

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLEB - Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la vie**  
**Département de Biotechnologie et agroécologie**

**Mémoire de fin d'étude**

**En vue de L'obtention du Diplôme de Master 2 en Biotechnologie**

**Option : Biotechnologie Microbienne**

**Thème :**

**Inventaire qualitatif de la flore bactérienne associée à**  
**l'activité aquacole**

**Date de soutenance 25/07/2022**

**Réalisé par**

**Mlle BOUGHERARA Aya**

**Mlle LANTRI Djoumana**

**Devant le jury**

<b>Présidente</b>	<b>Mme TOUA D</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Université Blida-1</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>Mme MEKHALDI D</b>	<b>Doctorante</b>	<b>Université Blida-1</b>
<b>Promotrice</b>	<b>Mme MESBAIAH F Z</b>	<b>M.R.B</b>	<b>CNRDPA</b>
<b>Co-promotrice</b>	<b>Mme AMMAD</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Université Blida-1</b>

**Année universitaire**

**2021/2022**

# Remerciements

Dans un premier temps, nous remercions Allah tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble de

Membre de jury :

Nous tenons à gratifier **Mme Toua D** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire

Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme Mekhaldi D** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Notre remerciement s'adresse également à notre promotrice de CNRDPA **Mme Messbaiah Fatma Zohra** et notre Co-promotrice et enseignante **Mme Ammad Faiza** pour leurs encadrements,

leurs orientations, leurs conseils et leurs disponibilités qu'elles ont témoignés pour nous permettre de mener ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à **Mr Hadjaji Nabil** pour nous avoir offert les échantillons et nous avoir accueilli dans son établissement ainsi qu'à tout le personnel de CULTMAR.

Nous remercions beaucoup le chef d'atelier de laboratoire CNRDPA Mme **Chergani Aisha**

pour son bon accueil au niveau de son laboratoire.

Sincère remerciements à **Ayad Meriem**, et **Melzi Hamida** pour leurs efforts au cours de la réalisation de ce travail, ainsi que tout l'équipe de laboratoire pour son aide et son soutien.

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont Participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail, Aux personnes les plus les plus précieuses À moi,  
mes parents **Mama** et **Abbi**.

Ma fierté et ma joie sont de vous avoir comme parents.

C'est à vous que je dédie ce travail. Cela n'aurait pas été accompli sans vos  
sacrifices et tout le soutien et les encouragements que vous m'avez donnés dans  
les moments les plus durs.

À mes sœurs **Hadjer, Kawthar** et mon frère **Ahmed**.

À toutes mes **Tantes** ainsi que mes **Oncles**.

Merci pour tout vous encouragements.

À mes **Cousins** et **Cousines**

À mes meilleurs amis **Yasmine** et **Narimene**.

À ma binôme **Aya**

À mes collègues de la promotion Biotechnologie Microbienne **Hiba, Chaima,**  
**Khaoula** et **Sarah**.

À ma famille de grands jusqu'aux petits...

Merci à vous

*Djoumana*

# Dédicace

-À mes chers parents

Aucune dédicace ne peut exprimer ma gratitude et mon respect à toutes les deux.  
Je vous remercie pour votre soutien moral et matériel, pour vos encouragements  
et vos prières tout au long de mon parcours académique.

Si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à vous après la grâce de Dieu, et j'espère  
que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

-À ma sœur **Douaa** et mon frère **Mohamed**

Je vous souhaite une vie pleine de succès et de chance, que Dieu vous bénisse.

-À toute ma famille, grand et petit

A mes tantes et oncles

Un remerciement spécial pour ma grand-mère **Aicha** qui était toujours là pour  
moi, et aussi à ma tante **Soumia**, ma tante **Fatiha** et mon oncle **Rachid**.

-À ma chère binôme **Djoumana**.

-À mes chères amies

**Bouchra, Nassima, Yousra, Feriele, Hanane, Asma**

je vous aime.

-À ma chère tante **Fatiha** (la maman de Bouchra)

merci pour tout je t'aime.

Merci à tout ceux qui m'ont soutenue et encouragée.

*Aya*

## Résumé

### **Inventaire qualitatif de la flore bactérienne associée à l'activité aquacole**

Le présent travail est un inventaire qualitatif de la flore bactérienne associée à l'élevage de la moule « *Mytilus galloprovincialis* » au niveau de la ferme « CULTMARE » spécialisée dans l'élevage des moules et des huîtres.

Pendant trois mois (Avril, Mai et Juin 2022) des échantillons d'eaux ont été prélevés au niveau de trois stations pour le suivi de la qualité bactériologique et l'identification des bactéries présentes dans les eaux d'élevage.

Les résultats obtenus montrent une variation de degré de contamination en fonction des mois et des stations. L'échantillon le plus contaminé est prélevé au niveau de la filière en mois de Juin ceci coïncide avec le début de la saison estivale. L'origine de la contamination fécale au niveau des eaux de la ferme est mixte à prédominance humaine ce qui signifie que la zone reçoit des rejets non traités.

51 souches bactériennes appartenant à 27 espèces différentes ont été identifiées. *Flavimonas horzabitanis*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Shigella* spp sont les bactéries qui apparaissent durant les trois prélèvements. Nous avons aussi noté la présence de *Vibrio fluvialis* et *Salmonella arizonae*.

**Mots clé** : Aquaculture, germes pathogènes, Moules, eaux d'élevage, Coliformes fécaux, Coliformes totaux, Streptocoques fécaux.

## ملخص

### جرد نوعي للبكتيريا المرتبطة بنشاط تربية الأحياء المائية

العمل الحالي عبارة عن جرد نوعي للبكتيريا المصاحبة لتربية بلح البحر "*Mytilus galloprovincialis*" على مستوى مزرعة "CULTMARE" المتخصصة في تربية بلح البحر والمحار لمدة ثلاثة أشهر (أبريل ومايو ويونيو 2022) تم أخذ عينات من المياه في ثلاث محطات لمراقبة الجودة البكتريولوجية والتعرف على البكتيريا الموجودة في مياه التربية.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر تباين في درجة التلوث حسب الشهر والمحطة. تم أخذ العينة الأكثر تلوثًا على مستوى القطاع في شهر يونيو، ويتزامن هذا مع بداية موسم الصيف. أصل التلوث البرازي في مياه المزرعة مختلط، يغلب عليه الطابع البشري، مما يعني أن المنطقة تتلقى تصريفات غير معالجة.

تم تحديد 51 سلالة بكتيرية تنتمي إلى 27 نوعًا مختلفًا. *Klebsiella pneumoniae* و *Flavimonas horzabitanis* و *Shigella spp*. هي البكتيريا التي تظهر خلال العينات الثلاث. لاحظنا أيضًا وجود *Salmonella* و *Vibrio fluvialis* و *arizonae*.

القولونيات **الكلمات المفتاحية:** تربية الأحياء المائية، الجراثيم المسببة للأمراض، بلح البحر، مياه التربية، مجموعة القولونيات، البرازية، العدديات البرازية.

## Abstract

### Qualitative inventory of the bacterial flora associated with aquaculture activity

The present work is a qualitative inventory of the bacterial flora associated with the breeding of the mussel "*Mytilus galloprovincialis*" at the level of the farm "CULTMARE" specialized in the breeding of its mussels and oysters.

For three months (April, May and June 2022) water samples were taken at three stations to monitor bacteriological quality and identify bacteria present in breeding water.

The results obtained show a variation in the degree of contamination depending on the month and the station. The most contaminated sample is taken at the sector level in June, this coincides with the start of the summer season. The origin of the fecal contamination in the waters of the farm is mixed, predominantly human, which means that the area receives untreated discharges.

51 bacterial strains belonging to 27 different species have been identified. *Flavimonas horyzabitanis*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Shigella spp.* are the bacteria that appear during the three samples. We also noted the presence of *Vibrio fluvialis* and *Salmonella arizonae*.

**Keywords:** Aquaculture, pathogenic germs, mussels, farmed waters, fecal coliforms, total coliforms, fecal streptococci.

## Liste des abréviations

**ADH** : L'arginine dihydrolase

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AMY** : Amygdaline

**API 20E** : (Analytical profil index)

**ARA** : Arabinose

**BEA** : Gélose Bile-Esculine-Azide

**CF** : Coliformes fécaux

**CIT** : Citrate

**CT** : Coliformes totaux

**DAEC** : Les E. coli à adhésion diffuse

**DO** : Déclaration obligatoire

**EAEC** : Les E. coli entéro-agrégatives

**EHEC** : Les E. coli entéro-hémorragiques

**EIEC** : Les E. coli entéro-invasives

**EPA** : Eau peptonée alcaline

**EPEC** : Les E. coli entéro-pathogènes

**ETEC** : Les E. coli entéro-toxigéniques

**EU** : Etats Unis

**GEL** : Gélatine

**GLU** : Glucose

**GN** : Gélose nutritive

**GNAB** : Gélose nutritive alcalin bilié

**H<sub>2</sub>S** : Hydrogène sulfide

**IND** : Indole



**INO** : Inositol

**LDC** : Lysine-décarboxylase

**LPS**: Lipopolysaccharide

**MAN**: Mannitol

**MEL**: Mélibios

**NH** : Ammoniac

**ODC** : L'ornithine-écarboxylase

**OMS** : L'Organisation mondiale de la santé

**OPNG** : Ortho-nitrophenyl- $\beta$ -galactoside

**PH** : Potentiel hydrogène

**RHA** : Rhamnose

**SAC** : Saccharose

**SF** : Streptocoque fécaux

**SFB D/C** : Bouillon sélénite cystine double concentrations

**SFB S/C** : Bouillon sélénite cystine simple concentrations

**SOR**: Sorbitol

**STC**: Shiga-toxines

**STms**: *Salmonella Typhimurium*

**Stx**: gène Shiga-toxines

**TCBS**: thiosulfate citrate\_ bile Salt sucrose agar

**TDA** : Tryptophan deaminase

**TDH** : Thermostable

**TIAC** : Maladies à déclaration obligatoires

**TRH** : L'hémolysine liée à la TDH

**UE** : l'Union européenne

**UFC** : Unité Formant Colonie

**URE** : Urée

**VP** : Vogages-proskauer

## Listes des figures

<b>Figure1</b> : Anatomie d'une moule <i>Mytilus</i> sp (Bachelot, 2010) .....	4
<b>Figure2</b> : Mécanisme de filtration chez la moule. (Source : <a href="http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca">http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca</a> ).....	5
<b>Figure 3</b> : Localisation géographique du site « CULTMARE » et l'emplacement des filières.....	22
<b>Figure 4</b> : Rampe de filtration (Photo original).....	23
<b>Figure 5</b> : Variation des coliformes Ct, Cf et Sf à travers les trois prélèvements dans le bassin des moules.....	29
<b>Figure 6</b> : Variations des Ct, Cf et Sf à travers les trois prélèvements dans le bassin des huitres.....	31
<b>Figure7</b> : Variations des Ct, Cf et Sf dans les trois prélèvements dans la filière .....	32
<b>Figure 8</b> : Variation moyenne des Ct, Cf et sf au niveau des stations.....	33
<b>Figure 9</b> : Profile biochimique de la bactérie <i>V. fluvialis</i> .....	35
<b>Figure 10</b> : Profile biochimique de la bactérie <i>S. arizonae</i> .....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Maladies associées avec le genre <i>Vibrio</i> .....	14
<b>Tableau II</b> : Maladies associées au genre <i>salmonelles</i> .....	17
<b>Tableau III</b> : Indice CF/SF déterminant l'origine de la pollution par stations...	34
<b>Tableau IV</b> : Les souches identifiées chez les moules et dans l'eau d'élevage de la ferme d'élevage des moules et huitres CULTMARE .....	36
<b>Tableau V</b> : Fréquence d'apparition des germes dans le 1 <sup>er</sup> prélèvement...	39
<b>Tableau VI</b> : Fréquence d'apparition des germes dans le 2 <sup>ème</sup> prélèvement.	40
<b>Tableau VII</b> : Fréquences d'apparition des germes dans le 3 <sup>ème</sup> prélèvement... ..	41

# SOMMAIRE

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION ..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

**I.1 : Conchyliculture et moules**

I.1.1. La conchyliculture .....3

I.1.2. Les moules .....3

I.1.2.1. Anatomies des moules .....3

I.1.2.2. La filtration .....4

I.1.2.3. Mécanisme de filtration .....5

**I.2 : Contrôle microbiologiques**

I.2.1. Les indicateurs microbiologiques de la contamination fécale ..... 6

I.2.1.1. Les Coliformes totaux... ..... 6

I.2.1.2. Les Coliformes fécaux... ..... 7

I.2.1.3. Les *Escherichia Coli* .....7

I. 2.1.4. Les entérocoques intestinaux ..... 8

I.2.2. Les bactéries pathogènes .....8

## SOMMAIRE

I.2.2.1. Bactéries pathogènes au péril fécal.....	9
I.2.2.1.1. Les Salmonelles.....	9
I.2.2.1.2. <i>Escherichia Coli</i> pathogènes... ..	10
I.2.2.1.3. <i>Shigella</i> .....	10
I.2.2.1.4. <i>Campylobacter</i> .....	11
I.2.2.2. Autres bactéries pathogènes.....	12
I.2.2.2.1. Les vibrions... ..	12
I.2.2.2.2. <i>Listeria</i> .....	12
I.2.3. Impact des bactéries pathogènes sur la santé humain .....	14
I.2.3.1. Le genre <i>Vibrio</i> .....	14
I.2.3.2. Le genre <i>salmonelle</i> .....	17
I.2.3.3. <i>Escherichia coli</i> pathogène.....	18
I.2.4. Impact des bactéries pathogène sur la santé la santé des moules... ..	19
I.2.4.1. Impact du genre <i>Vibrio</i> .....	20

## Chapitre II : Synthèse expérimentale

### II.1 : Matériel et méthode

II.1.1. Présentation de la zone d'étude .....	21
II.1.2. Description de site de prélèvement.....	21
II.1.3. Echantillonnage et prélèvement.....	22
II.1.4. Analyses microbiologiques d'eau .....	23
II.1.5. Analyses microbiologiques de l'aliment... ..	26
II.1.6. Identification biochimique par galeries API 20E.....	27

### II.2 : Résultats et discussions

II.2.1. Analyse bactériologique de l'eau d'élevage .....	29
II.2.1.1. Bassin moules.....	29
II.2.1.2. Bassin huitres .....	30
II.2.1.3. Filière .....	32
II.2.2. Comparaison entre les trois sites de prélèvement.....	33
II.2.3. Origine de la contamination fécale.....	34
II.2.4. Identification des bactéries dans l'eau .....	34
II.2.5. Identification des bactéries dans l'aliment et l'eau .....	35
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>43</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>44</b>
<b>ANNEXES</b>	

## INTRODUCTION

L'aquaculture est devenue le secteur de production alimentaire à la croissance la plus rapide, et s'est développée en tant que composante importante de la sécurité alimentaire. **(Panigrahi et Azad.,2007)**

Parmi les pratiques de l'aquaculture, la conchyliculture, qui regroupe les activités d'élevage des huîtres, des moules, des coques et des palourdes. **(Le Bihan et Pardo.,2012)**

Les mollusques bivalves sont consommés crus ou peu cuits. Il en résulte que ce sont des aliments à risque du point de vue des toxi-infections alimentaires. **(China, DE Schaetzen, Daube.,2003)**

Les moules sont largement considérées comme de bons indicateurs de la contamination du milieu marin dans lequel elles vivent, puisqu'elles possèdent la propriété d'accumuler les contaminants présents dans ce milieu jusqu'à atteindre un équilibre avec lui. Ce phénomène de bioaccumulation est à l'origine d'un facteur de concentration entre le milieu et l'organisme pouvant être très élevé. Le facteur d'accumulation est donc ici d'environ 13000 leurs volumes. La moule qui filtre en continu l'eau de mer pour se nourrir et respirer concentre des quantités énormes des algues, phytoplancton bien des microorganismes, si l'eau est polluée, par contre, elle "relargue" ces éléments si elle se trouve dans une eau propre. Cette biologie particulière désigne cet organisme comme un témoin irréfutable de la pollution marine locale au même titre que certains organismes planctoniques de mers **(Taleb et al.,2007)**.

L'appréciation de la contamination microbiologique des zones de production conchylicole est basée sur la recherche de l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli*. Cependant, cet indicateur ne permet pas d'identifier l'origine des contaminations, animale ou humaine, dont la connaissance permettrait d'apporter des éléments importants pour évaluer le risque pour la santé humaine. **(Ifemer.,2012)**

Pour ces raisons nous sommes intéressés à l'évaluation la qualité bactériologique des eaux au niveau d'une ferme conchylicole « CULTMARE » notre objectif est d'évaluer



le degré de la contamination des eaux au niveau de différentes stations et de faire un inventaire des bactéries liées à la conchyliculture pour voir si ces bactéries présentent un risque pour l'élevage lui-même ou pour le consommateur des moules.

Ce mémoire « Inventaire qualitatif de flore bactérienne associée à l'activité aquacole » est structuré selon le plan suivant :

-Le premier chapitre est une synthèse bibliographique où nous exposons des données relatives à la conchyliculture, les moules et les bactéries dans le milieu aquatique ainsi que leur impact sur les biotes et la santé publique.

-Le deuxième chapitre est réservé à la présentation de la méthodologie adoptée pour la réalisation du travail.

-Le troisième chapitre est consacré à l'exposition des résultats obtenus ainsi que quelques discussions par rapport aux travaux similaires.

-Enfin, une conclusion générale met en valeur l'ensemble des résultats obtenus plus quelques perspectives.

# Chapitre I : Synthèse Bibliographique

## I.1 : Conchyliculture et moules

### I.1.1. La conchyliculture

La conchyliculture, une forme d'aquaculture, qui englobe toutes les formes d'élevage de mollusques conchifères (huîtres, moules, coques et palourdes), est une stratégie de production qui implique l'utilisation de zones marines pour l'installation de structures d'élevage ou pour la réalisation d'ensemencements. **(LE BIHAN et PARDO., 2012 ; Sahlin et al.,2010)**. Elle recouvre principalement :

- l'ostréiculture (élevage des huîtres) ;
- la mytiliculture (élevage des moules) ;
- la vénériculture (élevage des palourdes) ;
- la cérastoculture (élevage des coques) ;
- la pectiniculture (élevage des coquilles Saint-Jacques et autres pectinidés) ;
- l'halioticulture (élevage des ormeaux). **(Sahlin et al.,2010)**

### I.1.2. Les moules

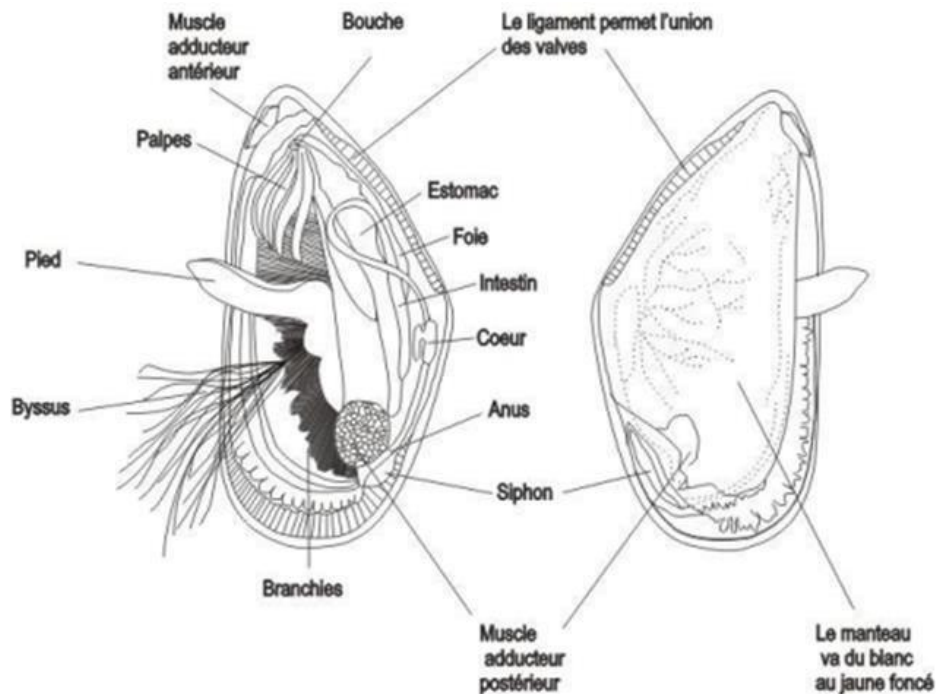
Les moules sont des animaux marins, plus précisément des mollusques, appartenant à la classe des bivalves ou les lamellibranches, à l'ordre Filibranches à la famille *Mytilidés*, du genre *Mytilus*. **(Meriouma et Taleb.,2017)**

#### I.1.2.1. Anatomie des moules

Les moules sont constituées de deux valves coquillières – de tailles similaires et s'articulent entre elles par reliées par un ligament externe au niveau d'une charnière sans dent et maintenues par deux muscles adducteurs antérieur et postérieur assurant l'ouverture et la fermeture des deux valves. Le corps de la moule est entouré du manteau et les organes internes de l'animal (estomac, foie, reins, gonade, cœur, bouche) composé de deux lobes de tissus tapissés de cellules nerveuses. Soudés dorsalement sauf au niveau du siphon exhalant, et son rôle principal est d'assurer la formation de la coquille. Le pied est une saillie musculaire, contient la glande byssogène, peut sortir par l'entrebâillement de la coquille et utiliser pour se déplacer. Le byssus, de nature protéique, est constitué de nombreux filaments très résistant que l'animal peut rompre les uns après les autres pour se déplacer. Les branchies, organes de la respiration, à

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

filaments séparés sont au nombre de deux qui créent également un courant d'eau qui les traverse et ressort par le siphon exhalant assurant la survie de la moule. **(Ben Younes et al.,2014 ; Ben Chiekh.,2017)**



**Figure1** : Anatomie d'une moule *Mytilus* sp (Bachelot, 2010).

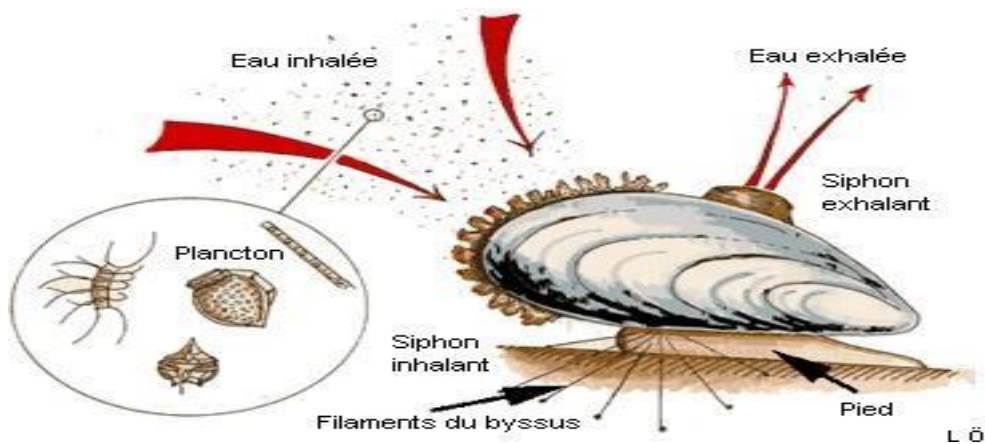
### I.1.2.2. La filtration

Les mollusques bivalves sont des organismes filtreurs, donc ils accumulent et concentrent les contaminants avec des concentrations supérieures à celles de l'eau ambiante. Par le mécanisme physiologique complexe de filtration et leurs capacités de filtrer jusqu'à 100l d'eau par jours, la moule capte et concentre les particules présentes dans son environnement et qui sont de tailles variable entre 2 à 200  $\mu\text{m}$ . Un mouvement circulaire assure le tri des particules, puis leur transport jusqu'à la bouche de l'animale. Ces particules sont ensuite ingérées et digérées via le tractus digestif et éliminées par le phénomène de digestion et/ ou défécation ; les micro-organismes peuvent être éliminés de la même façon. Parmi les particules filtrées par les moules, sont les phytoplanctons, algues, microscopiques, bactéries et virus potentiellement pathogènes pour l'homme et peuvent conduire à l'apparition des TIAC (Maladies à déclaration obligatoires) lors de leurs consommations. Des études ont montrées que les bactéries, telles que les salmonelles se concentraient préférentiellement au niveau de tube digestif des moules

puis se retrouvaient dans les cellules des tissus conjonctifs profonds. **(Ben Younes et al.,2014 ; Ben Chiekh.,2017)**

### I.1.2.3. Mécanisme de filtration

L'eau de mer chargée en particules et en oxygène dissous est pompée par le siphon inhalant, ensuite propulsée hors de la cavité palléale par le siphon exhalant. Les nombreux cils vibratiles des branchies sont responsables de l'entretien du courant d'eau mais assurent également un courant permanent de mucus amenant la nourriture vers les palpes labiaux et ensuite vers la bouche. Ainsi, les fines particules, essentiellement des algues microscopiques, sont ingérées et digérées par le système digestif et les plus grosses particules sont rejetées. **(Ben Chiekh.,2017)**



**Figure2** : Mécanisme de filtration chez la moule.

(Source : <http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca>)

### I.2 : Contrôle microbiologiques

#### I.2.1. Les indicateurs microbiologiques de la contamination fécale

A partir des années 1970, une réglementation a été mise en place pour évaluer les risques sanitaires liés à la présence de ces microorganismes dans les eaux et les coquillages. Ces réglementations sont basées sur la notion d'indicateurs de contamination fécale. *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux, retenus comme indicateurs, sont ainsi recherchés dans les eaux de baignade et les coquillages afin d'évaluer leur qualité microbiologique. **(BALIER.,2016)**

##### I.2.1.1. Les Coliformes totaux

Le terme coliformes ou coli-aérogènes, a d'abord été utilisé à la fin des années 1800' par des bactériologistes britanniques pour décrire les bactéries dans l'eau contaminée par des matières fécales.

Les scientifiques américains ont par la suite défini les coliformes comme « des bactéries à Gram négatif fermentant le lactose utilisées pour la détection de la pollution de l'eau ».

En 1996, l'OMS a défini le groupe coliforme à « Gram négatif, en forme de bâtonnet ». Les coliformes totaux est un groupe des bactéries vaste et varié, ce sont des Gram négatives, en forme de bâtonnets, anaérobies facultatives, oxydase négative, non sporulées, fermentent le lactose (et le mannitol), produisent des gaz et de l'acide aldéhyde en 48h dans une température de 35°C à 37° C. Capable de se croître en présence des sels biliaires ou d'autres agents tensioactifs de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires. **(Tillgren.,2019)**

Les tests microbiens traditionnels pour les coliformes peuvent former et afficher une activité D-galactosidase. **(Leclerc et al., 2001 ; Tillgren.,2019)**

Les principaux genres bactériens inclus dans le groupe sont : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*. **(CEAEQ., 2017).**

Les membres les plus anciens du groupe traditionnel des coliformes sont : *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella rhinocleromatis*, *Bacterium coli* (plus tard appelé *Escherichia coli*), *Bacterium lactic aerogenes* (plus tard *Enterobacter aerigenes*), *Bacillus*

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

*cloacae* (plus tard *Enterobacter cloacae*) et *Bacterium freundii* (plus tard *Citrobacter freundii*) (Tillgren.,2019)

La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas un risque direct pour la santé, sauf que certaines souches d'*Escherichia coli* et quelques bactéries pathogènes opportunistes. (Edberg et al.,2000 ; WHO., 2011).

### I.2.1.2. Les coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ou thermotolérants, est un sous-groupe de coliformes totaux avec les mêmes caractéristiques, seulement ils sont capables de se développées à des températures entre 44°C et 45°C. L'espèce la plus fréquente dans ce groupe bactérien est *Escherichia coli* et dans une moindre mesure, certains genres : *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. (Khichane & Khouas.,2019 ; CEAEQ.,2017)

Il est plus tôt convenable d'utilisé le terme générique « coliformes thermotolérants » bien que celui de « coliforme fécaux », en raison que plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, mais provient des eaux enrichies en matières organiques, tel que les effluents industriels de secteur de pâte et papier ou de la transformation alimentaire. (CEAEQ.,2003).

### I.2.1.3. Les *Escherichia Coli*

Découverte pour la première fois en 1885 par Théodor Escherich. L'espèce *Escherichia coli* appartient à la classe de *Gammaproteobacteria*, ordre *Enterobacteriales* de la famille *Enterobacteriaceae* le genre *Escherichia*. (Ségolene.,2016)

Ce sont des bacilles droits a Gram négative, parfois mobiles, non sporulait, aéro-anaerobies facultatives, non halophiles, oxydase négative et catalase positive.

Cette bactérie peuvent être dans le tractus intestinal de l'humain et d'autres organismes endothermiques. Poussent facilement sur milieux ordinaires, lactoses ou sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac-Conkey. (CTCB.,2015 ; Miotto et al.,2018).

Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermo-tolérants ou coliformes fécaux (capables de fermenter le lactose à 44,5°C) qui constituent un sous-groupe des coliformes totaux.

### I.2.1.4. Les entérocoques intestinaux

Dans les années 2000, les études épidémiologiques ont rapporté que les concentrations des entérocoques mesurées dans les eaux marines récréatives polluées par les eaux usées était fortement corrélées au nombre des nageurs souffrants de maladies gastro intestinales. De ce fait, les Etats Unis (EU), l'Union européenne (UE), l'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommandent l'adoption des entérocoques comme indicateurs de la contamination fécale dans les eaux récréatives a l'échelles mondiale. **(Dos Santos et al.,2020)**

Les entérocoques sont des bactéries commensales intestinaux humain et animaux. Anciennement classé comme streptocoques du groupe D en vue de leurs similitudes avec ces derniers. **(Weisser et Widmer.,2012)**

Ce sont des Gram positive, qui se présentent sous forme de diplocoques en chainettes. Ils sont anaérobies facultatives ; immobiles et dépourvue de capsule. Les *Enterococcus* sont des micro-organismes mésophiles qui se développent dans une gamme de températures allant de 10 à 45 °C, avec une température optimale de 35 °C. Certaines espèces peuvent survivre à 60 °C pendant 30 min. Ils poussent dans des conditions hostiles de salinité élevé et dans une gamme de pH comprise entre 4,4 et 9,6 **(Galvez et al.,2012)**

Cette famille englobe une trentaine d'espèces. Les deux espèces avec une importance clinique sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* **(Stuki et al.,2014)**

### I.2.2. Les bactéries pathogènes

Les sources des bactéries pathogènes pour l'homme sont différentes : Il s'agit, d'une part, des bactéries excrétés dans les fèces de l'homme et des animaux rejetés en mer par la voie hydrique, provenant directement de l'homme (rejets domestiques), des activités industrielles (rejets industriels) ou agricoles (épandage d'effluents d'élevages) et, d'autre part, de bactérie présents naturellement dans le milieu marin (vibrions). **(Vaillents et al., 2012)**

### I.2.2.1. Bactéries pathogènes liées au péril fécal

Les bactéries pathogènes liées au péril fécal sont essentiellement des entérobactéries (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*). (Ferreaubineau.,2008)

#### I.2.2.1.1. Les Salmonelles

Découverte en 1884, pour la première fois par le bactériologiste Américain DE Salmon.

Les *salmonella* appartiennent à l'embranchement *Proteobacteria*, de la classe des *Gammaproteobacteria*, de l'ordre des *Enterobacteriales*, la famille des *Enterobacteriaceae*. (Loredana.G P,2021)

De nos jours, le genre *Salmonella* comprend deux espèces reconnues par l'organisation mondiale de la santé, *Salmonella bongori* et *Salmonella enterica* qui comporte les sous espèces : *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diorizonae*, *houtenae*, *indica*. (Agasan., et al 2002 ; Popa, Popa.,2021)

Ce sont des Gram négatif, Bâtonnets droits de 0,7–1,5 × 2,0–5,0 µm, généralement mobiles (flagelles péritriches). Aéro-anaerobies facultative, oxydase négative, catalase positive. Les nitrates sont réduits en nitrites. Le gaz est généralement produit à partir de D - glucose. Le sulfure d'hydrogène est généralement produit sur une gélose de fer à trois sucres. Indole négatif. Le citrate est généralement utilisé comme seule source de carbone. Uréase négative. Le saccharose, la salicine, l'inositol et l'amygdaline ne sont généralement pas fermentés. Le pourcentage molaire de G + C de l'ADN est de : 50–53. (Marcadet, et al.,2017)

Le principal réservoir de *Salmonella* est le tube digestif des humains et des animaux. Cependant, la présence des salmonelles dans autre habitats (eau, nourriture, environnement naturelle) s'explique par le présence d'une contamination fécale. (Wray. C et. Wray A., 2000 ; Marcadet, et al.,2017).

Elle est pathogène pour l'homme, peut également infecter de nombreuses espèces animales en plus des humains. Certains sérovars sont strictement adaptés à l'hôte. (Anses.,2021)



### I.2.2.1.2. *Escherichia Coli* pathogènes

La présence des souches pathogènes d'*Escherichia coli* est un problème de santé public. **(Miotto et al.,2018)**

La majorité des souches d'*Escherichia coli* sont inoffensives, cependant il existe quelques souches pathogènes et se transmettre à l'homme due la consommation d'aliments contaminés, comme de la viande crue ou mal cuite, du lait cru, des légumes crus, des graines germées contaminés ou après consommation de fruits de mer contaminés. **(OMS,2018)**

Les souches d'*E. coli* pathogènes sont capables de se multiplier et de persister dans le tractus digestif de l'hôte en contournant les défenses immunitaires et d'induire des dommages cellulaires. **(Miotto, et al.,2018)**

On peut séparer les *E. coli* pathogènes en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC). Chacune de ces catégories contient différentes sous-catégories provoquant différents symptômes. Les *E. coli* peuvent être classées de plusieurs manières, notamment par pathotype (un groupe d'organismes de la même espèce causant les mêmes maladies) ou par groupe phylogénique. Les différents pathotypes sont regroupés selon qu'ils sont causés par des pathogènes intestinaux ou extra intestinaux. **(Ségolène., 2016)**.

### I.2.2.1.3. *Shigella*

*Shigella* est une bactérie qui appartient à l'embranchement de *Proteobacteria*, de la classe des *Gammaproteobacteria*, de l'ordre *Enterobacteriales* à la famille *Enterobacteriaceae*, l'espèce type de genre *Shigella* est : *Shigella dysenteriae*.

Gram négatif, Bâtonnets droits, de taille 1–3 × 0,7–1,0 µm, non mobile, anaérobie facultative, , non pigmenté, Chimio-organotrophe ayant à la fois un métabolisme de type respiratoire et fermentaire (fermente des sucres sans production de gaz et sans fermentation de la salicine, l'adonitol et le myo –inositol). Catalase positive (Avec des exceptions dans *shigella dysenteriae*), oxydase négative, de citrate négative, de malonate ou d'acétate de sodium comme seule source de carbone (à l'exception de *Shigella flexneri* pour l'acétate de sodium). Ne produit pas d'H<sub>2</sub>S. Ne décarboxyle pas la lysine, nitrates réductase négative.

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Le pourcentage molaire de G + C dans l'ADN est de : 49–53. (**Strockbine, Maurelli., 2015**)

Le genre *Shigella* est un agents pathogènes intestinaux de l'homme et d'autres primates, responsable des infections intestinales aiguës, suivant la consommation. L'espèce *dysenteriae* est considérée comme la plus virulente responsable de dysenterie bacillaire. (**Eraqou, et al., 2007 ; Strockbine. Maurelli., 2015**)

### **I.2.2.1.4. *Campylobacter***

Le genre *Campylobacter* fait partie, de la famille des *Campylobacteraceae*, au sein de l'ordre des *Campylobacterales* (**GOSSELIN., 2015**). La classe des *Proteobacteria*, Le genre *Campylobacter* compte, à l'heure actuelle, 34 espèces (48 en incluant les sous-espèces).

Gram négatif, la plupart des espèces sont des bâtonnets minces et incurvés en spirale en forme de S, de taille 0,2–0,8 × 0,5–5 µm et mobiles avec un mouvement caractéristique en tire-bouchon au moyen d'un seul flagelle polaire non gainé à une ou aux deux extrémités de la cellule. Les flagelles peuvent mesurer 2 à 3 fois la longueur des cellules. D'autres espèces sont immobiles (*Campylobacter gracilis*) ou ont plusieurs flagelles (*Campylobacter showae*). Parfois, des différences dans le nombre de flagelles présentés par les cellules dans une seule culture sont observées (*Campylobacter hyointestinalis*) et sont non sporulait. (**Vandamme.,2015**)

C'est une bactérie commensale des muqueuses digestives, des oiseaux et de très nombreux animaux de rente (volailles, bovins, ...). (**SOMIPEV., 2017**)

*Campylobacter* est la principale cause de maladies diarrhéiques bactériennes d'origine alimentaire dans le monde. Actuellement, on dénombre 17 espèces et 6 sous-espèces de *Campylobacter*, la plus fréquemment associée aux maladies humaines souvent après consommation d'aliments contaminés ou insuffisamment cuits étant les *Campylobacter thermo tolérants* espèces tel que *C. jejuni* (sous-espèce *jejuni*) et *C. coli*, et *C. lari* mais elles sont moins fréquemment signalées. (**Sproston et al.,2018 ; Gourmelon et al.,2020 ; OMS.,2020**)

### I.2.2. Autres bactéries pathogènes

#### I.2.2.1. Les vibrions

Les vibrions sont des bactéries qui appartiennent à l'embranchement de *Proteobacteria*, de la classe des *Gammaproteobacteria*, de l'ordre des *Vibrionales*, à la famille *Vibrionaceae*. Regroupant plus de 120 espèces, ce genre est reconnu comme étant un des groupes les plus diversifiés des bactéries aquatiques hétérotrophes. **(Farmer et al., 2015, Gomez-Gil et al., 2014)**

Sont des bacilles, Gram négative, Petits bâtonnets droits, légèrement incurvés, incurvés ou en forme de virgule,  $0,5-0,8 \times 1,4-2,6 \mu\text{m}$ ., mobile par des flagelles polaires monotriches ou multitranches enfermés dans une gaine continue avec la membrane externe de la paroi cellulaire. Sur milieu solide, certaines espèces synthétisent de nombreux flagelles latéraux. Sont oxydase positive et réduisent le nitrate en nitrite en milieu liquide. Croître dans un milieu minéral contenant du D -glucose comme seule source de carbone et du  $\text{NH}^+$  comme seule source d'azote. Cultivées sur des milieux gélose type Luria bertani agar et Marine agar et peuvent également pousser sur milieu sélectif TCBS (thiosulfate citrate\_ bile Salt sucrose agar)., Le pourcentage molaire de G + C de l'ADN est : 38–51. **(Talinto et al., 2004 ; Farmer et al., 2015)**

Ce sont des bactéries aquatiques présentes naturellement sous forme libre ou en formant des biofilms, dans les eaux côtières et estuariennes du monde entier chez tous les produits de la mer et se concentrent dans les coquillages durant le processus de la filtration naturelle. **(Garry et al., 2021 ; Zrelli et al., 2015 ; Gomez-Gil et al., 2014)**

12 espèces de vibrion sont décrites pathogène chez l'homme, 3 espèces parmi eux (*Vibrio cholerae* et vibrion non chlorique : *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*) provoque des pathologies chez l'Homme suite à la consommation de produits de la mer crus, insuffisamment cuits ou contaminés après cuisson. **(Baker-Austin et al., 2018 ; Garry et al, 2021).**

#### I.2.2.2. *Listeria*

*Listeria* est une bactérie qui appartient à l'embranchement *Firmicutes*, de la classe *Bacilli*, de l'ordre *Bacillales*, à la famille *Listeriaceae*, l'espèce type de genre *Listeria* est *Listeria monocytogenes*.

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Gram positif, Bâtonnets réguliers et courts, 0,4–0,5 × 1–2 µm avec des côtés parallèles et des extrémités émoussées. Toutes les espèces sont mobiles avec des flagelles péritriches lorsqu'elles sont cultivées à <30°C. Aérobie et anaérobie facultatif. Non capsulées. Non sporulées. Les colonies (24 à 48 h) ont un diamètre de 0,5 à 1,5 mm, sont rondes, translucides, légèrement convexes avec une surface lisse et une marge entière, non pigmentées avec un aspect central cristallin. La croissance se propage lentement dans tout le milieu. Températures limites de croissance <0° à 45°C ; croissance optimale à 30° à 37°C. Ne survit pas à un chauffage à 60°C pendant 30 min. La croissance se produit entre pH 6 et pH 9. Catalase positive, oxydase négative. Citrate exogène non utilisé. Des facteurs de croissance organiques sont nécessaires. Indole négative. L'esculine et l'hippurate de sodium sont positive. Urée négative. La gélatine, la caséine et le lait sont négatives. La Tenure G + C en ADN (mol %) : 36–42,5. **(Mc Lauchlin et al.,2015).**

*Listeria* est une bactérie ubiquitaire de l'environnement (terre, sol, eaux, végétaux en décomposition) elle peut être présente aussi dans le tube digestif des animaux, et peut colonisées les aliments et les surfaces, à partir desquelles l'homme et l'animal se contaminent. Cette bactérie peut survivre long temps dans l'environnement, y compris des conditions défavorables *Listeria monocytogene* est la seule espèce pathogène du genre *listeria* responsable des maladies listériose et aussi elle peut affect plusieurs espèce animales. **(Haour. A, 2018 ; SOMIPEV,2017).** L'espèce *ivanovii*, est pathogène pour les animaux et rarement pour l'homme. **(Anses.,2020)**

### I.2.3. Impact des bactéries pathogènes sur la santé humaine

Les maladies infectieuses à déclaration obligatoire possiblement transmises par consommation de coquillages à DO sont les toxi-infections alimentaires collectives (Tiac), les fièvres typhoïde et paratyphoïde, le choléra. (Afssa.,2008)

#### I.2.3.1. Le genre *Vibrio*

Sont responsables de la majorité des maladies humaines attribuées au microbiote naturel des milieux aquatiques et des produits de la mer, Trois espèces, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*, sont plus particulièrement impliquées en pathologie humaine, à l'origine de gastro-entérites, de septicémies, plus rarement de toxi-infections alimentaires collectives.

Les maladies humaines causées par des bactéries pathogènes du genre *Vibrio* peuvent être divisées en deux grands groupes : le choléra et les infections non cholériques (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*). (Copin, et al.,2015, Craig Baker-Austin et al.,2018)

**Tableau I** : Maladies associées avec le genre *Vibrio*

Espèce	Facteurs de virulences	Maladie	Symptômes	Références
<i>V. cholerae</i>	sérogroupe O1 et O139	Choléra (infection diarrhéique aiguë)	Les symptômes apparaissent entre 12 heures et cinq jours après l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés.  -personnes qui ne manifestent aucun symptôme, bien que le bacille soit présent	<b>OMS.,2022</b>

## Chapitre I :Synthèse Bibliographique

			<p>dans leurs selles pendant 1 à 10 jours après l'infection et soit éliminé dans l'environnement, où il peut potentiellement infecter d'autres personnes.</p> <p>-personnes qui manifestent des symptômes,</p> <p>Une diarrhée aqueuse aiguë, s'accompagnant de déshydratation sévère, se développe. En l'absence de traitement, elle peut entraîner la mort.</p>	
V. <i>parahaemolyticus</i>	gènes l'hémolysine directe thermostable (TDH) et l'hémolysine	Gastro-entérite suivent par un septicémie	deux à dix jours de diarrhée aqueuse, des crampes abdominales, des nausées, des	<b>(Copin et al.,2015 ;Li.L, et al., 2019)</b>

## Chapitre I :Synthèse Bibliographique

	liée à la tdh (TRH)		vomissements et des maux de tête après l'ingestion	
<i>V. vulnificus</i>	possède un large éventail de facteurs de virulence putatifs, notamment la neutralisation de l'acide, l'expression des polysaccharides capsulaires, l'acquisition du fer, les systèmes de cytotoxicité, la motilité et l'expression des protéines impliquées dans l'attachement et l'adhésion	- septicémie primaire -infections de plaies -infections limitées au tractus gastro-intestinal	Septicémie : gastro-intestinaux de diarrhée aqueuse, de fièvre, de nausées et de vomissements Infections de plaies : provoquant une réaction cutanée intense, cellulite avec bulles bulleuses Infections limitées au tractus gastro-intestinal : fièvre, frissons, diarrhée aqueuse, nausées et vomissements	<b>(Haftel et al .,2022 ; Na Ra Yun et al .,2018 ; Craig Baker-Austin et al., 2018)</b>

## Chapitre I :Synthèse Bibliographique

### I.2.3.2. Le genre *salmonelle*

Tous les sérotypes de salmonelles puissent sont pathogènes pour l'être humaine, l'animale ou bien les deux comme *salmonella Typhimurium (STm)* ou *S. Entertidis*.

En générale ces sérotypes provoque les maladies salmonellose qui comprennent deux principaux types d'infections : gastro-entérites et fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

Lorsque ces sérotypes provoquent une affection chez l'être humain, elle prend souvent un caractère invasif et peut mettre la vie du sujet en danger (**OMS., 2018**).

**Tableau II** : Maladies associées au genre salmonelles

Maladies	symptômes	références
gastro-entérites et fièvres	La période d'incubation est entre 12 et 36 heures, en fonction de la dose ingérée, de statu immunitaire de l'hôte  Les principaux symptômes sont fièvre, diarrhée, vomissements et douleurs abdominales	<b>(Biomnis., 2013)</b>
fièvres typhoïde et paratyphoïdes	La période d'incubation est entre 1 et 2 semaines, les symptômes sont fièvre continue accompagnée de maux de tête, d'anorexie, d'abattement, de douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation	<b>(Biomnis., 2013)</b>



## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

### Facteurs de virulences de salmonelles :

Salmonelles dispose de pas mal de facteurs de virulence jouant un rôle à différentes étapes du processus infectieux. Les facteurs de virulence rassemblent ceux spécifiques et non spécifiques aux sérovars pathogènes.

### Facteur de virulence non spécifique

Les facteurs de virulence non spécifiques sont représentés par : le lipopolysaccharide (LPS), le fimbriae ou pili et le flagelle.

### Facteur de virulence spécifique

Les facteurs de virulence spécifiques sont représentés par des îlots de pathogénicité. Toutefois, des plasmides de virulence et des phages ont montré un rôle dans cette virulence. **(TOE.,2018).**

### **I.2.3.3. *Escherichia coli* pathogène**

Les souches *E. coli* pathogènes pour l'homme sont subdivisées en de nombreuses souches responsables à deux types d'infections intestinales ou extra intestinales).

- Les *E. coli* à responsables à des infections intestinales comprennent six types :

- Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) : A l'origine de gastro-entérites infantiles (GEI), cause une majeure de diarrhée chez les nourrissons.

-Les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) qui appartiennent aux *E. coli* producteurs de Shiga-toxines : responsables de Diarrhée aqueuse, colite hémorragique, SHU.

-Les *E. coli* entéro-toxigéniques (ETEC) : responsables des diarrhées aqueuses et persistantes du voyageur

- Les *E. coli* entéro-agrégatives (EAEC) : associé plus particulièrement à des diarrhées aqueuses persistantes chez les jeunes enfants, et de diarrhée du voyageur chez les adultes

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

-Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC) : L'origine de syndromes dysentériques intermédiaires entre les *Escherichia coli* et les *Shigella*, leur pathogénicité est repose à la fois sur leur la puissance invasive et sur la production des toxines.

- Les *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) : Ils ont été récemment associés à des diarrhées aiguës et persistantes chez les nourrissons et les jeunes enfants, et peut contribuer au développement de la maladie de Crohn chez les adultes. **(Charlotte., 2016 ; Moualkia et Ansar.,2015)**

La souche *E. coli* O157 : H7, la plus fréquemment rencontrée dans les pathologies **(Gourmelon., 2006).**

- Les *E. coli* à tropismes extra intestinales comprennent deux types :

-Uropathogènes : responsable des infections urinaires chez les enfants.

-Invasives : provoquent des septicémies et/ou des bactériémies avec localisations dans différents organes (infections systémiques) **(Mainil., 2003).**

### I.2.4. Impactes des bactéries pathogènes sur les moules

Contrairement à la majorité des autres animaux d'élevage, invertébrés et vertébrés, les maladies ne se manifestent pas chez les bivalves par des signes cliniques remarquables. Un déclin ou un arrêt de croissance peut être la seule manifestation notable : mais ce signe n'est pas spécifique de l'agression. Celle-ci peut être d'origine biologique ou physico-chimique, ou une réponse à un phénomène naturel, tel qu'une variation de la température ou un déficit alimentaire. L'observation macroscopique de l'intérieur des valves et du corps de l'animal permet d'observer des anomalies, également rarement spécifiques d'une infection. De plus, ces signes ne se retrouvent pas systématiquement chez tous les individus infectés. Ils n'ont qu'une signification relative. C'est pourquoi, s'il permet de déceler un mauvais état des cheptels, le suivi des taux de croissance et de mortalité sur les concessions ou des stocks sur les gisements naturels est insuffisant pour déterminer la cause des mortalités. Pour cela, de meilleures techniques de diagnostic sont nécessaires. Dans le cas des mollusques, les techniques disponibles sont limitées, les plus courantes reposant sur l'histologie et la cytologie qui permettent de déceler la présence de microorganismes. Les bactéries peuvent être isolées et identifiées par les techniques classiques de bactériologie, mais il n'existe pas

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

d'outil spécifique adapté à l'identification des souches bactériennes marines et la détermination de des souches réellement pathogènes parmi les nombreuses populations identifiées. **(Henri.,1980)**

### I.2.4.1. Impact du genre *Vibrio*

Les principales maladies microbiennes affectants les bivalves marines d'élevages ont été révisées sur la base des agents étiologiques, de pathogénèse et de pathogénicité. **(Paillard et al.,2004)**

À partir des 1960 Les études ont été munis, pour l'identification des *Vibrios* qui sont considérées comme étant un agent pathogène important pour les mollusques quel que soit leur famille genre ou espèce. **(Romalde et al., 2014).**

Plusieurs épisodes de mortalités ont été attribués à *V. splendidus* ou à d'autres espèces appartenant au genre *Vibrios* **(Saulnier et al.,2010 ; Vanhove et al.,2015)**

En effet, certaines bactéries peuvent collaborer dans les infections polymicrobiennes. Citant l'exemple de *V. crassostreae* n'a pas un effet mortel à faible dose, tandis que lors de la présence d'une souche avirulente elle induite jusqu'à 70% de mortalité. **(Lemire et al.,2015)**



## Chapitre II : Synthèse Expérimental

### II.1 : Matériel et méthode

Ce travail consiste à identifier la flore bactérienne associée à l'activité aquacole, pour ce faire des prélèvements ont été effectués au niveau d'une filière conchylicole et les bassins d'élevage au sein d'une ferme d'élevage « CULTMARE –Elevage de moules et huître ».

Les analyses ont été effectuées au niveau de laboratoire bactériologie appartenant au CNRDPA « Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture ».

- Les coliformes totaux et fécaux ainsi que les entérocoques seront dénombrés plus la recherche des Salmonelles.
- Une identification biochimique des germes dénombrés sera effectuée afin de déterminer leur possible impact sur l'activité aquacole.

#### II.1.1. Présentation de la zone d'étude

La ville de Tipaza est l'actuel chef-lieu de la Wilaya de Tipaza, positionnée sur le littoral à 69 Km à l'Ouest d'Alger. Elle est limitée au Nord par la mer Méditerranée, au Sud par les communes de Hadjout et Sidi Ranche, à l'Est par les communes d'Aïn-Tagourait et Sidi-Rached et à l'Ouest par les communes de Nador et Cherchell.

#### II.1.2. Description de site de prélèvement

Les échantillons ont été prélevés au niveau de la ferme d'élevage des moules et huître CULTMARE.

C'est une entreprise Algérienne spécialisée dans l'élevage des moules et des huître, implantée en bord de mer à Kouali 3,6 km à l'Est de Tipaza.

Elle dispose d'un terreplein de 2000 m<sup>2</sup> et d'une concession maritime de 36 hectares dans laquelle sont installées, en sub-surface, 20 filières conchylicoles de 300 mètres chacune.



**Figure 3** : Localisation géographique du site « CULTMARE » et l'emplacement des filières

Les échantillons de moules ont été prélevés seulement au niveau de bassin alors que les échantillons d'eau ont été prélevés au niveau de trois stations (bassin d'élevage-moules, bassin d'élevage-huîtres et la filière).

### II.1.3. Echantillonnage et prélèvement

3 prélèvements ont été récoltés durant les 3 mois (avril, mai, juin). Chaque prélèvement contient : 1 échantillon de moule (aliment) et 3 échantillons de l'eau (bassins et filière). Le prélèvement est transporté au laboratoire dans une glacière et analysé directement.

- **Moules (aliment) :**

Les échantillons des moules ont été prélevés aléatoirement à la main à partir des cageots en plastique mis dans les bassins de moules ; de façon pour obtenir 100g entre la chair et le liquide physiologiques.

- **Eau :**

Les 3 échantillons ont été prélevés à l'aide de flacons en verre de 180 ml. Les flacons préalablement stérilisés et étiquetés, sont immergés sous l'eau à une profondeur de 10 à 30 cm.

Les flacons sont ouverts sous l'eau, et sont remplis jusqu'au bord, ensuite le bouchon est également placé sous l'eau de telle façon qu'il n'y est aucune bulle et qu'il ne soit pas éjecté au cours du transport.

## Chapitre II :Synthèse Experimental

### Méthodes

Les protocoles suivis sont fournis par le laboratoire bactériologiques de CNRDPA évidemment utilisées par le personnel de laboratoire pour la recherche des germes ciblées.

#### II.1.4. Analyse microbiologique d'eau

##### II.1.4.1. Recherche des coliformes fécaux et totaux et streptocoque fécaux dans l'eau

Les analyses ont été bactériologique de l'eau (la recherche des coliformes fécaux et totaux et streptocoque fécaux) a été effectuées par la technique de filtration sur membrane.

##### ▪ Principe de la filtration sur membrane

C'est la plus utilisé en laboratoire, elle est applicable à toutes les eaux et en particulier à celle contenant une faible quantité de matière en suspension et un nombre relativement faible de germe.

La technique de filtration sur membrane consiste à filtrer un volume d'échantillon à travers une membrane cellulosique de porosité  $0.45 \mu\text{m}$  déposé sur un filtre à pores permet de retenir les bactéries sur la surface, et déposé sur des milieux spécifiques pour le but d'identifié et dénombré les bactéries après une incubation.



**Figure 4 : Rampe de filtration**

(Photo original)

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

### ▪ Préparations de la dilution

Différentes dilutions de solution mère jusqu'à  $10^{-2}$  ont été préparées avec de l'eau physiologique stérile.

-Pour préparer la dilution  $10^{-1}$ , à l'aide d'une seringue stérile prélevé 10 ml de l'échantillon mère ; l'introduire dans un flacon qui contient 90 ml de l'eau physiologique.

-Pour préparer la dilution  $10^{-2}$ , à l'aide d'une seringue stérile prélevé 1 ml de l'échantillon mère ; l'introduire dans un flacon qui contient 99 ml de l'eau physiologique.

-La solution mère consiste de 100 ml de l'eau de mer.

### ▪ L'étape de La filtration

-La filtration commence par les dilutions moins chargées au plus chargé c'est-à-dire  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ , SM.

-Flamber la plaque poreuse, à l'aide d'une pince à bouts plats stérile déposée la membrane filtrante 0.45 mm stérile sur la plaque poreuse coté quadrillé vers le haut en saisissant que le bord extérieur de la membrane.

-Placer l'entonnoir en verre stérile et versé 100 ml d'échantillons.

Ouvrir le robinet et mettre en marche la pompe à vide et faire un vide Pour filtrer l'eau à travers la membrane dans la fiole à vide.

- Dé que la membrane parait sèche, renfermer le robinet.

### ▪ Transfert de la membrane :

-Retirer l'entonnoir et transférer la membrane à l'aide d'une pince à mors plats stérile sur un milieu gélosé adéquat.

-En saisons avec la pince à son extrémité opposée en contact avec la gélose ; puis appliquer la membrane sur la gélose en assurant progressivement le contact ; s'assurer que l'air n'est pas emprisonné entre la membrane et le milieu de culture.

-Pour filtrer une nouvelle dilution, l'entonnoir est stérilisé par flambage au bec benzène.

Remarque : En cas d'avoir différents échantillons chaque échantillon est filtré dans un poste unique de la rampe.



## Chapitre II : Synthèse Expérimental

### II.1.4.2. La recherche des Coliformes fécaux et totaux

Milieu sélectif gélose au tergitol été utilisé pour la recherche et le dénombrement des bactéries Coliformes totaux à une température de 37°C et les coliformes fécaux ou Thermo tolérants et *Escherichia coli* à une température de 44°C pendant 48h.

Ce milieu favorise la croissance des coliformes, inhibe la croissance des bactéries a Gram positive, l'inite la croissance des *Proteus*. (Bentounes. ; 2017).

Lecture : Les coliformes se caractérisent par des colonies jaune- jaune orangée .

Les colonies isolées sont conservées sur milieu Gélose nutritif.

### II.1.4.3. La recherche des streptocoques fécaux

Milieu très sélectif été utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérocoques est le Slantez et Bartley qui contient de l'azide qui limite la croissance de la flore secondaire ;

Incubé à 37°C pendant 48h.

Lecture : après 48h d'incubation apparition des colonies rouge et rouge brique.

Après transférer la membrane sur un milieu BEA sélectif pour les streptocoques fécaux, préchauffer à 44°C pendant 10 à 15 minutes puis incubées les boites à 44°C pendant 2h.

Lecture : après 2h les colonies rouges subissent un noircissement considéré comme streptocoques fécaux.

### II.1.4.4. La recherche des vibrions dans l'eau

La recherche des vibrios comporte deux enrichissements successifs et un isolement sur milieux sélectifs.

-Enrichissement primaire :

Ajouté aseptiquement l'eau a analysé à un flacon en verre contenant 50ml d'eau peptone alcaline 10 fois concentrée. Incubé à 37°C pendant 24h.

-Enrichissement secondaire :

Ajouté 1ml de la préparation d'enrichissement primaire dans un tube contenant 7 ml le milieu eau peptonée alcaline simple concentration.

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

D'une autre part le flacon EPA 10 fois concentrée fut l'objet d'un ensemencement sur une boîte TCBS1 et une boîte GNAB1

Incubé à 37°C pendant 24h.

-Isolement :

Deux milieux de culture sélectif pour l'isolement des vibrions été utilisé ; le milieu GNAB et le milieu TCBS

A l'aide d'une pipette pasteur ensemencé quelque goutte de la préparation d'enrichissement sur les 2 milieux

Incubé à 37°C pendant 24h

La lecture : des colonies blanches et rondes bombées sur le milieu GNAB et des colonies jeunes arrondies bombées sur le milieu TCBS

### **II.1.5. Analyse microbiologique d'aliment :**

Les moules prélevés ont été lavées à l'eau courante, débarrassées de leurs byssus et épizoaires présents sur leurs coquillages en utilisant un couteau.

#### **II.1.5.1. La recherche de salmonella dans l'aliment :**

La recherche des salmonella s'effectuée dans 3 étape principales :

- 1<sup>er</sup> étape : pré-enrichissements :

Ajouté 25g préalablement préparé dans un 100ml de l'eau physiologique pour obtenir la solution mer et incubé à 37°C pendant 24h.

- 2<sup>ème</sup> étape : enrichissements primaire (sélectifs)

Ensemencé 10ml de solution mère dans un tube de 10ml de milieux sélectifs pour les salmonelles et inhibiteur d'autre germe le bouillon sélénite cystine double concentrations (SFB D/C) incubé à 37°C pendant 24h.

- 3<sup>ème</sup> étape : enrichissements secondaire (sélectifs) :

Ensemencé 1ml de culture de 1<sup>er</sup> enrichissement dans (SFB D/C) sur 10ml de milieux sélectifs pour les salmonelles et inhibiteur d'autre germe le bouillon sélénite cystine simple concentrations (SFB S/C)

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

Incubé à 37°C pendant 24h.

D'autre part un premier isolement s'est effectué sur une boîte de gélose Hektoen H1, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, ensemencer une goutte de préparation de SFB D/C.

Incubé à 37°C pendant 24h.

Un 2<sup>ème</sup> isolement est effectué à partir de SFB S/C sur gélose Hektoen H2.

La lecture et l'isolement :

Colonies vert centre noire suspect salmonelles, Colonie vert grand et colonie vert petite, colonie orange

Chacune des colonies différencié été isolé sur boîte Hektoen

### II.1.6. Identification biochimique par galeries API 20E

Les galeries Api 20E (Analytical profil index).

Système miniaturisé comprenant 20 testes biochimiques, exploitables avec une base de données d'identification complètes des bactéries *Enterobacteriaceae* et autres bacilles Gram négatives.

- **Principe**

Les galeries Api est constitué d'une bande en plastique comportant 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les microtubes sont inoculées avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleurs des substrats ou révélés par l'addition des réactifs (TDA, VP, Kovacs)

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide de catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

## Chapitre II :Synthèse Experimental

- **Mode opératoire**

### Préparation de l'inoculum

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile prélevés une colonie bien isolé à partir d'une culture jeun, dans un tube d'eau physiologique stérile.
- Homogénéisé la suspension bactérienne.
- Réparti 5ml d'eau distillé stérile dans les puits de la boite d'incubation, en raison de créés et gardées une atmosphère humide.
- Faire sortir la galerie de son emballage est placé la dans la chambre d'incubation.
- A l'aide de la même pipette, introduise la suspension bactérienne dans les microtubes de la galerie.
- Pour les tests Citrate, VP et Gélatine les tubes et les cupules sont remplis.
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE une aérobiose est créés en remplissant les cupules avec l'huile de vaseline.
- Pour les autres tests uniquement les tubes sont remplis.
- Renfermé la boite d'incubation.
- Incubé à 36°C pendant 18 à 24h.

### II.2 : Résultats et discussions

#### II.2.1 Analyse bactériologique des eaux d'élevage

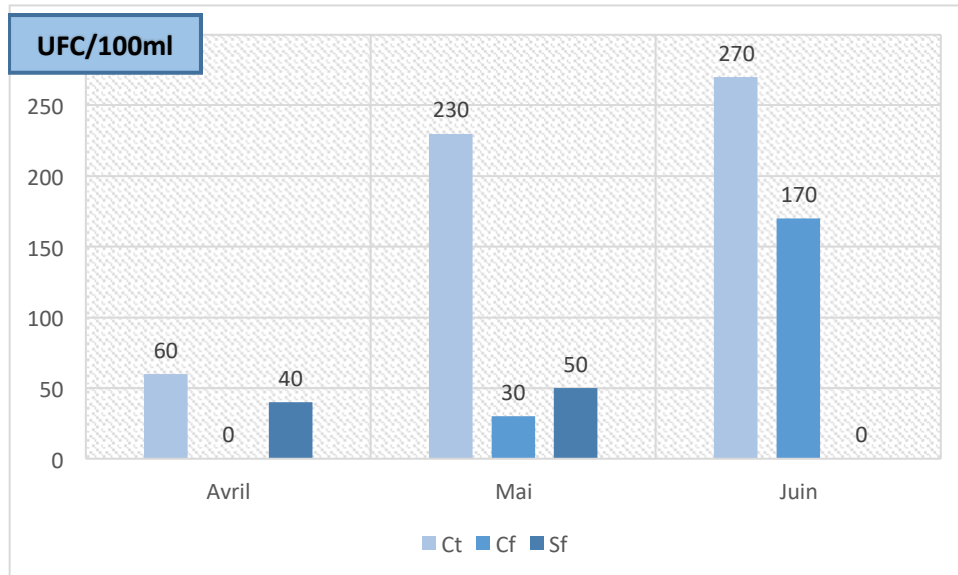
Durant la période d'étude allant de mois d'Avril au mois de Juin 2022 (3 mois) la contamination microbienne des eaux d'élevage (Filière et Bassins) a été suivie par le dénombrement des coliformes totaux, coliformes fécaux et entérocoques.

Les résultats obtenus ont montré une variation de degré de contamination en fonction des stations et le mois de prélèvement.

##### II.2.1.1 Bassin moules

Les résultats obtenus montrent une augmentation des Ct au niveau des eaux de bassin moules avec un max de 270 ufc/100 ml enregistré durant le mois de Juin. De même pour les Cf, les concentrations de des derniers ont augmenté durant la durée de cette étude avec un max de 170 ufc/100 ml cette valeur dépasse la valeur seuil des Cf au niveau des eaux de baignade ce qui montre une contamination fécale. Les valeurs des entérocoques sont proches durant le mois d'Avril et Mai (40-50 ufc/ 100 ml) alors que ces derniers n'ont pas été détectés durant le mois de Juin.

Les résultats sont illustrés dans la **figure 5**



**Figure 5** : Variations des coliformes Ct, Cf et Sf à travers les trois prélèvements dans le bassin des moules.

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

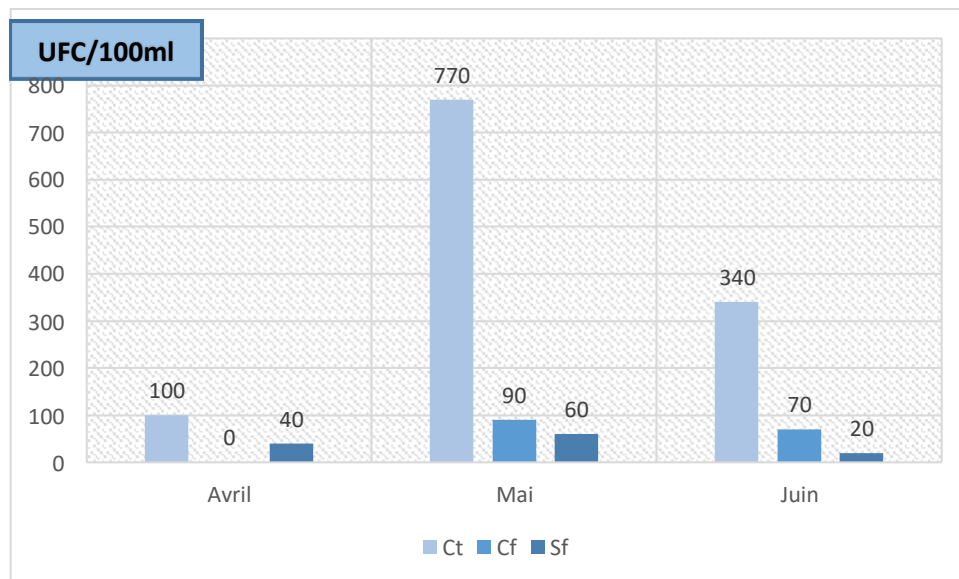
A l'exception de la valeur des Cf enregistré durant le mois de Juin, on remarque que les valeurs obtenues sont faibles et ne dépassent pas les normes décrites par le JORA (1993) pour les eaux de baignade et la DGS en France (2008) qui sont fixées de 500UFC/100ml pour les Ct, 100UFC/100ml pour les Coliformes fécaux et 100UFC/100ml pour les Entérocoques fécaux.

Nous avons comparé ces résultats avec les valeurs guide des eaux de baignade car le point de pompage des eaux qui alimentent les bassins se situe dans une région proche des plages.

L'augmentation de la contamination au niveau de bassin peut être due soit à l'augmentation de la contamination des eaux côtières (source) soit à la maintenance et le nettoyage de bassin. Généralement des taux faibles de contamination sont enregistré lorsque les eaux de bassin sont fraîchement renouvelées et commence à augmenter avec le temps à cause des différentes manipulations ainsi que le relargage de germes par les moules déposées au niveau de bassin pour purification vu que la zone est classée pour le moment en classe B.

### II.2.1.2 Bassin huitres

Les résultats obtenus montrent une augmentation des Ct au niveau des eaux de bassin huitres avec un max de 770 ufc/100 ml enregistré durant le mois de Mai. De même pour les Cf, les concentrations de des derniers ont augmenté durant la durée de cette étude avec un max de 90 ufc/100 ml. Les Ct dépassent la valeur seuil des Ct au niveau des eaux de baignade durant le mois de Mai. Les valeurs des entérocoques montrent une variation selon les mois de prélèvements avec un max de 60 ufc/100ml en mois de Mai. Les résultats sont illustrés dans la **figure 6**



**Figure 6 :** Variations des Ct, Cf et Sf à travers les trois prélèvements dans le bassin des huîtres.

Les valeurs obtenues dans les trois prélèvements sont relativement élevées par rapports aux résultats obtenus à partir de bassin des moules, cela est expliqué par le nettoyage rare de bassin des huîtres, et contrairement au bassin-moules le bassin-huîtres est utilisé pour le stockage temporaire des moules et des huîtres en attendant leur remise dans les filières.

Dans le 2<sup>ème</sup> prélèvement, la concentration des Ct (770UFC) est très élevé et dépasse la valeur limite recommandé par JORA (1993) et la DGS en France (2008) (500UFC/100ml), de même la concentration des Cf (90UFC) est proche la valeur limite recommandé (100UFC/100ml).

Dans le 3<sup>ème</sup> prélèvement, les concentrations des Ct et Cf est relativement élevées par rapport au 1<sup>er</sup> prélèvement mais ne dépassent pas la valeur limites des Ct comme dans le 2<sup>ème</sup> prélèvement.

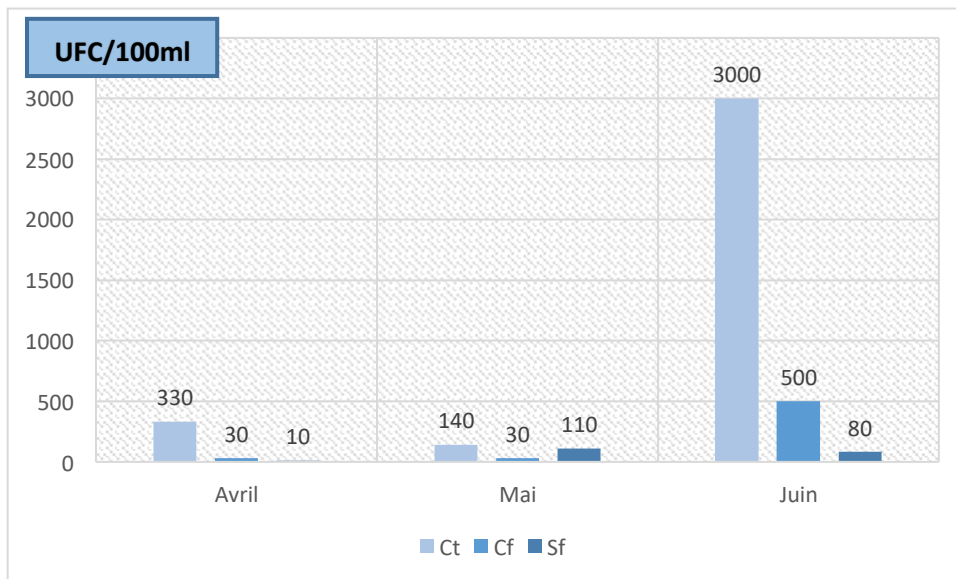
Les concentrations en Sf, varient entre 20ufc/100ml et 60ufc/100 ml, ces résultats sont inférieurs à la valeur limite décrit dans les normes sanitaires. L'augmentation de la concentration dans le 2<sup>ème</sup> prélèvement est parallèles avec les valeurs des Ct et Cf.

L'augmentation des valeurs durant le 2<sup>ème</sup> prélèvement est expliquée par le non renouvellement des eaux pendant une semaine.

### II.2.1.3 Filière

Les résultats obtenus montrent une augmentation des Ct au niveau de la filière avec un max en mois de Juin ou ces derniers dépassent les 3000 ufc/100 ml. De même pour les Cf, les concentrations de des derniers ont augmenté durant la durée de cette étude avec un max de 500 ufc/100 ml durant le mois de Juin. Durant le mois Juin, Les Ct et Cf dépassent les valeurs seuils des Ct et Cf au niveau des eaux de baignade ce qui montre une contamination bactérienne de la zone durant cette période qui coïncide avec le début de la saison estivale. Les valeurs des entérocoques montrent une variation selon les mois de prélèvements avec un max de 110 ufc/100ml en mois de Mai.

Les résultats sont illustrés dans la **figure7**



**Figure7** : Variations des Ct, Cf et Sf dans les trois prélèvements dans la filière.

Les Résultats obtenus dans la filière montrent qu'une forte contamination est enregistrée durant le mois de Juin ou les valeurs de Ct et Cf dépassent les valeurs guide des eaux de baignade. Comme les moules sont des organismes filtreurs, un risque de contamination due à la consommation des moules.

L'augmentation des valeurs lors de 3<sup>ème</sup> prélèvement peut être expliquer par le début de la saison estivale, et donc la présence des baigneurs, notant que les

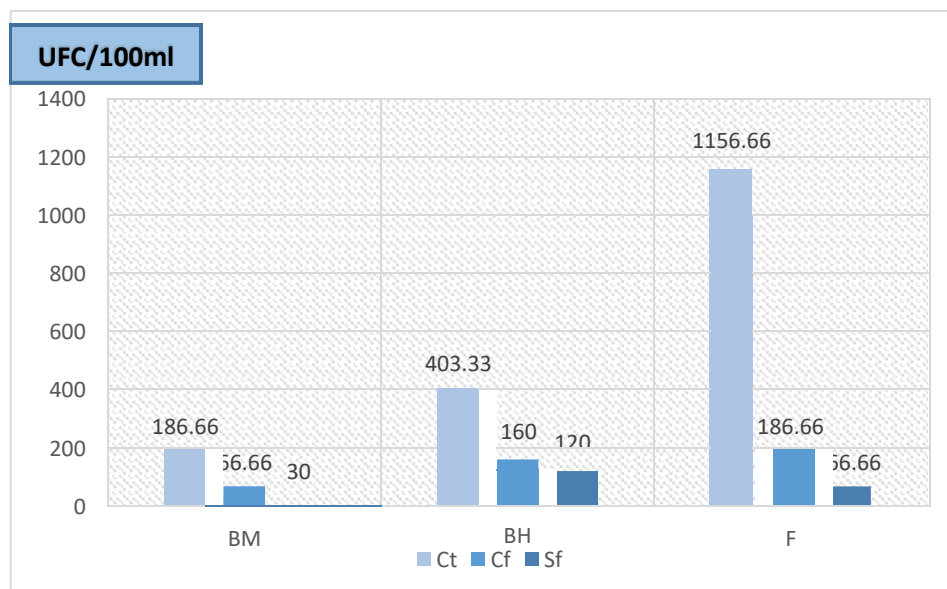


coliformes qui sont des indicateurs de la présence d'une contamination fécale et ne font pas partie de la flore autochtone des eaux ; donc leur présence est due à la présence d'une contamination. **(Chebouba, 2017)**

### II.2.2 Comparaison entre les trois sites de prélèvement

La ferme (CULTMARE) où les prélèvements ont été réalisés, se situe près de deux rejets domestiques, et la zone de prélèvement (Tipaza) qui est un secteur agricole et touristique tous ces facteurs peuvent présenter des sources de contamination.

Afin de pouvoir comparer les taux de contamination en Ct, Cf et Sf la moyenne de concentration de germe qui varie d'un site de prélèvement à un autre, a été calculée.



**Figure 8 : Variations moyenne des Ct, Cf et Ef au niveau des stations**

D'après la **figure 8** on remarque que la charge la plus importante des Ct est la filière avec une moyenne de 1156.66UFC/100ml, cela peut être due à une contamination potentielle causée par la présence des rejets urbains proches caractérisés par l'apport important des contaminants fécaux, ou l'effet des baigneurs. Cependant ces valeurs demeurent dans les normes préconisées par la communauté européenne pour le classement des zones marines qui sont 100UFC/100ml. **(Djelaili et Bettache, 2007 ; Djamaoun, Ouali, Seghier, 2014).**

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

Le profil de la charge des Cf et Sf dans les sites BM, BH et F sont relativement proches grâce au point de pompage commun et proche de la zone d'élevage.

### II.2.3 Origine de la contamination fécale

Un calcul de rapport des coliformes fécaux et streptocoques fécaux (**Berrego et Romeo In Bousaab.,2007**) a été effectué pour identifier l'origine de la contamination au niveau des trois stations

$$R=Cf/Sf$$

-Si R est inférieur à 0.7 la contamination est d'origine animale.

-Si R est compris entre 0.7 et 1 la contamination est humaine à prédominance animale.

- Si R est compris entre 1 et 2 la contamination est d'origine incertaine

-Si R est compris entre 2 et 4 la contamination est d'origine mixte avec pro dominance humaine.

-Si R est supérieur à 4 la contamination est d'origine humaine. (LARIF et al.,2013). Le **tableau IV** regroupe les valeurs de R

**Tableau III** : Indice CF/SF déterminant l'origine de la pollution par stations

Site de prélèvement	Bassin-moules	Bassin-huitres	Filière
Rapport Cf/Sf	2.22	1.33	2.8
Origine de contamination	Mixte pro dominance humaine	Incertaine	Mixte pro dominance humaine

D'après l'indice R, l'origine de la contamination dans le bassin de moules et la filière est d'origine mixte avec pro dominance humaine, ce qui peut être expliquer par la présence des rejets domestiques proche de la zone de pompage.

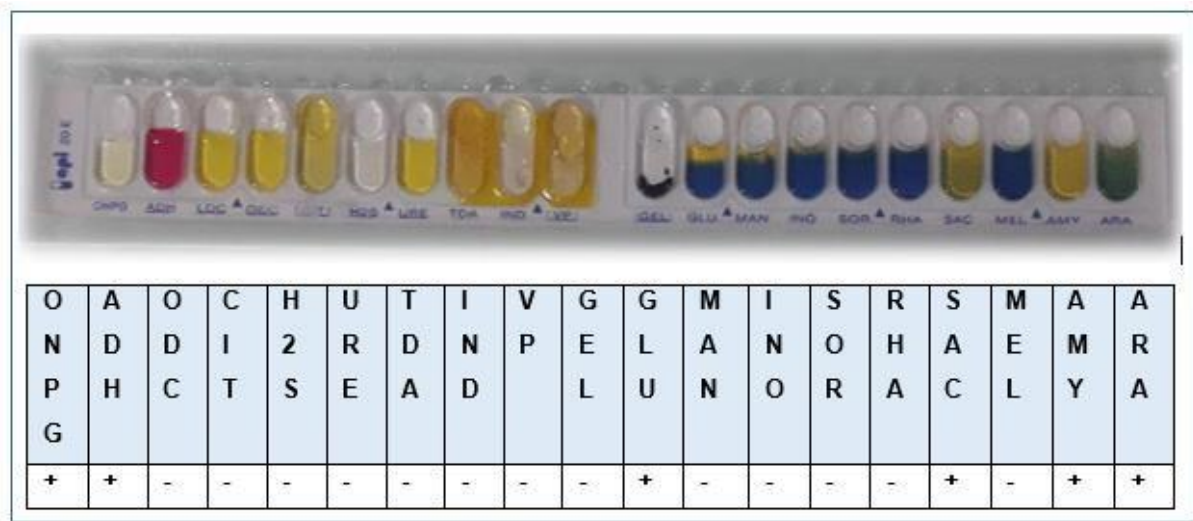
## Chapitre II : Synthèse Expérimental

### II.2.4 Identification des bactéries dans l'eau

La recherche et l'identification des bactéries isolées à partir du milieu Tergitol incubé et 44°C et repiqué sur Milieux GN, (Coliformes fécaux) est effectuée par galeries Api 20<sup>E</sup>.

La recherche des *Vibrio* dans l'eau est effectuée à partir du milieu GNAB et TCBS.

Nous avons identifié une souche du genre *Vibrio* espèce *V. fluvialis*, et d'autres espèces bactériennes autres que *Vibrio* : *Citrobacter youngae*, *Klebsiella pneumoniae* spp, *Citrobacter koseri* au niveau des milieux GNAB et TCBS

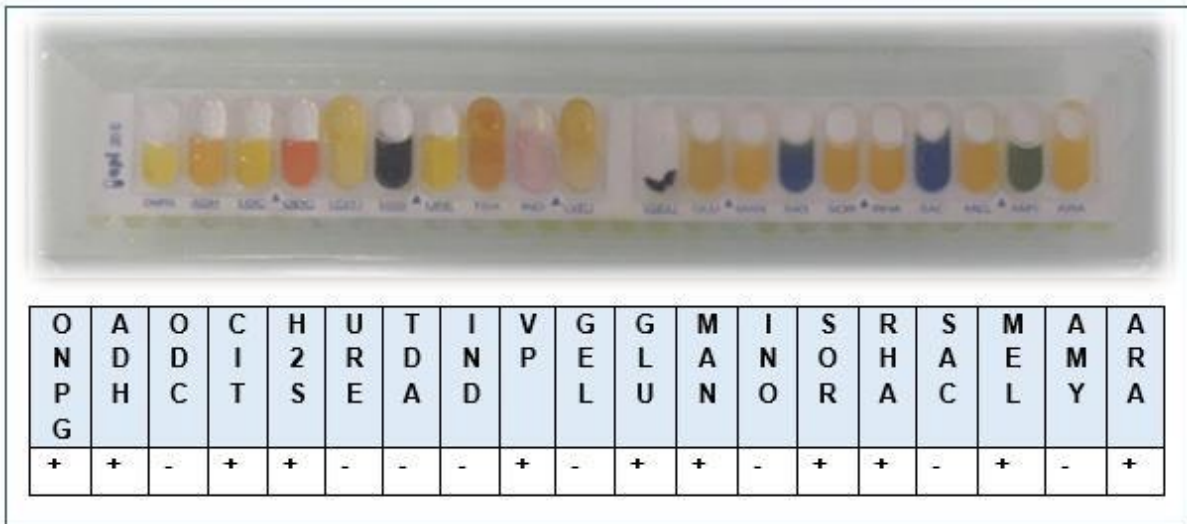


**Figure 9** : Profile biochimique de la bactérie *V. fluvialis*

### II.2.5 Identification des bactéries dans l'aliment

L'identification des bactéries a été basée sur la recherche et l'isolement à partir de milieu SFB dans le but d'identifier des bactéries du genre *salmonella* potentiellement pathogène.

Nos résultats ont montré la présence d'une bactérie du genre *Salmonella* autres que *S. typhie* et *S. entirica* (à déclaration obligatoire) qui est *Salmonella arizonae*. Autres bactéries que salmonelles ont été identifiées *Klebsiella pneumoponiae*, *Sigella* spp, *Enterobacter clocae*, *Serratia fonticola*, *Pseudomonas fluorescens/putida*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter brakii* à partir du SFB et Hektoen en raison de leurs qualités d'enrichissement des bactéries pour l'SFB et favorisation de poussées des Germes a Gram négative pour l'Hektoen (BIO-RAD.,2014).



**Figure 10** : Profile biochimique de la bactérie *S. arizonae*

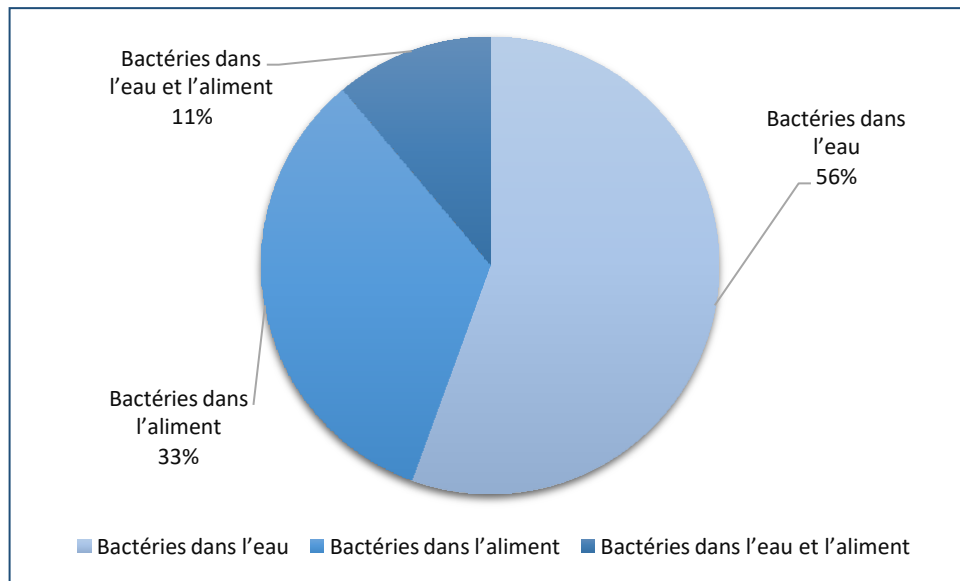
Au cours de ce travail nous avons réussi a isolé et identifier 27 espèces bactériennes, à partir de l'eau d'élevage aussi bien que dans les moules (chair et liquide physiologique). Ces espèces appartiennent à familles différentes. La répartition des germes est :15 dans l'eau,8 dans les moules et 3 dans l'eau et les moules. Le détail des résultats obtenus est décrit dans **le tableau V**

**Tableau IV** : Les souches identifiées chez les moules et dans l'eau d'élevage de la ferme d'élevage des moules et huitres CULTMARE

Famille	Genre/ Espèce	Eau de mer d'élevage	Moules
<b>Enterobacteriaceae</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+
	<i>Shigella spp</i>	+	+
	<i>Pantoea spp</i>	+	
	<i>Escherichia coli</i>	+	
	<i>Citrobacter braakii</i>		+
	<i>Enterobacter cloacae</i>		+
	<i>Citrobacter freundii</i>	+	

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

	<i>Enterobacter sakazakii</i>		+
	<i>Serratia fonticola</i>		+
	<i>Enterobacter cancerogenus</i>		+
	<i>Citrobacter youngae</i>	+	
	<i>Citrobacter koseri/amalonicus</i>	+	
	<i>Salmonella arizonae</i>		+
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	
<b><i>Pseudomonadaceae</i></b>	<i>Flavimonas horzyihabitans</i>	+	+
	<i>Chryseomonas luteola</i>	+	
	<i>Flavimonas</i>	+	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>		+
<b><i>Yeeksellapées</i></b>	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	+	
<b><i>Morganellaceae</i></b>	<i>Proteus mirabilis</i>		+
	<i>Providencia rettgeri</i>	+	
<b><i>Brucellaceae</i></b>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	+	
<b><i>Xanthomonadaceae</i></b>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	
<b><i>Pasteurellaceae</i></b>	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>/haemolytica</i>	+	
<b><i>Vibrionaceae</i></b>	<i>Vibrio fluvialis</i>	+	
–	<i>Non fermenter</i>		+



**Figure11** : Répartition des bactéries entre eau et aliment et eau et aliment

La flore bactérienne identifier au cours des trois prélèvements présente une variété plus au moins importante, parmi les souches identifier un bon nombre font partie de la flore bactérienne du milieu aquatiques, parmi ces bactéries ceux qui sont pathogènes. Les bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* identifiées dans notre travail appartenant au genres : *Klebsiella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia*. Ces genres sont également signalées par **(Remdan et al.,2012)** dans sa recherche sur la diversité bactérienne dans l'eau d'élevage des poissons et des moules, et des bactéries sur la surface des poissons. *E. coli* et *Enterobacter* spp sont aussi rapporter par **(Abdulkadir et al., 2021)**.

Par rapport au genre salmonelle, l'espèce que nous avons identifié (*S. arizonae*) n'est pas une espèce à déclaration obligatoire. La présence de salmonelles avec l'activité des moules est rapportée dans **(Hervio-Heath et al.,2012)**. La présence de même espèce (*S. arizonae*) était identifiée dans les eaux polluées est rapportés dans le travail de **(Debabza.,2005)** donc sa présence peut être due à une contamination au niveaux des moules.

Les genres *Pantoea*, *Proteus*, *Pasteurella*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, ont étai rapporté d'être associés avec l'activité de Tilapia rouge hybride **(Izzatul et al.,2016)**.

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

Selon la recherche de **(Ogbonne.F et al.,2020)** les bactéries : *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgerii*, *Citrobacter freundii*, *Flavimonas horizabitans* ont été rapporté associé avec l'activité de poisson *Tilapia guineensis*.

Les espèces *Proteus mirabilis*, *Citrobacter brakii*, *Citrobacter freundii*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas fluorescens/putida*, *Pseudomonas aeruginosa* ont été présents avec l'activité de moules **(Meriouma et Taleb.,2017)**. Les **tableau 6,7,8** Montre la fréquence d'apparition des germes dans les trois prélèvements

**Le tableau V** : Fréquence d'apparition des germes dans le 1<sup>er</sup> prélèvement

Bactéries Isolées et identifiées du 1 <sup>er</sup> prélèvement			
Fréquences	Genre/ espèce	Eau de mer d'élevage	Moules
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Présente	
3	<i>Flavimonas horyzihabitans</i>	Présente	Présente
1	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	Présente	
2	<i>Proteus mirabilis</i>		Présente
1	<i>Shigella spp</i>		Présente
1	<i>Non fermenter spp</i>		Présente

**Tableau VI** : Fréquence d'apparition des germes dans le 2<sup>ème</sup> prélèvement

<b>Bactéries Isolées et identifiées du 2<sup>ème</sup> prélèvement</b>			
<b>Fréquences</b>	<b>Genre/espèce</b>	<b>Eau de mer d'élevage</b>	<b>Aliment</b>
1	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	Présente	
1	<i>Citrobacter freundii</i>	Présente	
4	<i>Flavimonas horyzihabitans</i>	Présente	Présente
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Présente	
1	<i>Chryseomonas luteola</i>	Présente	
1	<i>Enterobacter sakazakii</i>		Présente
1	<i>Shigella spp</i>		Présente
2	<i>Enterobacter cloacae</i>		Présente
1	<i>Serratia fonticola</i>		Présente
1	<i>Enterobacter cancerogenus</i>		Présente
1	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>		Présente
2	<i>Vibrio fluvialis</i>	Présente	
1	<i>Citrobacter youngae</i>	Présente	
1	<i>Salmonella arizonae</i>		Présente



## Chapitre II : Synthèse Expérimental

**Tableau VII** : Fréquences d'apparition des germes dans le 3<sup>ème</sup> prélèvements

<b>Bactéries Isolées et identifiées du 3<sup>ème</sup> prélèvement</b>			
<b>Fréquence</b>	<b>Genre/ espèce</b>	<b>Eau de mer d'élevage</b>	<b>Aliment</b>
1	<i>Pantoea spp</i>	Présente	
2	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	Présente	
2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Présente	
1	<i>Chryseomonas luteola</i>	Présente	
1	<i>Providencia rettgeri</i>	Présente	
1	<i>Pasteurella haemolytica pneumotropica</i>	Présente	
1	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Présente	
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Présente	
2	<i>Escherichia coli</i>	Présente	
1	<i>Shigella spp</i>	Présente	
1	<i>Flavimonas horyzihabitans</i>		Présente
1	<i>Proteus mirabilis</i>		Présente
1	<i>Citrobacter braakii</i>		Présente
3	<i>Klebsiella pneumoniae spp</i>	Présente	Présente
1	<i>Enterobacter cloacae</i>		Présente
1	<i>Flavimonas</i>	Présente	
1	<i>Citrobacter koseri</i>	Présente	

## Chapitre II : Synthèse Expérimental

D'après la comparaison des résultats d'identification entre les 3 prélèvements présents dans les 3 tableaux précédents, on a constaté que les bactéries *Klebsiella pneumoniae spp*, *Flavimonas horyzihabitans*, *Shigella spp* étaient présentes dans les 3 prélèvements au cours des 3 mois cela veut dire qu'elles font parties de la flore bactérienne autochtone du milieu.

Le 3<sup>ème</sup> prélèvement présente une richesse qualitative et quantitative bactérienne importante par rapport au 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> prélèvement, avec une présence d'activité d'*Escherichia coli*. *Klebsiella pneumoniae spp* est la flore dominante tant dès que dans le 2eme prélèvement *Flavimonas horyzihabitans* a été marqué comme la flore dominante.

Cette richesse peut être liée avec l'augmentation de taux de contamination au niveau du bassin moules.

## CONCLUSION

Le suivi de la qualité bactériologique des eaux au niveau de la ferme conchylicole « CUTMARE » pendant trois mois au niveau de différentes stations nous permet d'estimer le degré de la contamination et son origine et d'établir un inventaire préliminaire de la flore bactérienne associée à la conchyliculture.

Les résultats de cette étude ont montré une variation spatiotemporelle de la contamination bactérienne au niveau de la ferme. Généralement les coliformes totaux, fécaux et entérocoques ne dépassent pas 500 ufc/100ml, 100 ufc/100ml et 100 ufc/100ml respectivement sauf durant le mois de juin où nous avons enregistré des valeurs très élevées des coliformes totaux et fécaux probablement causés par les différentes activités au niveau de la région durant la saison estivale.

Nous avons aussi remarqué que la qualité des eaux des bassins ne dépend pas seulement de la qualité des eaux côtières (site de pompage) mais aussi du taux de renouvellement de ces eaux.

Les résultats obtenus montrent aussi que la contamination fécale des eaux de la ferme est d'origine mixte avec une prédominance humaine ceci et du aux différents rejets domestiques qui déversent dans la zone. Ce qui montre l'importance de traitement des rejets pour protéger la salubrité de la zone.

L'identification des bactéries à partir des eaux de bassin a montré que les bactéries qui apparaissent durant les trois mois sont *Flavimonas horyzabitanis*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Shigella* spp. Nous avons aussi noté la présence de *Vibrio fluvialis*

Nous avons identifié au total 27 souches bactériennes, parmi des bactéries autochtones et quelques bactéries montrent une contamination par des activités anthropiques. Ces derniers peuvent causer des effets négatifs à l'élevage ou bien aux consommateurs.

La recherche et l'identification des bactéries *Salmonella* pathogènes dans les échantillons des moules, nous a permis d'identifier *Salmonella arizonae*.

Pour la suite de ce travail, nous proposons de compléter les parties suivantes :

- L'impact des paramètres physico-chimiques (température, pH, salinité, turbidité et conductivité) sur la distribution de flore bactérienne relative à l'activité aquacole.
- L'inventaire de la flore bactérienne associée à l'élevage de poisson
- La comparaison entre le degré de contamination fécale des eaux et les biotes.
- L'étude approfondie de l'impact de la flore bactérienne sur les moules (anomalie).

### -A-

**Abdulkadir. A, Abubaka. MI, Abdulkadir JO., 2021**-Etude d'investigation sur les profils bactériologiques, physiques et chimiques des eaux aquacoles : aperçu des risques pour la santé des poissons et des êtres humains, preprints 1 : 15p

**Afssa.,2008**- AVIS de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'avis complémentaire concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés, Saisine n° 2008-SA-0359.

**Agasan A., Kornblum J., Williams G., Pratt C., Fleckenstein Ph., Wong M., and**

**Anses., 2021** - *Salmonella* spp. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Salmonella* spp. Disponible sur :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0080Fi.pdf>. Consulté le 18/7/2022.

**Anses.,2010**- Consommation des poissons et crustacés : aspects nutritionnels et sanitaires pour l'homme, 190p.

**Anses.,2020** -*Listeria monocytogenes*. Fiche description de danger biologique transmissible par les aliments : *Listeria monocytogenes*. Disponible sur :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0081Fi.pdf>. Consulté le 18/7/2022.

### -B-

**Balière. C., 2016** -Les *Escherichia coli* potentiellement pathogène dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC [en ligne]. Thèse de Microbiologie. Uni Bretagne Occidentale, 178p. disponible sur < <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01505750>>.

**Barker-Austin. C, Oliver James. D, Ali. A, Martinez-Urtaza.J.,2018**-*Vibrio* ssp infections, Nature reviews disease primers. 4(1):19

**Beatrice T., 2019**- Coliform as an indicator of waterborne microbial pathogens, Identification using DNA sequencing [en ligne]. Thèse de Microbiologie. Uni Bretagne Occidentale, 178p. disponible sur <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01505750>

**Ben Cheick. Y.,2017**- Mécanismes de défense hématocytaires chez *Mytilus edulis* : Interactions avec *Vibrio splendidus* sp et modulation du phénotype MXR par les

## Références Bibliographiques

contaminants environnementaux, Thèse physiologie et biologie des organismes populations- Interactions, Uni Normandie.

**Benderbouz. H, Fellahi.K., 2018**-Contribution à l'étude physico-chimique et Microbiologique des eaux de baignades (Salamandre\_Stidia), mémoire master en Hydro biologie marine et continentale, Uni Ibn Badis\_Mostaganem

Biomnis.,2013-salmonellose, précis de bio pathologie analyses médical spécialisées, 3p

**Bio-rad.,2014**-Hekyoen milieu d'isolement sélectif des *Salmonella* sp et *Shigella* sp Marnes-la-coquette-France.

**Bou\_saab.,2007**- Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban), Revue des sciences de l'eau, 20 (4) : 341-352

**Boukerf-Ben Omrane.I, El Bour .M, El Mejri.S, Bjaoui. B, Mraouna. R, Harzallah. A, Boudabous. A., 2009**- Etude de l'influence des facteurs environnementaux sur la distribution de différentes populations bactériennes dans une station mytilicole de la lagune de Bizerte (Nord-Tunisie), 22 (1) : p 79-91.

**Briet. A., 2018**-Etude de la flore bactérienne et de sa résistance aux antibiotiques des produits de la pêche et de l'aquaculture, thèse science de la matière, du rayonnement et de l'environnement, Uni Littoral Côte d'Opale

**-C-**

**CEAEQ.,2015** -Recherche et dénombrement simultané des coliformes fécaux et d'Escherichia coli dans l'eau potable avec le milieu de culture MI ; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec Rév 3 :19p

**CEAEQ.,2017** - Escherichia coli. Dans Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé publique du Québec.[en ligne]Disponible sur< <https://www.inspq.qc.ca/eau-potable/e-coli>>.

**Charles. M., 2019**-Etude des pathogènes, des conditions physiologiques et pathologiques impliqués dans la mortalité anormale de moules (*Mytilus* sp), thèse Aspect moléculaires et cellulaires de la biologie, Uni Normandie. France.

## Références Bibliographiques

**Chebouba. A.,2017-** Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux cotières et de la faune de la baie de Bousmail. Mémoire master, Uni blida1.

**China.B, Schaeztzn.M, Daube. G., 2003-** Les mollusques bivalves, des aliments dangereux, Annales de médecine vétérinaire, vol 147 :413-422.

**Clave.D.,2015-**Fiche technique *Escherichia coli*, dans fiche technique bactériologie, Toulouse, France : CTCP,5p.

**Copin.S, Raguenet.V, Véron.A, Wacrenier.C,Gay.M, Midilet.G,Harvio heath.D, Garry.P.,2021-**Bulletin épidémiologique, santé Animal et alimentation-N°94-Article 3.

### -D-

**Debabza.M.,2005-**Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville de Annaba Evaluation de la résistance aux antibiotiques des microorganismes pathogènes, mémoire de magister en microbiologie appliquée, Uni Annaba.

**Djad. M.EA., 2015 -**Qualité bactériologique des eaux littorales et méthodes d'analyses : cas du littoral Ouest Algérien, thèse Environnement Ecologie appliquée. Uni Djilali liabes de sidi bel abbes.

**Djellaili. H, Bettach F., 2007-** Contribution à l'étude physicochimique et microbiologique liée à l'activité de *Mytilus galloprovincialis*. Mémoire master Uni Blida.

### -E-

**Edberg S.C, Rice E. W, Karlin R. J, Allu M.J., 2000-**Escherichia coli: The best biological drinkin water indicator for public health protection, Journal of applied microbiology 2: 106S-116S [en ligne] disponible sur <epdf/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>

**Erqou. SA, Teferra. E, Mulu. A, Kassu. A., 2007-** A case of shigellosis with intractable septic shock and convulsions. Japanese Journal of Infectious Diseases, 60(5), 314-316.

## Références Bibliographiques

### -F-

**Farmer, J.J., Michael, J.J., Brenner, F.W., Cameron, D.N., and Birkhead, K.M.,2015-** Vibrio. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons,1–79.

### -G-

**Glavez.A, Consuelo. A, Dauphin. D, Destain. R, Campos. J, Thornat. DP., 2012-**In Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 16 (1), p 67-76. Disponible sur < <https://hdl.handle.net/2268/144875>>

**Grizel Henri.,1989-** Pathologie des mollusques bivalves et protection des cheptels coquilliers. In : Troadec J. P. (ed.), *L'Homme et les Ressources Halieutiques*, 389-418.:Disponible sur <<https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/6246/>>

**GOSSELIN-THEBERGE, M., 2015-** Campylobacter dans différents environnements aquatiques : quantification et génotypage afin de mieux évaluer les risques potentiels d'infection pour l'être humain. Mémoire de Master. Médecine vétérinaire. Université de Montréal. 221p.

### -H-

**Haftel A, Sharman T. Vibrio Vulnificus.,2022-**Apr 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID : 32119291.

**Hervio-Heath.D, Gourmelon.M, Catherine.M.,2012-** Contamination des coquillages par des bactéries pathogènes pour l'homme, 9p

### -I-

**Izzatul N.A, Mohammad. N.A, Shamarina.S, Mohd Zamri. S, Siti Zahrah. A.,2016-** Association of water quality bacteria presence in cage cultured red hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*x *O. mossambicus*, *Aquaculture Reports* 4: 57-65

### -K-

**Khichane.S & Khouas.D.,2019-**Evaluation de l'impact bactériologique des rejets de la STEP Est Tizi-Ouzou sur l'ensemble hydraulique récepteur (Oued, Nappe, Forage et réseaux de distribution), mémoire master microbiologie, Uni Mouloud Maamri.Tizi ouzou.36p.

### -L-

**Leclerc H, Mossel DAA, Edberg SC, Struijk CB., 2001**-Advances in the bacteriology of the Coliform Group: Their suitability as markers of microbial water safety. Annual Review of Microbiology; 55:201-34.

**Leight. K A, Crump B.C, Hood. RR.,2018**-assessment of fecal Indicator Bacteria and potential pathogen Co-occurrence at a Shellfish Growing area, frontiers in Microbiology 9 (384): 13p.

**Lemire. A, Goudenège. D, Versigny. T, Petton. B, Calteau. A, Labreuche. Y, Le Roux. F., 2015**- Populations, not clones, are the unit of *Vibrio* pathogenesis in naturally infected oysters. ISME J. 9: 1523–1531. doi:10.1038/ismej.2014.233

**Li.L, Meng.Hongmei, Gu D, Li. Y, Jia.M.,2019**- Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis Microbiological Research, Vol222: p43-55.

**Lupo.C, Angot. J-L., 2020**-Problèmes de santé publique liés à la consommation de fruits de mer, Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 204 (9) : 1017-1033.

### -M-

**Mainil J., 2003** - Les adhésines et facteurs de colonisation. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d' *Escherichia coli*, 147 : 105-126, [en ligne]. Disponible sur : [http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2003\\_147\\_2\\_04.pdf](http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2003_147_2_04.pdf) (consulté le 13 novembre 2022).

**McLauchlin J, Rees CED. 2015**- Listeria,. In Trujillo ME, Dedysh S, DeVos P, Hedlund B, Kämpfer P, Rainey FA, Whitman WB (ed), Bergey's manual of sy

**Moualkia H et Ansar K ., 2015** .Pathogénicité chez *Escherichia coli* . Mémoire Génétique moléculaire. Constantine :Université des Frères Mentouri Constantine, 2015,33pstematics of archaea and bacteria. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. p1–29.

**Meriouma. NE, Taleb. A.,2017**- Contribution à la contamination des moules par les bactéries du genre *Vibrio*. Vétérinaire Uni Blida 1.

**Miotto.M, Ossai.SA, Meredith.JE, Baretta.C, Kist.A, Prudenciose. S, Viera.C.RW, Parveen.S.,2018**-Genotipic and phenotypic caractérisation of *Escherichia coli* isolated from mollusks in Brazil ans the United States, Microbiology,2. (738) :14 p

OCEANOLOGIA, 44. (4):543-564.



### -P-

**Paghini.A, Azzad.IS., 2007-** Microbial intervention for better fish health in aquaculture: The Indian scenario, *Fish Physiology and Biochemistry*, volume 33, pages429–440 .

**Paillard .C, Bassem.A, Oubella.R.,2004-** Effect of temperature on defense parameters in Manila clam *Ruditapes philippinarum* challenged with *Vibrio tapetis*, 59:249-262. doi:10.3354/dao059249

**Popa GL, Popa MI. Salmonella spp. Infection.,2020–** a continuous threat worldwide. GERMS.;11(1):88-96.

### -R-

**Ramamurthy.T, Chowdhury.G, Pazhani. P.G, Shinoda. S.,2014-***Vibrios fluvialis*: an emerging human pathogen. *frontiers in Microbiology* 5. (91) 8p.

**Ramon. A.,2002-**Profile of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (Subspecies I) Serotype 4,5,12: Strains Causing Food-Borne Infections in New York City. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. 40: (6) .1924–1929.

**Remdane.Z, Ichlal. K, Ider. D, Amara. R., 2012-**Caractérisation physico-chimique, parasitologie et microbiologie du milieu d'élevage de la ferme aquacole d'Azeffoune (Algérie), : 213-221

**Ronald J.M, Dieguez A.L, Lasa. A, Balboa. S., 2014-**Nrw *Vibrio* species associated to molluscan microbiota: a review, *Frontiers in MICROBIOLOGY*, 4. (413):11p.

### -S-

**Santé Canada.,2012-**Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ; document technique, les coliformes totaux. Consulté sur [https://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt\\_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/water-eau/coliforms-coliformes/coliforms-coliformes-fra.pdf](https://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/water-eau/coliforms-coliformes/coliforms-coliformes-fra.pdf)

## Références Bibliographiques

**Santos. FS, Paula Junio.LA, Arajo. GF Azevedo. WT Dutt Ross. S, Krepsky.N.,2020-** Enterococci as Fecal Indicator in a Tropical Beach: A Case Study, Journal of social, Technological and environmental science, 9 (1) :53-72 disponible sur <http://dx.doi.org/10.21664/2238-8869.2020v9i1.p53-72> • ISSN 2238-8869

**Saulnier.D, De Decke. S, Haffner. P, Cobret. L, Robert. M, Garcia, C., 2010-** A large-scale epidemiological study to identify bacteria pathogenic to Pacific oyster *Crassostrea gigas* and correlation between virulence and metalloprotease-like activity. Microb. Ecol. 59: 787–798. doi:10.1007/s00248-009-9620-y

**Scaria J., Palaniappan R., Chiu D, Ann Phan J., Ponnala L, McDonough P., Grohon Y, Porwollik S., McClelland M., Chiou C., Chu C., Chang Y-F.,2008-** Microarray for 43 molecular typing of *Salmonella enterica* serovars, Molecular and Cellular Probes, 22(4): 238-243.

**Segolène.M., 2016-** Pathogènes urinaires provenant de Guadelupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents mémoire pour l'obtention de grade maitre en science, microbiologie, Uni Québec Institut National de la Recherche Scientifique Armand Frappier, 99p. Disponible sur < <https://espace.inrs.ca/id/eprint/4854/1/Maris-S-M-Aout2016.pdf>>

**SOMPIEV.,2017-**Guide pratique des bactéries pathogènes , Edition 2017 disponible sur< <https://pharmacie.ma/uploads/pdfs/Le-guide-pratique-des-bacteries-pathogenes.pdf>>

**Sproston.EL, Wimalarathna H M. L, Sheppard.SK.,2018-** Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*, Microbial Genomics (4): 8p.

**Strockbine, N. A., and Aurelli, A. T.,2015.-** “*Shigella*,” in *Bergey’s Manual of Systematics in Archaea and Bacteria*. Editors M. E. Trujillo, P. Dedysh, B. DeVos, B. Hedlund, P. Kampfer, F. A. Rainey, et al. (Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.).

**Stucki.K, Harbarth. S, Nendaz. M., 2014-**Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe..., Médicale Suisse, (10) : 1918-1923. Disponible sur < [https://www.revmed.ch/view/590936/4655720/RMS\\_446\\_1918.pdf](https://www.revmed.ch/view/590936/4655720/RMS_446_1918.pdf)>

## Références Bibliographiques

**Taleb.Z.M, Benghali.S, Kaddour. A, Boutiba.ZO., 2007**-Monitoring the biological effects of pollution on the Algerian west coast using mussels *Mytilus galloprovincialis*,

**Temu MM, Kaatano GM, Miyaye ND, Buhalata SN, Shushu ML, Kishamawe C, Changalucha JM., 2007**- Antimicrobial susceptibility of *Shigella flexneri* and *S. dysenteriae* isolated from stool specimens of patients with bloody diarrhoea in Mwanza, Tanzania. *Tanzan Health Res Bull.* 9(3):186-9.

**TOE.E., 2008**- Évaluation des facteurs de risques de bio contamination par *Salmonella* et *Escherichia coli* virulents de la chaîne alimentaire des légumes à Abidjan (Côte d'Ivoire), thèse en microbiologie et biotechnologies des aliments. Uni Université Nangui Abrogoua.

**TOULE.C. A, ADINGRA. A.A, KOUADIO-N'GBESSO, KAMBIRE. O, KOFFI-NEVRY, KOUSSEMON.M., 2017**- Caractérisations physico-chimiques et bactériologiques des eaux des stations aquacoles de Layo et de Jacqueline (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire) *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11 (6): 2842-2855.

-V-

**Vaillant.V, Da-Silva. NJ, Quillici.ML, Couturier.E, Le Gudyader.S. Delmas.G, Le saux J.,2017**-Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France, *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* no°50/Spécial Risques alimentaires microbiologiques : P 42-46. Disponible sur <<https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE50-art11.pdf>>

**Vandamme.P, Dewhirst.FE, Paster.BJ, Slw.O., 2015**- *Campylobacter*. In: Trujillo ME, Dedysh S, DeVos P, Hedlund B, Kämpfer P, Rainey FA and Whitman WB, editors. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. New York, NY: Springer; p. 1–27.

**Vanhove. A.S, Duperthuy. M, Charrière. G.M, Le Roux. F, Goudenège. D, Gourbal.B, Kieffer-Jaquinod, S, Couté. Y, Wai. S.N, Destoumieux-Garzón. D., 2015**- Outer membrane vesicles are vehicles for the delivery of *Vibrio tasmaniensis* virulence factors to oyster immune cells. *Environ. Microbiol.* 17, 1152–1165. doi :10.1111/1462- 2920.12535

-W-

## Références Bibliographiques

**WHO.,2008**-Guidelines for drinking water quality, third edition incorporating the first and second addenda, vol1 [ en ligne] disponible sur <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547611>

**WHO.,2018**-Escherichia coli (E.coli),disponible sur

**Wiessser.M, Widmer.A F.,2012**-Entérocoques multirésistants, Forum Med Suisse .vol 12(42) :805-802 disponible sur

[https://web.archive.org/web/20180513133241id\\_/https://medicalforum.ch/fr/resource/f/journal/file/view/article/smf/fr/fms.2012.01295/fms-01295.pdf/](https://web.archive.org/web/20180513133241id_/https://medicalforum.ch/fr/resource/f/journal/file/view/article/smf/fr/fms.2012.01295/fms-01295.pdf/)

**Who., 2018**-Salmonella (infections à, non typhiques) [en ligne]. Disponible sur : [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) (consulté le 15 novembre 2022).

-Y-

**Yun N R, Kim D.M.,2018**-*Vibrio vulnificus* infection: a persistent threat to public health, The Korean Journal of Internal Medicine. 195 :9p

-Z-

**Zormati.S, Kallek. I, Sallami. H, Gadoura. R., 2018**-Influence of environmental and seasonal factors on microbial contamination levels in clam production areas in southern Tunisia: Escherichia coli, Salmonella spp., hepatitis A virus and norovirus, 37 (3): 1061-1070.

**Zouakh. Dj, 2016** -Cours de génie aquacole les structures d'élevage destiné aux étudiants de 5ème année, février 2016.

## Annexe 1 : présentation de matériel biologique

- La moule : *Mytilus galloprovidancia*



Figure : l'espèce *Mytilus galloprovidancia*

- **Taxonomie**

**Règne** : Animal

**Sous-règne** : Métazoaires

**Phylum** : Mollusques

**Classe** : Bivalve

**Sous classe** : Ptériomorphes

**Ordre** : Mytiloidés

**Famille** : Mytilidés

**Genre** : *Mytilus*

**Espèce** : *M. galloprovidancia*

- **Distribution**

*M. galloprovidancia* est une espèce des zones à distribution géographique méditerranéenne. L'aire de répartition de cette espèce s'étend sur la cote atlantique depuis la baie d'Agadir (Maroc) jusqu'à l'île britanniques et englobe aussi l'ensemble du bassin méditerranéen, l'Afrique du sud, la Nouvelle-Zélande et la Californie.

## Annexe 2 : matériels de laboratoire



Rampe da filtration et une fiole à vide, un pompa à vide



Etuve à 37 C°



Etuve à 44 C°



COMPTEUR DE COLONIES



**VORTEX**




**Homogénéisateur**




**Annexe 3 : les milieux de culture**

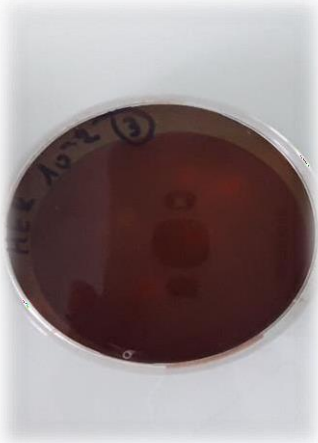
- **Milieux de cultures solides**
- **Milieu Slanetz et Bartley**

Slanetz et Bartley	Compositions (g/l d'eau distillée)
 <p data-bbox="308 1077 564 1115">(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone de caséine..... 15g</li> <li>• Extrait de soja ..... 05g</li> <li>• Extrait de levure..... 05g</li> <li>• Glucose..... 02g</li> <li>• Azide de sodium..... 0,4g</li> <li>• Phosphate dipotassique ..... 0.4g</li> <li>• Agar ..... 10g</li> <li>• pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2</li> <li>• Avant utilisation du milieu vs ajouter 1% TTC (triphenyl-2,3,5-tetrazolium chlorure)</li> </ul>


- Milieu Bile-Esculin-Azide

BEA	Compositions (g/l d'eau distillée)
 <p data-bbox="336 1043 596 1084">(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tryptone..... 17</li> <li>• Peptone ..... 03</li> <li>• Extrait de levure..... 05</li> <li>• Bile de bœuf déshydraté ..... 10</li> <li>• Chlorure de sodium ..... 05</li> </ul>


- Milieu gélose Hektoen

Hektoen	Compositions (g/l d'eau distillée)
 <p data-bbox="443 958 699 992">(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protéose peptone ..... 12</li> <li>• Extrait de levure ..... 3</li> <li>• Chlorure de sodium ..... 5</li> <li>• Thiosulfate de sodium ..... 5</li> <li>• Sels biliaires ..... 9</li> <li>• Citrate de fer ammoniacal ..... 1,5</li> <li>• Salicine ..... 2</li> <li>• Lactose ..... 12</li> <li>• Saccharose ..... 12</li> <li>• Fuchsine acide ..... 0,1</li> <li>• Bleu de bromothymol ..... 0,065</li> <li>• Agar ..... 14</li> <li>• Ph : 7.5</li> </ul>


- Milieu gélose nutritive

GN	Compositions (g/l d'eau distillée)
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone .....10</li> <li>• Extrait de viande..... 3</li> <li>• Extrait de levure.....3</li> <li>• Chlorure de sodium .....5</li> <li>• Agar.....18</li> <li>• pH : 7</li> </ul>


- Milieu gélose Tergitol

Tergitol	Composition dans l'eau (g/l)
 <p data-bbox="375 1865 635 1906">(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone .....10,00</li> <li>• Extrait de levure.....6,00</li> <li>• Extrait de viande .....5,00</li> <li>• Lactose.....20,00</li> <li>• Bleu de bromothymol .....0,05</li> <li>• Agar..... 15,00</li> <li>• Ph :7.2</li> </ul> <p data-bbox="927 1854 1433 1928">Le milieu prêt à l'emploi contient Triphényl-2,3,5-tétrazolium</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• (TTC) ..... 0,025</li> </ul>



- Milieu gélose nutritive alcaline bilié

GNAB	Composition dans l'eau (g/l)
 <p>(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone.....10g</li> <li>• Extrait de viande..... 03g</li> <li>• NaCl... ..... 05g</li> <li>• Bile de bœuf .....02g</li> <li>• Agar .....20g</li> <li>• ph=8.6</li> </ul>



- Milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose

TCBS	Composition dans l'eau (g/l)
 <p>(Photo originales)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone.....10,0 g</li> <li>• Extrait de levure ..... 5,0 g</li> <li>• Bile de bœuf ..... 8,0 g</li> <li>• Saccharose.....20 g</li> <li>• Bleu de bromothymol ..... 40 mg</li> <li>• Bleu de thymol .....40 mg</li> <li>• Citrate de sodium..... 10,0 g</li> <li>• Thiosulfate de sodium ..... 10,0 g</li> <li>• Citrate ferrique ..... 1,0 g</li> <li>• NaCl..... 10,0 g</li> <li>• Agar..... 14,0 g</li> <li>• pH = 8,6</li> </ul>





- Milieu de culture liquide (milieux d'enrichissements)
- Eau Peptone Alcaline

EPA	Composition (g/l) d'eau distillée ou déminéralisée
<p data-bbox="308 488 675 521"><b>EPA10 fois concentrées</b></p>  <p data-bbox="360 1032 619 1066"><b>(Photo originale)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone.....20,00g</li> <li>• Chlorure de sodium.....20,00g</li> <li>• pH final à 25°C : 8,5 ± 0,2</li> </ul>
<p data-bbox="244 1149 643 1182"><b>EPA simple concentration</b></p>  <p data-bbox="352 1691 611 1724"><b>(Photo originale)</b></p>	

- **Bouillon Sélénite Cystine**

SFB	Composition en (g/l) d'eau distillée ou déminéralisée
<p><b>SFB doubles concentration</b></p>  <p><b>(Photo originale)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tryptone .....5,00g</li> <li>• Lactose ..... 4,00g</li> <li>• Sélénite acide de sodium..... 4,00g</li> <li>• Phosphate disodique .....10,00g</li> <li>• L-cystine.....0,01g</li> <li>• pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2</li> </ul>
<p><b>SFB simple Concentration</b></p>  <p><b>(Photo originale)</b></p>	

## Annexe 5 : Les réactifs

Réactifs	compositions
<p><b>Kovacs</b></p>  <p>(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4-(Diméthylamino) benzaldéhyde 50 g/l</li> <li>• Butan-1-ol 75 %</li> <li>• Acide chlorhydrique (37 %) 25 %</li> </ul>
<p><b>TDA</b></p>  <p>(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution de chlorure ferrique,</li> <li>• Solution de chlorure de fer(III)</li> <li>• Réactif tryptophane désaminase</li> <li>• Urée-Indole</li> </ul>
<p><b>VP 1</b></p>  <p>(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• KOH... ..... 40G</li> <li>• H2O ..... 100ML</li> </ul>
<p><b>VP 2</b></p>  <p>(Photo originale)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alpha-naphtol .....6g</li> <li>• Ethanol ..... 10m</li> </ul>



**Annexe 6 : Eau physiologique**

**Composition (g/l) :**

- Chlorure de sodium..... 8.5
- Eau distillée..... 1000 ml
- pH = 7

**Autoclaver à 12°C pendant 15min**

