

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur  
et de la recherche scientifique

Université SAÁD DAHLAB –BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme  
de Master Académique en sciences  
Biologiques

Option : Microbiologie-Bactériologie

**Evaluation de la qualité physicochimique et  
bactériologique des eaux côtières et de la faune de  
la Baie de Bou-Ismaïl**

Présenté par : Melle CHEBBOUBA Amira  
Soutenu publiquement le 21 septembre 2017

Devant le jury composé de :

Président	Mr BOUKHATEM	MCA	USDB
Examinatrice	Mme BOUKRETA.	MCA	USDB
Promotrice	Mme HAMAIDI.	MCA	USDB
Co-promotrice	Mme. MESSBAIH F.	MRB	CNRDPA

### Introduction

Le milieu marin représente un enjeu considérable en termes de développement socioéconomique. Ces dernières décennies, la pollution des océans à travers le monde est devenue un sujet de préoccupation croissante à l'échelle internationale. La mer Méditerranée est soumise à un grave problème de pollution dû à l'accroissement des apports anthropogéniques côtiers de ses pays riverains en voie d'industrialisation. La civilisation moderne et l'activité de l'homme sont indéniablement les causes principales de la contamination de l'hydrosphère (**Lambert *et al.*, 1981 ; Salomon, 2003; Houma *et al.*, 2005**).

Ce problème a un impact , non seulement sur le volet économique et touristique , mais aussi sur la santé publique, du moment que les eaux de baignade sont le lieu ou une partie de la population peut se trouvé exposé à des polluants potentiellement dangereux (**Loic, 2004**).

Et à cause des fausses idées reçues et inculquées dans l'esprit de l'homme contemporain sur l'auto-épuration des eaux , comme étant une capacité illimitée de l'accumulation des déchets (**PNUD, 1995**). Ces milieux agonisent de produits , masses, substances qui leur sont étrangères. C'est le cas de certaines baies et ports (systèmes fermés ou semi fermés), qui sont devenues aujourd'hui le réceptacle de plusieurs sources de pollution notamment ceux des rejets industriels et domestiques (**Boutiba *et al.*, 2003**).

L'Algérie qui possède une façade maritime assez importante n'est pas épargnée, le problème de pollution le long de ses côtes ne cesse de s'accroître de jour en jour. La fréquentation des plages est devenue un besoin social de plus en plus impérieux de détente, de récupération et de bien être et si elle présente d'indéniables avantages pour la santé physique et mentale, il faut prévenir les risques multiples que celle ci peut engendrer.

La surveillance de la qualité des eaux littorales nécessite l'organisation de programmes scientifiques capables d'estimer l'état sanitaire général du milieu, d'identifier les causes de perturbations et d'obtenir une évaluation globale de la qualité du milieu (**Sahnouni, 2004**).

C'est dans ce contexte que nous avons choisi la baie de Bou-Ismaïl qui est l'une des régions qui connaît une intervention humaine intensive vue les différentes activités industrielles , agricoles , domestiques ...et récréatives , en raison de ses plages qui créent ainsi un potentiel risque sur la santé humaine due à sa fréquentation intensive surtout durant période estivale .

Malheureusement, ce site est confronté à une pollution de l'eau de mer évidente et en évolution continue. De plus cette baie représente un site propice pour le développement de l'aquaculture . Cette dernière commence à intéresser plusieurs investisseurs notamment les éleveurs de coquillage (conchyliculture) , mais il semble que le problème de pollution constitue une contrainte majeure pour l'expansion et l'exploitation de cette zone.

D'où l'intérêt de cette étude qui a pour but d'une part d'évaluer la salubrité et la qualité environnementale et sanitaire de cette baie par des analyses microbiologique et physico-chimique et d'autre part , par celles du benthos (macrofaune benthique ) en guise de bio indicateurs , témoignant de la perturbation présente dans cette zone.

**La pollution des mers n'est plus une hypothèse à débattre, mais  
une réalité à affronter.**

## II. RESULTATS ET DISCUSSION

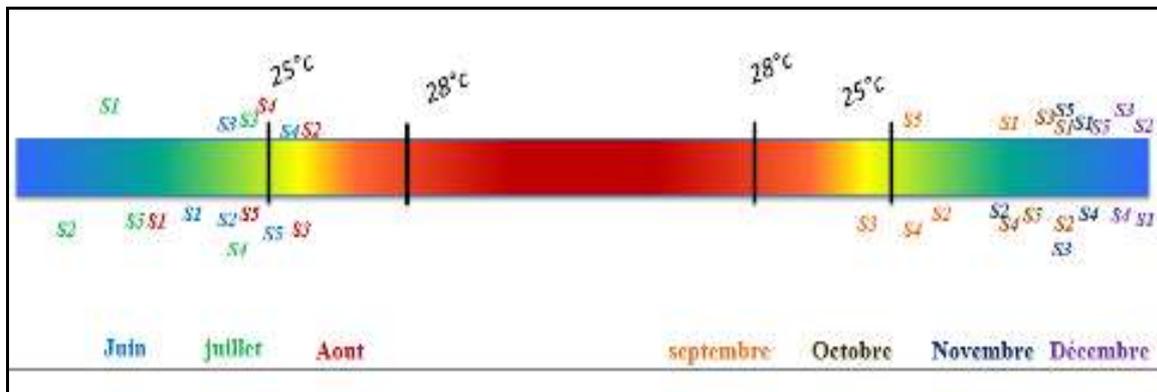
### II.1- RESULTATS DES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

#### II.1.1 Paramètres in situ :

##### ❖ Température :

Durant la période d'étude, les valeurs relatives de la température enregistrées au niveau de la côte sont comprises dans l'intervalle 18-26°C (Figure 27).

La température dans l'ensemble des stations varie en fonction des différentes données climatiques. Durant le mois de Juin, elle avoisinait les 24°C puis augmentait graduellement pour atteindre un maximum de 26°C durant le mois d'Août. Elle baisse pour atteindre les 18°C durant le mois de décembre.



**Figure 27** : Variations des températures dans les différentes stations en fonction des mois

Les résultats obtenus sont dans les normes décrite par la (JORA 2006) : 25°C, car elles sont soumises à l'influence de la température de l'air et aucun rejet thermique n'est présent dans la zone d'étude. Ces résultats corroborent avec ceux obtenues par **Larbi en 2010** dans la Baie de Bou-Ismaïl

##### ❖ Potentiel d'Hydrogène (pH) :

C'est un paramètre qui nous permet de mesurer l'acidité, l'alcalinité ou la basicité d'une eau. (**Gomella et Guerree, 1978 ; Azzoug et Lamani, 2005**).

Les valeurs de pH relevées au niveau des différents sites étudiés sont reportées dans le Tableau IX. Une valeur moyenne de  $8,1 \pm 0,2$  a été notée au niveau du site St1 à 1m qui correspond à la Plage Fouka. Les valeurs moyennes du pH dans cette station augmentent

légèrement à 5m  $8.03 \pm 0.5$ . Cette augmentation pourrait être due au phénomène de dilution, plus on s'éloigne du bord de la plage et des sources de pollution, plus les facteurs susceptibles de diminuer le pH diminuent. On note ainsi que les valeurs maximales dans cette station qui correspondent à 9.01 , 8.99, 8.91 ont été notées durant le mois de juillet à 5m .

La valeur moyenne maximale de  $8,6 \pm 0.9$  a été notée au niveau du site St2 (Rejet TONIC ) à 1m ,  $8.5 \pm 0.6$  à 5m cela peu être due au déversement des eaux usées industrielles. On note des valeurs moyennes plus faibles dans les St3 et St4 , avoisinant  $8.3 \pm 0.4$ . Il n y a pas grandes différence entre 1m et 5m. Une valeur moyenne de  $8.3 \pm 0.6$  à 1 m et  $8.4 \pm 0.4$  à 5 m a été enregistrée dans la St5.

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que globalement, les valeurs de pH répondent aux normes de qualité du décret n°81-324 du 7 avril 1981 pour les eaux de baignade, le pH doit être compris entre 6 et 9.

**Tableau (IX).** Variations du pH dans les différents prélèvements

P/St	St1(1m)	St1(5m)	St2(1m)	St2(5m)	St3(1m)	St3(5m)	St4(1m)	St4(5m)	St5(1m)	St5(5m)
P1	8.11	8.99	8.21	8.7	8.77	8.7	8	8	8.76	9.01
P2	8.27	8.89	8.96	8.73	9.51	8.88	9.35	9.56	8.64	9.1
P3	8.67	9.01	9.21	9.9	8.46	8.55	8.64	8.37	8.94	8.31
P4	8.4	8.32	8.06	8.28	8.27	8.3	8.41	8.07	8.12	8.6
P5	8.3	8.2	8.6	8.9	8.53	8.62	8.32	8.35	8.9	8.8
P6	8.15	8.03	10.8	8.21	8.29	8.2	8.26	8.32	8.12	7.96
P7	8.01	7.78	7.81	7.73	7.71	7.8	7.79	7.92	7.9	7.88
P8	7.78	7.76	7.85	7.85	7.78	7.88	8.01	8.03	7	8.09
P9	7.99	7.69	8.22	8.32	7.95	7.96	8.03	8.09	8.53	8.53

De plus, les grandes variations des valeurs de pH ont été observées au cours de la période estivale surtout au mois d'Août ; ceci s'expliquerait par l'influence des baigneurs et des activités estivales. Le déversement des eaux usées domestiques ou industrielles pourrait également influencer le pH du milieu malgré son pouvoir tampon comme l'ont déjà souligné **Yahiatene (2010) et Bliefert et Perraud (2001)**.

En général, en milieu côtier, certains rejets industriels ou les apports d'eaux de ruissellement sont la cause de variation du pH qui s'avère être dans ce cas un indice de

pollution. Mais cette variation reste très localisée aussi bien dans le temps que dans l'espace et cela est du fait du « pouvoir tampon » de l'eau de mer (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

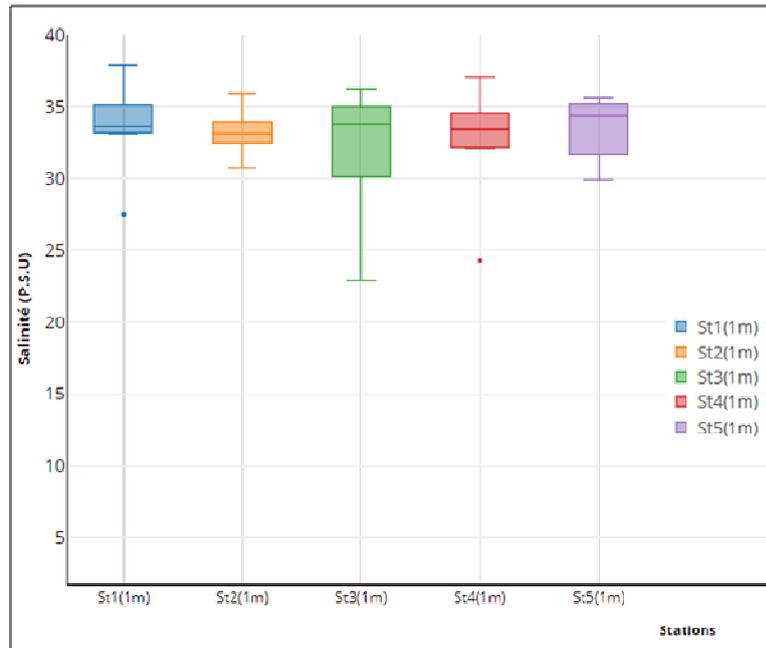
### ❖ Salinité :

On observe que les valeurs moyennes de la salinité avoisinent les 33 P.S.U dans l'ensemble des stations à l'exception de la station St3 avec une valeur faible 32 P.S.U ,  $32.1 \pm 4.1$  P.S.U à 1m et  $32.7 \pm 2.6$  P.S.U à 5m. (Figure 28 et 29)

en tenant compte que durant la journée du 15 Août 2016 où un grand nombre de baigneurs était présent, nous avons enregistré une baisse considérable de la salinité (22 P.S.U) (Voir Annexe II, figures 31 et 32).

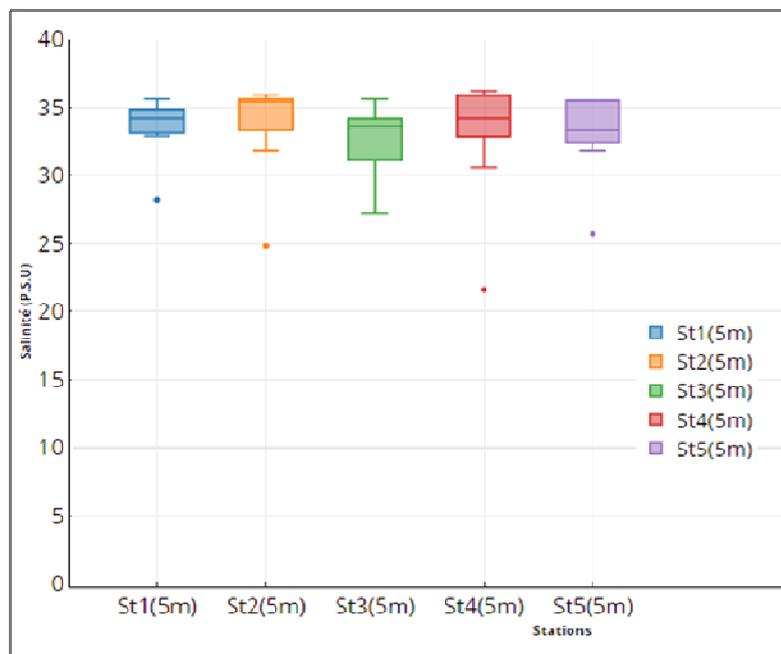
Les valeurs moyennes enregistrées dans la station (St2) son relativement élevées (33.6 P.S.U). Cette augmentation pourrait être due à l'effet du rejet et les différentes substances physiques et chimiques qui perturbent la salinité du milieu car selon (**Aminot et Kerouel ,2004**), la salinité est le traceur idéal des mélanges entre l'eau douce et l'eau de mer. Néanmoins, ces résultats concordent à ceux obtenus par (**Mahiout,1989**) dans la baie de Bou-Ismail

Dans cette étude, les valeurs obtenues sont supérieures à la norme Algérienne recommandée qui est de 35 P.S.U (**JORA, 2006**) dans plusieurs prélèvements particulièrement dans la stations 1 à 1m.



**Figure 28** : Variations moyennes de la Salinité par station à 1m

**Légende** : (St1) :  $33.6 \pm 2.7$  P.S.U - (St2) :  $33.5 \pm 2.5$  P.S.U - (St3) :  $32.1 \pm 4.1$  P.S.U - (St4)  $32.9 \pm 3.6$  P.S.U (St5) :  $33.4 \pm 3.12$  P.S.U



**Figure 29** : Variations moyennes de la Salinité dans les stations à 5m

**Légende** : (St1) :  $33.5 \pm 2.2$  P.S.U - (St2) :  $33.6 \pm 3.5$  P.S.U - (St3) :  $32.7 \pm 2.6$  P.S.U - (St4)  $33.0 \pm 2.6$  P.S.U (St5) :  $33.1 \pm 3.1$  P.S.U

### ❖ Conductivité :

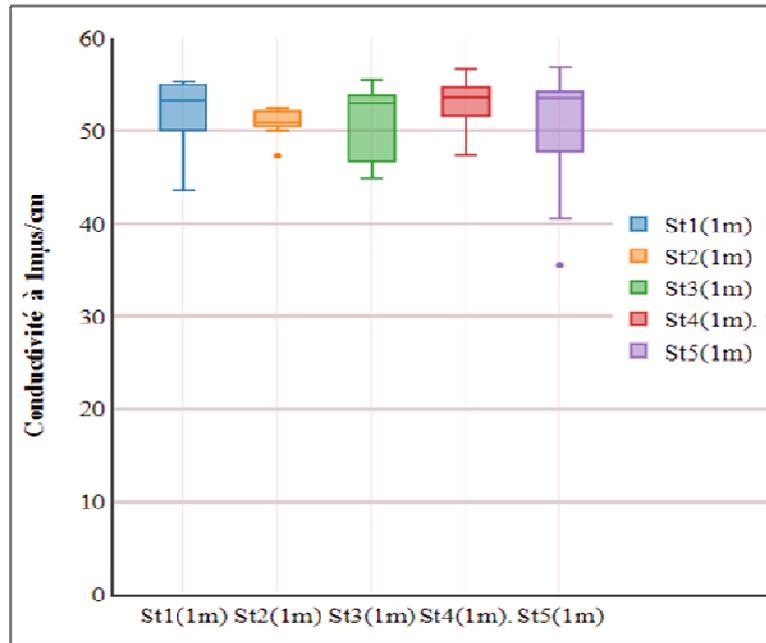
Les valeurs de la conductivité relevées au niveau des différents sites étudiés sont reportées dans les figures 30 et 31 et le Tableau (Voir Annexe II).

A partir des résultats obtenus, nous avons constaté que les valeurs moyennes de la conductivité sont comprises entre 50.8  $\mu\text{s/cm}$  la valeur la plus faible enregistrée au niveau de la station 2 (Rejets TONIC) et 53.9  $\mu\text{s/cm}$ , la valeur la plus élevée au niveau de la station 5 (CHENOUA plage). Ces augmentations peuvent être dues aux différentes substances émises dans le milieu par les rejets industriels.

A la station 2, on remarque que la conductivité à 5m est légèrement supérieure à la conductivité à 1m  $50.8 \pm 1.5 \mu\text{s/cm} > 52.5 \pm 1.5 \mu\text{s/cm}$ . Cette différence peut être expliquée par les débris de papiers, cartons issues du rejet de « Tonic industrie ». Plus on s'éloigne du littoral, plus la conductivité augmente par l'effet dilution.

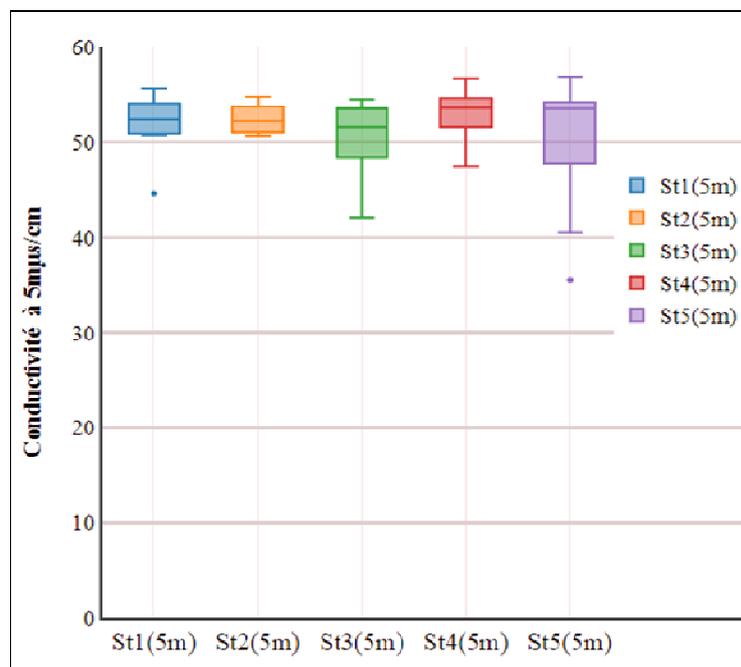
Nous avons remarqué que la conductivité est plus élevée dans la station 5 (CHENOUA plage) à 5m plus qu'à 1m  $52.3 \pm 2.6 \mu\text{s/cm} > 50.1 \pm 7.2 \mu\text{s/cm}$ . Cette différence pourrait être expliquée d'une part par les canalisations d'eux usées qui se déversent directement dans le large et d'autre part par le déversement d'huiles par le trafic maritime.

**Selon Aquabase (2017)**, les variations de la conductivité sont dues également à la dégradation des déchets (nourriture, déjection, feuilles mortes) qui par l'intermédiaire des bactéries vont effectuer des transformations qui se traduisent par des accumulations de sels, comme l'ion nitrates, phosphates et autres. Cette dégradation est plus communément appelée « cycle de l'azote ».



**Figure 30:** Variations moyennes de la conductivité par Station à 1m

**Légende :** (St1) :  $51.9 \pm 3.7$  P.S.U - (St2) :  $50.8 \pm 1.5$  P.S.U – (St3) :  $50.7 \pm 3.9$  P.S.U - (St4)  $51.3 \pm 5.2$  P.S.U - (St5) :  $50.16 \pm 7.2$  P.S.U



**Figure 31:** Variations moyennes de la conductivité par Station à 5m

**Légende :** (St1) :  $51.8 \pm 3.1$  P.S.U - (St2) :  $52.5 \pm 1.5$  P.S.U – (St3) :  $50.7 \pm 3.9$  P.S.U - (St4)  $52.9 \pm 2.8$  P.S.U (St5) :  $51.1 \pm 7.2$  P.S.U

### II.1.2 Résultats des matières azotées :

L'évolution des nitrites et de l'ammonium dans les eaux côtières échantillonnées est des la suivante :

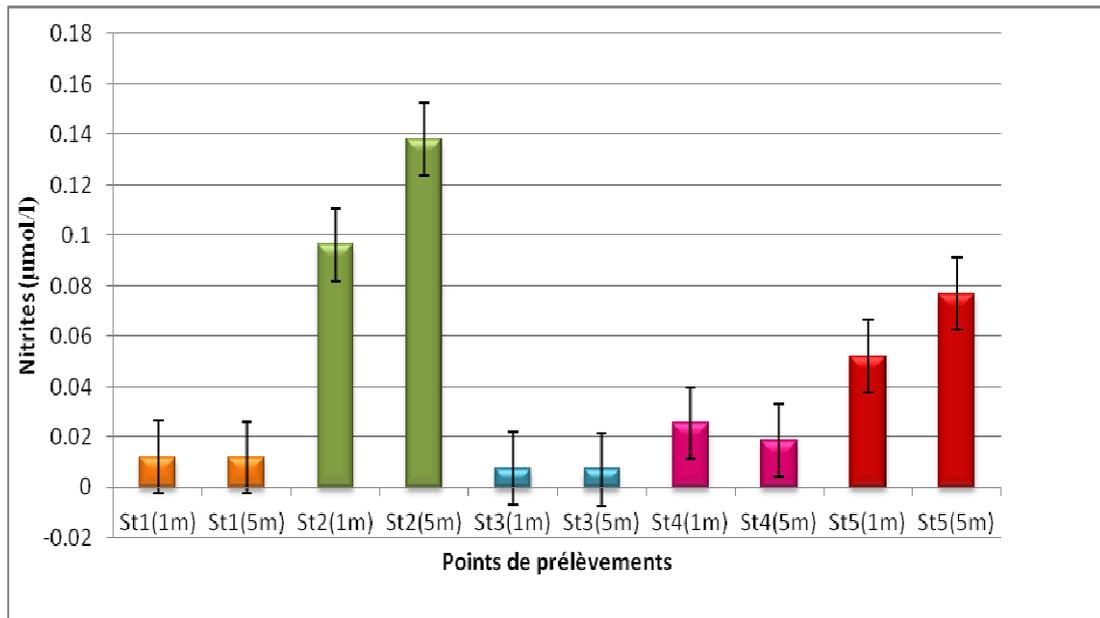
#### ❖ Nitrites

La Figure 32 montre que les concentrations moyennes des nitrites dans la baie de Bou-Ismaïl varient entre  $0.13 \pm 0.32$  mg/l et  $0.007 \pm 0.001$  mg/l.

Les valeurs maximales sont enregistrées dans la station 2 avec une moyenne de  $0.13 \pm 0.32$  mg/l à 5m et une moyenne de  $0.09 \pm 0.175$  mg/l, ceci s'expliquerait par la pollution industrielle due au rejet de Tonic industrie. La différence entre 1m et 5m peut être due à la dilution ou bien à la réduction des ions nitrites en nitrates par une action bactérienne « dénitrification » (Rodier *et al.*, 2005) en tenant compte que c'est la station où on a enregistré la plus grande diversification microbienne. Durant la saison estivale, les valeurs dans cette station sont plus élevées due à l'influence des activités estivales et un plus grand nombre de baigneurs.

Les deuxièmes valeurs élevées sont enregistrées dans la station 5 dont l'origine est probablement due aux différents pesticides et engrais utilisés dans les activités agricoles de la région.  $0.07 \pm 0.09$  mg/l à 5m >  $0.05 \pm 0.08$  mg/l à 1 m, cette différence peut être due aux effluents de l'embouchure de Oued Nador qui rejoint la mer, pas loin de notre point de prélèvement.

Quant aux stations St1, St3 et St4, les concentrations en nitrites sont faibles à l'exception du mois d'Aout où on a enregistré 0.16 mg/l illustrant ainsi l'effet baigneurs.



**Figure 32 :** Variations moyennes des Nitrites dans les différents points de prélèvements

### ❖ L'Ammonium :

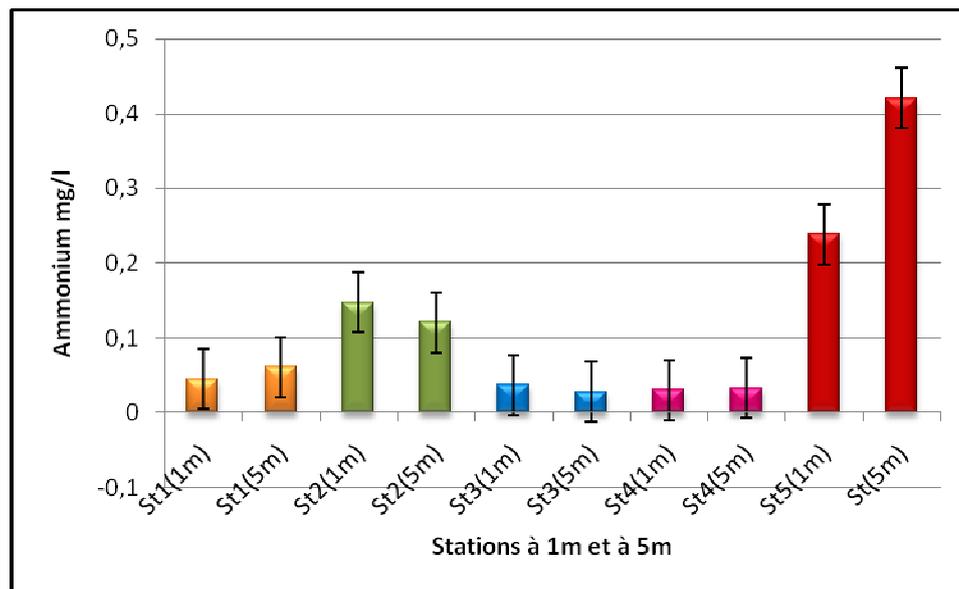
Suite aux résultats présentés en **Annexe III** et la figure 33, on remarque que les concentrations moyennes de l'ammonium sont comprises entre  $0.11 \pm 0.36$  mg/l et  $0.05 \pm 0.002$  mg/l.

Le point le plus concentré est la station 5. Ce taux élevé ammonium peut être due aux eaux usées ménagères en provenance de l'embouchure de l'oued NADOR qui se déverse pas loin de notre points de prélèvement. Dans les eaux résiduaires domestiques, l'azote est présent essentiellement sous forme organique et ammoniacale provenant surtout des déjections animales et humaines et des rejets agro-alimentaires (**Metcalf et Eddy, 2003**). On note aussi une concentration moyenne de  $0.04 \pm 0.21$  à 1m et  $0.11 \pm 0.42$  mg/l à 5m. Cette différence s'explique par la canalisation des eaux usées qui se déverse dans le large.

On a enregistré également une concentration moyenne en ammonium de  $0.14 \pm 0.23$  mg/l dans la station 2. Cette valeur est due aux eaux usées industrielles.

Comme pour l'ensemble des paramètres, les concentrations de l'Ammonium sont faibles dans les stations S1 ,S4 et S3 car elles ne sont pas sujettes à autant de sources de pollution et subissent moins de pression anthropique exception faite pour la saison estivale.

Selon Aminot et Chaussepied (1983), les concentrations décelées dans certains sites sont très élevées ce qui pourrait être expliqué également par la dégradation incomplète de la matière organique. Généralement, l'azote ammoniacal provient des excréments animaux et de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés. Il est utilisé par le phytoplancton comme source d'azote et oxydé par les bactéries nitrifiantes. Les concentrations sont très variables en fonction du lieu et de la saison (Chachuat *et al*, 2007).



**Figure 33 :** Variations moyennes de l'Ammonium dans les différents points de prélèvements

### ❖ Orthophosphates :

La figure 34 montre que les teneurs en Orthophosphates varient entre  $0.11 \pm 0.07$  mg/l (St2) à 5m et  $0,03 \pm 0.02$  mg/l (St4) à 1m.

On remarque que les orthophosphates sont très concentrés à 1m qu'à 5m. Cette augmentation confirme leur provenance du rejet industriel et les différentes substances chimiques générées qui peuvent influencer les concentrations des sels nutritifs en plus des rejets ménagers.

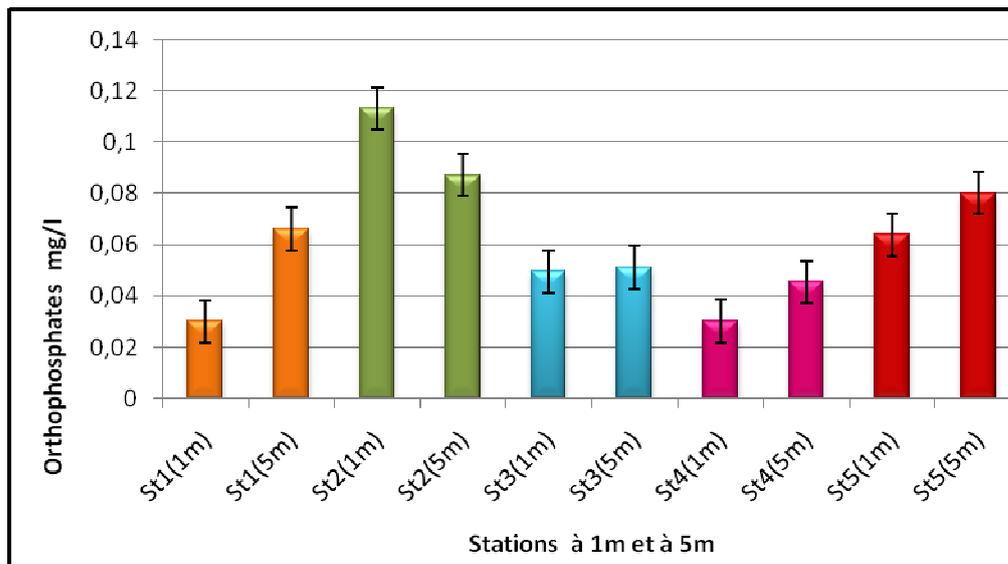
Les rejets de détergents et les rejets ménagers sont à l'origine de 50 à 70% du phosphore. Ces détergents et en particulier, les lessives, utilisent des poly phosphates pour lutter contre la dureté de l'eau, faciliter l'émulsion des graisses et maintenir la salissure en suspension. Les polyphosphates sont ensuite rejetés au cours du rinçage et ont tendance à s'hydrolyser en phosphates dans les eaux usées (**Franck, 2002**).

La baisse à 5m peu être due a l'effet de la dilution ou bien à la dégradation par les micro-organismes assurant la dégradation du carbone et de l'azote intègrent le phosphore à leur matériel cellulaire (structure membranaire, ATP et ARN) , phosphore éliminée, simplement par cette voie, représente environ 25% de la quantité journalière à dégrader (**Deronzier et Choubert, 2004**).

On note également une concentration importante au niveau de la station 5 (0.06-0.08 mg/l) cela provient de la dégradation de la matière organique ou des polyphosphates (utilisés pour le traitement des eaux ou comme adjuvants actifs dans les détergents).Sa présence dans l'eau est également liée à l'utilisation des engrais (**Le pimpec et al .,2002**).

Quand à la concentration moyenne des orthophosphates dans les autres stations S3 , S4 , S1, elles sont faibles. On enregistre une concentration moyenne légèrement élevée au niveau de la station 1 à 5m ( $0.06 \pm 0.07$  mg/l). Cette augmentation peut provenir de l'influence du courant , la proximité de notre station à une usine de dessalement , ou l'influence des activités agricoles de la région.

La concentration la plus faible est enregistrée au niveau de la station 4 (station de référence)  $0.03 \pm 0.02$  mg/l , par le fait que c'est la station qui subit le moins de pression anthropique en dehors de la saison estivale .



**Figure 34 :** Concentrations moyennes des Orthophosphates dans les différents points de prélèvements

### ❖ **Matières en suspension (MES) :**

Les normes nationales (Décret exécutif 06-141 du 19 avril 2006 / JORADP / 23-04-2006) et internationales (**OMS/PNUE, 1995**) fixent comme valeur limite pour les MES, dans les effluents liquides (ménagers, industriels et agricoles), une concentration de 35 mg/l. Les concentrations mesurées dans les effluents urbains de la baie de Bou-Ismaïl dépassent souvent la norme (Figure 35).

Globalement, les teneurs en MES des eaux côtières de la Baie de Bou-Ismaïl sont très élevées, dépassant largement la norme qui est de 35mg/l à l'exception du mois de juin où on a noté des valeurs dans les normes allant entre 17 et 29 mg/l pour la majorité des stations sauf la station 5 et la station 2 qui correspondent à la plage CHENOUA et le REJET TONIC

Ces teneurs élevées pourraient être du d'une part au déversement de l'Oued NADOR qui déverse en plein plage et qui se rapproche de notre point de prélèvement, et d'autre part au rejet de l'industrie papetière qui déverse en plein mer, augmentant ainsi les charges en cartons et en déchets.

A partir du mois de juillet les concentrations en MES ne cessent d'augmenter, on note des valeurs extrêmes (924 mg/l – 670 mg/l -474mg/l ...) durant le mois d'Août.

On conclut alors que les baigneurs influencent de façon significative les eaux en apport en MES.

Les valeurs hors normes peuvent avoir un effet négatif car les teneurs élevées peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuent l'oxygène dissous et limitent alors le développement de la vie aquatique en créant des déséquilibres entre diverses espèces, et influencer ainsi l'aquaculture (Vollenweider *et al.*, 1996). Elles peuvent être aussi responsables de l'asphyxie des poissons par colmatage des branchies. (Rodier, 1997; Berne et Cordonnier, 1991) Elles peuvent aussi interférer sur la qualité d'une eau par des phénomènes d'adsorption notamment de certains éléments toxiques, et de ce fait être une voie de pénétration de toxiques plus ou moins concentrés dans l'organisme (Sirone *et al.*, 1986).

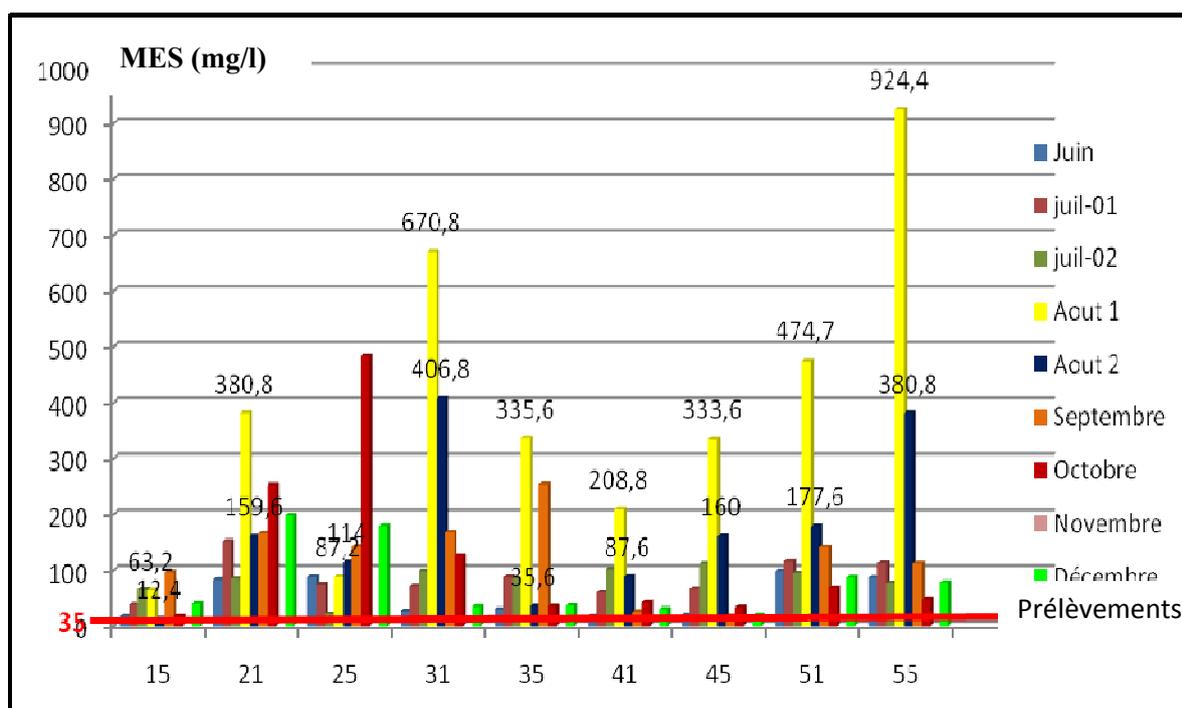


Figure 35 : Variations mensuelles des MES dans les différents points de prélèvements

## II.2. PARAMETRES BACTERIOLOGIQUES

### II.2.1. Niveaux de contaminations dans chaque station

Durant la période de surveillance bactériologique de l'eau de mer sur la baie de Bou-Ismaïl, il a été constaté que les taux des germes fécaux et indicateurs de pollution subissent des fluctuations spatiotemporelles importantes.

Les Coliformes totaux (Ct), les coliformes Fécaux (Cf), ainsi que les Entérocoques évoluent de manière différente :

#### Station 1

Dans cette station, les Ct et Cf évoluent de la même façon durant la période d'étude. Les concentrations en Ct durant le mois de juin sont : octobre (159 UFC à 1m et 50 UFC à 5m), novembre (153 UFC à 1m et 42 UFC à 5m) et décembre (120 UFC à 1m et 0 UFC à 5m). Pour les Cf, les valeurs sont : octobre (0 UFC pour 1m et 5m), novembre (46 UFC à 1m et 50 UFC à 5m) et décembre (39 UFC à 1m et 55 UFC à 5m) (Figure 35).

Globalement, toutes ces valeurs sont faibles et ne dépassent pas les normes décrites par le JORA (2006) et par CEE (2010) et qui sont de 500 UFC/100ml pour les coliformes totaux et 100 UFC/100ml pour les coliformes thermotolérants.

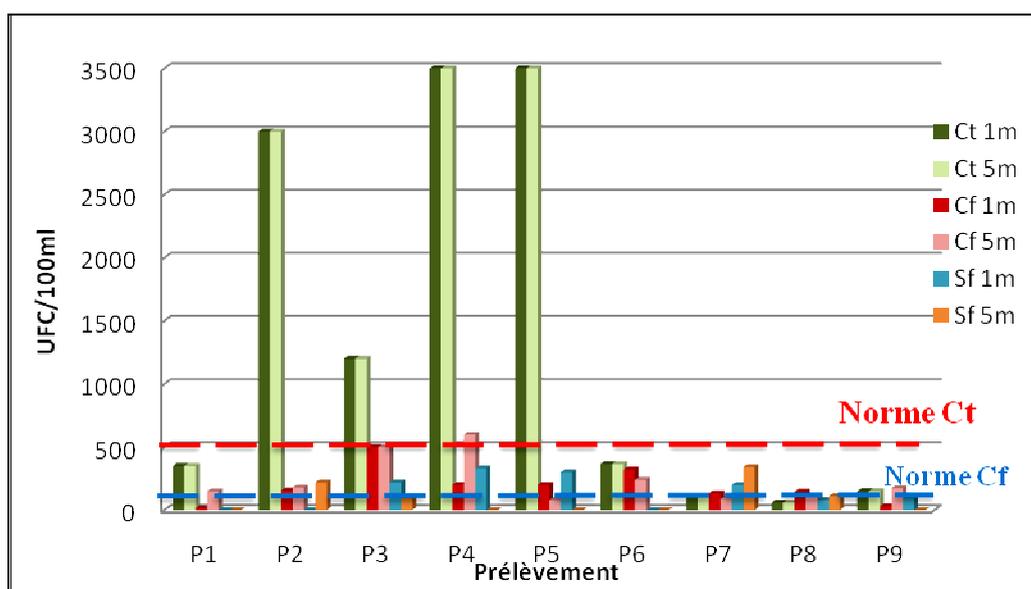


Figure 35 : Variation des Ct, Cf et Sf dans la Station 1 à 1m et à 5 m

Ces taux faibles sont due d'une part à la diminution de la fréquentation humaine dans les plages, et d'autre part soit à l'influence température de l'eau soit aux différents facteurs climatiques susceptibles d'influencer la prolifération des germes .

Par rapport aux mois de la saison estivale, les eaux échantillonnées présentent des concentrations plus élevées en Ct et Cf : Juillet (2900UFC /100ml à 1m et 3000UFC/100ml à 5m pour le Ct – 500UFC/100ml à1m et 531UFC/100ml à 5m pour les Cf).

Nous avons enregistré un maximum durant le mois d'août : 2900UFC/100ml à 1m et 3500UFC/100ml à 5m pour les Ct – 200UFC /100ml à 1m et 599UFC/100ml à 5m pour les Cf.

Ceci pourrait s'expliquer par les rejets des eaux domestiques ruisselant directement à partir des habitations dans un émissaire situé près de la station et qui se déversent tous vers la plage comme l'a déjà signalé **Touzi en 2001**. A cette pollution ; s'ajoute celle des baigneurs, car ce qu'il faut savoir c'est que les coliformes meurent lors de leur séjour en mer. Par conséquent, leur présence indique une contamination récente par les matières fécales (**OMS,1995 ; Galaf et al., 2003** ) , ce qui nous amène à conclure que les baigneurs en sont à l'origine.

Sachant que les Sf sont des témoins de contamination fécale (**Rodier ;1984**), la teneur en streptocoques varie entre 0UFC/100ml et 340 UFC/100ml. Ces valeurs dépassent les normes (100UFC/100ml) durant le mois juillet et Août à 1 m. On a enregistré également des augmentations 200UFC/100ml à 1m et 340 UFC/100ml à 5m au mois d'octobre, Ces résultats corroborent avec ceux de l'étude des plages à l'ouest de Sidi Fredj (**Zouitni , 1990**)

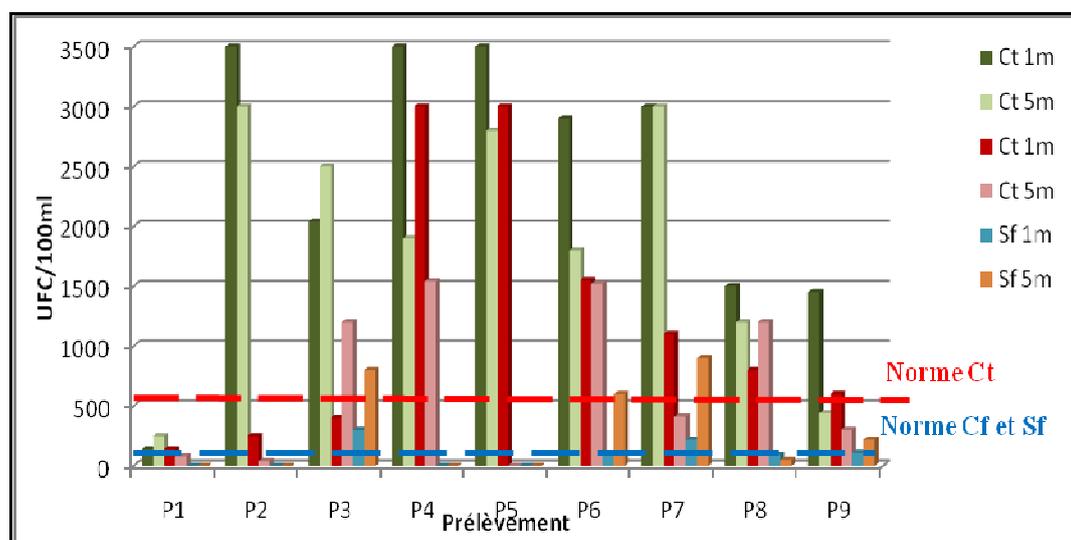
### Station 2 :

L'ensemble des concentrations en Ct dans cette station sont > à 500 ml et dépassent largement les normes décrites par le **JORA et la CEE** , à l'exception du mois de juin (140UFC/100ml à1m et 249UFC/ 100 ml à 5m ) lorsque le rejet n'était pas en activité , et le mois de décembre à 5m (440UFC/100ml) (Figure 36) .

Au cours des autres mois, on a enregistré des valeurs élevées qui varient entre 1200 et 3500 UFC/100ml. Ces valeurs témoignent d'une contamination continue due essentiellement au rejet industriel. En effet , les effluents des eaux usées, sont souvent déversés directement dans les habitats sous-marins peu profonds, et peuvent avoir des effets importants sur le microbiote côtier comme l' ont déjà signalé **Terlizzi et al., en 2002**.

On note que les concentrations des Ct à 1 m est plus élevées qu' à 5 m, on en conclut que plus on se rapproche du rejet, plus les concentrations augmentent, à l'exception du deuxième prélèvement de juillet où on a noté des concentrations en Ct et Cf plus élevées à 5m qu'à 1m cela pourrait être due a effet d'une eau obturée qui réduit l'optimum écologique des germes (Cirad,2007). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Achiche (2010) dans son étude sur l'impact du rejet « TONIC ».

S'agissant des Sf, nous avons constaté que dans cette station, les concentrations dépassent la norme impérative de salubrité pour les eaux de baignade (CEE, 1975 et Rodier *et al.*, 1996) dans l'ensemble des prélèvements à l'exception de ceux de Juin. Ce qui signifie que leur présence est liée aux rejets surtout pour les prélèvements d'Aout P4 et P5. Ces fluctuations s'expliquent également selon Brisou et Denis, (1980) par, le déversement des rejets dans le milieu marin des agents pathogènes microbiens, des déchets humains et animaux qui sont devenus une préoccupation majeure pour les côtes marines (Gifford *et al.*, 2004).



**Figure 36 :** Variation des Ct, Cf et Sf dans la Station 2 à 1m et 5 m

### Station 3

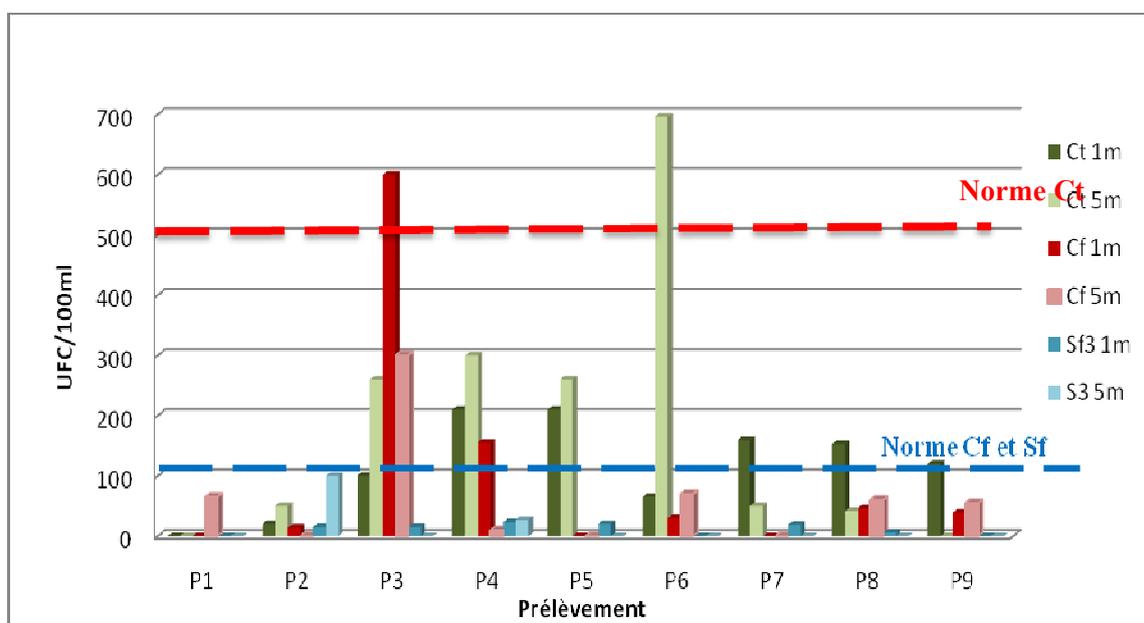
Cette station est très convoitée par les baigneurs et par les activités aquacoles, ce qui nous a permis de bien voir l'effet des baigneurs. On note l'absence de germes durant le mois de juin à l'exception des Cf à 5m (65UFC/100ml) (Figure 37) cela pourrait être due aux

activités conchylicoles dans cette station, la surveillance des zones conchylicole doit être soumise à des conditions bien rigoureuses (**Delarass et Tabol. ;2003**).

Les valeurs en Ct commencent à augmenter durant la période estivale avec une valeur maximale au mois d'Aout (300UFC/ 100ml ) mais ne dépasse pas les normes décrites par le **JORA (2006)** < à 500UFC/100ml.

Les Cf connaissent une fluctuation plus importante, on enregistre des dépassements de 600 UFC /100ml à 1m et 300UFC /100ml à 5m durant le mois de juillet. Cette augmentation est due aux baigneurs qui sont plus nombreux à 1m qu'à 5m.

Les valeurs des Sf sont faibles et conformes à la norme Algérienne ne dépassant pas les valeurs requises à une contamination bactérienne par les Sf (**JORA ,2006**).

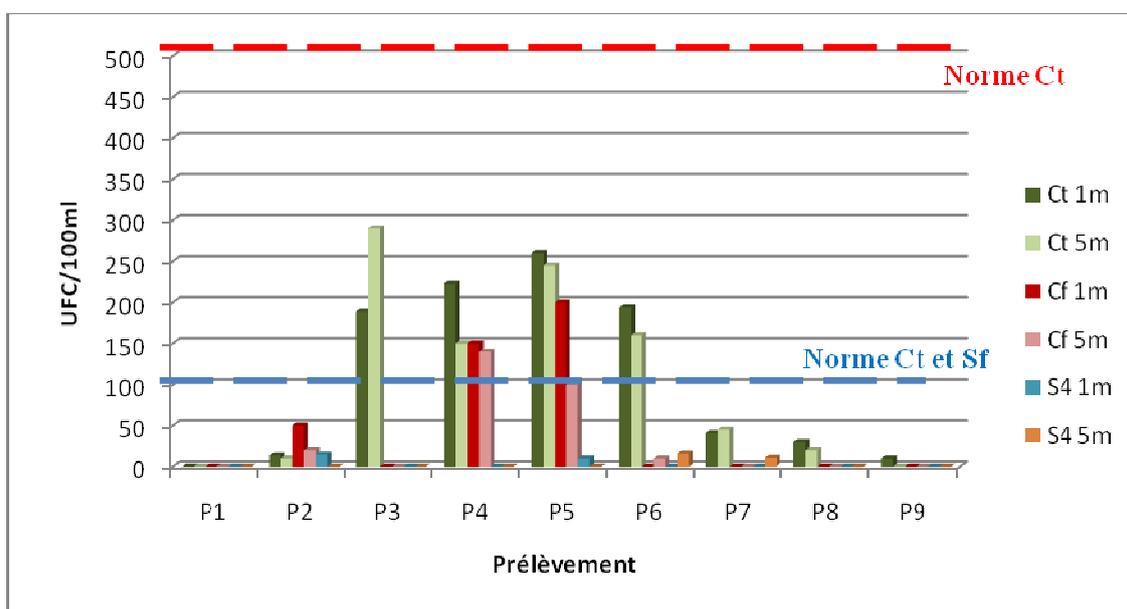


**Figure 37 :** Variation des Ct, Cf et Sf dans la Station 3 à 1m et 5 m

Généralement, l'effet des baigneurs sur la qualité de l'eau est surtout considéré comme une accumulation microbienne. Les baigneurs eux-mêmes peuvent influencer directement la qualité de l'eau. Selon **Al Safady (2012)**, il existe une corrélation significative entre le nombre de nageurs présents sur la plage et le sable.

### Station 4

Cette station considérée comme station de référence nous a permis de voir concrètement l'effet des baigneurs. On note l'absence de germes 0UFC/100ml durant le mois de juin là où il y'avait aucune activité sur la plage. Par la suite, on note une augmentation des Ct durant les mois juillet (de 14 UFC/100ml à 1m et 10UFC/100 ml à 5m dans le P3 jusqu'à 189UFC/100ml à 1m et 289 UFC / 100ml à 5m en P4 ). Ces valeurs continuent à augmenter durant Août et septembre avec une valeur plus élevée 300UFC /100ml mais ne dépasse pas les normes < 500 UFC /100ml (Figure 38).



**Figure 38 :** Variation des Ct, Cf et Sf dans la Station 4 à 1m et 5 m

La concentration en Cf augmente en Août ( 150 UFC /100ml à 1m et 140 UFC /100ml à 5m ) pour le P4 et (200 UFC /100ml à 1 et 100UFC/ 100m l à 5m ) et dépasse la norme > **100 UFC/100ml**.

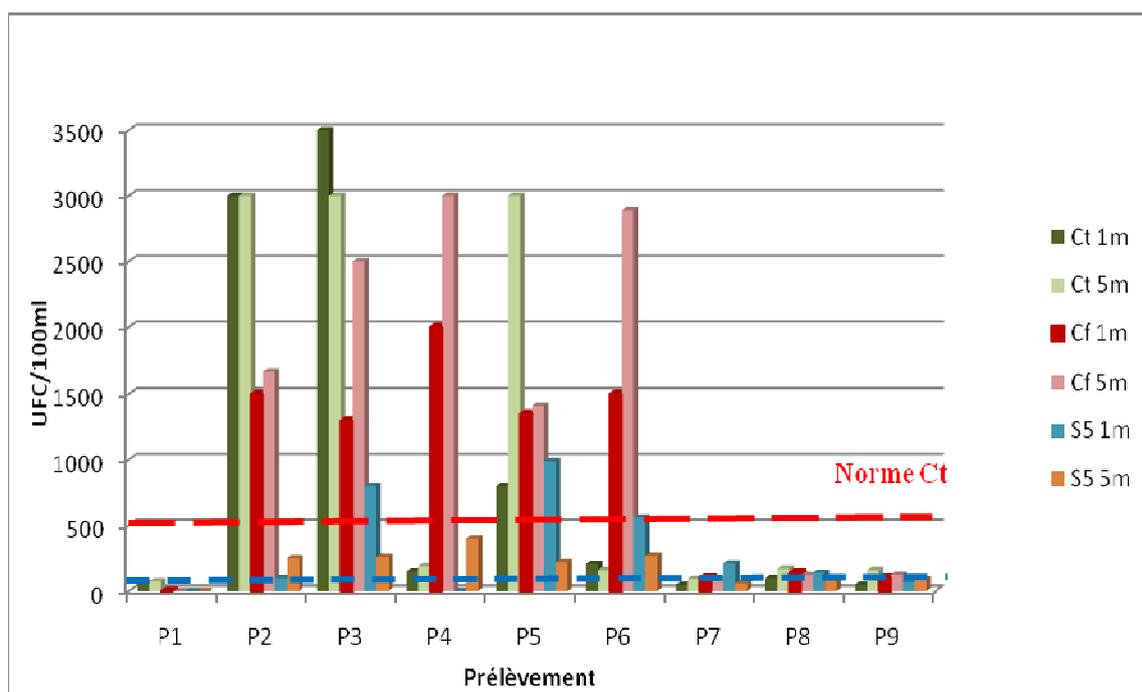
La teneur en Ct et Cf à 5m et à 1m évolue de la même manière à l'exception du deuxième prélèvement de juillet où on remarque que les teneurs en germes à 5m sont plus élevées que ceux à 1m cela pourrait être expliqué par le fait que cette plage est plus ou moins plate et fermée. On a également remarqué que l'aspect de la mer était particulièrement pollué avec une formation de pellicule en surface, les pics de bactéries fécales peuvent provenir des zones pâturées ou des bassins agricoles fertilisés. d'autres épisodes de contamination indépendants du débit signalent plutôt des pollution ponctuelles ( **Meals, 2004**).

Les teneurs en streptocoques fécaux sont les plus faibles. D'une façon générale, les concentrations en streptocoques fécaux dans les milieux naturels sont inférieures à celles des coliformes fécaux (RODIER *et al*, 1996)

### Station 5

Les concentrations en Ct, Cf et Sf étaient très faibles durant le mois de juin, puis elles augmentent de façon significative durant la saison estivale avec une valeur 3500 UFC/100 ml pour les Ct. (Figure 39)

Les concentrations en Cf sont plus importantes à 5m qu'à 1m, 3000UFC/100ml durant le mois d'Août, 1670-2500UFC/100ml durant le mois de juillet et 2890 UFC /100ml durant septembre. Cette différence peut être expliquée par les canalisations des eaux usées qui déversent dans le large ainsi qu'aux activités estivales importantes durant cette période comme l'a déjà signalé Loredana (2013) dans son étude.



**Figure 39 :** Variation des Ct, Cf et Sf dans la Station 5 à 1m et 5 m

La concentration des Sf est importante durant toute la période de surveillance dépassant les normes guides > 100UFC/100ml avec un pic en Août (990UFC/100ml). Les Sf sont plus résistants et plus persistants dans l'environnement que les coliformes avantageux

lorsque l'on cherche à identifier une contamination fécale ancienne ils sont ubiquistes dans l'eau (Armisen, 2005).

D'après l'OMS (2002) et Prescott *et al.*, (1995), l'abondance des streptocoques fécaux dans le milieu marin est due à leurs caractéristiques physiologiques qui leur confèrent une meilleure adaptation pour persister plus longtemps (à l'opposition d'*E. coli*) vue leur résistance à une concentration de 6,5% de Na Cl et à une température de 10 à 45°C.

Les résultats sont d'environ 50% de dépassement aux valeurs guides pour les Cf et de même pour les Sf. Les dépassements aux valeurs guides sont observés 5 fois au cours de cette étude, particulièrement durant le mois de Août, ce qui nous permet d'établir le lien avec la saison estivale et l'effet des baigneurs comme ce fut le cas de l'étude d'Elmir *et al.*, (2007).

### II.2.2 Comparaison des stations :

#### Comparaison entre les Stations au long de la Baie de Bou-Ismaïl :

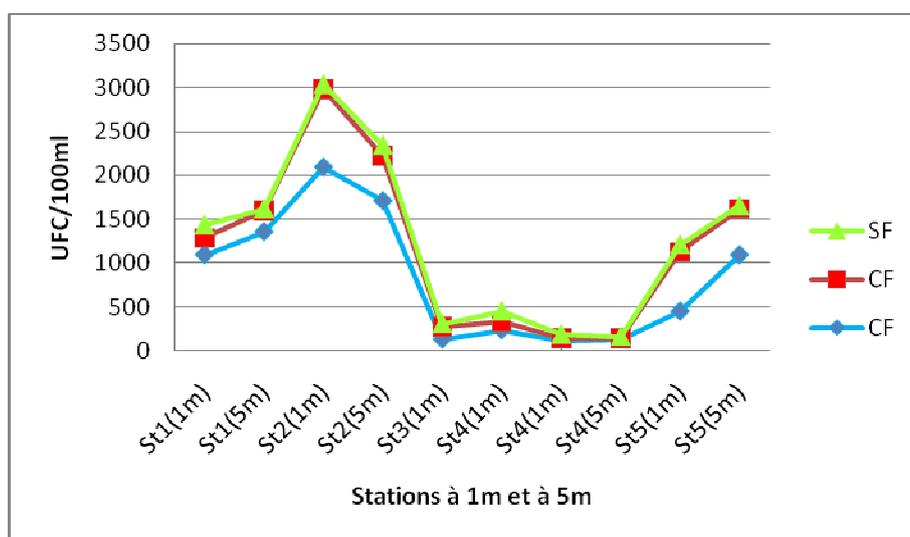
La baie de Bou-Ismaïl connaît différents points et sources de pollution, avec une moyenne de concentrations de germes qui diffèrent d'une station à une autre. (Figure 40). On note que le point le plus pollué en Ct Cf et Sf est la station 2 qui correspond au rejet industriel « TONIC » avec des concentrations allant de (2000-3000 UFC/100ml), probablement due aux perturbations générées par le rejet industriel et la légère agitation des eaux de mer qui aurait pu mettre en suspension les germes piégés dans les sédiments.

Cette charge est due à l'enrichissement des eaux par les eaux usées brutes en matières organiques, à l'abondance de l'oxygène dissout et à une température modérée qui rendent le milieu favorable au développement bactérien. D'après Servais *et al.*, (1999), les hautes teneurs en matières en suspension favorisent la présence et la survie des bactéries fécales.

La deuxième station la plus polluée est la station 5 qui correspond à la plage « CHENOUA » qui est sujette au déversement de l'embouchure de Oued NADOR et des effets de l'activité agricole de la région déjà signalé par Aouidad (1997).

La station 1 qui correspond à la plage « FOUKA » qui connaît différentes sources de pollutions, du fait qu'elle se situe entre le déversement de plusieurs rejets et plusieurs activités agricoles et industrielles (Touzi ;2001).

Les stations 3 et 4 sont les moins polluées avec des valeurs en Ct , Cf et Sf faibles et plus au moins dans les normes ne dépassant les normes que durant la saison estivale .



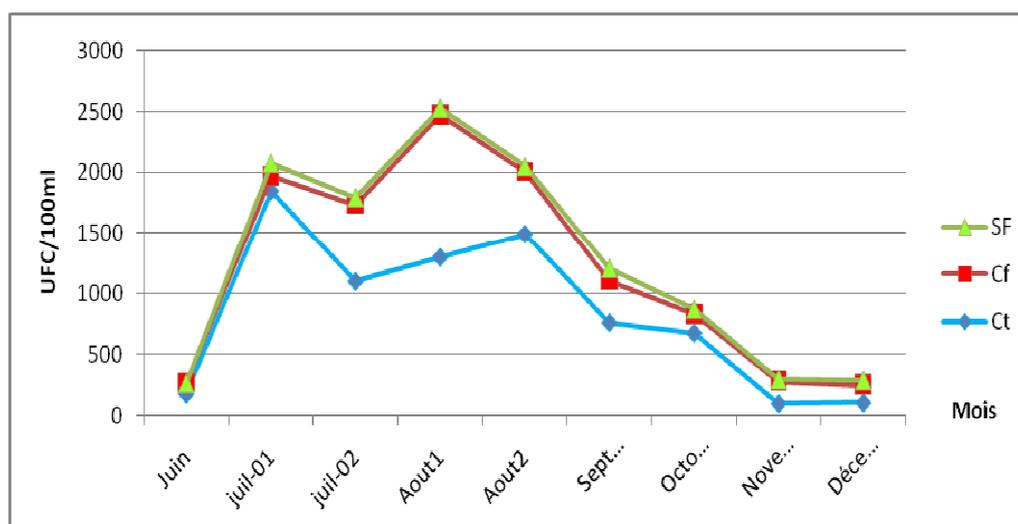
**Figure 40** : Concentrations moyennes des germes CT ,CF et SF en fonction des différents points de prélèvements

### 📊 Comparaison entre les stations au long de la période d'étude :

Après avoir été très faible durant tout le mois de juin, la concentration des germes augmente de façon remarquable durant le mois de juillet et surtout au mois d'août. Ce qui illustre l'effet direct des baigneurs et des activités estivales.

Les concentrations élevées d'indicateurs fécaux détectés dans l'eau pendant l'été démontrent qu'il existe un risque pour la santé pour les utilisateurs de ces zones récréatives (**Sato et al., 2005**). En effet, les épidémies de gastro-entérite à base d'eau surviennent le plus souvent en été, lorsque le nombre des baigneurs est élevé (**Prüss, 1998**).

A partir du mois de septembre et jusqu'au mois de Décembre, on note une diminution probablement liée à la baisse de la température et des fréquentations des plages.



**Figure 41** : variation des concentrations moyennes de Ct , Cf et Sf en fonction des mois

### ✚ Détermination de l'origine de la contamination fécale

L'origine de la contamination fécale est déterminée par le rapport quantitatif .

$$R = CF/SF$$

D'où : CF : coliformes fécaux. SF : streptocoques fécaux .

Selon les critères définis par **Borrego et Romero (1982)** : la contamination est d'origine animale si le rapport R est inférieur à 0,7. Elle est d'origine humaine, si R est supérieur à 4.

L'origine de la contamination est mixte à prédominance animale si R est compris entre 0,7 et 1. Cette origine est incertaine si R est compris entre 1 et 2 et l'origine est dite mixte à prédominance humaine si R se situe entre 2 et 4.

**Tableau X.** Indice CF/SF déterminant l'origine de la pollution par stations

<b>Stations</b>	St(1)	St(2)	St(3)	St(4)	St(5)
<b>Prélèvements</b>	-	-	-	-	15
	-	-	-	-	6.68
	8.18	13.33	0.93	-	162.5
	83	15	40	-	9.61
	55.55	5.5	-	-	75
	6.06	60	6.73	-	1.36
	67	11.31	0.37	1.5	6.40
	67	2.95	-	-	26.78
	18.12	44	-	-	10.70
	9.81	100	-	-	4.76
	3.22	3.06	-	-	14.66
	-	2.53	2.05	-	9.92
	-	-	-	-	15.37
	-	-	-	-	14.2513.88
<b>Moyenne Ct/Sf</b>	28.55 > 4	26.76 > 4	48.02 > 4	0.7 < 1.5 < 1	25.79 > 4
<b>Origine de contamination</b>	<b>D'origine humaine</b>	<b>D'origine humaine</b>	<b>D'origine humaine</b>	<b>Mixte à prédominance animale</b>	<b>D'origine humaine</b>

(-) : absence de l'un des germes .

Les origines de pollution sont majoritairement humaine à l'exception de la station 4 qui est mixte à prédominance animale.

### II.2.3. Bactéries pathogènes

Le genre salmonella a été absent tout au long de cette étude. L'isolement sur milieu héktoen a abouti à l'identification de plusieurs bactéries Gram<sup>-</sup> telles que : *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*.

Les vibrions cholériques sont également absents dans toutes les stations. Plusieurs études ont fait mention de cette absence dans les eaux en dépit de la présence des bactéries fécales dont celle d'**Achiche (2010)** dans la baie de Bou-Ismaïl. Néanmoins, on note la présence de *Vibrio vulnificus* durant mois de septembre au niveau de la station 3 (plage Ain Tagourait). Leur faible taux pourrait être due à la présence de quantités importantes de bactéries fécales qui ont tendance à les supplanter.

On a également pu isoler des germes pathogènes aquatiques : *Providencia stuartii*, *Rahnella aqualitis*, *Aeromonas hydrophila* et *Vibrio fluvialis*.

### II.2.4. Détermination de la qualité de l'eau durant la période de surveillance et classement des plages

#### Station 1 :

En considérant les 3 témoins de contamination fécale pour tous les prélèvements effectués durant la période de surveillance, on note 4 fois une eau de bonne qualité c'est-à-dire une valeur inférieure à la valeur guide, 3 fois une eau de qualité moyenne et 2 fois une eau de mauvaise qualité.

#### Station 2 :

En considérant les 3 témoins de contamination fécale pour tous les prélèvements effectués durant la période de surveillance, on a observé 1 seule fois une eau de qualité moyenne et 8 fois une eau de mauvaise qualité c'est-à-dire que le taux de germes est supérieur aux normes impératives

#### Station 3 :

En considérant les 3 témoins de contamination fécale pour tous les prélèvements effectués durant la période de surveillance, on a obtenu 6 fois une eau de bonne qualité et 3 fois une eau de qualité moyenne.

### ✚ Station 4 :

En considérant les 3 témoins de contamination fécale pour tous les prélèvements effectués durant la période de surveillance, on note une eau de bonne qualité pour l'ensemble des échantillons. Les valeurs ne dépassent jamais les valeurs guides, c'est pour cela que cette station est classée comme station de référence

### ✚ Station 5 :

En considérant les 3 témoins de contamination fécale pour tous les prélèvements effectués durant la période de surveillance, on observe 2 fois une eau de bonne qualité est 1 fois une eau de qualité moyenne et 6 fois une eau de mauvaise qualité.

Le tableau suivant résume les fréquences et les pourcentages de l'ensemble des prélèvements :

**Tableau XXII** . Fréquences et pourcentages de qualité des eaux

Germe	Eau de bonne qualité		Eau de moyenne qualité		Eau de mauvaise qualité	
	Nombre d'échantillons	Fréquence %	Nombre d'échantillons	Fréquence %	Nombre d'échantillons	Fréquence %
<b>CT</b>	<b>23</b>	<b>51.11%</b>	<b>3</b>	<b>6.66%</b>	<b>14</b>	<b>31.11%</b>
<b>CF</b>	<b>22</b>	<b>48.88%</b>	<b>8</b>	<b>17.77%</b>	<b>10</b>	<b>22.22%</b>
<b>SF</b>	<b>28</b>	<b>62.22%</b>	<b>5</b>	<b>11.11%</b>	<b>11</b>	<b>24.44%</b>

Taux des germes < a la valeur guide : eau de bonne qualité

Valeur guide <Taux des germes< valeur impérative : eau de qualité moyenne

Valeur impératives < taux de germes : eau de mauvaise qualité

Au regard des résultats des paramètres bactériologiques analysés (Ct, Cf et Sf) et aux limites de qualité fixées par la directive **75/160 CEE Qualité des eaux de baignade 2010/2012** celles du **JORA (2006)** , nous avons pu établir un classement des cinq plages étudiées (Figure 42) .

- ✚ Qualé est classée en catégorie A eau de bonne qualité,
- ✚ La plage Ain Tagourait est classée en catégorie B
- ✚ Les autres plages: Fouka et Chenoua sont classées en catégorie C (eau momentanément polluée)
- ✚ La Station 2 qui correspond au rejet TONIC est classée en catégorie D (eau de mauvaise qualité).

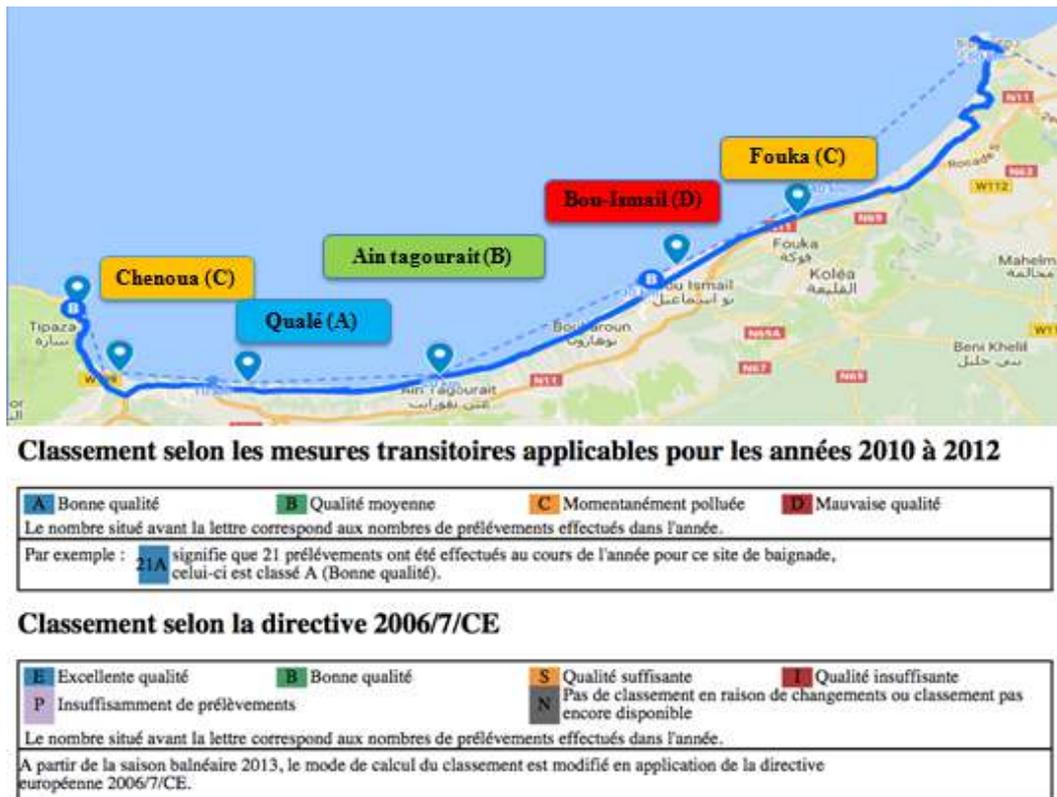


Figure 42 : Classement des plages selon la CEE 2010/2012

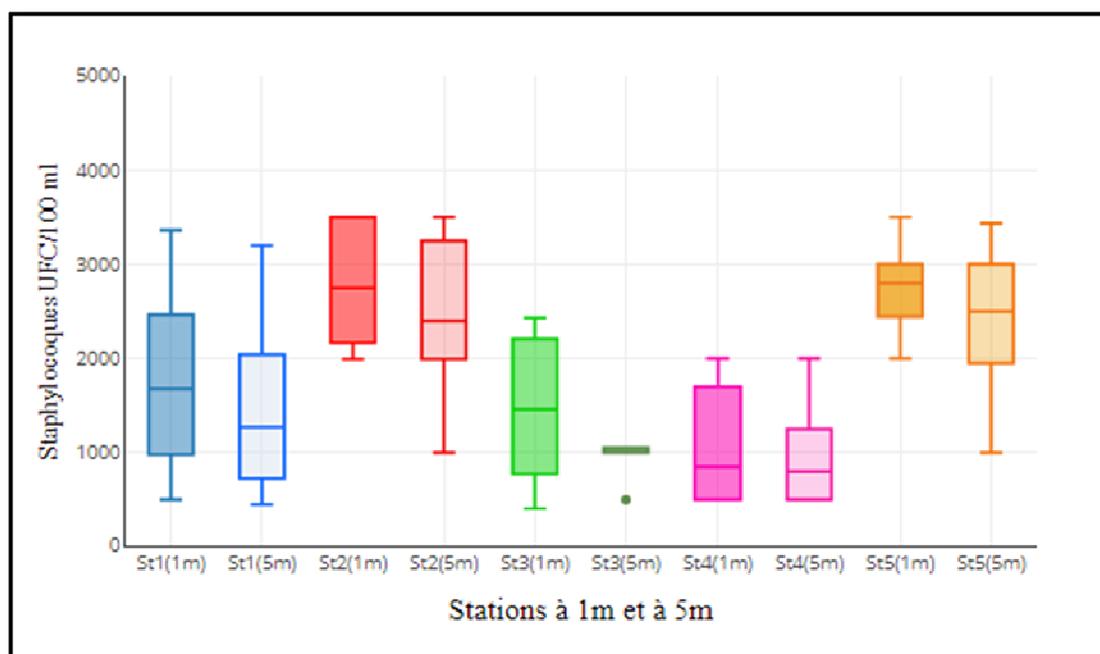
#### II.2.4. Distribution des staphylocoques

Les staphylocoques sont bien présents dans les échantillons prélevés sur les plages, mais les normes guides n'existent pas. Plusieurs études ont néanmoins montré la présence habituelle de ce germe sur les plages.

Les résultats du dénombrement par méthode de filtration sur membrane ont montré des variations spatiotemporelles par rapport aux différentes stations (**Figure 43**)

Les concentrations des staphylocoques dans les cinq stations varient entre 3500 à 2000 UFC /100ml pour le site le plus pollué correspondant au rejet industriel TONIC (station 2), et entre 0- 500 UFC /ml pour la station de référence (plage Qualé).

On note une différence importante entre les concentrations moyennes des staphylocoques dans les stations due soit à l'effet de dilution soit à l'influence des baigneurs et leur apport en staphylocoques. En effet, les staphylocoques dorés et les SARM font partie indissociable des germes trouvés au niveau des plages à grande fréquentation ( Kelly et Goodwin, 2013). Dans ce cas, la transmission de la bactérie se fait par voie aquatique par « échange » entre baigneurs : l'eau se comporte comme un vecteur de transmission (Doheny et Malibu ; 2012)



**Figure 43 : Distributions des Staphylocoques par station à 1m et à 5m**

**Légende :** St1(1m) :  $1763.75 \pm 959$  UFC /100ml - St1(2m) :  $2852.5 \pm 711$  UFC/100ml - St3(1m) :  $1450 \pm 788$  UFC/100ml - St4(1m) :  $1090 \pm 678$  UFC/100ml - St5(1m) :  $2748 \pm 456$  UFC/100m

**Légende :** St1(5m) :  $1465 \pm 940$  UFC/100ml – St2(5m) :  $2472 \pm 849$  UFC/100ml – St3(5m) :  $3262 \pm 5754$  UFC/100ml – St4(5m) :  $960 \pm 618$  UFC/100ml - St1(5m) :  $2417 \pm 808$  UFC/100ml

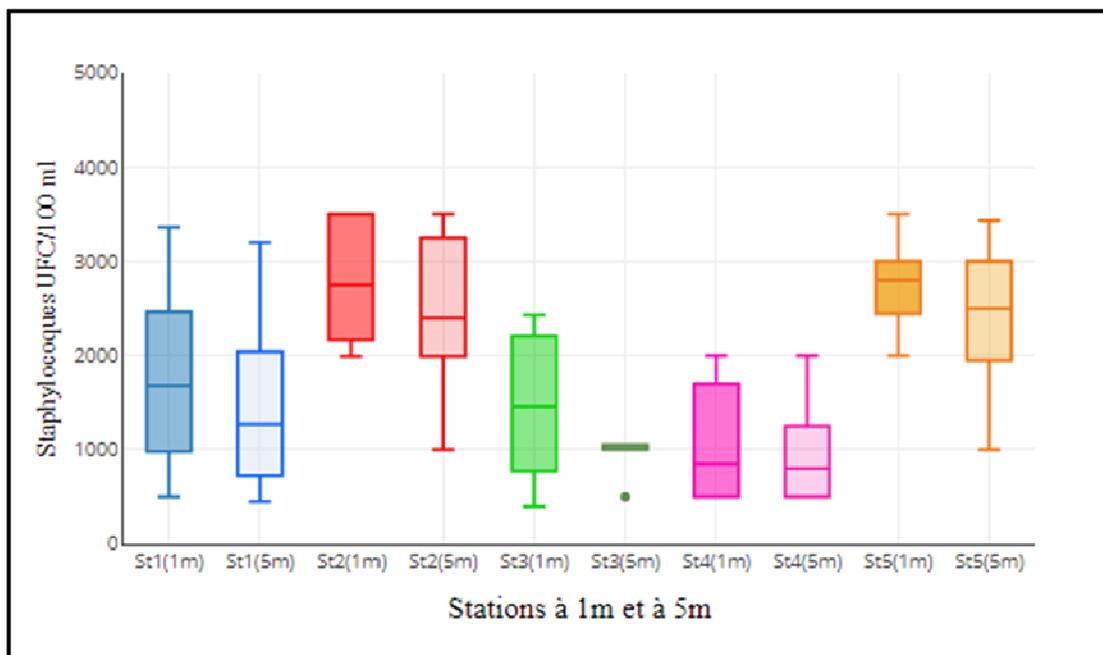




## II.2.4. Distribution des staphylocoques

Les staphylocoques sont bien présents dans les échantillons prélevés sur les plages, mais les normes guides n'existent pas. Plusieurs études ont néanmoins montré la présence habituelle de ce germe sur les plages.

Les résultats du dénombrement par méthode de filtration sur membrane ont montré des variations spatiotemporelles par rapport aux différentes stations (**Figure 43**)



**Figure 43 : Distribution des Staphylocoques par station à 1m et à 5m**

📊 St1(1m) :  $1763.75 \pm 959$  UFC /100ml - St1(2m) :  $2852.5 \pm 711$  UFC/100ml - St3(1m) :  $1450 \pm 788$  UFC/100ml - St4(1m) :  $1090 \pm 678$  UFC/100ml - St5(1m) :  $2748 \pm 456$  UFC/100m

📊 St1(5m) :  $1465 \pm 940$  UFC/100ml – St2(5m) :  $2472 \pm 849$  UFC/100ml – St3(5m) :  $3262 \pm 5754$  UFC/100ml – St4(5m) :  $960 \pm 618$  UFC/100ml – St1(5m) :  $2417 \pm 808$  UFC/100ml

Les concentrations des staphylocoques dans les cinq stations varient entre 3500 à 2000 UFC /100ml pour le site le plus pollué correspondant au rejet industriel TONIC (station 2), et entre 0- 500 UFC /ml pour la station de référence (plage Qualé).

On note une différence importante entre les concentrations moyennes des staphylocoques dans les stations due soit à l'effet de dilution soit à l'influence des baigneurs et leur apport en staphylocoques. En effet, les staphylocoques dorés et les SARM font partie indissociable des germes trouvés au niveau des plages à grande fréquentation ( Kelly et Goodwin, 2013). Dans ce cas, la transmission de la bactérie se fait par voie aquatique par « échange » entre baigneurs : l'eau se comporte comme un vecteur de transmission (Doheny et Malibu ; 2012)

### II.2.5. Résultats de l'analyse des bio indicateurs

#### Coliformes

L'analyse des bios indicateurs montre que les Ct filtrés par l'oursin *Paracentrotus lividus* avoisine les 50 germe/g à l'exception de la station 2 qui est fortement polluée par les eaux usées industrielles.

Quant à la concentration des coliformes CF dans les crabes *Pachygrapsus marmoratus*, elle est faible, mais cela n'empêche que les échantillons prélevés dans la station 2 sont les plus contaminés (45germes / g) (Figure44).

En se référant au JORA (2017), toutes ces valeurs ne dépassent pas la normes décrite pour les crustacés crus entiers et échinodermes crus qui est de  $10^6$  germe /g pour les Ct et  $10^2$ germe / g pour les Cf.

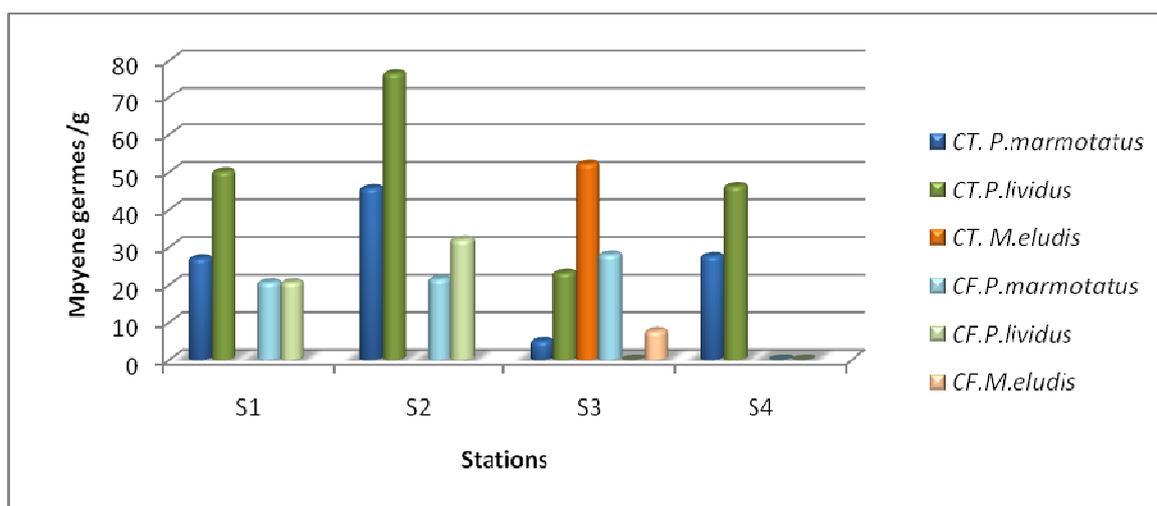


Figure 44 : Résultats des Ct, Cf dans les bio indicateurs

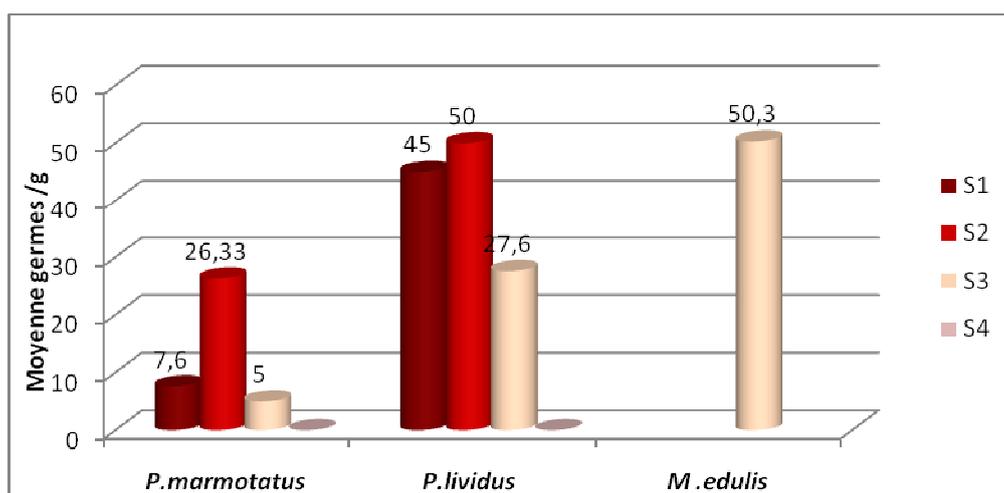
### Staphylocoque

L'intoxication à *Staphylococcus* est un type commun d'intoxications alimentaires causées par des bactéries qui se développent dans les viandes avariées. *Staphylococcus aureus* doit toujours être inférieure à  $10^3$  germes/g. notamment dans les produits aquatiques. Le taux de filtration chez l'oursin *Paracentrotus lividus* avoisinent les 50germes /g. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par **Matallah et al., (2011)**.

Dans la station 3, le taux de bioaccumulation des staphylocoques dans l'oursin est relativement faible. Ce germe est absent dans la station 4 (Figure 45).

La concentration des staphylocoques dans les crabes (*P. marmotatus*) est faible dans l'ensemble des échantillons à l'exception de la station 2 où on note sa présence 26.33 germe /g. Le taux d'accumulation des staphylocoques dans les moules est de 50 germe/g.

Toutes ces valeurs ne dépassent pas les normes du **JORA (2017)** des Produits décortiqués et décoquillés de crustacés et de mollusques et qui est de  $10^3$  germe/g .



**Figure 45** : Concentrations des staphylocoques dans les bio indicateurs

### II.3. IDENTIFICATION

Les résultats de l'identification (examen macroscopique et coloration Gram) sont présentés en Annexe VI.

La galerie API 20<sup>E</sup> (Bio-Mérieux) nous a permis d'identifier 114 souches d'entérobactérie.

Parmi les 114, 45 souches d'*E. coli* (39.37%) suivie par 27 souches de *klebsiella ornithiolytica* (23.68%) (27.19) souches dont 27 souches (87.09 %) correspondent à *klebsiella ornithiolytica* et 2 souches (6.45% ) à *K. pneumoniae* , 1 souche (3.22%) pour *K. terrigena* et *K. oxytoca*.

17 souches (14.91%) pour le genre *Enterobacter*, les plus rencontrées sont *E. sakazakii* et *E. cloacae*.

8 souches appartenaient à *Serratia* (7.02%) : *Serratia fonticola* (3.5%) et *Serratia odorifera* (3.5%)=. Une seule souche *Flaviomonas* (Figure 46).

Selon **Vernozy et al., (2003)** et **Texier (2008)** , les genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, et *Klebsiella* ainsi que l'espèce *E. coli* représentent 80 à 90 % des coliformes thermo tolérants généralement détectés dans l'eau. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne la plupart du temps de la présence de contamination fécale, tous les coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale. *E. coli* est considérée classiquement comme l'une des rares espèces de ce groupe, présente de façon spécifique dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud, fortement excrétée dans les matières fécales. Ces caractéristiques font d'*E. coli* un indicateur idéal de contamination fécale. Ce qui explique leurs fluctuations entre les mois. Ils sont de fait classiquement utilisés pour le contrôle de la qualité microbiologique de l'eau (**norme AFNOR NF T 90-414**).

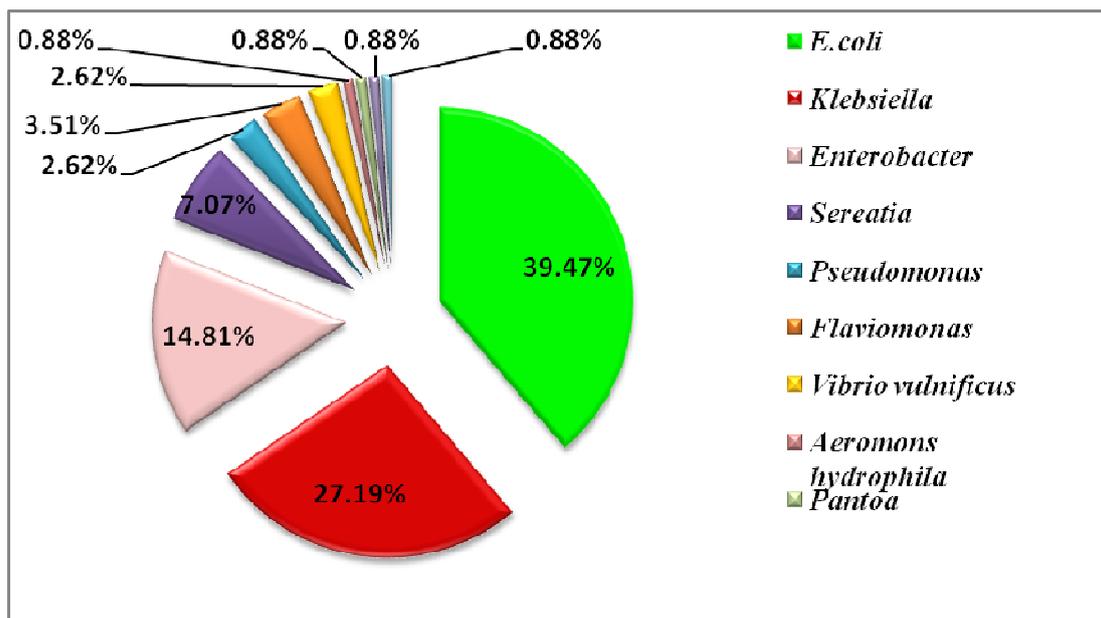


Figure 46 : Taux des souches identifiées

#### II.4.DISTRIBUTION DES SOUCHES IDENTIFIEES ET INDICE DE SHANNON

La répartition des souches varie d’une station à une autre entre. 37 souches (32.45%) sont isolées à partir des eaux échantillonnées de la station 2. Cela pourrait être dû à l’hétérogénéité des polluants et des manières chimiques et physique présents dans le milieu. Dans la station 1, 25 souches (21.12%) ont été identifiées, 20 souches (17.54) au niveau de des eaux de la station 5, 19 souches (16.66) dans les eaux de baignade de la station 3 et 13souches (11.40%) à la plage Qualé S4 qui est considérée comme station de référence . (Figure57).

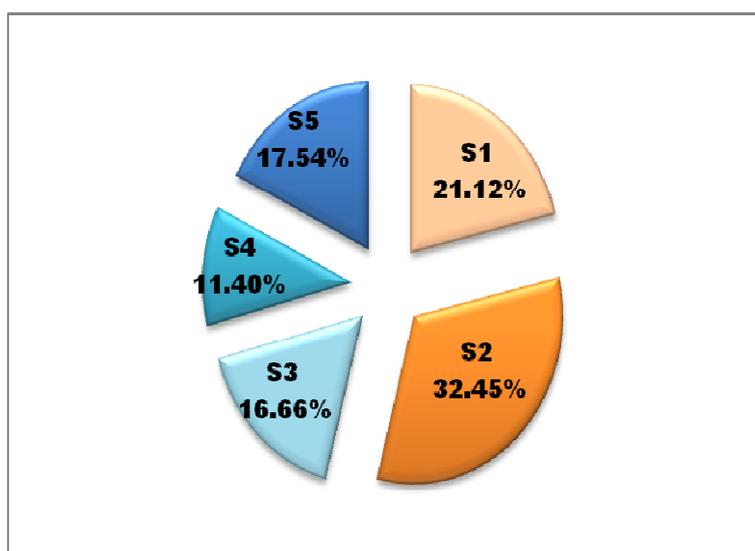
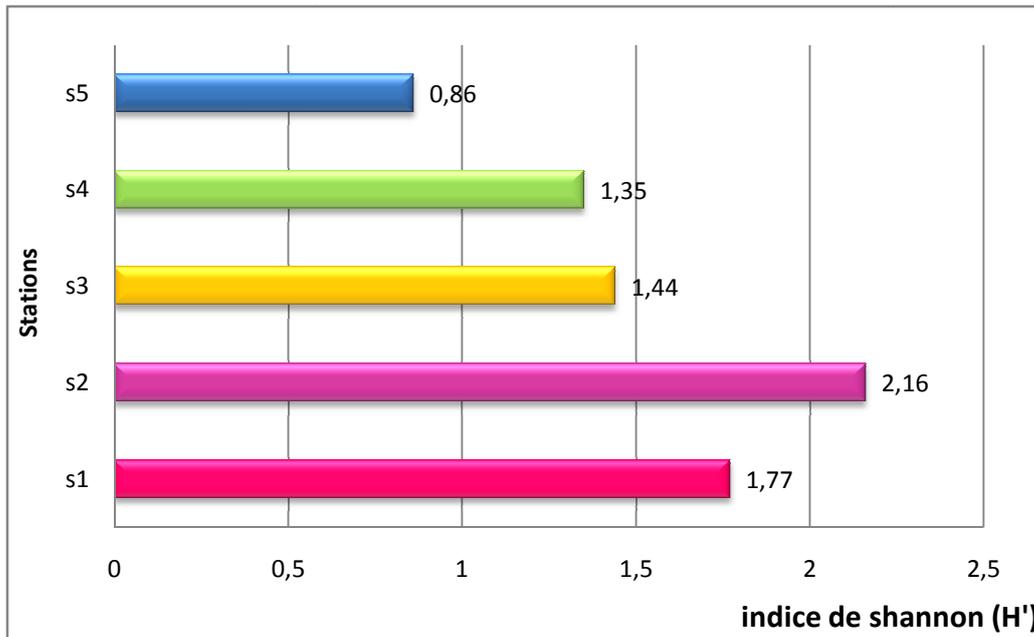


Figure 47 : Distribution des souches identifiées par station

L'indice de Shannon est un indice permettant de mesurer la diversité spécifique du milieu. Plus la valeur de l'indice  $H'$  est élevée, plus la diversité est grande ( Figure 52 ).

Etant donnée que la Station 2 est la station où on a isolé le plus grand nombre de souches (32.45 %), cette station s'avère donc la plus diversifiée avec  $H' = 2.16$ .

La station 5 présente le plus faible  $H' = 0.86$ , c'est la station où on a isolé le moins d'espèces avec une prédominance d'*E. coli*.

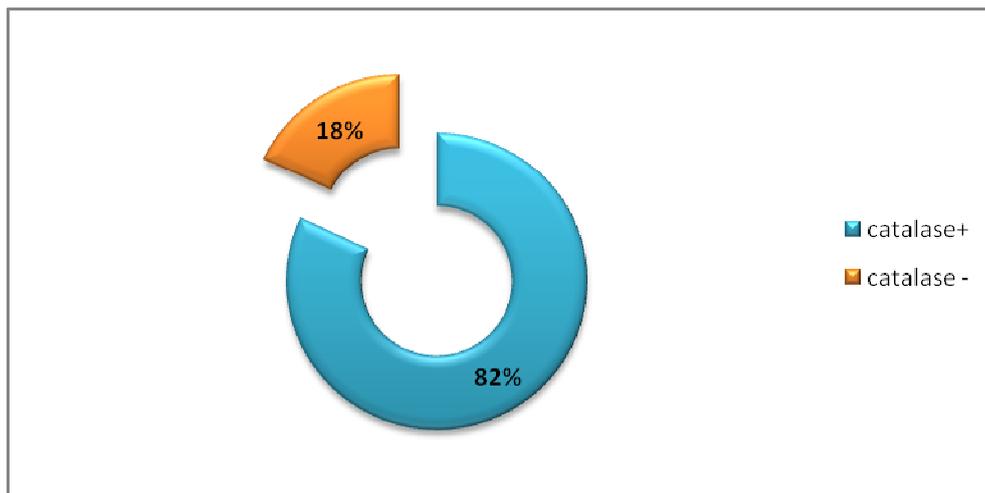


**Figure 48** : Diversité microbienne par station

### II.5.IDENTIFICATION DES STAPHYLOCOQUES

Les résultats du test de catalase à partir des colonies obtenues sur milieu Chapman montrent que 82% des colonies sont des catalase + (Figure 49)

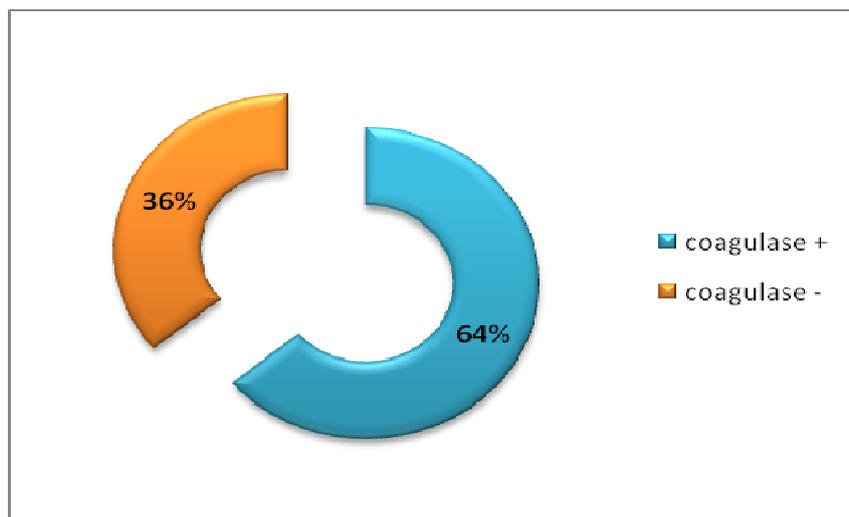
Par ailleurs, la détection de différentes espèces de *Staphylococcus* est due aux caractéristiques de ce genre bactérien très répandu dans la nature. En effet, les staphylocoques arrivent à proliférer grâce à leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau (**Ait hamlet ;1998**)



**Figure 49** : Résultats du test catalase

Les résultats du test coagulase montre que 82% des souches testés sont coagulase + et nous orientent vers *Staphylococcus aureus* ( Figure 50).

Ces caractères montrent qu'il s'agit du profil classique de l'espèce *S.aureus*, décrit par (Singleton et Sainsbury ,1984)



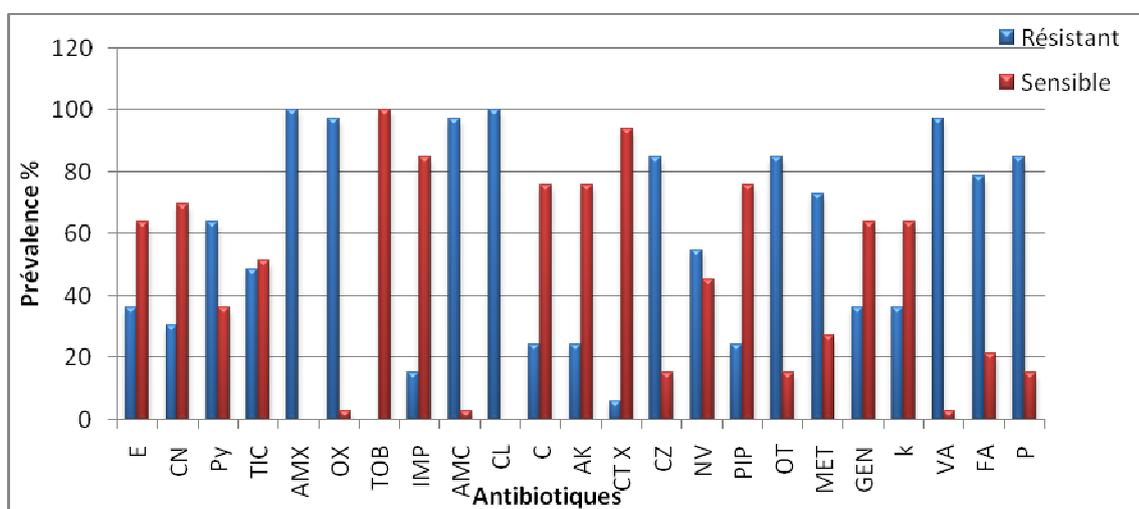
**Figure 50** : Résultats du test coagulase

## II.6 RESULTATS DE L'ANTIBIOGRAMME

Les souches identifiées ont été soumises à un antibiogramme dans le but étant d'établir leurs profils de résistance vis-à-vis des 23 antibiotiques utilisés appartenant aux différentes familles ( B-lactamines , aminosides, polypeptides , quinolones ,les macrolides , les sulfamides ,tétracyclines et autres ) (Tableau XXII , Annexe IV).

Sur les 34 souches d'entérobactéries testées, les résultats (Figure 51), montrent une résistance élevée de 100% à l'Amoxicilline (AMX) et à la Colistine (CL), 96% vis-à-vis de l'Amoxicilline+Ac.clavulanique (AMC), à l' Oxacilline (OX) et à la Vancomycine (VA) 84.48% vis-à-vis de la Céfazoline (CZ), et de 78.78% vis-à-vis de l'acide fusidique (FA) , 72.72%, à Oxytétracycline (OT) et 84.84 % à la Pénicilline G (P).

Une sensibilité très élevée à la Tobramycin (TOB 100% , et 84.84% aux Cefotaxime (CTX) , 79.55%, Imipenème (IMP) , 75,75% vis à vis la Pipéracilline (PIP) et vis-à-vis Chloromfinicol (C) et Amikacine (AK) , (63.63%) vis-à-vis le 69.69 % Céfalexine (CN), et 63.63 % vis-à-vis l'Erythromycine (E) , 59% vis-à-vis la Novobiocine (NV) , 55% vis-à-vis la Ticarcilline (TIC) . 6363 % vis-à-vis la Gentamicine (GEN) , et la Kanamycine (K).



**Figure 51 : Résistance des souches *Enterobacteriaceae* aux différentes famille d'ATB**

Les résultats de l'antibiogramme de différentes espèces identifiées (Tableau XI) ont été exprimés par la lecture de la zone d'inhibition et la comparaison aux valeurs critiques des diamètres d'inhibition

### ❖ *Escherichia coli* (8S)

Les 8 profils des résistances établis pour les souches d'*E. coli* I révèlent des taux de résistance très varié :

- Elevés 80 - 100% pour l'Amoxicilline, Amoxacilline plus l'Acide Clavulanique, Oxacilline, Pénicilline, Vancomycine, Metronidazole, Céfazoline, Oxytétracycline et la Colistine,
- moyen 25-50 % pour la Gentamicine, l'Acide fusidique , pour l'Erythromycine , Céfalexine , Chloromfinicol Amikacine, Kanamicine , Imipénème
- sensible à Tobramycine, Cefotaxime, Novobiocine , Pipéracilline .

### ❖ *Klebsiella ornithiolytica*: (6S)

Les 6 profils de résistances montrent que les souches de *Klebsiella ornithiolytica* montrent un taux de résistance :

- élevés (80-100%)à Amoxicilline , Amoxacilline plus l'acide clavulanique, Oxacilline, le Metronidazole , Vancomycin) la Oxytétracycline , Colistine,
- moyenne (50- 75% ) vis-à-vis la Ticarcilline , 50% des souches sont résistant a la Gentamicine , la pénicilline G et L'acide fusidique
- Faibles (25-50%) vis-à-vis l'Erythromycine, Céfalexine, L'imipénème, Chloramphenicol , Kanamycine , la Colistine et Amikacine,
- Aucune Résistance vis-à-vis Cefotaxime, Novobiocine , Pipéracilline , Tobramycin

### ❖ *Klebsiella terrigenis* (3S)

Cette souche montre un taux de résistance :

- Elevé de 100% vis-à-vis la majorité des antibiotique utilisés l'Amoxicilline Amoxacilline plus l'acide clavulanique, Oxacilline, Colistine, CéfazolineNovobiocine Gentamicine, (K), Vancomycine, Acide pipémidique, L'acide fusidique , Oxytétracycline, Pénicille G .
- Moyen(50%) pour l'Amikacine et la Pipéracilline
- Aucune résistance vis-à-vis Erythromycine , Céfalexine , Tobramycine , Chloramphenicol Céfotaxime Metronidazole

### ❖ *Klebsiella oxytoca* (2S)

Montrent un taux de résistance

- élevé (100%) pour les Acide pipémidique, l'Amoxicilline , Amoxicilline plus l'acide clavulanique, Oxacilline Colistine Céfazoline , Novobiocine ,Vancomycine , Acide Fusidique , Oxytétracycline.
- moyen (50-75%) pour l'imipénème et Metronidazole , Pénicilline G et Pipéracilline
- Un taux faible (25% ) vis à vis de la Kanamycine
- Aucune résistance vis-à-vis Erythromycine Céfalexine Tobramycine Chloramphenicol ,Amikacine ,Gentamicine, Cefotaxime

### ❖ *Enterobacter sakazakii* (4S)

Cette souche montre un taux de résistance

- élevé (100%) vis-à-vis l'Erythromycine, Céfalexine , Amoxicilline plus l'acide clavulanique, Oxacilline Colistine Céfazoline , Novobiocine ,Vancomycine , Acide Fusidique Oxytétracycline Metronidazole Pénicilline , Vancomycine Pénicilline G
- Un taux de 50% vis-à-vis Ticarcilline et Pipéracilline,
- Aucune résistance vis-à-vis P tobramycine Amikacine Imipénème, Kanamycine, Cefotaxime

### ❖ *Serratia odorifera* (3S)

Les profils testés montrent un taux de résistance

- Elevé de (100%) vis-à-vis l'amoxicilline, Amoxicilline plus l'acide clavulanique, la Colistine Pénicilline, Vancomycine , Metronidazole , Céfazoline, Acide fusidique, Oxytétracycline , Pénicilline G , et à Acide pipémidique
- moyen (25- 66% ) pour l'Erythromycine et la Novobiocine , Céfalexine et Pipéracilline
- une sensibilité aux Ticarcilline , Tobramycine , Chloramphenicol , Amikacine, Cefotaxime et Kanmycine .

### ❖ *Pseudomonas fluorescens* (2S)

Dans cette étude, les souches testées montrent une résistance

- Elevée à la Céphazoline , l'amoxicilline, Amoxicilline plus l'acide clavulanique, la Pénicilline, Vancomycine, Céfotaxime , Acide fusidique,

- Moyenne vis-à-vis l' Oxytétracycline , Pénicilline G , Colistine à et Pipéracilline
- sensible à l', Chloramphenicol (C), Acide pipémidique , l'Erythromycine, Céfalexine, , Metronidazole, Gentamycine Amikacine .

### ❖ *Flavimonas oryzihabitans* (2S)

Les profils de Flavimonas testés ont montré une résistance

- Elevée importante (100%) aux Oxytétracycline , Amoxicilline plus l'acide clavulanique , Colistine ,, Céfazoline, la Novobiocine , Metronidazole, Vancomicine, Acide fusidique et à la Pénicilline G .
- Moyenne (50- 75%)des souches sont résistantes a l'Amoxicilline , Amikacine et Pipéracilline .
- sensible à l'Erythromycine , Céfalexine , Ticarciline ,Tobramycin , Imipenème ,Chloramphenicol ,Gentamicine , Gentamicine , Kanmycine , Oxytétracycline Cefotaxime.

### ❖ *Pantoea ssp*(2S) :

On note une résistance

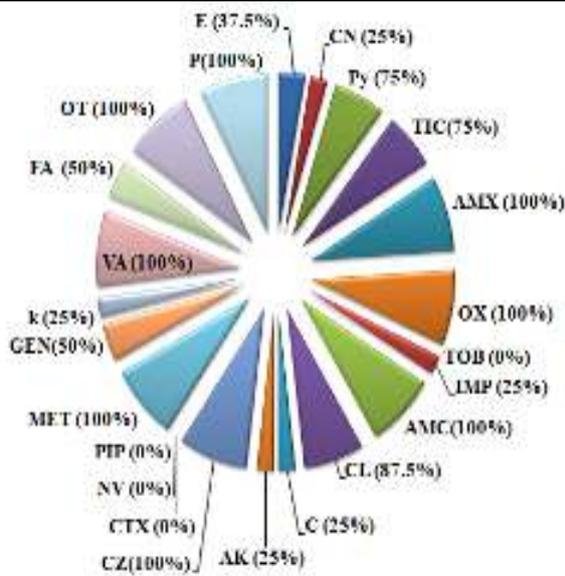
- Elevée (100%) vis-à-vis la famille des pénicillines , Amoxicilline), Céfazoline Oxytétracycline , Vancomycine , l'acide fusidique et la Colistine), Pénicilline G et la Kanamycine.
- Une résistance moyenne (50-75%) vis-à-vis Amikacine, Pipéracilline
- Faible (25-50%)vis-à-vis l'Erythromycine et Céfalexine,
- Aucune résistance vis-à-vis TicarcillineTobramycin ,Imipenème ,Chloramphenicol ,Cefotaxime , Metronidazole et la Gentamicine .

### ❖ *Vibrio vulnificus* (2S)

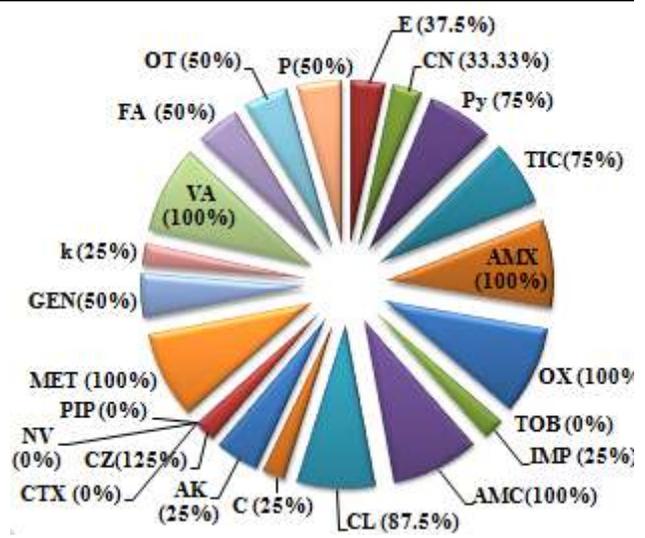
Dans notre étude, les profils des résistances établis pour les souches de *Vibrio vulnificus* révèlent des taux de résistance

- élevés (100%) pour la famille des Pénicilline, Pipéracilline ,Oxacilline Amoxicilline plus l'acide clavulanique ,Vancomycine, l'acide fusidique,, la Gentamicine , Colistine ,Céfazoline , Novobiocine , Tobramycin .
- sensible a Metronidazole l'ampicilline , Pénicilline G et l'oxytetracycline, cefotaxime , ceftazidime, Amikacine,,Céfalexine ,Chloramphenicol .

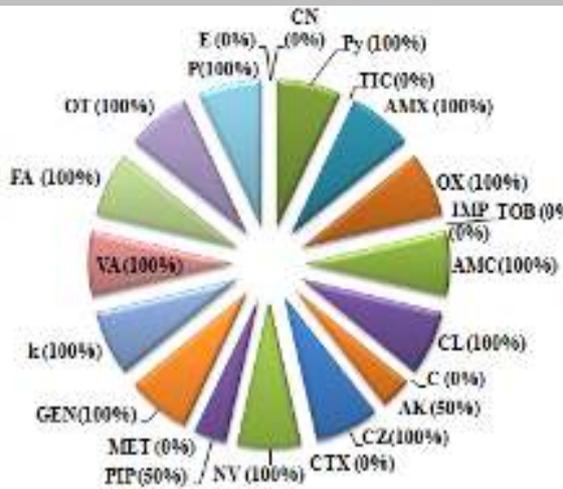
Tableau XII .Résultats des Antibiogrammes des souches isolées :



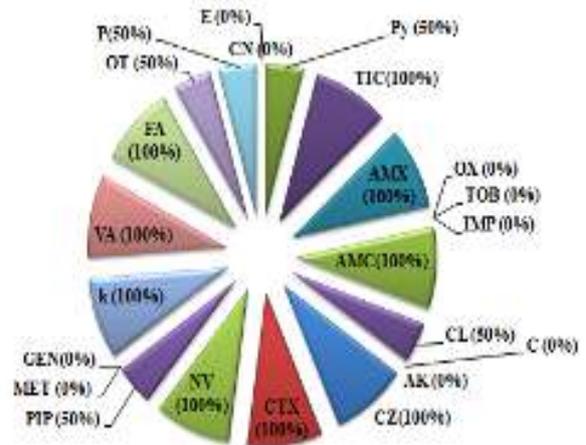
*E.coli*



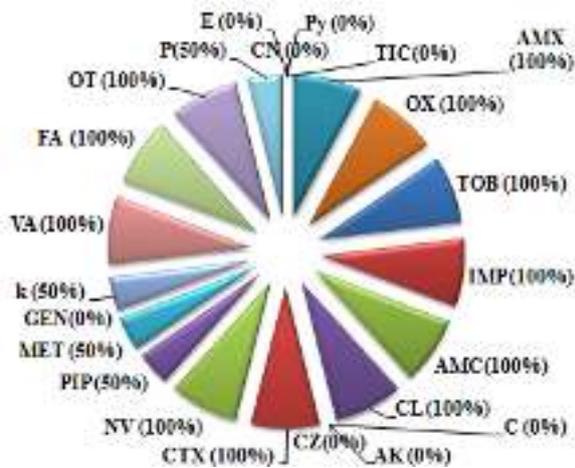
*Klebsiella ornitholytica:*



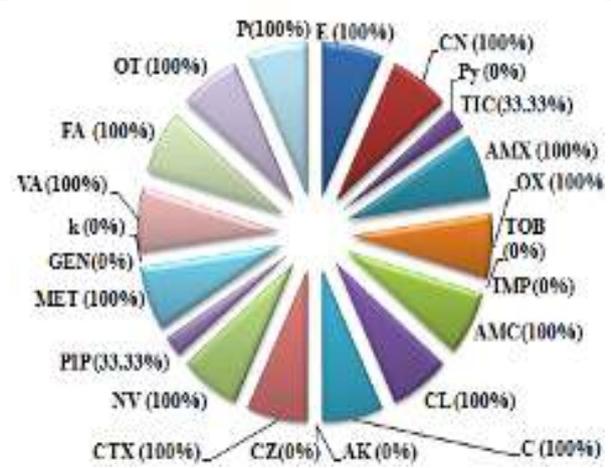
*Klebsiella terrigenis*



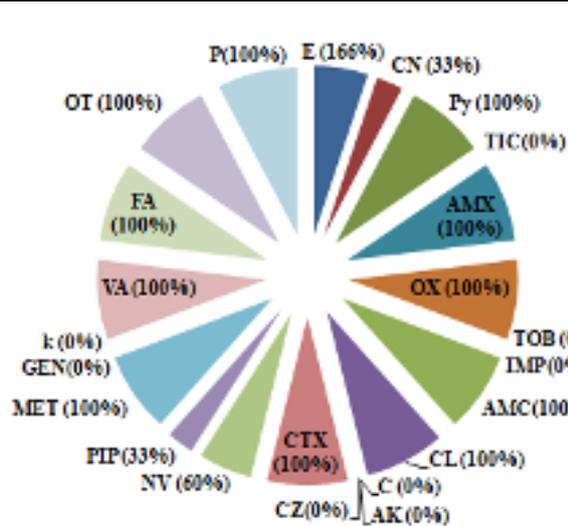
*Klebsiella oxytoca:*



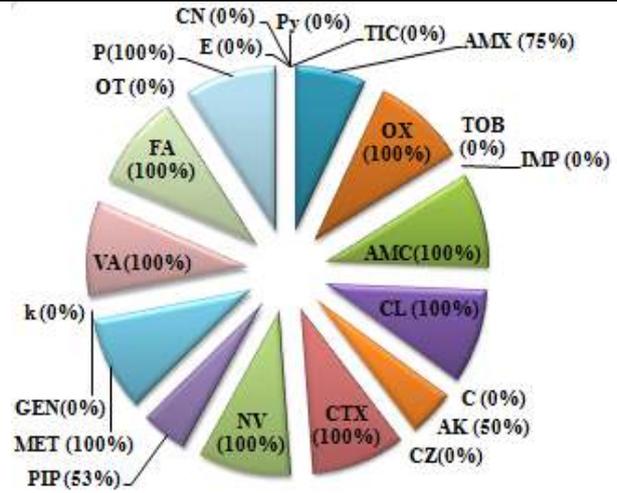
*Enterobacter sakazakii*



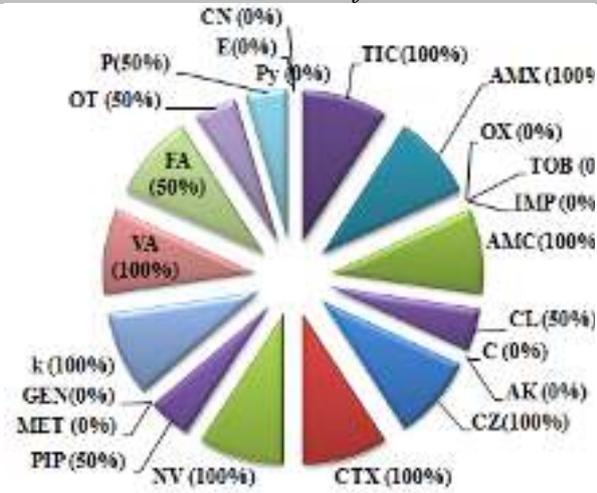
*Serratia fonticola*



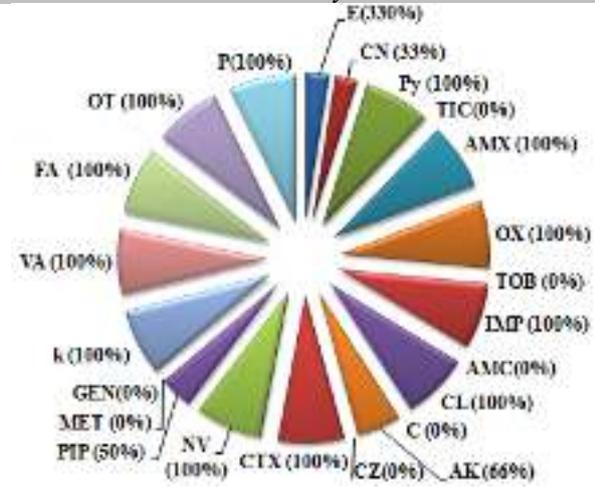
*Serratia odorifera*



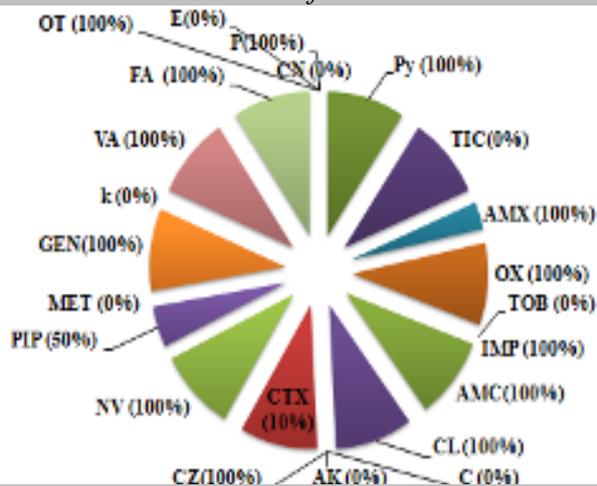
*Flavimonas oryzae*



*Pseudomonas fluorescens*



*Pantoea ssp*



*Vibrio vulnificus*

Les bactéries isolées expriment une résistance élevée (70-100%) pour la famille des  $\beta$ -lactamines, (50-75%) pour la famille des aminosides avec une résistance variable aux pour la Kanamycine (K) et la Gentamicine (GEN).

Une Résistance élevée (80-100%) pour la famille des Pénicilline (OX),(PIP) ,(P) à l'exception de la Ticarcilline (TIC) pour l'ensemble des souches isolées sont sensibles.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par **Fernández-Delgado et Suárez (2009)** dans l'étude de la résistance bactérienne des coliformes fécaux isolés des eaux côtières et qui montrent leur résistance totale à la pénicilline.

Une résistance moyenne (30-75%) vis-à-vis des céphalosporines à l'exception de la cefotaxime (CTX) qui est efficace sur 99.99% des souches.

Pour la famille des phénicoles (Chloramphenicol), toutes les souches isolées sont sensibles sauf quelques souches de *E.coli* et de *Klesbiella ornithiolytica* isolées dans la station 2.

En général, selon **Opal et al., (2000)**, les entérobactéries ont la capacité de produire des enzymes (les  $\beta$ -lactamases) qui inactivent les  $\beta$ -lactamines par ouverture du cycle de  $\beta$ -lactame. Les entérobactéries sont généralement sensible à l'imipénème, ce derniers traverse la membrane externe des BGN par des porines spécifique, il reste donc actif sur les mutants de perméabilité aux autres B-lactamines (**Martin, 2008**).

Les résultats obtenus au cours de cette étude peuvent être dues aux différents mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines qui s'expriment naturellement ou de façon concomitante, agissant ainsi par synergie comme la diminution de l'affinité a la cible , ou de la perméabilité des membrane, la pompe a efflux ..etc.

D'après **Eyquem et al., (2000)**, *E. coli* a une sensibilité naturelle à de nombreux antibiotiques notamment les  $\beta$ -lactamines, les Aminosides et les quinolones, malheureusement certaines souches apparaissent résistantes selon **Jerom (2007)**, cette résistance est due à la production d'une pénicillase naturelle.

Selon **Freney (2007)**, les klebsielles sont naturellement résistantes aux pénicillines des groupes G et A, par contre d'après **Vaubourdolle (2007)**, les klebsielles sont sensibles aux céphalosporines, une sensibilité élevée à la Gentamycine.

D'après **Vaubourdolle (2007)**, les klebsielles demeurent sensibles au divers Aminosite, les *Pseudomonas fluorescens* appartiennent au groupe de bacilles non fermentaires et suspecté de renforcer la multi-résistance des bactéries Gram -. Les membres de ce groupe transportent des facteurs intrinsèque de la multi-résistance tout comme ils ont la capacité de la développer (**Farinas et Martinez-Martinez, 2013**). Les résultats trouvés pour les *Pseudomonas* montre une résistance à la céfotaxime et à la Tobramycine corroborent avec ceux de **Maravic (2012)**.

Généralement, les *Vibrio* sont connus pour leur sensibilité à la majorité des antibiotiques. Cette dernière décennie révèle l'émergence de certaines souches de *Vibrio vulnificus* multi résistantes, cela est due à l'utilisation excessive des pesticides et agents antimicrobiens dans les systèmes d'aquaculture (**Zanetti, 2001** et **Cabello, 2006**). Nos résultats corroborent avec ceux de Han (**2017**) et ceux de **Jorgensen et al ; (2007)**.

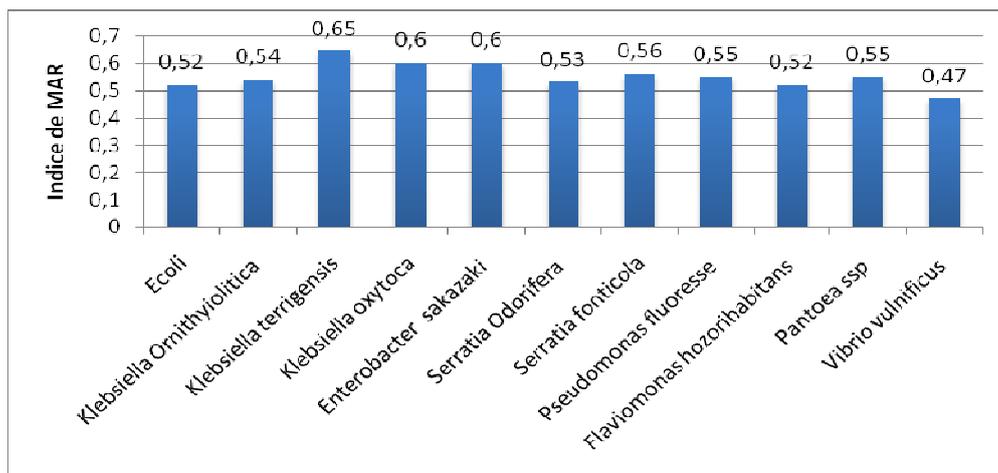
L'émergence de résistance et les transferts génétiques entre les espèces rejetées dans l'eau ou entre ces espèces et d'autres bactéries autochtones résistantes pourrait être favorisée par l'existence habituelle de teneurs élevées en matières organiques et en bactéries dans l'environnement aquatique. Les eaux de surface favorisent une pression de sélection très importante ce qui supposerait l'existence de facteurs de survie ou d'évolution favorable chez les bactéries porteuses de plasmides (**Debabza, 2005**).

### ❖ **Indice de MAR :**

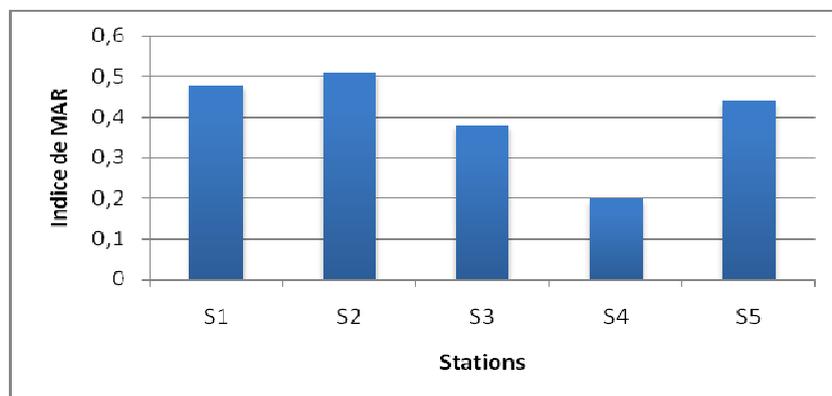
Cet indice a été recommandé par Krumperman(1983) pour évaluer le risque de contamination de l'environnement par les antibiotiques. Toutes les souches expriment un indice de MAR supérieur à 0.2, ce qui pourrait signifier que 100% des isolats testés ont été exposés à plusieurs antibiotiques. Les espèces bactériennes qui expriment la valeur la plus élevée est *Klebsiella terrigenis* (0.65), la valeur la plus faible est obtenue par *vibrio vulnificus* (Figure52)

Les valeurs calculées de l'indice de MAR de site varie entre 0.2 et 0.5. Les stations ayant un indice supérieur à 0.4 sont S1, S2 et S5. Les indices les plus faibles sont obtenus pour les stations S3 et S4 (Figure 53). Les valeurs les plus élevées ont été trouvées au niveau de la station 2 (0.5), ce qui laisse croire que c'est une source de contamination élevée où les antibiotiques sont fortement utilisés.

La résistance aux antibiotiques est très répandue dans le milieu marin aussi bien dans les sites pollués que ceux loin des agglomérations urbaines. L'extension d'une population bactérienne résistante sur toute la région prospectée laisse supposer qu'une pression de sélection s'est produite in "situ" en vue d'une apparition de clones résistants. Ainsi la résistance aux bêta-lactamines ne présente pas de liaison évidente avec les rejets déversés en mer. (Timoney *et al.*, 2012). Toutefois la présence des antibiotiques dans les sédiments entraîne trois conséquences : la diminution transitoire d'un facteur 2 à 3 du nombre total de bactéries, l'augmentation transitoire du pourcentage de bactéries résistantes (Harold *et al.*, 1992).



**Figure 52:** Répartition des résultats de l'indice de MAR



**Figure 53:** Répartition des résultats de l'indice de MAR par station

## II.8. Analyse de Pearson

Dans le but d'établir une relation entre les différents paramètres physico-chimiques et bactériologiques et pour mieux expliquer les perturbations et les origines de pollution dans les stations étudiées, les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse de. Les calculs ont été réalisés avec le logiciel Excel 2010.

### Station 1 :

Les résultats montrent une corrélation positive hautement significative entre la salinité et la conductivité ( $r=0.85$ ), entre les matières en suspension et les staphylocoques ( $r=0.75$ ), entre le pH et les Staphylocoques ( $r=0.70$ ). Les coliformes totaux sont moyennement corrélés au pH ( $r=0.55$ ) et aux Staphylocoques ( $r=0.61$ ), et faiblement aux matières en suspension ( $r=0.32$ ) et aux orthophosphates ( $r=0.34$ ) (Tableau XIII).

Une corrélation négative importante entre le pH et la salinité ( $r=-0.53$ ), avec la conductivité ( $r=-0.61$ ) et avec l'ammonium ( $r=-0.50$ ). Une corrélation importante entre la conductivité et les staphylocoques a été notée

**Tableau XIII .** Matrice de corrélation pour les paramètres mesurés dans la St1

	pH	S	C	MES	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ct	Cf	Sf
pH										
S	-0.532									
C	-0.612	0.857								
MES	0.224	-0.096	-0.138							
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-0.174	-0.317	-0.391	-0.278						
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.462	0.099	0.043	-0.091	-0.355					
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0.501	0.248	0.072	-0.224	0.524	-0.12				
Ct	0.556	0.02	-0.002	0.326	-0.498	0.345	-0.408			
Cf	0.579	-0.406	-0.477	0.168	0.059	-0.051	-0.324	0.335		
Sf	0.059	0.049	-0.112	0.468	0.305	0.075	0.332	0.414	-0.061	
staph	0.706	-0.078	-0.616	0.751	-0.028	-0.244	-0.159	0.612	0.534	0.019

### Station 2 :

Les résultats montre une corrélation positive hautement significative entre les Streptocoques et les staphylocoques ( $r=0.82$ ), entre les coliformes totaux et les Staphylocoques ( $r=0.68$ ), entre les Streptocoques et la conductivité ( $r=0.64$ ), entre l'ammonium et les Staphylocoques ( $r=0.53$ ). Les Coliformes totaux sont moyennement corrélés aux Coliformes fécaux ( $r=0.49$ ) et aux Streptocoques ( $r=0.44$ ) (Tableau XIV).

Une corrélation positive moyennement significative entre : les nitrites et l'ammonium ( $r=0.48$ ), entre la conductivité et les nitrites ( $r=0.41$ ) a été notée

**Tableau XIV .** Matrice de corrélation pour les paramètres mesurés dans la St2

	pH	S	C	MES	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO4 <sup>3-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ct	Cf	Sf
pH										
S	-0.03									
C	0.005	0.273								
MES	-0.277	0.002	-0.195							
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-0.177	0.235	0.418	0.022						
PO4 <sup>3-</sup>	-0.363	0.014	-0.216	0.216	-0.199					
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.389	0.18	0.122	-0.097	0.481	-0.19				
CT	0.249	0.062	0.25	0.184	0.079	-0.058	0.246			
CF	0.008	0.045	0.233	0.169	0.427	-0.023	-0.041	0.495		
SF	0.026	-0.239	0.649	-0.022	-0.524	-0.438	-0.191	0.440	-0.042	
staph	0.179	0.366	0.39	-0.428	0.356	0.024	0.534	0.680	0.36	0.827

**Station 3 :**

Les résultats montre une corrélation positive hautement significative entre les Staphylocoques et les Streptocoques ( $r= 0.85$ ) , avec les matières en suspension( $r=0.79$ ). Ainsi qu’une corrélation négative avec les orthophosphates ( $r= -0.57$ ) et la salinité ( $r= -0.58$ ) (Tableau XV).

Les coliformes fécaux sont corrélés positivement aux nitrites ( $r=0.71$ ), et à l’ammonium ( $r=0.42$ ), négativement aux ortho phosphates ( $r=-0.61$ ) .

La salinité est corrélée positivement avec la conductivité ( $r= 0.72$ ) et moyennement avec le pH ( $r=0.42$ ) et les nitrites ( $r=-0.45$ ).

**Tableau XV .** Matrice de corrélation pour les paramètres mesurés dans la St3

	pH	S	C	MES	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO4 <sup>3-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ct	Cf	Sf
pH										
S	0.420									
C	0.388	0.721								
MES	0.078	0.044	0.102							
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.256	-0.458	-0.356	-0.391						
PO4 <sup>3-</sup>	-0.442	0.350	0.134	-0.201	-0.407					
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0.279	-0.334	0.110	-0.284	0.0858	0.225				
CT	-0.097	-0.226	-0.426	0.347	-0.065	0.143	-0.209			
CF	0.134	-0.641	-0.225	0.003	0.718	-0.614	0.424	-0.064		
SF	0.321	0.308	0.287	-0.107	-0.311	-0.576	-0.518	-0.310	-0.106	
staph	0.028	-0.580	-0.212	0.799	0.3121	-0.571	0.087	0.248	0.117	0.853

**Station 4 :**

L’analyse de Pearson montre que les staphylocoques sont fortement corrélés avec les matières en suspension ( $r= 0.85$ ) , avec les Streptocoques ( $r=0.77$ ), les coliformes totaux ( $r=0.70$ ). Une corrélation négative existe entre les Staphylocoques et l’ammonium ( $r=-0.78$ ),

Les streptocoques sont fortement corrélés aux nitrites ( $r=0.66$ ) et au pH ( $r=0.52$ ), négativement à l'ammonium ( $r= -0.70$ ). La salinité est fortement corrélée à la conductivité ( $r=0.80$ ), aux staphylocoques ( $r=0.61$ ) et, aux streptocoques ( $r=-0.76$ )(Tableau XVI).

**Tableau XVI.** Matrice de corrélation pour les paramètres mesurés dans la St4

	pH	S	C	MES	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ct	Cf	Sf
pH										
S	-0.198									
C	-0.084	<b>0.800</b>								
MES	0.026	0.184	0.109							
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.187	-0.141	-0.288	0.063						
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0.370	0.276	0.248	-0.191	-0.171					
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0.097	0.439	0.410	-0.224	-0.286	0.136				
Ct	-0.078	-0.397	-0.492	0.442	0.364	-0.191	-0.232			
Cf	0.129	-0.049	-0.514	0.271	0.308	-0.355	-0.749	-0.401		
Sf	0.529	-0.768	-0.863	-0.581	0.6638	-0.387	-0.705	-0.363	0.356	
staph	-0.498	0.617	-0.579	0.855	0.318	-0.164	-0.783	0.707	0.221	0.770

### Station 5 :

Les résultats ( Tableau XVII) montre une corrélation très significative entre le pH et la conductivité ( $r= 0.93$ ) et entre le pH et les matières en suspension ( $r=0.85$ ). Une corrélation positive entre la conductivité et les matières en suspension ( $r= 0.79$ ) et entre les orthophosphates et l'ammonium ( $r=0.43$ ).

Les coliformes fécaux sont moyennement corrélés au pH ( $r= 0.46$ ) , à la conductivité ( $r=0.46$ ) , aux matières en suspension ( $r=0.57$ ) et à l'ammonium ( $r=0.54$ ) .

Les staphylocoques sont corrélés positivement aux coliformes totaux ( $r=0.62$ ) et négativement à la conductivité ( $r=-0.51$ ) et aux nitrites ( $r= - 0.65$ ).

**Tableau XVII :** Matrice de corrélation pour les paramètres mesurés dans la St5

	pH	S	C	MES	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ct	Cf	Sf
pH										
S	-0.016									
C	0.932	0.163								
MES	0.856	0.028	0.797							
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.211	0.203	-0.300	-0.143						
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0.071	-0.016	0.020	0.076	-0.233					
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0.014	0.022	0.117	0.3252	-0.271	0.430				
CT	-0.154	-0.381	-0.128	-0.051	-0.252	0.179	0.287			
CF	0.462	-0.055	0.467	0.574	0.167	-0.092	0.542	0.311		
SF	0.110	-0.203	0.084	0.182	-0.221	0.140	0.095	0.202	0.356	
staph	0.057	0.034	-0.511	-0.292	-0.655	-0.301	0.063	0.625	-0.104	0.332

Plusieurs études soutiennent qu'il existe une relation entre la présence et/ou la concentration des indicateurs biologiques microbiens et des paramètres physiques ou chimiques (Mcegan *et al.*, 2013). En effet, Des corrélations élevées entre les agents pathogènes et les microorganismes bio indicateurs se produisent souvent à des sources ponctuelles, telles que les eaux de surface impactées par des eaux usées, où les niveaux de microorganismes bio indicateurs et de pathogènes sont constamment élevés pendant une période plus longue (Payment *et al.*, 2011) ceci s'applique parfaitement à nos stations et aux résultats de corrélations entre les Ct, Cf, Sf et staphylocoques obtenus.

La corrélation entre la salinité et la conductivité ainsi que leur relation avec les matières en suspension présentes dans l'eau, à été soutenue par plusieurs études, qui visent à établir le rapport de corrélation entre les solides dissous et la conductivité pour l'eau de mer citons celle de Thirumalini *et al.*, (2009). D'autres études établissent la relation entre le pH et la salinité, plus la salinité diminue plus le pH est bas (Saraswat *et al.*, 2011). Et entre le pH est les indicateurs microbiens, en général, lorsque le pH s'éloigne de la neutralité la survie des bactéries et la salinité sont perturbées (Givord et Dorioz, 2010).

Selon Efstratiou *et al.*, (1997) les indicateurs microbiens ont une meilleure corrélation être les germes pathogènes notamment avec les *Staphylococcus aureus*, en particulier dans les zones a pollution modérée, cela s'applique parfaitement à nos station 1 et 3 qui sont classées en classe B.

Les nitrites sont le résultat d'une nitrification de l'ion ammonium présent dans l'eau et le sol par les bactéries (Santé Canada, 1992). Les taux élevés de ces composés azotés dans l'eau sont toxiques pour la vie aquatique. Plus les matières en suspension sont présentes dans l'eau, plus les taux de germes et de sels nutritifs sont élevés (Bartholomew, 1984).

*Dans le cadre de la réalisation de ce mémoire de fin d'étude nous remercions :*

*Tout d'abord Dieu, le tout puissant et Miséricordieux, pour nous avoir donné la force, le courage et surtout la patience pour bien accomplir ce travail.*

*Nos profonds remerciements sont adressés à notre promotrice Mme HAMAIDI. F & Mme MESSBAIH.F Pour avoir été disponibles toute au long de la réalisation de ce mémoire, pour leurs aides, leurs soutiens, leurs orientations et leurs conseils.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr BOUKHATEM de nous avoir fait l'honneur de présider le jury examinant ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à Mme BOUKRETA pour l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à Mr KAIS.H pour ses innombrables et précieux conseils & à tous les enseignants et les professeurs du département de biologie de l'université de Blida 1. Pour leurs efforts fournis durant toute la période d'étude ainsi qu'à tous ceux qui ont collaboré d'une façon ou d'une autre à notre formation ,*

*Nous remercions infiniment Mr Tafahi Djamel pour son accueil, sa disponibilité, son aide dans la réalisation de ce travail, pour tous le temps qui il a consacré pour nous orienter sur les grands titres de notre stage*

*Ainsi que toute personne ayant contribué de loin ou de près à la réalisation de se travail.*



## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes très chers parents, Pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leurs encouragements et leurs grands sacrifices. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

*Je leur dédie ce travail en témoignage d'un grand amour et reconnaissance infinie. Que Dieu vous protège.*

*je dédie ce travail à toutes mes chers amis Soumia , Moncef & Sabrina*

*pour les leurs soutiens , leurs encouragement et leurs présences*

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.*

## Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la qualité physicochimique et microbiologique des plages de la baie de Bou-Ismaïl , un total de 234 échantillons ont été analysés (90 échantillons pour l'analyse physicochimique , 90 pour l'analyse microbiologique et 54 bio-indicateurs ) durant la période du 6/2016 à 12/2016

L'analyse effectuée s'est portée principalement sur la mesure des paramètres in situ (pH , conductivité , température , salinité ) et l'analyse des sels nutritifs ainsi qu'à la quantification des bactéries indicatrices de contamination fécale à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de contamination fécale qui sont les germes totaux et germes pathogènes

L'antibiogramme permet d'évaluer le degré de résistance des bactéries isolées.

Les résultats de l'analyse bactériologique montrent que les plages étudiées ne sont pas conformes aux normes concernant les eaux de baignade. La qualité de l'eau dans ces plages diffère d'une station vers une autre , Les plages : Qualé et est classée en catégorie A eaux de bonne qualité , la plage Ain Tagourait est classé en catégorie B les autres plages: Fouka et Chenoua sont classées en catégorie C (eau momentanément polluées ) quand a la Station 2 qui correspond aux rejet TONIC est classée en catégorie D (eaux de mauvaise qualité). Donc, toutes les plages étudiées ne sont pas conformes aux normes européennes ; à l'exception de la plage Qualé

Les résultats de l'antibiogramme montrent que les bactéries présentent des profils variables. En général, les bactéries testées montrent une très forte sensibilité à la gentamycine et une résistance majoritaire pour les beta-lactamines utilisés. Elles présentent des résistances acquises concernant un ou plusieurs antibiotiques habituellement actifs.

Les résultats de corrélation ont montré que les paramètres sont relié entre d'où on a conclu que l'origine de ces perturbation est la meme

**Mots clés :** pollution microbienne marine, maladies à transmission hydrique, indicateurs de contamination fécale, bactéries pathogènes, résistance aux antibiotiques.

## ABSTRACT

This study has been done to determine the physico-chemical and microbiological characteristics of the seawater quality of Bou-ismail bay . The main objective of the study is to identify the characteristic of the near shore water quality and to determine the extent of compliance with the algrian local standards and other international standards.

The investigation was conducted through analysis of seawater samples from five sites along the coastal water of the bay. The total samples 234 (90 for physicochemical , 90 for microbiological and 54 for the bioindicators) were analyzed during the summer season period (6/2016 to 12/2016).

Samples were collected from the study area from FOUKA's beach region to CHENOUA beach The study area was divided into five sites according to several criteria such as the presence of pollution points of direct and indirect and the most crowded areas of swimmers and sea visitors.

The analysis of the results shows significant spatial and temporal variations in the physico-chemical parameters (turbidity, electrical conductivity, nitrites ..) but no significant variations in pH and water temperature. On the other hand, the analysis of the results shows significant variations in the microbiological indicators (total coliform, fecal coliform, fecal streptococcus and staphylococcus ) which is apparently due to raw sewage discharge and to the summer season influence .

The analysis confirmed that sites close to the raw sewage discharge points had significantly higher levels of total coliform, fecal coliform, fecal streptococcus than sites free from any sewage discharge. The study indicate high microbiological contamination of seawater above internationally accepted limits, especially at sites close to sewage outlets. Turbidity, electrical conductivity, nitrates and shellfish , also varied significantly also under the influence of sewage discharge , This study demonstrates also that sea urchins , are more vulnerable to faecal contamination specially in hight polluted zones

Based on the main findings of the current study, negative health impacts on Bou-ismail bay population especially seashore visitors, are expected. Several recommendations that may help in controlling and/or protecting the coastal area and the marine ecosystem in the study area have been suggested. the protection of the marine environment that can be enforced by setting the necessary rules and regulations. The study recommended finally; the need for further studies to assess the health impacts of the seawater pollution.

**Keywords:** Physico-chemical ; Microbiological characteristics ; Seawater quality ; beach region ;Bou-Ismaïl bay ;urchins , Bioindicators, Marine environment ; Recreational ; Sewage; Pollution ; Health impacts. (à Revoir )

## ملخص الدراسة

أجريت هذه الدراسة لتحديد و معرفة الخصائص الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية النوعية مياه بحر شواطئ بو اسماعيل بولاية تيبازة . الهدف رئيسي لهذه للدراسة هو التعرف على خصائص ونوعية المياه شاطئ و مقارنتها بالمعايير المحلية الجزائرية والمعايير دولية. أجرت في الدراسة تحاليل لعينات مياه البحر و مؤشرات بيولوجية اخذت من خمسة مواقع على طول الساحل بمجموع 234 عينة (90 عينة لتحاليل الفيزيوكيميائية و 90 عينة لتحاليل الميكروبيولوجية و 54 عينة لمعايرة المؤشرات البيولوجية ) طوال موسم الصيف ( من جوان 2016 الى ديسمبر 2016 )

أظهرت نتائج الدراسة فروق الزمانية المكانية كبيرة في المقاييس الفيزيوكيميائية (درجة الحموضة و درجة حرارة الماء . من ناحية أخرى بينت النتائج تحاليل اختلافات كبير في نسبة المؤشرات المكر وبيولوجية ( , coliformes , streptocoques, staphylocoques ) حيث نلاحظ ارتفاع هام في المواقع الملوثة و خاصة في موسم الصيف اما بالنسبة لنوعية المؤشرات البيولوجية تبين انها مقبولة الا المؤشرات المأخوذة من منطقة رقم 2 والتي تمثل موقع قنوات الصرف الصحي التي تصب مباشرة في البحر

وفقا لهذه الدراسة تمكنا من معرفة مدى تأثير الزوار و مختلف النشاطات الصيفية و الساحلية على النسبة تلوث الشواطئ كما تمكنا من تأثير ملاحظة نقاط التلوث الدائمة و مدى تأثيرها .

استنادا إلى النتائج الدراسة و معرفة الاثار و المخلفات السلبية على الصحة و خاصة علي سكان المنطقة الساحلية و كذا على الشواطئ و المصطافين اقترحت الدراسة عدة توصيات و توجهات يمكن ان يمكن أن تساعد على السيطرة /أو حماية المنطقة الساحلية و النظم الإيكولوجية .

الكلمات المفتاحية: الفيزيوكيميائية ، المنطقة الساحلية ، جودة مياه البحر ، الخصائص الميكروبيولوجية ، ، بحرية . الآثار الصحية ، التلوث ، مياه الصرف الصحي ، الاستجمام

# SOMMAIRE

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### Interoduction

.....1

2.1. 44

### 3eme PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I : Paramètres de pollution

##### 3.1.les paramètres physico-chimiques

3.1.1. La salinité

3.1.2. La température

3.1.3. Le potentiel d'hydrogène (pH)

3.1.4. Nitrites et nitrates

3.1.5. Ammonium

3.1.6. Phosphates

3.1.7. Matières en suspension

##### 3.2. Les paramètres bactériologiques

3.2.1. Niveau de contamination dans les sites d'étude

3.2.2. Les staphylocoques

3.2.3. Les salmonelles

3.2.4. Vibrions

3.2.5. Bio indicateurs

3.2.6. Diversité microbienne dans les différentes station

3.2.7. Classement des plage ....

##### 3.3. Antibiorésistance

##### 3.4. Discussion générale

### Conclusion

### Bibliographie

### Annexes

## I- GENERALITES

.....	3
1.1. Pollution marine	3
.....	3
1.2. Définition de la pollution de l'eau	3
.....	3
1.3. Sources et types de la pollution marine	3
❖ Pollution chimique et physique	3
❖ Pollution microbienne	4
.....	4
❖ Eaux usées polluantes	5
.....	5
❖ Effets de la pollution des eaux	5
.....	5
1.4. Équilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer	6
.....	6
1.5. Flore microbienne de l'eau de mer	6
.....	6
1.6. Comportement des bactéries entériques en mer	7
.....	7
1.7. Les Antibiotique dans le milieu marin et la résistance bactérienne	7

## II . CRITERES D'EVALUATION DE LA QUALITE DE L'EAU :

2.1. Paramètres physico-chimiques	8
❖ Salinité (S ‰)	8
.....	8

❖	Température	(T)	8
❖	Potentiel d'hydrogène	(pH)	8
❖	Conductivité électrique	(C)	8
❖	Les sels nutritifs		9
	a)- Azote		9
	b)- L'ammonium (NH <sub>4</sub> )		9
	c)- Les nitrates (NO <sub>3</sub> )		10
	d)- Phospahtes		10
•	Matières en suspension	(M.E.S)	10
2.2. Les paramètres microbiologiques			11
❖	Les coliformes totaux (CT)		11
❖	Les coliformes fécaux(CF)		11
❖	Streptocoques fécaux (SF)		12
❖	Les Staphylocoques		13
❖	Les germes pathogènes		1
<b>III. CONTROLE DE QUALITE DES EAUX DE BAINNADE ET RISQUE DE CONSOMMATION DES FRUITS DE MER :</b>			
3.1. Contrôle de qualité des eaux de baignade			14
3.2. Principaux risques sanitaires liés à la baignade dans l'eau de mer.			14
3.3. Classement sanitaire des eaux de baignade			15
3.4. Risques de consommation des fruits de mer			15

3.5.	La bioindication .....	15
3.4.1.	Espèces bio indicatrices :	
3.4.2.		

## ETUDE EXPERIMENTALE

### I : Description de la zone d'étude

2.1.1.....	Description géographique et présentation du site.	
2.1.2.....	Réseau hydrographique/apports terrig	
2.1.3.....	Bathymétrie de la baie de Bou-Ismaïl.	
2.1.4.....	Sources de pollution dans la baie de Bou-Ismaïl	
2.2.....	Sites de prélèvements et choix des stations	
2.3.....	Volume et fréquence des prélèvements	
2.4.....	Méthodes d'analyses	
2.4.1.....	Température et potentiel hydrogène (pH)	
2.4.2.....	La salinité (S)	
2.4.3.....	Calcul des Matières en suspension (MES)	
2.4.4.....	Dosage des sels nutritifs	
	Dosage de l'ammonium .....	
	Dosage des nitrites .....	29
a- Dosage	des nitrates	
	.....	30
2.5.	L'analyse microbiologique d'eaux	
2.5.1.	Principe de la filtration sur membrane	
	.....	31

2.5.2. Technique	de	dénombrement	
.....			32
2.5.3. Techniques	de	recherche	des Vibrio
.....			33
2.5.4. Technique	de	recherche	des
Salmonelles.....			34
2.6. Analyse	des	bio	
indicateurs.....			
A) Recherche des coliformes			35
b) Recherche	des	staphylocoques	
.....			39
C ) Recherche des germes pathogènes et vibrions			
.....			41
2.7. Identifications			
.....			42
2.8. Antibiogramme			
.....			43
Etudes statistique et indices			

*Liste des abreviations  
(Par ordre alphabétique)*

**°C Degré Celsius**

**CF Coliformes fécaux**

**CT Coliformes totaux**

**EPI Eau péptonée exempte d'indole**

**E. coli Escherichia coli**

**F.A.O Food and Agriculture Organization of the United Nations**

**g Gramme**

**l, L Litre**

**m Mètre**

**MES Matières en suspension**

**ml Millilitre**

**pH Potentiel hydrogène.**

**PSU :**

**SF Streptocoques fécaux**

**UFC Unité formant colonie**

**VBL Bouillon lactosé au vert brillant**

**um Micromètre**

# *Liste des Figures*

**Figure 1:** Coliformes fécaux.

**Figure 2 :** Streptocoques fécaux.

**Figure 3 :** Staphylocoques.

**Figure 4 :** Vibrions.

**Figure 6 :** les Salmonelles.

**Figure 7 :** Image satellitaire de la baie de Bou-Ismaïl (14-08-2016).

**Figure 8 :** Carte du réseau hydrographique de la baie de Bou-Ismaïl .

**Figure 9 :** Sources de pollution dans la baie de Bou-Ismaïl.

**Figure 10 :** Les principaux rejets dans la baie de Bou-ismaïl (Grime ; 2004).

**Figure 11 :** Rejet d'industrie papèteries en plein mer ( Bou-Ismaïl le 11-07.2016).

**Figure 12 :** Déchets ménagés en plein plage Qualé (Tipaza le 22-08-2016).

**Figure 13 :** Carte présentative de les zones de prélèvement dans la baie de Bou-Ismaïl.

**Figure 14 :** Multi paramètres utilisé .

**Figure 15 :** Étapes et diapositif de mesure des MES.

**Figure 16 :** Etapes d'analyse des Nitrites .

**Figure 17 :** Etapes d'analyse d'Ammonium.

**Figure 18 :** Etapes de mesure des phosphates.

**Figure 19 :** Méthode et diapositif de filtration.

**Figure 20 :** Etapes de recherche des vibrions.

**Figure 21:** Etapes d'isolement des Salmonelles.

**Figure 22 :** Matériel biologique utilisé.

**Figure 23 :** Préparation des suspensions mères a partir des échantillons.

**Figure 24 :** Préparation des milieux avec les différentes dilutions.

**Figure 25 :** Milieu VBL après incubation.

**Figure 26 :** Test de MAC Kenzie (ajout des reactifs )

**Figure 27 :** Technique d'isolement des staphylocoques

**Figure 28 :** Technique de recherche des salmonelles pour les produits de pêches

**Figure 29 :** Présentation de la galerie API20E avant utilisation

**Figure 30 :** manipulation de la galerie API

**Figure 31 :** Application des disques D'antibiotiques

**Figure 32 :** Valeurs moyennes de la salinité pour les différentes stations.

**Figure 33 :** Variation des températures des stations, en fonction de la période de prélèvements

**Figure 34 :** Variations des valeurs moyennes du potentiel hydrogène (pH) en fonction des stations.

**Figure 35:** Concentrations moyennes des nitrites.

**Figure 36 :** Concentrations moyennes de l'ammonium.

**Figure 37 :** Concentrations moyennes des phosphates

**Figure 38 :** Les concentrations moyennes des Coliformes totaux, fécaux et d'*Escherichia coli*

**Figure 39 :** Nombre moyen de Streptocoques par 100ml

## *Liste des tableaux*

Tableau I: Concentration de quelques micro-organismes dans les eaux usées urbaines

Tableau II : rapport de détermination de l'origine de de contamination

Tableau III: Rejets d'eaux usées dans la wilaya de Tipaza

Tableau IV: Les principales industries dans la zone de Bou-Ismaïl (Aouidad ;1997)

Tableau V: Les principales industries dans la zone de Bou-Ismaïl

Tableau VI : Nombres et types de bio indicateurs prélevés par station

Tableau VII : Dénombrement des Ct ,Cf, St , Sf, Staphylocoque par la méthode filtration sur membrane

Tableau VIII : teste catalase et coagulase

Tableau IX : Classification des coliformes en hygiène et en santé publique (Haslay ,1996 )

Tableau X : Infections transmissibles par l'eau ou étroitement liées à l'eau

Tableau XI : Bactéries pathogènes transmises par les produits de la mer( Huss.H. ,1995)

Tableau XII : Normes Critères de classement sanitaire des eaux de baignade

Tableau XII : Valeurs moyennes de la salinité

Tableau XIII : Valeurs moyennes du pH

Tableau XIV: Valeurs moyennes de la conductivité

Tableau XV : Valeurs moyennes des Coliformes totaux, fécaux

Tableau XVI : Nombre moyen de Streptocoques fécaux

Tableau XVII: Profil morphologique et biochimique des Staphylocoques

Tableau XVII: Valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels

# Introduction

## **Introduction :**

Actuellement, le sujet qui ne cesse de revenir est celui de la pollution marine, considéré dans le passé comme une capacité illimitée de l'accumulation des déchets, le milieu marin montre aujourd'hui un tout autre aspect, en raison des différents déversements anthropiques, et des fausses idées reçues et inculquées dans l'esprit de l'homme contemporain, ces milieux agonisent de produits, masses, substances qui leur sont étrangères. C'est le cas de certaines baies et ports (systèmes fermés ou semi fermés), qui sont devenues aujourd'hui le réceptacle de plusieurs sources de pollution notamment ceux des rejets industriels et domestiques (PNUD, 1995).

Le milieu marin représente un enjeu considérable en termes de développement socioéconomique. Ces dernières décennies, la pollution des océans à travers le monde est devenue un sujet de préoccupation croissante à l'échelle internationale. La mer méditerranée est soumise à un problème grave de pollution dû à l'accroissement des apports anthropogéniques côtiers de ses pays riverains en voie d'industrialisation. La civilisation moderne et l'activité de l'homme sont indéniablement les causes principales de la contamination de l'hydrosphère. (Salomon, 2003; Houma *et al.*, 2005(a); Lambert *et al.*, 1981) **répétition du premier paragraphe**

La pollution des écosystèmes marins et littoraux est devenue un des problèmes majeurs posés par l'environnement. Les facteurs qui en sont responsables ne cessent de s'accroître et de le déséquilibrer, surtout par l'action anthropique. Le problème de cette pollution s'aggrave à l'heure actuelle et représente un véritable danger pour la santé publique, en raison de la pression démographique et du développement technologique des villes, plus accentuées sur les zones côtières (Boutiba *et al.*, 2003). **répétition du premier et deuxième paragraphe**

L'Algérie qui possède une façade maritime assez importante n'est pas épargnée, le problème de pollution le long de ses côtes ne cesse de s'accroître de jour en jour. La fréquentation des plages est devenue un besoin social de plus en plus impérieux de détente, de récupération et de bien-être et si elle présente d'indéniables avantages pour la santé physique et mentale, il faut prévenir les risques multiples que celle-ci peut engendrer.

La surveillance de la qualité des eaux littorales nécessite l'organisation de programmes scientifiques capables d'estimer l'état sanitaire général du milieu, d'identifier les causes de perturbations et d'obtenir une évaluation globale de la qualité du milieu (**Sahnouni, 2004**).

C'est dans ce contexte que nous avons choisi la baie de Bou-Ismaïl qui est l'une des régions qui connaît une intervention humaine intensive en vue des différentes activités industrielles , agricoles , domestiques ...et récréative en raison de ses plages qui créent ainsi un potentiel risque sur la santé humaine en raison de son extension touristique en période estivale . Malheureusement, ce site est confronté à une pollution de l'eau de mer évidente et en évolution continue.

La pollution de l'eau récréative peut entraîner des problèmes de santé en raison de la présence de microorganismes infectieux d'origine humaine ou animale.

De plus cette baie représente un site propice pour le développement de l'aquaculture , cette dernière commence à intéresser plusieurs investisseurs notamment les éleveurs de coquillage (conchyliculture) , mais il semble que le problème de pollution constitue une contrainte majeure pour l'expansion et l'exploitation de cette zone. D'où l'intérêt de cette étude qui a pour but d'une part d'évaluer la salubrité et la qualité environnementale et sanitaire de cette baie par des analyses microbiologique, physico-chimique et celles du benthos (macrofaune benthique ) en guise de bio indicateurs et d'autre part d'établir le profil de résistance des bactéries isolées.

**La pollution des mers n'est plus une hypothèse à débattre,  
mais une réalité à affronter**

## I. GENERALITES

Les eaux littorales constituent souvent un milieu récepteur pour les rejets d'eaux usées qui véhiculent de nombreux microorganismes pathogènes pour l'homme : bactéries, virus et parasites. Lorsque les eaux côtières et c'est souvent le cas, font l'objet d'usages pour les baignades et la consommation de coquillages, les pollutions microbiologiques constituent des enjeux en terme de Santé Publique d'impacts sanitaires plus ou moins importants.

### I.1. POLLUTION AQUATIQUE **changement de numérotation, tu suivras l'exemple**

L'eau est l'élément autour duquel se maintient et se développe la vie. L'humanité se trouve depuis quelques années devant une explosion démographique, une expansion industrielle et une croissance alarmante de la pollution des eaux (**Vaillant, 1973**).

#### I.1.1. Définition de la pollution de l'eau

La pollution comprend toute nuisance apportée à un écosystème qu'elle soit une modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau. C'est la contamination de l'eau par les corps et substances étrangères tels que des micro-organismes, des produits chimiques, des déchets industriels ou autres ; dues à des déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matières de toute nature et, plus généralement, tout à fait susceptible de provoquer ou d'accroître la dégradation des eaux en modifiant leurs caractéristiques, chimiques, biologiques ou bactériologiques (**Guiraud, 1998**).

#### I.1.2. Principales sources et types de pollution marine :

Il n'y a pas pollution d'un milieu sans souillure et dégradation de celui-ci. Qui dit pollution marine pense obligatoirement à une altération de la qualité du milieu marin, le plus vaste des écosystèmes de la biosphère (**levêque, 1996**)

elle peut être de différents types :

##### ❖ **Pollution chimique :**

Elle est due essentiellement aux déversements de polluants organiques et des sels de métaux lourds par les unités industrielles. Elle se traduit par la présence de particules de taille et de matière très variées dans l'eau, qui lui confèrent un caractère trouble (**Bouziani, 2000**).

Selon (**Aroua, 1994**), les polluants chimiques sont classés en cinq catégories :

- Les polluants chimiques dits indésirables (nitrates, composés phosphorés et sels ammoniacaux).
- Les polluants chimiques toxiques.
- Les pesticides et produits apparentés.
- Les hydrocarbures.
- Les détergents

❖ **Pollution microbienne :**

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en coliformes, bactéries pathogènes, virus et parasites. Le réservoir majeur des bactéries responsables des maladies à transmission hydrique se trouve être l'appareil digestif de l'Homme et des animaux. L'élimination de ces bactéries par les matières fécales contamine les égouts urbains, les eaux résiduaires hospitalières et les eaux de surface (Gauthier, 1996) (Tableau 1).

**Tableau I : Concentration de quelques micro-organismes dans les eaux usées urbaines**  
 A corriger les exposants et les auteurs

<i>Microorganismes</i>	<i>Concentrations</i>
<i>Escherichia</i>	2x10 <sup>7</sup> germes /litre 10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> germes /litre (Geldreich,1978 ; Boutin, et al,1979 )
<i>Streptococcus faecalis</i>	10 <sup>7</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> germes /litre(Geldreich,1978 ; Boutin, et al,1979 ; Kott ,1978 )
<i>Salmonella</i> (1700 types sérologiques)	250 germes /litre 200 à 16.10 <sup>4</sup> germes /litre 20 à 10.10 <sup>4</sup> germes /litre ( Hugues, et al.,1976).
<i>Mycobacterium</i>	10 <sup>5</sup> à 10 <sup>6</sup> germes /litre 1,5.10 <sup>6</sup> germes /litre (Lund, 1975)
Entérovirus (plus de 100 sérotypes)	38 à 466 NPPUC/litre 80 à 2000 NPPUC/litre 15 à 160 U.F.P/litre (Hugues, et al.1981)

NPPUC : nombre le plus probable d'unités cytopathogènes UFP : unités formant plages

Les microorganismes rencontrés dans l'eau de mer sont de trois types : des germes typiquement aquatiques, des germes telluriques et des germes de contamination humaine ou animale.

Ils appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Spirillum*, *Crenothrix*, *Sphaerotilus*, *Galionella*, et c. Les germes telluriques rencontrés dans l'eau sont des bactéries sporulées comme *Bacillus* et *Clostridium* ou appartenant au genre *Streptomyces* et quelquefois des spores fongiques.

En définitive, bien que la majorité des germes rencontrés couramment dans l'eau soit des germes banaux mésophiles peu dangereux, les problèmes microbiologiques posés sont essentiellement des problèmes sanitaires dus à des germes pathogènes souvent en quantité limitée

Une fois déversées dans les océans, les bactéries peuvent être retrouvées sous divers formes , sous forme de microbes libres ,ce mode place la cellule en situation de carence car les germes n'ayant rencontré aucun support, aucun refuge, restent libres mais vulnérables .Ils représentent une minorité en péril et sont incapables de reproduction et par conséquent appelés à disparaître (**BRISOU et DENIS, 1978**) , ou en forme de résistance telle que les biofilms aquatiques, fixés sur des substrats immergés, Ils interagissent avec les substances dissoutes et les contaminants (et notamment avec les pesticides) qui peuvent modifier leur structure et leur fonctionnement par des effets directs ou indirects. (**Pesce, date ?? ; Tili, date ?? ; Montuelle, 2008**).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme et elle est liée à leur inéluctable évolution. Elle s'observe à divers degrés à l'égard de tous les membres d'une famille d'antibiotiques donnée. On assiste de surcroît à des multirésistances dans le milieu marin , c'est à dire au fait qu'une bactérie est résistante en même temps à plusieurs familles d'antibiotiques (**Gauthier, ;1993**)

La persistance des antibiotiques dans les sédiments marins dépend de : la nature de l'antibiotique , la nature du sédiment et les conditions environnementales.

Toutefois la présence des antibiotiques dans les sédiments entraîne trois conséquences : la diminution transitoire d'un facteur 2 à 3 du nombre total de bactéries , l'augmentation transitoire du pourcentage de bactéries sédimentaires résistantes et la perturbation des cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre (Harold, C. N ;1992)

**1.4.4. Effets de la pollution de l'eau : changement de numérotation du paragraphe remarque valable pour la suite du document prend exemple de ce que j'ai fait dans la première partie**

Parmi les principaux effets de la pollution de l'eau, on cite :

- -La dégradation de la qualité de l'eau en la rendant impropre aux usages souhaités.
- -Les maladies à transmission hydrique.
- le bouleversement du processus d'auto-épuration et éventuellement la modification de façon défavorable du milieu vivant

Dans le même contexte, on peut citer le phénomène d'eutrophisation. C'est une fertilisation excessive des eaux due à un apport massif de composés azotés et phosphorés provenant de l'activité agricole et des rejets domestiques et industriels. Ces composés favorisent le développement des micro-algues (phytoplanctons) et des macro-algues qui constituent le premier maillon de la quasi totalité des chaînes alimentaires. L'eutrophisation induit un dysfonctionnement de l'écosystème, elle conduit à son asphyxie par épuisement des réserves d'oxygène (MECHAI,2005 )

**1.5. Équilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer :**

L'autoépuration des eaux marines est le retour spontané à la normale d'un écosystème modifié, physiquement, chimiquement, biologiquement, ou le tout à la fois (Equinoxe,1990 ). Le pouvoir bactéricide des eaux polluées, quelle que soit leur origine : mer, rivière, etc...., leur permet de se débarrasser au moins en partie de la contamination. Ce phénomène de l'autoépuration apparaît comme une défense naturelle contre la pollution démesurée des nappes d'eau par l'homme et par les animaux. Sans une telle défense, les épidémies d'origine aquatique seraient probablement plus fréquentes vu l'étendue et l'intensité de la pollution des eaux (BRISOU, , 1968)

## II. CRITERES D'EVALUATION DE LA QUALITE DE L'EAU

Deux catégories d'indicateurs sont utilisées pour évaluer la qualité sanitaire des eaux de baignade : des paramètres physico-chimiques et des paramètres microbiologiques.

### 2.1 PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES **changement de numérotation, tu suivras l'exemple**

#### ❖ Salinité (S ‰)

La mesure de la salinité est importante dans l'étude du milieu marin. Par son influence sur la densité de l'eau de mer, elle permet de connaître la circulation océanique, d'identifier les masses d'eaux d'origines différentes et de suivre leurs mélanges au large, à la côte ou dans les estuaires (**Aminot et Chaussepied, 1983 ; Rodier *et al.*, 2005**).

Mesurée en P.S.U (Practical Salinity Unit), la salinité représente la masse, en grammes, des substances solides contenues dans un kilogramme d'eau de mer, quand les ions bromure et iodure sont remplacés par leur équivalent de chlorure, les carbonates convertis en oxydes et toute la matière organique oxydée (**Aminot & Kérouel, 2004**).

#### ❖ Température (T)

C'est une caractéristique physique importante. Sa mesure est indispensable pour le traitement ou l'interprétation d'autres paramètres comme la saturation et la solubilité des gaz dissous et la détermination du pH pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels (**Gaujous, 1995 et Aminot & Kérouel, 2004**).

D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profonde (**Aminot & Kérouel, 2004**).

#### ❖ Potentiel d'hydrogène (pH)

C'est un paramètre chimique caractérisant l'acidité ou la basicité d'un milieu (**Rodier *et al.*, 2005**)

Le pH de l'eau de mer, voisin de 8,2, est fixé par la présence des carbonates et la modification des concentrations en (CO<sub>2</sub>) (respiration, photosynthèse, échange air-océan) entraînera une modification du pH (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

### 3.1.2. Conductivité électrique (CE)

La conductivité est la propriété que possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend de la nature de ces ions dissous et de leurs concentrations (REJSEK, 2002). Celle des eaux marines, est très élevée en raison de la forte concentration en sels dissous (Aminot & Kérouel, 2004).

Mesuré sur le terrain, ce paramètre permet de caractériser l'eau. L'unité de conductivité est le micro-Siemens par mètre ( $\mu\text{S}/\text{m}$ ). La mesure absolue de la conductivité peut servir au calcul de la salinité, mais les conditions de mesure sont alors plus complexes. Dans ce cas, la conductivité d'un échantillon est déterminée par comparaison avec la conductivité d'une eau de mer standard (eau de mer normale) dont la salinité est de 35 ‰ (Rodier *et al.*, 2005).

### 3.1.3. Sels nutritifs

Les éléments nutritifs sont des descripteurs hydrologiques indispensables à l'étude d'un écosystème marin. En milieu aquatique, la chaîne alimentaire repose sur les producteurs primaires représentés dans les eaux de surface par le phytoplancton. Oxygène, carbone et hydrogène sont disponibles en abondance dans le milieu marin mais l'azote et le phosphore sont en concentrations relativement faibles.

Les éléments nutritifs qui limitent l'activité photosynthétique des organismes photosynthétiques sont l'azote, le phosphore et le silicium sous leur forme oxydée, d'où leur appellation « éléments bio-limitants » (Copin-Montégut, 1996). Les sels nutritifs, dans l'eau de mer ont plusieurs origines qu'on peut regrouper en deux types de sources (externes et internes).

- **Azote (N)**

C'est un élément qui se trouve sous forme ammoniacale ou organique ou inorganique (ammoniaque, nitrate, nitrite). Il constitue la majeure partie de l'azote total. Il existe sous trois formes : nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), et de composés organiques tels que l'urée ou les acides aminés. Ce sont les formes d'azote utilisables par le phytoplancton

(Copin-Montégut, &1996Jaquet ,2008). Classer les auteurs selon les dates la plus ancienne à la plus récente

L'azote est l'un des éléments qui favorisent la prolifération d'algues (BECHAK *et al.*, 1983).

- **Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) :**

L'azote ammoniacal provient des excréments animaux et de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés. Dans les eaux marines, l'azote ammoniacal se trouve à des concentrations inférieures au  $\mu\text{mole/l}$ . En effet, il est présent sous deux formes en solution, l'ammoniac (NH<sub>3</sub>) et l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dont des proportions relatives dépendant du pH, de la température et de la salinité du milieu (Aminot & Chaussepied,1983).

Il peut avoir pour origine les rejets industriels (stations d'épuration), les engrais, la dégradation de la matière organique et l'excrétion du zooplancton. En eaux côtières non polluées et en milieu océanique, les concentrations sont généralement inférieures à  $1 \mu\text{mol/l}$ . Par contre, dans les estuaires, les concentrations sont plus élevées traduisant ainsi l'influence des rejets urbains ou agricoles (Tréguer et Le Corre , 1975).

- **Nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) :**

Les nitrates sont une forme oxydée stable de l'azote en solution aqueuse et elles sont la forme la plus répandue dans l'océan (65% du stock de l'azote). Leur concentration varie entre  $0 \mu\text{mole/l}$  à la surface et à plus de  $45 \mu\text{mole/l}$  dans les eaux profondes.

Les nitrates résultent de l'oxydation des nitrites par des bactéries (nitrobacter) lors de la réaction de nitratisation. Elles entrent dans le cycle de l'azote comme support principale de la croissance phytoplanctonique. (Aminot & Chaussepied,1983).

- **Phosphore (PO<sub>4</sub>) :**

Le phosphore minéral dissous dans l'eau de mer est essentiellement présent sous forme d'ions orthophosphates. La concentration dépend des phénomènes physiques (mélange, adsorption, diffusion) et biologiques (consommation par le phytoplancton, excrétion par le zooplancton, régénération de la matière organique)( RODIER J., 1996). De plus les phosphates échappent en majeure partie (80%) au traitement des stations d'épuration

biologique classique et, de ce fait, se retrouvent dans les rejets et par la suite dans les eaux marines (**LADJEL et BOUCHEFER, 2004**.)

#### **3.1.4. Matières en suspension (M.E.S)**

Il s'agit de matières non solubilisées. Elles comportent des matières organiques et des matières minérales (GAID, 1984). D'après **Ivanoff (1972)**, d'origines minérales ou organiques, vivantes ou détritiques, de nature biogénique, terrigène, éolienne ou météoriques ; les matières en suspension dans les eaux de mer sont donc de dimensions très variables, elles sont transportées au sein de la masse d'eau qu'elle soit douce, marine ou résiduaire. Elles peuvent être un indice de pollution (**Aminot & ChaussePied, 1983**).

D'une part, les particules réduisent la transparence de l'eau de ce fait la production primaire photosynthétique, d'autre part elles présentent une surface de contact importante pour des échanges physico-chimiques ou biologiques avec l'eau de mer. (**Mertes et al., 1993**).

La concentration des matières en suspension peut influencer la qualité de vie car elle empêche la pénétration de la lumière et celle de l'oxygène (Rodier, 1997; Berne & Cordonnier, 1991) .Elles peuvent être aussi considérées comme des transporteurs importants des polluants, fertilisants, toxiques et biologiques (**Lacaze, 1996**).

## **II.2. INDICATEURS MICROBIENS**

La qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents (**Rodier, 1966**).

Parmi ces germes indicateurs, les principaux sont : les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

### **❖ Coliformes totaux (CT)**

Il s'agit de bacilles Gram négatifs (BGN) non sporulés oxydase négative aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36°C et 37°C. Ils existent dans les matières fécales mais se développent également dans les milieux naturels (**Leyral, et al., 2002**). Ils regroupent les germes **Echrichia, Citrbacter , Klébsiella, Yersinia, Serratia, Rahnella, et Buttiauxella** à vérifier l'écriture (**RODIER et al, 1996, JOLY et REYNAUD, 2003**) .

### ❖ Les coliformes fécaux(CF)

Il s'agit des coliformes possédant les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux mais à 44°C, ils remplacent dans la majorité des cas l'appellation : (coliformes fécaux) on cite *E. coli* qui produit de l'indole à partir du tryptophane, fermente le lactose ou le mannitol avec production d'acide et de gaz. Elle ne peut pas en général se reproduire dans les milieux aquatique, leur présence dans l'eau indique une pollution fécale récente (**Leyral, et al., 2002**).

### ❖ Streptocoques fécaux (SF)

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae* au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field (**Sharpe, 1979**).

Il s'agit de cocci à Gram positif (CGP) de forme sphérique ou ovoïde, se présentant en chainettes plus ou moins longues, non sporulées aéro-anaérobies facultatives, ne possédant ni catalase ni oxydase. Ce sont des hôtes normaux d'homme, et ne sont pas considérés comme pathogène (**BERGEY, 1984, Rodier, 1996**).

L'origine de la pollution fécale est liée au rapport (R) quantitatif des coliformes fécaux sur les streptocoques fécaux. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau II

**Tableau II : rapport de détermination de l'origine de de contamination**

Rapport (R) CF/SF	Sources de contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animal
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine

(**BORREGO et ROMERO, 1982**).

### ❖ Germes pathogènes

En fait, seules les *Salmonella* et les *Shigella* sont des bactéries fréquemment recherchées, en dehors de cas d'épidémies. Cependant, ces dernières années, une certaine importance a été attribuée aux *Yersinia*, aux *Campylobacter*, aux virus et aux parasites. Les risques sanitaires

provenant de microorganismes d'origine non fécale sont surtout importants au cours des baignades et pratiques thermales. Ils ne peuvent être évalués que par la recherche des pathogènes eux-mêmes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *V.parahaemolyticus* sont les plus fréquemment recherchés.

- **Staphylocoques**

Les staphylocoques sont des cellules sphériques de 0.5 à 25 **um** généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores ; ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (**LECLERC et al ,1995**).

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou « staphylocoque doré » possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (**LECLERC et al, 1995**).

Parmi ces espèces, *S. aureus* revêt plus d'intérêt quant à la pollution de eaux littorales et des fruits de mer. Deux autres espèces (*S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important.

La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (**GAUJOUS, 1995 et RODIER et al, 1996**).

### **III. CONTROLE DE QUALITE DES EAUX DE BAINNADE ET RISQUE DE CONSOMMATION DES FRUITS DE MER**

Les impacts associés à la contamination microbiologique des eaux littorales affectent la qualité de l'eau elle-même mais aussi celle des cheptels présents sur les sites soumis aux contaminations. C'est l'homme : l'utilisateur du littoral en qualité de «baigneur » ou de« consommateur de fruits de mer » qui suscite un grand intérêt.

Pour l'évaluation de la qualité des eaux de baignade, le suivi porte essentiellement sur la pollution bactériologique engendrée par des rejets d'eaux usées. Cette pollution présente, en effet, le risque de dissémination de germes pathogènes, susceptibles d'entraîner des

maladies telles que conjonctivites, rhinopharyngites, otites, sinusites, maladies cutanées ou digestives (Lesne, 1998).

### III.1. PRINCIPAUX RISQUES SANITAIRES LIES A LA BAIGNADE DANS L'EAU DE MER

Si la baignade constitue une activité de loisirs qui permet détente et exercices physiques bénéfiques pour la santé, elle peut néanmoins présenter certains risques. Ces derniers sont liés soit à la qualité de l'eau soit aux activités associées à la baignade ( Alexander et al., (1992).

Les eaux utilisées à des fins récréatives peuvent être contaminées par le contact direct avec l'être humain et par les polluants provenant de sources extérieures (eaux usées, eaux de pluie et eaux de ruissellement d'origine agricole) (Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées 1992).

Par ailleurs de nombreuses études épidémiologiques récentes montrent que la baignade dans une eau polluée augmente de façon significative les risques de maladies gastro-intestinales et des maladies de l'appareil respiratoire supérieur (Corbett, 1993) (Voir Tableau X)

### III.2. CLASSEMENT SANITAIRE DES EAUX DE BAIGNADE

A l'issue de la saison estivale, un classement des plages est établi à partir de l'ensemble des paramètres analysés. A l'échelon européen, le classement est basé sur la conformité des paramètres microbiologiques ainsi que des paramètres physico-chimiques (résultats inférieurs aux nombres impératifs pour 95% des échantillons). Il définit deux classes : eaux conformes et eaux non conformes.

Au niveau national, la classification comporte 4 catégories (Tableau 12). D'une part, il partage les eaux conformes en : Eaux de bonne qualité, **catégorie A** : respect des valeurs guides et impératives de la directive, Eaux de qualité moyenne, **catégorie B** : respect des valeurs impératives, et d'autre part les eaux non conformes en : Eaux momentanément polluées, **catégorie C** : entre 5 et 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives, Eaux de mauvaise qualité, **catégorie D** : plus de 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives (Qualité des eaux marines)

### III.3. Risques de consommation des fruits de mer :

Les fruits de la mer concentrent les bactéries et les virus d'un facteur 10 à 100 par rapport à la concentration dans l'eau de mer. Les germes présents s'accumulent dans les coquillages filtreurs, le processus de concentration des germes, liés au taux de filtration, a fait l'objet de nombreuses études. En retenant celles fournies par (DESLOUS-PAOLI *et al.*, 1987 in POGGI,1990), ils interviennent surtout dans la transmission des fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et de l'hépatite virale. Les moules ont été responsables de nombreuses épidémies de fièvres typhoïdes et de cholera. Les gastro-entérites sont fréquentes chez les consommateurs de palourdes et de coques même en absence de bactéries spécifiquement pathogènes. Certaines pollutions bactériennes sont d'ordre spécifiquement marin. Il en est ainsi de *Vibrio parahaemolyticus*; un des plus fréquents agents de gastro-entérites (coquillages et poissons) (Leclerc *et al.* ;1982), la capacité de filtration des bivalves et de la macrofaune est estimable d'où leur utilisation comme bio indicateurs

### **III.3.1. Bioindication :**

La bioindication désigne l'évaluation de la qualité des milieux à l'aide de bioindicateurs c'est-à-dire d'organismes vivants connus pour leurs capacités à refléter l'état des écosystèmes et à identifier les problèmes et les risques encourus par ceux-ci. Un bioindicateur peut être un individu, une partie d'individu ou même une communauté d'individus renfermant de l'information sur la qualité du milieu. Étant donné la non-spécificité des réactions de la plupart des organismes en présence d'un stress environnemental, la tâche d'un bioindicateur est davantage de mettre en évidence les effets physiologiques affectant les organismes sous l'influence de conditions environnementales stressantes que de mesurer directement les concentrations des différents polluants impliqués (Fränzle, 2003).

### **III. 3.2. Espèces bio indicatrice :**

La macrofaune benthique et de plus en plus utilisée pour la surveillance des milieux aquatiques, de tels indicateurs peuvent servir à détecter des signes précurseurs d'éventuels problèmes environnementaux, à identifier les causes et les effets entre les perturbations du milieu et les répercussions sur le plan biologique ainsi qu'à évaluer l'efficacité des mesures mises en œuvre pour restaurer la qualité des milieux naturels (Kaiser, 2001-Boulanger ;2009)

Les bivalves sont des mollusques caractérisés par la présence d'une coquille composée de deux parties (deux valves), l'absence de radula et un mode de vie presque exclusivement sessile (**Ruppert et Barnes, 1994**). En tant que filtreurs, les bivalves sont réputés être de bons indicateurs de pollution et leur utilisation comme bioindicateur remonte au milieu des années 1970 avec la mise en place du premier programme de biomonitoring international (**Gaitonde et al., 2006; Smolders et al., 2003**). Il s'agit du groupe d'organismes de loin le plus étudié dans le domaine de l'évaluation de la contamination du milieu marin par les métaux lourds et certains groupes comme les moules, les huîtres et les palourdes ont fait l'objet de nombreuses recherches et sont utilisés partout à travers le monde dans les programmes de biomonitoring (**Oehlmann et Schulte-Oehlmann, 2003**)

L'oursin comestible est un échinoderme pouvant s'avérer fort utile dans certains cas, particulièrement lorsque les organismes normalement utilisés ne sont pas présents dans le milieu étudié. Ces organismes possèdent pour la plupart les caractéristiques recherchées chez un bioindicateur : ils sont sessiles ou ne se déplacent que sur de courtes distances, sont faciles à capturer et à identifier et comptent parmi les espèces prédominantes de la macrofaune benthique de nombreux écosystèmes marins (**Warnau et al., 2006**).

## **REMARQUES**

**LE RESUME JE LE CORRIGERAI A LA FIN**

**Justifier les textes de vos paragraphes je l'ai déjà fait pour certains paragraphes**

**INTERLIGNE 1.5 OU 1.15 L'ESSENTIEL QU'IL SOIT UNIFORME POUR TOUT LE DOCUMENT**

**ECRITURE DU TABLEAU A RESPECTER COMME JE L'AI FAIT POUR LE TABLEAU I (numérotation en chiffre romain pour les figures en chiffre arabe)**

---

**Uniformiser l'écriture des auteurs soit en majuscule soit en minuscule soit en bleu soit en noir**

**Hugues, B et al. (1976) On écrit comme ça Hugues *et al.*, (1976) enlèves les initiales du prénom et al s'écrit selon le modèle donné**

**Reprendre la numérotation des paragraphes en suivant mon exemple**

**Insérer tableaux et figures dans le texte**

**Ces remarques seront valables pour tout le document**

**Quand tu commences un paragraphe il faut une ligne**

**Tu devras prendre en considération toutes ces remarques avant de m'envoyer la partie résultats et discussion qui sera II de ta partie expérimentale**

0

## MATERIEL ET METHODES

Cette étude consiste à effectuer des analyses physico-chimiques et bactériologiques des eaux côtières durant une période de six mois s'étalant du mois de juin 2016 jusqu'au mois de décembre 2016. Les différentes analyses ont été réalisées au niveau de plusieurs laboratoires à savoir : le laboratoire du CNRDPA Bou-Ismaïl , les laboratoires d'hygiène de Tipaza et Blida .

### I.1. PRESENTATION DE LA REGION D'ETUDE : LA BAIE DE BOU-ISMAIL

La baie de Bou-Ismaïl (ex : Golfe de Castiglione), est limitée à l'Est par le promontoire de Ras-Acrata et à l'Ouest par le cap du Mont Chenoua. Elle couvre une superficie de 350 Km<sup>2</sup> avec une ouverture de 40 Km orientée du Sud- Ouest au Nord- Est , soit 2° 54 Est et 36° 48 Nord à 2° 24 Est et 36° 38 Nord ( Figure 1).

La région de Bou-Ismaïl est une zone à vocation touristique et agricole ; sa frange côtière est soumise principalement aux rejets domestiques des villes et des complexes touristiques qui se déversent directement dans le milieu naturel sans aucun traitement au préalable surtout en période estivale. Ajoutant à cela, les rejets d'eaux usées véhiculées par les oueds qui traversent les centres urbains et qui se déversent en mer, drainant les eaux de ruissellement des terres agricoles, des effluents urbains et industriels; à cela s'ajoute la pollution due l'activité de la pêche (LEM, 1998).



**Figure 1** : Image satellitaire de la baie de Bou-Ismaïl le 14-08-2016(Google Earth).

### I.1.1. Réseau hydrographique/apports terrigènes

La baie de Bou-Ismaïl est le réceptacle de nombreux oueds à régime irrégulier. Les principaux oueds sont : Oued Nador dans la baie de Chenoua, Oued Mazafran au centre de la baie de Bou-Ismaïl et Oued Beni Messous dans la baie d'el Djamila (**Annane et al., 2007**) (Figure 2).

#### ✚ Oued Mazafran :

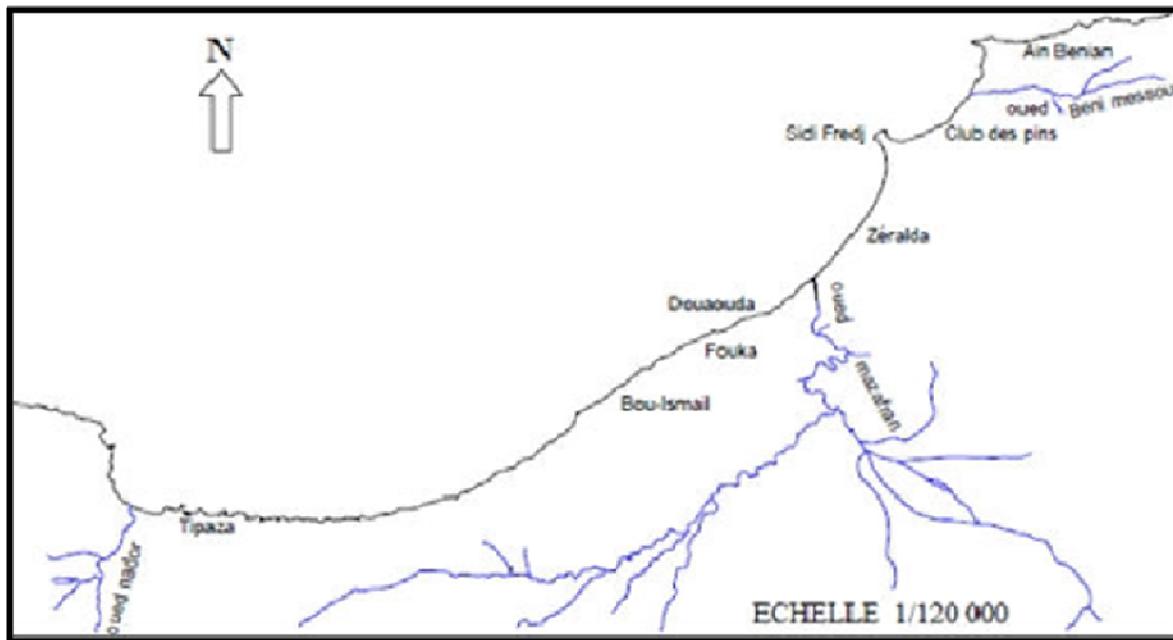
Possédant un bassin versant de  $1850 \text{ km}^2$ , c'est le plus important des oueds qui débouche dans la baie. Son débit solide est estimé entre  $1400$  et  $1800 \text{ t/km}^2$ , tandis que le débit liquide à  $43.8$  millions  $\text{m}^3/\text{an}$ . Le débit solide à l'embouchure de l'oued est d'environ trois millions  $\text{t/an}$ . Ces apports dépendent étroitement du régime hydrologique de l'oued marqué par un long étiage de Juin jusqu'au début Décembre avec des débits représentant  $17,38\%$  du débit liquide annuel. Entre Décembre et Avril, ces débits sont  $82,61\%$ , débouchant au niveau d'une plage sablonneuse entre Douaouda et Zéralda avec un débit de  $7.566 \text{ m}^3/\text{s}$ . (**Benzohra, 1993**).

#### ✚ Oued Nador :

Situé dans la région occidentale, il prend naissance que dans la cluse de Tipasa avant de déboucher dans la baie de Chenoua. C'est un bassin versant d'une superficie de  $200$  à  $300 \text{ Km}^2$ . Son débit liquide est de  $28$  millions  $\text{m}^3/\text{an}$  ( $0,89 \text{ m}^3/\text{s}$ ). Il regroupe trois oueds (oued Bou Yersen, oued Mered et oued Bourkika) qui jouent un rôle important dans les apports en eaux usées et dans le phénomène de sédimentation. (**Benzohra, 1993**).

#### ✚ Oued de Beni-Messous :

Situé entre El-Djamila et Club des Pins à  $18 \text{ Km}$  à l'ouest d'Alger, il prend naissance dans le massif de Bouzaréah. Son débit est faible par rapport au débit des oueds précédemment cités et estimé à  $7,7$  millions  $\text{m}^3/\text{an}$  ( $0,245 \text{ m}^3/\text{s}$ ). (**Benzohra, 1993**)



**Figure 2 :** Carte du réseau hydrographique de la baie de Bou-Ismaïl (Achich ;2010)

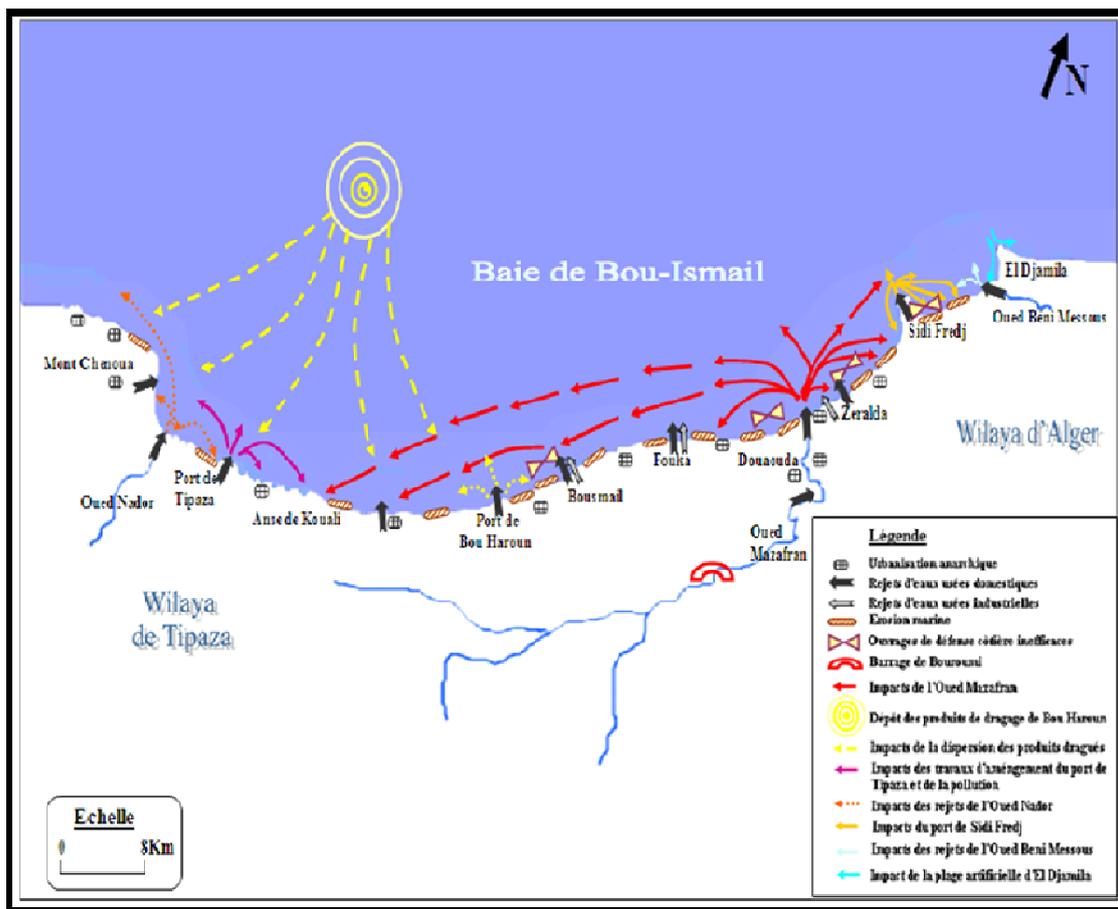
### 1.1.2 .Bathymétrie de la baie de Bou-Ismaïl. :

La courbe bathymétrique 200m est considérée généralement comme la limite de la marge continentale algérienne et le domaine des plaines abyssales, sa largeur moyenne est de 24km, elle atteint 55km au maximum dans la baie de Bou-Ismaïl.

Le plateau continental, étant très étroit, il atteint un maximum de 13km au niveau du Mont Chenoua et un minimum de 3km entre Sidi Fredj et Alger. Il est caractérisé par une pente de l'ordre de 2 à 3% avec une ligne d'inflexion nette autour de l'isobathe 100m. Cette pente est perturbée par quelques époutements rocheux localisés au large du Mazafran et de Bou-Ismaïl.

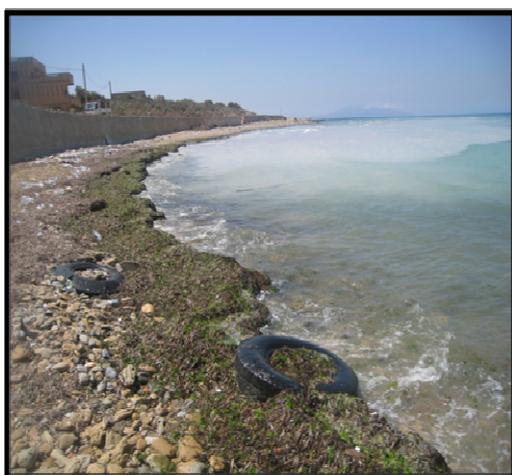
### 1.1.2 Sources de pollution dans la baie de Bou-Ismaïl :

La baie de Bou-Ismaïl connaît différentes activités cela dit différentes sources de pollution telle que l'agriculture dont l'utilisation des pesticides, les rejets domestiques et les rejets de complexes touristiques (ZET) en plus des unités industrielles. Tous ces rejets se déversent directement dans le milieu marin ou dans les oueds qui finissent par rejoindre la mer (Oueld Houcine , 1993 ). (Figure 3)



**Figure 3 : Sources de pollution dans la baie de Bou-Ismaïl (Bachari,2010)**

Ces sources créent un milieu hétérogène qui peut contenir des déchets de nature physique, chimique et une flore microbologique différente induisant un déséquilibre écologique (Figure 4 et 5) .



**Figure 4 : Rejet d'industrie papeteries en plein mer ( Bou-Ismaïl le 11-07-2016)**



**Figure 5 : Déchets ménagers plage Qualé (Tipaza le 22-08-2016)**

Les tableaux suivants montrent les différentes communes impliquées dans les rejets des eaux usées et les différentes industries existantes:

**Tableau III . Rejets des eaux usées dans la wilaya de Tipaza**

Communes	Nombre de rejets	Débit (m <sup>3</sup> /j)	Lieu du rejet
Bou-Ismaïl	9	4000	Mer
Bouharoun	4	320	Oued khmisti et mer
Khemisti	6	400	Mer
Fouka	5	3600	Oued Mazafran et Mer
Douaouda	5	1600	Mer
Tipaza	8	7140	
Cherchell	8	3600	
Sidi ghiles	2	480	
H.ennous	2	160	
Messelmoun	3	1100	
Gouraya	3	900	
Larhat	3	312	
Damous	3	960	
Ain Tagourait	6	320	
<b>Total</b>	<b>67</b>	<b>24492</b>	

**(Etude d'Aménagement du Littoral wilaya de Tipaza bilan 2006 / impact eaux usées et embouchures baie de Bou-Ismaïl 2010 ) à mettre en bas du tableau**

**Tableau IV. Principales industries dans la zone de Bou-Ismaïl**

Détermination de l'unité	Nature de l'activité	Nature de la pollution générée
<b>SARL RESITECK</b>	Production de peinture bâtiment	Apport important de métaux lourds, huiles et lubrifiants
<b>ALUFER</b>	Métallurgie	Chutes d'ammonium et poussière de Fer
<b>SARL PROCHIMAL</b>	Fabrication de produits d'entretiens	Eaux usées chargées d'éléments chimiques ; rejets de savon , agents de lavage et de rinçage
<b>PLASTRAM</b>	Transformation plastique	Eaux de nettoyage
<b>PFIZER</b>	Fabrication de produits vétérinaires	Eaux usées chargées en éléments chimiques
<b>IMPRIMERIE SHELLIA</b>	Utilisation importante d'encre	Déversement d'encre vers les eaux domestiques
<b>TONIC EMBALLAGE</b>	Fabrication de boîtes, gobelets et emballage (papeterie )	Rejets d'eaux domestiques + chutes de cartons, papiers
<b>TERRA CERAMIQUE</b>	Production de céramique et poteries	Lessivage d'argile vers la mer

(Aouidad ;1997)

### I.2. SITES DE PRELEVEMENTS ET CHOIX DES STATIONS

Les sites de prélèvements ont été choisis en se basant sur certains critères : emplacement géographique de façon à pouvoir bien présenter la baie de Bou-Ismaïl, activités à proximité à savoir urbaines, industrielles, rejets et zones connu pour pollution , zone d'intérêt et éventuels projets d'aquaculture et pisciculture etc. ...

Il s'agit des plages suivantes ( Figure 6 )

#### **Plage Fouka (Zone 1 : S1):**

Cette plage non surveillée, se situe à Fouka marine à l'ouest d'une station de dessalement d'eau qui alimente actuellement la zone de Bou-Ismaïl. Elle est confrontée à de graves problèmes de pollution, compte tenu de sa proximité urbaine (rejets domestiques et industriels de la région).

#### **Plage Bou-Ismaïl (Zone 2 : S2):**

Située à Bou-Ismaïl , la côte est assez grande et est déjà connue pour une pollution grave due au rejet de l'industrie « TONIC ».

#### **plage Suisse (Ain Tagourait ) (Zone 3 : S3):**

Cette plage très surveillée, est située près d'une agglomération importante. Elle est très fréquentée et connue pour sa qualité souvent considérée comme plage de référence. On note une activité conchylicole.

#### **Plage Qualé (Zone 4 : S4) :**

Cette plage est éloignée de toute agglomération mais proche du complexe touristique et du centre de repos estivale, au milieu d'une zone agricole. On note des dépôts de déchets ménagers. Cette station est considérée comme station de référence .

#### **Plage Chenoua (Zone 5 : S5):**

Située aux pieds du mont Chenoua , très étendue, on y accède par une route de corniche contournant le massif par le nord ou par le bord de l'enceinte des ruines romaines de Tipaza. Cette plage se situe dans une zone agricole et à proximité de la station d'épuration, des travaux de construction de complexe estivale et d'hôtellerie important. On note également le déversement de l'oued El Nador en plein plage. . Très fréquentée, elle est signalée à plusieurs reprises pour ses eaux de mauvaise qualité.



**Figure 6 :** Carte représentative des zones de prélèvement dans la baie de Bou-Ismaïl

### I.3.MODE DE PRELEVEMENT ET TRANSPORT

#### I.3.1. Mode de prélèvement

##### ❖ Mode de prélèvement Analyses physico-chimiques et microbiologiques :

Les prélèvements sont effectués dans l'intervalle horaire allant de 8h à 11h 30, et toujours au même endroit du site. Pour cette étude, au total, 90 prélèvements ont été effectués à 1m puis à 5 m du bord de la plage durant une période allant de la fin juin 2016 pour cibler la période estivale jusqu'à la fin décembre ( Tableau V )

**Tableau V .** Différentes dates de prélèvement

Dates	26.6	4.7	18.7	8.8	22.8	19.9	24.10	21.11	6	15.12
(année 2016)										
Prélèvements	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8		P9

Les flacons stérilisés et étiquetés, sont plongés sous l'eau à une profondeur de 10 à 30cm. Ils 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.

Pour chaque site, 1 litre d'eau a été prélevée pour l'analyse des paramètres physico-chimiques et 250 ml le volume destiné aux analyses microbiologiques. L'échantillon destiné à l'analyse microbiologique a été prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuse, et de façon à être le plus représentatif possible du milieu.

### ❖ Mode de prélèvement des bioindicateurs

Les espèces bioindicatrices ont été prélevées selon leur disponibilité et mit dans des bocaux de verre stérilisés et acheminer directement au laboratoire (Tableau VI) .

**Tableau VI** . Nombres et types de bioindicateurs prélevés par station

Station	Nombre d'échantillons (5g)	Bio indicateur
<b>S1(plage Fouka )</b>	6	<i>Paracentrotus lividus</i>
	6	<i>Pachygrapus marmotatus</i>
<b>S2(plage Bou-ismail )</b>	6	<i>Paracentrotus lividus</i>
	6	<i>Pachygrapus marmotatus</i>
<b>S3 (plage Aïn Tagourait)</b>	6	<i>Paracentrotus lividus</i>
	6	<i>Mytilus edulis</i>
	6	<i>Pachygrapus marmotatus</i>
<b>S4 (plage Qualé )</b>	6	<i>Paracentrotus lividus</i>
	6	<i>Pachygrapus marmotatus</i>

### I.3.2. Transport

Après la prise des échantillons, le transport a été effectué dans une glacière dont la température doit être comprise entre 4 et 6°C. L'analyse bactériologique a été effectuée le plus rapidement possible, dans un délai ne dépassant pas 4 heures.

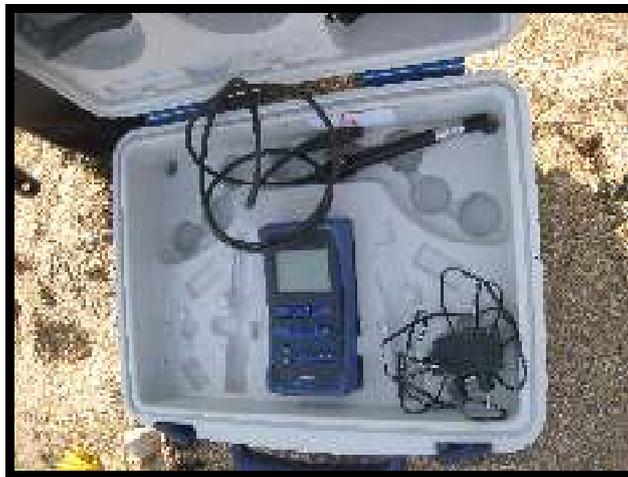
#### I.4. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

##### ✚ Température et Potentiel hydrogène (pH)

Pour la mesure du pH et de la Température , nous avons utilisé la méthode électrochimique avec électrode de verre portable de marque **WTW** « **Wissenschaftlich Technische Werkstätten** ». ( Figure 7)

##### ✚ La salinité et conductivité électrique

La salinité et la conductivité ont été mesurées à l'aide d'un multi paramètres contenant à la fois salinomètre et un conductimètre de marque **WTW** « **Wissenschaftlich Technische Werkstätten** » .



**Figure 7** : Multi paramètres utilisé ( WTW 2F40-114BOE Meter Kit Multiparameter Handheld Model 34Di)

##### ✚ Calcul des MES

L'analyse consiste à faire passer sur une membrane filtrante qui aura été préalablement pesée  $P_1$ , une quantité connue d'eau à analyser.

Après passage à l'étuve à  $110^{\circ}\text{C}$ , la membrane est à nouveau pesée  $P_2$ . La différence entre  $P_2$  et  $P_1$  représentera la quantité de matières retenues sur la membrane filtrante, puis séchée lors du séjour en étuve : ce sont les MES, elles s'expriment en mg/l (Figure 8).

La concentration de la matière en suspension (MES) s'obtient donc par l'expression :

$$\text{MES (mg/l)} = \frac{P_2 - P_1}{V}$$

$P_1$  : le poids du filtre avant filtration (mg).

$P_2$  : le poids du filtre après la filtration (mg).

$V$  : volume d'eau de mer filtrée en litres.

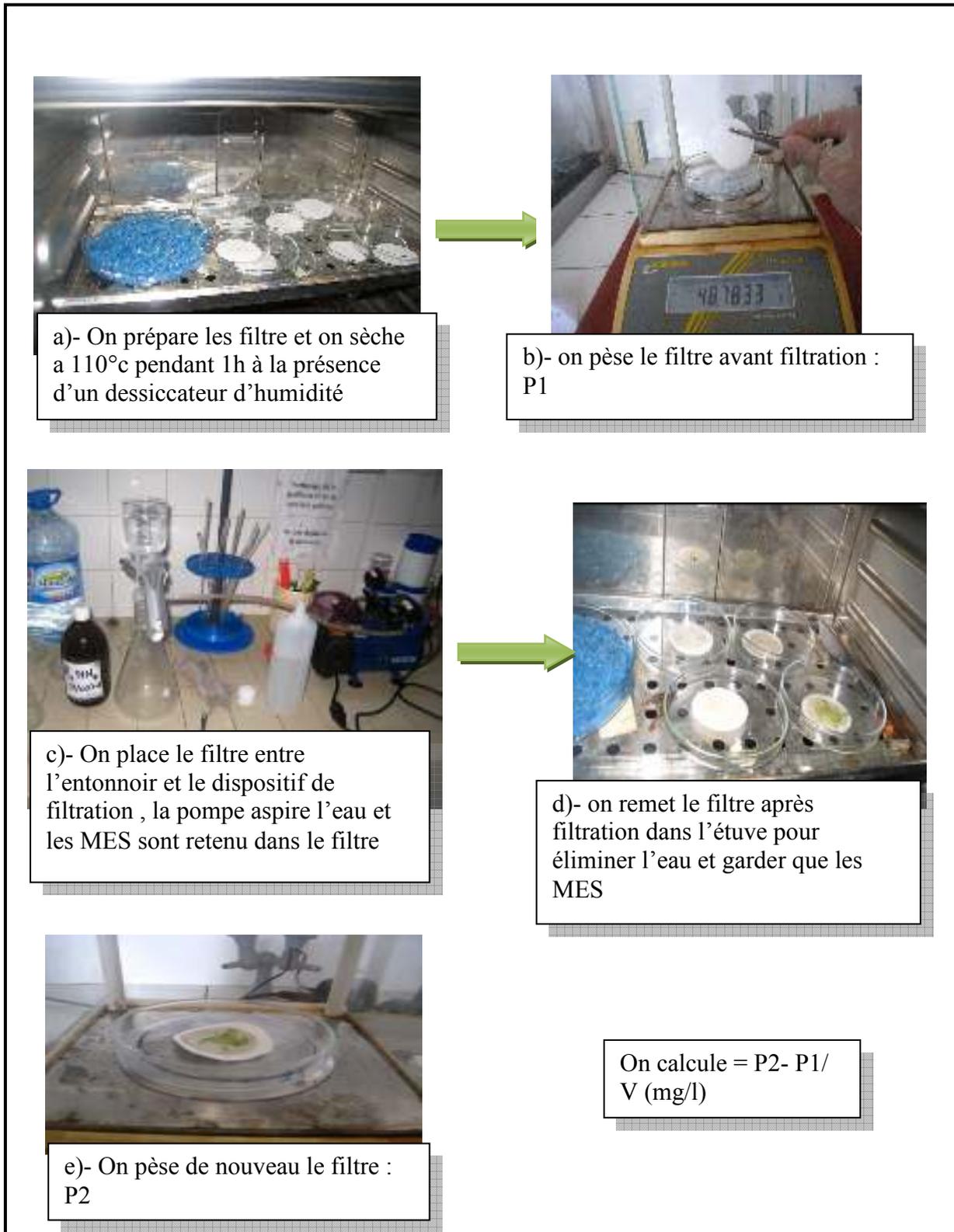


Figure 8 : Étapes de mesure des MES

✚ Analyse automatique des sels nutritifs

Dans notre étude, le dosage des sels nutritifs s'est fait par colorimétrie à flux continu sur chaîne automatisée « **Auto-Analyzer SAN pro PLUS** » selon les protocoles définis par le fabricant (Skalar, 2000).

❖ Dosage des Nitrites :

La mesure des nitrites consiste à :

Prendre 50 ml d'échantillon

- a) Ajouter 1.0 ml du réactif 1 (Solution de sulfamides ) mélanger et laisser reposer 2à8 min en suite Ajouter 1.0 ml du réactif 2 (Solution de N-Naphtylénediamine )
- b) Attendre au moins 10min et mesurer ensuite l'absorbance à 543 nm. (Figure 9)

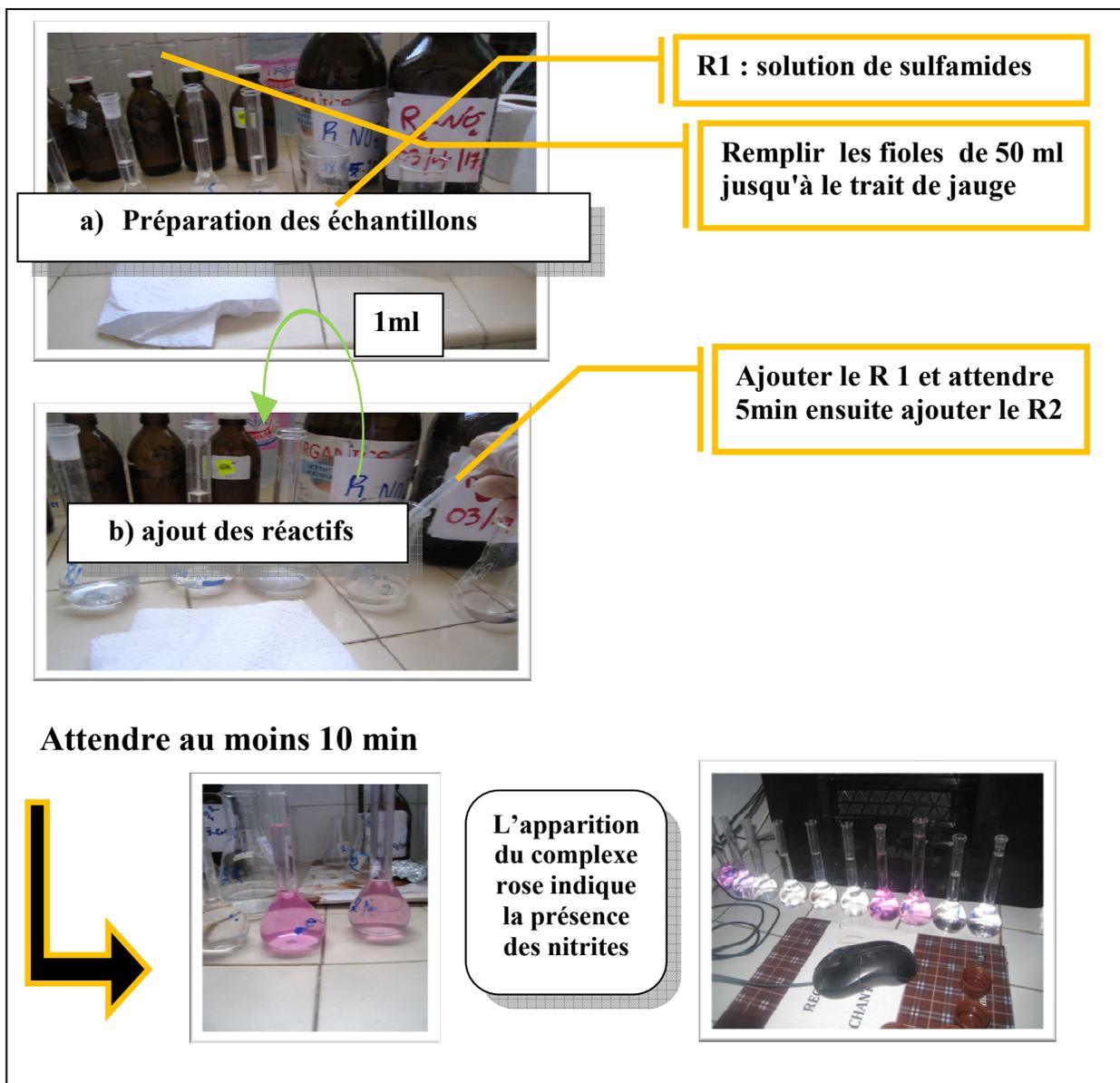


Figure 9 : Etapes d'analyse des Nitrites

### ❖ Dosage de l'Ammonium :

La mesure de l'Azote ammoniacal consiste a :

- Prendre 100ml d'échantillon
- Ajouter 3.0ml du réactif 1 (Solution de Phénol-Nitroprussiate de sodium)
  - Ajouter sans attendre 3.0ml du réactif 2 (Solution alcaline d'hydrochlorites)
  - Agiter et placer a l'abri de la lumière pendant une nuit à température ambiante
- Mesurer l'absorbance à 630nm , par rapport a l'eau distillée , en cuve de 10cm de trajet optique .(Figure 10)

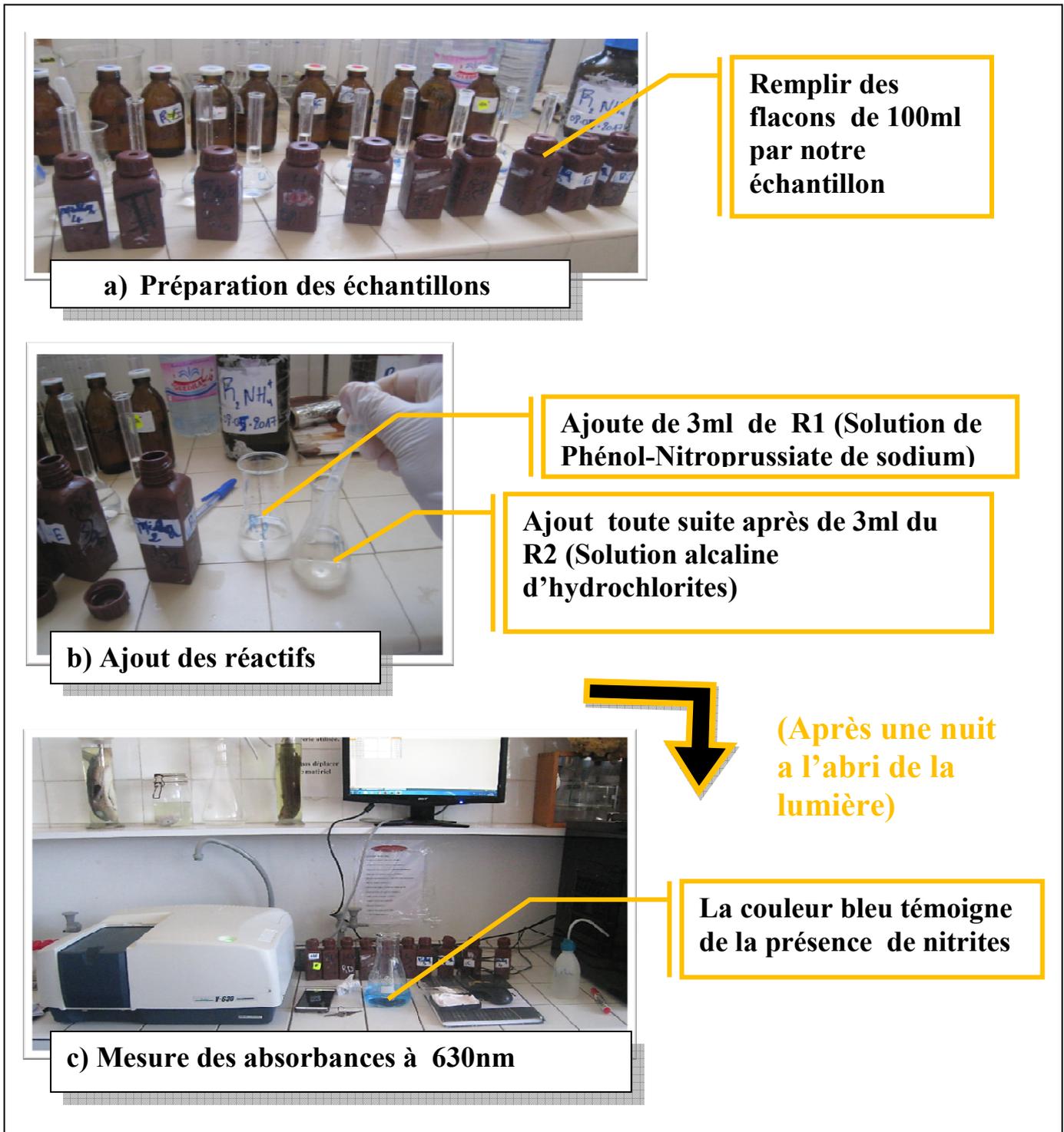
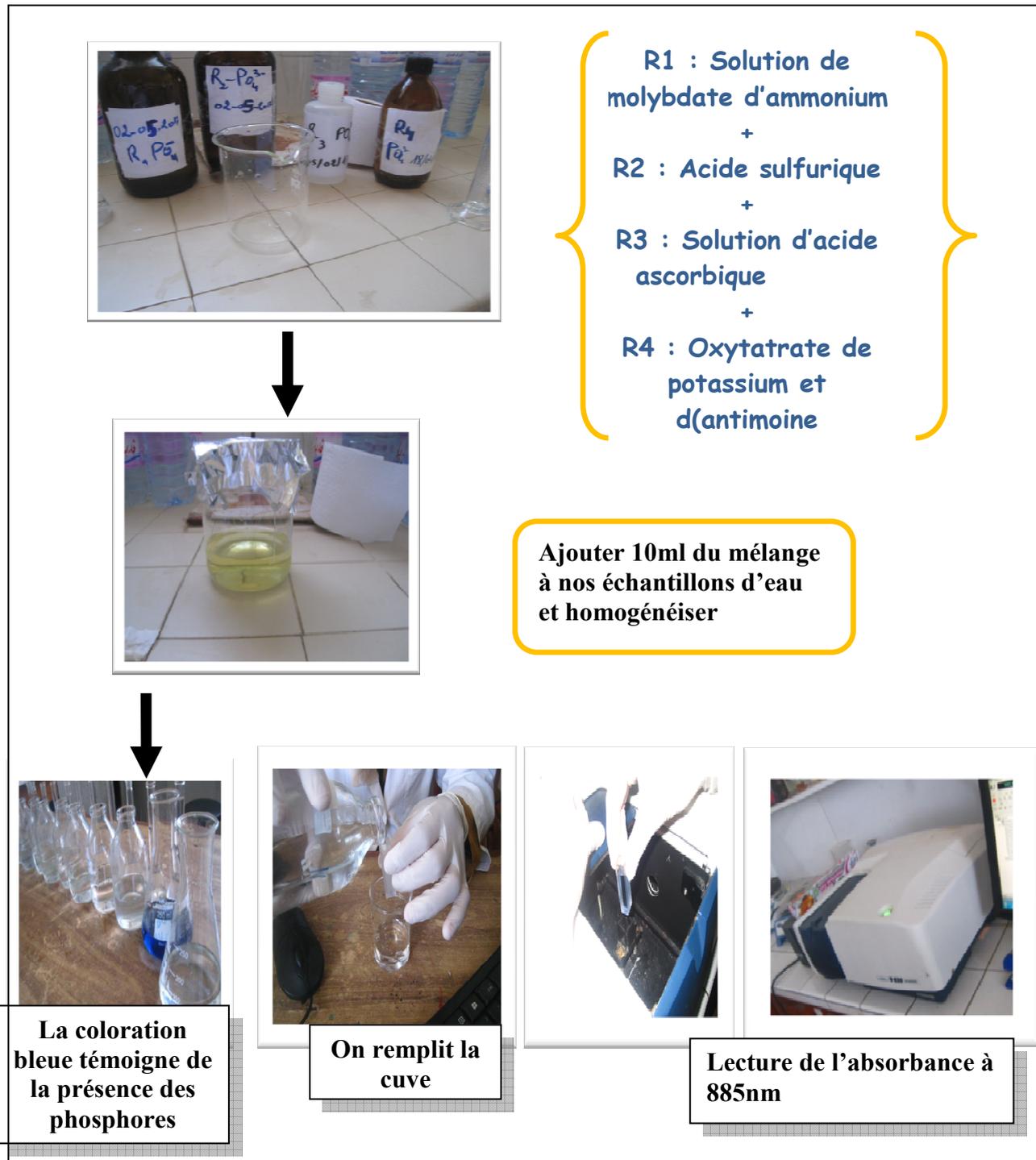


Figure 10 : Etapes d'analyse d'Ammonium

❖ **Dosage des orthophosphates :**

La mesure des phosphates se fait selon les étapes suivantes :

- a) Préparer le mélange des réactifs
- b) Préparer des échantillons 100ml
- c) Ajouter 10ml du mélange et homogénéiser
- d) Attendre 5min et mesurer l'absorbance à 885nm en cuves de 10cm de trajet optique par rapport à l'eau désilée (Figure 11)



**Figure11 :** Etapes de mesure des orthophosphates

### I.5. ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

#### I .5.1. Filtration sur membrane

Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode de filtration sur membrane pour estimer la charge bactérienne dans les échantillons.

L'unité de filtration comprend un récipient supérieur et un récipient récepteur en polysulfone autoclavable et réutilisable. La membrane est un filtre en acétate de cellulose de 45 µm de diamètre se fixe sur une plaque-support amovible située entre les deux récipients.

Le filtre est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié où les bactéries trouvent les éléments nécessaires pour leur croissance. Après incubation, les Unités Formant Colonies (UFC) sont comptées. Un quadrillage à la surface facilite les dénombrements. Selon le milieu de culture, on peut mettre en évidence la présence de différents types de bactéries

#### ❖ Mode opératoire

- Filtrer stérilement sur membrane 100 ml de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées où du milieu pré-coulé ramené préalablement à température ambiante, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à 37 °C et 44 °C pendant 24 h ( Figure 12)

#### ❖ Lecture et expression des résultats

- Examiner les membranes et considérer comme typiques toutes les bactéries de formes, taille et couleur caractéristique.
- Après dénombrement, la loi de Kass sera utilisée pour avoir le nombre de bactéries UFC / 100ml.

$$N = n \times 1/V \times 1/D$$

N : Nombre de bactéries, V : Volume filtré ; D : Dilution ; n : nombre de colonies

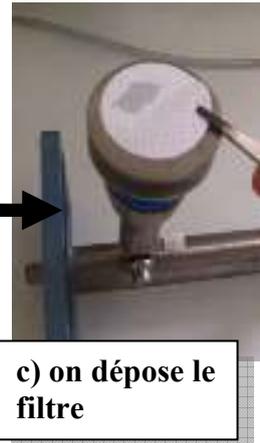
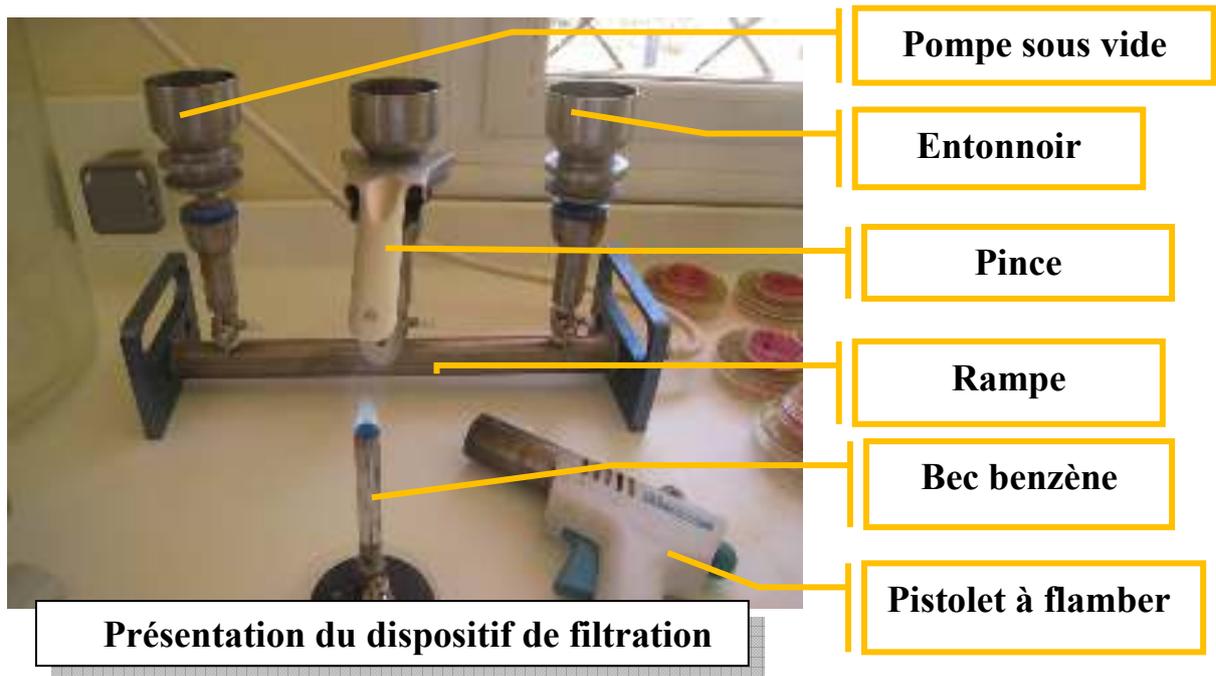


Figure 13 : Méthode de filtration

**Tableau VII.** Dénombrement des Ct ,Cf, St , Sf, Staphylocoque par la méthode filtration sur membrane

Germe recherché	Milieu utilisé	Condition de culture	Aspect des colonies
<b>Staphylocoque</b> (Norme NF T 90 421)	<b>Chapman</b>	<b>Incuber 24h à 37°C</b>	<b>Colonies entourées d'une auréole jaune Ou blanchâtre</b>
<b>Streptocoque</b>	<b>Milieu Slanetz</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Incuber à 37 °C pendant 48h.</b></li> </ul>	<b>Les Entérocoques donnent des colonies de taille moyenne, roses ou rouges</b>
<b>Streptocoques fécaux( streptocoques du groupe D )</b>	(test confirmatif) transférer le filtre du milieu Slanetz au <b>milieu BEA</b> C'est un milieu sélectif des streptocoques peu exigeants. Il contient 2 inhibiteurs : - la bile de bœuf, - l'azide de sodium l'esculine révélée par le citrate de fer ammoniacal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Incuber à 44 °C pendant 2 heures.</b></li> </ul>	<b>Les entérocoques se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir.</b>
<b>Coliformes totaux</b>	La gélose lactosée au TTC et au Tergitol :	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Incuber 48 heures à 37°C</b></li> </ul>	<b>des colonies jaunes et des colonies rouges de taille moyenne</b>
<b>Coliformes fécaux</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Incuber 24 heures à 44°C</b></li> </ul>	<b>Colonies jaunes</b>

### I.5.2. RECHERCHE DES GERMES PATHOGENES

#### ❖ Recherche des Vibrions cholériques

La recherche des vibrions cholériques se fait en 3 étapes (Figure 14 )

**1<sup>ère</sup> étape :** On fait un enrichissement primaire sur le milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA). A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 250ml dans un flacon contenant 50ml de milieu EPA 10 fois concentré, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

**2<sup>ème</sup> étape :** La solution obtenue EPA<sub>I</sub> serait, d'une part enrichit une deuxième fois (EPA<sub>II</sub>) qui consiste à ensemencer 1ml d'EPA<sub>I</sub> dans un tube contenant 10 ml d'EPA, d'autre part, isolé sur GNAB<sub>I</sub> (Gélose Nutritive Alcaline Biliée). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

**3<sup>ème</sup> étape :** Consiste d'une part à l'isolement du tube EPA<sub>II</sub> sur GNAB<sub>II</sub> puis incubation à 37°C pendant 24 heures et d'autre part à la lecture de la boîte gélose GNAB<sub>I</sub>.

La lecture se limite à la présence ou l'absence de colonies spécifiques, en tenant compte que des vibrions se présentant le plus souvent sous forme de colonies lisses et transparentes., qui subissent une confirmation par identification sur galerie Api20E

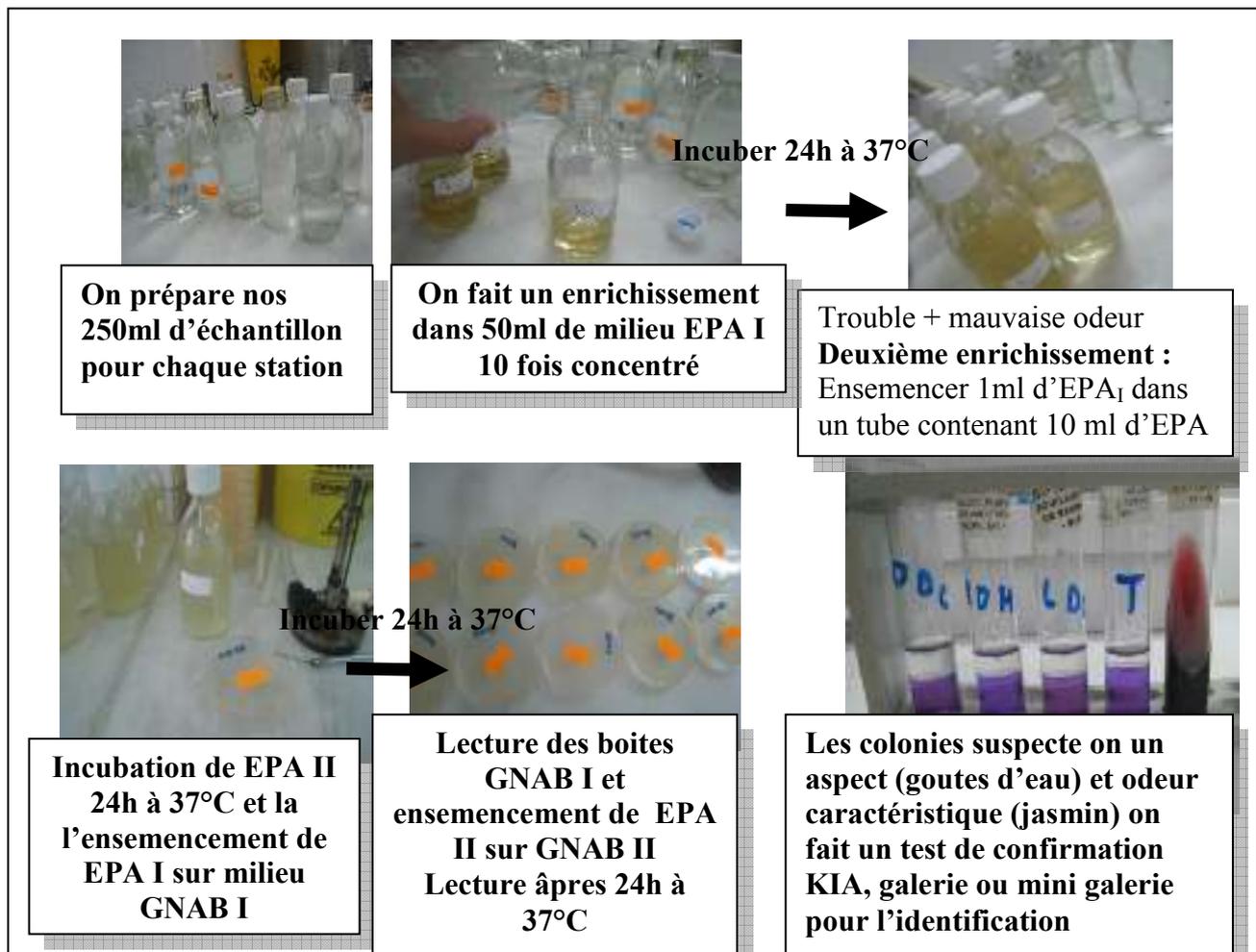


Figure 14 : Etapes d'isolement des vibrions

❖ Recherche des salmonelles

**Jour1** :premier enrichissement.

- Le premier enrichissement s’effectue sur le milieu de Sélénite– Cystéine D/C réparti à raison de 100 ml par flacon ;
- Ce dernier sera doncensemencé à l’aide de 100ml d’eau à analyser, puis incubé à 37°C pendant 18 à 24heures

**Jour 2** :deuxième enrichissement et isolement.

Ce flacon fera l’objet :

- D’une part, d’un deuxième enrichissement sur le milieu Sélénite en tubes à raison de 0,1ml ;
- D’autre part, d’un isolement sur gélose Hecktoen ;
- L’incubation se fait donc à 37°C pendant 24heures. (Figure 15).

**Jour 3** : lecture des boites et identification.

- D’une part, le tube de Sélénite fera l’objet d’un isolement ;
- D’autre part, la boite de gélose Hekteon subira une lecture en tenant compte du fait que les salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies de couleur gris bleu à centre noir. , les colonies suspectes subiront une identification sur galerie Api 20<sup>E</sup>

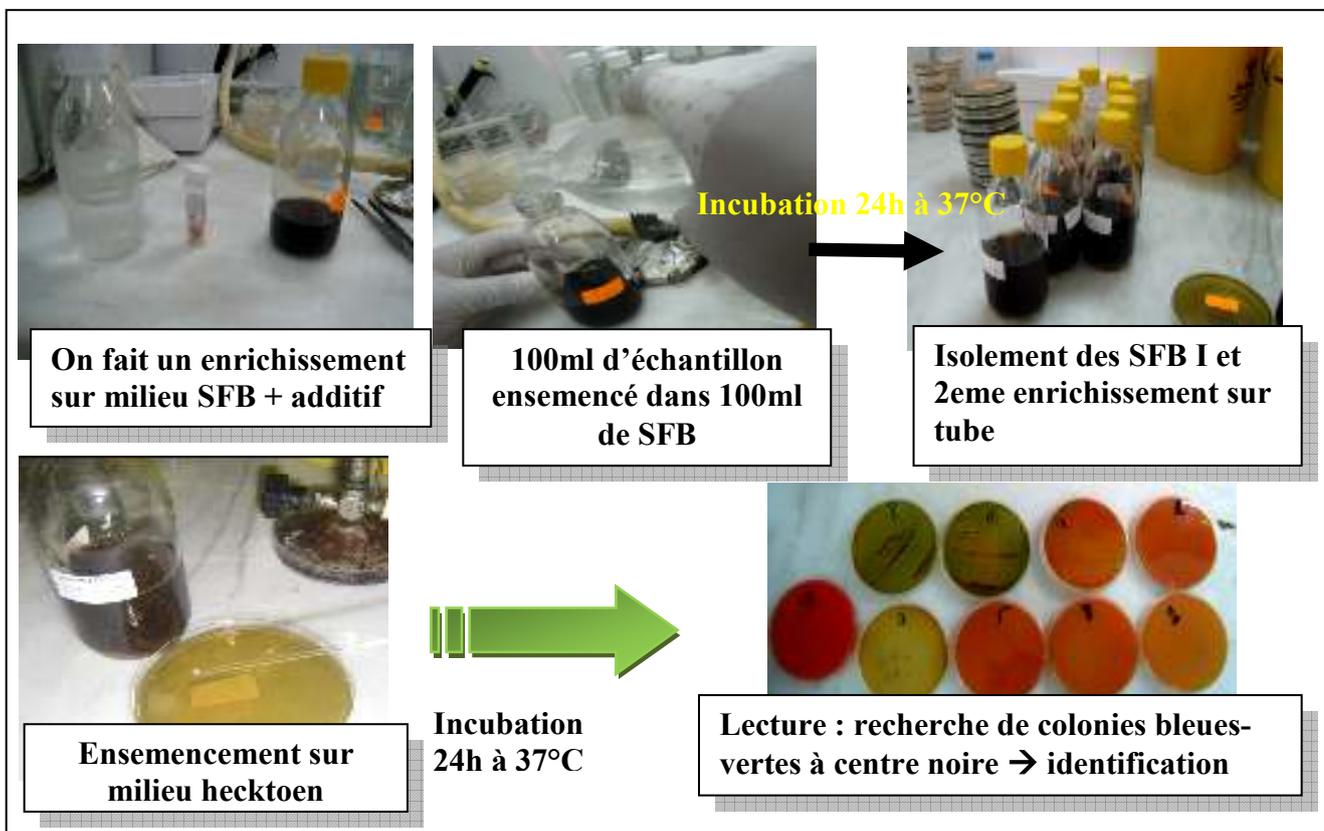


Figure 15 : Etapes d’isolement des Salmonelles

### I.5.3. ANALYSE ALIMENTAIRE DES FRUITS DE MER

En raison de leurs capacité de bio filtration et bioaccumulation, on a choisi le matériel biologique (Figure 16) représenté par les espèces suivantes ( **classification : Annexe IV** )

- Oursins « *Paracentrotus lividus* »
- Moules « *Mytilus edulis* »
- Crabe « *Pachygrapus marmotatus* »

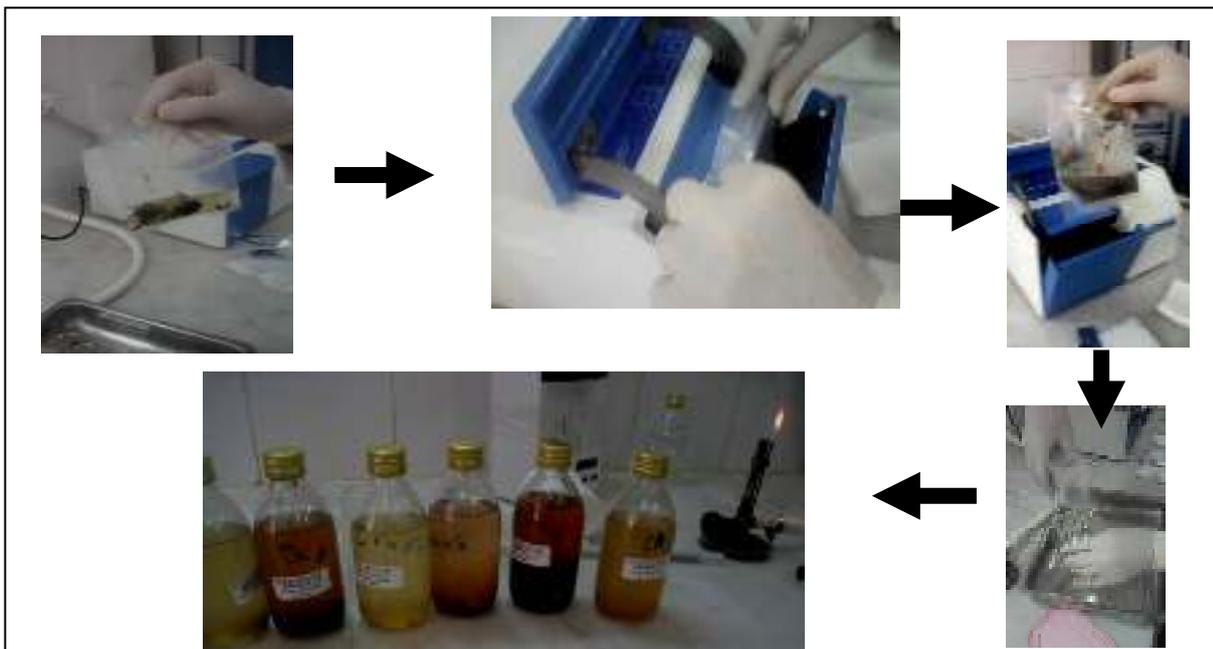


**Figure 16** : Matériel biologique utilisé

Dans le but de confirmer les résultats des analyses d'eau, nous avons prélevé des crustacés sédentaires de chaque site. Les étapes des différentes analyses sont :

❖ **liquéfaction des échantillons :**

La liquéfaction consiste à broyer les échantillons dans le broyeur de manière a libérer les microorganismes coincé dans la chaire. ( Figure 17)



**Figure 17** : Préparation des suspensions mères à partir des échantillons

### ❖ Préparation des dilutions

La technique est la suivante :

- Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques.
- Marquer les tubes de diluant ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , ...).
- Prélever 25 ml du broyat à l'aide d'une pipette graduée stérile et la transférée dans un flacon stérile contenant 225 ml de TSE (Tryptone Sel Eau) : Obtention de la suspension mère.
- Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml munie d'une poire à aspiration ; l'homogénéisation du prélèvement se fait après aspiration est refoulement 3 fois ou par l'utilisation d'un homogénéisateur.
- Transférer aseptiquement le 1 ml prélevé dans le 1<sup>er</sup> tube ( $10^{-1}$ ), la pipette ne devrait pas pénétrer dans les 9 ml du diluant qui est le TSE.
- Jeter la pipette utilisée dans un conteneur approprié. A l'aide d'une 2<sup>ème</sup> stérile de 1 ml, procéder du même du tube  $10^{-1}$  au tube  $10^{-2}$ .
- Faire de même pour les deux derniers tubes en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle. (Figure 18).



**Figure 18 :** Préparation des milieux avec les différentes dilutions

#### a)- Recherche et dénombrement des Coliformes en milieu liquide :

Selon les normes V 08-020 (1994)/ISO 7251 et V 08-021 (1993)/ISO 7402 , Cette méthode de colimétrie en milieu liquide permet la caractérisation et le dénombrement des coliformes ( par production du gaz au moyen d'une cloche).

### A)- Recherche des coliformes

#### ❖ Test de présomption.

- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif (VBL) à raison de trois tubes par dilution ( Figure 19 )
- A partir des dilutions décimales  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée.
- Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.



**Figure 19 :** Milieu VBL après incubation

#### ❖ Lecture :

- Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :
  - un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche),
  - un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.
- La lecture est basée sur des données statistiques. Des tables élaborées par Mac Grady donnent pour chaque nombre caractéristique le nombre le plus probable (NPP)

### ❖ **Test de confirmation ou test de Mac Kenzie.**

- Les tubes de VBL trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une ose bouclée dans:
  - un tube de VBL muni d'une cloche, tout en chassant le gaz présent éventuellement dans les cloches de DURHAM et bien mélanger le milieu et l'inoculum.
  - un tube d'eau peptonée exempte d'indole.
  - L'incubation se fait cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures ( Figure 20)

### ❖ **Lecture :**

- Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un dégagement gazeux dans les tubes de VBL, un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte du fait *qu'Escherichia coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C



Après incubation des tubes VBL les tubes positifs ayant présenté un trouble et un dégagement de gaz seront confirmés par le Test de MAC KENZIE



Ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole.

**Lecture : PRESENCE ou  
ABSENCE d'un allo rouge  
(production d'indole par *E. coli*)**

Figure 20 : Teste de MAC Kenzie (ajout des réactifs )

**B)- Recherche des *Staphylocoques***

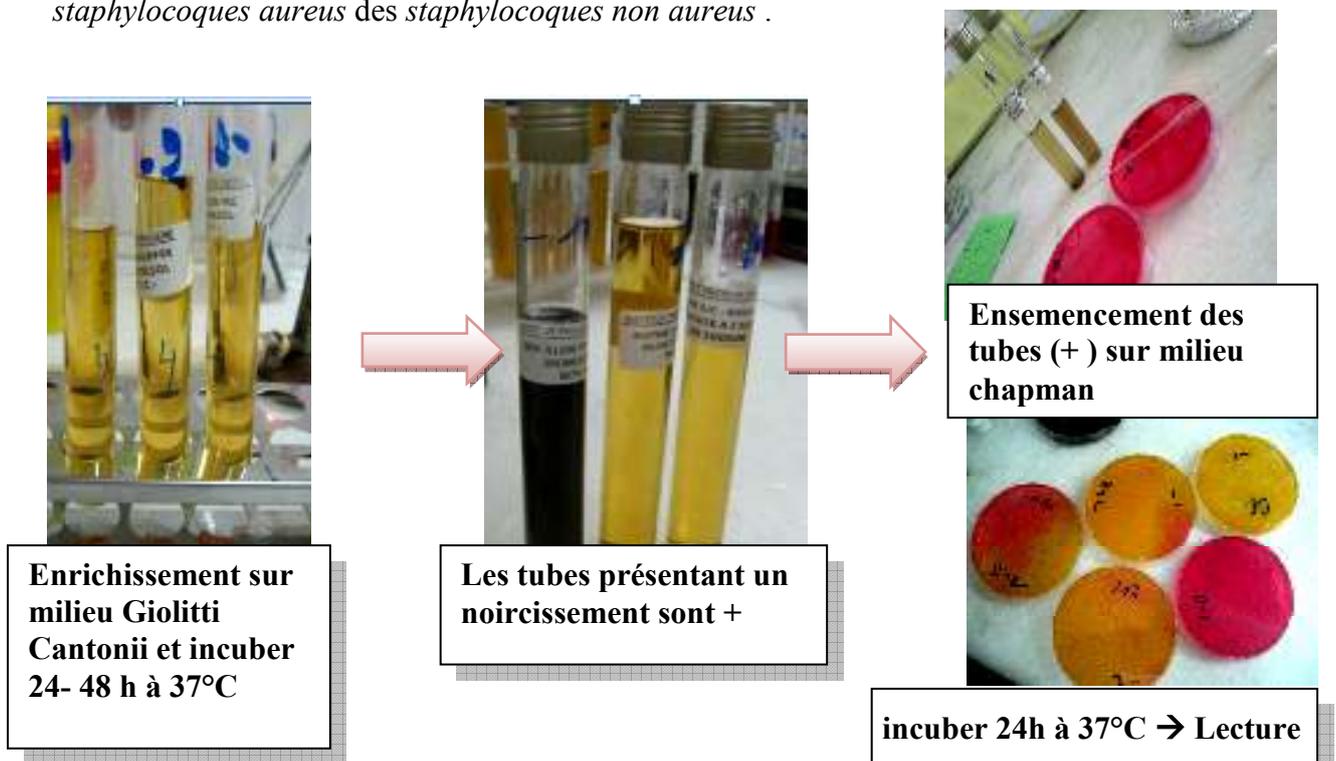
La recherche des staphylocoques pour les produits de mers se fait sur milieux liquide en deux étapes :

❖ **Test de présomption. :**

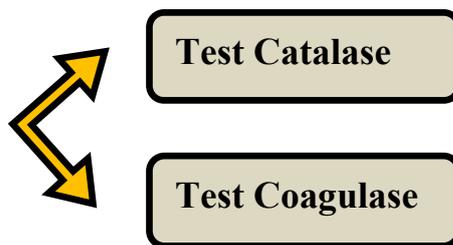
- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif On prépare 3 tubes contenant 15ml de Giolitti Cantonii après avoir ajouté le réactif Tellurite de potassium
- A partir des dilutions décimales  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée.
- L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

❖ **La lecture :** les tubes présentant un noircissement et un trouble seront ensemencés par stries sur milieu Chapman incubés 24h à  $37^{\circ}\text{C}$  pour ceux qui ne présentent aucun de ces changements sont considérés comme négatifs (Figure 21) .

Afin de mieux caractériser le profil biochimique et morphologique des bactéries recherchées, un test a été effectué, il s'agit de la coloration de Gram dont le protocole est décrit en (Annexe IV) , on précède aussi au deux tests catalase pour distinguer les streptocoques des staphylocoques et le test coagulase (Figure 22) pour distinguer les *staphylocoques aureus* des *staphylocoques non aureus* .



**Figure 21** : Technique d'isolement des staphylocoques



**Figure 22** : Recherche de l'activité catalase et coagulase d'après des colonies sur milieu Chapman

**Tableau VIII** .Test catalase et coagulase

Aspect du résultat (+)	Technique	Résultats
	<p>Sur une lame propre et séchée, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10volumes.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter un fragment d'une colonie bactérienne isolée.</li> <li>•Observer immédiatement.</li> </ul>	<p>Apparition des bulles , dégagement de gaz dioxygène : catalase (+)</p> <p>Pas de bulles : catalase (-)</p>

	<p>J1 -Ensemencer un bouillon coagulase avec quelques gouttes d'une suspension de la souche à tester. - Incuber 24 heures à 37°C.</p> <p>J2 -Dans un tube à hémolyse, déposer :</p> <p><b>4gouttes</b> de plasma + <b>4 gouttes</b> de culture en bouilloncoagulase, <b>agité</b></p> <p>-Placer le tube à hémolyse au bain-marie à 37°C ou à l'étuve à 37°C.</p> <p>-Observer à <b>partir de 30 min et jusqu'à 24 heures.</b></p>	<p>- prise en masse du contenu du tube</p> <p>-coagulation du plasma</p> <p>- souche coagulase</p> <p>+ <b>Orientation vers <i>Staphylococcus aureus.</i></b></p>	<p>le plasma reste liquide</p> <p>- absence de coagulation du plasma</p> <p>- souche coagulase -</p> <p><b>Orientation vers <i>Staphylococcus non aureus.</i></b></p>
--	--	---	---

**C)- Recherche de Salmonelle :**

On prépare un 1 seul tube de SFB en rajoutant 1 disque du réactif et 2à 3 goutte de la solution mère sans dilution Incubation 24h à 48h à 37°c .

- ❖ **Lecture :** Les tubes présentant un trouble et un virage de couleur en particulier vers le rouge brique sont considéré comme positifs (+)
- ❖ **Isolement :** on fait un ensemencement de 2 à3 gouttes sur milieu Hecktoen ou milieu incubation 24h a 37°c .
- ❖ **Lecture :** présence de colonie suspecte, en particulier colonies bleue verte avec noircissement.(Figure 23)



**LECTURE**

ement sur  
ktoen ,  
4h à 37°C

**Figure 23 :** Technique de recherche des salmonelles pour les produits de pêches

- Pour la recherche des vibrions on procède de la même manière que pour l'eau de baignade

### I.6. Identification :

On a utilisé la galerie API 20 E (Figure 24) qui est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et certains bacilles à Gram négatif, en se basant sur 20 tests biochimiques miniaturisés déshydratés prêts à l'emploi.



**Figure 24 :** Présentation de la Galerie API 20<sup>E</sup> avant utilisation

#### ❖ Technique :

Sortir la galerie de son emballage. Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide , Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte

#### ❖ Préparation de la suspension:

On a réalisé une suspension de la souche à étudier. La suspension doit avoir une densité suffisante ; à l'aide d'une pipette Pasteur bouclée flambée et refroidie on prend 1 seule colonie dans 5 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise

### ❖ Inoculation de la galerie

On remplit les microtubes par la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur cassée flambée et refroidie menée d'une poire ou une micropipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, il faut poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant).

### ❖ Mode de remplissage :

Les tubes miniaturisés sont formés de la partie inférieure qui est le microtube et la partie supérieure qui est la cupule.



Incuber à 37°C pendant 18-24 heures.



**Figure 25** : manipulation de la galerie API

Pour les tubes encadrés (CIT-VP-GEL: on remplit le microtube et la cupule par la suspension bactérienne ,pour les tubes soulignés (ADH-LDC-ODC-H<sub>2</sub>S-URE): on remplit le microtube par la suspension bactérienne et la cupule par le l'huile de paraffine ou vaseline.

Pour les autres tubes : on remplit juste le microtube par la suspension bactérienne.

❖ **Lecture de la galerie :**

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions positives puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive.

- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif Kowacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive. Une faible coloration rose apparaissant après 1 minute doit être considérée négative. (Voir figure 30 clé d'identification Api20E Annexe V )

❖ **Interprétation :**

L'identification est obtenue à partir d'un logiciel (EXCEL).

### I.7. ANTIBIOGRAMME

On a utilisé la technique par diffusion sur disque. Le milieu doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm et séché avant l'emploi .

❖ **Préparation de l'inoculum :**

- On prélève à l'aide d'une anse des colonies jeune de 18 à 24h on la décharge dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile
- Bien homogénéiser la suspension dont l'opacité doit être équivalente à 5 MF
- Ensemencement :
- Tremper l'écouvillon stérile dans la suspension
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche , de haut en bas en stries serrées

- Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte 60° à chaque fois au même temps faire pivoter l'écouvillon sur lui-même
- Finir l'ensemencement en passant écouvillon sur la périphérie de la boîte de pétri

### ❖ Application des disques d'Antibiotique :

Ils doivent être conservés à 2 - 8 °C avec un déshydratant. Le diamètre des disques est de 6,35 mm. On dispose les disques d'une manière espacée, et il est préférable ne pas mettre plus de 6 disques par boîte. On presse légèrement chaque disque à l'aide d'un anse pour qu'il tienne, faut en aucun cas déplacer les disques après application incubation 24h à 37° C( Voir Annexe VII : liste et modes d'actions des antibiotiques utilisés). (Figure 26)



Figure 26 : Application des disques D'antibiotiques

### ❖ Lecture :

On mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition qui seront comparées aux valeurs critiques de références .

## I.8. ANALYSE ET INDICES:

### ❖ Moyenne et écart type :

Les résultats des analyses des eaux **nous ont** permis de calculer la moyenne et l'écart type.

La moyenne  $\bar{X}$  d'un échantillon de taille  $n$  de variable  $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$  est obtenue par :

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

L'écart type est un paramètre statistique qui permet d'apprécier la dispersion des variables autour de la moyenne de l'échantillon, il est noté  $\delta$ .

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum x^2 - nx^2}{n-1}}$$

❖ **Coefficient de corrélation de Pearson (r)**

Le coefficient de corrélation linéaire simple, dit de Bravais-Pearson (ou de Person), est une normalisation de la covariance par le produit des écarts types des variables.

$$R(x, y) = \frac{COV(x, y)}{\delta x \times \delta y}$$

Le coefficient de corrélation sert avant tout à caractériser une relation linéaire positive ou négative plus il est proche de 1 (en valeur absolue), plus la relation est forte. Un  $r=0$  indique l'absence de corrélation entre les deux variables étudiées (Rakotoamr et al., 2008).

❖ **Indice de Shannon**

L'indice de Shannon est un indice permettant de mesurer la diversité spécifique. L'appellation *Shannon-Wiener* est incorrecte. Claude Elwood Shannon et Norbert Wiener sont indépendamment à l'origine de cet indice, qui est fondé sur la notion d'entropie (entropie de Shannon).

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

où S représente le nombre de taxons présents dans le relevé et  $p_i$  la proportion du taxon  $i$  dans le relevé.

Généralement et quelque soit le groupe taxinomique, l'indice de Shannon-Weaver est compris entre moins de 1 et 4,5 ; rarement plus. Une valeur voisine de  $H=0,5$  est déjà très faible. (Roselt ;2004).

❖ **Indice de MAR**

L'indice de la résistance aux antibiotiques multiples (MAR) a été démontrée comme une méthode rentable et valable de suivi des sources de bactéries. L'indice de résistance aux antibiotiques multiples est calculé comme le rapport du nombre d'antibiotiques résistants

auxquels l'organisme est résistant au nombre total d'antibiotiques auxquels l'organisme est exposé. Les valeurs de l'indice MAR supérieur à 0,2 indiquent une source de contamination à risque élevé où les antibiotiques sont souvent utilisés. **(Krumperman ,1983).**

### CONCLUSION

La pollution des eaux côtières en provenance des activités anthropiques, des eaux usées et des déchets solides, est un problème important pour les pays en voie de développement, particulièrement dans les plages qui sont très convoitées.

Cette présente étude a pour objectifs de vérifier la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau de baignade, et des bio- indicateurs dans la baie de Bou-Ismaïl.

Les résultats de l'analyse du paramètre pH montrent des valeurs qui avoisinent le pH= 8, répondant aux normes. La Température est également dans les normes et suit un rythme saisonnier, une augmentation durant la saison estivale et une baisse à partir du mois de septembre.

Dans l'ensemble, les résultats de la salinité avoisinent les 33 P.S.U, alors que les valeurs de la conductivité varient entre 52-54  $\mu\text{s}/\text{cm}$  entre les stations répondant aux normes. Les légères fluctuations peuvent être dues aux déversement des eaux usées, ou à l'effet des baigneurs durant la saison estivale.

L'analyses des sels nutritifs ont montré que les concentrations moyennes des nitrites dans la baie de Bou-Ismaïl varient entre 0.13 mg /l et 0.007 mg/l. Celles de l'ammonium sont comprises entre 0.11 mg/l et 0.05mg/l , et entre 0.11mg/l et 0,03 mg/l pour les Orthophosphates. Quant aux matières en suspension, les valeurs dépassaient les normes (35mg/l).

Ces paramètres connaissent des augmentations dans des points précis et durant des périodes précises, due soit aux eaux usées industrielles , soit à l'augmentations du nombre de baigneurs soit aux activités agricoles ou aquacoles de la région.

L'analyse bactériologique des prélèvements d'eau de mer des plages étudiées nous ont permis de conclure que :

Les taux des germes totaux sont élevés, ils sont influencés d'une part par les embouchures et les eaux usées industrielles est domestiques qui accentue l'apport en matières favorisant la prolifération des bactéries (plus de 3000UFC/100ml au niveau de la station 2 en

raison du rejet industriel) et d'autre part due à la fréquentation par les baigneurs et leurs apports en bactéries fécales.

Le rapport CF/SF indique une contamination fécale à la fois d'origine humaine et animale pour la station 4 « Qualé » (station de référence) et une contamination d'origine humaine pour les autres sites. La qualité de l'eau dans ces plages diffère d'une station à une autre. La plage « Qualé » est classée en catégorie A eau de bonne qualité, la plage « Ain Tagourait » est classée en catégorie B. Les autres plages « Fouka » et « Chenoua » sont classées en catégorie C (eau momentanément polluée). Quant à la Station 2 qui correspond au « rejet TONIC » est classée en catégorie D (eau de mauvaise qualité).

La recherche des germes pathogènes a montré une faible fréquence d'isolement des bactéries ciblées. Ceci pourrait être due à : leur absence effective, à la prédominance des germes fécaux qui ont tendance à les supplanter et l'effet de stress qui permet aux bactéries d'être viables mais les rend non cultivables.

Les résultats de l'analyse des bio indicateurs ont montré de faibles concentrations des Coliformes totaux, fécaux et des staphylocoques dans l'oursin *Paracentrotus lividus* et le crabe *Pachygrapsus marmoratus* dans les quatre stations d'où ils ont été prélevés, à l'exception de la station 2 « rejet TONIC » ce qui confirme une forte pollution dans cette station comparée aux autres stations.

Les espèces bactériennes isolées sont essentiellement des Entérobactéries, avec une prédominance d'*E.coli* et *Klebsiella ornithinolytica*. L'indice de Shannon a montré une plus grande diversité dans la station 2 « rejet TONIC » cela pourrait être due à la hétérogénéité et aux différents apports en matière polluante augmentant ainsi les différentes sources de carbone et donc plus d'espèces présentes.

La recherche des staphylocoques a montré que les taux présents dans les eaux de mer sont très élevés, et que les baigneurs contribuent à ces augmentations. 64% des résultats nous ont orientés vers l'espèce *Staphylococcus aureus*.

L'étude de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques a montré que la majorité des souches testées sont résistantes aux  $\beta$ -lactamines, notamment une résistance élevée pour Amoxicilline, Amoxicilline plus l'acide clavulanique, et pour la famille des Pénicillines Oxacilline, la Pénicilline et Pipéracilline à l'exception de la Ticarcilline. Par

contre, l'ensemble des souches isolées a montré une grande sensibilité à la Tobramycine Chloramphenicol, et à la Cefotaxime.

Cette multirésistance a été mise en évidence par le calcul de l'indice de MAR (multiple antibiotic resistance) qui est considéré comme un excellent outil d'analyse dans la prévalence des bactéries résistantes dans l'environnement, 100% des isolats ont montré une valeur supérieure à 0.2, ce qui laisse supposer qu'ils ont été exposés à plusieurs antibiotiques. Les valeurs les plus élevées ont été trouvées au niveau de la station 2 (0.5), ce qui laisse croire que c'est une source de contamination élevée où les antibiotiques sont utilisés et par conséquent des implications écologiques et publiques pour la santé peuvent survenir.

L'analyse de corrélation de Pearson a permis d'établir le lien entre les différents paramètres. Une grande corrélation a été mise en évidence entre les coliformes et les staphylocoques, ainsi que les streptocoques, qui sont fortement influencés par les paramètres physico-chimiques notamment le pH, les sels nutritifs et l'apport en MES.

### **Recommandations :**

Suite aux résultats obtenus par cette étude, il apparaît que la surveillance régulière des écosystèmes aquatiques semble nécessaire pour le bénéfice de la science, la sécurité de nos plages et le bien être de nos baigneurs, il serait souhaitable que certaines démarches s'instaurent :

- Elargir l'éventail des recherches en fixant trois stations (points de prélèvement) par plage et prélever 2 à 3 échantillons par station ce qui permettra de suivre la répartition de la flore contaminant.
- Noter à chacun des points, le pH, la température et la turbidité, tout en respectant les conditions de prélèvement.
- Le perfectionnement des techniques microbiologiques ouvrira d'autres horizons.
- Elargir le panel des bactéries recherchées, et ne pas se limiter aux indicateurs et à *E. coli* car d'autres espèces pathogènes sont bien présentes même en absence d'indicateurs.
- Ajouter les staphylocoques dans la liste des bactéries à rechercher pour les eaux de baignades, car ils sont très présents dans les eaux marines.

- Compléter par une étude physico-chimique qui révélerait la présence de métaux lourds et de substances toxiques déversées par les usines.
- Installation des stations d'épuration et traitement des eaux, avant de les rejeter en pleine mer.
- Instaurer des campagnes de sensibilisation aux baigneurs et aux habitants de la région, en vue de leurs implications dans la protection de cet environnement

Quelques perspectives de recherche :

- Evaluer la biodiversité des bactéries aquatiques et mesurer l'impact de la pollution sur leurs distributions.
- La comparaison entre les paramètres bactériologiques et physicochimiques au niveau des plages et au large de la plage pour déterminer l'influence des agglomérations et des activités anthropologiques
- Usage des espèces macrobenthiques en guise de bioindicateurs pour étudier la prévalence des germes résistants
- Comparaison des espèces bactériennes présente dans l'eau et celle dans les produits de pêches et aquaculture.
- Comparaison entre les paramètres physico-chimique et bactériologiques des effluents d'eau usées (rejets et oueds) avant et après leur déversement en mer.





## I.GENERALITES

Les eaux littorales constituent souvent un milieu récepteur pour les rejets des eaux usées qui véhiculent de nombreux polluants physiques et chimiques ainsi que des microorganismes pathogènes pour l'homme : bactéries, virus et parasites. Lorsque les eaux côtières et c'est souvent le cas, font l'objet de baignades et/ ou de consommation de coquillages, ces pollutions constituent des enjeux majeurs pour la santé publique .

### I.1POLLUTION AQUATIQUE

L'eau est l'élément autour duquel se maintient et se développe la vie. L'humanité se trouve depuis quelques années devant une explosion démographique, une expansion industrielle et une croissance alarmante de la pollution des eaux (**Vaillant, 1973**).

#### I.2 Définition de la pollution de l'eau

La pollution comprend toute nuisance apportée à un écosystème qu'elle soit une modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau, c'est la contamination de l'eau par les corps et substances étrangères tels que des micro-organismes, des produits chimiques, des déchets industriels ou autres ; dues à des déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matières de toute nature ,et plus généralement, tout à fait susceptible de provoquer ou d'accroître la dégradation des eaux en modifiant leurs caractéristiques (**Guiraud, 1998**) .

#### I.3. Principales sources et types de pollution marine

Il n'y a pas pollution d'un milieu sans souillure et dégradation de celui-ci. Qui dit pollution marine pense obligatoirement à une altération de la qualité du milieu marin, le plus vaste des écosystèmes de la biosphère (**Levêque , 1996**) . Elle peut être de différents types :

##### ❖ Pollution chimique

Elle est due essentiellement aux déversements de polluants organiques , des sels de métaux lourds par les unités industrielles. Elle se traduit par la présence de particules de taille et de matière très variées dans l'eau, qui lui confèrent un caractère trouble (**Bouziari,2000**).

Selon (**Aroua ,1994**), les polluants chimiques sont classés en cinq catégories :

- Les polluants chimiques dits indésirables (nitrates, composés phosphorés et sels ammoniacaux).
- Les polluants chimiques toxiques.

- Les pesticides et produits apparentés.
- Les hydrocarbures.
- Les détergents

## ❖ Pollution microbienne

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en coliformes, bactéries pathogènes, virus et parasites. ( **Tableau I** )

Le réservoir majeur des bactéries responsables des maladies à transmission hydrique se trouve être l'appareil digestif de l'Homme et des animaux. L'élimination de ces bactéries par les matières fécales contamine les égouts urbains, les eaux résiduaires hospitalières et les eaux de surface (**Gauthier, 1996**).

**Tableau I** . Concentrations de quelques micro-organismes dans les eaux usées urbaines

Microorganismes	Concentrations
<i>Escherichia</i>	2x10 <sup>7</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup> germes /litre 10 germes /litre ( <b>Geldreich,1978 ; Boutin et al,1979</b> )
<i>Streptococcus faecalis</i>	10 <sup>7</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup> germes /litre 10 <sup>7</sup> germes /litre ( <b>Geldreich,1978 ; Kott ,1978 ; Boutin et al,1979</b> )
<i>Salmonella</i> (1700 types sérologiques)	250 germes /litre 200 à 16.10 <sup>4</sup> germes /litre 20 à 10.10 <sup>4</sup> germes /litre ( <b>Hugues et al.,1976</b> ).
<i>Mycobacterium</i>	105 à 10 <sup>6</sup> germes /litre 1,5.10 <sup>6</sup> germes /litre ( <b>Lund, 1975</b> )

Les microorganismes rencontrés dans l'eau de mer sont de trois types (Tableau XX, Annexe I ) des germes typiquement aquatiques, des germes telluriques et des germes de contamination humaine ou animale. Ils appartiennent le plus souvent aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Spirillum*, *Crenothrix*, *Sphaerotilus*, *Galionella*..etc ,

Les germes telluriques rencontrés dans l'eau sont des bactéries sporulées comme *Bacillus* et *Clostridium* ou appartenant au genre *Streptomyces* et quelquefois des spores fongiques.

Bien que la majorité des germes rencontrés couramment dans l'eau soit des germes banaux mésophiles peu dangereux, les problèmes microbiologiques posés sont essentiellement des problèmes sanitaires dus à des germes pathogènes souvent en quantité limitée (**Debabza,2005**).

Une fois déversées dans les océans, les bactéries peuvent être retrouvées sous diverses formes, sous forme de microbes libres, ce mode place la cellule en situation de carence car les germes n'ayant rencontré aucun support, aucun refuge, restent libres mais vulnérables. Ils représentent une minorité en péril et sont incapables de reproduction et par conséquent appelés à disparaître (**Brisou et Denis, 1978**), ou en forme de résistance telle que les biofilms aquatiques, fixés sur des substrats immergés, Ils interagissent avec les substances dissoutes et les contaminants (et notamment avec les pesticides) qui peuvent modifier leur structure et leur fonctionnement par des effets directs ou indirects. (**Montuelle, 2008 ;Tlili et al., 2010**).

### 1.4. Résistance des bactéries dans le milieu marin

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme et elle est liée à leur inéluctable évolution. Elle s'observe à divers degrés à l'égard de tous les membres d'une famille d'antibiotiques donnée. On assiste de surcroît à des multirésistances dans le milieu marin (**Gauthier, ;1993**), en particulier dans les pays en voie de développement. Les eaux usées extrêmement chargées en matières organiques et en microorganismes sont rejetées dans l'océan sans aucun traitement préalable. Ces rejets, sont constitués entre autres, des effluents liquides issus des centres hospitaliers chargés des germes résistants à plusieurs types d'antibiotiques populations bactériennes de la matière fécale d'individus traités ont évolué vers la multirésistance (**Krumperman, 1983 ; Lyon et Skurray, 1987**).

### 1.5.Effets de la pollution de l'eau

Parmi les principaux effets de la pollution de l'eau, on cite :

- La dégradation de la qualité de l'eau en la rendant impropre aux usages souhaités.
- Les maladies à transmission hydrique.
- le bouleversement du processus d'auto-épuration et éventuellement la modification de façon défavorable du milieu vivant

Dans le même contexte, on peut citer le phénomène d'eutrophisation. C'est une fertilisation excessive des eaux due à un apport massif de composés azotés et phosphorés provenant de l'activité agricole et des rejets domestiques et industriels. Ces composés favorisent le développement des micro-algues (phytoplanctons) et des macro-algues qui constituent le premier maillon de la quasi totalité des chaînes alimentaires. L'eutrophisation induit un dysfonctionnement de l'écosystème, elle conduit à son asphyxie par épuisement des réserves d'oxygène (**Mechai ,2005** )

### **1.6. Équilibre biologique et pouvoir auto-épurateur de la mer**

L'autoépuration des eaux marines est le retour spontané à la normale d'un écosystème modifié, physiquement, chimiquement, biologiquement, ou le tout à la fois (**Equinoxe,1990** ). Le pouvoir bactéricide des eaux polluées, quelle que soit leur origine : mer, rivière, etc...., leur permet de se débarrasser au moins en partie de la contamination. Ce phénomène de l'autoépuration apparaît comme une défense naturelle contre la pollution démesurée des nappes d'eau par l'homme et par les animaux. Sans une telle défense, les épidémies d'origine aquatique seraient probablement plus fréquente vu l'étendue et l'intensité de la pollution des eaux (**Brisou, 1968**).

## I. CRITERES D'EVALUATION DE LA QUALITE DE L'EAU

Deux catégories d'indicateurs sont utilisées pour évaluer la qualité sanitaire des eaux de baignade : des paramètres physico-chimiques et des paramètres microbiologiques.

### II.1 PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

#### II.1.1 . Paramètres in situ

##### ❖ Salinité (S ‰)

La mesure de la salinité est importante dans l'étude du milieu marin. Par son influence sur la densité de l'eau de mer, elle permet de connaître la circulation océanique, d'identifier les masses d'eaux d'origines différentes et de suivre leurs mélanges au large, à la côte ou dans les estuaires (**Aminot et Chaussepied, 1983 ; Rodier *et al.*, 2005**).

Mesurée en P.S.U (Practical Salinity Unit), la salinité représente la masse, en grammes, des substances solides contenues dans un kilogramme d'eau de mer (**Aminot et Kérouel, 2004**).

##### ❖ Température (T)

C'est une caractéristique physique importante. Sa mesure est indispensable pour le traitement ou l'interprétation d'autres paramètres comme la saturation et la solubilité des gaz dissous et la détermination du pH pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels (**Gaujous, 1995 et Aminot et Kérouel, 2004**).

D'une façon générale, la température des eaux superficielles est influencée par la température de l'air et ceci d'autant plus que leur origine est moins profonde (**Aminot et Kérouel, 2004**).

##### ❖ Potentiel d'hydrogène (pH)

C'est un paramètre chimique caractérisant l'acidité ou la basicité d'un milieu (**Rodier *et al.*, 2005**) , le pH de l'eau de mer, voisin de 8,2, est fixé par la présence des carbonates et la modification des concentrations en (CO<sub>2</sub>) (respiration, photosynthèse, échange air-océan) entraînera une modification du pH (**Aminot et Chaussepied, 1983**).

### ❖ Conductivité électrique (CE)

La conductivité est la propriété que possède une eau de favoriser le passage d'un courant électrique. Elle est due à la présence dans le milieu d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique. Elle dépend de la nature de ces ions dissous et de leurs concentrations (**Rejsek, 2002**). Celle des eaux marines, est très élevée en raison de la forte concentration en sels dissous (**Aminot et Kérouel, 2004**).

Mesurée sur le terrain, ce paramètre permet de caractériser l'eau. L'unité de conductivité est le micro-Siemens par mètre ( $\mu\text{S/m}$ ). La mesure absolue de la conductivité peut servir au calcul de la salinité, mais les conditions de mesure sont alors plus complexes. Dans ce cas, la conductivité d'un échantillon est déterminée par comparaison avec la conductivité d'une eau de mer standard (eau de mer normale) dont la salinité est de 35 % (**Rodier et al., 2005**).

### II.1.2.Sels nutritifs

Les éléments nutritifs sont des descripteurs hydrologiques indispensables à l'étude d'un écosystème marin. En milieu aquatique, la chaîne alimentaire repose sur les producteurs primaires représentés dans les eaux de surface par le phytoplancton. Oxygène, carbone et hydrogène sont disponibles en abondance dans le milieu marin mais l'azote et le phosphore sont en concentrations relativement faibles.

Les éléments nutritifs qui limitent l'activité photosynthétique des organismes photosynthétiques sont l'azote, le phosphore et le silicium sous leur forme oxydée, d'où leur appellation « éléments bio-limitants » (**Copin-Montégut, 1996**). Les sels nutritifs, dans l'eau de mer ont plusieurs origines qu'on peut regrouper en deux types de sources (externes et internes).

### ❖ Azote (N)

C'est un élément qui se trouve sous forme ammoniacale ou organique ou inorganique (ammoniaque, nitrate, nitrite). Il constitue la majeure partie de l'azote total. Il existe sous trois formes : nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), et de composés organiques tels que l'urée ou les acides aminés. Ce sont les formes d'azote utilisables par le phytoplancton (**Copin-Montégut ,1996 ; Jaquet ,2008**), l'azote est l'un des éléments qui favorisent la prolifération d'algues (**Bechak et al ., 1983**).

### ❖ Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ):

L'azote ammoniacal provient des excréments animaux et de la décomposition bactérienne des composés organiques azotés. Dans les eaux marines, l'azote ammoniacal se trouve à des concentrations inférieures au  $\mu\text{mole/l}$ . En effet, il est présent sous deux formes en solution, l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), dont des proportions relatives dépendant du pH, de la température et de la salinité du milieu (**Aminot et Chaussepied,1983**).

Il peut avoir pour origine les rejets industriels (stations d'épuration), les engrais, la dégradation de la matière organique et l'excrétion du zooplancton. En eaux côtières non polluées et en milieu océanique, les concentrations sont généralement inférieures à  $1 \mu\text{mol/l}$ . Par contre, dans les estuaires, les concentrations sont plus élevées traduisant ainsi l'influence des rejets urbains ou agricoles (**Tréguer et Corre , 1975**).

### ❖ Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) :

Dans le cycle de l'azote, les nitrites sont considérés comme étant des ions intermédiaires entre les nitrates et l'azote ammoniacal, ce qui explique les faibles concentrations rencontrées en milieu aquatique qui sont de l'ordre de quelques micromoles par litre d'azote nitreux (**Aminot et Chaussepied ,1983**)

### ❖ Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) :

Le phosphore minéral dissous dans l'eau de mer est essentiellement présent sous forme d'ions orthophosphates. La concentration dépend des phénomènes physiques (mélange, adsorption, diffusion) et biologiques (consommation par le phytoplancton, excrétion par le zooplancton, régénération de la matière organique) (**Rodier, 1996**). De plus les phosphates échappent en majeure partie (80%) au traitement des stations d'épuration biologique classique et, de ce fait, se retrouvent dans les rejets et par la suite dans les eaux marines (**Ladjel et Bouchefer ,2004**)

### II.1.3.Matières en suspension (M.E.S)

Il s'agit de matières non solubilisées. Elles comportent des matières organiques et des matières minérales (**Gaid, 1984**). D'après **Ivanoff (1972)** d'origine minérale ou organique, vivante ou détritiques, de nature biogénique, terrigène, éolienne ou météoriques ; les matières en suspension dans les eaux de mer sont donc de dimensions très variables, elles sont

transportées au sein de la masse d'eau qu'elle soit douce, marine ou résiduaire. Elles peuvent être un indice de pollution (**Aminot et Chausspied, 1983**).

D'une part, les particules réduisent la transparence de l'eau de ce fait la production primaire photosynthétique, d'autre part elles présentent une surface de contact importante pour des échanges physico-chimiques ou biologiques avec l'eau de mer. (**Mertes et al., 1993**).

La concentration des matières en suspension peut influencer la qualité de vie car elle empêche la pénétration de la lumière et celle de l'oxygène (**Rodier, 1997; Berne et Cordonnier, 1991**). Elles peuvent être aussi considérées comme des transporteurs importants des polluants, fertilisants, toxiques et biologiques (**Lacaze, 1996**).

### II.2. 4.INDICATEURS MICROBIENS

La qualité bactériologique d'une eau n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents (**Rodier, 1966**).

Parmi ces germes indicateurs, les principaux sont : les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux.

#### ❖ Coliformes totaux (Ct)

Il s'agit de bacilles Gram négatifs (BGN) non sporulés oxydase négative aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36°C et 37°C. Ils existent dans les matières fécales mais se développent également dans les milieux naturels (**Leyral et al., 2002**). Ils regroupent les germes *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klébsiella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Rahnella*, et *Buttiauxella* (**Rodier et al., 1996 ; Joly et Reynaud, 2003**).

#### ❖ Les coliformes fécaux(CF) thermo-tolérants :

Il s'agit des coliformes possédant les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux mais à 44°C, ils remplacent dans la majorité des cas l'appellation : (coliformes fécaux) on cite *E. coli* qui produit de l'indole à partir du tryptophane, fermente le lactose ou le mannitol avec production d'acide et de gaz. Elle ne peut pas en général se reproduire dans les milieux aquatique, leur présence dans l'eau indique une pollution fécale récente (**Leyral, et al., 2002**).

❖ **Streptocoques fécaux (SF)**

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae* au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field (**Sharpe, 1979**).

Il s'agit de cocci à Gram positif (CGP) de forme sphérique ou ovoïde, se présentant en chainettes plus ou moins longues, non sporulées aéro-anaérobies facultatives, ne possédant ni catalase ni oxydase. Ce sont des hôtes normaux d'homme, et ne sont pas considérés comme pathogène (**Bergey, 1984 ; Rodier, 1996**).

L'origine de la pollution fécale est liée au rapport (R) quantitatif des coliformes fécaux sur les streptocoques fécaux. Les résultats obtenus sont présentés dans le (**Tableau II**)

**Tableau II** .Rapport CF/SF pour identifier l'origine de contamination

Rapport (R) CF/SF	Sources de contamination
$R < 0.7$	Principalement ou entièrement d'origine animale
$0.7 < R < 1$	Mixte à prédominance animal
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Source exclusivement humaine

(**Borrego et Romero, 1982**).

❖ **Germes pathogènes :**

En fait, seules les *Salmonella* et les *Shigella* sont des bactéries fréquemment recherchées, en dehors de cas d'épidémies. Cependant, ces dernières années, une certaine importance a été attribuée aux *Yersinia*, aux *Campylobacter*, aux virus et aux parasites. Les risques sanitaires provenant de microorganismes d'origine non fécale sont surtout importants au cours des baignades et pratiques thermales. Ils ne peuvent être évalués que par la recherche des pathogènes eux-mêmes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *V.parahaemolyticus* sont les plus fréquemment recherchés (**Debabza, 2005**).

❖ **Staphylocoques**

Les staphylocoques sont des cellules sphériques de 0.5 à 25 µm généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores ; ils sont aérobie ou anaérobies

facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique **(Leclerc *et al.*, 1995)**.

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou « Staphylocoque doré » possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement **(Leclerc *et al.*, 1995)**.

Parmi ces espèces, *S. aureus* revêt plus d'intérêt quant à la pollution de eaux littorales et des fruits de mer. Deux autres espèces (*S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important.

La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade **(Gaujous, 1995 et Rodier *et al.*, 1996)**.

## II. CONTROLE DE QUALITE DES EAUX DE BAIGNADE ET RISQUE DE CONSOMMATION DES FRUITS DE MER

Les impacts associés à la contamination microbiologique des eaux littorales affectent la qualité de l'eau elle-même mais aussi celle des cheptels présents sur les sites soumis aux contaminations. C'est l'homme : l'utilisateur du littoral en qualité de «baigneur » ou de« consommateur de fruits de mer » qui suscite un grand intérêt.

Pour l'évaluation de la qualité des eaux de baignade, le suivi porte essentiellement sur la pollution bactériologique engendrée par des rejets d'eaux usées. Cette pollution présente, en effet, le risque de dissémination de germes pathogènes, susceptibles d'entraîner des maladies telles que conjonctivites, rhinopharyngites, otites, sinusites, maladies cutanées ou digestives (Lesne, 1998).

### III.1. Principaux risques sanitaires liés à la baignade dans l'eau de mer

Si la baignade constitue une activité de loisirs qui permet détente et exercices physiques bénéfiques pour la santé, elle peut néanmoins présenter certains risques. Ces derniers sont liés soit à la qualité de l'eau soit aux activités associées à la baignade ( Alexander *et al.* ,1992).

Les eaux utilisées à des fins récréatives peuvent être contaminées par le contact direct avec l'être humain et par les polluants provenant de sources extérieures (eaux usées, eaux de pluie et eaux de ruissellement d'origine agricole) (Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées 1992).

Par ailleurs de nombreuses études épidémiologiques récentes montrent que la baignade dans une eau polluée augmente de façon significative les risques de maladies gastro-intestinales et des maladies de l'appareil respiratoire supérieur (Corbett, 1993) (Tableau XVIII , Annexe I)

#### ❖ Classement sanitaire des eaux de baignade

A l'issue de la saison estivale, un classement des plages est établi à partir de l'ensemble des paramètres analysés. A l'échelon européen, le classement est basé sur la conformité des paramètres microbiologiques ainsi que des paramètres physico-chimiques (résultats inférieurs aux nombres impératifs pour 95% des échantillons). Il définit deux classes : eaux conformes et eaux non conformes.

Au niveau international, la classification comporte 4 catégories d'une part, il partage les eaux conformes en : Eaux de bonne qualité, **catégorie A** : respect des valeurs guides et impératives de la directive, Eaux de qualité moyenne, **catégorie B** : respect des valeurs impératives, et d'autre part les eaux non conformes en : Eaux momentanément polluées, **catégorie C** : entre 5 et 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives, Eaux de mauvaise qualité, **catégorie D** : plus de 33% d'échantillons non conformes aux valeurs impératives (CEE,2006) (Tableau XIX, Annexe I)

### III.2 Risques de consommation des fruits de mer

Les fruits de la mer concentrent les bactéries et les virus (Tableau XXI, Annexe I) d'un facteur 10 à 100 par rapport à la concentration dans l'eau de mer. Les germes présents s'accumulent dans les coquillages filtreurs, le processus de concentration des germes, liés au taux de filtration, a fait l'objet de nombreuses études. En retenant celles fournies par **Deslous et al., (1987)** et par **Poggi, (1990)**, ils interviennent surtout dans la transmission des fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et de l'hépatite virale. Les moules ont été responsables de nombreuses épidémies de fièvres typhoïdes et de cholera. Les gastro-entérites sont fréquentes chez les consommateurs de palourdes et de coques même en absence de bactéries spécifiquement pathogènes. Certaines pollutions bactériennes sont d'ordre spécifiquement marin. Il en est ainsi de *Vibrio parahaemolyticus*; un des plus fréquents agents de gastro-entérites (coquillages et poissons) (**Leclerc et al.,1982**), la capacité de filtration des bivalves et de la macrofaune est estimable d'où leur utilisation comme bio indicateurs

### III.3. Bioindication

La bioindication désigne l'évaluation de la qualité des milieux à l'aide de bioindicateurs c'est-à-dire d'organismes vivants connus pour leurs capacités à refléter l'état des écosystèmes et à identifier les problèmes et les risques encourus par ceux-ci. Un bioindicateur peut être un individu, une partie d'individu ou même une communauté d'individus renfermant de l'information sur la qualité du milieu. Étant donné la non-spécificité des réactions de la plupart des organismes en présence d'un stress environnemental, la tâche d'un bioindicateur est davantage de mettre en évidence les effets physiologiques affectant les organismes sous l'influence de conditions environnementales stressantes que de mesurer directement les concentrations des différents polluants impliqués (**Fränzle, 2003**).

Parmi ces espèces la macrofaune benthique et de plus en plus utilisée pour la surveillance des milieux aquatiques, de tels indicateurs peuvent servir à détecter des signes précurseurs

d'éventuels problèmes environnementaux, à identifier les causes et les effets entre les perturbations du milieu et les répercussions sur le plan biologique ainsi qu'à évaluer l'efficacité des mesures mises en œuvre pour restaurer la qualité des milieux naturels (**Kaiser, 2001 ; Boulanger, 2009**)

Les bivalves sont des mollusques caractérisés par la présence d'une coquille composée de deux parties (deux valves), l'absence de radula et un mode de vie presque exclusivement sessile (**Ruppert et Barnes, 1994**). En tant que filtreurs, les bivalves sont réputés être de bons indicateurs de pollution et leur utilisation comme bioindicateur remonte au milieu des années 1970 avec la mise en place du premier programme de biomonitoring international (**Smolders et al., 2003 ; Gaitonde et al., 2006**). Il s'agit du groupe d'organismes de loin le plus étudié dans le domaine de l'évaluation de la contamination du milieu marin par les métaux lourds et certains groupes comme les moules, les huîtres et les palourdes ont fait l'objet de nombreuses recherches et sont utilisés partout à travers le monde dans les programmes de biomonitoring (**Oehlmann et Schulte, 2003**)

L'oursin comestible est un échinoderme pouvant s'avérer fort utile dans certains cas, particulièrement lorsque les organismes normalement utilisés ne sont pas présents dans le milieu étudié. Ces organismes possèdent pour la plupart les caractéristiques recherchées chez un bioindicateur : ils sont sessiles ou ne se déplacent que sur de courtes distances, sont faciles à capturer et à identifier et comptent parmi les espèces prédominantes de la macrofaune benthique de nombreux écosystèmes marins (**Warnau et al., 2006**).

## A

- ABABOUCHE L., 1995.** Assurance de qualité en industrie halieutique. Actes édition, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat.
- ALZIEU C., 1989.** L'eau : milieu de culture. In Aquaculture. 2<sup>ème</sup>. Ed. Tec et Doc, Tome 1 : p16-43
- AMINOT A et KEROUEL R., 2004.** Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Éd. Ifremer, 336 p.
- AMINOT A., CHAUSSEPIED M., 1983.** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO : 395p.
- ANONYME., 1980.** Le courrier du CNRS, N° 35. janvier, 1980.
- AZZOUG M., LAMANI K., 2005.** Contribution à l'évaluation de la contamination bactériologique des eaux littorales : cas de l'émissaire de l'hôpital de bainem. Mémoire d'ingénieur, option environnement littoral. ISMAL. 50p.
- BELLAN G., PERES J.M., 1974.** La pollution des mers. Edit. Presses Universitaires de France. 127p.
- BENSCHNEIDER., K et ROBINSON R.J ., 1952.** A new spectrophotometric method. FAO Fisheries Technical Paper : 137-238.

## B

- BIANCHI M., MARTHY D., BERTRAND J.C., CAUMETTE P., GAUTHIER M., 1989.** Les microorganismes du domaine océanique. Edit. Masson. 447p.
- BRISOU J F et DENIS F., 1978.** Hygiène de l'environnement maritime. Edit. Masson. 248p.
- BRISOU J F et DENIS F., 1980.** Techniques de surveillance de l'environnement maritime. Edit. Masson. p206.
- BRISOU, J.F., 1968.** La pollution microbienne, virale et parasitaire des eaux littorales et ses conséquences sur la santé publique. Bulletin. O.M.S. 38, 79-118.
- COPIN-MONTEGUT G., 1996** . Chimie de l'eau de mer. Institut océanographique, Paris. 319 p .
- EBERLIN T., 1997.** Les infections microbiennes. Edit. Masson. 128p.
- Equinoxe n° spécial., 1990.** Le magazine des ressources vivantes de la mer « environnement littoral ». p32 – 54.
- FAO., 1996.** Assurance de qualité des produits de la pêche. Document technique sur les pêches n°334. FAO., Rome, Italie.
- FIGARELLA J., LEYRAL G., TERRET M., 2001.** Microbiologie générale et appliquée. Edit. Jacques Lanore. 285p.
- FLINT K.P., 1987.** The long-term survival of *Escherichia coli* in river water. Journal of applied bacteriology Vol 63, p261 – 270