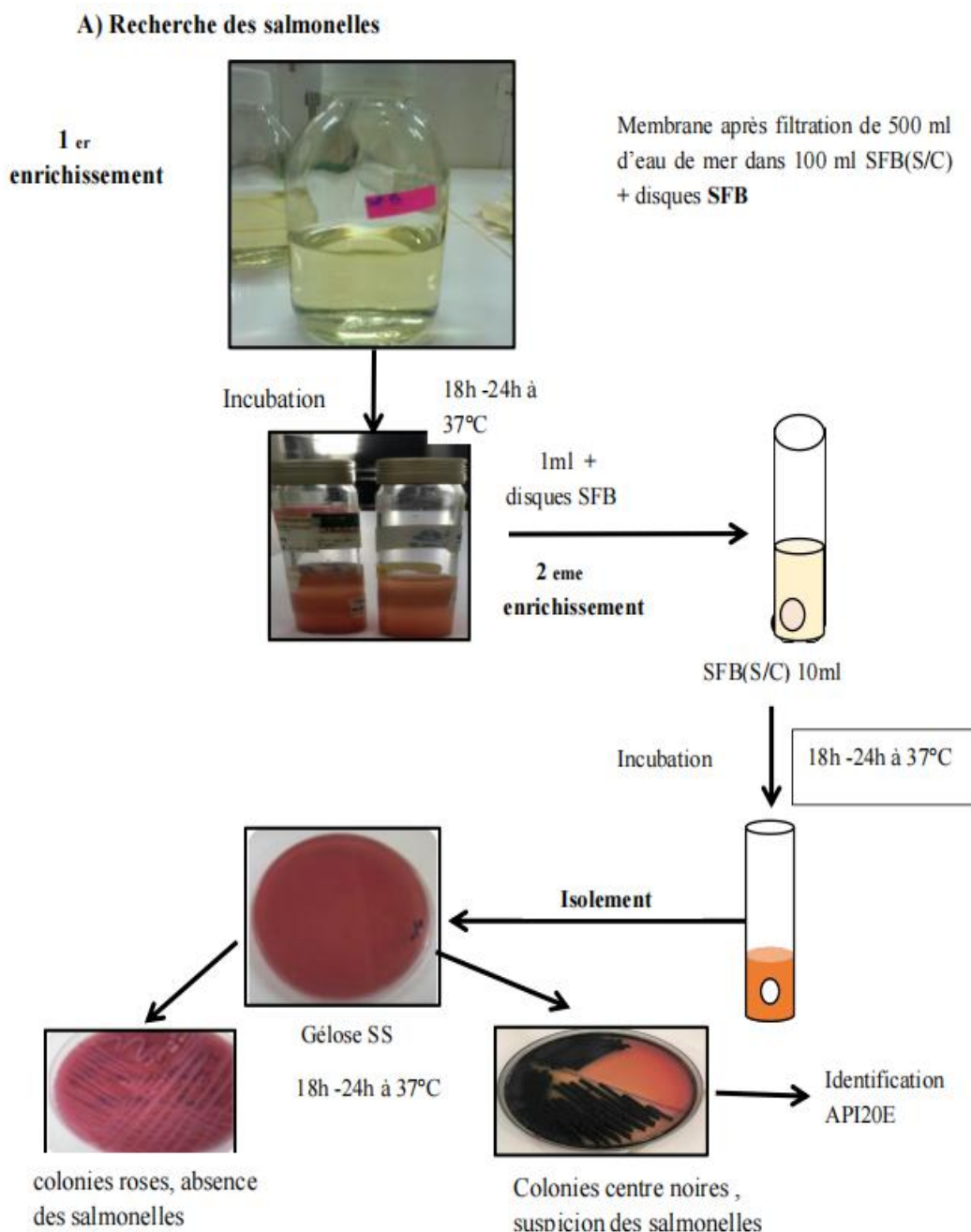


Figure II.11. Technique de dénombrement des staphylocoques.

### 4.3.1.2. Recherche des salmonelles et les vibrions

La recherche des salmonelles et vibrion sont effectuées par la méthode qualitative, réalisée en trois étapes successives : Enrichissement, isolement et identification biochimique (**Figure II.12**et **Figure II.13**).



**Figure II.12.** Technique de recherche des salmonelles.

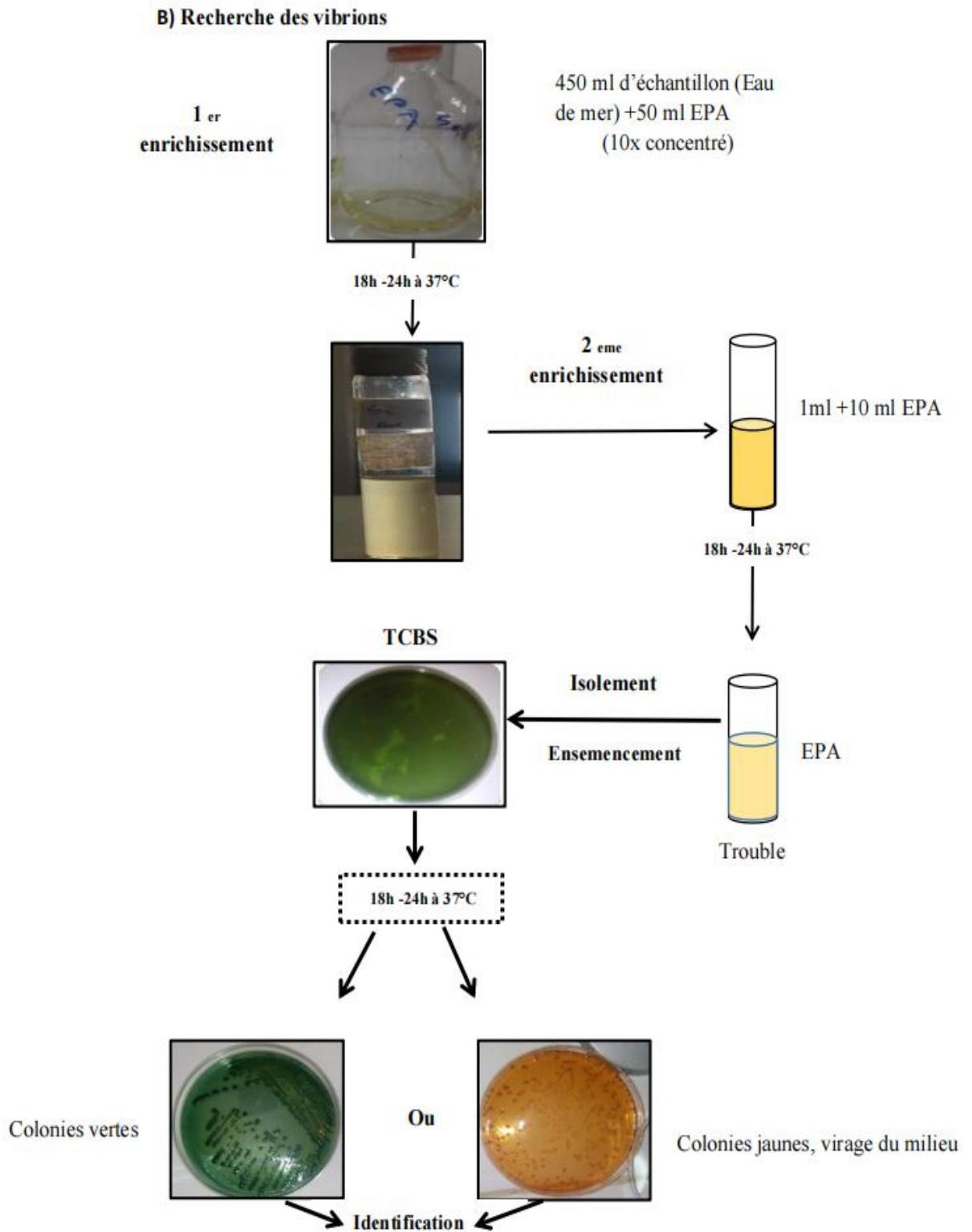
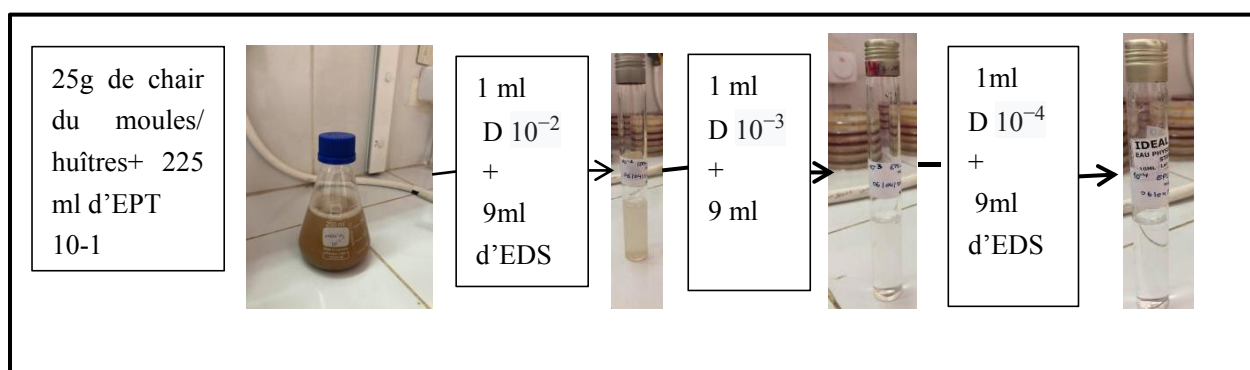


Figure II.13. Technique de recherche des vibrions.

### 4.3.2. Dénombrement et recherche de la flore contenue dans le biote

Notre étude consiste à l'analyse bactériologique des moules et des huîtres afin de comparer les résultats avec ceux obtenus pour les eaux de surface dans lesquelles ils se trouvent naturellement. Les différentes étapes de préparation de la suspension mère et des dilutions sont illustrées dans la **Figure II.14**.



**Figure II.14.** Technique de préparation des dilutions

#### 4.3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes par incorporation en milieu gélosé

A l'aide d'une micro pipette, mettre 1 ml de chaque dilution sur le fond d'une petite boîte de Pétri, répéter l'opération deux fois pour chaque dilution, Numéroter successivement, couler sur la gélose de désoxycholate 1% fondue puis refroidie à 45°C. Bien homogénéiser l'inoculum et la gélose en faisant des mouvements circulaires et de va et vient en forme de « 8 » et laisser solidifier. Incuber les boîtes pendant 24 - 48 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les thermotolérants. (**Tableau II.2**)

#### ◆ Lecture

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

#### Evaluation du nombre de CT

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

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

Avec:

**1,1** : constante

**d** : première dilution retenue

### Évaluation du nombre des CF

- ✓ On reuint les boites de deux dilutions successives donnant un nombre compris entre 15 et 150 colonies.
- ✓ On prend de chaque boite au minimum 3 colonies suspectes.
- ✓ On fait le test de l'urée indole.
- Première lecture de la première dilution retenue:

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

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

**A** : nombre de colonies repiquées (minimum 3).

**C** : nombre total de colonies par boite retenue.

- Première lecture de la deuxième dilution retenue:

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

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

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

**d** : dilution de la première boite retenue pour **a<sub>1</sub>**.

#### 4.3.2.2. Recherche et dénombrement par étalement en surface

##### A. Dénombrement des streptocoques fécaux

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

##### ➤ Lecture

Les colonies apparaîtront comme dans le cas de l'analyse de l'eau, c'est-à-dire rouges bordeaux, un test confirmatif sur bouillon Evalitsky sera nécessaire pour confirmer s'il s'agit de streptocoques fécaux (**Tableau II.1**).


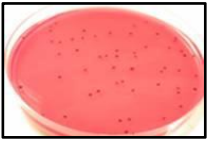


##### B. Recherche et dénombrement des staphylocoques

On procède de la même manière que précédemment en utilisant un milieu gélosé Baird Parker, après incubation à 37°C pendant 24 -48heures puis une confirmation pour les *S.aureus* sur le milieu Chapman . Les colonies suspectes apparaîtront noires (**Tableau II.1**).

#### 4.3.2.3. Recherche des salmonelles

A partir des dilutions  $10^{-1}$  ensemencer 1 ml dans un tube contenant 10ml de SFB et rajouter deux disques de l'additif SFB pour la recherche des salmonelles. La suite de la manipulation est analogue à celle effectuée pour l'eau. (**Voir Figure II.12**).

**Tableau II.1.** Dénombrement et recherche des coliformes et des staphylocoques dans la flore contenue dans le biote.

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

### 4.3.3. Recherche et dénombrement des bactéries dans les sédiments

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

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

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

La détermination du nombre caractéristique (le nombre de tubes positifs) permettra

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

### **Mode opératoire**

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

### **A. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux**

A partir de chaque dilution, prélever 1ml et ensemencer une série de trois tubes contenant 10 ml du bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) et une cloche de Durham. L'incubation se fait à 37°C pour les tubes destinés au dénombrement des coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux pendant 24 h à 48 h. (**Figure II.15**).

#### ➤ **Lecture**

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

### **B. Dénombrement des streptocoques fécaux (Figure II.16)**

La technique de recherche des streptocoques fécaux nécessite deux tests :

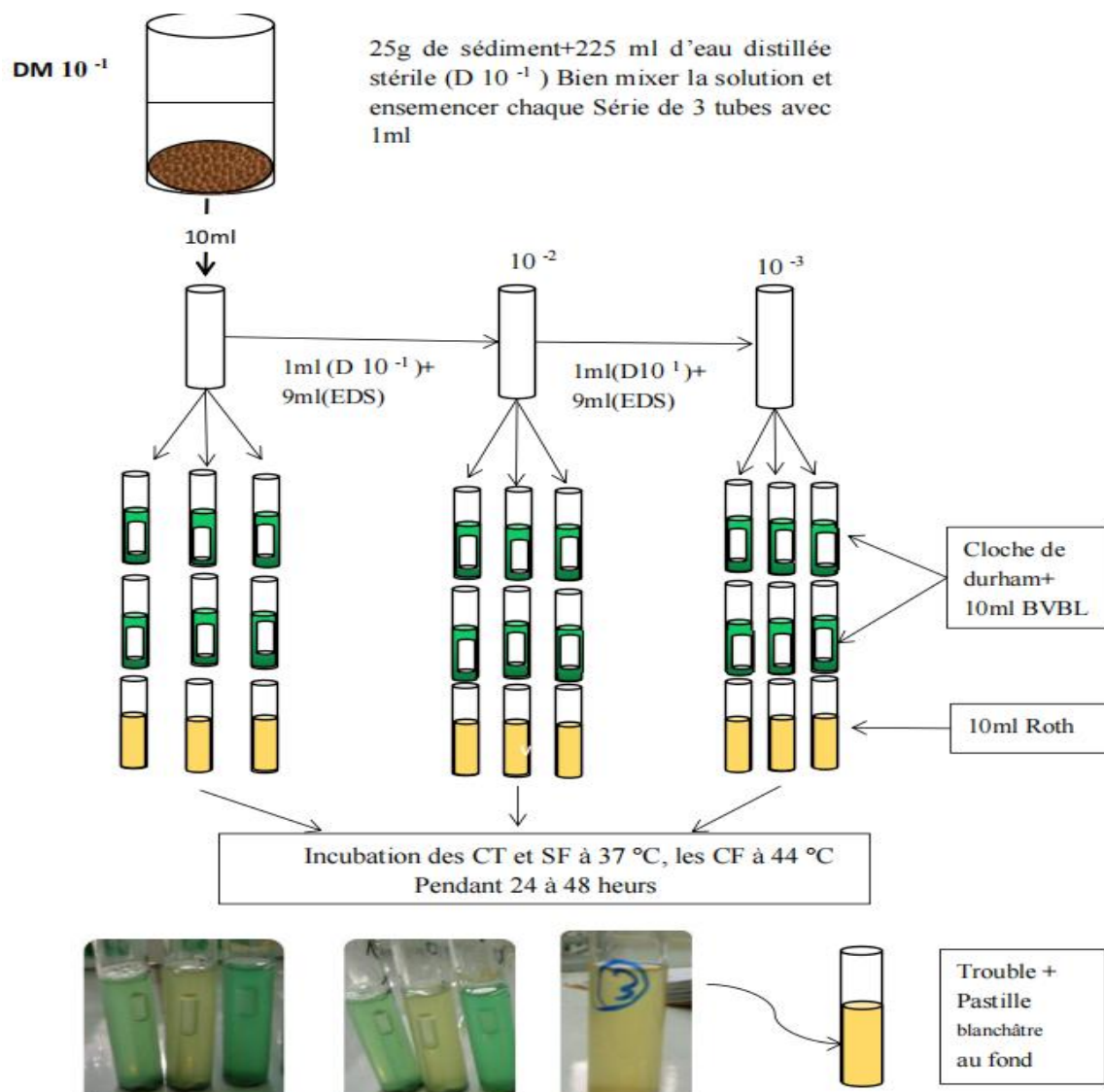
- ◆ **Test présomptif**: réalisé sur le milieu de Roth simple concentration pour l'ensemencement des dilutions.
- ◆ **Test confirmatif**: se fait par repiquage des tubes positifs sur le milieu d'Eva Litsky.
- **Lecture** : Après incubation à 37°C pendant 24 h à 48 h :
  - Milieu de Rothe** : les tubes positifs présentent un trouble.
  - Milieu d'Eva Litsky** : les tubes positifs présentent un trouble accompagné d'une pastille violette au fond.

### 4.3.3.2. Recherche des salmonelles

Procéder de la même manière que pour la recherche des salmonelles chez les moules et les huîtres.

### 4.3.3.3. Recherche des vibrions

Procéder de la même manière que pour la recherche des salmonelles chez les moules et les huîtres.



**Figure II.16.** Dénombrement des indicateurs de contamination fécale par la méthode des NPP dans les sédiments.

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

### 5.1. Coloration de Gram

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

#### Protocole de la coloration de Gram

- ✓ On prépare un frottis sec et fixe d'une culture bactérienne pure.
- ✓ On recouvre le frottis de violet de Gentiane ; laisser agir une minute ; rincer à l'eau du robinet.
- ✓ On verse du Lugol et le laisser agir pendant une minute ; rincer à l'eau de robinet.
- ✓ On décolore à l'alcool à 95%, 15 secondes ; rincer à l'eau de robinet.
- ✓ On recolore avec la Fushine pendant une minute ; rincer à l'eau de robinet.
- ✓ On sèche au –dessus de la flamme d'un bec benzène.

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

### 5.2. Test de la catalase

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

#### Technique

Prélever une colonie et déposer sur une lame propre. Ajouter une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur les bactéries.

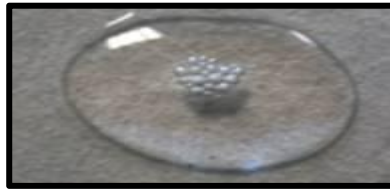
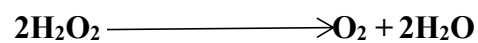


Figure II.17. Test de catalase

➤ **Lecture**

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



### 5.3. Test d'oxydase

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

**Technique**

Ce test est réalisé à l'aide des disques d'oxydase.

- ✓ On imprègne le disque par une goutte d'eau distillée stérile ;
- ✓ On prend une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la déposer sur le disque.

**Lecture**

Apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes donc la bactérie possède le cytochrome oxydase (**oxydase+**)

- ✓ Autre couleur , la bactérie est **oxydase -**.



Figure II.18. Test d'oxydase

## 5.4. Test TSI

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

### a. Mode opératoire

- ✓ A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif puis ensemencer le culot
- ✓ On incube à 37°C pendant 18-24 heures.

### b. Lecture

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

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

#### (1) Fermentation de glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

#### (2) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

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

#### (3) Production de gaz

- Apparition de gaz dans le culot.

#### (4) Formation d'H<sub>2</sub>S

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

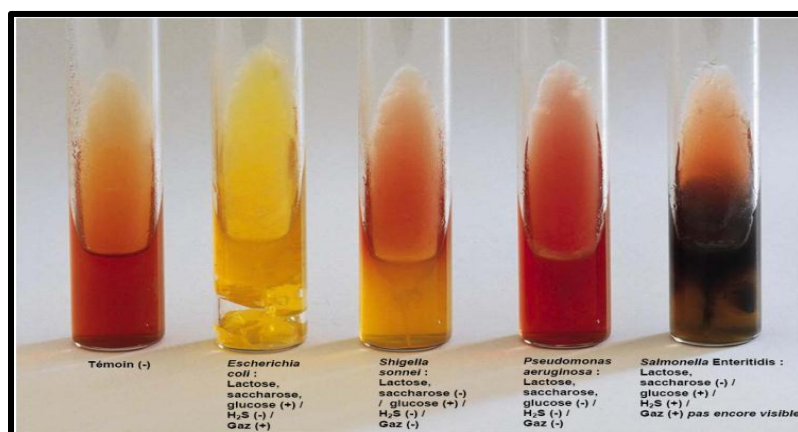


Figure II.19. Test de TSI

## 5.5. Test de coagulas

Le test de la coagulase différencie les souches de *Staphylococcus aureus* des autres espèces à coagulase négative. La coagulase est une protéine semblable à une enzyme qui provoque la coagulation du plasma en convertissant le fibrinogène en fibrine.

### a. Mode opératoire

- ✓ Étiquetez le tube à essai avec le numéro de la souche à tester.
- ✓ À l'aide de la pipette, transférez de manière aseptique 0.5 ml du plasma reconstitué dans le tube à essai.
- ✓ Sélectionnez deux ou trois colonies isolées de bactéries à tester et collectez-les à l'aide d'une anse de platine.
- ✓ Émulsionnez les bactéries dans les 1 ml de plasma et les placer dans l'incubateur 24h à 37°C.
- ✓ L'organisme de contrôle positif devrait présenter une coagulation au bout de 24 heures, contrairement à l'organisme de contrôle négatif.

### b. Lecture

Observation d'une coagulation du plasma au niveau du culot du tube en moins de 24h veut dire que le germe possède une coagulas.



**Figure II.20.** Test du coagulas

## **5.6. Identification par la méthode des galeries API 20**

### **Principe**

Les galeries API 20 comportent 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanées ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

Dans notre étude, différentes, -galerie API 20 E ont été utilisés pour l'identification des entérobactéries dont les coliformes et les salmonelles, elles pourraient être utilisée aussi pour l'identification des non entérobactéries (*Vibrio*, *Pseudomonas*). Le mode opératoire détaillé est consigné en **annexe VI**

## **Chapitre III :**

### **Résultats et discussion**

Cette partie présente les résultats des analyses physico-chimiques et bactériologiques (eau, sédiments et biote), où les taux obtenus ont été comparés aux normes Algériennes en vigueur (JORA ,1993).

## 1. Analyses des eaux de surface

### 1.1. Variation des paramètres physico-chimiques

#### 1.1.1 Température et Salinité

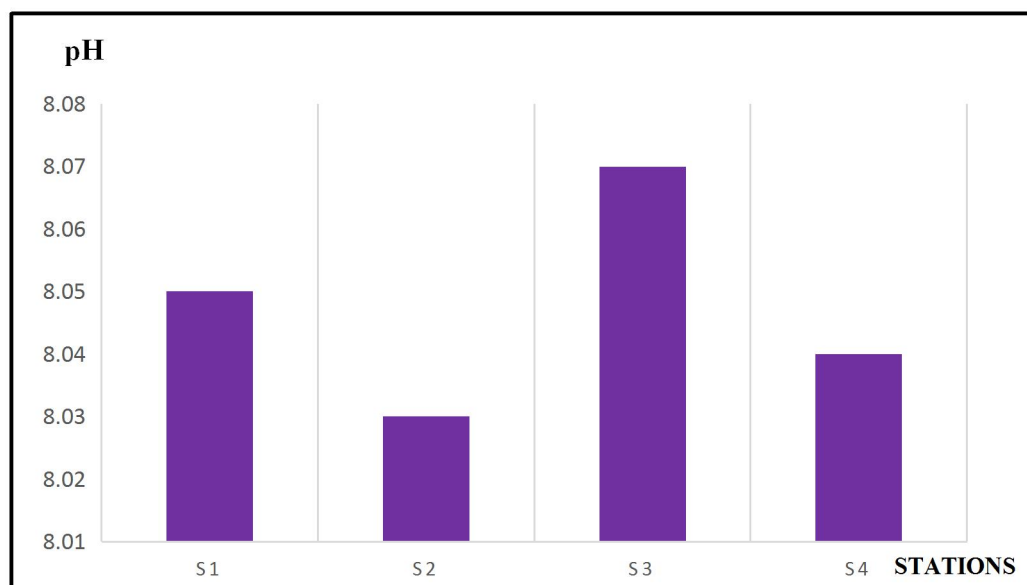
Les valeurs de la température et de la salinité qu'on a eu par les différents appareils sont des valeurs qui ne sont pas conforme et qui présentent des anomalies. Ceci peut être due à un problème de l'appareille et ce problème a été aussi rencontrer par les autres collègues qui ont utilisé le même appareillage.

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

#### 1.1.2 Le potentiel d'Hydrogène

Les valeurs du pH sont comprises entre une valeur maximale de 8.07 et une valeur minimale de 8.03 avec une moyenne de  $8.06 \pm 0,22$ . (**Figure III.1**).

La valeur moyenne du pH (8,04) est une valeur du milieu côtier donc elle est conforme aux normes Algériennes.

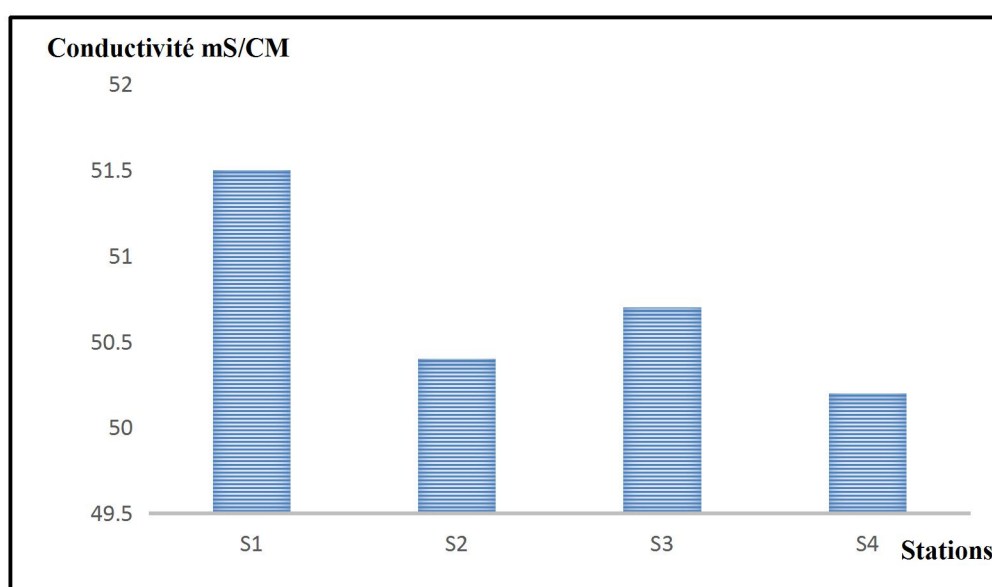


**Figure III.1.** Variation des valeurs moyennes du pH en fonction des stations

Ces valeurs de pH sont pratiquement homogènes et concordent avec celles trouvés (entre 7,84 et 8,2) par **Benantar (2020)** à Ain Tagourait (Tipaza). D'une manière générale, le milieu d'élevage du site d'étude (Cultures Marines) est caractérisé par une eau alcaline et montre une certaine stabilité chimique qui favorise une bonne croissance des huîtres et des moules.

### 1.1.3 Conductivité

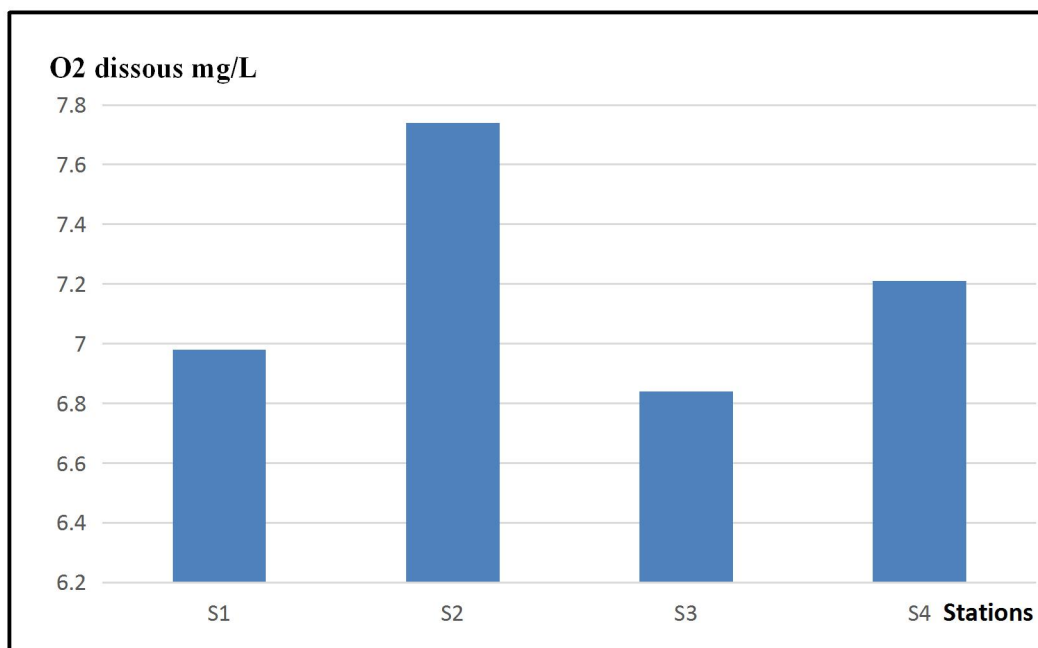
La conductivité varie entre 50,2 et 51,5ms/cm, dont la moyenne et l'écart type sont de 50,7ms/cm et 0,57respectivement (**Figure III.2**).



**Figure III.2.** Variation des valeurs moyennes de la conductivité en fonction des stations.

### 1.1.4 L'Oxygène dissous

Les concentrations d'oxygène enregistrées sont comprises entre un minimum de 6,84mg/L en S1 et un maximum de 7.74mg/L en S2 avec une moyenne de 7.19mg/L  $\pm$  0.39. **Figure III.3.**

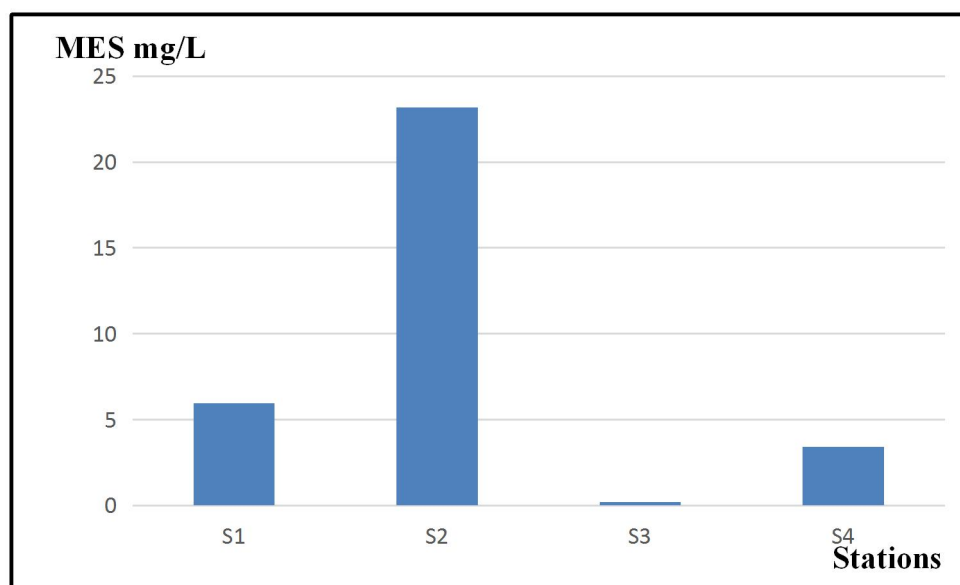


**Figure III.3.** Variation des valeurs moyennes de l'oxygène dissous en fonction des stations.

Ce résultat semble inférieur à celui (12 mg/L) trouvé par BENANTAR (2020) à Ain Tagourait (Tipaza) mais restent conforme aux exigences des moules et des huîtres. L'oxygénation du milieu d'élevage dépend de plusieurs paramètres à savoir l'activité Photosynthétique, la respiration des organismes, les échanges à l'interface air-mer, la température et la salinité. (Rollet et al. 2018).

### 1.1.5 La Matière en suspension (MES)

Les valeurs de la MES varient entre 0.2 et 23.19 mg/l avec une valeur moyenne de 8.19 mg/l et un écart type de 10.27 (Figure III.4).

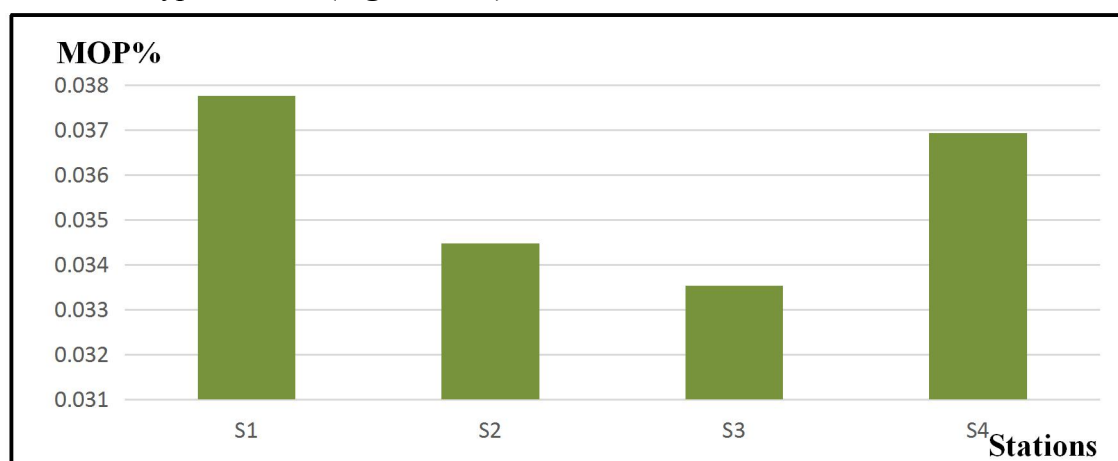


**Figure III.4.** Variation des moyennes de MES en fonction des stations.

Cette zone étudiée montre une faible teneur en MES mais elle reste en général proche de la norme Algériennes (**Jora, 2006**). On suppose que cette faible teneur en MES est due à la présence des moules et des huîtres qui sont des espèces filtreuses.

#### 1.1.6. La Matière organique particulaire dans l'eau

Les pourcentages de la matière organique particulaire varient entre un minimum de 0.033% (S3) et un maximum de 0.037 % au niveau de S1 avec une moyenne de 0.035 et un écart type de 0.001(**Figure III.5**).



**Figure III.5.** Variation des moyennes des taux de matières organique en fonction des stations.

1.1.7 Variation des sels nutritifs

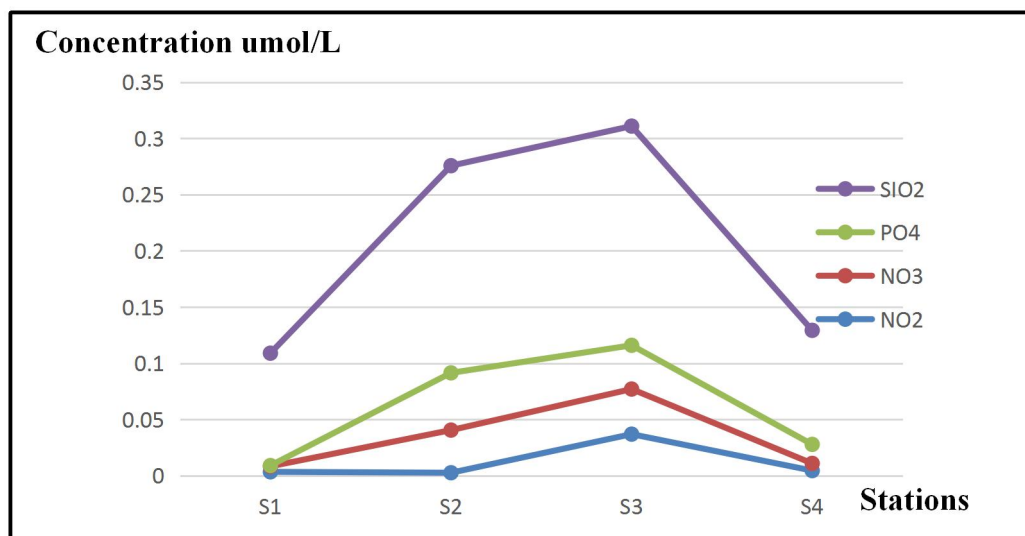


Figure III.6. Variation moyenne des sels nutritifs dans les eaux de surface

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

Sels nutritifs	[NO <sup>3-</sup> ] (μmol/l)	[NO <sup>2-</sup> ] (μmol/l)	[PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> ] (μmol/l)	SiO <sub>2</sub> ] (μmol/l)
<b>Minimum</b>	0,0049	0,0035	0,0007	0,0999
<b>Maximum</b>	0,040	0,027	0,050	0,194
<b>Moyenne</b>	0,022	0,011	0,026	0,145
<b>Ecart type</b>	0,019	0,016	0,022	0,051

Le tableau ci-dessous montre les concentrations minimales, maximales, moyenne et écart type des sels nutritifs dans les eaux de surface d'Ain Tagourait.

**Tableau III.2.**Concentrations moyennes des sels nutritifs.

Station	NO <sub>3</sub> - ( $\mu\text{mol/l}$ )	NO <sub>2</sub> - ( $\mu\text{mol/l}$ )	PO <sub>4</sub> -3 ( $\mu\text{mol/l}$ )	SIO <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol/l}$ )
S1	0,0035	0,0049	0,0007	0,0999
S2	0,0027	0,0379	0,0509	0,1842
S3	0,037	0,0401	0,0389	0,1949
S4	0,0046	0,0064	0,0169	0,1014

D'après la figure ci-dessus, nous constatons que les concentrations des orthosilicate [SIO<sub>2</sub>], sont élevées [SIO<sub>2</sub>], comparées à celles des nitrates [NO<sup>-3</sup>], des nitrites [NO<sup>2-</sup>] et des orthophosphates [PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>] qui sont faibles.

La réduction des nitrites ou des nitrates est due à la dénitrification ce qui explique les faibles taux enregistrés de ces derniers.

Les nitrates varient entre [0,0049 – 0.4901] avec une moyenne de 0,02  $\mu\text{mol/l}$  et un écart type 0,019  $\mu\text{mol/l}$ .

Les concentrations les plus élevées en nitrates ont été observées au niveau de la station (S3), ceci peut être dû aux activités anthropiques et à l'oxydation des matières azotées par les bactéries. (**Deroche, 1983**)

Par contre les teneurs ont été faibles dans les stations (S1, S2 et S4), probablement dues à une forte activité photosynthétique et à une faible régénération bactérienne.

Les valeurs de nitrites varient entre [0,004- 0,03] avec une moyenne de 0,012  $\mu\text{mol/l}$  et un écart type 0,016  $\mu\text{mol/l}$ .

La concentration la plus élevée a été observé au niveau de la station (S3), par ailleurs, les teneurs en nitrites sont faibles et relativement homogènes au niveau des stations S1, S2 et S4 .C'est peut être due au fait que cet ion est un élément intermédiaire dans la réaction de dénitrification (**Vaitea, 2005**)

Les concentrations en orthophosphates varient entre [0.0007-0,05094] avec une moyenne de 0.026 $\mu\text{mol/l}$  et un écart type 0,022.

Les teneurs les plus importantes sont enregistrées au niveau des stations S2 ; S3 et

S4 , cela s'explique par le fait que les orthophosphates proviennent de la dégradation de la matière organique ou des polyphosphates utilisés pour le traitement des eaux ou comme adjuvants actifs dans les détergents (El haji et al,1998). Par contre la valeur est faible en S1.

Les teneurs en silice varient entre 0,099 à 0.149  $\mu\text{mol/l}$ , avec une moyenne de 0.14 $\mu\text{mol/l}$  et un écart type de 0.05  $\mu\text{mol/l}$ .

Les fortes concentrations sont enregistrées au niveau des stations S2 et S3 avec un maximum dans la station S3.

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

### 1.1.8 Chlorophylle *a* et phéopigments

**Tableau III.3.** Concentrations de la chlorophylle *a* et des phéopigments

station	Chlorophylle <i>a</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	Phéopigment ( $\mu\text{g/L}$ )
S1	/	/
S2	1.08	1.83
S3	/	/
S4	2.16	3.67

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

Les teneurs en chlorophylle *a* témoignent de la présence du phytoplancton au niveau des stations S2 et S4, où les concentrations sont maximales, alors que les autres stations montrent de faibles concentrations en chlorophylle *a*.

La moyenne de ces concentrations est de 1.62  $\mu\text{g/L}$ .

Pour toutes les stations, la valeur du phéopigment est supérieure à celle de la chlorophylle *a*.

Il est à signaler que nous avons obtenu des concentrations négatives de chlorophylle *a*, (non Prises en compte dans la présentation des résultats). Nous supposons que cela est

dû à un problème technique (spectrophotomètre défaillant ou la concentration de la chlorophylle à dans l'eau de mer est au-dessous de la limite de détection de spectrophotomètre de laboratoire ou le choix du filtre).

## 1.2. Analyse granulométrique des sédiments

### 1.2.1. Résultats de l'analyse granulométrique

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

**Tableau III.4.** Valeurs des différents indices granulométriques et des quartiles (Q25, Q50, Q75) aux niveaux des quatre stations

Stations	Q25(um)	Q50(um)	Q75(um)	So	SK
S1	250	315	400	75	1,00
S2	200	250	350	0,87	1,12
S3	215	280	350	0,81	0,95
S4	200	250	315	0,78	1,00

### 1.2.2. Interprétation de l'analyse granulométrique

Un tableau présentant les diamètres des grains et appellations correspondants à la norme française (AFNOR,1994) est consigné en **Annexe VII**.

#### A. La médiane Q50

D'une façon générale, les sédiments sont relativement homogènes et la médiane varie entre 250µm (stations S1et S4) et 315µm (station S1), et la moyenne du Q50 est de 273.75µm.

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

#### B. Le 1er quartile Q25

Les valeurs du Q25 varient entre 200 µm au niveau des stations S2 et S4 et 250µm au niveau de S1 avec une moyenne du Q25 est de 216.25µm.

#### C. Le 2ème quartile Q75

Dans les trois stations, les valeurs du Q75 varient entre 315µm (S4) et 400µm (S1).

La moyenne du Q75 est de 353.75 $\mu$ m.

#### **D. Indice de classement Sorting de Trask (SO)**

Les valeurs de SO dans les trois stations varient entre [0.78-0.87] avec une moyenne de SO qui est égale à 0.78. D'après la classification de Sorting de Trask (**annexe VII**) les sédiments sont très bien classés.

#### **1.2.3. Résultats et discussion de l'analyse de la fraction pélitiques**

##### **A. Résultats de l'analyse de la fraction pélitiques**

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

**Tableau III.5.** Taux de pélite dans les quatre stations de la ferme.

<b>Stations</b>	<b>Pp</b>
<b>S1</b>	0
<b>S2</b>	0
<b>S3</b>	0,02
<b>S4</b>	0,016

##### **B. Interprétation des résultats de l'analyse de la fraction pélitiques**

Le pourcentage des pélites s'échelonne entre 0% (S1et S2) et 0.02% (S3). Nous remarquons que les taux de pélites au niveau de trois stations sont faibles. On suppose que ces taux faibles sont dus aux forts gradients de courant.

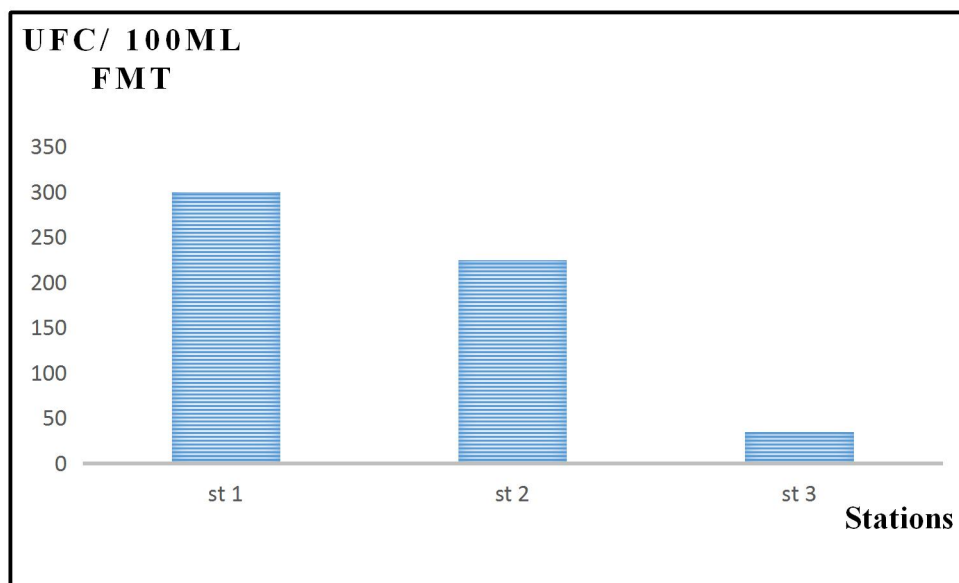
## **II. Analyse microbiologique**

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

### **1. Recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans les eaux de surface**

#### **1.1. La flore mésophile totale (FMT)**

C'est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans l'eau.

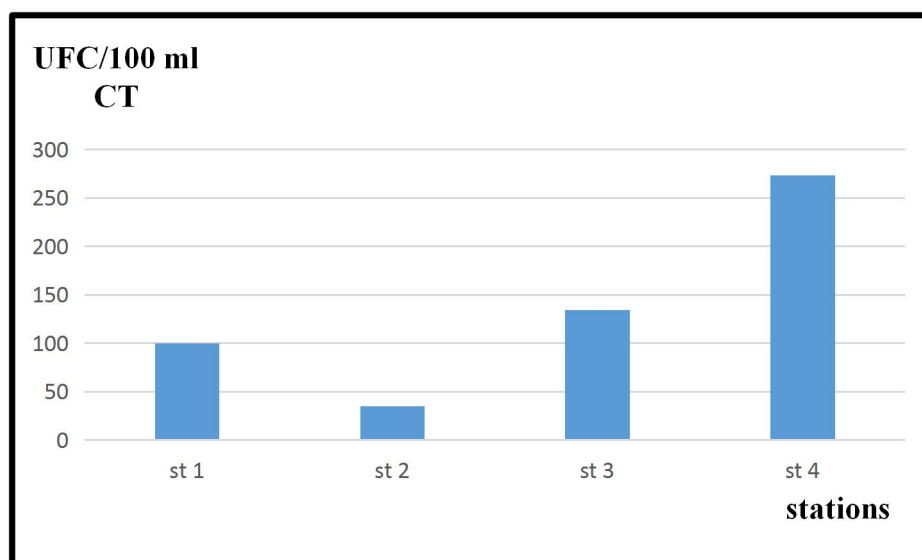


**Figure III.7.** Variations des concentrations moyennes de la FMT en fonction des stations.

Dans les S1, S2 et S3 on note une charge globale microbienne (FMT) variable et normale et nettement inférieure aux normes (500 FMT/ 100 ml) sauf pour la S4, dont les boîtesensemencés sur le milieu PCA représentent des colonies confluentes et indénombrables.

### 1.1.1. Les Coliformes totaux

La charge moyenne en coliformes totaux a été comptabilisée dans toutes les stations, qui sont représentées dans la figure ci-dessous.



**Figure III.8.** Variations des concentrations moyennes des Coliformes totaux(CT) en fonction des stations

La concentration moyenne en CT dans ces stations est inférieure à la valeur guide (500 CT/100 ml) (JORA, 1993). Les valeurs observées en S4 qui se situe à la sortie des filières, sont un peu plus élevées par rapport aux autres stations. Cela est probablement dû à la remise en suspension des particules du fond, lié au passage des embarcations de pêche. (Figure III.8).

### 1.1.2. Les Coliformes thermotolérants « Fécaux »

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

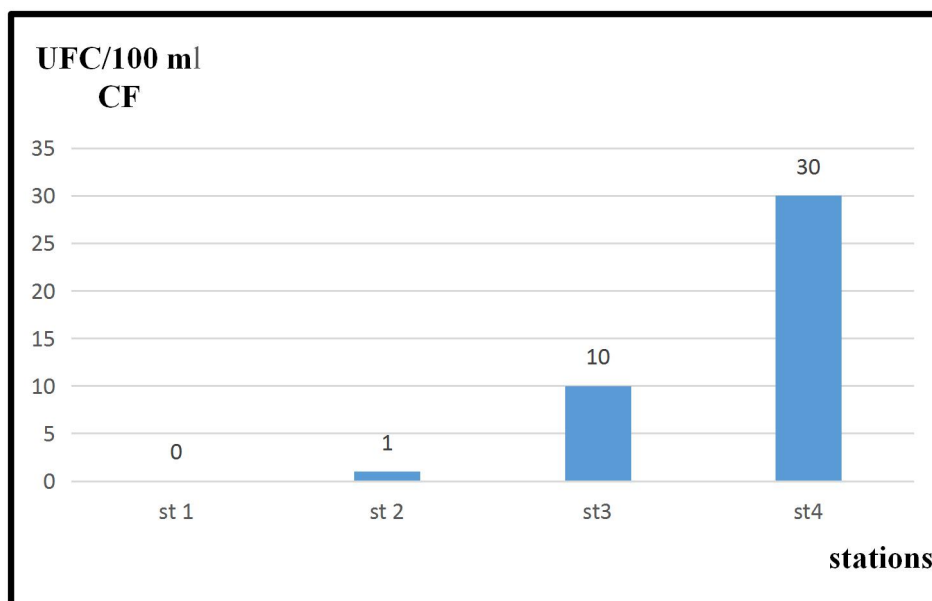
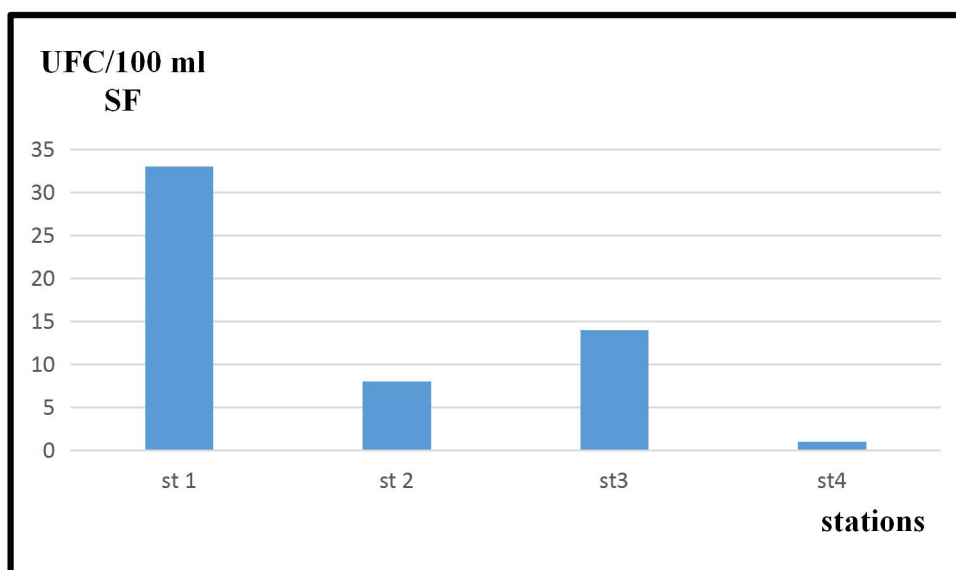


Figure III.9. Variations des concentrations moyennes des coliformes fécaux (CF)

Les concentrations en coliformes fécaux varient entre 00 CF/100 ml et 30 CF/100 dans les quatre stations. Ces dernière sont inférieures à la valeur guide (500 CT/100 ml) (JORA, 1993).

Prenant en considération la localisation de la ferme qu'elle est loin de toutes sources des rejets humains, urbains ou industrielles, on peut estimer que la contamination d'origine fécale est récente . Elle est due peut être à une contamination par les excréments d'animaux (les oiseaux, ..) qui peut disséminer les germes dans l'eau ainsi que la saison pluvieuse qu'on a vécu avant échantillonnage (Kasse et al, 2014)

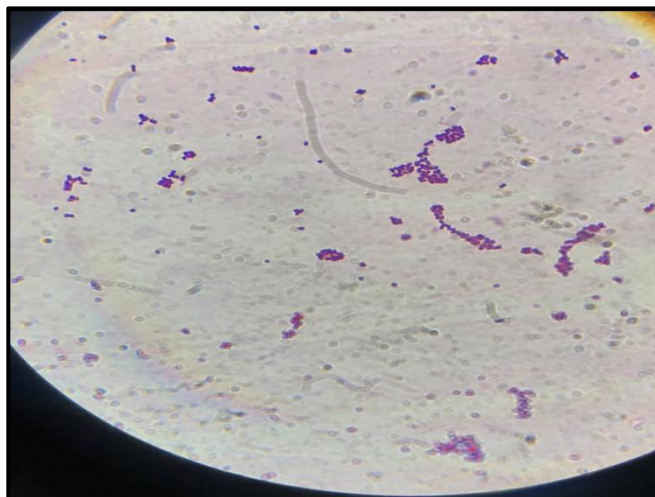
### 1.1.3. Les Streptocoques fécaux



**Figure III.10.** Variations des concentrations moyennes des streptocoques fécaux (SF) en fonction des stations.

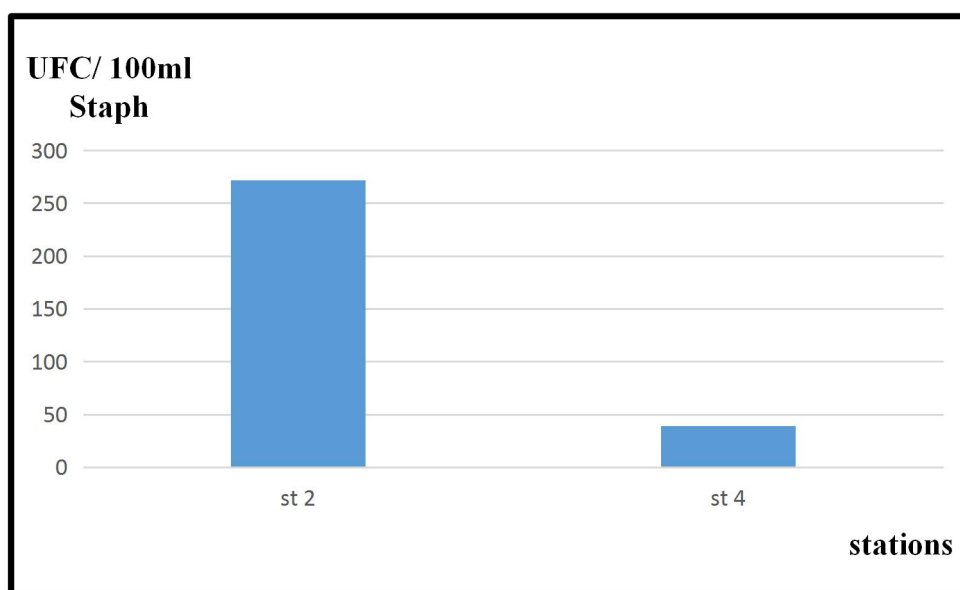
La charge des eaux de surface en streptocoques fécaux au niveau de toutes les stations est inférieur à la valeur guide 100 SF UFC/100ml. (JORA, 1993). (Figure III.10). Sur le milieu Slanetz, l'apparition des colonies rouges briques qui font un objet d'identification en utilisant le test du catalase et la coloration de Gram. On a signalé la présence de *Streptococcus sp*, une bactérie cocci Gram-positifs avec un catalase-négatifs, disposés individuellement, en paires, ou en chaînes courtes (Ruiz-Garbajosa P, 2006) (Figures III.11 ).

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



**Figures III.11.** Aspect microscopique du *Streptococcus faecalis* en chaînes courtes sous le microscope optique (Gx100).

#### 1.1.4. Les staphylocoques



**Figure III.12.** Variations des concentrations moyennes des Staphylocoques (Staph) en fonction des stations.

Les concentrations en staphylocoques varient entre les stations. Pour les stations S1 et S3, les filtresensemencées sur milieu Chapman représentent des colonies confluentes et indénombrables, ce qui reflète la richesse de l'environnement marin en micro-organismes.

Des charges plus au moins importante se localisent au niveau des S4 et S2 avec un

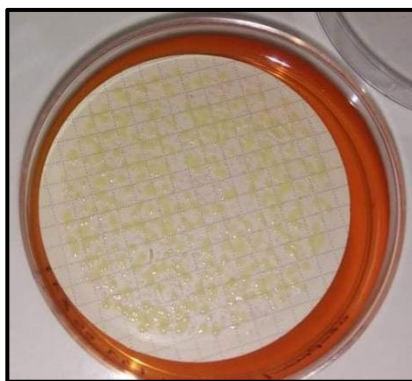
maximum au niveau de S2 (272 staph/100ml) , et un minimum au niveau de S4 (39 staph/ 100ml) (**Figure III.12**).

La reconnaissance de Staphylocoques sur le milieu de chapman se fait par l'apparition des colonies de couleur jaune , bombées , brillantes, convexes à bord régulier (**Figure III.13** ).

La couleur jaune des colonies signifie la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies. L'étude microscopique réalisée après la coloration de Gram, a permis de constater que les souches se présentent sous formes de Cocci de taille moyenne et de nombreux amas bactériens sous forme de grappe de raisin, isolées ou regroupés en paires ou en chaînettes de couleur violette, donc à Gram ( +)(**Chantal Ruf, 1976**)

Lors du contact de la colonie avec la goutte d'eau oxygénée (test de catalase), nous avons observé des bulles d'air, ces dernières traduisent un dégagement gazeux. Donc la catalase est positive (**Chantal Ruf, 1976**)

Les résultats reflète la richesse de l'environnement marin en micro-organismes (**Lecuire et al, 2007**).



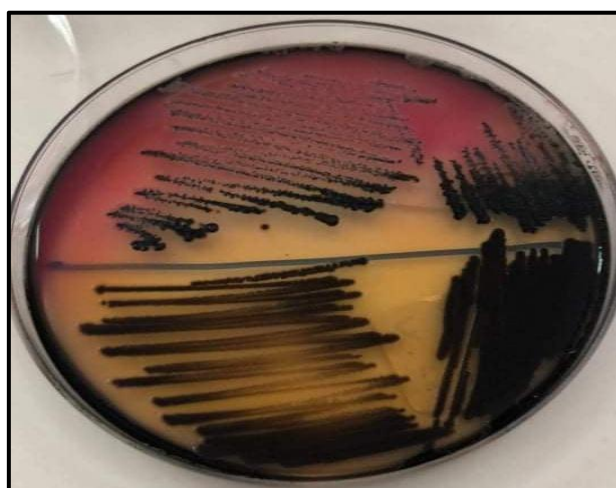
**Figure III.13.** Aspects des staphylocoques isolés de l'eau de mer sur Chapman.

#### 1.1.5. les salmonelles

Ce qui concerne l'isolement des souches de Salmonella dans l'environnement marin, après plusieurs repiquages des colonies suspectées sur la gélose Salmonella Shigella, à partir des cultures pures, nous avons constaté l'apparition des colonies incolores avec un centre noir (**Figure III.14**). Nous avons procédé à l'identification des espèces par la galerie API 20, la coloration de Gram ,le test de la catalase, test

d'oxydase et le TSI. Nous avons détecté la présence des salmonelles du genre *Salmonella enterica Arizonae* au niveau des stations 1, 2 et 4. cette présence dans les eaux a été rapportée par **Djaouda et al, 2018** au Cameroun à partir des eaux de puits de Garoua. Le même constat a été fait par **Kassimi.A, 2015** au Maroc dans les échantillons d'eaux reçues au laboratoire de microbiologie d'eau et d'aliments et par **Hounsounou E.O. et al, 2018** à Cotonou, qui a rapporté des prévalences plus élevées selon les saisons climatiques. Ces prévalences étaient plus importants durant la saison pluvieuse. Sachant qu'on a vécu une avant l'échantillonnage.

Ce germe est le plus souvent à l'origine de gastroentérites bénignes, mais peut également être la cause d'infections sévères (septicémie, infection urinaire, ostéomyélite, péricardite, myocardite, péritonite) qui en font toute la gravité pour la santé humaine (**Schneider L et al, 2009**).



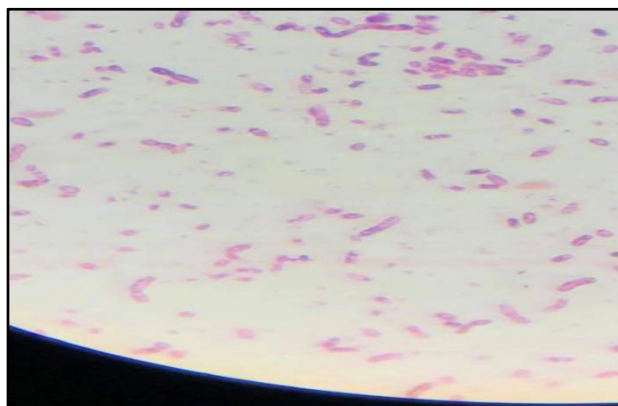
**Figure III.14.** Aspects des salmonelle isolés de l'eau de mer sur la gélose SS.

#### 1.1.6. Les Vibrionacées

L'apparition des colonies vertes et jaune de petites de taille sur le milieu TCBS ont fait l'objet d'identification. À l'aide de la coloration d Gram, on a pu voir des bactéries a gram négative et incurvés (**Figure III.15**) qui se caractérise les vibrions. le test de la catalase et le test d'oxydase ont supportés cette résultat. En revanche, la galerie API 20 a indiquée la présence du *Enterobacter cloacae* dans chaque du stations S2 et S4. Sachant que la galerie API 20 est non spécifique pour les vibrions, alors on suggère de pousser l'identification vers le séquençage.

La présence des entérobactéries pourrait être due aux conditions précaires d'hygiène

vue qu'il peuvent être transporter par l'activité des vagues et des courants comme l'ont déjà stipulé **Borrego A.F et Romero P, (1982)**.



**Figure III.15.** Aspect microscopique des vibrions incurvés isolés de l'eau de mer sous le microscope optique (Gx100).

**Tableau III.6.** Identification des quelques souches bactériennes dans l'eau par la galerie API 20

<b>matrices</b>	<b>stations</b>	<b>Espèces identifiées</b>
<b>Eau</b>	<b>S1</b>	<i>Salmonella enterica Arizonae</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
	<b>S2</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<b>S3</b>	<i>Salmonella enterica Arizonae</i> <i>Streptococcus faecalis</i>
	<b>S4</b>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Salmonella enterica Arizonae</i>

## **2. Recherche et de dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans le sédiment**

### **2.1. Analyses microbiologiques des sédiments**

Une partie du micro organismes détecté est diluée dans la colonne d'eau tandis qu'une autre partie, fixée aux particules, se dépose dans les sédiments.

### 2.1.1. Les coliformes

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

Des troubles au niveau des tubes contenant le milieu BLVBL ont été observé mais sans aucune formation de gaz au niveau des cloches (**Figure III.16**).

On peut estimer que les sédiment a été directement contaminé par la charge microbienne contenue dans l'eau (**Poté et al, 2008 ; Thevenon et al, 2011**) . Cette hypothèse support celle de **Izzo et al, (1982)**, qui dit que la contamination du sédiment est rapide et importante, et plus le séjour des bactéries dans l'eau est bref .

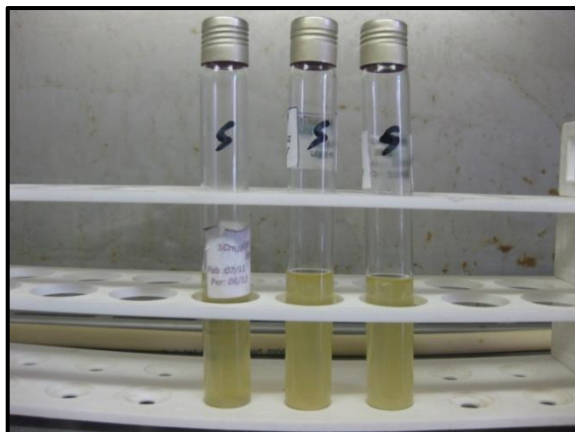


**Figure III.16.** Aspect des coliformes sur BLBVL

### 2.1.2. Streptocoques fécaux

Même observations sont rapportées par rapport aux streptocoques, la présence d'un faible trouble au niveau des tubes de Rothe (**Figure III.17**)

Un deuxième test confirmatif a été réalisé en utilisant le milieu Evaltsky, aucun changement n'a été observé au niveau des tubes (**Figures III.18**)



**Figure III.17.** Aspect des streptocoques sur Rothe.L



**Figure III.18.** Aspect des streptocoques sur Evaltsky

### 2.1.3. Les staphylocoques

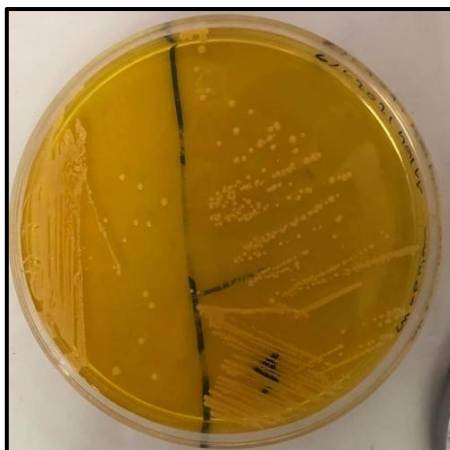
Les staphylocoques sont de bons indicateurs de proximité. Leur présence en grand nombre à coté des coliformes et streptocoques fécaux, rend probable celle des germes pathogènes dont l'isolement est souvent difficile. (Rodier et al., 2005).

l'apparition des colonies de couleur jaune dorées avec un virage de couleur au niveau de milieu Chapman (Figure III.19) font un objet d'identification.

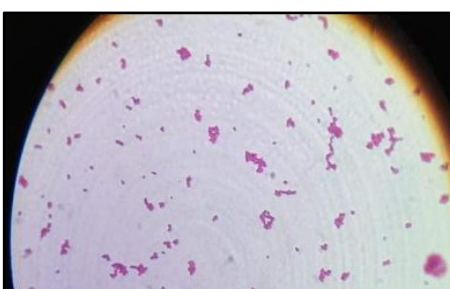
L'étude microscopique réalisée après la coloration de Gram, a permis de constater que les souches se présentait sous formes de Cocci de taille moyenne sous forme de grappe de raisin, de couleur violette, donc à Gram + (Figure III.19)(Chantal Ruf, 1976)

Lors du contact de la colonie avec la goutte d'eau oxygénée (test de catalase), nous avons observé des bulles d'air, ces dernières traduisent un dégagement gazeux. Donc la catalase est positive (**Chantal Ruf, 1976**).

Le test de coagulas a confirmé la présence de *staphylococcus aureus* dans notre sédiments des quatre stations.



**Figure III.19.** Aspects des staphylocoques isolés du sédiment sur Chapman.



**Figure III.20.** Aspect microscopique du *staphylococcus aureus* sous forme de grappe de raisin sous le microscope optique (Gx100).

On peut estimer que le sédiment a été directement contaminer par la charge microbienne contenue dans l'eau (**Poté et al, 2008 ; Thevenon et al, 2011**) . Cette hypothèse support celle de **Izzo et al, (1982)**, qui dit que la contamination du sédiment est rapide et importante.

#### 2.1.4. Les salmonelles

Après enrichissement et ensemencement sur la gélose Salmonella Shigella, des colonies roses sont identifiées. Par conséquent, on n'a pas détecté la présence de salmonelles dans 25g de sédiments analysés. Les Salmonelles survivent moins dans les sédiments. Leur survie dans le sédiment est parallèle à celle des coliformes fécaux (Van dosel et Geldreich, 1971).

#### 2.1.5. les vibrionacées

Lors de la recherche des vibrionnes dans le sédiment, on a aperçu une formation des colonies vertes et jaunes de petites taille sur le milieu TCBS (Figure III.21). Ces dernières, ont fait l'objet d'identification. À l'aide de la coloration d Gram, on a pu aperçu des bactéries à Gram négative incurvés sous le microscope optique. Le test de la catalase et le test d'oxydase ont confirmé ce résultat. En revanche, la galerie API 20 a indiquée la présence des entérobactéries dans chaque des stations S2 et S4. Sachant que la galerie API 20 est non spécifique pour les vibrions, on peut suggérer de pousser l'identification vers le séquençage.

Par contre, on a détecté la présence d' *Enterobacter cloacae* dans chacune des stations S1, S2 et S4 et *Serratia liquefaciens* en S4. Selon Sharma A et al, (2012), ces entérobactéries peuvent être issues de la colonne d'eau (le cas de *E.cloacae*) ou bien portés par les courants ( le cas de *S. liquefaciens*).



**Figure III.21.** Aspects microscopique des vibrions incurvés et les entérobactéries isolés du sédiment sur TCBS sous le microscope optique (Gx100)

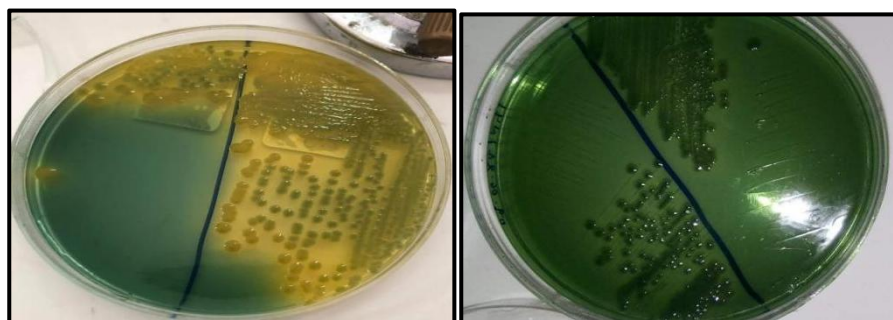


Figure III.22. Aspects des entérobactéries et des vibrions isolés du sédiment sur TCBS.

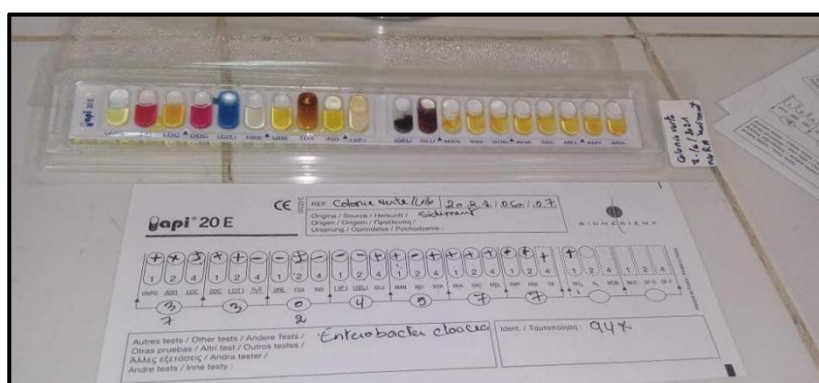


Figure III.23. l'identification des entérobactéries isolé du sédiments par ma galerie API 20 ( cas de *E. cloacae*).



Figure III.24. l'identification des entérobactéries isolé du sédiments par ma galerie API 20 ( cas de *S. liquefaciens* )

**Tableau III.7.** Identification des quelques souches bactériennes dans le sédiment par la galerie API 20

<b>matrices</b>	<b>stations</b>	<b>Espèces identifiées</b>
<b>Sédiment</b>	<b>S1</b>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>staphylococcus aureus</i>
	<b>S2</b>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>staphylococcus aureus</i>
	<b>S3</b>	<i>Serratia liquefaciens</i> <i>staphylococcus aureus</i>
	<b>S4</b>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>staphylococcus aureus</i>

### **3 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de la pollution dans le biote**

Un tableau présentant les valeurs des concentrations moyennes des germes recherchés dans le biote est consigné en **Annexe VII**.

#### **3.1. Évaluation des paramètres bactériologiques des moules et des huîtres**

Dans notre étude nous avons analysé les moules et les huîtres directement sortie de l'eau pour voir si elles sont propres à la commercialisation ou le contraire, mais aussi, car ce sont des organismes filtreurs, donc elles sont des bio-indicatrices de la qualité de l'eau. Elles ingèrent le phytoplancton, base essentielle de leur nourriture mais concentrent également dans leur tractus digestif et leurs tissus, les polluants chimiques et les micro-organismes présents dans le milieu environnant.

Les germes recherchés sont:

- ◆ Coliformes totaux et fécaux,
- ◆ Streptocoques fécaux
- ◆ Staphylocoques

- ◆ Salmonelles
- ◆ Les vibrions

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

**Tableau III.8.** Concentrations des germe recherché /100g de chair + liquide du système aquifère

Germes/espèce	CT	CF	SF	staph	Salmonelle
<b>moules</b>	920	436	Abs	75	présence
<b>Huîtres</b>	192	140	Abs	16	Abs
<b>normes</b>	<300UFC/ 100g	<300UFC/ 100g	Abs	10 <sup>3</sup> dans 25g de chair	Abs dans 25g de chair

### 3.1.1. Les coliformes

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux permettent d’apprécier l’importance de la contamination dans les produits conchylicoles destinés à la consommation humaine et dans le milieu d’élevage.

La charge microbienne totale d'un produit destiné à la consommation humaine peut nous renseigner sur l'état hygiénique du produit et le danger que peut représenter sa consommation immédiate ainsi que le devenir probable de ce produit. En effet, une charge excessive de germes sur un produit alimentaire est due probablement aux conditions médiocre d'hygiène dans le milieu d'élevage, car les espèces élevés sont des filtreurs qui filtrent tous ce qui est dans l'eau. Les résultats obtenus lors des analyses microbiologiques révèlent une charge microbienne qui reste dans les normes exigées et qui ne doit pas dépasser 300UFC/100 g en générale chez les huîtres. par rapport à celle trouvée chez les moules, où la concentration a été plus élevé et dépasse les normes (**Annexe VII**)

Néanmoins, cette charge peut contenir des germes pathogènes pour le consommateur (**Kasse et al, 2014**).

### 3.1.2. Les streptocoques fécaux

La présence des streptocoques fécaux au niveau de notre produit peut contaminer la chaîne alimentaire et provoquer des maladies lors la consommation. Ces derniers peuvent causer des infections des voies urinaires, des plaies et des tissus mous. Ils sont également associés à une bactériémie qui peut conduire à une endocardite dans des valves cardiaques précédemment endommagées (**Michael Baureder et al, 2012**)

Dans notre cas, on a signalé l'absence de ces germes dans tous les échantillons, ce qui peut s'expliquer par les problèmes que nous avons rencontrés avec le milieu (Baird Parker) que nous avons utilisé au niveau du laboratoire.

### 3.1.3. Les staphylocoques

La reconnaissance de Staphylocoques sur le milieu de chapman se fait par l'apparition des colonies de couleur jaune , bombées , brillantes, convexes à bord régulier (**Figure III.25**).

La recherche et le dénombrement de ces derniers, notamment *Staphylococcus aureus* se fait afin d'apprécier la salubrité des milieux d'élevage et de contrôler la qualité de produit conchylicole.

Après l'ensemencement sur le milieu Chapman, des colonies jaunes dorées sont apparus.

L'étude microscopique réalisée après la coloration de Gram, a permis de constater que les souches se présentait sous formes de Cocci de taille moyenne et de nombreux amas bactériens sous forme de grappe de raisin de couleur violette, donc à Gram ( +) (**Figure III.26**).

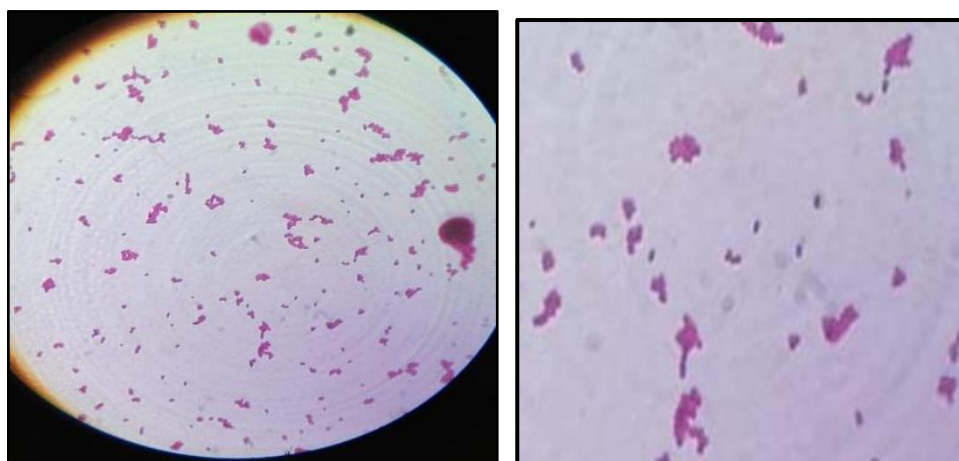
Le test de coagulas a confirmé la présence de *staphylococcus aureus* dans notre produits.

La présence de ce germe dans le notre produits destiné à la consommation peut causer des intoxications alimentaires, qui sont dues à une entérotoxine produite dans l'aliment ingéré. La toxine est responsable de troubles importants de la digestion. Ceux-ci se manifestant par de violents vomissements incessants et très épuisants accompagnés le plus généralement par des nausées, diarrhées et maux de tête, et rarement de fièvres. Mais l'intoxication à *S. aureus* n'est en général pas mortelle pour

un individu en bonne santé et bien nourri (Lecuire et al, 2007)



**Figure III.25.** :Aspects des staphylocoques isolés du biote sur Chapman.



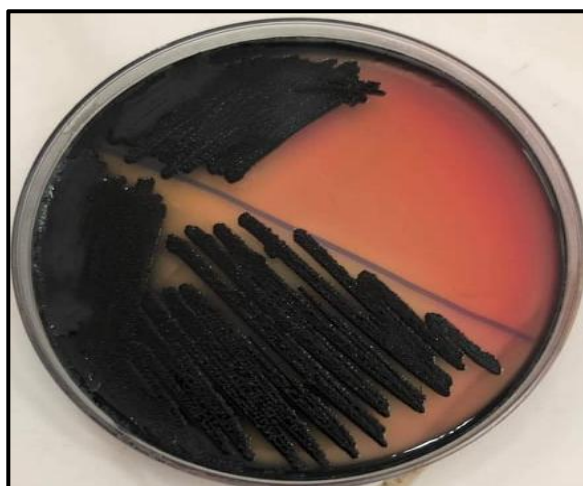
**Figure III.26.** Aspect microscopique du *staphylococcus aureus* sous forme de grappe de raisin sous le microscope optique (Gx100).

#### 3.1.4. Les salmonelles

Après enrichissement et ensemencement sur la gélose Salmonella Shigella, des colonies au centre noir sont apparues (**Figure III.27**). Nous avons procédé à l'identification des espèces en utilisant la galerie API 20, la coloration du Gram ,le test de la catalase, test d'oxydase et le TSI. Nous avons détecté la présence des salmonelles du genre *Salmonella choleraesuis ssp Arizona* au niveau des moules. Par contre, l'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination au niveau des huîtres. L'absence totale dans l'échantillons répond aux normes (**Annexe IV**) .

Vu qu'on a signalé la présence du salmonelle au niveau du l'eau. On peut estimer que la contamination a été due à la filtration de ce germe contenue dans l'eau par les moules.

Les salmonelles sont des bactéries pathogènes responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïde et de gastroentérites qui constituent un problème très important en santé publique dans le monde (Abraham W.R., 2011.). ce pathogène peut causer des to:xi-infections alimentaires qui sont dues à l'ingestion d'entérotoxines (A et E), préformées dans l'aliment, résistant aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur, entraînant des troubles d'apparition précoce avec des vomissements, diarrhée, déshydratation et absence de fièvre (Hall-Stoodley L, 2004).



**Figure III.27.** Aspects des *Salmonella choleraesuis ssp Arizonae* isolés à partir d'échantillon de moules sur la gélose SS.

	Probas	typicité	Incompa	Test sur proba	Test sur typicité	BUG : pb si dan
1 Salmonella choleraesuis ssp arizonae	0.798	-1.00	1	Spécificité 10	mauvaise typicité	
2 Citrobacter braaki	0.227	-1.01	1	mauvaise indente	mauvaise typicité	
3 Citrobacter amnigenus 2	0.003	-1.41	2	mauvaise indente	mauvaise typicité	
4 Salmonella spp	0.002	-1.33	0	mauvaise indente	mauvaise typicité	
5 Serratia fonticola	0.000	-1.58	2	mauvaise indente	mauvaise typicité	

**Figure III.28.** l'identification du *Salmonella choleraesuis ssp Arizona* isolé du biote (les moules) par la galerie API 20

### 3.1.5. Les vibrions

Lors de la recherche des vibrions au niveau du biote, la formation de colonies vertes et jaunes de petites tailles sur le milieu TCBS (**Figure III.29**). Ceux-ci ont été identifiés. En utilisant la méthode de coloration de Gram, on a aperçu les bactéries à Gram négative sous le microscope optique (**Figure III.30**), se que caractérise les vibrions. Le test de catalase et le test d'oxydase ont confirmé ce résultat. À l'aide de la galerie API 20, on peut estimer la présence des vibrions dans le biote, la galerie d'API 20 est non spécifique pour les vibrions, alors on peut suggérer de pousser l'identification vers le séquençage.



**Figure III.29.** Aspects des vibrions et les entérobactéries isolés à partir d'échantillon des moules et des huîtres sur TCBS.



**Figure III.30.** Aspect microscopique des vibrions incurvés isolés de biote sous le microscope optique (Gx100).

### 3.2. Résultats d'identification des germes pathogènes

A l'aide des différents tests d'identification précités en méthodologie, nous avons identifié un certain nombre de bactéries plus ou moins pathogènes, les plus importantes, sont présentées dans le **Tableau III.9**.

**Tableau III.9.** Identification des quelques souches bactériennes isolées de le biote par la galerie API 20

matrices	stations	Espèces identifiées
<b>Le biote (Moules)</b>		<i>pseudomonas luteola</i> <i>stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Salmonella enterica Arizonae</i> <i>staphylococcus aureus</i>
<b>Le biote (Huître)</b>		<i>pseudomonas luteola</i> <i>stenotrophomonas maltophilia</i> <i>staphylococcus aureus</i>

#### ➤ *Pseudomonas luteola*

Est un espèce opportuniste pathogène pouvant causer une bactériémie, une méningite, péritonie et autres infections lors la consommation d'un aliment contaminé (**Chihab et al, 2004 ; Dalamaga et al, 2004 ; Arnold et al, 2005 ; Ngoh et al, 2011**).

Cette espèce a montré la capacité d'absorber certains métaux lourds associés à l'industrie eaux usées comme le chrome et l'aluminium (Ozdemir et Baysal, 2004).

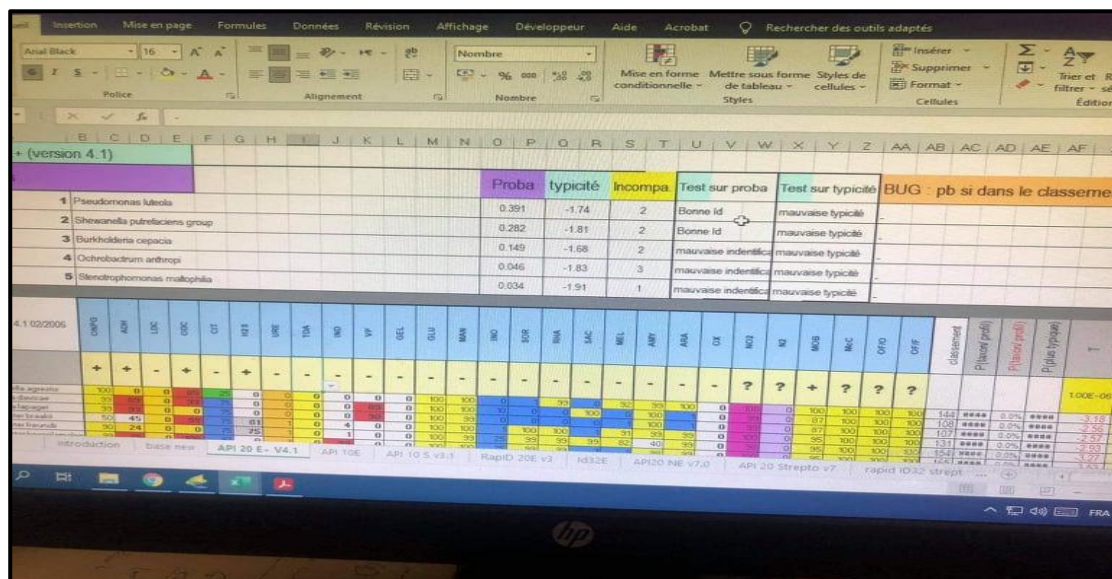


Figure III.31. L'identification du *Pseudomonas luteola* isolé du biote par la galerie API 20

➤ *Stenotrophomonas maltophilia*

Est une bactérie qui peut être trouvée dans presque tous les environnements aquatiques ou humides, y compris l'eau de mer (Hoefel D et al, 2005 ; Cervia JS et al, 1999).

*S.maltophilia* est une cause relativement inhabituelle de pneumonie, d'infection urinaire ou de Bactériémie (Whitby et al, 2000). Une relation positive entre l'ampleur de la pollution et la prévalence de *Stenotrophomonas maltophilia* a été indiquée pour la rivière Woluwe et les effluents en Belgique (Pirnay et al, 2005).

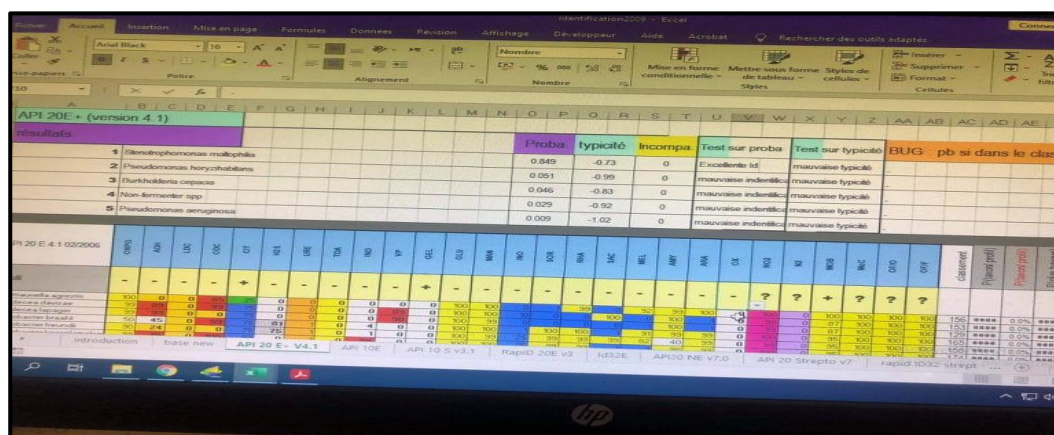


Figure III.32. l'identification du *Stenotrophomonas maltophili* isolé du biote par la galerie API 20



# **Conclusion**

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux d'une ferme aquacole.

A cet effet, trois matrices ont été étudiées. Il s'agit des eaux de surfaces, des sédiments et des moules et des huîtres qui sont largement utilisées dans les programmes de monitoring de pollution marine.

Sur 4 stations de prélèvement d'eau, l'analyse des paramètres physico-chimiques a permis de faire les constatations suivantes:

- ✓ Les mesures de pH sont relativement homogènes comprises entre 8.03 et 8,5
- ✓ La valeur moyenne de l'oxygène dissous est de  $7.19 \pm 0.39$  mg/L.
- ✓ La charge moyenne en MES est  $8.19 \pm 10.27$  mg/l,
- ✓ La chlorophylle (a) mesurée est en moyenne de  $1.62 \pm 0.76$  ug/L.

D'après les résultats obtenus, la qualité physico-chimique du milieu d'élevage de « Cultures Marines » pendant la période d'étude est à un niveau satisfaisant.

- ✓ Les coliformes totaux, dont la charge moyenne n'a pas pu être estimée dans la majorité des stations.
- ✓ Les staphylocoques dont *S.aureus* considérées comme indicateurs de proximité et Les salmonelles ont été identifiées dans la majorité des stations et dans toutes les matrices étudiées.

Bien qu'il n'existe pas de normes concernant les sédiments, ils ont été quand même comparés aux normes des eaux de mer à titre indicatif, par conséquent les taux moyens enregistrés des coliformes totaux et fécaux restent inférieurs aux normes. En revanche, les moules et les huîtres collectés au niveau de la ferme semblent être contaminées et ont une mauvaise qualité microbiologique.

### ➤ Perspectives et recommandations

- ✓ Il est recommandé de réaliser une étude bactériologique pour évaluer l'état des eaux de baignade au niveau de la région d'Ain Tagourait.
- ✓ Il est important de standardiser les protocoles suivis pour permettre la comparaison entre les résultats obtenus lors des analyses précédentes.
- ✓ Il est recommandé de faire les analyses des hydrocarbures et des métaux lourds

toxiques tel que : le mercure ; le plomb.

- ✓ Il est intéressant d'élargir les stations d'études
- ✓ nous suggérons un suivi spatio-temporel, pour surveiller l'évolution de l'état de la ferme d'Ain Tagourait
- ✓ Faire une analyse microbiologique des moules et des huîtres qui sont destinés à la consommation pour les comparés avec ceux qui ont été prélevé.

# **Bibliographie**

## Références bibliographiques

- Abraham W.R. 2011.** Megacities as source for pathogenic bacteria in rivers and their fate downstream. *International Journal of Microbiology*.155p
- Alzieu C., Abarnou A., Bassoullet A et Boutuer B., 1999.** Dragage et environnement marin : Etats des connaissances. Ed. Ifremer. 223p
- AFNOR., 1994.** Qualité des sols. Recueil des normes françaises. . 250p.
- Aminot A et Chaussepied M., 1983.** Manuel des analyses chimiques en milieu marin .Ed. CNEXO, Paris. 395p.
- Aminot A et Kérouel R., 2004.** Hydrologie des écosystèmes marins : Paramètres et analyses. Ed. Ifremer, France.336p.
- Arnold F.W., Sciortino C.V. et Riede K.A., 2005.** New association with *Pseudomonas luteola* bacteremia. *Internet Journal of Infectious Diseases*. 415p.
- Babinchak J.A., Graikoski J.T., Dudley S., Nitkowski M.F., 1977.** Distribution of faecal coliforms in bottom sediments of the New York Bight. *Mar.Bioll.Bull*.150p.
- Baudart, J., et Paniel N., 2014.** Sources et devenir des micro-organismes pathogènes dans les environnements aquatiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 62p
- Boulahdid M., 1987.** Analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer : Etude du mélange des masses d'eaux et de l'oxydation de la matière organique dans l'océan. *Thèse de Doctorat en géochimie fondamentale*. Ed, France. 266p.
- Bompais.,1991.** Les filieres pour l'elevage des moules. Guide pratique. [En ligne] (Accessed: 16 July 2021).
- Borrego A F et Romero P., 1982.** Study of microbiological pollution of malaga littoral area II, Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci, VIème journée études. *Pollution Cannes*. 561 pp.  
Disponible sur le web :<https://www.archimer.ifremer.fr/doc/1991/rapport-1671>
- Brisou J.F et Denis F.A., 1980.** Technique de surveillance de l'environnement maritime. Ed. Masson, 206 p.
- Carip C., Salvaert M et Tandeau A., 2015.** Microbiologie, hygiène et droit alimentaire - Le manuel. Ed. Lavoisier, Paris. 323 p.

**Cervia JS, Ortolano GA, Canonica FP., 2008.** Hospital tap water as a source of *Stenotrophomonas maltophilia* infection. *Clin Infect Dis.* ; 461p.

**Chantal Ruf., 1976.** *Variation de l'activité bactéricide en fonction du pH et de l'anaérobiose : Application à la Gentamicine et à la Somicone sur Staphylococcus Aureus*, Paris V - Descartes, thèse de médecine, 37pp.

**Champiat D et Larpent J.P., 1994.** Biologie des eaux méthodes et techniques. Ed. Masson, Paris. 374p.

**Chihab W., Alaoui A.S., et Amar M., 2004.** *Chryseomonas luteola* identified as the source of serious infections in a Moroccan University Hospital. *Journal of Clinical Microbiology.* 421p.

**Copin–Montégut G., 1996.** Chimie de l'eau de mer. Collection « synthèse ». Institut Océanographique de Paris. 319p.

**Dalamaga M., Karmaniolas K., Chavelas C., Liatis S., Matekovits H. et Migdalis I., 2004.** *Pseudomonas luteola* cutaneous abscess and bacteremia in a previously healthy man. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 36p.

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

**Deroche M., 1983.** Relations entre la photosynthèse et l'assimilation de l'azote, *Bulletin de la Société Botanique de France.*359p.

**Deslous-Paoli, J. M., Souchu, P., Mazouni, N., Juge, C., et Dagault F., (1998).** Relations milieu-ressources: Impact de la conchyliculture sur un environnement lagunaire Méditerranéen (Thau). *Oceanologica Acta*, 21(6), 831–843p.

**Djaouda M., Gaké B., Hubert S, Togouet Z., Wadoube Z., Nola M. 2018.** Évaluation de la contamination par *Salmonella* sp. et *Vibrio cholerae* des eaux de puits de Garoua, Nord Cameroun. 224 P.

**Eumofa., 2008.** *Analyse du secteur de pêche et l'aquaculture dans le nouveau contexte.* 00212.47p.

**El Haji M et Louis C., 1998.** Les rejets industriels dans la zone portuaire du Havre. *Déchets Sciences et Techniques*, INSA de Lyon.394 pp.

- FAO., (2015).**Division des pêches. [En ligne]. (Page consultée le 12 Juillet 2021).  
Disponible sur le web :[http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_algeria/fr](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_algeria/fr) .
- FAO., (2018).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2018. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome. F.A.O : 236 P.
- FAO., (2018).** Le développement de l'aquaculture en Algérie en collaboration avec la FAO – Bilan 2008-2016.Italy, 102 p.
- FAO., (2020).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture2020. La durabilité en action. Rome :274 p.
- FAO., (2020).** La situation mondiale des peches et de l'aquaculture.Italy, 27 p.
- Figarella J et Leyral G., 1996.** Microbiologie et techniques (Tome I). Ed. Bordeaux.157p.
- F. Lecuire., D. Gontier., J. Carrere, M. Basso., I. Benareau., et Rubini., 2007.**  
« Infections à Staphylocoque lugdunensis sur prothèses articulaires: À propos de 7 cas », *Revue de chirurgie orthopédique et réparatrice de l'appareil moteur*, vol. 93, no 1, 88p.
- Grimes D.J., Colwell R.R., 1983.** Survival of pathogenic organisms in the Anacostia and Potomac river and the Chesapeake bay estuary. J.Washington.Acad.Sciences.324p
- Hall-Stoodley L., Costerton J.W. et Stoodley P., 2004.** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nature Reviews Microbiology. 295p.
- Hoefel D., Monis PT., Grooby WL., Andrews S., Saint CP., 2005.** Profil bacterial survival through a water treatment process and subsequent distribution system. J Appl Microbiol. 299 p.
- Hounsounou E.O. H, L. A-F, A.C. A, Tchibozo M. AD, D. M., 2018.** Contamination Des Eaux De Puits Par Les Salmonelles Et Les Vibrions non-O1/non-O139 Dans Les Quartiers Précaires Du Sixième Arrondissement De Cotonou (Sud-Bénin). Eur Sci J ESJ. 252 P.
- Houma F., 2009.** Modélisation et Cartographie de la Pollution Marine et de la Bathymétrie à partir de l'Imagerie Satellitaire. *Thèse Doctorat Univ Paris 12.* 214 p.
- Izzo G., Tosti E., Volterra L., 1982.** Faecal contamination of marine sediments in a stretch of the gulf of Naples Wat.Air.Soil.Poll. 98p.

- Jean P et Monique L., 1997.** Mémento technique de microbiologie. 3<sup>ème</sup> édition. Ed. Lavoisier.1039p.
- Journal Officiel de la République Algérienne., 1993.** Principaux critères de qualité des eaux de baignade. Extrait de l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993.Techniques et Documentation. Paris .356 p.(JORA)
- Joy B et Reynaud A., 2003.** Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses. Ed. Techniques et Documentation, Paris. 356p.
- Kasse M., Cisse M., Toure A., Ducamp-collin M., Guisse A.,2014.** Qualité microbiologique des tranches de mangues (*Mangifera indica* L.) vendues à Dakar (Sénégal). *Int. J. Biol. Chem. Sei.* 119p..
- Kassimi A., 2015.** Antibiorésistance des salmonelles d'origine alimentaire et environnementale reçus à l'INH entre 2006 et 2014. Master. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques. 69 P
- Kaper J.b., Remmers E.F., Lockman H., Colwell R., 1981.** Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake bay during the summer season. *Estuaries.*327p.
- Le Pimpec P., Linéard A., Bonnard R., Lafont M., Cazin B., Bossard Ph., Hubert B et Bray M., 2002.** Guide pratique de l'agent préleveur : chargé de la police des milieux aquatiques. Ed Maurice Merlin. 159p. [/filieres-aquacultures](#) .
- Michael Baureder, Ronny Reimann et Lars Hederstedt., 2012.** « Contribution of catalase to hydrogen peroxide resistance in *Enterococcus faecalis* », *FEMS microbiology letters*, vol. 333 p.
- Mille et La Moine., 2011.** Adaptation des activités conchylicoles aux modifications de leurs environnement : Scénarii et solutions. Le cas du bassin de Marennes-Oléron. . [En ligne]. (Page consultée le 30 Juillet 2021). Disponible sur le web: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00061/17257/14766.pdf>
- Miossec L., Le Deuff, R-M., et Gouletquer,P.2009.** Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster). ICES Cooperative Research Report No. 299 : 42 pp
- Ngoh E., Zohoun A., Ghazouani M., El Hamzaoui S. et El Ouennass M., 2001.** A fatal case of *Pseudomonas luteola* infection. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 400p.

- O'malley M.L., Lear D.W., Adams W.N., Gaines J., SA Wyer T., Lewis E.J., 1982.** Microbial contamination of continental shelf sediments by wastewater. J.WPCF.: 1311p.
- Ozdemir G., et Baysal S.H., (2004).** Chromium and aluminum biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM05. Applied Microbiology and Biotechnology. 603p.
- Pambrun V., 2005.** Analyse et modélisation de la nitrification partielle et de la précipitation concomitante du phosphore dans un réacteur à alimentation séquencée. Thèse de Doctorat, Génie des Procédés et de l'Environnement, INSA de Toulouse. 235 p.
- Poté J, Haller L, Loizeau J-L, Garcia Bravo A, Sastre V, Wildi W., 2008.** Effects of a sewage treatment plant outlet pipe extension on the distribution of contaminants in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. Bioresource Technology. 131p.
- Pirnay J.P., Matthijs S., Colak H., Chablain P., Bilocq F., Van Eldere J., De Vos D., Zizi M., Triest L. et Cornelis P., 2005.** Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. Environmental Microbiology. 280p.
- Ramade F., 2000.** Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ed. Ediscience international, Paris. 690p
- Rejsek F., 2002.** Analyse de l'eau : Aspects réglementaire et technique. Ed CRDP d'Aquitaine France . 358p.
- Rodier J., Beiffe H., Bournaud M., Broutin J. P., Geoffay C. H., Kovacsik G., Rodier J., 1996.** L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduelles, eau de mer. 8<sup>ème</sup> édition. Ed. Dunod, Paris. 385-401p.
- Rodier J., Bazin C., Broutin J.-P., Chambon P., Champsaur H et Rodi L., 2005.** L'analyse de l'eau : eaux naturelle, eaux résiduaires et l'eau de mer. 8<sup>ème</sup> Ed. Dunod, paris. 1383p.
- Rollet C., Cheve J., et al., 2018.** Qualité du Milieu Marin Littoral. Bulletin de la surveillance 2017. Départements d'Ille-et-Vilaine et des Côtes d'Armor. 153p.
- Ruiz-Garbajosa P, Canton R, Pintado V, Coque TM, Willems R, Baquero F., 2006** *Genetic and phenotypic differences among Enterococcus faecalis clones from*

*intestinal colonisation and invasive disease. Clin Microbiol Infect.* 193–8p.

**Schneider, L., Ehlinger, M., Stanchina, C., Giacomelli, M.-C., Gicquel, P., Karger, C., et Clavert, J.-M., 2009.** *Infections ostéoarticulaires à Salmonella enterica subsp. arizonae. À propos d'un cas et revue de la littérature. Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique.* 284–289p.

**Shiaris M.P., Rexa.C., Pettibone G.W., Kea Y K, Mc Manus P., Rex M.A., Ebersole J., Gallagher E., 1987.** Distribution of indicator bacteria and *Vibrio parahaemolyticus* in sewage polluted intertidal sediments. *Appl.Environ.Microbiol.* 1756-1761p.

**Sharma A., Bhattacharya A., Bora C.R., Shukla V. et Parihar P., 2012.** Diversity of enteropathogens in River Narmada and their environmental and health implications. In: Satyanarayana et al. (eds). *Microorganisms in Environmental Management. Microbes and Environment.* Springer.35-60p.

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

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

**Thevenon F, Graham ND, Chiaradia M, Arpagaus P, WildiWet Poté J., 2011.** Local to regional scale industrial heavy metal pollution recorded in sediments of large freshwater lakes in Central Europe (lakes Geneva and Lucerne) over the last centuries. *Science of the Total Environment.* 412-413p.

**Van Donsel D.J., Geldreich E.E., 1971.** Relations of *Salmonellae* to fecal coliforms in bottom sediments. *Water.Res.* 1079-1087p.

**Whitby PW, Carter KB, Burns JL, Royall JA, LiPuma JA, Stull TL., 2000.** Identification and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* by rRNA-directed PCR. *J Clin Microbiol.* 430 p.

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

# **Annexes**

➤ **Annexe I**

**Annexe I.1.** Différents projet de conchyliculture en Algérie (MADRP, 2017)

<b>N°</b>	<b>Dénomination du projet</b>	<b>Wilaya</b>	<b>Activité</b>
<b>01</b>		EL teref	conchyliculture
<b>02</b>		El teref	conchyliculture
<b>03</b>		EL teref	conchyliculture
<b>04</b>	Entreprise aquaculture calanques	Annaba	conchyliculture
<b>05</b>	Ferme d'élevage de moules et des huîtres	Jijel	conchyliculture
<b>06</b>	Sarl SAMSAK	Bédjaia	conchyliculture
<b>07</b>	Eurl AQUA MOUAL	Bédjaia	conchyliculture
<b>08</b>	Sarl Pointe de moule	Bédjaia	conchyliculture
<b>09</b>		Tizi ousou	conchyliculture
<b>10</b>	Etablissem	Tizi ousou	conchyliculture
<b>11</b>		Tizi ousou	conchyliculture

➤ **Annexe II**

**Annexe II.1** : La concession à terre de Cultures Marines



**Annexe II.2** : Les différents locaux de la ferme Cultures Marines



### Annexe II.3 : La concession en mer de Cultures Marines



### Annexe II.4: la biotope analyser (moules/ huîtres)



## **Annexe III**

### **1. Mode opératoire pour la mesure des (MES)**

#### **1.1. Principe de la méthode de mesure**

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

#### **1.2. Matériel utilisé**

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

#### **1.3. Mode opératoire**

Il consiste en trois étapes:

##### **a) Préparation des filtres au laboratoire**

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

##### **b) Filtration de l'eau de mer**

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

#### **c) Séchage et pesée des filtres**

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

### **1.4. Calculs et expression des résultats**

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

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

Avec:

P1 = poids du filtre avant filtration (mg).

P2 = poids du filtre après filtration (mg).

V = volume filtré (l).

## Annexe IV

### Dosage des sels nutritifs

#### 1. Dosage de l'ammonium

##### I. Réactifs:

##### a. Solution Tampon

##### Produits chimiques exigés

C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> KNa.4H <sub>2</sub> O .....	33 g.
Citrate de sodium C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>3</sub> .2H <sub>2</sub> O .....	24 g.
Acide sulfurique H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1N).....	x ml.
Eau distillée H <sub>2</sub> O.....	1000 ml.
Brij 35 (30 %).....	2 ml.

##### Préparation

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

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

##### a. Solution de phénol

Produits chimiques exigés :

Phénol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH.....	6g.
Hydroxyde de sodium NaOH.....	40 g.
Eau distillée H <sub>2</sub> O.....	1000 ml.

##### Préparation

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

**Note :** La solution est stable pendant 1 semaine.

##### b. Solution d'hypochlorite de sodium

Produits chimiques exigés :

Solution d'hypochlorite de sodium NaClO

(13 % de chlore actif).....200 ml.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....800 ml.

### **Préparation**

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

#### **c. Solution de nitroprussiate de sodium**

Produits chimiques exigés :

Nitroprussiate de sodium Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO].2H<sub>2</sub>O.....0,5 g.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

### **Préparation**

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

**Note :** Conserver dans une bouteille à couleur sombre. La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

#### **b. Liquide de rinçage :**

Eau fraîchement distillée H<sub>2</sub>O.

### **Préparation des solutions étalons**

#### **a. Solution mère de 100 ppm N (\*)**

Produits chimiques exigés :

Chlorure d'ammonium NH<sub>4</sub>Cl.....0,3819 g.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

### **Préparation**

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

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

#### **b. Solution fille de 10 ppm N**

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

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

(\*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en  $\mu\text{moles/l}$  de  $\text{NH}_4^+$ .

## 2. Dosage des nitrites + nitrates

### I. Réactifs

#### a. Solution tampon :

Chlorure d'ammonium $\text{NH}_4\text{Cl}$ .....	50 g.
Solution d'ammonium $\text{NH}_4\text{OH}$ (25%).....	$\pm 1$ ml.
Hydroxyde de sodium $\text{NaOH}$ .....	5g.
Eau distillée $\text{H}_2\text{O}$ .....	1000 ml.
Bridj 35 (30%).....	3 ml.

#### Préparation

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

**Note** : La solution est stable pendant une semaine. Conserver à  $4^\circ\text{C}$  quand la solution n'est pas utilisée.

#### b. Réactifs colorants

#### Produits chimiques exigés

Acide o-phosphorique $\text{H}_3\text{PO}_4$ (85%).....	50 ml.
Sulfanilamide $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ .....	10 g.
$\alpha$ -Naphthyléthylène diamine dihydrochloride $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$ .....	0,5g.
Eau distillée $\text{H}_2\text{O}$ .....	850 ml.

#### Préparation

Diluer l'acide o-phosphorique  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dans  $\pm 750$  ml d'eau distillée. Ajouter le Sulfanilamide  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$  et le  $\alpha$ -Naphthyléthylène diamine dihydrochloride  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$  et dissoudre. Ajouter 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

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

**c. Liquide de rinçage**

Eau fraîchement distillée H<sub>2</sub>O (régénérée chaque semaine).

**Préparation des solution étalons**

**a. Solution mère de 100 ppm N (\*)**

**Produits chimiques exigés**

Nitrate de sodium NaNO<sub>3</sub>.....0,6068g.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

**Préparation :**

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

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

**b. Solution fille de 10 ppm N**

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

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

(\*) : les concentration des solution étalons sont transformées en µmoles/l de N-NO<sub>3</sub>- ou de N-NO<sub>2</sub>- puis en µmoles/l de NO<sub>3</sub>- ou de NO<sub>2</sub>-.

**Préparation de la colonne réductrice**

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

**Produits chimiques exigés**

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

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....600 ml.

**Préparation :**

Diluer l'acide chlorhydrique dans 600 ml d'eau distillée.

**b. Cadmium**

Les produits chimiques exigés sont:

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

### **Procédure de remplissage**

- 1- Les granules de cadmium sont mélangées avec  $\pm$  30 ml de la solution d'acide chlorhydrique (4N).
- 2- Agiter pendant une minute.
- 3- Ajouter environ 50 ml de solution de sulfate de cuivre et agiter pendant 5 minutes.
- 4- Laver la saleté entre les granules avec l'eau distillée.
- 5- Sécher les granules de cadmium.
- 6- Ajouter, à l'aide d'un entonnoir, les granules dans une colonne sèche, en secouant de temps en temps pour emballer la colonne de deux côtés.
- 7- Remplir jusqu'à  $\pm$  5 mm du sommet.
- 8- Placer un petit morceau de tube en polyéthylène, dans la colonne pour éviter que les granules ne sortent de la colonne.
- 9- Remplir la colonne, à l'aide d'une seringue contenant la solution tampon (réactif a préparé précédemment).
- 10- Placer la colonne dans le système.

**Note :** éviter que l'air entre dans la colonne.

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

## **3. Dosage des orthophosphates**

### **I. Réactifs**

#### **a. Solution de molybdate d'ammonium**

##### **Produits chimiques exigés**

Tartrate de potassium et d'antimoine

$K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 5H_2O$ .....	230 mg.
Acide sulfurique $H_2SO_4$ (97%).....	69,4 ml.
Molybdate d'ammonium $(NH_4^+)_6Mo_7O_{24} \cdot H_2O$ .....	6g.
Eau distillée $H_2O$ .....	1000 ml.
FFD6.....	2 ml.

## Préparation

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

**Note :** Ne pas employer de cuillères en métal pour le molybdate d'ammonium. La sensibilité peut être augmentée de 50 % en employant 35 ml d'acide sulfurique concentré au lieu de 69,4 ml.

Avec 35 ml l'interférence des silicates est 10 % pour 300 ppb Si et 10 % pour 10 ppb P.

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

### b. Solution d'acide ascorbique

#### Produits chimiques exigés

Acide ascorbique $C_6H_8O_6$ .....	6g.
Acétone $C_3H_6O$ .....	60 ml.
Eau distillée $H_2O$ .....	1000 ml.
FFD6.....	2 ml.

#### Préparation

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

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

### c. Liquide de rinçage

Eau fraîchement distillée  $H_2O$  (régénérée chaque semaine).

## Préparation des solutions étalons

### a. Solution mère de 100 ppm P (\*)

#### Produits chimiques exigés

Dihydrogène o-phosphate de potassium $KH_2PO_4$ .....	0,4394 g.
---	-----------

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

### **Préparation**

Dissoudre le dihydrogène o-phosphate de potassium dans ± 800 ml d'eau distillée.

Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

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

### **2-2- Solution fille de 10 ppm P**

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

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

(\*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en µmoles/l de PO<sub>4</sub>.<sub>3</sub>.

## **4. Dosage des silicates**

### **I. Réactifs**

#### **a. Solution d'acide sulfurique**

##### **Produits chimiques exigés :**

Acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (97 %).....10 ml.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

FFD6.....2 ml.

### **Préparation**

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

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

#### **b. Solution de molybdate d'ammonium**

##### **Produits chimiques exigés :**

Molybdate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O.....20g.

Eau distillée H<sub>2</sub>O.....1000 ml.

FFD6.....2 ml.

### **Préparation**

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

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

### **c. Solution d'acide oxalique**

#### **Produits chimiques exigés**

Acide oxalique  $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$ .....44g.

Eau distillée  $H_2O$ .....1000 ml.

#### **Préparation**

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

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

### **d. Liquide de rinçage**

Eau fraîchement distillée  $H_2O$ .

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

## **Préparation des solutions étalons**

### **a. Solution mère de 100 ppm Si (\*)**

#### **Produits chimiques exigés**

Métasilicate de sodium  $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$ .....1,0119 g.

Eau distillée  $H_2O$ .....1000 ml.

#### **Préparation**

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

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

### **b. Solution fille de 10 ppm Si**

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

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



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

**Tableau III.1.** les valeurs d'étalonnages des sels nutritifs

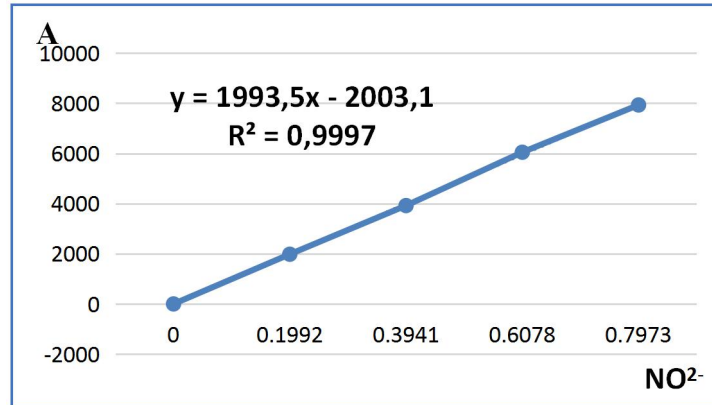
Identity	NO <sup>2-</sup> μmol/l	Height NO <sup>2-</sup>	NO <sup>3-</sup> μmol/l	Height NO <sup>3-</sup>	PO <sup>4</sup> <sup>3-</sup> μmol/l	Height PO <sup>4</sup> <sup>3-</sup>	SiO <sub>2</sub> μmol/l	Height SiO <sub>2</sub>
wash	0	0	0	0	0	0	0	0
S1	0.1992	1982	0.1908	1654	0.1942	777	0.5129	891
S2	0.3941	3922	0.4157	3603	0.3941	1578	1.0149	1764
S3	0.6078	6049	0.6396	5544	0.6194	2480	1.3373	2324
S4	0.7973	7934	0.9100	7888	0.8181	3275	1.8405	3198

**Tableau III.2.** Valeurs extrêmes et moyennes et l'écart type des sels nutritifs des eaux de surface d'Ain Tagourait.

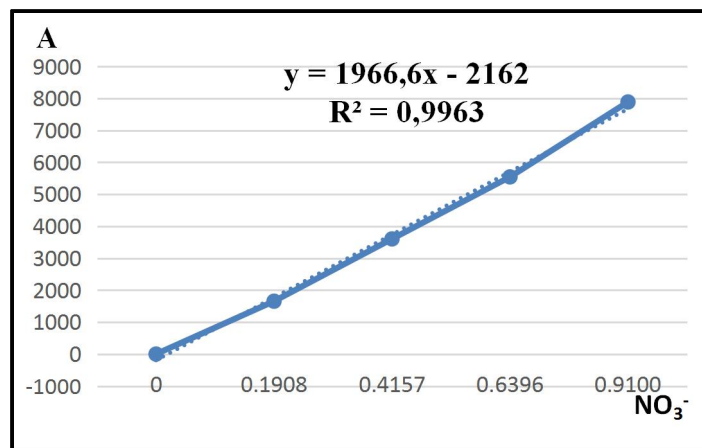
Sels nutritifs	[NO <sup>3-</sup> ] (μmol/l)	[NO <sup>2-</sup> ] (μmol/l)	[PO <sup>4</sup> <sup>3-</sup> ] (μmol/l)	SiO <sub>2</sub> ] (μmol/l)
<b>Minimum</b>	0,0049	0,0035	0,0007	0,0999
<b>Maximum</b>	0,0401	0,0277	0,0509	0,1949
<b>Moyenne</b>	0,022325	0,01195	0,02685	0,1451

<b>Ecart type</b>	0,01928529	0,01671815	0,02240855	0,05151563
-------------------	------------	------------	------------	------------

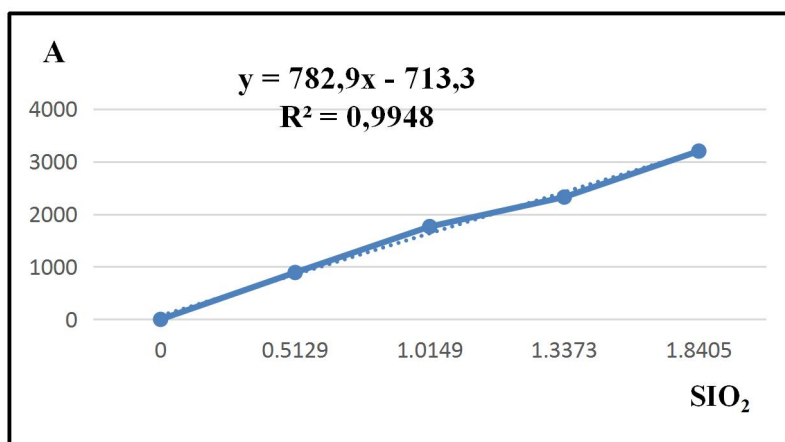
➤ **Les courbes d'étalonnages**



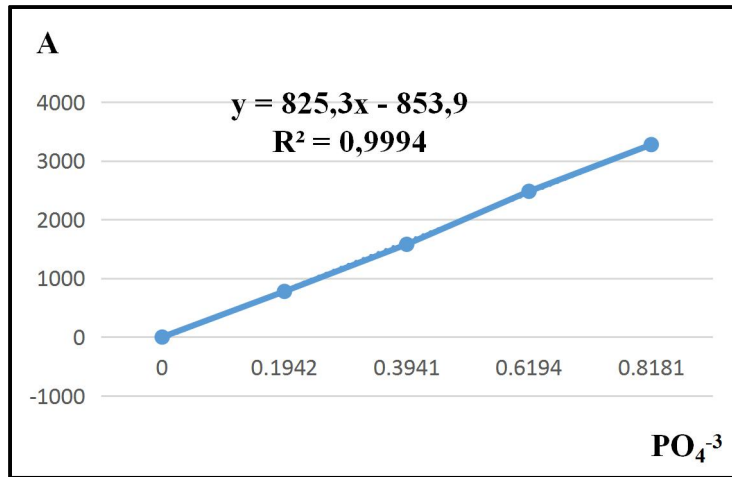
**Figure AIII.1.** Courbe d'étalonnage pour les nitrites



**Figure AIII.2.** Courbe d'étalonnage pour les nitrates



**Figure AIII.3.** Courbe d'étalonnage pour La Silice



**Figure AIII.4.** Courbe d'étalonnage pour le phosphate

## Annexe V

### Dosage de la chlorophylle *a* par spectrométrie

#### a. Principe de la méthode de dosage

La mesure des pigments phytoplanctoniques repose sur leurs caractéristiques spectroscopiques : absorption de lumière (spectrophotométrie). Contenue dans les cellules, la chlorophylle *a* est un paramètre « particulière » qui, pour une mesure précise en laboratoire, nécessite la récolte du matériel en suspension par filtration, suivie d'une extraction du filtre par solvant.

Lorsque l'on analyse les pigments, on doit toujours garder à l'esprit qu'ils sont photosensibles, et que protection contre la lumière excessive doit être une préoccupation permanente à toutes les étapes du protocole analytique, avec stockage à l'abri de la lumière entre les étapes.

Les chlorophylles (*a*, *b* et *c*) présentent deux bandes de forte absorption lumineuse, l'une dans le bleu (< 460 nm), l'autre dans le rouge (630- 670 nm). Comme les caroténoïdes, coextraits avec les chlorophylles,177Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses absorbent eux aussi intensément dans le bleu, les mesures spectrophotométriques sont limitées aux bandes d'absorption dans le rouge.

## **b. Appareillage et matériel**

### **- Matériel de prélèvement et d'échantillonnage**

- ✓ L'eau peut être prélevée à l'aide de tout type de bouteille de prélèvement (de préférence opaque).
- ✓ Les flacons d'échantillonnage seront de préférence opaques. Le volume d'échantillon doit être déterminé en fonction de la richesse en phytoplancton, de la précision souhaitée et de la méthode de mesure (100 ml à 2 litres dans le domaine coter). Dans le cas où un volume d'échantillon constant peut être filtré, l'utilisation de flacons d'échantillonnage jaugés au niveau du col simplifie les opérations ultérieures.
- ✓ Une pré-filtration en ligne, à travers un filet de nylon de 150 à 200 µm de maille, peut être nécessaire pour éliminer le zooplancton et les débris.

### **- Matériel de filtration, stockage des filtres**

- ✓ Il faut un dispositif de filtration sous vide adapté aux volumes à filtrer .
- ✓ Utiliser des pinces à bouts plats et bords biseautés pour manipuler les filtres. Deux pinces peuvent être utiles pour plier les filtres après la filtration.
- ✓ Les filtres recommandés sont de type Whatman GF/F ou équivalent, de 25 ou 47 mm de diamètre selon le volume à filtrer.
- ✓ Pour le stockage des filtres, n'importe quel tube ou flacon peut convenir si les filtres doivent être broyés. Sinon, pour éviter des manipulations excessives des filtres chargés puis le transvasement des extraits, il est préférable d'utiliser directement les tubes à centrifuger pour y placer les filtres et les extraire.

### **- Matériel d'extraction**

- ✓ Tubes d'extraction. L'extraction et la centrifugation doivent être effectuées dans le même tube pour éviter les transferts.
- ✓ Pour la mesure par spectrophotométrie, choisir des tubes d'un volume de 10-15 ml, à fond conique et à bouchage bien hermétique. Les tubes en polypropylène ou polyéthylène résistent au solvant, mais doivent être renouvelés après quelques années. Les tubes gradués peuvent simplifier les opérations par mesure directe du

volume de solvant et permettent un contrôle de l'évaporation éventuelle de solvant.

### **- Matériel de mesure spectroscopique**

#### **- Spectrophotomètre**

Comme la mesure de la chlorophylle repose sur les valeurs absolues des absorbances (il n'y a pas d'étalonnage), elle exige un spectrophotomètre performant et bien calibré.

Les spectrophotomètres à large bande passante ne conviennent pas pour la mesure des chlorophylles (**Sestak, 1971; Ryding, 1975; Brown et al., 1980**) : la bande passante ne doit pas excéder 2 nm, sinon la chlorophylle *a* est fortement sous-estimée (environ 6 % pour 5 nm, 15 % pour 10 nm et 30 % pour 20 nm de bande passante; (**Brown et al., 1980**).

On choisira des cuves à bouchon car l'évaporation engendre des mouvements de convection modifiant l'absorbance (effet Schlieren). Des cuves de 5 cm de trajet optique sont généralement nécessaires avec un spectrophotomètre sensible à 10<sup>-4</sup> UA. Avec les instruments modernes plus performants (sensibilité 10 UA), un trajet optique de 1-2 cm est satisfaisant. Il n'est pas intéressant d'accroître le trajet optique si, parallèlement, on doit augmenter le volume de solvant (c'est-à-dire diluer l'échantillon). Plusieurs sources d'erreurs liées aux cuves ont été identifiées :

- on doit s'assurer que le niveau de l'extrait dans la cuve est suffisant pour que la totalité du faisceau traverse la solution ;
- les cuves aux parois épaisses (intéressantes car de faible volume) peuvent produire des données erronées si une partie du faisceau passe par la paroi et non dans l'extrait : utiliser des cuves à parois opaques et se méfier des faisceaux optiques très convergents ;
- repérer toujours l'emplacement de la cuve dans le compartiment pour la replacer exactement au même endroit.

### **c. Réactifs et étalons**

- **Solvant d'extraction : acétone à 90 %**

L'acétone de très bonne qualité analytique n'a pas besoin d'être distillée. Le solvant sera de préférence déshydraté à l'aide de carbonate de sodium anhydre. Le volume de solvant préparé doit être adapté aux besoins. Tout excès ne sera ensuite utilisé qu'au rinçage du matériel.

- ✓ Pour 500 ml d'acétone à 90 %, introduire exactement 50 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée et compléter au volume avec l'acétone déshydratée.

**- Solution d'acide chlorhydrique 0,3 mol/l**

- ✓ Diluer 40 fois de l'acide chlorhydrique concentré (1,19 kg/l: -12 mol/l) dans de l'eau déminéralisée : 2,5 ml d'acide pour 100 ml de solution.

**- Eau de mer filtrée**

- ✓ Pour éviter les chocs osmotiques, de l'eau de mer filtrée est utilisée
- ✓ Pour rincer le dispositif de filtration après la filtration d'un échantillon.
- ✓ Récupérer un peu de l'eau filtrée d'un échantillon et en remplir une pissette.
- ✓ Renouveler régulièrement cette eau si la salinité de la zone d'étude varie.

**d. Protocole analytique**

**- Prélèvement et échantillonnage**

- ✓ Comme pour tout matériel particulière, il faut veiller à homogénéiser régulièrement le contenu de la bouteille de prélèvement par quelques retournements si le délai entre la fermeture de la bouteille et l'échantillonnage dépasse quelques minutes.
- ✓ Soutirer les échantillons en effectuant une pré-filtration en ligne.
- ✓ Examiner régulièrement le pré-filtre après usage pour vérifier s'il ne retient pas de matériel phytoplanctonique (cellules de grande taille ou colonies). Si c'est le cas, ne pas pré-filtrer.
- ✓ Les échantillons non immédiatement filtrés seront placés au frais et protégés de la lumière.

**- Filtration**

Filtrer l'eau le plus rapidement possible après le prélèvement (< 1 h). Veiller à ne pas travailler en lumière intense.

- Appliquer le vide et, à l'aide de la pince, placer une membrane sur le dispositif de filtration.
- Homogénéiser doucement l'échantillon et, si la totalité du flacon d'échantillonnage n'est pas filtrée, mesurer le volume à filtrer.
- Verser l'échantillon dans le dispositif de filtration et s'assurer que la dépression n'est pas excessive (0,2 bar, ). Si l'on craint de ne pouvoir filtrer tout le volume mesuré (durée excessive, colmatage), le transvaser dans le dispositif de filtration par fractions en réhomogénéisant le volume restant avant chaque transvasement. Ne pas laisser le filtre venir à sec entre les ajouts.
- Juste avant que le filtre ne vienne à sec, rincer les parois du dispositif de filtration avec un peu d'eau de mer fraîchement filtrée.
- Après assèchement du filtre, laisser fluer l'air quelques instants pour éliminer l'eau du filtre.
- Si l'échantillon n'a pas été pré-filtré, éliminer à la pince, si nécessaire, le zooplancton visible à l'œil nu sur les filtres.
- Tout en maintenant le vide, plier le filtre une première fois à l'aide de pinces, face chargée à l'intérieur (on peut tamponner le filtre plié avec du papier absorbant pour éliminer l'excès d'eau). Plier une seconde fois le filtre et l'introduire dans le tube prévu à cet usage.
- Commencer l'extraction ou congeler immédiatement.

#### **- Conservation**

**Jusqu'à quelques semaines de conservation**, placer le tube au congélateur à -25 °C. Dans le cas d'une extraction légèrement différée (dans l'heure suivant la filtration), on peut, en l'absence de congélateur, placer le tube au réfrigérateur.

**Au-delà de quelques semaines de conservation**, congeler à très basse température (jusqu'à un an dans l'azote liquide).

#### **- Extraction**

Le filtre et l'extrait pigmentaire ne doivent pas rester à la lumière: éventuellement envelopper les tubes dans une feuille d'aluminium.

#### **Extraction par trempage**

- Dans le tube à centrifuger contenant le filtre, ajouter 10 ml d'acétone à 90 %. Le volume mort d'un filtre de 47 mm est négligeable (~ 0,05 ml) mais il peut contenir encore ~ 0,2 ml d'eau.

**Note** : le volume de solvant peut être adapté en fonction de conditions spécifiques à chaque laboratoire.

- Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette ou d'un tube de verre à extrémité coupante, boucher et agiter pour disperser les fibres.
- Laisser l'extraction acétonique se poursuivre une nuit au réfrigérateur.

#### **Extraction avec broyage mécanique**

- Introduire le filtre dans le tube du broyeur, ajouter environ 5 ml d'acétone à 90 % (ou éthanol à 96 %, selon la méthode utilisée) puis broyer 1 à 2 minutes.
- Transvaser avec précaution l'extrait dans un tube à centrifuger et effectuer au moins deux rinçages du piston et du tube avec le solvant. Récupérer le maximum de fibres en s'aidant éventuellement d'une petite spatule. Compléter éventuellement au volume désiré ou noter le volume.
- Laisser de préférence l'extraction se poursuivre quelques heures au réfrigérateur.

#### **- Centrifugation et transfert de l'extrait préalables à la mesure spectroscopique**

Une fois l'extraction terminée, et peu avant la mesure, centrifuger les extraits dans une centrifugeuse réfrigérée, comme suit.

- Ne sortir les tubes du réfrigérateur qu'en fonction de la capacité de la centrifugeuse (ne pas les exposer à la lumière).
- Contrôler le volume de solvant, le noter ou l'ajuster, bien boucher les tubes puis les agiter. Les tubes doivent rester bouchés jusqu'à la mesure.
- Centrifuger les tubes (bouchés) durant une minute, puis les sortir de la centrifugeuse et faire tomber les fibres de verre qui adhèrent à la paroi, au-dessus de la surface du solvant, par un léger mouvement d'agitation (ne pas remettre en suspension les fibres déjà agglomérées dans le fond).
- Centrifuger à nouveau 5 à 10 min à 3 000-4 000 tr par minute.

- Transférer le surnageant de centrifugation dans la cuve de mesure en le prélevant par aspiration lente (pipette, seringue, etc.) en veillant à ne pas prendre de fibres et non en le transvasant directement (entraî- nement des fibres).

**Attention** : ces précautions de transfert sont très importantes pour réduire le blanc en spectrophotométrie et diminuer la variabilité des mesures.

## **e. Calcul des concentrations**

### **- Mesure des blancs**

Les blancs de cuve sont les mesures d'absorbance obtenues à chacune des longueurs d'ondes (Å) de la méthode en mettant le solvant d'extraction dans les cuves utilisées. En mode double faisceau, laisser toujours la même cuve en référence, sans changer sa position sur le support. Les blancs de cuve sont mesurés une fois avec chaque série d'analyses. Vérifier que les blancs de cuve sont inchangés lorsque l'acétone est acidifiée. Si ce n'est pas le cas, en tenir compte dans les calculs.

**Le blanc de turbidité (B)** de l'échantillon résulte de fines particules, de fibres du filtre mal centrifugées ou de colloïdes éventuels. On mesure le blanc de turbidité de chaque échantillon à la longueur d'onde de 750nm à laquelle les pigments n'absorbent pas : on obtient : **le blanc brut Brut.**

**Le blanc net de turbidité** est obtenu en soustrayant le blanc des cuves :  $B = \text{Brut} - bc_{750}$ .

Ce blanc doit être inférieur à 0,005 unité d'absorbance par centimètre de trajet optique. Contrôler la stabilité du blanc de turbidité entre le début et la fin des mesures sur un échantillon : sa décroissance traduit la présence de particules et, par conséquent, des mesures d'absorbance erronées. Si le blanc est trop élevé ou varie en cours de mesure, améliorer les conditions de centrifugation ou de transfert de l'extrait.

### **Chlorophylle A**

$$\mathbf{Ca=27*[(Ao\ 665-Ao\ 750)-(Aa\ 665-Aa\ 750)]*(v/(L*/V))}$$

Ou :

- ✓ **Ao 665 & Ao750** = Absorbances à 665 et 750 nm avant acidification.
- ✓ **Aa 665 & Aa750** = Absorbances à 665 et 750 nm après acidification.

- ✓ **v** = Volume de solvant utilisé pour l'extraction en millilitres.
- ✓ **V** = Volume d'eau filtrée en Litres
- ✓ **L** = Parcours optique de la cuve utilisée en centimètres.
- ✓ **27** = Facteur déterminé expérimentalement.

### Phéopigments

$$Ca = 27 * [1,7 * (Ao\ 665 - Ao\ 750) - (Aa\ 665 - Aa\ 750)] * (v / (L * V))$$

Ou :

- ✓ **Ao 665 & Ao750** = Absorbances à 665 et 750 nm avant acidification.
- ✓ **Aa 665 & Aa750** = Absorbances à 665 et 750 nm après acidification.
- ✓ **v** = Volume de solvant utilisé pour l'extraction en millilitres.
- ✓ **V** = Volume d'eau filtrée en Litres
- ✓ **L** = Parcours optique de la cuve utilisée en centimètres.
- ✓ **27** = Facteur déterminé expérimentalement.
- ✓ **1,7** = Coefficient déterminé expérimentalement.

## Annexe VI

La composition des milieux de culture utilisés

### ➤ Milieu de Baird Parker :

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

PH : 6.8, Autoclaver à 120 C° pendant 15 minutes.

### ➤ Gélose Chapman :

Composition	Quantité (g/L)

Extrait de viande de bœuf	1
Peptone de caséine et de viande	10
Chlorure de sodium	75
D mannitol	10
Agar	15
Rouge de phénol	0.025

PH : 7,5, Stériliser à l'autoclave : 15 minutes à 121°C.

**Milieu de Slanetz et Bartley :**

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g/L)</b>
Tryptone	20
Extrait de levure	5
Glucose	2
Monohydrophosphate de sodium	4
Acide de sodium	0.4
Chlorure de triphényltétrazolium (TTC)	0.05
Agar	10

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

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

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g/L)</b>
Peptone	40
NaCl	60

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

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

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g/L)</b>
--------------------	-----------------------

Peptone	10
Extrait de levure	5
Citrate de sodium	10
Chlorure de sodium	10
Thiosulfate de sodium	10
Bile de bœuf	8
Citrate de fer	1
Saccharose	20
Bleu de bromothymol	0.04
Bleu de thymol	0.04
Agar	14

pH:  $8,6 \pm 0,2$ . Stérilisation à l'autoclave :  $121^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes.

➤ **Bile-Esculine-Azide (BEA):**

Composition	Quantité (g/L)
Tryptone	17
Peptone	3
Extrait de levure	5
Bile de bœuf déshydraté	10
Chlorure de sodium	5
Esculine	1
Citrate de fer et d'ammonium	0.5
Azoture de sodium ou acide de sodium	0.15
Agar	15

pH :  $7,1 \pm 0,2$ . Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à  $120^{\circ}\text{C}$ .

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

Composition	Quantité (g/L)
Peptone de viande	5
Lactose	4
Sélénite de sodium	4

Phosphate dipotassique	3.5
Phosphate monopotassique	6.5

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

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

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	10
Extrait de levure	6
Extrait de viande	5
Lactose	20
Bleu de bromothymol	0.05
Agar	12.75

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

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

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	5
Extrait de levure et de viande	5
Sels biliaires	4.2
Citrate de sodium	10
Citrate de fer	2
Lactose	10
Rouge neutre	0.025
Vert brillant	0.3 (mg)
Thiosulfate de sodium	8.5
Agar	12

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

➤ **Gélose Hektoen :**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone de viande	12
Extrait de levure	3

Sels biliaries	9
Lactose	12
Saccharose	12
Salicine	2
Chlorure de sodium	5
Hyposulfite de sodium	5
Citrate de fer ammoniacal	1.5
Bleu de bromothymol	0.064
Fuchsine acide	0.04
Agar	13.5

pH : 7,6. Ne pas autoclaver.

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

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g/L)</b>
Peptone	10
Lactose	10
Bile	20
Vert brillant	0.013

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

➤ **Gélose au désoxycholate 1‰**

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g/L)</b>
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2
Lactose	10
Citrate de ferrique	1
Citrate sodium	1
Désoxycholate de sodium	1
Rouge neutre	0.03

Agar	15
------	----

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

➤ **Gélose de Sabouraud**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone chapoteaut	10
Glucose massé	20
Agar	15

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

➤ **Milieu de Litsky :**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate bipotassique	2.7
Phosphate monopotassique	2.7
Azohydrate de sodium	0.3
Ethyl violet	0.0005

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

➤ **Milieu de Rothe**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	20
Glucose	5
Chlorure de sodium	5
Phosphate bipotassique	2.7

Phosphate monopotassique	2.7
Azohydrate de sodium	0.2

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

➤ **Milieu TSI :**

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

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

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

**Table de Mc Grady**

<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellules</b>	<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellule</b>	<b>Nombre caractéristique</b>	<b>Nombre de cellule</b>
000	0.1	2.1	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

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

**a. Préparation de la galerie**

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

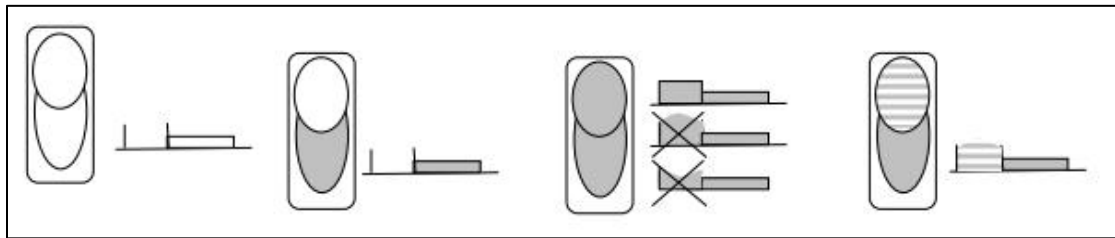
**b. Préparation de l'inoculum**

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

### c. Inoculation de la galerie

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

#### ◆ Mode de remplissage



<b>Cupule vide</b>	<b>Cupule simple ex:</b> <b>GEL</b> <b>Remplir la partie</b> <b>inférieure</b>	<b>Cupules encadrées</b> <b>ex:  CIT  ;  VP </b> <b>Remplir la cupule</b> <b>en entier</b>	<b>Cupules</b> <b>soulignées ex:</b> <b>H<sub>2</sub>S</b> <b>Remplir la partie</b> <b>inférieur puis</b> <b>compléter avec de</b> <b>l'huile de vaseline</b>
--------------------	---	---	---

### d. Incubation

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

### e. Lecture et identification

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

## Annexe VII

### Analyse granulométrique

**Tableau AV.1.** classement des sédiments selon SO

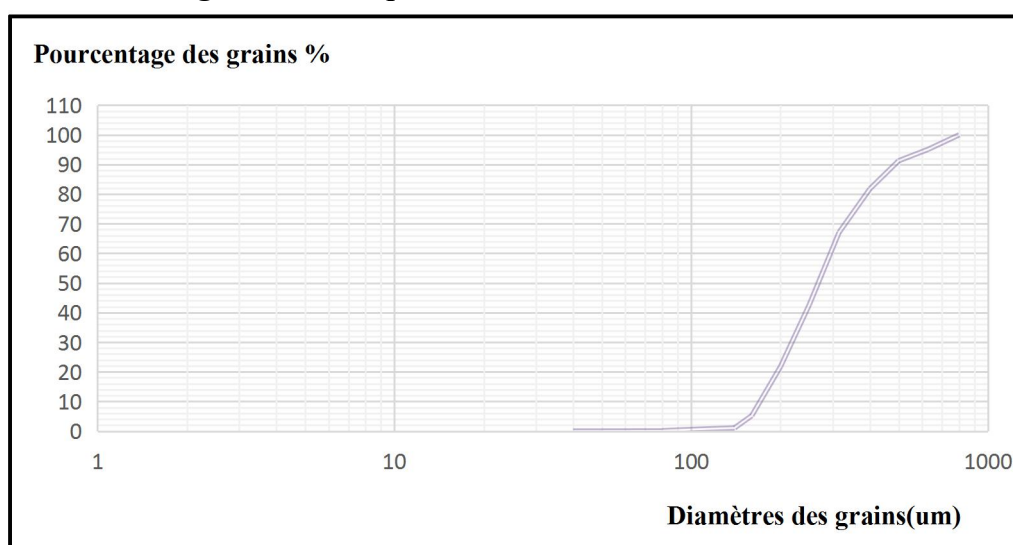
S0	1.0-1.5	1.5-2.5	2.5-3.0	3.0-4.0	4.0
classement	Très bien classé	Bien classé	Normalement classé	Faiblement classé	Mal classé

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

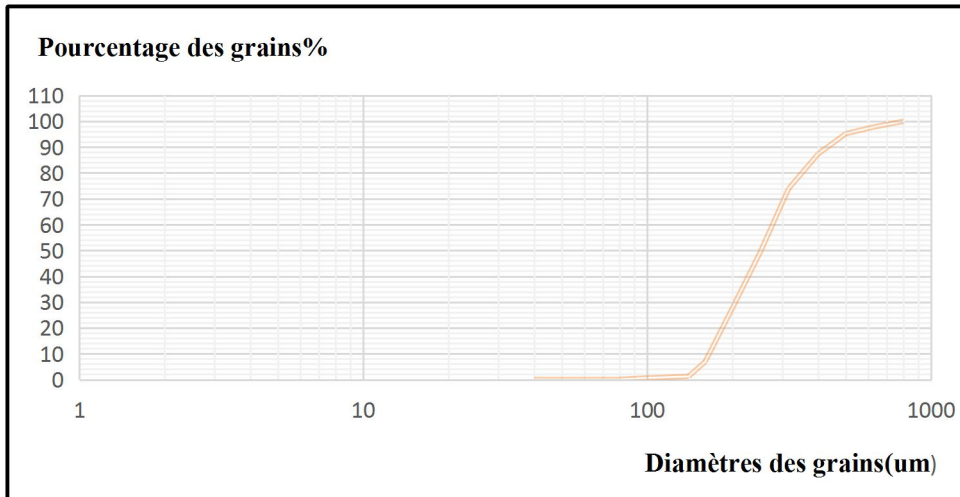
Diamètre maximum	Appellation	Diamètre minimum
200 mm	Cailloux	20 mm
20 mm	Graviers	2 mm
2 mm	Gros sables	0.2 mm
0.2 mm	Sables fins	20 $\mu\text{m}$
20 $\mu\text{m}$	limons	2 $\mu\text{m}$
2 $\mu\text{m}$	Argiles	< 2 $\mu\text{m}$

Source : AFNOR.1994

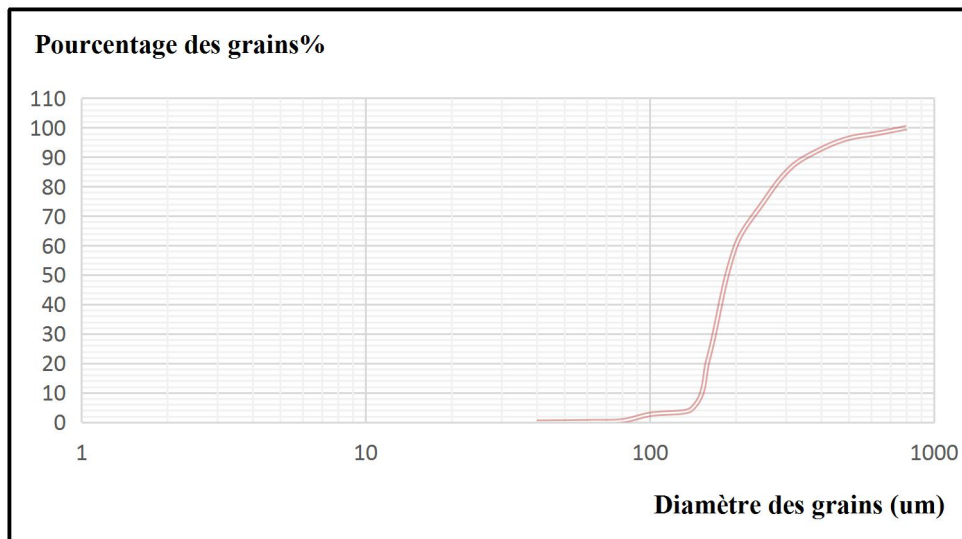
#### ➤ Les courbes granulométrique des stations étudiées:



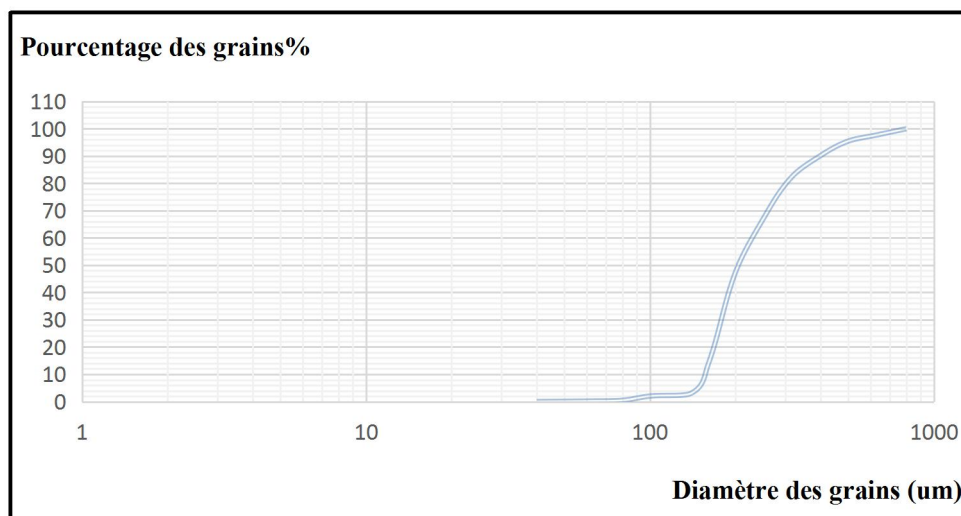
**Station 1**



**Station 2**



**Station 3**



**Station 4**

## Annexe VIII

**Tableau A.VIII.1.** positionnements géographique des stations de prélèvement d'eau et de sédiments..

Station	L'altitude	Longitude
S1	36°35'6.76''	002°30'635''
S2	36°35'767''	002°30'638''
S3	36°35'762''	002°30'735''
S4	36°35'883''	002°30'722''

**Tableau AVIII.2.** valeurs moyennes de la température, salinité, pH et la conductivité.

station	Température (C°)	S (PSU)	PH	C (ms/cm)	O <sub>2</sub> dissous (mg/L)
S1	-	-	8.5	51.5	6.98
S2	-	-	8.03	50.7	7.74
S3	-	-	8.07	50.4	6.84
S4	-	-	8.04	50.2	7.21

**Tableau A.VIII.3.** Les valeurs moyennes de MES et MOP dans l'eau

Station	MES (mg/L)	MOP %
S1	5.97	0.037
S2	23.19	0.034
S3	0.2	0.033
S4	3.43	0.036

**Tableau A.VIII.4**

**Tableau A.VIII.5.** Concentrations moyennes des sels nutritifs.

Station	NO <sub>3</sub> - (µmol/l)	NO <sub>2</sub> - (µmol/l)	PO <sub>4</sub> -3 (µmol/l)	SIO <sub>2</sub> (µmol/l)
S1	0,0035	0,0049	0,0007	0,0999

<b>S2</b>	0,0027	0,0379	0,0509	0,1842
<b>S3</b>	0,037	0,0401	0,0389	0,1949
<b>S4</b>	0,0046	0,0064	0,0169	0,1014

**Tableau AVIII.6.** Concentrations moyennes des germes recherchés dans l'eau.

<b>Station</b>	<b>CT</b>	<b>CF</b>	<b>SF</b>	<b>Staph</b>
<b>S1</b>	100	0	33	ind
<b>S2</b>	35	01	08	272
<b>S3</b>	134	10	14	39
<b>S4</b>	273	30	01	ind

## **Annexe IX.**

**Tableau IX.1.** Principaux critères de qualité des eaux de baignade (Décret n° 93-16 du 10 juillet 1993).

<b>Paramètres</b>	<b>unités</b>	<b>Valeurs guides</b>	<b>Valeurs impératives</b>
<b>microbiologiques</b>			
<b>Coliformes totaux</b>	/ 100 ml	500	10 000
<b><i>Escherichi coli</i>/ 100 ml</b>	/ 100 ml	100	2 000
<b>Streptocoques fécaux/ 100 ml</b>	/ 10 ml	100	-
<b>salmonelle</b>	1 L	-	0
<b>Vibrions cholérique</b>	/ 450 ml	-	0
<b>Physico-chimiques</b>		-	
<b>colorations</b>	Mg/ l	-	Pas de changement anormale de la couleur (0)
<b>Huiles minérales</b>	Mg/ l	0.3	Pas de film visible à la surface de l'eau et absence d'odeur

<b>pH</b>	-	-	6 - 8.5
<b>OD</b>	% saturation en O <sub>2</sub>	-	80 - 120
<b>Transparence</b>	mètre	2	-
<b>Autres substances</b>	-	-	Ne doit pas contenir des substances capable de nuire la santé de baigneur

**Tableau IX.2** les seuils limites des contaminants microbiologiques des mollusques bivalves issue de la pêche et de l'aquaculture (Décret n° 39-11 du 02 juillet 2017).

Catégories des denrées alimentaire	Micro-organismes/ métabolites	Plan échantillonna ge		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Poissons, céphalopodes et mollusques crus (sauf mollusques bivalves vivants)	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Staphylocoques a coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Escherichia coli</i>	5	1	230 NPP*/100g	700 NPP*/100g

Les paramètres **n**, **c**, **m** et **M** utilisés dans les annexes du présent arrêté représentent :

**n** : nombre d'unité constituant l'échantillon

**m** : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante

**M** : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur au dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme inacceptable ;

**c** : nombre maximal d'unités d'échantillonnage de produit analysé qui peut dépasser 'm' tout en étant inférieur à 'M' sans que le lot ne soit rejeté.

### **Résumé :**

L'aquaculture marine est responsable de potentiels impacts environnementaux sur les écosystèmes locaux (ex. impact sur le benthos) ou globaux (ex. impact sur le changement climatique). Afin de minimiser ces impacts, il est nécessaire de faire une évaluation environnementale pour assurer le développement durable de l'aquaculture. En Algérie, la ferme conchylicole SPA Cultures Marines, installées au centre de la côte algérienne cultive des huîtres et des moules importées d'une éclosier étrangère. Ce travail a pour objectif d'évaluer la qualité environnementale d'une ferme conchylicole situé à Kouali dans la Wilaya de Tipaza. L'étude prend en compte l'évaluation physicochimique et biologique du milieu ainsi que l'analyse microbiologique des moules et des huitres de la ferme. Les résultats obtenus de l'analyse physico-chimique sont conforme aux normes Algérienne. D'un point de vue bactériologique, l'eau de mer et le biote montrent une présence très élevée des germes microbiens qui pourraient constituer un risque sanitaire important.

**Mots clés :** Conchyliculture marine, évaluation environnementale, Microbiologie, analyse physicochimique.

### **Abstract :**

Marine aquaculture is responsible for potential environmental impacts on local (e.g. benthic impact) or global (e.g. impact on climate change) ecosystems. To minimize these impacts, it is necessary to do an environmental assessment to ensure sustainable aquaculture. In Algeria, the Cultures Marines shellfish farm, located in the center of the Algerian coast, cultivates mussels and oysters imported from a foreign hatchery. This work aims to assess the environmental quality of a shellfish farm located at Kouali in Tipaza. The study takes into account the physico-chemical and biological assessment of the environment as well as the microbiological analysis of

the farm's mussels and oysters. The results obtained from the physico-chemical analysis comply with Algerian standards. From a bacteriological point of view, sea water and biota show a very high presence of microbial germs which could constitute a significant health risk.

**Keywords:** Marine shellfish farming, environmental assessment, Microbiological analysis, physico-chemical analysis

### ملخص

تربية الأحياء المائية البحرية هي المسؤولة عن التأثيرات البيئية المحتملة على النظم البيئية المحلية (مثل التأثير القاعي) أو العالمي (مثل التأثير على تغير المناخ). لتقليل هذه التأثيرات ، من الضروري إجراء تقييم بيئي لضمان استدامة تربية الأحياء المائية. في الجزائر، تقوم مزرعة محار " كولتمار" ، الواقعة في وسط الساحل الجزائري، بزراعة بلح البحر والمحار، المستورد من مفرخ أجنبي، ويهدف هذا العمل إلى تقييم الجودة البيئية لمزرعة محار تقع في كوالي في تيبازة. تأخذ الدراسة في الاعتبار التقييم الفيزيائي والكيميائي والبيولوجي للبيئة وكذلك التحليل الميكروبيولوجي لبلح البحر والمحار في المزرعة. النتائج التي تم الحصول عليها من التحليل الفيزيائي الكيميائي تتوافق مع المعايير الجزائرية. من وجهة النظر البكتريولوجية ، تظهر مياه البحر والرواسب والكائنات الحية وجودًا عاليًا جدًا للجراثيم الميكروبية التي يمكن أن تشكل مخاطر صحية كبيرة. التحليل الفيزيائي ، التحليل الميكروبيولوجي ، التقييم البيئي ، الكلمات المفتاحية: استزراع الرخويات البحرية الكيميائية

