

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

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



MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME  
D'INGÉNIEUR EN SCIENCES DE LA MER

Spécialité : AQUACULTURE

Thème :

DETERMINATION D'UNE PARTIE DE LA FLORE BACTERIENNE  
ASSOCIEE AUX CYSTES D'ARTEMIA (Leach 1819).

Présenté par :

❖ SOLTANI Sohaib

Soutenu le 05/10/2017 devant la commission du jury suivant :

Mme. AMAR I.	Maître assistante A	<b>Présidente</b>
M. KADA M.	Maître assistant B	<b>Examineur</b>
Mme. CHAOU N.	Maître assistante A	<b>Examinatrice</b>
Mme. ALOUACHE S.	Maître de conférences A	<b>Promotrice</b>
Mme. BOUACHA Ch.	Doctorante	<b>Invité</b>

Promotion : 2016/2017

## Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir accordé, le courage, la patience et surtout la santé et de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

En préambule à ce mémoire, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce modeste mémoire.

Je tiens à remercier sincèrement et particulièrement Mme.ALOUACHE S., en tant que promotrice, de m'avoir proposé ce sujet et pour son encadrement. Elle a toujours été à l'écoute tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Ce travail rentre dans le cadre de la thèse de doctorat de Mademoiselle BOUACHA Chahrazed de l'ENSSMAL. Je tiens à lui adresser mes remerciements spéciaux pour son accompagnement sur le plan technique et pour ses conseils. Je lui souhaite une bonne continuation.

Je remercie Mme AMAR I., maitre assistante A à l'ENSSMAL d'avoir accepté de présider le jury.

Mme CHAOU N., maitre assistante A à l'ENSSMAL, et M KADA M., maitre-assistant B à l'ENSSMAL, pour avoir accepté d'examiner ce travail, c'est un honneur, de vous avoir parmi les membres de ce jury.

Mes remerciements s'adressent également à toute l'équipe technique des laboratoires pédagogiques de l'ENSSMAL : microbiologie, aquaculture et biochimie pour leur disponibilité ainsi qu'à toute l'équipe de la bibliothèque

Finalement, merci à vous, lecteurs, pour l'intérêt que vous portez à ce manuscrit.

Merci à tous et à toutes.

## Dédicaces

*A ma très chère mère qui m'a toujours soutenu*

*A mon frère et ma sœur bien aimés : Nadjî et Ryhanna*

*A ma grande mère « mîma »*

*A mes amis : SAOUDI Ryadh, ABD ELAOUI Hayder, FEDDAOUI Ahmed,  
LOUNI Abderrahmane, ZAIDI Housseem, SEMMAR Abd el hak, BEN BAHRIA*

*Brahim, MOUGGAF Hamza, AMIAR Tarek et AMIRIA AZ.*

*A tous les étudiants de 5ème année Aquaculture*

*A tous les étudiants de l'ENSSMAL*

**Sohaib**



### **Citation**

La nature ne tolère pas l'excès et lors d'un excès les prédateurs  
interviennent.

**Dr. Dre**

## LISTE DES FIGURES

Figure I. 1: Cycle de vie de l'Artemia .....	6
Figure I. 2: Cystes d'Artemia déshydraté. ....	7
Figure I. 3: Structure des membranes et coquille de cyste d'Artemia.....	8
Figure I. 4: Nauplius d'Artemia après éclosion.....	9
Figure I. 5: Nauplii d'Artemia.....	9
Figure I. 6: Corps d'Artemia adulte.....	10
Figure I. 7: Différents stades larvaires de nauplius .....	12
Figure II. 1 : Les échantillons de cystes d'Artemia .....	16
Figure II. 2 : Vue en 3D de la ville de SIDI KHOULED sur image satellitaire.....	17
Figure II.3 : Dispositif d'incubation des cystes d'Artemia.....	18
Figure II.4 : Fixation des Nauplii pour faire le comptage .....	19
Figure II.5 : Schéma du protocole de confirmation des colonies d'entérocoques .....	23
Figure II.6 : Galerie API 20 E.....	29
Figure II. 7: Coagulase positif et négatif.....	29
Figure III. 1:illustration de la production des pigments.....	33
Figure III. 2: résultats de coloration de Gram pour les souches de Pseudomonas.....	33
Figure III. 3:Illustration de la fermentation du mannitol sur milieu Chapman.....	35
Figure III. 4:Coloration de Gram pour des souches isolées sur Chapman.....	35
Figure III.5:Test de coagulase.....	35
Figure III. 6:Aspect des colonies sur MRS.....	36
Figure III. 7:Coloration de Gram pour des souches isolées sur MRS.....	36
Figure III. 8:Tests de confirmation des entérocoques.....	38
Figure III. 9:illustration d'une Coloration de gram sur TCBS.....	39
Figure III. 10:illustration de la Coloration de Gram sur Hecktoen.....	41
Figure III. 11: Résultats obtenus sur BVBL.....	41
Figure III. 12:illustration d'une Coloration de Gram sur MacConkey.....	42

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Importants sites d'Artemia en Algérie.....	13
Tableau III. 1: taux d'éclosion pour la souche d'Artemia de Ouargla.....	31
Tableau III. 2: taux d'éclosion pour la souche d'Artemia Commerciale.....	31
Tableau III. 3: efficacité d'éclosion pour la souche d'Artemia de Ouargla.....	32
Tableau III. 4: efficacité d'éclosion pour la souche d'Artemia Commerciale.....	32
Tableau III. 5: Résultats d'identification sur la gélose au Cétrimide.....	33
Tableau III. 6: Résultats d'identification sur Chapman.....	34
Tableau III. 7: Résultats d'identification sur MRS.....	36
Tableau III. 8: Résultats d'identification sur ROTH / BEA.....	37
Tableau III. 9: Résultats d'identification sur TCBS.....	39
Tableau III. 10: Résultats d'identification sur Hecktoen.....	40
Tableau III. 11: Résultats d'identification sur MacConkey.....	42

## **LISTE DES ACRONYMES**

API : Appareillage et Procédé d'identification

BEA : Bile Esculine Azide

BVBL : Bouillon bilié au vert brillant

°C: degré Celsius

FAO : food and agriculture organization

Fig : figure

g : gramme

h : heure

L : litre

ml : millilitre

mm : millimètre

mn : minute

MRS : deMan, Rogosa, Sharpe

Rpm : Rotation par minute

S : souche

T° : Temperature

Tab : Tableau

TCBS : Thiosulfate, au Citrate, à la Bille et au Saccharose

UV : ultras violet

## TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES .....	v
LISTE DES TABLEAUX .....	vi
LISTE DES ACRONYMES.....	vii
TABLE DES MATIERES.....	viii
INTRODUCTION .....	2
CHAPITRE I : GENERALITES. ....	5
I.1. Classification et systématique d' <i>Artemia</i> .....	5
I.2. Historique de l' <i>Artemia</i> .....	5
I.3. Morphologie et cycle de vie .....	6
I.3.1. Cystes .....	7
I.3.2. Nauplii .....	9
I.3.3. Adulte .....	10
I.4. Physiologie .....	10
I.5. Alimentation .....	11
I.6. Reproduction .....	11
I.7. Ecologie de l' <i>Artemia</i> .....	12
I.8. L' <i>Artemia</i> en Algérie.....	13
I.9. Utilisation d' <i>Artemia</i> en Aquaculture .....	13
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES. ....	15
II.1 <i>Artemia</i> commerciale.....	15
II.2 <i>Artemia</i> de Ouargla.....	15
II.2.1 Présentation du site .....	15
II.3 Traitement des cystes d' <i>Artemia</i> à partir d'un échantillon brut .....	16
II.4 Incubation .....	17

II.4.1 Taux d'éclosion.....	18
II.4.2 Efficacité d'éclosion .....	18
II.5 Protocoles de détermination de la flore bactérienne.....	19
II.5.1 Recherche des Pseudomonas .....	19
II.5.2 Recherche des Staphylocoques pathogènes .....	20
II.5.3 Recherche des bactéries lactiques .....	20
II.5.4 Recherche des Entérocoques.....	21
II.5.5 Recherche des Vibrio.....	24
II.5.6 Recherche des Salmonelles.....	24
II.5.7 Recherche des entérobactéries et les bactéries lactose positif .....	24
II.5.7.1 Recherche sur BVBL .....	24
II.5.7.2 Recherche sur MacConkey .....	25
II.6 Test d'identification.....	25
II.6.1 Coloration de Gram .....	25
II.6.2 Test d'oxydase .....	26
II.6.3 Test de catalase .....	26
II.6.4 Identification par galerie API 20 E .....	27
II.6.5 Test de la coagulase .....	28
<b>CHAPITRE III : RESULTATS .....</b>	<b>30</b>
III.1 Eclosion des cystes .....	30
III.1.1 Taux d'éclosion .....	30
III.1.2 Efficacité d'éclosion .....	31
III.2 Flore bactérienne associée à l' <i>Artemia</i> .....	31
III.2.1 Recherche des Pseudomonas sur la gélose au Cétrimide .....	31
III.2.2 Recherche des Staphylococcus sur le milieu CHAPMAN.....	33
III.2.3 Recherche des bactéries lactiques sur le milieu MRS .....	34
III.2.4 Recherche des entérocoques .....	36

III.2.5 Recherche des Vibrion sur TCBS.....	38
III.2.6 Recherche des Salmonelles sur la gélose HECKTOEN.....	39
III.2.7 Recherche des entérobactéries et des lactose positifs sur BVBL et MacConkey.....	40
CHAPITRE IV : DISCUSSION .....	43
CONCLUSION .....	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	52
ANNEXES .....	58
RESUME.....	70

# **INTRODUCTION**

## Introduction.

---

### INTRODUCTION

Les premières étapes de l'aquaculture moderne ont eu lieu dans le XIX<sup>ème</sup> siècle, quand il a été possible de maîtriser au laboratoire le cycle de vie de certaines espèces de poissons et de crustacés. Le premier problème qui s'est présenté à l'aquaculteur était le choix de l'aliment à fournir aux animaux d'élevage. Ce problème est aggravé dans les stades larvaires pour leurs besoins nutritionnels stricts (**Ruiz, 2008**).

En aquaculture, compter sur un aliment en quantité et en qualité pour les larves des différentes espèces d'intérêt commercial est un aspect de grande importance. car la larve, après la résorption du sac vitellin qui lui proportionne les besoins protéiques pour son développement durant les premières 24 heures de sa vie, elle commencera une alimentation exogène (**Rodriguez et al., 2006**).

Le développement déficient du système digestif des phases larvaires, empêche l'assimilation de l'aliment artificiel ; pour lequel il devient vital l'approvisionnement en aliment vivant. Parmi les aliments vivants utilisés en larviculture de poissons et de crustacés, les nauplii d'*Artemia* constituant l'aliment le plus amplement utilisé dans le monde (**Holt , Sun 1991**).

Les nauplii d'*Artemia* représentent un maillon trophique indispensable pour nourrir plus de 80% des alevins des poissons et des larves de crustacés. Cette importance est due à la disponibilité, à la simplicité et à la valeur nutritionnelle par rapport à d'autres aliments (**Ben Naceur et al., 2008**). D'autre part, les nauplii d'*Artemia* sont considérés comme un aliment convenable qui peut être facilement stocké et aisément manipulé et obtenu seulement après 24h d'incubation à partir des cystes (**Lavens , Sorgeloos, 2000**). La demande mondiale en cystes d'*Artemia* est en augmentation constante. Quelques estimations ont signalé une augmentation annuelle de 15% due à la croissance au développement biotechnique et de production en aquaculture dans divers régions de la planète (**Lai, 1991**).

Les cystes d'*Artemia* sont considérés comme matière de base pour développer un élevage larvaire de poissons et crustacés. Ce fait a soulevé un grand intérêt aussi bien scientifique qu'économique. Autre aspect important, le fait que les ressources mondiales des cystes d'*Artemia* actuellement en exploitation ne peuvent faire face à la forte demande dans le secteur aquacole, ce qui se traduit par une augmentation du prix sur le marché international. Cette situation justifie la recommandation de la plupart des experts pour

## Introduction.

---

étudier les populations naturelles d'*Artemia*, de la manière la plus large possible, afin de comparer leur potentiel d'exploitation comme source de cyste et biomasse utilisable en aquaculture.

L'*Artemia* a fait l'objet de nombreuses investigations dont l'aspect microbiologique a été récemment abordé par la communauté scientifique en raison de la propagation des maladies liées à la présence des micro-organismes pathogènes associés à l'élevage de poissons ou crustacés.

Notre but est de déterminer une partie de la flore bactérienne associée aux cystes d'*Artemia* et de la comparer à la littérature sachant que beaucoup de travaux dans ce sens ont révélé l'existence de *vibrions*, *Pseudomonas sp*, *staphylocoque*, *Erwinia sp*, *Bacillus subtilus*, *lactobacillus* .....etc. associée à l'élevage d'*Artemia*. Certaines bactéries peuvent être pathogènes pour l'*Artemia* lui-même et aux larves de poisson et d'autre peuvent améliorer la qualité des cystes et qui vie en symbiose avec le poisson et qui peuvent aussi servir comme des bactéries probiotiques pour l'être humain tel que *Bacillus subtilus* (**Olsen et al., 2000 ; Villamil et al., 2003 ;Pham et al., 2008 ; Hoj et al., 2009**).

# **Chapitre I :**

## **Généralités.**

### I.1. Classification et systématique d'*Artemia* (Alireza, 2010).

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Arthropoda*

Sous-Embranchement : *Crustacea*

Classe : *Branchiopoda*

Sous-Classe : *Sarsostraca*

Ordre : *Anostraca*

Sous-Ordre : *Artemiina*

Famille : *Artemiidae*

Genre : *Artemia*, **Leach 1819**

### I.2. Historique de l'*Artemia*

Les branchiopodes ont existé depuis au moins la période dévonienne (environ 410 millions d'années) et partagent une constellation de caractéristiques primitives, tandis que l'ordre Anostraca retourne aux crustacés inférieurs.

Ses ancêtres habitent exclusivement les écosystèmes d'eau douce ou saumâtres et appartiennent au genre *Branchinecta*, *Branchinella*, *Branchiopus*, *Streptocephalus* etc.

Du point de vue phylogénétique, on pense que les populations sexuées du vieux continent sont l'ancêtre le plus proche de tous les autres *Artemia*. Le genre *Artemia* est inclut dans le groupe des crustacés branchiopodes Anostracés. (**Ghomari Sidi, 2013**).

De nos jours, ces crustacés sont considérés comme les plus primitifs, ils se caractérisent par la possession d'appendices thoraciques en forme de feuilles, exerçant une triple fonction de locomotion, respiration et filtration (Classe Branchiopodes). Ils se distinguent aussi par l'absence de carapace (Ordre Anostraca), la présence d'une fourche caudale avec deux rames et par un régime alimentaire filtreur planctonophage. (**Ghomari Sidi, 2013**).

On croyait, vers les années 1906, que ce genre était formé par une seule espèce, décrite par Schlosser (1756), qui a étudié les populations peuplant les salines de Lymington (Sud Angleterre). Par la suite, LINNE (1758) lui affecte la dénomination *Cancer salinus* et qui a

été ensuite dénommée sous le nom d'*Artemia salina* par LEACH (1819) ; mais plus tard une dernière révision taxonomique a été établie par BROWNE et BOWEN (1991), affecte à ce genre plusieurs espèces isolées par les expériences de reproduction (Ghomari Sidi, 2013).

### I.3. Cycle de vie et morphologie

Dans son environnement naturel, et lorsque les conditions sont défavorables, l'*Artemia* produit des cystes (fig I.1) qui flottent sur la surface de l'eau et qui sont projetés à terre par le vent et ondule, s'accablent sur le rivage des salines ou ils pourraient séjourner plusieurs années (Lavens *et al.*, 1996).

Le cycle biologique de l'*Artemia* dure environ de 14 à 17 jours, bien qu'il a été décrit des cycles plus courts jusqu'à 9 jours. La taille de l'individu, le développement rapide et la fréquence des mues etc., varient selon l'espèce et l'influence des facteurs physico-chimiques tels que la salinité, la température, la concentration d'oxygène, le pH, le type et la disponibilité d'aliment, ou la densité de la population.

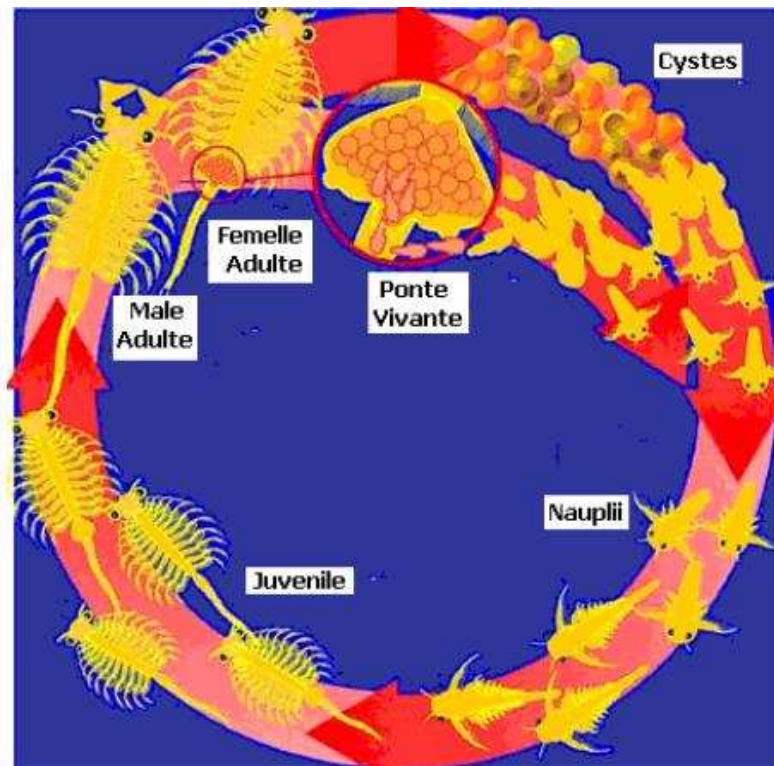


Figure I. 1: Cycle de vie de l'*Artemia* (Lavens *et al.*, 1996).

### I.3.1. Cystes

Le cyste (fig I.2) à une forme biconcave, après hydratation, il devient sphérique, avec grande tolérance aux basses et hautes températures.

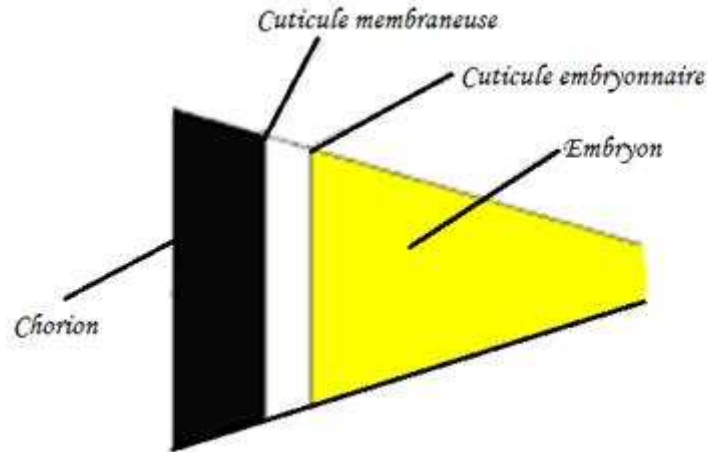
Le cyste sec résiste également aux fortes radiations, à l'action des solvants organiques, au manque d'oxygène, aux ruptures mécaniques, et peut être entreposé pendant des mois ou des années sans toutefois perdre sa capacité d'éclosion (**Granvill et Treece, 2000**).



**Figure I. 2:** Cystes d'*Artemia* déshydraté (**Belayachi, 2015**).

L'enveloppe du cyste est constituée de 03 structures (fig I.3) :

- ✚ Le chorion : Constitué essentiellement de lipoprotéines ; sa fonction est la protection de l'embryon.
- ✚ La cuticule membraneuse : C'est une fine membrane, perméable uniquement aux molécules ayant une taille réduite telles que l'oxygène ( $O_2$ ), le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) et l'ammonium ( $NH_4$ ) ; elle protège l'embryon contre l'agression des grosses molécules.
- ✚ La cuticule embryonnaire : Est une membrane très élastique et transparente qui sépare l'embryon de la cuticule membraneuse. (**Dhont et Vanstappen, 2003**)



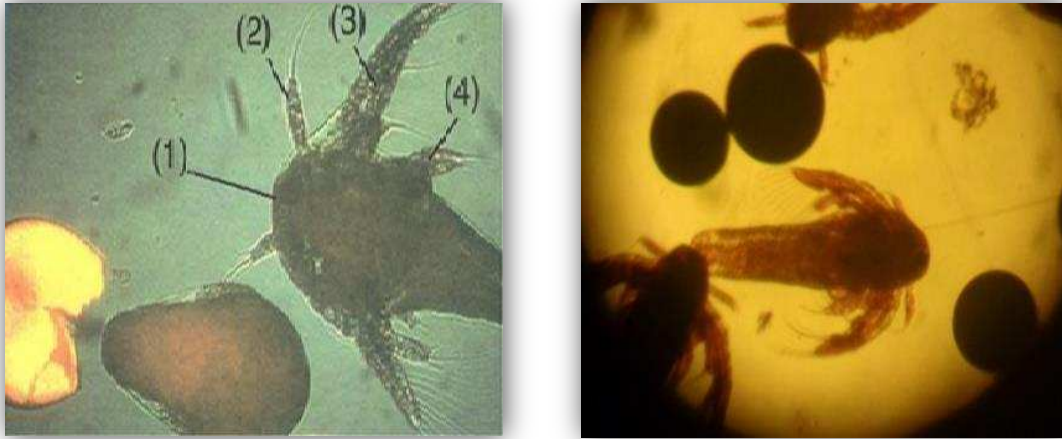
**Figure I. 3:** Structure des membranes et coquille de cyste d'*Artemia* (Sorgeloos, 1977).

De plus, le chorion présente un degré hygroscopique de tel sorte qu'il est capable de capter l'eau de l'environnement jusqu'à 200% du poids du cyste, processus d'hydratation qui fait perdre sa flottabilité et initie le métabolisme des carbohydrates en anaérobiose où le tréhalose se convertit en glycogène et en glycérine. L'accumulation de la glycérine à l'intérieur du cyste provoque l'augmentation de la pression osmotique interne, ce qui produit par la suite la déchirure du chorion et la sortie de l'embryon à l'extérieur protégé par la membrane embryonnaire. Quelques heures après, le nauplii rompt cette cuticule ; c'est la phase d'éclosion (fig I.4) et sort libre dans le milieu (premier stade larvaire). (Clegg et Conte, 1980).

### **Diapause et conditions favorisant la formation des cystes**

Les cystes sont émis par la femelle en périodes critiques lors d'une déficience en nourriture, fortes salinités, stress ou une baisse des niveaux d'oxygène dans le milieu, afin d'assurer la survie de la population.

L'embryon en diapause est enfermé dans le cyste avec un arrêt métabolique qui est réglé par les mécanismes internes et qui dépend des facteurs externes. Cet embryon ne peut pas être distingué d'un embryon non vivant (Bezzi et Houhech, 2015).



**Figure I. 4:** Nauplius d'*Artemia* après éclosion (Lavens *et al.*, 1996) :

(1) Œil nauplien ; (2) antennule ; (3) antenne ; (4) mandibule.

### I.3.2. Nauplii

Les nauplii d'*Artemia* sont des petits crustacés qui peuvent vivre dans les eaux douces ou saumâtres. Ces petites créatures (fig I.5) peuvent résister à des taux de salinité extrêmes (jusqu'à près de 350g/l) qui interdisent le développement de tout autre organisme animal.

La taille des nauplii d'*Artemia* n'excède pas les treize millimètres, elles sont largement utilisées comme première nourriture pour les alevins de poisson et sont aussi utilisées comme supplément pour nourrir les poissons adultes et les « inciter » à se reproduire.

Le nauplii d'*Artemia* mesure environ 200 à 400 microns. Les nauplii d'origine ovovivipare sont plus grands que ceux d'origine ovipares et ils sont de couleur orange due à la présence de caroténoïde et du vitellus. Le nauplii est formé de trois paires d'appendices qui comprennent : les antennes ; relativement larges et qui servent à la locomotion, les antennules et les mandibules qui elles, joueront un rôle alimentaire dès le deuxième stade larvaire (Bezzi et Houhech, 2015).



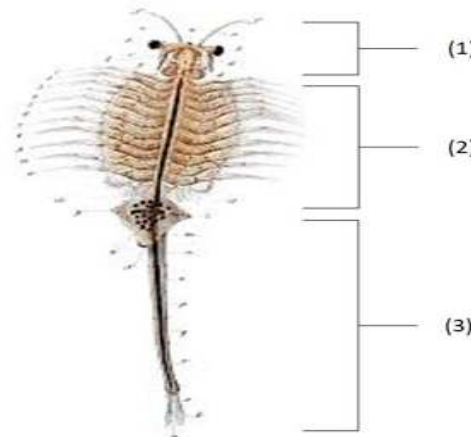
**Figure I. 5:** Nauplii d'*Artemia* (Akvaryum Blog / Ocean nutrition, 2017).

### I.3.3. Adulte

Le corps d'une artémia adulte mesure environ 10 mm de longueur chez les populations bisexuelles, alors que chez les races parthénogénétiques elle atteint 20 mm. Son corps est dépourvu de la carapace, mais clairement segmenté, Il comprend trois parties bien distinctes (fig I.6) : la tête (1), le thorax (2) et l'abdomen (3) (**Van Stappen, 1996**).

Le mâle adulte est caractérisé par deux claspers dans la région de la tête et les organes reproducteurs appareillés, situé derrière les thoracopodes.

La femelle adulte est caractérisée par une deuxième antenne primitive et une poche ou utérus (deux sac ovariens). Les œufs se développent dans les deux ovaires tubulaires ; une fois mures, ils deviennent sphériques et émigrent par l'intermédiaire de deux oviductes dans le sac ovarien (**Haddag, 1991**).



**Figure I. 6:** Corps d'*Artemia* adulte (**Van Stappen, 1996**).

### I.4. Physiologie

L'*Artemia* est l'une des rares espèces qui peut garder son sang hypertonique dans un milieu concentré grâce à l'organe dorsale qui excrète des sels. Au cours des variations de salinité assez larges, elle peut même maintenir son sang à une concentration à peu près constante

Les pigments du sang chez l'*Artemia* sont en solution et non sous forme de corpuscules comme chez les vertébrés ; l'hémoglobine est présente et, c'est la pression sanguine qui commande le mouvement des appendices (**Dumont et al., 2002**).

On peut rencontrer les populations de ce crustacé dans des eaux riches en chlorures, sulfates, carbonates, potasses etc., dont la composition ionique est totalement différente à ceux de l'eau de mer (**Bowen et al., 1985**).

### I.5. Alimentation

L'*Artemia* est un crustacé filtreur obligatoire non sélectif, qui, à l'aide de ses antennes et thoracopodes, capte les particules alimentaires en suspension. Son alimentation est basée sur le phytoplancton vivant, constitué d'algues microscopiques ; *Dunaliella* Sp et autres *Diatomées* et *Cyanophycées*, car ils sont relativement faciles à cultiver et de plus, une nourriture considérée comme de bonne qualité. Ainsi que la capture des bactéries halophiles externes (*Halobacterium* et *Holococcus*), de petits protozoaires et d'autres particules organiques en suspension dans son milieu de vie naturelle, si le milieu est pauvre en nourriture, la croissance de l'*Artemia* sera lente et une forte mortalité sera observée (Bezzi et Houhech, 2015).

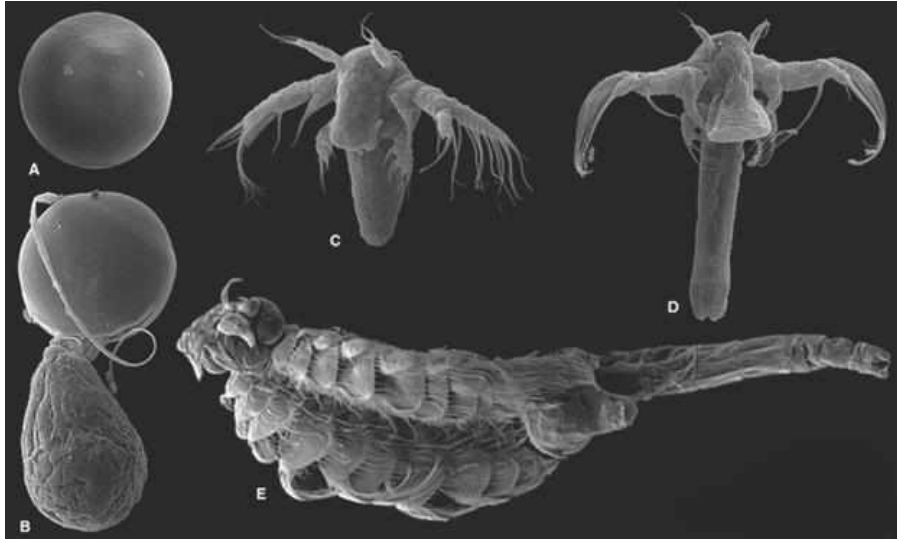
### I.6. Reproduction

La reproduction de l'*Artemia* fut étudiée par Goldshmitt (1952) et par Fautrez et Furlefan (1971). Les populations d'*Artemia* présentent deux types de reproduction : sexuée avec la présence de mâles et femelles et asexuée ou parthénogénétique avec la présence exclusive de femelles (clones parthénogénétiques).

Les deux types de femelles (sexuées ou asexuées) peuvent donner deux classes de descendance : un embryon qui achève son développement embryonnaire à l'intérieur de l'utérus de la femelle et naît comme nauplii parfaitement formé (ovovivipare) ou bien des embryons qui, une fois atteignent le stade blastula avancé ou début de la gastrula, entrent en stade de diapause, se recouvrent de l'enveloppe tertiaire résistante sécrétée par une glande au niveau de l'utérus (glande coquillière). Ils sont ensuite émis dans le milieu comme cystes (ovipare) (Gilbert, 1991).

Exceptionnellement, certains cystes éclosent immédiatement après être émis par la femelle, appelés cystes spontanés (Dutrieu, 1960).

La majorité des cystes restent dans l'état de cryptobiose ou de diapause avec un métabolisme suspendu jusqu'à ce que les conditions du milieu soient favorables pour amorcer la désactivation de la diapause. Les facteurs qui déclenchent le processus d'oviparisme restent un sujet de larges discussions. Drinkwater et Clegg (1991) concluent que ce sont les facteurs environnementaux (température, pH, oxygène dissout...etc.), qui déterminent le mode de reproduction chez l'*Artemia* et sont spécifiques et multiples pour chaque population. On suppose qu'en conditions environnementales favorables, le processus de développement ovovivipare est habituel.



**Figure I. 7:** Différents stades larvaires de nauplius (**Hans Hillewaert, 2010**).

A : Cystes plein (hydraté), B : Stade Umbrella, C-D : stade Nauplii, E : Adulte.

### **I.7. Ecologie de l'*Artemia***

L'*Artemia* se retrouve exclusivement au niveau des écosystèmes hypersalins, caractérisés par une faible diversité biologique et par l'absence de prédateurs. Les habitats naturels comprennent les salines et les lacs salés, temporaires ou permanents, situés en zones côtières appelés aussi thalassohalins et caractérisés par leur richesse en chlorure de sodium (NaCl), ou continentales (athalassohalins) riches en sulfate, carbonates ou encore en potassium.

La majorité des biotopes colonisés par l'*Artemia* sont constitués de saumures peu profonds, mais parfois présentant une certaine profondeur avec une stratification physico-chimique et biologique importante comme le Grand Lac salé Utah (U.S.A). Face aux paramètres écologiques biotiques et abiotiques, l'*Artemia* est capable de développer de larges tolérances. Pour certains facteurs comme la température, la salinité, la concentration d'oxygène ou la disponibilité de l'aliment, les intervalles de tolérance sont très larges même au sein de la population (**Bowen et al., 1989**).

La température vitale optimale de l'*Artemia* est au tour de 25-27°C, en général l'intervalle minimal et maximal de survie est entre 5 et 35°C. Ces limites ne sont pas fixes et restent liés aux caractéristiques de chaque population et espèce (**Amat, 1985**).

### I.8. L'*Artemia* en Algérie

En Algérie, peu d'études ont été faites sur les milieux naturels colonisés par l'*Artemia* (tab I.1), mais on se limite par des sites représentés par **Kara et Amarouayache (2012)**.

**Tableau I.1** : Importants sites d'*Artemia* en Algérie (**Kara et Amarouayache, 2012**).

Les localités	Wilaya
Chott Marouane (Djeloud)	El Oued
Chott Ouargla	Ouargla
Dayet Morselli	Oran
Saline de Gharbas	Mostaganem
Sebkhet Ezzamoul	Oum El Bouaghi
Arzew (Betioua)	Arzew
Sebkhet Oran	Oran
Chott Touggourt	Touggourt
Chott Melghir	Biskra
Saline El Bahria	Sétif
Saline Goléa	Ghardaïa
Sebkhet Ghilizane	Sidi Bouziane

### I.9. Utilisation d'*Artemia* en Aquaculture

En aquaculture, les nauplii d'*Artemia* représentent 85 % des proies vivantes utilisées en routine dans les écloséries. Ils sont disponibles sous forme de cystes, récoltés sur les berges des milieux hyperhalins. Leur taille de 400-500  $\mu\text{m}$  convient parfaitement à la petite bouche des larves de poissons marins, et leur qualité nutritionnelle adéquate a été prouvée. Ils sont riches en acides gras essentiels à la croissance et à la survie des larves des espèces marines. Les nauplii d'*Artemia* ont une qualité biométrique et nutritionnelle variable d'une souche à l'autre (**Amarouayache et al., 2010**).

## **Chapitre II :**

### **Matériel et méthodes.**

L'étude a concerné une *Artemia* naturelle collectée à partir du site de Ouargla et un produit commercial (fig.II.1)



**Figure II. 1:** Les échantillons de cystes d'*Artemia* : (1) issu de Ouargla, (2) commercial (SOLTANI, 2017).

## **II.1 Artemia commerciale**

DAJANA cystes d'*Artemia*, provenant de la république du tchèque est une *Artemia* Commerciale destinée pour les petites productions d'aquariophilie. Elle contient 100g de cystes d'*Artemia salina*, avec un mode d'emploi facile à faire.

## **II.2 Artemia de Ouargla**

L'*Artemia* de Ouargla et une *Artemia* non exploitée. Il est nécessaire de faire d'autres études pour connaître l'espèce de ce genre d'*Artemia*.

### **II.2.1 Présentation du site**

La récolte a été effectuée à partir de chott Oum Errened ; commune de SIDI KHOULED ; wilaya de Ouargla.

Avec un climat désertique sec et chaud et une hauteur de 160 mètres du niveau de la mer, le site est situé aux coordonnées géographiques suivantes : 31°58'47"N, 5°25'6" E.

L'image Alsat2A (fig.II.2) prise le 13 mars 2016, met en évidence les caractéristiques urbaines, naturelles et agricoles de la région.



**Figure II. 2 :** Vue en 3D de la ville de SIDI KHOULED sur image satellitaire Alsat-2A (ASAL, 2017).

### II.3 Traitement des cystes d'*Artemia* à partir d'un échantillon brut

Les échantillons de cystes issus de Ouargla ont été traités comme il a été indiqué par **SORGeloos *et al.* (1986)**. Les étapes sont les suivantes :

- ✓ Séparation par différence de densité dans la saumure saturée (300g Na Cl /l d'eau) : cette opération réalisée dans une ampoule de décantation ou un récipient cylindro-conique (Bouteille de Zoug) ; a pour but de séparer les débris lourds, ayant une taille comprise entre 70  $\mu\text{m}$  et 430  $\mu\text{m}$  qui sédimentent au fond des cystes et débris légers qui surnagent à la surface de la saumure.
- ✓ Lavage à l'eau douce : ce lavage a été effectué à travers un tamis de 70  $\mu\text{m}$  pendant 5 à 10 min à l'eau du robinet pour enlever tout le sel.
- ✓ Séparation par différence de densité dans l'eau douce : cette séparation a été aussi réalisée dans une ampoule de décantation pendant une durée ne dépassant pas 15 min pour que les cystes n'atteignent pas le niveau d'hydratation qui déclenche le métabolisme embryonnaire.

On obtient alors les cystes pleins au fond de l'ampoule et les débris légers ainsi que les cystes vides à la surface de l'eau.

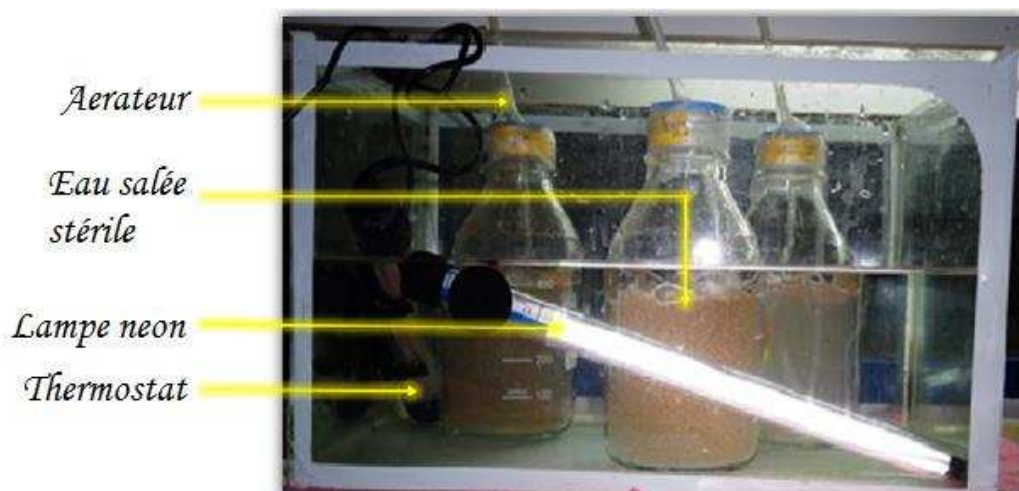
- ✓ Séchage : les cystes pleins obtenus ont été étalés en couches ne dépassant pas 1 cm et séchés à l'étuve à une température de 35°C pendant 48 heures.

## II.4 Incubation

À raison d'1g de cystes par litre d'eau de mer artificiel, l'incubation est effectuée pendant 24 heures avec des conditions presque stériles pour minimiser la contamination par les micro-organismes, en utilisant de l'eau salée stérile, saturée en oxygène dissous en présence d'un aérateur qui permet le brassage du contenu de la bouteille ; la température est fixée à 27°C grâce à un thermostat, la salinité fixée à 35 ‰ et sous un éclairage (fig.II.3).

Lors de l'incubation, l'éclosion aura lieu et on obtiendra 03 phases :

- ✓ À la surface, des cystes vides (éclos).
- ✓ Au milieu, des nauplii (concentré au milieu du flacon à l'aide d'une source lumineuse et grâce à leur propriété phototactisme ; ils sont attirés vers la lumière).
- ✓ Et au fond des cystes pleins (non éclos).
  - Des échantillons de chaque phase ont été prélevés séparément pour les analyses microbiologiques.
  - Un volume du mélange des trois phases est prélevé pour le calcul du taux et l'efficacité d'éclosion des cystes.



**Figure II.3 :** Dispositif d'incubation des cystes d'*Artemia* (SOLTANI, 2017).

### II.4.1 Taux d'éclosion

C'est le paramètre qui exprime le nombre de nauplii obtenu, sans prendre en considération le degré d'impureté de l'échantillon, autrement dit, les cystes peuvent être de bonne qualité d'éclosion mais inutilisables, vu la multitude de débris auxquels ils pourraient être mélangés.

Le taux d'éclosion est très variable, dépend aussi de la qualité des cystes, des cystes de bonne qualité doivent dépasser un taux d'éclosion de 80%. La procédure appliquée est celle de **Bruggeman et al. (1980)** selon la méthode suivante :

- ✓ Incubation des cystes pendant 24 heures.
- ✓ Prélèvement de six échantillons de 0.25ml chacun en utilisant une micropipette.
- ✓ Fixation des nauplius en ajoutant quelques gouttes d'une solution de chloroforme ou lugol (fig.II.4).
- ✓ Comptage du nombre exact des stades : Nauplii, Umbrella et Embryon dans chaque boîte à l'aide d'une loupe binoculaire.

Le taux d'éclosion (hatching pourcentage) est déterminé en appliquant la formule suivante **Bruggeman et al. (1980)** :

$$H (\%) = (N / N + U + E) * 100$$

H : taux d'éclosion, N : nombre Nauplii, U : nombre d'Umbrella, E : nombre d'Embryon.

### II.4.2 Efficacité d'éclosion

L'efficacité d'éclosion exprime le nombre des nauplii produit à partir de 1.6 g de cystes secs. A la différence du taux d'éclosion, l'efficacité d'éclosion tient compte de la pureté de l'échantillon de cystes.

L'efficacité d'éclosion HE (N/g) des cystes est exprimée en nombre de Nauplii / g de cyste sec et donnée par la formule suivante (**Sorgeloos et al, 1979**) :

$$HE = (N * 4 * V) / P$$

N : Nombre de naupli ; P : poids des cystes ; V : volume de l'eau d'incubation = 800ml.

HE : efficacité d'éclosion (N/g).



**Figure II.4 :** Fixation des Nauplii pour faire le comptage (SOLTANI, 2017).

## II.5 Protocoles de détermination de la flore bactérienne

L'analyse microbiologique a concerné l'élevage d'*Artemia* sauvage et commerciale : les cystes vides, les nauplii fraîchement éclos et les cystes non éclos.

### II.5.1 Recherche des *Pseudomonas*

- ✓ **Principe (Guiraud J-P, 2006) :** On utilise un milieu sélectif (Cétrimide) et deux milieux de confirmation, à savoir le King A et le King B pour déterminer les espèces *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens* des autres espèces.
- ✓ **Mode opératoire**
  - Etalement de 0.1ml d'échantillon à la surface de la gélose au Cétrimide
  - Après incubation à 37°C pendant 24h, les colonies présumptives d'être *Pseudomonas* (colonie bleu verte, colonie fluorescente sous UV, colonie avec pigment rouge ou brun), ont été ensemencées sur les milieux King A et King B.
- ✓ **Lecture :** Après une incubation à 37°C pendant 5 jours, l'apparition du pigment bleu vert (pyocyanine) sur King A et un pigment vert (pyoverdine) sur King B indique la présence de *Ps. aeruginosa* et la seule présence du pigment vert sur King B indique la présence de *Ps. fluorescens*.
- ✓ La confirmation de l'identification a été faite par le test d'oxydase, coloration de Gram et galerie API 20 E.

### II.5.2 Recherche des Staphylocoques pathogènes

- ✓ **Principe (Bertrand J et al., 2011):** Le milieu Chapman est un milieu classique qui permet d'une part, l'isolement sélectif des staphylocoques sur la base de leur tolérance à de fortes teneurs de NaCl et d'autre part, à la différenciation de la souche *Staphylococcus aureus*, par la mise en évidence de la dégradation du mannitol.
- ✓ **Mode opératoire :** 0.1ml d'échantillon a été étalé à la surface du milieu Chapman avec une incubation à 37°C pendant 24-48 h.
- ✓ **Lecture :** Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent jaune, dû à l'attaque du mannitol. Les autres espèces de staphylocoques donnent des colonies généralement plus petites, rosées et n'entraînent pas de virage de couleur du milieu.
- ✓ La confirmation des espèces a été effectuée par les tests suivants : coloration de Gram, la catalase. La pathogénicité des *Staphylococcus aureus* a été testée par le test de la coagulase.

### II.5.3 Recherche des bactéries lactiques:

- ✓ **Mode opératoire (Idoui et al., 2009) :** 2.5g de l'échantillon est placé dans un tube stérile contenant 2.1 ml d'eau physiologique stérile et incubé à 45°C (6h). La séparation des deux phases est ensuite réalisée par centrifugation pendant 10 minutes à 3500 rpm. A l'aide d'une pipette stérile, 1ml de la phase aqueuse est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile. Ainsi, s'obtient la dilution  $10^{-1}$
- ✓ **Isolement :** Il se fait sur gélose MRS (deMan, Rogosa, Sharpe) préalablement coulée et solidifiée dans des boites de Pétri, L'incubation à 37°C pendant 24 h à 48h en conditions d'anaérobiose
- ✓ **Purification :** Elle consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose MRS, avec une incubation à 37°C pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, même forme et même couleur, renseignant sur la pureté des souches.
- ✓ **Examen microscopique :** L'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, a pour but d'écarter tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique. Les isolats seront soumis à une coloration de Gram. Celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, ainsi leur forme et mode de regroupement.

- ✓ **Test biochimique** : Oxydase et catalase (voir le titre II.6).

#### II.5.4 Recherche des Entérocoques

- ✓ **Principe (Rodier, 1996)** : Conformément à la norme NF T 90-411, le principe se résume à la recherche des entérocoques et Streptocoques du groupe D en milieu liquide. Alors que les tubes primaires contiennent déjà une certaine quantité d'azide de sodium (milieu de Rothe), le repiquage des tubes positifs se fait sur un milieu nettement inhibiteur avec une concentration plus élevée en azide de sodium et de cristaux violets (milieu Litsky), ne laissant se développer que les Streptocoques ou Entérocoques ; on utilise aussi le milieu BEA qui est un milieu sélectif pour les entérocoques comme un test de confirmation et un milieu d'isolement.
- ✓ **Test présomptif** : 1ml d'échantillon a étéensemencé dans le milieu Rothe. L'ensemble des tubes ainsi préparés sont incubés à 37° C pendant 24 à 48 h. Les tubes présentant un trouble bactérien sont considérés comme présomptifs de la présence des entérocoques.
- ✓ **Test confirmatif** : Nous prélevons 2 à 3 gouttes de chaque tube positif présentant un trouble bactérien, que nous repiquons dans des tubes contenant 9 ml de milieu Litsky. Par la suite les tubes sont incubés à 37° C pendant 24h.
- ✓ **Lecture** : Nous considérons comme positifs les tubes dans lesquels il y a apparition d'un trouble bactérien qui confirme la présence des entérocoques ; parfois, la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille violette de signification identique à celle du trouble bactérien.
- ✓ **BEA (Bile Esculine Azide)** : Un ré isolement à partir de Litsky a été effectué sur milieu BEA à 37 °C pendant 24 heures. Des colonies noires montrent l'hydrolyse de l'esculine qui est révélée par les ions de fer.

Des tests de confirmation des entérocoques ont été réalisés selon le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2014).

- ✓ **Coloration de Gram** (voir le titre II.6).
- ✓ **Test de la catalase** (voir le titre II.6): Une réaction négative à l'épreuve de la catalase indique la présence possible d'entérocoques.
- ✓ **Épreuve de croissance en bouillon infusion cœur-cerveille à 45 °C** : À partir du bouillon infusion cœur-cerveille de 24 h, prélever un inoculum de manière aseptique à l'aide d'un fil à boucle. Inoculer 5 ml d'un bouillon infusion cœur-cerveille.

Incuber à 45 °C pour une durée de 48 heures. Une augmentation notable de la turbidité indique qu'il y a croissance et démontre la présence possible d'entérocoques.

✓ **Épreuve de croissance en bouillon infusion cœur-cervelle avec NaCl à 35 °C :**

À partir du bouillon infusion cœur-cervelle de 24 h, prélever un inoculum de manière aseptique à l'aide d'un fil à boucle. Inoculer 5 ml d'un bouillon infusion cœur-cervelle avec NaCl (6.5% p/v). Incuber à 35 °C pour une durée de 48 heures. Une augmentation notable de la turbidité indique qu'il y a croissance et démontre la présence possible d'entérocoques.

✓ **Interprétation des tests de confirmation :** Une colonie est confirmée entérocoque si elle répond aux quatre critères suivants (fig. II.5):

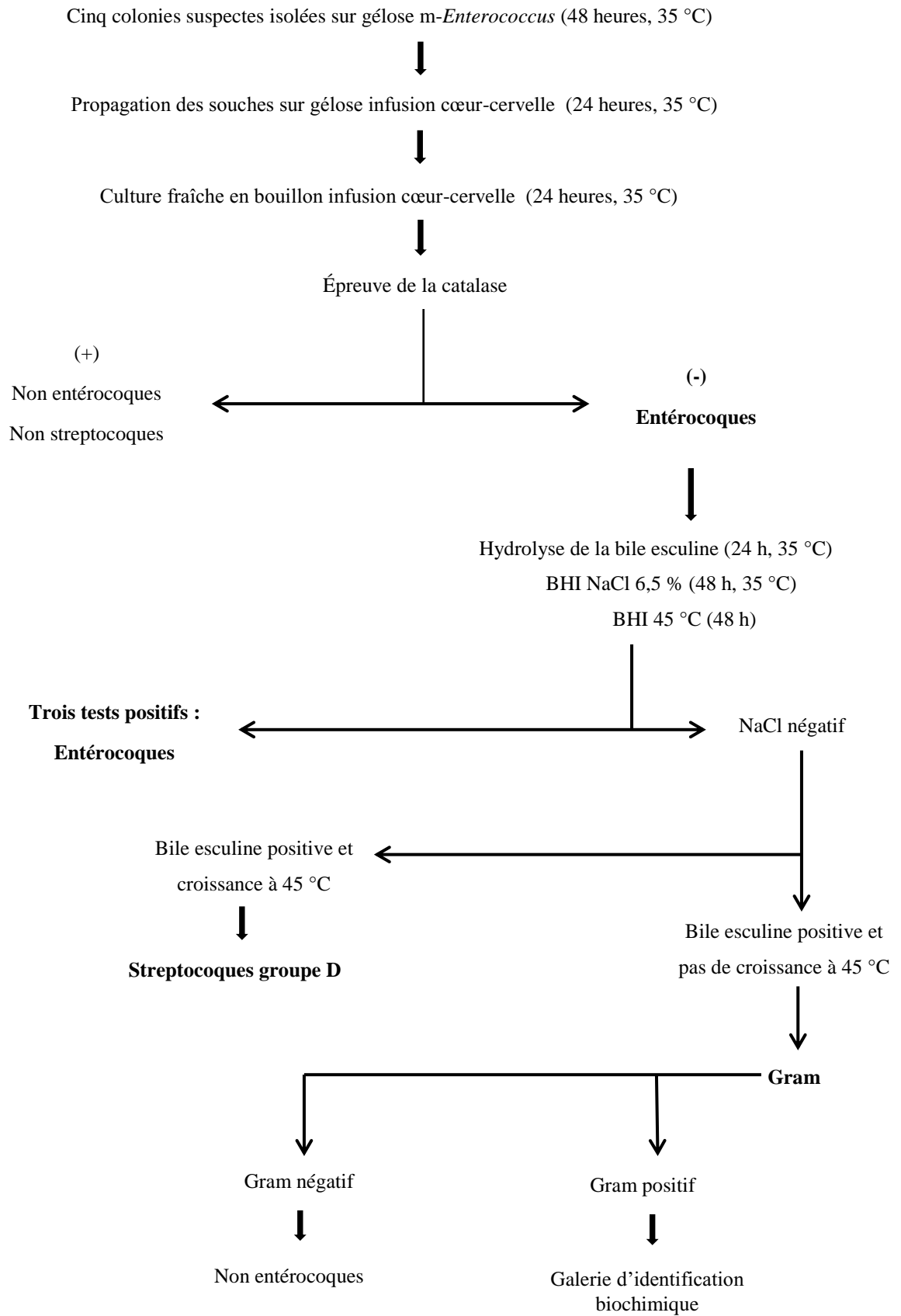
1) Test de la catalase est négative.

2) Test de l'hydrolyse de la bile esculine est positive (preuve de l'appartenance au groupe D de Lancefield).

3) Test de croissance en bouillon infusion cœur-cervelle à 45 °C est positive.

4) Test de croissance en bouillon infusion cœur-cervelle avec NaCl à 35 °C est positive.

Une colonie est confirmée entérocoque si elle répond aux critères (1- 2- 3- 4). Dans le cas où la croissance en présence du NaCl est négative, il s'agit des Streptocoques du groupe D et si les deux tests (NaCl et croissance à 45°C) sont négatifs, une coloration de Gram et une galerie API est indispensable.



**Figure II.5 :** Schéma du protocole de confirmation des colonies d'entérocoques  
(Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2014).

### **II.5.5 Recherche des Vibrio**

La recherche des vibrions se fait en trois étapes (**Rodier, 1996**) :

- ✓ **Pré-enrichissement** : L'essai est réalisé à partir de 10ml d'échantillon diluées dans 150 ml d'eau peptonnée alcaline, puis incubés 24 h à 37 °C.
- ✓ **Enrichissement** : Transférer 1 ml du bouillon de pré enrichissement dans un tube de 10 ml d'eau peptonnée alcaline. Incuber 18 -24 h à 37 °C.
- ✓ **Isolement** : à partir du bouillon d'enrichissement, un isolement sur milieu sélectif :

La gélose thiosulfate, au citrate, à la bille et au saccharose (TCBS) à 37°C pendant 24 h.

L'identification des colonies isolées par la coloration de Gram, le test d'oxydase, et un test de catalase, puis un ensemencement d'une galerie API 20 E.

### **II.5.6 Recherche des Salmonelles**

Selon les recommandations de **JOFFIN et JOFFIN (2010)**, nous avons procédé comme suit :

- ✓ **Pré-enrichissement** : On met 2.5 ml d'échantillon dans 10 fois son volume d'eau peptonnée tamponnée. Incubation à 37 °C pendant 24h.
- ✓ **Enrichissement** : Transférer 1 ml du bouillon de pré enrichissement dans un tube de 10 ml Le bouillon sélénite-cystine (SFB), Incubation à 37°C pendant 24 h.
- ✓ **Ensemencement** : Les cultures sont repiquées sur la gélose sélective (Hecktoen) et l'ensemencement du milieu est effectué par des stries, puis incubé à 37°C / 24 h.

L'identification des colonies suspectes (lactose négatif), commence par une coloration de Gram, un test d'oxydase puis un ensemencement d'une galerie API 20E à 37°C / 24 h.

### **II.5.7 Recherche des entérobactéries et les bactéries lactose positif**

La recherche des entérobactéries et des bactéries lactose positif a été effectuée en milieu liquide (BVBL) et en milieu solide (MacConkey).

#### **II.5.7.1 Recherche sur BVBL**

A partir de 1ml d'échantillon, la recherche du caractère coliforme se base sur la propriété commune des coliformes à fermenter le lactose tout en produisant du gaz dans une période de 24-48h, dans des tubes munis de cloches de Durham. La présence des germes recherchés se traduit par un trouble dans toute la masse liquide et un dégagement de gaz dans les cloches.

### **II.5.7.2 Recherche sur MacConkey**

A partir de nos échantillons, nous avons procédé à l'ensemencement par inondation (1 ml) à l'aide d'une micropipette sur des boîtes de pétri qui contiennent le milieu MacConkey ; puis nous avons réalisé un ré-isolement de quelques colonies. L'incubation se fait à 37°C pendant 24-48 h.

L'identification des bactéries récupérées sur les deux milieux sera confirmée par une coloration de Gram et des tests biochimiques d'oxydase et de catalase et un ensemencement d'une galerie API 20 E

## **II.6 Test d'identification**

### **II.6.1 Coloration de Gram**

- **Principe :** C'est la coloration de base en bactériologie qui permet de distinguer les bactéries selon leur paroi en bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif, cette distinction est fondamentale pour leur identification.

En effet, le violet de gentiane colore le cytoplasme et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi, riche en lipides, laisse passer l'alcool (ou le mélange alcool + acétone) qui décolore le cytoplasme alors que, chez les bactéries à Gram positif, la paroi par sa composition (peptidoglycane épais et présence d'acides teichoïques), constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet.

- **Réactifs :**

Violet de gentiane phénique - Lugol (iodo-iodure de potassium) - Alcool à 95% (ou mélange alcool absolu+ 1/5ème d'acétone) - Safranine (ou Fushine phéniquée de ziehl).

- **Mode opératoire :**

1. Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.
2. Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
3. Fixer le colorant par le Lugol environ 1min.
4. Jeter le Lugol et faire couler de l'alcool sur la préparation, laisser agir 30sec et rincer immédiatement à l'eau.
5. Recouvrir la préparation de fushine, laisser agir environ 1 min. laver abondamment.
6. Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

➤ **Lecture**

A l'issue de cette coloration, on peut distinguer :

- Des bactéries colorées en violet foncé (Gram positif).
- Des bactéries colorées en rose ou rouge pâle (Gram négatif).

### **II.6.2 Test d'oxydase**

Cette réaction est recherchée sur des cultures en milieu gélosé exempt de sucres fermentescibles ou de sang. Les bactéries possédant des oxydases en présence de sucres donnent des métabolites qui se combinent avec le réactif utilisé pour donner une coloration variable selon la bactérie.

La réaction des oxydases se fait à l'aide des disques prêts à l'emploi, imprégnés d'eau distillée sur lequel on dépose une colonie bactérienne.

➤ **Lecture**

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où on a déposé la colonie, soit immédiatement, soit quelques secondes après.

### **II.6.3 Test de catalase**

À partir d'une colonie bien isolée sur le milieu de culture, prélever aseptiquement un faible inoculum à l'aide d'un bâtonnet de bois ou d'un fil à boucle qui n'interfère pas avec une réaction au peroxyde d'hydrogène et l'étendre sur une lame de verre propre. Ajouter 1 ou 2 gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 3 % (V/V). L'apparition d'effervescence est causée par la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène et elle démontre la présence de l'enzyme catalase.

A partir des colonies prélevées avec soin sur la gélose, nous avons réalisé un frottis sur lequel on dépose quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène

➤ **Lecture**

- La présence de catalase se matérialise par une production de bulles.

**II.6.4 Identification par galerie API 20 E :** La galerie est utilisée comme test confirmatif.

➤ **Principe**

Le système API20E (BioMérieux), est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la microgalerie (contenant des substrats déshydratés), les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques.

➤ **Mode opératoire**

A l'aide d'une pipette, on réalise une suspension de la souche à étudier à partir d'une seule colonie isolée sur milieu gélosé et 5 ml d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique, puis on remplit les cupules de la galerie en évitant les bulles d'air (fig.II.9). En ce qui concerne les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Quant aux substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH. Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par-dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48 h.

➤ **Lecture**

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième. Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement huit possibilités pour la somme d'un triplet : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lu de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique du microorganisme étudié. La comparaison de ce code à ceux référencés dans la base de données gérée par **Biomérieux**, permet en général d'identifier ce micro-organisme. Si le code numérique obtenu ne figure pas dans

cette base de données, il peut s'agir d'un profil ou d'un microorganisme non référencé, mais la cause la plus fréquente reste un problème technique : galerie non adapté, inoculum non respecté, paraffine oubliée, réactifs périmés... etc. (Biomérieux, 2006).

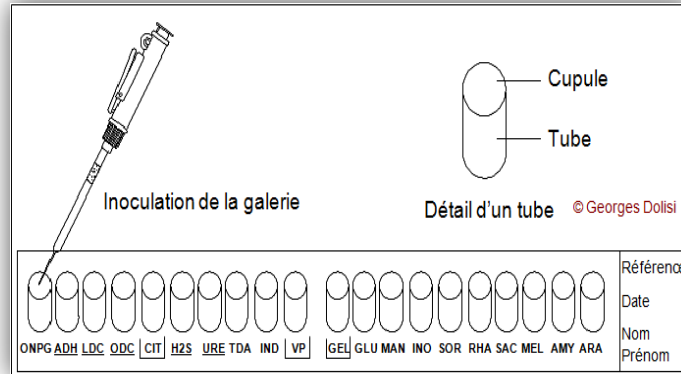


Figure II.6 : Galerie API 20 E (Biomérieux, 2006).

### II.6.5 Test de la coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma de lapin et de la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90° (fig.II.10).

Le test de la coagulase permet l'identification de 99% des souches de *S. aureus* pathogènes mais certaines souches ne produisent pas de coagulase. L'identification de l'espèce est dans ce cas réalisée par d'autres tests.

- Verser 0,5 ml de bouillon cœur-cerveille (qui contient la colonie à tester).
- Verser 0,5 ml de plasma de lapin
- Homogénéiser et incuber à 35 - 37 °C.

Si le plasma coagule en moins de 24h, le germe possède une coagulase.

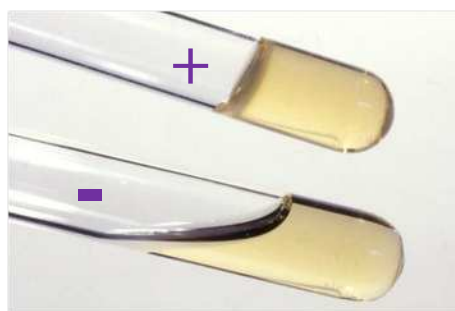


Figure II. 7 : Coagulase positif et négatif.

## **Chapitre III : Résultats.**

### III.1 Eclosion des cystes

Dans cette étude nous nous sommes intéressée à la caractérisation de notre *Artemia* sauvage et la comparé à l'*Artemia* commerciale. Nous avons déterminé le taux et l'efficacité d'éclosion des deux échantillons analysés.

#### III.1.1 Taux d'éclosion

Le taux d'éclosion représente le nombre de nauplii obtenu après éclosion, sans prendre en considération le degré d'impureté de l'échantillon. Les résultats obtenus sont représentés (tab III.1 et III.2).

**Tableau III. 12:** Résultats du taux d'éclosion pour la souche d'*Artemia* de Ouargla.

Echantillon	Cystes non éclos	Embryo	umbrella	Nauplii	Taux d'éclosion H%
1	70	18	39	41	42%
2	103	15	36	64	55%
3	94	3	45	43	47%
4	80	5	61	46	41%
5	85	3	48	39	43%
6	86	1	43	45	50%
Moyenne du Taux d'éclosion (%)					<b>46%</b>

**Tableau III. 13:** Résultats du taux d'éclosion pour la souche d'*Artemia* Commerciale.

Echantillon	Cystes non éclos	Embryo	Umbrella	Nauplii	Taux d'éclosion H%
1	63	4	0	34	89 %
2	87	2	5	10	58 %
3	55	3	4	15	68 %
4	75	3	2	18	78 %
5	79	2	1	10	76 %
6	81	2	3	14	73 %
Moyenne du Taux d'éclosion (%)					<b>73 %</b>

### III.1.2 Efficacité d'éclosion

L'efficacité d'éclosion exprime le nombre des nauplii produit à partir de 1.6 g de cystes sec. Les résultats sont exprimés (tab III.3 et III.4).

**Tableau III. 14:** Résultats de l'efficacité d'éclosion pour la souche d'*Artemia* de Ouargla.

Echantillons	Nauplii	Efficacité d'éclosion (HE) N/g
1	41	82000
2	64	128000
3	43	86000
4	46	92000
5	39	78000
6	45	90000
Moyenne de l'efficacité d'éclosion (HE) (N/g)		<b>92667</b>

**Tableau III. 15:** Résultats de l'efficacité d'éclosion pour la souche d'*Artemia* Commerciale.

Echantillons	Nauplii	Efficacité d'éclosion (HE) (N/g)
1	34	68000
2	10	20000
3	15	30000
4	18	36000
5	10	20000
6	14	28000
Moyenne de l'efficacité d'éclosion (HE) (N/g)		<b>33667</b>

### III.2 Flore bactérienne associée à l'*Artemia*

L'analyse bactériologique a concerné les cystes non éclos, les nauplii et les cystes éclos.

#### III.2.1 Recherche des *Pseudomonas* sur la gélose au Cétrimide

Six souches retenues sur la gélose au cétrimide ont été ensemencées sur King A et King B. Les résultats (tab III.5) ont révélé la présence de (1) *Pseudomonas aeruginosa* et (1) *Pseudomonas fluorescens* dans les cystes non éclos des deux types d'*Artemia*. L'identification par galerie API20E a révélé la présence des souches suivantes : (2) *Non-fermenter spp* dans l'*Artemia* commerciale et (2) *Bordetella sp* dans l'*Artemia* de Ouargla.

Tableau III. 16: Résultats d'identification des souches isolées sur la gélose au Cétrimide.

Souches	Origine	Aspect de la colonie	King A	King B	Oxydase	Catalase	Coloration de Gram	Galerie API20E (code)	Identification
s3	Commerciale (Cystes non éclos)	Colonie crème	+	+	+	+	Bacille Gram -	0202044	<i>Ps.aeruginosa</i>
s18	Commerciale (Cystes éclos)	Colonie transparente	-	-	+	+	Bacille Gram -	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
s16	Commerciale (nauplii)	Colonie transparente	-	-	+	+	Bacille Gram -	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
s19	Ouargla (éclos)	Colonie transparente	-	-	+	+	Bacille Gram -	0200004	<i>Bordetella sp</i>
s4	Ouargla (cystes non éclos)	Colonie crème	-	+	+	+	Bacille Gram -	0200044	<i>Ps.fluorescens</i>
s17	Ouargla (Nauplii)	Colonie transparente	-	-	+	+	Bacille Gram -	0200004	<i>Bordetella sp</i>

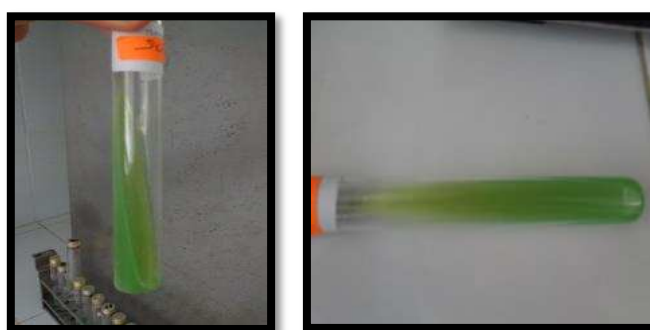


Figure III. 1: illustration de la production des pigments des souches s3 et s4 sur King A et King B.

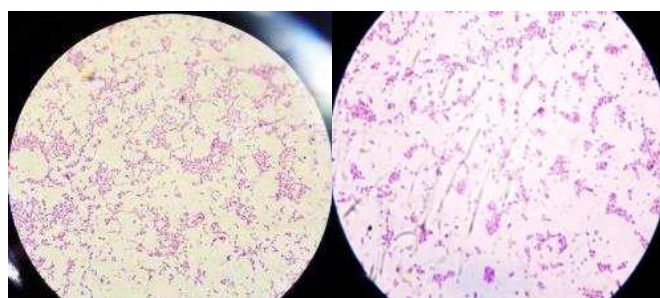


Figure III. 2: illustration des résultats de coloration de Gram pour les souches de Pseudomonas (bacille à Gram négatif).

### III.2.2 Recherche des *Staphylococcus* sur le milieu CHAPMAN

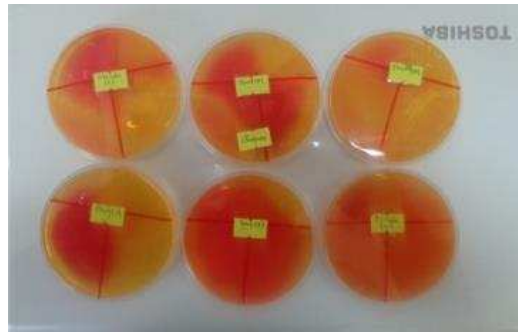
La recherche des Staphylocoques sur milieu Chapman a révélé deux types de colonies : des colonies jaunes dû au virage de la couleur du milieu du rouge vers le jaune à la suite de la fermentation du mannitol c'est le cas de *S. aureus* et des colonies blanchâtres ou rosâtres qui représentent les autres Staphylocoques. Le test de la coagulase pour les souches *S. aureus* oriente vers la pathogénicité de ces souches. Les résultats obtenus (tab III.6, fig III.4) ont révélé la présence de (3) *S.aureus* coagulase négatif et (02) souches probablement *Bacillus spp* et une souche *staphylococcus sp.*

Toutes les souches de *S. aureus* sont coagulase négatives, ce qui suggère que ces souches ne sont pas pathogènes.

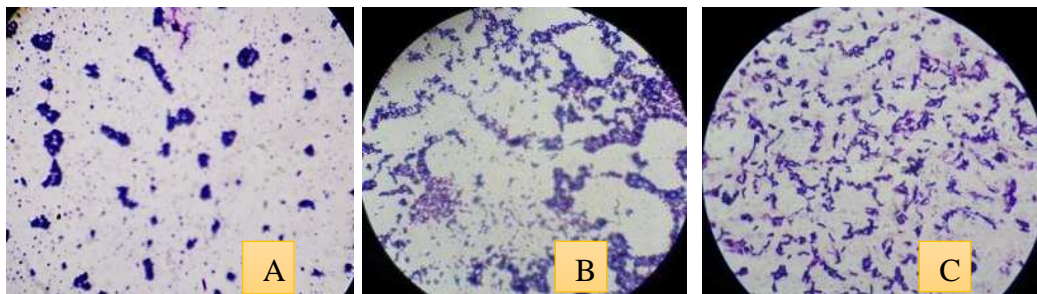
**Tableau III. 17:** Résultats d'identification des souches isolées sur milieu Chapman.

Souches	Origine	Aspect de la colonie	Oxydase	Catalase	Coloration de Gram	Galerie API20E	Test de la coagulase	Identification
s37	Commerciale (Cyste éclos)	Colonie blanche	-	+	Bacille Gram +	NF	NF	Probablement <i>Bacillus sp</i>
s39	Commerciale (Cystes non éclos)	Colonie jaune	+	+	Cocci en amas Gram +	NF	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s38	Commerciale (nauplii)	Colonie rosâtre	-	+	Cocci en amas Gram +	NF	NF	<i>Staphylococcus sp</i>
s34	Ouargla (Cyste éclos)	Colonie jaune	+	+	Cocci Gram +	NF	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s36	Ouargla Cystes non (éclos)	Colonie jaune	+	+	Cocci en amas Gram +	NF	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
s35	Ouargla (nauplii)	Colonie blanche	-	+	diplo-bacille Gram +	NF	NF	Probablement <i>Bacillus sp</i>

NF : test non fait



**Figure III. 3:** Illustration de la fermentation du mannitol sur milieu Chapman après 24 h d'incubation.

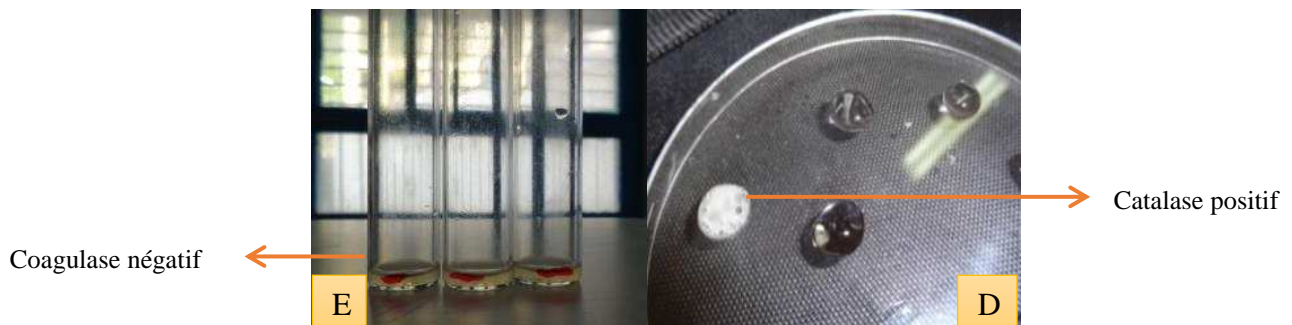


**Figure III. 4:** Coloration de Gram pour des souches isolées sur Chapman. (A, B, C)

A : Colonie Gram positif sous forme d'amas (grappe de raisins).

B : Colonie Gram positif sous forme de coque groupé.

C : Colonie Gram positif sous forme de Bacille groupé.



**Figure III.5:** Test de coagulase (E) pour les souches s34, s36, s39, et test de la catalase (D).

### III.2.3 Recherche des bactéries lactiques sur le milieu MRS

Six colonies pures ont été isolées en anaérobiose sur MRS. La coloration de Gram a révélé que ces souches sont à Gram+ ; Les résultats obtenus (tab III.7, fig III.7) orientent l'identification vers des bactéries lactiques : *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*.

Tableau III. 18: Résultats d'identification des souches isolées sur milieu MRS.

Souches	Origine	Aspect de la colonie	Oxydase	Catalse	Coloration de Gram	Identification
s43	Commerciale (Cystes éclos)	Crème	-	+	Cocci en amas Gram +	NF
s44	Commerciale (Cystes non éclos)	Crème	+	+	Cocci en diplo et tétra Gram +	NF
s45	Commerciale (Nauplii)	Crème	+	+	Cocci an amas Gram +	NF
s40	Ouargla (Cystes éclos)	Crème	-	-	Bacille Gram + groupé	Lactobacillus
s42	Ouargla Cystes (non éclos)	Crème	-	-	Bacille Gram + groupé	Lactobacillus
s41	Ouargla (Nauplii)	Crème	-	-	Bacille Gram + groupé	lactobacillus

NF : test non fait



Figure III. 6: Aspect des colonies sur MRS.

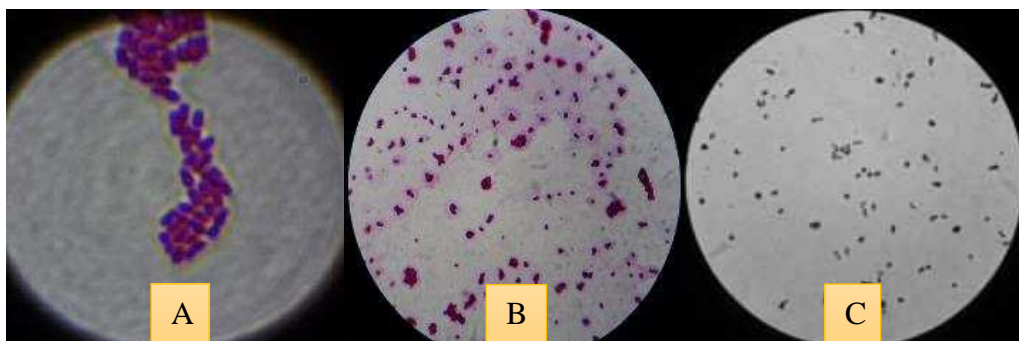


Figure III. 7: Coloration de Gram pour des souches isolées sur MRS.

A : bacille violet ; B : coque violet (en amas) ; C : coque groupés et diplocoques

### III.2.4 Recherche des entérocoques

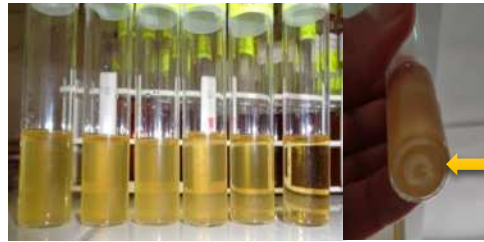
La recherche des entérocoques a été réalisée en plusieurs étapes. Tout d'abord la présomption de la présence de ces bactéries a été recherchée sur milieu Rothe, les tubes positifs ont été confirmés sur Litsky et BEA. L'identification de cinq souches isolées sur BEA a été réalisée par des tests biochimiques. Les résultats montrés dans le tableau III.8 et figure III.9 révèlent l'appartenance de nos souches aux entérocoques et une souche (S48) au streptocoque du groupe sérologique D.

**Tableau III. 19:** Résultats d'identification des souches isolées sur milieu ROTH / BEA.

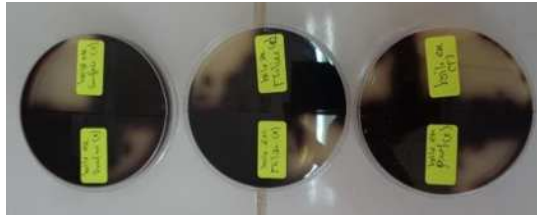
souche	origine	Milieu Rothe	Milieu Litsky	BEA	Gram	catalase	Oxydase	Croissance à 45°C	Croissance en présence du sel	Identification
S48	Commerciale (Cystes éclos)	+	+	+	Cocci en chaîne Gram+	-	-	+	-	Streptocoque du groupe sérologique D
S50	Commerciale (Cystes non éclos)	+	+	+	Cocci en amas Gram+	-	-	+	+	Entérocoque
S49	Commerciale (Nauplii)	+	+	+	Cocci en amas Gram+	-	-	+	+	Entérocoque
S46	Ouargla (Cystes éclos)	+	+	+	Cocci en amas Gram+	-	-	+	+	Entérocoque
S47	Ouargla (Nauplii)	+	+	+	Cocci en amas Gram+	-	-	+	+	Entérocoque



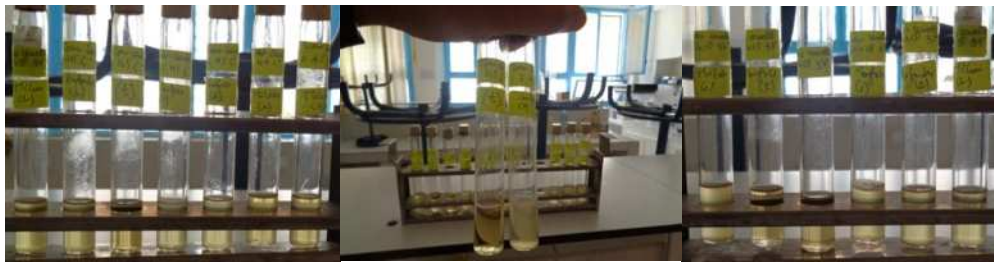
A : Test présomptif avec le milieu Roth



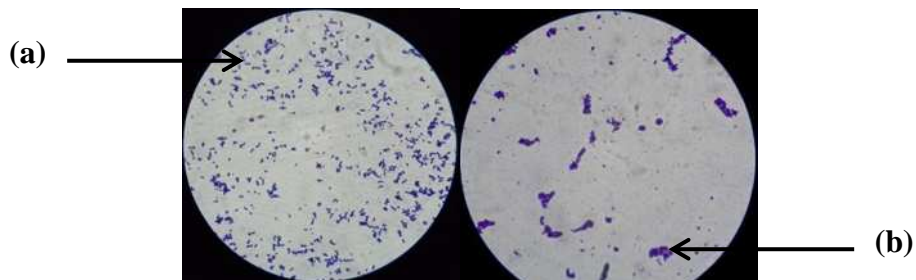
B : Test confirmatif avec le bouillon Eva



C : Dégradation de la Bile esculine



D : Croissance sur Cœur cervelle à 45 °C et Croissance sur Cœur cervelle avec NaCl à 37°C



E : Coloration de Gram / coques en chaînette ou diplocoque (a), coque groupé (b)

**Figure III. 8:** Tests de confirmation des entérocoques.

A- test présomptif sur Rothe, B - confirmatif sur Litsky, C- test sur le BEA, D - test de la croissance à 45°C et en présence de NaCl, E - coloration de Gram

### III.2.5 Recherche des Vibrion sur TCBS

Les *Vibrio* représentent une partie très importante de la flore bactérienne associée à l'artémia et qui peut être pathogène pour les poissons qui la consomment. Dans notre travail, onze souches jaunes et vertes ont été isolées sur TCBS. L'identification de ces souches (tab III.9), nous a permis d'assigner les colonies jaunes à *V. fluvialis* (6), par contre les colonies vertes ont été assignées à (2) non fermenter sp et (1) *Bordetella sp* et (1) *Pantoea spp* et (1) *Klebsiella pneumoniae*.

**Tableau III. 20:** Résultats d'identification des souches isolées sur milieu TCBS.

souches	origine	Aspect sur TCBS	Gram	catalase	Oxydase	Galerie API20E (code)	identification
<b>S29</b>	Commerciale (nauplii)	blanche	Bacille Gram -	-	-	1014122	<i>Pantoea spp 1</i>
<b>S31</b>	Commerciale (éclos)	jaune	Bacille Gram -	-	+	3000125	<i>V.fluvialis</i>
<b>S33</b>	Commerciale (non éclos)	jaune	Bacille Gram -	-	+	3000127	<i>V.fluvialis</i>
<b>S35</b>	Commerciale (non éclos)	jaune	Bacille Gram -	-	+	3000105	<i>V.fluvialis</i>
<b>S1</b>	Ouargla (nauplii)	blanche muqueuse	Bacille Gram -	+	-	3000163	<i>k. pneum</i>
<b>S2</b>	Ouargla (nauplii)	verte	Bacille Gram -	+	+	0200004	<i>Bordetella sp</i>
<b>S26</b>	Ouargla (non éclos)	jaune	Bacille Gram -	-	+	3000127	<i>V.fluvialis</i>
<b>S28</b>	Ouargla (nauplii)	jaune	Bacille Gram -	-	+	3000106	<i>V. fluvialis</i>
<b>S30</b>	Ouargla (cystes éclos)	verte	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
<b>S32</b>	Ouargla (non éclos)	Jaune	Bacille Gram -	-	+	3004007	<i>V.fluvialis</i>
<b>S34</b>	Ouargla (non éclos)	Blanche	Bacille Gram -	+	+	0004004	<i>Non-fermenter spp</i>

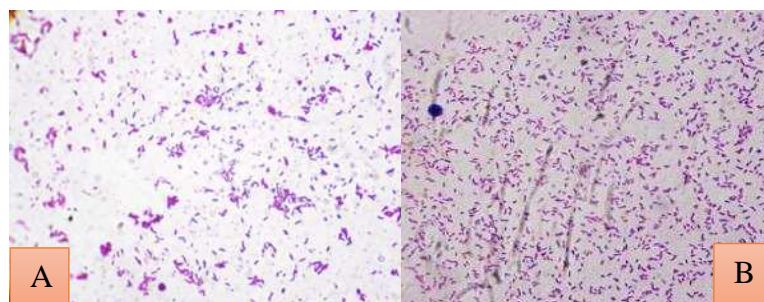


Figure III. 9: illustration d'une Coloration de gram sur TCBS. A : Souche (32), B : Souche (26).

### III.2.6 Recherche des Salmonelles sur la gélose HECKTOEN

La recherche des salmonelles a été effectuée sur gélose Hecktoen après une série d'enrichissement. Les colonies présumptives d'être *Salmonella* ont subi des tests biochimiques et galerie API20E. Sur 08 colonies testées aucune *Salmonella* n'a été détectée par contre nous avons retrouvé (1) *Ps.aeruginosa* et (1) *Bordetella spp* et (6) *non fermentair spp* (tab III.10).

Tableau III. 21: Résultats d'identification des souches isolées sur milieu Hecktoen.

Souches	Origine	Aspect sur Hecktoen	Gram	Catalase	Oxydase	Galerie API20E (code)	Identification
S27	Commerciale (Cystes éclos)	bleu verte	Bacille Gram -	+	+	2202004	<i>Ps.aeruginosa</i>
S6	Commerciale (nauplii)	transparente	Bacille Gram -	+	+	0200004	<i>Bordetella sp</i>
S21	Commerciale (Cystes non éclos)	verte	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
S23	Commerciale (Cystes éclos)	jaune	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
S5	Ouargla (Cystes éclos)	verte	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
S7	Ouargla (nauplii)	verte	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
S20	Ouargla (cystes non éclos)	verte	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>
S22	Ouargla (nauplii)	transparente	Bacille Gram -	+	+	0000004	<i>Non-fermenter spp</i>



**Figure III. 10:**illustration de la Coloration de Gram sur Hecktoen.

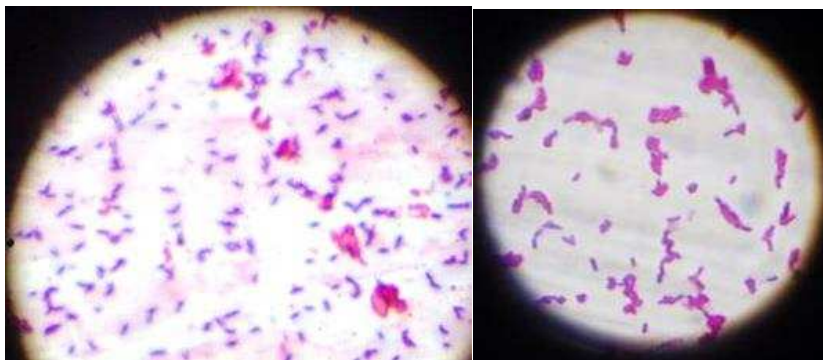
### III.2.7 Recherche des entérobactéries et des lactoses positifs sur BVBL et MacConkey

La recherche des bactéries lactose positif sur BVBL a été négative pour tous les échantillons analysés, ce qui renseigne de l'absence des coliformes dans nos échantillons. Cette recherche a également été réalisée sur MacConkey et (2) souches lactose + et (6) souches lactose – ont été identifiées. Les résultats présents dans le tableau (III.11) révèlent la présence de (4) *vibrio fluvialis*, (1) *Aeromonas hydrophila* (2) *Stenotrophomonas Maltophilia*, (1) *Burkholderia cepacia*.



**Figure III. 11:** Résultats obtenus sur BVBL.

- Une lecture négative sur ce milieu (Pas de gaz sur les cloches de Durham) indique l'absence de coliformes.



**Figure III. 12:**illustration d'une Coloration de Gram sur MacConkey.

Tableau III. 22: Résultats d'identification des souches isolées sur MacConkey.

Souches	Origine	Aspect sur MacConkey	Gram	catalase	Oxydase	Galerie API20E (code)	Identification
S9	Commerciale (Nauplii)	Petite colonie transparente	Bacille Gram -	-	+	2046126	<i>V.fluvialis</i>
S11	Commerciale (Non éclos)	Petite colonie transparente	Bacille Gram -	-	+	0046126	<i>Aer.hydrophila gr.1</i>
S12	Commerciale (Cystes éclos)	Rose	Bacille Gram -	-	-	0202000	<i>Stenotrophomonas. Maltophilia</i>
S13	Commerciale (Cystes éclos)	Grande colonie transparente	Bacille Gram -	+	+	0206126	<i>Burkholderia cepacia</i>
S8	Ouargla (nauplii)	Petite colonie transparente	Bacille Gram -	-	+	2046126	<i>V.fluvialis</i>
S10	Ouargla (Cystes non éclos)	Petite colonie transparente	Bacille Gram -	-	+	2046126	<i>V.fluvialis</i>
S14	Ouargla (Cystes éclos)	Petite colonie transparente	Bacille Gram -	+	+	2046126	<i>V.fluvialis</i>
S15	Ouargla (Cystes éclos)	Rose	Bacille Gram -	+	-	0202000	<i>Stenotrophomonas. Maltophilia</i>

## **Chapitre IV : Discussion.**

## Discussion

Selon la littérature, les cystes d'*Artemia* sont de bonne qualité si le taux d'éclosion dépasse le 80% (**Bruggeman et al., 1980**), les deux échantillons de cyste testé ont révélé que ce dernier paramètre est inférieur à 80% (*Artemia* commerciale : 73%, *Artemia* de Ouargla : 46%), ce qu'il fait qu'ils sont de mauvaise qualité.

- ✚ Le taux d'éclosion de la souche commerciale est plus grand que celui de la souche algérienne de Ouargla, par contre l'usage de ce paramètre présente toutefois un inconvénient, vu que le degré d'impureté des cystes n'est pas pris en considération. A la différence de ce dernier, l'efficacité d'éclosion tient compte de la pureté de l'échantillon de cystes, cette différence nous a permis de dire que la qualité d'éclosion de notre échantillon de Ouargla est plus efficace que celui de l'échantillon commerciale, avec une efficacité respective de 92667 nauplii / g de cystes et 33667 nauplii/g de cystes.
- ✚ Le taux et l'efficacité d'éclosion ont une relation directe avec la période d'échantillonnage, selon **Amarouyache et Kara (2004)** ; les cystes d'*Artemia salina* (Linnaeus 1758) du Chott Marouane, situé dans la Wilaya d'El- Oued échantillonné en mai et en février 2000 ont révélé des meilleurs résultats en mois de mai, avec un pourcentage d'éclosion de  $55 \pm 3,83$  %, une efficacité de 143223 nauplii/g de cystes incubés, par contre les échantillons du mois de février ont été moins efficace, avec un taux d'éclosion de  $24,78 \pm 3,5$ , et d'efficacité d'éclosion de 34040 (**Amarouyache et Kara, 2004**). Notre échantillon a été prélevé le mois de février, ce qu'il permet la comparaison des deux taux et efficacité d'éclosion dans la même saison mais dans deux périodes différente (2016 – 2000). En général, la qualité des cystes algériens récoltés au niveau des rivages de sebkha ou des lacs, est jugée de mauvaise qualité, L'échantillonnage des cystes dans les rivages donne une chance équitable de récolté des nouveaux cystes et des cystes anciens non exploité depuis des temps passés. La mauvaise qualité de nos souches d'*Artemia* est probablement due à un dépôt ancien des cystes sur les rivages car les nouveaux cystes émis par les femelles sont rencontrés à la surface de l'eau (ce sont des cystes de très bonne qualité) mais avec le temps et sous l'effet des conditions météorologiques (courants et vents) qui vont transporter les cystes vers les rivages des lacs, ils seront mélangés avec les débris, le sol ...etc. leur qualité sera probablement dégradée.
- ✚ L'analyse d'une partie de la flore bactérienne associée à l'*Artemia* a révélé la présence de plusieurs genres à savoir les *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*...
- ✚ Le genre *Pseudomonas* est très répandu dans la nature dans de nombreuses niches écologiques (air, sols, eaux, végétaux,), ce qui confirme leur présence à la surface des cystes qui sont considérés comme bactéries prédominantes après les vibrions isolés au sein d'élevage

d'*Artemia* (Verchuere *et al.*, 1999). Dans notre étude nous avons rencontré *P. aeruginosa* et *P. fluorescens*. Ces derniers peuvent être potentiellement nuisibles pour les larves des poissons et l'artémia lui-même. Par contre les travaux qui ont été élaborés, ont montré que les *Pseudomonas stutzeri* associées à des levures, améliorent la croissance, la protection d'*Artemia* contre les bactéries pathogènes telles que *Vibrio alginolyticus*, et la production de la biomasse des cystes (Mahdhi *et al.*, 2011).

- ✚ La présence des *Staphylococcus spp* a déjà été rapportée dans les cystes d'*Artemia* (Torres et Partid, 2001), ce qui suggère que ces bactéries peuvent faire partie de la flore normale de ce crustacé.
- ✚ Par contre les bacilles à Gram positif et catalase positif isolés sur Chapman font partie de la flore normale associée à l'*Artemia* et selon plusieurs auteurs tels que Avella *et al.*, (2010). Nous suspectons la présence de *Bacillus subtilis* ; le plus souvent catalase positive, donnant une réponse variable au test de l'oxydase (Holt *et al.*, 1994) ; Cette bactérie n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire. *B. subtilis* est un excellent modèle pour l'étude de bactéries pathogènes, tels que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, responsables de la maladie du charbon, sa capacité à produire des antibiotiques, comme la bacitracine en fait un organisme d'intérêt également pour l'industrie pharmaceutique. Que l'on trouve habituellement dans le sol, mais c'est surtout une espèce ubiquitaire, les *Bacillus* représentent une grande fraction de la communauté microbienne partageant leur milieu avec des commensaux représentant principalement les genres *Pseudomonas* et *Actinomyces*. Ils présentent une diversité de capacités physiologiques qui leur permet de vivre dans une large variété d'habitats tels que l'eau de mer, les sédiments (Avella *et al.*, 2010). Cette bactérie a été utilisée pour lutter contre les pathogènes des plantes grâce à des enzymes et des antibiotiques qu'elle produit, Elle ne fait pas partie de la flore pathogène pour l'homme mais elle contamine les aliments (dégradation de la matière organique) et une fois ingérée elle peut causer des toxi-infections alimentaires.
- ✚ Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle (Streit *et al.*, 2008).

Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques (Langella *et al.*, 2001 ; Calvez *et al.*, 2009). Les bactéries lactiques regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est la production d'acide lactique. Elles appartiennent à divers genres comme *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*,

*Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Alloicoccus* et *Carnobacterium*. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques. Ces bactéries ont été déjà isolées de l'*Artemia* (Rollo *et al.*, 2006 ; Suzer *et al.*, 2008) et peuvent améliorer la résistance de l'*Artemia* vis-à-vis des germes pathogènes grâce à la sécrétion des antibiotiques.

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* (Khan et Ansari, 2007).

✚ Les entérocoques et les streptocoques du groupe sérologique D font partie de la flore commensale et se retrouvent notamment dans le tractus digestif et génito-urinaire. Ils sont notamment plus résistants dans les milieux extérieurs. Comme pour les colibacilles, ces bactéries sont déjà isolées à partir de l'élevage d'*Artemia*, leur effet sur l'*Artemia* est mal connu.

✚ La présence de *vibrio* associée aux cystes d'*Artemia* selon plusieurs auteurs est évidente comme une partie de la flore normale de ce crustacé. Il existe des études telles que les travaux menés par IFREMER sur la biosécurité en éclosion (rinçage d'*Artemia*) qui montrent la croissance des vibrions d'une façon exponentielle après l'éclosion des cystes (Pham *et al.*, 2008).

Les *Vibrio spp.* ont comme habitat les milieux aquatiques (environnement hydrique) et notamment les eaux des estuaires et les eaux côtières. Ils sont capables de coloniser de nombreux organismes marins : poissons, mollusques, crustacés, éponges, coraux, algues, zooplancton...etc.

✚ Selon Olsen *et al.*, (2000) et Villamil *et al.*, (2003), la bactérie dominante isolée de l'*Artemia* c'est *V.alginolyticus*. Et selon nos résultats nous avons pu isoler *V.fluvialis*

✚ Selon (Gunasekara *et al.*, 2010) *Aeromonas hydrophila* et une bactérie bénéfique pour l'*Artemia* qu'on peut la trouver associée au nauplii, qui est utilisée par ce dernier comme aliment, selon nos résultats nous avons pu isoler *Aeromonas hydrophila* sur MacConkey. Par contre le genre *Aeromonas* est considéré comme pathogène pour le poisson c'est le cas pour *Aeromonas salmonicida* responsable de la furonculose.

✚ Le genre *Salmonelle* est présent dans l'eau et dans diverses denrées alimentaires, Elles sont Pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*Salmonella typhi*), ou exclusivement pour l'animal (*Salmonella abortus ovis*).Elles sont parmi les premières causes connues de toxico-infections alimentaires collectives et constituent un réel problème de santé publique. Elle ne fait pas partie de la flore normale associée à l'*Artemia*, L'absence de *salmonelle* et *E. Coli* indique la propreté des biotopes d'*Artemia* que ce soit commerciale ou de Ouargla ; sachant

que notre zone de récolte est éloignée de la ville et aucune activité sur le chott d'Oum Erned n'a été pratiquée.

- ✚ *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin, et des voies respiratoires des animaux. Chez l'homme, elle est l'agent des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales. *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont répandues dans la nature, Elles sont abondantes dans le sol, les eaux, végétaux et les aliments divers, *Klebsiella ozanae* *Klebsiella rhinoscleromatis* ne sont pratiquement isolées que de l'arbre respiratoire de l'homme. Sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers, Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des animaux en tant que bactéries commensales. *Klebsiella spp* a été déjà isolé de l'*Artemia* comme une bactérie de la flore , elle n'est pas considérée vraiment comme pathogène pour l'*Artemia* mais leur comportement change avec les fluctuations de la salinité (Straub et al., 1993) *K. pneumoniae* est une bactérie qui accélère l'altération du poisson et elle contamine les aliments lors d'une transformation, ce qui provoque des toxi-infections alimentaire pour l'être humain mais leur effet sur l'*Artemia* reste en discussion (Ould Abeid et al., 2015).
- ✚ *Burkholderia cepacia* une souche très intéressante qui a été isolée à partir des cystes d'*Artemia salina* (commerciale) Cette bactérie ubiquitaire peut survivre des semaines voire des mois dans la nature, dans des conditions défavorables : au niveau du sol, dans l'eau des ruisseaux. On la retrouve également dans des aliments variés comme le lait. Les *Burkholderia* sont des bactéries naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques (Govan et al., 1996), *B. cepacia* a été déjà isolé à partir d'élevage de poisson chat (Sarter et al., 2007).
- ✚ *Bordetella sp* sont des parasites obligatoires ne survivant pas longtemps dans le milieu extérieur. Ils ont un tropisme principalement des voies respiratoires et sont retrouvés en tant que saprophytes chez les animaux. Ils sont responsables de la coqueluche chez l'Homme (Ryan et al., 2004).
- ✚ *Stenotrophomonas Maltophilia* c'est une bactérie ubiquiste et est responsable d'infections nosocomiales, principalement chez les immunodéprimés. Par sa fréquence, la bactérie est multi-résistante aux antibiotiques.
- ✚ *Pantoea spp* ce genre comprend des espèces phytopathogène qui peuvent aussi infecter l'homme (Gavini et al., 1989). Leur association avec l'*Artemia* et/ou le poisson n'a pas été signalé mais *Pantoea sp* a été isolé de plusieurs milieux aquatiques ou terrestres associée aux insectes, animaux et aussi à l'être humain (Stavrinides, 2015).

*Pantoea agglomerans*, Cette souche antagoniste colonise les surfaces stigmatiques du poirier et de pommier et se multiplie pour empêcher la multiplication de l'agent pathogène (**Vanneste, 2000**).

✚ *Non fermenter spp* se développent habituellement sur milieu ordinaire et qui sont caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation. Environ 15 % de tous les bacilles Gram négatif se développant en aérobiose, isolés dans les laboratoires de Bactériologie médicale, sont des non fermentaires. (**Richard et keredjian, 1995**).

Ces germes sont pour la plupart des pathogènes opportunistes dont l'habitat naturel est le milieu extérieur (**Gassama et al., 1999**).

**Conclusion.**

## Conclusion.

---

### CONCLUSION

Au totale (50) souches représentant plus d'une dizaine d'espèces ont été isolées à savoir : *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* et d'autres genres : Entérocoque, streptocoque du groupe sérologique D, *Bacillus sp*, *non fermenter sp*, *Pantoea spp1*, *Bordetella spp*, des bactéries lactiques (*Lactobacillus spp*).

Les deux souches d'*Artemia* présente presque la même qualité microbiologique à l'exception des bactéries lactique (bacilles sur l'*Artemia* de Ouargla et coques sur l'*Artemia* commerciale).et aussi *Klebsiella pneum*, *Pantoea spp1* isolées de l'*Artemia* de Ouargla seulement contrairement à *Burkholderia cepacia* qui a été isolé de l'*Artemia* commerciale. Ce qui rend l'interprétation de la relation entre la qualité microbiologique et le taux ou l'efficacité d'éclosion difficile, sa nécessite d'autre étude supplémentaire car d'autres paramètres physico-chimique ont l'influence majeur et direct sur l'éclosion.

D'autres études ont montré que les bactéries qui se développaient pendant l'incubation des cystes ne provenaient pas forcément des préparations commerciaux mais de l'environnement de l'écloserie et le comportement de la flore bactérienne avec le poisson peuvent se changer avec les facteurs environnementaux (**Lopez et al., 2001**).

Les germes pathogènes pour le poisson isolé de l'*Artemia* nécessitent des précautions afin de limiter la propagation des maladies au sein d'élevage et des mesures zootechnique sont obligatoire pour éviter la contamination de notre cheptelle qui engendre des pertes économique et aussi pour éviter les cas de toxi-infection alimentaire liée à la consommation de poisson, crustacé ou autre (atteint une maladie dus aux microorganismes).

Parmis ces mesures sanitaires (prophylaxie) :

- ❖ Le rinçage des cystes d'*Artemia* avant l'incubation à l'eau douce diminue d'une façon importante la charge microbienne qui se trouve à la surface des cystes.
- ❖ La récupération des nauplii immédiatement après l'éclosion et de les transformer dans un notre bassin pour éviter leur contamination par des microorganismes qui se trouvent à la surface des cystes et qui peuvent dégrader la qualité des nauplii et donc ralentisse la croissance des larves de poisson ou peut être provoquent des mortalités lors de l'alimentation.

## Conclusion.

---

- ❖ Beaucoup d'études sur l'utilisation des bactéries probiotiques au sein d'un élevage d'*Artemia* pour inhiber la croissance des germes pathogènes liée à l'éclosion des cystes d'*Artemia*, comme *V.alginolyticus*, contrôlé par l'addition des *Bacillus subtilus* ou autre bactéries, mais ce sujet reste en discussion, car la moindre erreur provoque un déséquilibre de la flore normale et les conséquences restent mal connues.

Enfin, Nous recommandons des études supplémentaires afin de déterminer les espèces de genre bactérie lactique, entérocoque, associé à l'*Artemia* et aussi sur la relation (pathogène ou bénéfique) de certaines bactéries sur l'*Artemia* et les larves de poisson comme : *Stenotrophomonas Maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Pantoea sp* et *non fermenter sp*.

## **Références bibliographiques**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABEID, A et al. (2015).** Etude microbiologique et identification des souches isolés à partir du poisson (*Mugil cephalus*) séché-pilé «Lekhli». *J. Mater. Environ. Sci.* Vol. 6, n° 4, pp. 1142-1146.
- ALIREZA, A. et al. (2012).** Drought in Urmia Lake, the largest natural habitat of brine shrimp *Artemia*. *World aquaculture*. Vol. 43, n°1, pp.36-38.
- AMAROUAYACHE, M. KARA, M. (2010).** Qualité et biomasse exploitable d'*Artemia Salina* (Crustacé, Anostracé) du Chott Marouane (Nord-Est, Algérie). Synthèse : *Revue des Sciences et de la Technologie*. Vol. 21, n°3, pp.29-39.
- AMAT, F. (1985).** Utilizacion de *Artemia* en acuicultura. *Informes Técnicos del Instituto de Investigaciones Pesqueras*. Vol. 128-129, p 1-60.
- AGENCE SPACIALE ALGERIANNE [en ligne] . ASAL.** consulté le [7 fevrier 2017]  
Récupéré sur: <<http://www.asal.dz/Ouargla%20v-0704-2A-2016%20-.php>>.
- AVELLA. et al. (2010).** Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture. *Aquaculture*. Vol. 305, n°1, pp.12-19.
- BIOMERIEUX. (2006).** Système d'identification des Entérobacteraceae et autre bacillus a Gram négative non fastidieux, réf 20100/20160.
- BELAYACHI, D. BELHADJ, A. (2015).** Etude de l'intérêt de *Dunaliella salina* (micro-algue halophile) sur la culture de l'Artémie en Oranie. Thèse de doctorat. Algérie: Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen UABT. 200p.
- BEZZI, F. HOUHECH, A. (2015).** *Eude comparative de la valeur nutritionnelle des cystes d'Artemia salina de la saline Betioua (Oran)*. Master. Hydrobiologie et aquaculture. Khmiss Meliana: Université de Khmiss meliana. 43 p.
- BERTRAND, J-C. et al. (2011).** *Écologie microbienne*. France: PUPPA. 1002 p.
- BRUGGMAN, E. Sorgelosse, P. (1980).** Improvements in the decapsulation technique of *Artemia* cysts. pp.262-269.
- BOWEN. et al. (1985).** Ecological isolation in *Artemia*: population differences in tolerance of anion concentrations. *Journal of crustacean biology*. Vol. 5, n°1, pp.106-129.
- BOWEN. et al. (1988).** *Artemia* habitats: ion concentrations tolerated by one superspecies. *Hydrobiologia*. Vol. 158, n°1, pp.201-214.
- CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (2014).** Recherche et dénombrement des entérocoques : méthode par filtration sur membrane, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 23 p.

- CLEGG, et al. (1980).** A review of the cellular and developmental biology of Artemia. The brine shrimp Artemia. Vol. 2, n°1, pp.11-54.
- DUTRIEU, J. (1960).** Observations biochimiques et physiologiques sur le développement d'Artemia salina Leach. Centre national de la recherche scientifique.
- DHONT, J. VAN-STAPPEN, G. (2003).** Biology, tank production and nutritional value of Artemia. *Live feeds in marine aquaculture*, pp.65-121.
- DUMONT, H. NEGREA, S. (2002).** Introduction to the class Branchiopoda.
- GASSAMA, A. et al. (1999).** Microméthodes d'identification des Entérobactéries. Dakar Médical, pp.69-75
- GAVINI, F. et al. (1989).** Numerical taxonomy of Pseudomonas alcaligenes, P. pseudoalcaligenes, P. mendocina, P. stutzeri, and related bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 39, n°2, pp.135-144.
- GILBERT, B. (1991).** Laboratoire d'écologie Marine station de biologie Marine, université de Montpellier, 34200SETE.14110 Condé-sur-Noireau (France).
- GOVAN, J. et al. (1996).** Burkholderia cepacia: medical, taxonomic and ecological issues. *Journal of Medical Microbiology*. Vol. 45, n°6, pp.395-407.
- GUNASEKARA, et al. (2010).** Evaluation of probiotic effect of Aeromonas hydrophila on the development of the digestive tract of germ-free Artemia franciscana nauplii. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 393, n°1, pp.78-82
- HØJ, et al. (2009).** Localization, abundance and community structure of bacteria associated with Artemia: Effects of nauplii enrichment and antimicrobial treatment. *Aquaculture*. Vol. 293, n°3, pp.278-285.
- HOLT, R. LAWTON, J. (1994).** The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*. Vol. 25, n°1, pp.495-520.
- HADDAG, M. (1991).** Contribution à l'étude d'une souche d'Artémia (Artemia tunisiana) endémique aux eaux de la saline d'Arzew (Algérie). Thèse de Magister en Sciences biologiques. Option aquaculture. Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, Alger.
- IDOUI, T. et al. (2009).** Lactic acid bacteria from " Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*. Vol. 60, n°2, pp.177-183.
- JOFFIN, C. JOFFIN, J.-N.(2010).** Microbiologie alimentaire (éd. 6e éd). france: centre regional de documentation pédagogique d'aquitaine.
- Guiraud, J-P. (2006).** Microbiologie alimentaire, premier édition, isbn 2 10 007259 5.

- KARA, M. et al. (2004).** Quality evaluation of a new strain of *Artemia* from Chott Marouane (Northeast Algeria). *Aquaculture*. Vol. 235, n°1, pp.361-369.
- KHAN, S. ANSARI. (2007).** Fasihuddin Ahmed. Probiotics--the friendly bacteria with market potential in global market. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. Vol. 20, n°1, pp.76-82.
- LÓPEZ, T. LIZÁRRAGA, P. (2001).** Bacteria isolated on TCBS media associated with hatched *Artemia* cysts of commercial brands. *Aquaculture*. Vol. 194, n°1, pp.11-20.
- LAVENS, P. SORGELOOS, P. (2000).** The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*. Vol. 181, n°3, pp.397-403.
- LAI, L. (1991).** Shrimp *Artemia*. Production of Aquatic Animals: Crustaceans, Molluscs, Amphibians, and Reptiles. Vol. 1, n°5, p 67.
- LAVENS, P. Sorgeloos, P. (1996).** Manual on the production and the use of live food in aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, 361 :295.
- LEACH, W. (1819).** Entomostraca, Dictionnaire des sciences naturelles .524p.
- GHOMARI, S-M. (2013).** Localisation et caractérisation de la ressource naturelle *Artemia* dans les milieux salins algériens. (Zones Humides de l'Ouest, de l'Est et Sahariennes). MOSTAGANEM: UNIVERSITE DE MOSTAGANEM ABDELHAMID IBN BADIS.
- MAHDHI, A. et al. (2011).** Inhibitory activity and adhesive ability of potential probiotic *Bacillus* species to confer protection for *Artemia* gnotobiotic culture against pathogenic *Vibrio* spp. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. Vol. 35, n°4, pp.227-233.
- NACEUR H-B. et al. (2008).** Determination of biological characteristics of *Artemia salina* (Crustacea: Anostraca) population from Sabkhet Sijoumi (NE Tunisia). *Transitional Waters Bulletin*. Vol. 2, n°3, pp.65-74.
- OLSEN, A. et al. (2000).** Effects of short term feeding of microalgae on the bacterial flora associated with juvenile *Artemia franciscana*. *Aquaculture*. Vol. 190, n°1, pp.11-25.
- PHAM, D. et al. (2008).** Biosécurité en éclosion: le rinçage des *Artemia*. Fiches biotechniques. France: Ifremer.
- RYAN. et al. (2004).** Medical microbiology. *McGraw Hill*. Vol. 4, 370p.
- RICHARD, C. KEREDJIAN, M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif, Inst. Pasteur, pp.22-26
- RODIER, J (1996).** *L'analyse de l'eau*. 8<sup>ème</sup> édition. Paris : DUNOD. 1383 p.

- RODRÍGUEZ, A. et al. (2006).** Ecological and biological notes on the brine shrimp *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) from Carmen Island, Baja California Sur, México. *Hydrobiologia*. Vol. 560, n°1, pp.417-423.
- RUIZ, O. et al. (2008).** comparative study of the fatty acid profile of *Artemia franciscana* and *A. persimilis* cultured at mesocosm scale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. Vol. 354, n°1, pp.9-16.4
- ROLLO, A. et al. (2006).** Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 32, n°2, pp.167-177.
- SARTER, S. et al. (2007).** Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food control*. Vol. 18, n°11, pp.1391-1396.
- SORGELOOS, P. LAVENS, P. (1986).** Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture.
- SORGELOOS, P. et al. (1977).** Decapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*. Vol. 12, n°4, pp. 311-315.
- SORGELOOS, P. PERSONNE, G. (1979).** The use of *Artemia* cysts in aquaculture: the concept "hatching efficiency" and description of a new method for cyst processing. *Proceedings of the ninth annual meeting world mariculture society*: 715-721.
- STAVRINIDES, J. WALTERSON, A.(2015).** *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS microbiology reviews*. Vol. 39, n°6, pp.968-984.
- STRAUB, D. et al. (1993).** Bacteriological flora of the brine shrimp (*Artemia franciscana*) from a hypersaline pond in San Francisco Bay, California. *Aquaculture*. Vol. 118, n°3-4, pp.309-313.
- SUZER, C. et al. (2008).** *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*. Vol. 280, n°1, pp.140-145
- TREECE. GRANVIL, D. (2000).** *Artemia* production for marine larval fish culture. Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.
- VILLAMIL, L. et al. (2003).** Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture*. Vol. 219, n°1, pp.43-56.
- VERSCHUERE, L. et al. (1999).** Microbial Control of the Culture of *Artemia* Juveniles through Preemptive Colonization by Selected Bacterial Strains. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 65, n°6, pp. 2527-2533.
- VANSTAPPEN, G. (1996).** Use of cysts. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO, pp.107-136.

**VANSTAPPEN, G. (2002).** Zoogeography.in: Abatzopoulos T.J.and al. Artemia: Basic and Applied Biology.171-224.

**VANNESTE, J. Eden-Green, S. (2000).** Migration of *Erwinia amylovora* in host plant tissues. pp 73-83 in: Vanneste J.L. (ed) Fire blight the disease and its causative agent *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford 370p. ISBN 0 85 199 2943.

# Annexes

ANNEXES



**s1: k.pneum ozanae (3000163) Faible discrimination**



**s2: (0200004) Faible discrimination**

Bord./alc./M.spp	%id-38.7 t=1.0
Non fermenter spp	%id-27.7 t=0.96
Ochrobac.anthropi	%id-16.0 t=0.94



**s3: Ps. Fluoresc. (0202044) Bonne identification au genre**

Ps. Fluoresc. /putida	%id-72.5 t=0.77
Ps.aeruginosa	%id-23.1 t=0.7



**s4 : Ps.fluorescens (0200044) Acceptable identification**

Ps.fluorescens./putida

%id=83.2 t=0.84



**s5 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp  
Ochrobac.anthropi  
Bord./alc./M.spp

% id-32.1 T=1.0

%id-25.4 t=1.0

%id-24.4 t=0.99



**s6 : (0200004) Faible discrimination**

Bord./alc./M.spp  
Non fermenter spp  
Ochrobac.anthropi

%id-38.7 t=1.0

%id-27.7 t=0.96

%id-16.0 t=0.94



**s7 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1	T=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4	t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4	t=0.99



**s8 : Possibilité de vibrio fluvialis (2046126) Faible discrimination**

V.fluvialis	%id-83.9	T=0.8
Aer.hydrophila gr.1	%id-45.8	T=0.75



**s9 : vibrio fluvialis (2046126) Faible discrimination**

V.fluvialis	%id-83.9	T=0.8
Aer.hydrophila gr.1	%id-45.8	T=0.75



**s10 : Possibilité de vibrio fluvialis (2046126) Faible discrimination**

V.fluvialis	%id-83.9	T=0.8
Aer.hydrophila gr.1	%id-45.8	T=0.75



**s11 : (0046126) Faible discrimination**

Aer.hydrophila gr.1	%id-50.2	T=0.52
V.fluvialis	%id-43.7	T=0.52
V.alginolyticus	%id-5.8	T=0.31



**s12: Steno.Maltophilia (0202000) Acceptable**

%id=80.4	T=0.86
----------	--------



**s13: Burkholderia cepacia (0206126) Très bonne identification 64.4%**



**s14 : Possibilité de vibrio fluvialis (2046126) Faible discrimination**

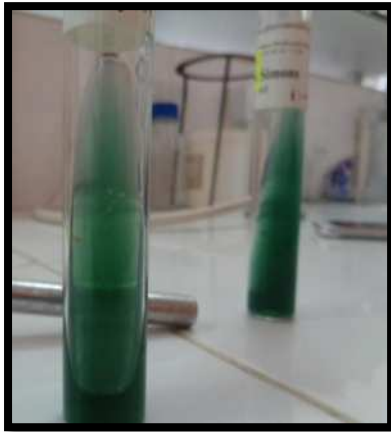
V.fluvialis  
Aer.hydrophila gr.1

%id-83.9    **T=0.8**  
%id-45.8    T=0.75



**s15: Steno.Maltophilia (0202000) Acceptable**

%id=80.4    T=0.86



❖ Confirmation de citrate pour les souches : **s10, s12 et s14** à l'aide d'une gélose inclinée (Citrate de Simons).



**s16 : (0000004) Faible discrimination**

Non-fermenter spp  
Ochrobac.anthropi  
Bord./alc./M.spp

%id-32.1 T=1.0  
%id-25.4 t=1.0  
%id-24.4 t=0.99



**s17 : (0200004) Faible discrimination**

Bord./alc./M.spp  
Non fermenter spp  
Ochrobac.anthropi

%id-38.7 t=1.0  
%id-27.7 t=0.96  
%id-16.0 t=0.94



**s18 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1 T=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4 t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4 t=0.99



**s19 : (0200004) Faible discrimination**

Bord./alc./M.spp	%id-38.7 t=1.0
Non fermenter spp	%id-27.7 t=0.96
Ochrobac.anthropi	%id-16.0 t=0.94



**s20 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1 T=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4 t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4 t=0.99



**s21 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1	T=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4	t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4	t=0.99



**s22 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1	t=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4	t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4	t=0.99



**s23 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1	t=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4	t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4	t=0.99



**s24 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1 t=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4 t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4 t=0.99



**s25 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1 t=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4 t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4 t=0.99



**s26: V. fluvialis (3000127) Bonne identification**

%id=97.0 T= 0.7



**s27: Ps. Aeruginosa (2202004) Faible discrimination**

%id-67.1 t=1.0



**s28: V. fluvialis (3000106) Très bonne identification**

%id-99.8 t=0.67



**s29: (1014122) Faible discrimination**

Pantoea spp 1	%id=80.8 t= 0.65
Y.enterocolitica	%id=13.8 t=0.52



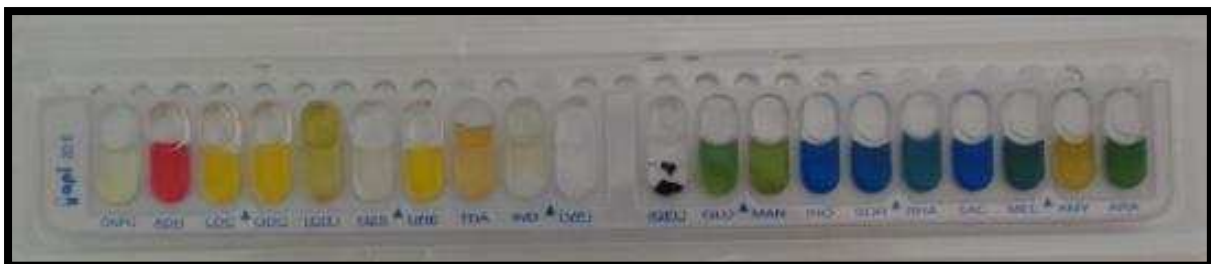
**s30 : (0000004) Faible discrimination**

Non- fermenter spp	% id-32.1	t=1.0
Ochrobac.anthropi	%id-25.4	t=1.0
Bord./alc./M.spp	%id-24.4	t=0.99



**s31: V. fluvialis (3000125) Bonne identification**

%id=96.8 t=0.63



**s32: V. fluvialis (3004007) Très bonne identification**

%id-97.0 t=0.53



**s33: *V. fluvialis* (3000127) Bonne identification**

%id=97.0  
T= 0.7



**s34: Non-fermenter spp (0004004) Faible discrimination**

Non-fermenter spp	%id=31.8	t=0.83
Past.pne/mann.haem.	%id=20.7	t=0.93
Aer.salm.salmonicida	%id=19.4	t=0.88
Burkhol.cepacia	%id= 11.9	t=0.91



**s35: *V. fluvialis* (3000105) Bonne identification**

%id=97.3 t= 0.55

## RESUME

La croissance de la production aquacole augmente la demande mondiale sur les cystes d'*Artemia* sur deux plans économique et scientifiques afin de connaître l'écologie et la biologie de ce petit crustacé et vu que l'Algérie dispose d'un grand nombre de biotopes pouvant abriter la ressource naturelle *Artemia*, vient s'insérer notre étude, qui a comme objectif de voir la qualité microbiologique des cystes d'*Artemia* afin de déterminer une partie de la flore bactérienne associée . Les nauplii d'*Artemia* représentent un maillon trophique indispensable pour nourrir plus de 80% des alevins des poissons et des larves de crustacés. Cette importance est due à la disponibilité. D'autre part, les Nauplii d'*Artemia* sont considérés comme un aliment convenable qui peut être facilement stocké et aisément manipulé et obtenu seulement après 24h d'incubation à partir des cystes. De connaître la qualité microbiologique de ces derniers est très important pour une bonne pratique d'élevage afin d'éviter la contamination de votre poisson et aussi de garder une qualité meilleure des nauplii pour une bonne croissance d'alevins, car les cystes d'*Artemia* sont une source considérable des bactéries qui peuvent être pathogène.

**Mots clés:** aquacole, cystes d'*Artemia*, nauplii, alevins de poisson, incubation, crustacé, qualité microbiologique, bactéries.

## ABSTRACT

Growth in aquaculture production increases world demand for *Artemia* cysts on both economic and scientific grounds in order to know the ecology and biology of this small crustacean and as Algeria has a large number of *Artemia* biotopes natural resource, is our study, whose objective is to see the microbiological quality of *Artemia* cysts in order to determine a part of the associated bacterial flora. The nauplii of *Artemia* represent a vital trophic link to feed more than 80% of fish larvae. The *Artemia* Nauplii can be obtained only after 24 hrs incubation from the cysts. To know the microbiological quality of these is very important for a good practice of breeding to avoid the contamination of your fish and also to keep a better quality of the nauplii for a good growth because the cysts of *Artemia* are a considerable source of bacteria that can be pathogenic.

**Key words:** aquaculture, *Artemia* cysts, nauplii, fish larvae, incubation, crustacean, microbiological quality, bacteria.

## ملخص

إن زيادة الإنتاج في ميدان تربية المائيات أدى إلى زيادة الطلب على بيض الأرتيميا الذي يعتبر أفضل غذاء طبيعي لصغار السمك وذلك بعد تفقيسه والحصول على يرقات الأرتيميا بعد 24 ساعة من التحضين وفي ظروف إصطناعية ملائمة للتفقيص و نضرا لإحتوائها على نسب معتبرة من الأحماض الأمينية و الفيتامينات وسهولة تحضيرها فإنها تعد عنصرا هاما جدا خاصة لمزارع التفريخ , مما أدى بالباحثين و على عدة مستويات سواءا إقتصادية مرتبطة بالتجارة أو علمية مرتبطة بايكولوجيا و بيولوجيا الأرتيميا لمعرفة افضل الطرق و الوسائل للوصول إلى إكتفاء نسبي في استغلال هذه الثروة مع مراعات الجانب الصحي للأسماك تفاديا لإنتقال العدوى جراء البكتيريا الممرضة الموجودة في هذا النوع من القشريات الصغيرة , و قد تشكل أيضا عائقا في نمو صغار السمك و بالتالي زيادة تكلفة الإنتاج مما يؤدي إلى خسائر مادية معتبرة تكون بدورها عائقا أمام المستثمرين في النهوض بهذا المجال (تربية المائيات), ونضرا إلى أن الجزائر تحتوي على عدد كبير من المناطق الرطبة والمسطحات المائية التي تشكل موطن طبيعي للأرتيميا فإن دراستنا تكمن في تحديد جزء من البكتيريا المرتبطة بها ومقارنة النتائج مع أبحاث أخرى مرتبطة بالنوعية المكروبيولوجية لهذه الكائنات لتحديد نمط الإرتباط سواء ضار أو نافع أو منعدم بين البكتيريا والأرتيميا و الأسماك , وتقديم بعض النصائح الوقائية التي قد توصلنا إلى تربية مائيات مستدامة و واعية.

**الكلمات الدالة:** تربية المائيات, بيض الأرتيميا, يرقات, صغار السمك, التحضين, القشريات, النوعية

المكروبيولوجية, البكتيريا