

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la nature et de la vie
Spécialité/Option: Biologie moléculaire des procaryotes
Département: Biologie

Thème

Etude bactériologique d'un bivalve comestible (*Donax trunculus*)

Présenté par :

Bendjeddou Karima

Chaoui Amira

Memmadi Djamila

Devant la commission composée de :

Ayad H.	Président	Université de Guelma
Drif F.	Encadreur	Université de Guelma
Djemaa F.	Examineur	Université de Guelma
Athamnia M.	Membre	Université de Guelma
BenbelkacemS.	Membre	Université de Guelma
Mairif S.	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciement

Nous remercions le dieu tout puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à terme ce modeste travail.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadreur Mme Driff Fahima. Qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent également au Pr. Mme Ayad H. de nous avoir fait bénéficier de ses encouragements, ses conseils et sa bonne humeur, et d'avoir accepté la participer du jury de ce mémoire.

Nous exprimons également notre reconnaissance à Mme Djamaa F qui a accepté de participer à ce jury et de jury ce travail.

Je tiens aussi à remercier vivement le chef de service de la DDES Mr Abde L Rahmane pour leur aide continuel au cours de la réalisation pratique de ce travail.

Nous tenons à remercier nos enseignants à l'université depuis la première année.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou loin pour la réalisation de ce mémoire et surtout notre amie Imane.

A tous ceux que j'ai oublié de citer.

Merci



Dédicace



Je dédie ce modeste travail :

- ✧ À ma chère mère KHADIDJA.*
- ✧ À mon cher père MOHAMMED.*
- ✧ À ma chère sœur NARDJESS.*
- ✧ À mes chers frères MEHREZ, RAAFET et AHMED.*
- ✧ À mon home EL-HAFNAWI.*
- ✧ À ma tante NAIMA*
- ✧ À mes chères amés SARA D, SARA A, WISSAM, KARIMA.*
- ✧ A toute la famille sans expiraient*
- ✧ A Mes collègues IMEN, BESMA, HANA.*
- ✧ A tous ceux qui m'ont aidé durant ma vie universitaire.*
- ✧ A tous la promotion BMP.*

✧ DJAMILA ✧



Dédicaces

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude, avant tout
à Dieu ce tout puissant qui m'a aidé et m'a donné
le courage pour mener à terme modeste travail.*

Je dédie ce travail à mes plus chers êtres au monde :

À ma chère mère Messaouda pour leur amour, Leur tendresse, et pour leur soutien. «Zue Dieu, le tout puissant L'accueille en son vaste paradis» À mon cher père El Tahar pour leur patience, leur soutien et leurs sacrifices, Je vous exprime, tous mes sentiments de gratitude et d'amour. « Zue Dieu vous protègen».

À mes chères sœur : Bessma.

À mes chère frères : Amar, et ma gronde frères Thofike.

À mes chères petits poussins : Marwan et Mohamed Hyade.

À mes chers tents Fatiha, Noura et toute ma famille.

À mes chères amis : Anissa, Sara, Hanane, Jamila et Amira.

*À tous les enseignants et professeur qui ont fortement contribué à ma formation
Depuis l'école primaire jusqu'à l'université.*

À tous la promotion BNP.

*À tous mes cossé : Khavla, Naval, Marwa, Inase, Farah,
Mariam, Saaida, Samira, Phahinda et sondes.*

KARIMA

Dédicaces

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude, avant tout
à Dieu ce tout puissant qui m'a aidé et m'a donné
le courage pour mener à terme mon modeste travail.*

Je dédie ce travail à mes plus chers êtres au monde :

*À ma chère mère Rbiha pour leur amour, Leur tendresse, et pour leur
soutien. « Que Dieu, le tout puissant L'accueille en son vaste paradis ».*

*À mon cher père Razak pour leur patience, leur soutien et leurs sacrifices,
Je vous exprime, tous mes sentiments de gratitude et d'amour. « Que Dieu
vous protège ». À ma grande mère Haddi et Zarat mon grand-père
Nawar*

À mes chères sœurs : Nora et Pathreb

À mes chères frères : Salem et toute ma famille.

À mes chères amis : Rabiaa, Imen et Iviza

*À tous les enseignants et professeurs qui ont fortement contribué à ma
formation Depuis l'école primaire jusqu'à l'université.*

AMIRA

Table des matières

Remercîment	
Dédicace	
Liste de figure	
Liste de tableau	
Liste des abréviations	
I INTRODUCTION.....	01
II LA POLLUTION.....	03
1. Types de pollution.....	03
2. Les polluants.....	04
3. La pollution marine.....	05
3.1 Devenir des polluants dans le milieu marin.....	05
3.2 La bioaccumulation.....	05
4. La contamination bactériologique.....	06
5. La survie des bactéries dans le milieu marin.....	07
6. Les risques liés à la contamination bactériologique des bivalves.....	08
7. Les risques liés à la consommation des coquillages.....	08
8. La surveillance de l'eau	09
9. L'espèce bio-indicatrice.....	09
10. L'importance alimentaire des bivalves.....	10
III. LES MOLLUSQUES BIVALVES	
1. <i>Donax trunculus</i>	12
2. Description de l'espèce.....	13
2.1 Morphologie externe.....	13
2.2 Morphologies interne	14
3 Ecologie et biologie.....	16
3.1 Ecologie.....	16
3.2 Biologie	16
4 Reproduction et développement.....	17
4.1 Cycle de vie.....	17
4.2 Cycle de reproduction.....	18
IV. MATIRIEL ET METHODES	

1. Présentation de la zone d'étude	19
1.1 Choix des sites.....	19
2. Présentation de l'espèce étudiée.....	20
2.1 Position systématique.....	21
2.2 Intérêt de l'espèce.....	21
3 Récolte de l'espèce.....	22
4 Préparation de l'échantillon.....	22
5 Analyse bactériologique des l'échantillon.....	22
5.1 Contrôle de routine.....	23
5.1.1 Recherche et dénombrement des coliformes fécaux.....	23
5.1.2 Recherche des Salmonelles.....	26
5.1.3 Recherche des Vibrions.....	28
5.1.4 Recherche des Staphylocoques.....	30
5.1.5 Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux...	32
6. Identification des bactéries isolées.....	35
6.1 Examen macroscopique des caractères culturaux.....	35
6.2 Examen microscopique après coloration de Gram.....	35
6.3 Examen lié aux caractères biochimiques.....	35

V. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Recherche des Coliformes fécaux.....	41
1.1 Test présomptif.....	41
1.2 Test confirmative.....	42
2. Recherche des Salmonelles.....	44
2.1 Pré-enrichissement.....	44
2.2 Isolement et identification.....	44
3. Recherche des Vibrions.....	45
3.1 Enrichissement.....	45
3.2 Isolement sur la gélose GNAB.....	45
3.3 Identification.....	46
4. Recherche des Staphylocoques.....	47
5. Recherche des Streptocoque de groupe D.....	52
5.1 Test présomptif	52

5.2 Test confirmatif	53
----------------------------	----

Conclusion

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Les Bactéries pathogènes transmises par les produits de la mer.	07
Tableau 2	Résultat de test présomptif de <i>Coliforme fécaux</i> .	41
Tableau 3	Identification d' <i>E.coli</i> d'après le test confirmatif.	43
Tableau 4	Résultats d'enrichissement de <i>Salmonella</i> sur SS.	44
Tableau 5	Résultat d'isolement des <i>Vibrions</i> sur GNAB.	45
Tableau 6	Résultats obtenus à partir de l'isolement des Staphylocoques.	47
Tableau 7	Résultats obtenus du test catalase des Staphylocoque.	50
Tableau 8	Résultats obtenus du test présomptif pour les Streptocoque D.	52
Tableau 9	Résultat obtenus du test confirmatif de Streptocoque D.	54
Tableau 10	Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production.	59

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Fig. 01	<i>Donax trunculus</i> .	12
Fig. 02	Morphologie externe (A) et interne (B) de la coquille de <i>D. trunculus</i>	13
Fig. 03	Anatomie externe.	14
Fig. 04	Anatomie interne.	15
Fig. 05	Cycle de vie des bivalves.	18
Fig. 06	Carte montrant la localisation des sites de prélèvement le long du golfe Annaba.	19
Fig. 07	Image satellitaire montrant le site : Sidi Salem	20
Fif. 08	Recherche des E. coli.	25
Fig. 09	Recherche des Salmonelles.	27
Fig.10	Recherche des Vibrions.	29
Fig.11	Recherche des Staphylocoques.	31
Fif.12	Recherche des Streptocoques.	34
Fig.13	Test catalase.	37
Fig.14	réalisation d'un API système 20E.	39
Fig.15	préenrichissement de salmonella.	44
Fig.16	Enrichissement de vibriion.	45
Fig.17	Coloration de Gram.	46
Fig.18	Profile biochimique illustrant la présence du germe <i>Pantoea spp.</i>	46
Fig.19	Profil biochimique illustrant la présence du germe <i>Serratia fonticoa</i> .	47
Fig.20	Coloration de Gram de staph.	49
Fig.21	Profil biochimique illustrant la présence du germe <i>Staphylococcus capitis</i> .	51
Fig.22	Profil biochimique illustrant la présence du germe <i>Staphylococcus xylosus</i> .	51
Fig.23	Profil biochimique illustrant l'existence du germe <i>Staphylococcus xylosus</i> .	51

Fig.24	Profil biochimique révélant l'existence de <i>staphylococcus caprae</i> .	52
---------------	---	----

Liste des abréviations

Abréviation	Définition
N.P.P	Nombre le plus probable
TIAC	Toxi-infection alimentaire collective
AFNOR	Agence de Normalisation française
CLI	Chair liquide intervalvaire
E.coli	Escherichia coli
et al	Et collaborateurs
cm	Centimètre
g	Gramme
mm	Millimètre
ml	Millilitre
C.E	Comité Européenne
VBL	Bouillon lactosé au vert brillant
°C	Degré Celsius
GNAB	Gélose nutritive alcaline bilée
SS	Salmonella Shigella
SC	Simple concentration
H₂ O₂	Oxygéné
OMS	Organisation mondial de santé
O_x	Oxydase
PH	Potentiel d'hydrogène
D/C	Double concentration

EPA	Eau peptonee alcaline
CF	Coliforme fécaux
Roth	Bouillon d'azide de so
Tab	Tableau
Fig	Figure
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Staph	Staphiloque
ECIETC	European Chemical Industry Ecology and Toxicology Center)
VP	Voges Proskauer
SF	Streptocoque fécaux
UFC	Unité formant colonie

I. INTRODUCTION

Depuis le début du siècle, l'environnement a été soumis à la pression croissante des activités humaines dont les effets se sont fait rapidement sentir. Le fort développement de la technologie et l'important essor industriel ont donné de nouvelles dimensions aux risques de d'intoxication et aujourd'hui le nombre de populations exposées aux contaminants environnementaux ne cesse d'augmenter. Le nombre de nouveaux produits chimiques synthétisés qui viennent s'ajouter chaque année aux plus de 2 millions de substances déjà répertoriées et plus de 100 00 substances sont commercialisées. La plupart se retrouvent dans l'environnement à la fin de leur cycle de vie **(Depldege et Fossi, 1994)**.

L'espace marin dont la superficie représente 71% du globe terrestre, constitue une immense réserve de ressources énergétiques, minérales et biologiques qui est à la base de l'alimentation de l'immense majorité de la population mondiale **(Mc-Cauley et al., 2000 ; Long, 2000)**.

Les eaux marines peuvent être particulièrement soumises à des pollutions microbiennes dues aux développement industrielles, agricole et urbain **(Leclerc et al., 1982)**. Ces pollutions peuvent être aussi dues au transport maritime (30% du trafic maritime mondial) et les activités domestiques avec des rejets en mer estimés à 6.10^5 tonnes chaque année **(Gallini, 2008)**.

La contamination microbiologique des eaux est une contamination de par des corps et des substances étrangères tels que des micro-organismes (bactéries, virus et parasites) **(Guiraud, 1998)**. Dont certains cas, elle peut être pathogène pour l'homme. Parmi les supports capables de piéger les bactéries présentes dans l'eau, et de les maintenir en vie, les supports inertes, les sédiments et les animaux marins **(Jorgensen, 1960)**.

Beaucoup d'organismes marins accumulent les contaminants à de très fortes concentrations dans leurs tissus. Parmi ces organismes, on mentionne les bivalves qui s'adaptent à la filtration (de 100 à 650 l/heure /Kg d'animal vivant), pour en tirer les éléments nécessaires à leur survie (plancton) **(Brissou et Denis, 1980)**. Ce processus permet l'obtention de différentes particules, comme les toxines et aussi les bactéries et les virus.

Les bivalves sont exposés au risque de la contamination beaucoup plus que d'autres bio-indicateurs. Du fait que, leurs tubes digestifs est plus longs, ainsi ils favorisent un temps de rétention plus élevé (**Dahel, 2009**) n'existe pas dans la biblio

En raison de cette capacité de filtration et d'accumulation importante des particules et polluants, les bivalves ont été retenus comme bio-indicateur de la contamination. Ils ont été utilisés pendant de nombreuses années par excellence (**Jorgensen, 1960**).

La consommation des bivalves contaminés, expose le consommateur à un risque de toxoinfection: Fièvre typhoïde, Salmonellose, Dysenterie, Choléra, Gastro-entérite virale et Hépatite A (**Creteur, 1998**).

Pour préserver le consommateur, la communauté européenne (1991) à édictée des normes de concentration en Coliformes fécaux, pris comme indicateur de contamination potentielle des eaux par des germes pathogènes : 102 *E. coli* /100ml dans les eaux de baignades.

Par inquiétude, la directive européenne 91/492/EC (Communauté européenne, 1991) définit les critères microbiologiques pour les bivalves; cette dernière établit que, la qualité microbiologique de ces aliments doit être contrôlée en mesurant les teneurs en Coliformes fécaux (moins de 300 pour 100g), *Escherichia coli* (230 pour 100g), et les *salmonelles* (absence).

Dans ce concept, notre étude a été basée sur l'analyse bactériologique des ces indicateurs (Coliformes et les streptocoques fécaux aussi la recherche de certains germes pathogènes: *Salmonella*, *Vibrio*, et les Staphylocoques) sur un échantillonnage de l'espèce *Donax trunculus* effectué au niveau de deux sites de prélèvements (El-Bettah et Sidi Salem) durant la saison froide (Février, 2017) afin de, pouvoir déterminer de la qualité bactériologique de ce produit comestible par le dénombrement des indicateurs de contamination bactériologique.

II. LA POLLUTION

La pollution est la dégradation d'un écosystème par l'introduction, généralement humaine, de substances ou de radiations altérant de manière plus ou moins importante le fonctionnement de cet écosystème.

La pollution de l'air, provoquée par des polluants dits atmosphériques, elle accompagne les progrès de la civilisation.

Ainsi que, la pollution du sol désigne toutes les formes de pollution touchant n'importe quel type de sol (agricole, forestier, urbain, etc.). Un sol pollué devient à son tour une source possible de diffusion directe ou indirecte de polluants dans l'environnement.

Effectivement, la pollution de l'eau peut avoir diverses origines urbaines, industrielles et agricoles, ces types de pollutions assemblés progressent l'état de la contamination des milieux marins (Goeury, 2014).

1. Types de pollution

▪ Pollution physique

Elle peut être thermique, radioactive ou due au transport de matières en suspension. Ces dernières créent la turbidité qui donne à l'eau un aspect peu agréable, causent des dommages aux organismes marins et freinent le développement des organismes photosynthétiques. Aussi, dues au rejet des radio-isotopes ou d'eaux chaudes, la conséquence est une élévation de la température des eaux naturelles, ce qui modifie le taux d'oxygène. Conduisant ainsi, à une augmentation de l'activité cellulaire et une accélération de la respiration. On outre, une diminution de la diversité du phytoplancton et un pouvoir de prolifération d'espèces thermophiles (Ghizellaoui, 1994; Duvigneaud, 1974).

▪ Pollution chimique

Les pollutions chimiques sont nombreuses et d'origines diverses : déchets industriels minéraux et organiques (Kneese, 1967). Ce sont les engrais agricoles, les pesticides, les composés organochlorés, les hydrocarbures, les détergents et certains éléments traces (plomb, arsenic, mercure...etc.) bio-accumulables dans les chaînes alimentaires depuis le plancton, jusqu'à

l'homme. Provoquant ainsi, des altérations graves des organes (**Ramade, 1998 ; Gomella et Guerree, 1978**).

- **Pollution microbienne**

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en virus, en parasites et en bactéries pathogènes (**Guiraud, 1998**).

Toutes sortes de microorganismes considérés pathogènes pour l'homme, allant des parasites, des bactéries et des virus sont véhiculées par les eaux. Si ces organismes sont capables de survivre en mer, ils peuvent infecter les baigneurs ou contaminer les animaux marins (coquillages, oursins) et induire ainsi, des maladies chez l'homme qui consomme ces animaux crus (**Soudane, 1968**).

2. Les polluants

Le polluant est un contaminant d'un ou de plusieurs compartiments (air, sol, eau) ou d'un organisme, ayant une incidence sur ces derniers au-delà d'un seuil ou norme.

La présence des micro-organismes pathogènes peut présenter un risque sanitaire lors de la baignade ou de la consommation des bivalves (**Brisou, 1968**). Les principaux agents bactériens incriminés dans les toxi-infections d'origine alimentaire sont *Salmonella* et *Campylobacter*.

Les taux des germes: *Listeria monocytogenes* (), *Escherichia coli* (), *Staphylococcus* (), *Yersinia enterocolitica* (), *Salmonella* (30,6%), *Listeria monocytogenes* (27,6%), *Campylobacter* (5,5%) sont estimés comme étant responsables des plus fortes mortalités aux USA (**Mead et al., 1999**). Ainsi, poser des problèmes tant hygiéniques que toxicologiques et économiques, particulièrement dans les pays tropicaux (**Glatman et al., 2000; Gelman et al., 2001; O'Sullivan et al., 2002 ; Dortu et al., 2009**).

L'ingestion de ces polluants peut présenter un véritable danger pour les espèces marines. Les micropolluants perturbent la physiologie des espèces et se concentrent dans les sédiments et le long des chaînes trophiques jusqu'à l'homme (**ELM, 2011**).

3. La pollution marine

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**).

Les eaux ont reçu une grande quantité de polluants provenant de différentes sources (**Reddy et al., 2007**). D'après le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE), plus de 80 % de la pollution des mers proviennent de la terre via les fleuves ou par ruissellement et déversement à partir des zones côtières (**ELM, 2011**).

Presque 20 % des polluants présentent les rejets d'hydrocarbures ou d'autres substances chimiques, les pertes de cargaison ou les immersions de déchets et les rejets atmosphériques (**ELM, 2011**).

La pollution microbiologique du milieu marin peut être d'origine humaine ou d'origine animale du fait de déjections au sol et d'épandages (**ELM, 2011**).

3.1 Devenir des polluants dans le milieu marin

Les contaminants rejetés dans l'environnement finissent par se retrouver dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens et côtiers, où ils peuvent avoir des effets à court et à long terme (**Burton, 1992**). Les processus qui définissent le devenir des contaminants dans les différents compartiments de l'environnement (physique ou biologique) sont la bioconcentration, la bioamplification et la bioaccumulation.

3.2 La bioaccumulation

La bioaccumulation désigne la capacité des organismes de concentrer dans leurs tissus un contaminant, même si ce contaminant n'a aucun rôle métabolique et s'avère toxique (**Connell, 1990; Rand et al., 1995; Connell et al., 1998**). D'après l'ECETOC (1996), le résultat net de l'accumulation, de la distribution et de l'élimination de cette substance polluante dans un organisme est lié à son exposition dans l'eau ou dans un autre biotope, à la nourriture, et aux sédiments ou l'air.

- **Facteurs agissant sur l'accumulation**

La filtration est conditionnée par divers paramètres, une température optimale comprise entre 18 et 22°C. A l'extérieur de cette fourchette, la filtration est ralentie et fortement perturbée (**Rowse et Fleet, 1984**).

La salinité est variable selon les espèces considérées qui supportent généralement de large gradient de salinité (espèces euryhalines). Une forte et brutale des salures peut toutefois entraîner une mortalité importante des coquillages.

L'accumulation de microorganismes dans les bivalves est liée au genre de l'espèce contaminée et sa taille (**Rowse et Fleet, 1984**). Les bivalves utilisent l'oxygène dissous dans l'eau de mer environ 28 à 35 mg/l pour un bon fonctionnement de l'appareil respiratoire (**His et Cantin, 1995**).

Une turbidité de l'eau excessive entraîne un ralentissement du pompage par le coquillage et donc une filtration moindre (**Le Bec et al., 2002**).

4. La contamination bactériologique

C'est la pollution biologique du milieu marin, caractérisée par la présence de microorganismes (bactéries) dans l'eau qui servent généralement de nourriture à de nombreux organismes marins. Elle est considérée comme dangereuse, si les agents présents sont pathogènes elle peut entraîner la propagation de certaines maladies infectieuses, ce qui limite la pratique d'activités récréatives (baignade) et la pêche notamment des mollusques bivalves. De plus, elle est souvent ponctuelle, par conséquent se prête difficilement à une identification précise. (**Vaillant, 1973**). Ces bactéries peuvent être commodément classées en deux grandes catégories (**Tab.1**).

Tableau 01: Les bactéries pathogènes transmises par les produits de la mer (Huss, 1995).

Bactéries indigène (groupe 1)	Bactéries non indigène (groupe 2)
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Salmonella sp.</i>
<i>Vibrio cholera</i>	<i>Shigella</i>
<i>Vibrio sp.</i>	<i>E.coli</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Autres Vibrions	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	

NB: Les bactéries du groupe 01 sont communes et un peu partout présentes dans les milieux aquatiques des différentes régions du monde.

5. La survie des bactéries dans le milieu marin

Les microorganismes peuvent survivre plus ou moins longtemps en fonction des paramètres physiques, chimiques et biologiques du milieu.

- **La lumière**

L'action bactéricide des rayons ultra-violetts (UV) de la lumière solaire est connue depuis longtemps et la variabilité saisonnière (hiver-été) de la survie des germes peut être observée en fonction de la présence ou de l'absence de la couche nuageuse.

Une turbidité élevée de l'eau limite la pénétration des rayons UV dans l'eau et contribue également à réduire l'efficacité des rayons UV vis à vis des cellules microbiennes.

- **La température**

Il est important de connaître la température de l'eau avec précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz (Dahel, 2009). La température influence sur l'activité biologique dont dépend la production totale et sur la répartition des espèces, par exemple sur la pêche (Aminot et Kerouel, 2004).

- **La salinité**

C'est la concentration des corps chimiques qui, en solution dans l'eau, se dissocient sous forme de cations. Un litre d'eau de mer contient environ 35g de sel, dont 30g de chlorure de sodium. La salinité influe sur la répartition des micro-organismes (**Dahel, 2009**).

6. Les risques liés à la contamination bactériologique des bivalves

Les bactéries qui contaminent les fruits de mer sont considérées comme pathogènes pour l'homme (**Altemeyer et al., 1990**), Ils sont représentées par :

- Les bactéries entériques responsables de fièvre typhoïde (*Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, B et C), de choléra (*Vibrio cholerae*) et de gastro-entérites (*Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* et *Shigella dysenteriae*).
- Les bactéries non entériques (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* D et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les maladies microbiennes alimentaires représentent au niveau mondial un nombre considérable de décès, et dans les pays en voie de développement ces maladies ont des conséquences particulièrement graves sanitaires, politiques et économiques (**Käferstein et al., 1997**).

Les toxi-infections alimentaires restent une des principales causes de morbidité aux Etats-Unis d'Amérique par exemple, on estime que 76 millions de cas surviennent chaque année, entraînant 325 000 hospitalisations et 5 000 décès. En Europe, la mortalité due aux intoxications alimentaires est peu importante, mais un nombre de 50 000 gastro-entérites aiguës par million d'habitants par an est couramment avancé (**Tholozan et al., 1997**). Ainsi, aux USA, entre 1990 et 2000, on a répertorié 66 épidémies impliquant 3299 cas dues à l'ingestion de mollusques bivalves (**Smith DeWaal et al., 2001**). Entre 2000 et 2004 au Maroc, 7 118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés dont plus de 86% sont d'origine bactérienne (**Cohen et al., 2006**).

7. Les risques liés à la consommation des coquillages

Les mollusques marin particulièrement les bivalves (moules, huîtres, coquilles Saint-Jacques et *Donax trunculus*...etc.) ont une grande capacité de filtration (**Smith et al., 2001** ;

Potasman et al., 2002). En effet, pour satisfaire leurs exigences nutritionnelles et respiratoires (**Rowse et Fleet, 1984**). Ils filtrent l'eau de mer et concentrent les particules, les toxines et les microorganismes présents dans leur environnement (**Hackney et Dicharry, 1988**). En une heure, un seul bivalve peut filtrer jusqu'à 300 fois son poids d'eau. Cette technique d'alimentation expose davantage les mollusques à l'accumulation des polluants. Dont, les bivalves joueraient un rôle prépondérant dans la transmission de diverses affections, tel que la fièvre typhoïde et paratyphoïde, le cholera et l'hépatite virale de type A (**Livingstone et Gallacher, 2003**).

8. La surveillance de l'eau

En raison l'augmentation de la consommation des produits de la mer et notamment des produits crus (**Tantillo et al., 2004**), avec l'évolution actuelle de la réglementation sanitaire concernant ces produits. Une surveillance bactériologique des produits de la pêche est nécessaire pour prévenir les infections d'origine alimentaire, et nécessite l'emploi de méthodes d'analyses de bactériologie alimentaire fiables et standardisées. Or il n'existe pas aujourd'hui de méthode de référence réellement efficace pour la recherche et le dénombrement des bactéries dans les aliments. Par ailleurs, l'utilisation des tests biochimiques ne permet pas toujours l'identification de l'espèce et il est souvent nécessaire de recourir aux techniques moléculaires (**Hirsch, 2002**).

Cette surveillance repose sur l'utilisation d'organismes marins comme bio-indicateurs, vu leur capacité à concentrer les contaminants (**RMM, 2007**).**n'existe pas**
L'espèce *Donax trunculus* est largement distribué le long de la côte méditerranéenne et fréquemment utilisé dans les études de pollution marine (**Gaspar et al., 1999 ; Moukrim et al., 2004 ; Usero et al., 2005; Beldi et al., 2006; Sifi et al., 2007**). De plus, cette espèce existe dans des densités plus élevées dans les plages sableuses le long du golfe d'Annaba en Algérie (**Degiovanni et Moouza, 1972**) et consommé par la population locale (**Beldi et al., 2006**).

9. L'espèce bio-indicatrice

La bio-surveillance de la qualité de l'environnement est fondée sur l'implication des bioindicateurs qui sont des organismes ou des groupes d'organismes utilisés pour déterminer

la présence, l'abondance et la biodisponibilité des contaminants de l'environnement par l'intermédiaire des concentrations mesurées dans ces organismes pris dans leur totalité dans un ou plusieurs organes et tissus (**Chambost et Manciet, 2002**). Un bio-indicateur doit :

- Etre identifiable facilement et sans ambiguïté au rang de l'espèce et être une espèce dont la biologie et l'écologie sont bien connu.
- Etre abondant et largement distribué,
- Etre facile à récolter et à manipuler;
- Avoir une durée de vie suffisamment longue
- Etre de taille suffisante pour fournir la quantité de tissus nécessaire pour les analyses individuelles;
- Etre résistant au stress du fait de la manipulation au cours de la récolte ou en laboratoire;
- Etre intégrer les caractéristiques environnementales du site de prélèvement
- Etre de bon bioaccumulateur des contaminants. (**Phillips, 1980; Bryan et al., 1985**).

10. L'importance alimentaire des bivalves

Dans de nombreuses parties du globe, les produits de la pêche constituent la première source de protéines animales pour les populations. Ces produits renferment les poissons et les bivalves (**Glatman et al., 2000 ; Gelman et al., 2001 ; O'Sullivan et al., 2002 ; Dortu et al., 2009**). En 2000, il a été produit dans le monde 130 millions de tonnes de poissons et de fruits de mer (**FAO, 2002**).

Les mollusques bivalves sont des produits grand public (**Reddy et al., 2007**). Ce sont des aliments consommés souvent crus (huîtres) ou peu cuits (moules) (**Smith et al., 2001 ; Potasman et al., 2002**). Ils jouent un rôle important dans l'équilibre de l'écosystème et constituent une ressource commerciale importante dans beaucoup de pays (**McLachlan, 1996**). Leur importance dans la chaîne alimentaire aquatique est démontrée dans plusieurs études (**Gaspar et al., 1999 ; Moukrim et al., 2004; Usero et al., 2005; Beldi et al., 2006; Sifi et al., 2007**).

III. LES MOLLUSQUES BIVALVES

Les mollusques forment un vaste embranchement du règne animal qui renferme toutes les espèces à corps mou, majoritairement aquatiques. Les mollusques peuplent surtout, les mers et les océans, mais il existe aussi des espèces d'eau douce. Certains vivent dans le milieu terrestre. On en connaît environ 70 000 espèces, mais leur nombre total est compris entre 100 000 et 200 000 espèces. Ils jouent un rôle non négligeable dans les chaînes alimentaires (**Spadem et Adagp, 1972**).

Le phylum des mollusques est généralement considéré comme un groupe monophylétique. Néanmoins, cette position a été récemment contestée (**Bourlat et al., 2008**). On distingue actuellement huit classes : Caudofoveata, Solenogastres, Monoplacophora, Scaphopoda, Polyplacophora, Gastropoda, Cephalopoda, et Bivalvia (**Haszprunar et al. 2008**). La science qui traite les mollusques se nomme la malacologie et celle qui traite uniquement des coquillages, la conchyliologie.

Les bivalves sont des mollusques aquatiques d'eau douce et d'eau de mer, nommée aussi, Pelecypoda ou Lamellibranchia. Cette classe comprend notamment les palourdes, les huîtres, les moules, les pétoncles et de nombreuses autres familles de coquillages comme les Veneridae et les Donacidae. Leur corps aplati latéralement est recouvert d'une coquille constituée de deux parties distinctes et plus ou moins symétriques (**Spadem et Adagp, 1972**). Bien caractérisée par la présence d'une coquille calcaire composée de deux valves mobiles autour d'une charnière, qui sert de protection au corps de l'animal qui est segmenté et présente trois régions principale la tête, le pied et la masse viscérale.

Les bivalves colonisent les milieux marins et les eaux douces. Ils vivent soit fixés sur un substrat dur (huîtres, moules), soit enfouis ou à la surface des substrats meubles (coquille Saint-Jacques, palourde, coque, praire) (**Gouletquer P, 1997**). Ils sont nécessairement en accord de leurs exigences physiologique fondamentales: comme la respiration et leur mode d'alimentation qui les obligent à vivre dans les eaux (**Spadem et Adagp, 1972**).

Leur mode d'alimentation se base sur la filtration, de quantités de matières particulaires. Les bivalves 'filtreurs' sont capables de refléter la contamination des métaux présents sous forme dissoute et particulaire (sédiments, phytoplancton, matières en suspension) (**Davenport, 1979**). Généralement, les bivalves ont des sexes séparés et rejettent leurs gamètes dans le milieu extérieur où a lieu la fécondation (**Turgeon et al., 1998**). Leur cycle de développement est réparti en plusieurs stades: phase de repos sexuelle, phase de développement, phase de maturité, et phase de ponte.

1. *Donax trunculus*

Le *Donax trunculus* (**Linnaeus, 1758**) est un mollusque bivalve marin, appartient à la famille des Donacidae (**Fig.1**). Il est connue sous l'appellation de telline et désigner par les pêcheurs « haricot de mer ». Ce petit coquillage de 2 à 5 cm, menu d'une coquille de couleur blanc jaunâtre ou brunâtre, peut être orné de bandes concentriques et de rayons plus ou moins violacés à l'extérieur et blanc souvent maculé de violet à l'intérieur (**Fig.2**). Il présente une ressource alimentaire commerciale importante dans beaucoup de pays (**McLachlan, 1996**).

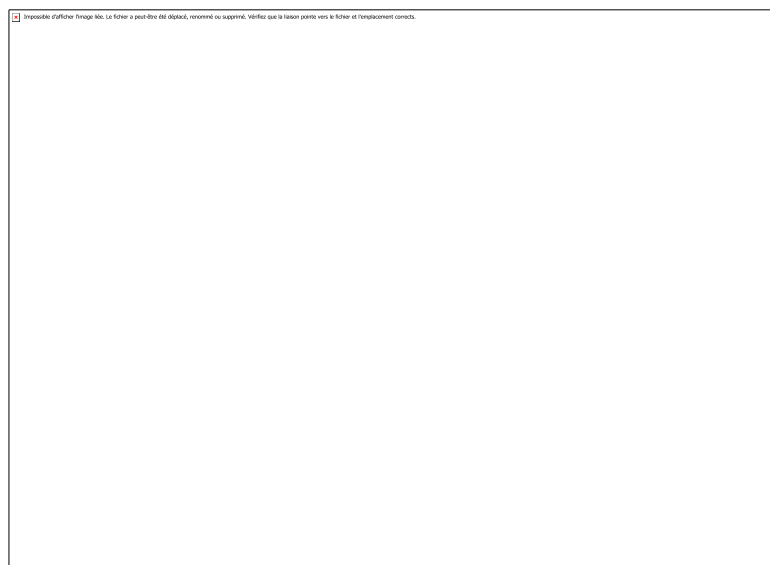


Figure 01: *Donax trunculus*



(A)

(B)

Figure 02: Morphologie externe (A) et interne (B) de la coquille de *D. trunculus*.

2. Description de l'espèce

2.1 Morphologie externe

Ce bivalve présente une symétrie bilatérale, constitué de trois parties (**Fig. 3**):

- La tête qui porte les yeux.
- Le pied qui est une masse musculaire ventrale a fonction locomotrice.
- La masse viscérale dorsale recouverte par le manteau qui entoure la cavité palléale et qui donne la coquille. (**Bougis, 1976; Grimes, 1994**).

A l'arrière, entre la masse viscérale et le manteau se trouve la cavité palléale ou s'ouvrent l'anus, les organes excréteurs et les conduits génitaux.

La surface externe des valves est assez brillante, entièrement blanche, ou avec une coloration variable sur fond blanc, la plupart du temps claire. Quant à la coloration interne, elle peut être entièrement blanche ou plus au moins maculée de violet ou de brunâtre (**Poutier, 1978**) (**Fig.3**).

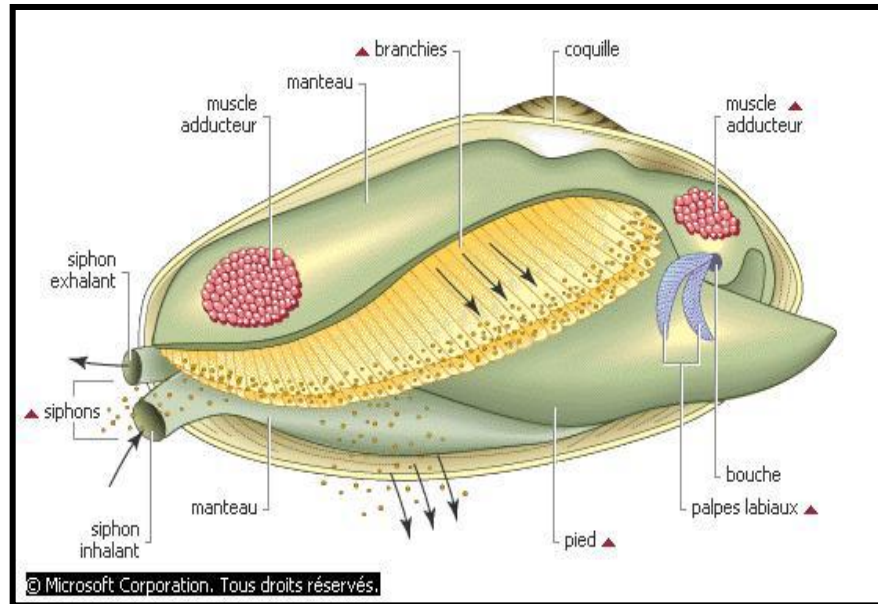


Figure 03: Anatomie externe

2.2 Morphologies interne

L'ensemble des bivalves sont des invertébrés qui ne possèdent pas de squelette interne (Edouard & Christian, 1992) (Fig.4).

▪ Le tube digestive

Ils possèdent deux orifices : la bouche et l'anus.

- La cavité buccale (pharynx) où débouchent les glandes salivaires comporte une radula chitineuse à nombreuses dents.
- Avec l'estomac, on observe une glande très volumineuse: l'hépatopancréas (sécrétion d'enzymes digestives et stockage de produits de réserve)
- L'intestin : court, se termine à l'anus (Edouard et Christian, 1992).

▪ Le système nerveux

- Le "crâne" de nature cartilagineuse, protège un véritable centre nerveux qui comprend:
 - vers le haut, les ganglions cérébroïdes avec le nerf optique.
 - vers le bas et l'avant, les ganglions pédieux (avec les nerfs des tentacules et l'entonnoir).

- vers le bas et vers l'arrière, les ganglions pleuro-viscéraux auxquels se rattachent les nerfs palléaux (ganglions étoilés) et les nerfs Viscéraux.

- **L'appareil circulatoire**

Il comprend un vaisseau dorsal dont une partie est différenciée en un organe contractile, le cœur.

- Le cœur, logé dans le péricarde (reste du coelome) est formé d'un ventricule et de deux oreillettes ou chaque oreillette reçoit le sang oxygéné de la branchie par une veine branchiale.
- Du ventricule partent une ou deux artères aortes.
- Le sang renferme un pigment respiratoire à base de cuivre: l'hémocyanine.

(Edouard et Christian, 1992)

- **L'appareil respiratoire**

Il est constitué selon les espèces une ou deux branchies lamelleuses couvertes de cils vibratiles filtrant les particules en suspension dans l'eau, grâce à deux tubes: le siphon inhalant et le siphon exhalant qui respectivement aspire et rejette l'eau (Doumenc, 1993).

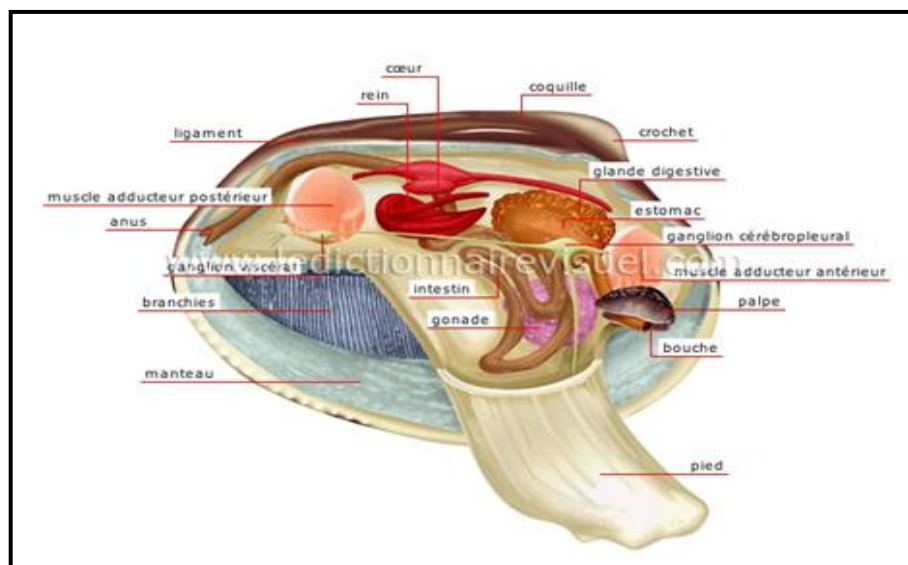


Figure 04: Anatomie interne.

3. Ecologie et biologie

3.1 Ecologie

Les bivalves du genre *Donax* sont d'importants constituants de la macrofaune superficielle des plages de sable fin (**Ansell, 1983**).

C'est une espèce comestible, sédentaire qui vit en bordure de mer, sous quelques centimètres de sable mouillé. Cette espèce se rencontre dans les zones Méditerranéenne, Lusitanienne, Mauritanienne, Indopacifique et Sénégalienne. Ils sont des animaux adaptés à un fouissage rapide et peu profond en milieu sableux plus ou moins agité (**Degiovanni et Mouëza, 1972**). Cette espèce habite les environnements fortement énergiques sur les plages sablonneuses où elle est exposée aux rythmes de marée, à l'action intense de vague et à l'instabilité de sédiment (**Brown et McLachlan, 1990**).

Dans ces environnements, les populations de *D. trunculus* sont capables d'atteindre des très fortes densités (**Gaspar et al., 1999 ; Wilson, 1999**). En effet, cette espèce fouisseuse, présente une grande capacité de résistance aux variations des facteurs physico-chimiques du milieu dans la mesure où ces variations ne sont pas trop brutales (**Marobin et al., 2007**). Ce taxon peuple les zones de déferlement des vagues (**Degiovanni et Mouëza, 1972**). Dans le golf d'Annaba, la présence abondante de *D. trunculus* est signalée sur un sédiment de sable fin terrigène entre 5 et 7 m, et sur un fond vaseux de 20 m (**Degiovanni et Mouëza, 1972**) et dans plusieurs endroits de ce golf (El-Battah, El chatt et Sidi Salem...ect.) (**Beldi, 2007**).

3.2 Biologie

▪ Nutrition

Les tellines sont des organismes ayant une éthologie alimentaire de type suspensivore, se nourrissant de phytoplancton. (**Mouëza et Chessel, 1976 ; Mouëza et Frenkiel, 1973**) a montré que *D. trunculus* filtre ainsi les particules de matière organique en suspension les plus fines, là où l'hydrodynamisme favorise la présence des particules en suspension empêchant la sédimentation rapide de la matière organique.

Les particules nutritives sont acheminées vers la bouche tandis que les particules non sélectionnées sont éliminées sous forme de pseudo-fèces par le siphon exhalant.

4. Reproduction et développement

4.1 Cycle de vie

C'est une espèce gonochorique (**Fisher et al., 1987**). Cette espèce présente des sexes séparés, qui peuvent se distinguer durant la période d'activité sexuelle par la coloration de la gonade. Cette dernière se trouve au dessus du pied (**Lucas, 1965**), elle apparait bleu intense chez les femelles à produit sexuel bleu granuleux, jaunâtre ou blanchâtre chez les mâles à produit sexuel blanc et visqueux (**Gaspar et al., 1999**). Ils deviennent reproducteurs à une taille de 15 à 16 mm (**Rarnon, 1993**).

La fécondation est externe, les gamètes sont expulsées à travers le siphon exhalant (**Mouëza, 1971**). L'œuf se développe dans l'eau (**Elston, 1990**). Il donne naissance à des larves véligères qui sont des organismes planctoniques de quelques dixièmes de millimètres (**Carriker, 1961 ; Kennedy, 1996**), capables de nager grâce à une couronne de cils appelée le velum (**Elston, 1990**).

Les larves mènent une vie planctonique libre peut être quelques jours ou quelques semaines (**Cassier et al., 1967; Mouëza, 1971**). Lorsqu'elle est entraînée vers des fonds propices à son développement, elle se fixe sur le substrat et entame sa métamorphose jusqu'au stade juvénile (**Fig.5**). Seule une petite fraction des larves produites trouvera un substrat pour s'installer (**Carriker, 1961 ; Kennedy, 1996**). Une fois fixé, l'animal ne quitte plus son site de fixation, le velum se résorbe, la plupart des tissus et des organes se réorganisent donnant l'adulte avec un cœur, des reins, des branchies, des gonades (**Gouletquer, 1997**).

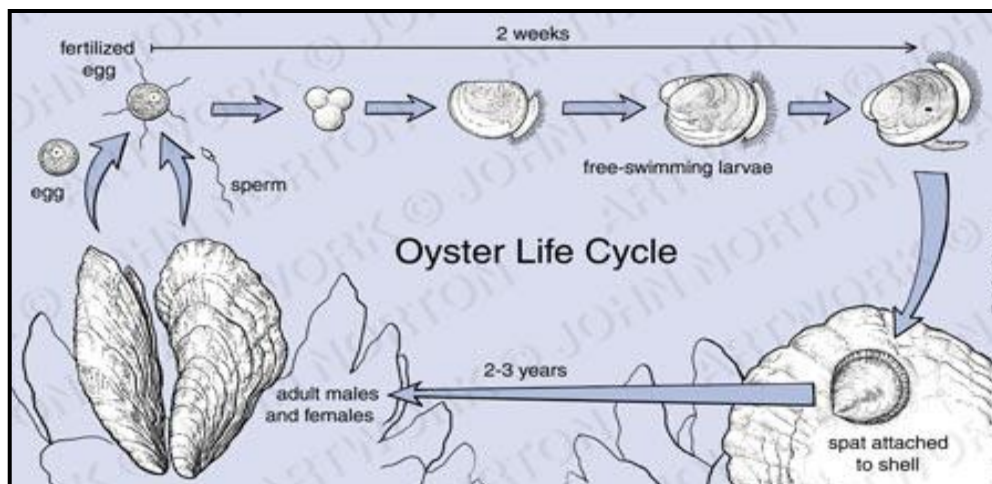


Figure 05: Cycle de vie des bivalves

4.2 Cycle de reproduction

Le cycle de reproduction présente d'importantes variations (**Mouëza, 1971**), il est déclenché par des facteurs tels que le bloom phytoplanctonique ou la présence dans l'eau des gamètes d'individus de la même espèce (**Gouletquer, 1997**). La période d'activité sexuelle présente une période de repos durant l'automne et l'hiver et une période d'activité qui débute au printemps et qui se termine en été (**Mouëza, 1971; Aouadene, 2003 ; Amira, 2008 ; Hamdani et Soltani, 2011 ; Hamdani, 2013**).

D'après, la période de repos de cette espèce sur la côte algéroise s'étale de Novembre à Janvier (**Mouëza, 1971**). Durant cette période, l'individu augmente de poids par accumulation de réserve dans le tissu somatique (**Bayed, 1990**). Quand à la période d'activité, elle est comprise entre Février jusqu'à Septembre (**Mouëza et Frankiel, 1973 ; Ansell et al., 1980**). D'après **Neuberger et al. (1990)** *D. trunculus* se reproduit à la fin de l'été avec un pourcentage des individus juvéniles dans la population augmente considérablement.

IV. MATERIEL ET METHODES

1. .Présentation de la zone d'étude

Le golfe d'Annaba est situé à l'extrême Est de l'Algérie, il est limité par les deux caps : cap Rosa à l'Est ($8^{\circ}15'$ E, $36^{\circ}58'$ N) et cap de Garde à l'Ouest ($7^{\circ}16'$ E, $36^{\circ}68'$ N), distant d'environ 40 Km l'un de l'autre avec une profondeur maximale qui ne dépasse pas 65 m. Le golfe reçoit les eaux douces par le biais de deux oueds : l'oued Mafragh à l'Est et Seybouse au Sud-Est, dont le débit est très irrégulier suivant les saisons. Ces oueds apportent des matières minérales et organiques de différentes origines terrigène, agricole, domestique et industrielle (Khelifi *et al.*, 2006 ; Ounissi, 2007). De plus, la zone reçoit d'autres rejets des effluents urbains (Khammar, 2007) et industriels de plusieurs usines localisées sur la côte, en particulier les produits phytosanitaires de FERTIAL près de la rive au Sud du golfe (Saker, 2007) (Fig.06).

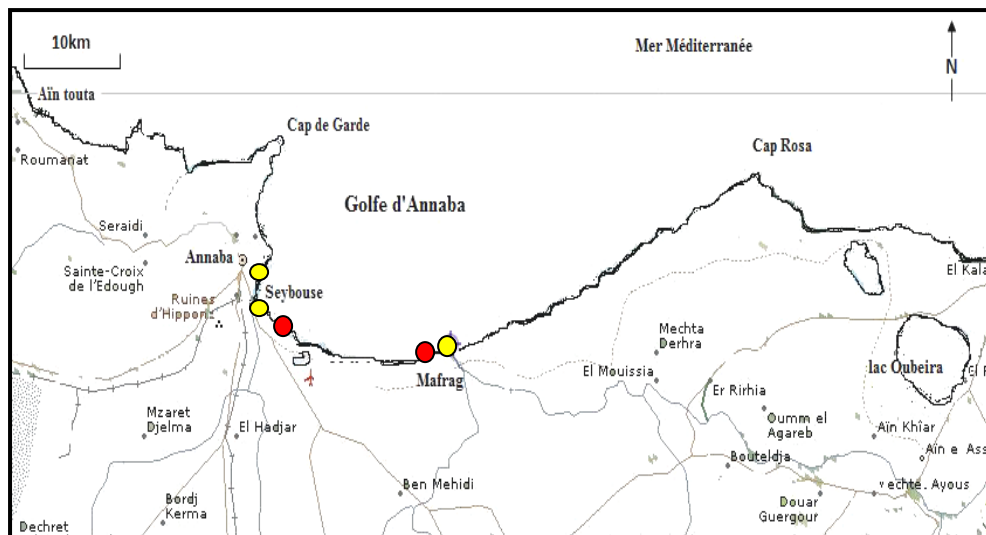


Figure 06: Carte montrant la localisation des sites de prélèvement le long du golfe Annaba (● : les sites Sidi Salam et El-Bettah, ● : El-Oued Seybouse, Mafragh et Bendjâa)

1.1 Choix des sites

Le choix des sites étudiés a été basé sur l'abondance de l'espèce *Donax trunculus* au niveau des sites d'échantillonnage et de leur emplacement par rapport aux différents rejets de la source de pollution (rejets des oueds et des zones industrielles). Deux sites de prélèvement de *D. trunculus* ont été choisis, de l'Est vers l'Ouest (Fig.6).

- **Site d'El-Bettah**

Le site se trouve à (36° 50' N et 8° 50' E), il a été choisi au niveau de la baie d'Annaba pour le prélèvement des échantillons en raison d'une forte abondance de l'espèce utilisée et de son éloignement des agglomérations populaires. Ce site est soumis à un régime hydrodynamique important qui contribuerait à la dilution des polluants (**Fig.6**).

- **Site de Sidi Salem**

Est situé dans le golf d'Annaba, au niveau du littoral Est algérien. Le golf est limité à l'Est par le Cap Rosa (8°15 LE et 36°58 LN) et à l'Ouest par le Cap de Garde (7°16 LE et 36°58 LN). La distance séparant les deux caps est d'environ 40 km. La plage de Sidi Salem se trouve à mi-distance entre les deux caps. Elle est caractérisée par l'embouchure de l'oued Seybouse et l'existence de cône évacuant les déchets du complexe ASMIDAL spécialisé dans la fabrication d'engrais et de produits phytosanitaires (**Attoum et al., 2001**) (**Fig.07**).



Figure 07 : Image satellitaire montrant le site : Sidi Salem

2. Choix et présentation de l'espèce étudiée (*Donax trunculus*)

Les mollusques, en particulier les bivalves, sont des modèles d'intérêt (**Rittschof et McClellan-Green, 2005**). Les mollusques bivalves tels que *Donax trunculus* sont communs et souvent abondants dans les sites choisis. L'espèce *D. trunculus* représente un produit alimentaire très important pour la population locale. Elle possède les caractéristiques d'un bio-indicateur: une taille suffisante pour réaliser des analyses, faciles à échantillonner, un large

distribution, une vie sédentarité et un mode de nutrition de type suspensivore font de lui un excellent bio-indicateur de toutes sorte de contamination, la contamination organique et métallique (Cossa, 1985) et exceptionnellement bactériologique.

2.1 Position systématique

La position systématique est la suivante:

Embranchement: Mollusques.

Classe: Bivalves.

Sous classe: Eulamellibranches.

Super ordre: Hétérodontes

Ordre: Veneroida

Famille: Donacidae

Genre: *Donax*

Espèce: *trunculus*.

2.2 Intérêt de l'espèce

Dans de nombreuses parties du globe, les produits de la pêche constituent la première source de protéines animales pour les populations. Ces produits renferment les poisson et les bivalves (Glatman *et al.*, 2000 ; Gelman *et al.*, 2001 ; O'Sullivan *et al.*, 2002 ; Dortu *et al.*, 2009). Au Sénégal, la pêche maritime fournit environ 90 % La pêche est la première source de devises devant le tourisme et constitue de ce fait un secteur vital pour le pays. L'Europe est la principale destination des produits de la pêche sénégalaise. Elle absorbe à elle seule environ 52 % des exportations (DOPM, 2004). En 2003, la production totale de poissons maritimes est estimée à 444111 tonnes, tandis que les exportations s'élèvent à 95675 tonnes, soit 21,5 % de la production totale. La moyenne nationale de la consommation de poisson par habitant est estimée à 28,1 kg par an, loin devant la viande (17,1 kg par an) (FAO, 2004).

Les mollusques bivalves sont des produits grand public (Reddy *et al.*, 2007). Ce sont des aliments consommés souvent crus (huîtres) ou peu cuits (moules et les fruits de mer) (Smith *et al.*, 2001; Potasman *et al.*, 2002). Ils jouent un rôle important dans l'équilibre de l'écosystème et constituent une ressource commerciale importante dans beaucoup de pays (McLachlan, 1996). Leurs importance dans la chaîne alimentaire aquatique est démontrée

dans plusieurs études (**Gaspar et al., 1999 ; Moukrim et al., 2004 ; Usero et al., 2005 ; Beldi et al., 2006 ; Sifi et al., 2007**).

3. Récolte de l'espèce

L'espèce bivalve utilisée dans la présente étude est le *Donax trunculus*. Un échantillonnage réalisé dans les deux sites (El-Bettah et Sidi Salem) durant le mois de février 2017. La récolte a été effectuée à la main à raison de 50 individus par site. Les échantillons sont immédiatement transportés dans des portes mangées stériles en plastique, puis les transporter dans une glacière à température comprise entre +2 et 15°C jusqu'au laboratoire pour être triées sans dépasser 24 heures. L'analyse bactériologique nécessite une étape de préparation.

4. Préparation de l'échantillon

Prendre des individus encore vivants et non endommagés, puis les rincés avec de l'eau potable. Ensuite, se laver les mains avant d'ouvrir les coquilles à l'aide d'un couteau stérile. Après ouverture, le contenu entier (chair et liquide intervallaire) est recueilli dans des tubes de 10 ml contenant du tryptone-sel SDP l'ensemble est émergé dans un bac contenant de la glace. La préparation est soumise au broyage par un broyeur homogénéisateur, Ultra-Turrax, préalablement stérile. Finalement, centrifugé (15000 tr/mn pendant 30secondes) pour obtenir un broyat homogène considéré comme la solution mère 1/3 de l'échantillon à tester (**OMS, 1983**).

5. Analyse bactériologique des l'échantillon (*D. trunculus*):

L'analyse des échantillons de bivalves doit se faire dans les heures qui suivent la récolte, afin d'éviter une prolifération et une modification de la communauté bactérienne. Aucun échantillon ne doit être conservé pendant plus de 24h (**Delarras, 2000**). Les analyses bactériologiques effectuées à partir de la solution mère 1/3 sont les suivantes: dénombrement des Coliforme fécaux et Streptocoque fécaux et la recherche des germes pathogènes: Vibrions, *Salmonella*, Staphylocoque et *E. coli*.

5.1 Contrôle de routine

5.1.1 Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux

▪ Les Coliformes totaux

Ce sont à des bactéries de forme bâtonnet, non sporogones, gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaries ou d'autres agent de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C.

▪ Les Coliformes fécaux

Les Coliformes fécaux, ou Coliformes thermo-tolérants, sont un sous-groupe des Coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli*.

Afin d'examiner l'existence ou l'absence des individus de ce groupe on réalise les deux tests suivants:

a. Test présomptif

A partir de la solution mère, on porte aseptiquement:

- Ajouter 1ml, dans 05 tubes contenant 10 ml de VBL muni d'une cloche de Durham, conforme aux normes NF T 90-413, ISO 4831 et ISO 3811.
- Lire à près 48 heures d'incubation à 37 et sans être en contact avec l'air, seront considérés comme positifs les tubes qui présentent à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage de couleur vers le jaune et un dégagement gazeux se considèrent comme positifs.

Le dénombrement des Coliformes se réalise selon les prescriptions de la table du NPP.

b. Test confirmatif

Les tubes de VBL qui montrent un résultat positif après le test de présomption font l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu eau peptonée exemple d'indole, l'incubation se fait à 44°C pendant 24 heures.

- La lecture des tubes qui présentent à la fois un anneau rouge à la surface (témoin de la production d'indole par *Escherichia coli*), après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs et un dégagement gazeux se considère comme positif. Le dénombrement s'effectue selon les prescriptions de la table du NPP. **(Fig.08)**.

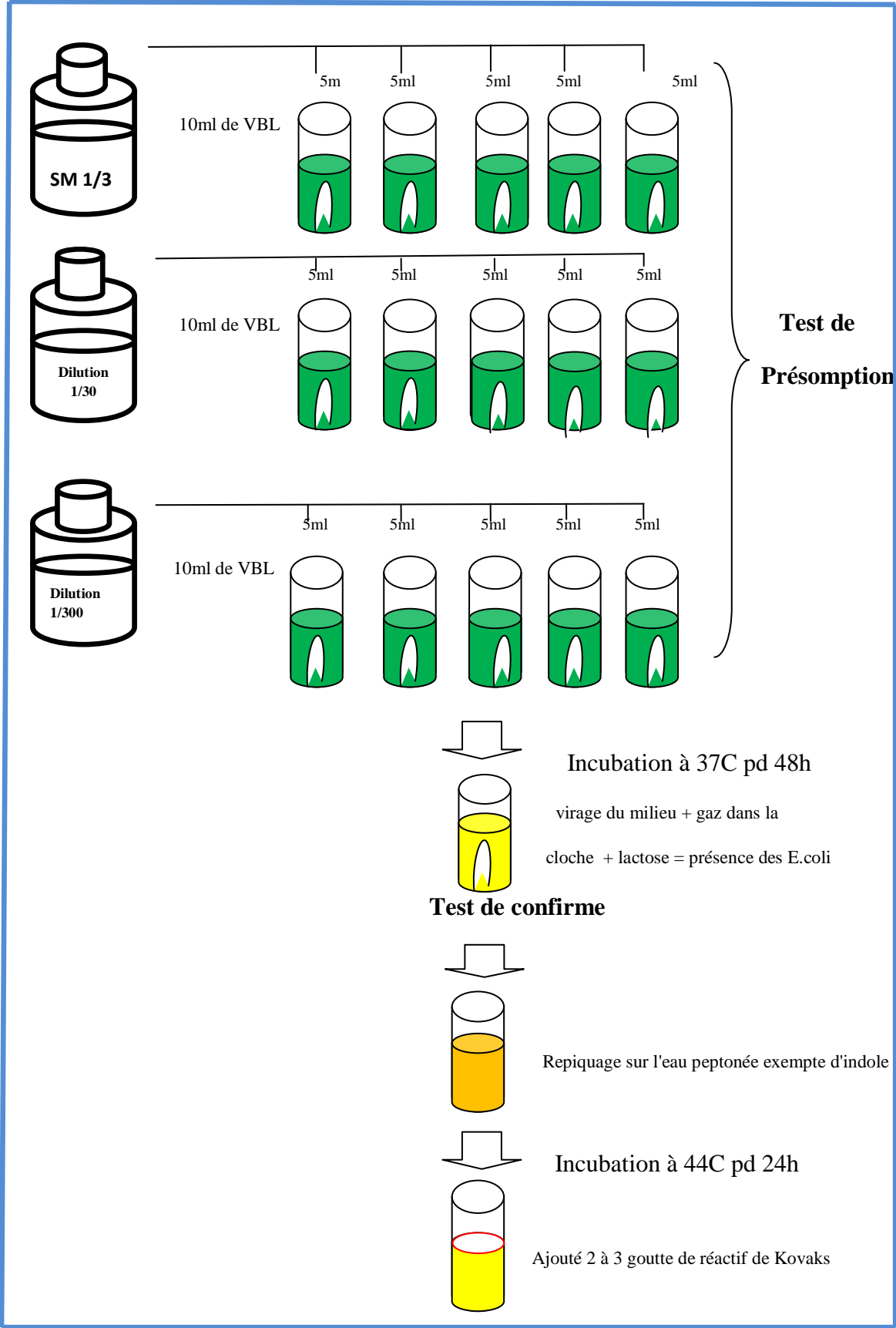


Figure 08: Recherche des *E. coli*.

5.1.2 Recherche des Salmonelles

Ce sont des bacilles à Gram(-), non sporules, le plus souvent mobiles, elle fermente le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrite, elles sont oxydase (-), catalase(+) et aérobie – anaérobie facultative (Souana, 2011).

Parmi les Entérobactéries on a choisi les Salmonelles pour les étudier. Ces dernières se présentent sous forme de bacilles à Gram (-), lactose (-), qui fermentent le glucose avec production de gaz et de H₂O (Aberkane *et al.*, 2011). Ce type de germe peut être recherché et dénombré dans le milieu de culture de gélose SS.

➤ Mode opératoire

1^{er} jour (Pré-enrichissement)

Introduire 5ml de l'homogénéat de solution mère 1/3 dans 5 ml d'eau peptone puis incubé à 37°C pendant 16-24 h (Navoun, 2005).

2^{ème} jour (Enrichissement)

Introduire 2ml de la culture précédente dans un tube contenant 20 ml de bouillon au sélénite-cystine, conforme aux normes ISO 6579, NF V08-052 (Delarras, 2000).

3^{ème} jour (Isolement et identification)

La gélose sélective est utilisée: gélose SS qui sont ensemencées par technique de quadrant puis incubées à 37°C (Navoun, 2005).

➤ Lecture des boîtes et identification

Après 24 heures, des Salmonelles se présentent sous forme des colonies incolores à centre noir (H₂S positif) sur SS.

Purifier les souches qui apparaissent puis incubé à l'Api20E pour l'identification.

Conclure sur la présence ou l'absence de *Salmonella* dans 25 g de chair et de liquide intervallaire. (Fig.09).

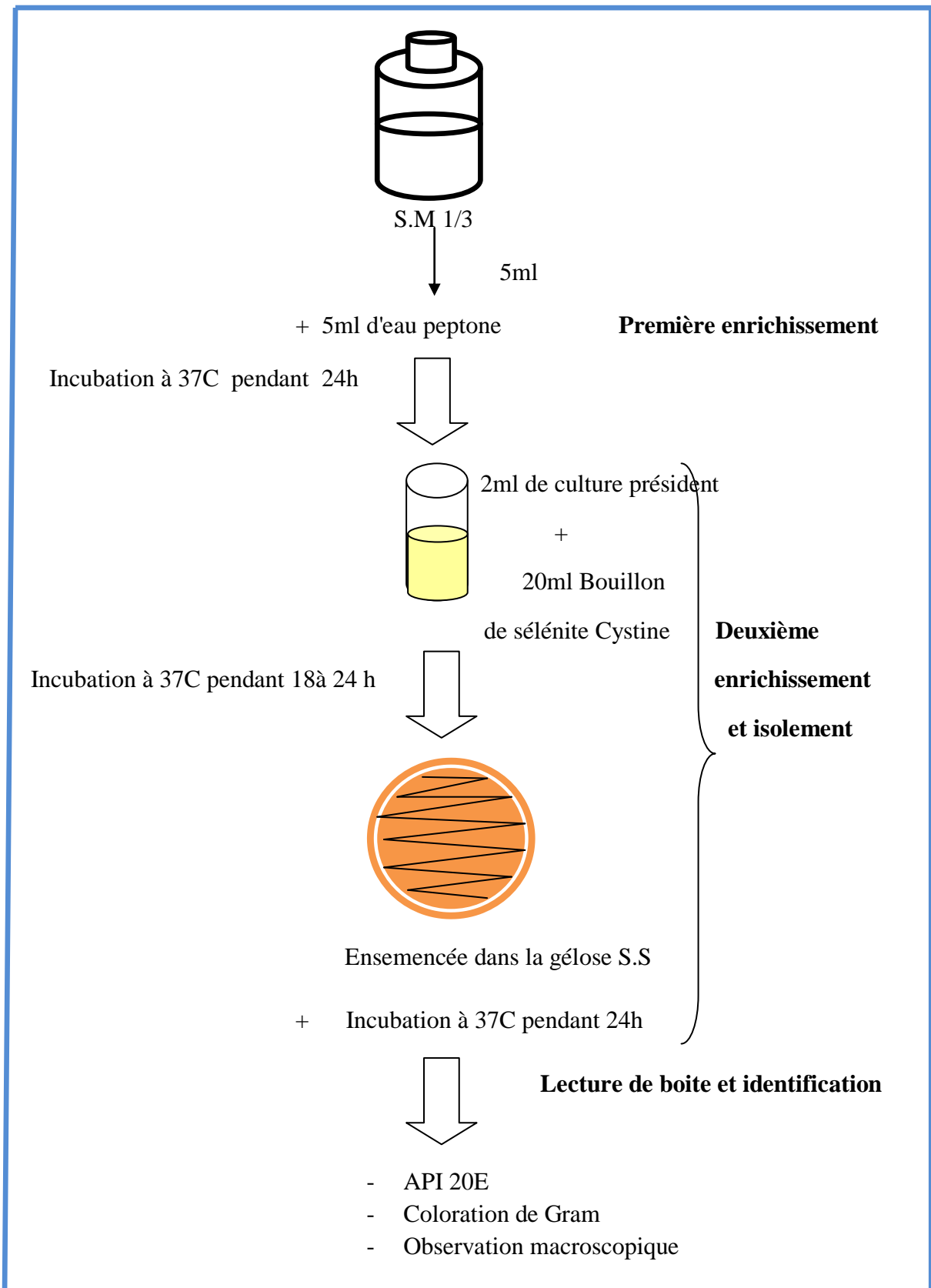


Figure 09: Recherche des Salmonelles.

5.1.3 Recherche des Vibrions

Les Vibrions se présente sous forme de bacilles a Gram (-) droite ou incurves (BGN) très mobile, possédant une oxydase, aèro-anaérobies facultatifs, elle fermente le glucose avec ou sans production de gaz ni d'H₂S (**Abess et Tabet, 2014**).

➤ Mode opératoire

1^{er} jour (Enrichissement)

Le premier enrichissement s'effectuer dans des tubes contenant 5ml de l'eau peptonée salée alcaline(EPA) à double concentration puis incubé à 37°C pendant 18-24 heures.

2^{ème} jour (Isolement)

L'isolement se réalise sur la gélose GNAB, conforme aux normes NF V 45-111 et NF ISO 8914 suivie d'une incubation à 37°C durant 24h.

➤ Lecture des boîtes et identification

Les boîtes de gélose GNAB subiront une lecture en tenant compte du fait que Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparent caractéristique (identification morphologique et biochimique).

Sur GNAB: les colonies sont rondes, plates, bord réguliers, surface lisse brillantes, translucides sous forme de goutte de rosées. Une identification morphologique basée essentiellement sur l'état frais et la coloration de Gram. Ensemencement d'une galerie biochimique classique ou bien de la galerie API20 E (**Fig.10**).

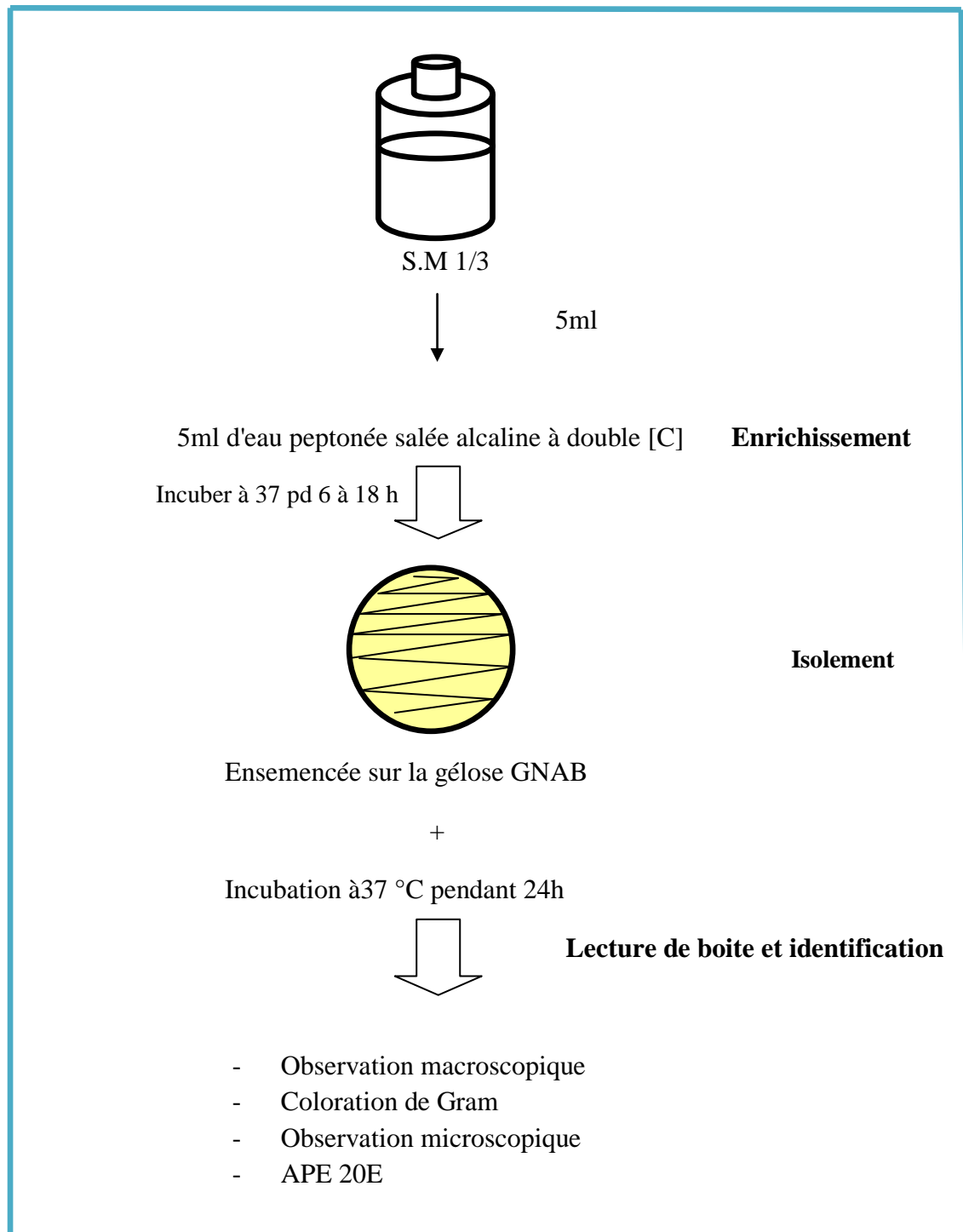


Figure 10: Recherche des Vibrions.

5.1.4 Recherche des Staphylocoques

Les Staphylocoques sont des cellules sphérique de 0.5 à 25 μm , généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores et habituellement non capsulés. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (Leclerc *et al.*, 1995).

➤ Principe

Le milieu Chapman est un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles. Ce milieu contient un agent inhibiteur (forte concentration en chlorure de sodium) parmi à ces germes figurent au premier rang des bactéries du genre Staphylocoques.

➤ Mode opératoire

- A partir de la solution mère, on ensemence 0,1 ml par râteau toute la surface des boîtes des Pétri contenant le milieu Chapman.
- A partir de la solution de la dilution 1/30 on ensemence 0,1 ml par râteau toute la surface des boîtes des Pétri contenant le milieu Chapman. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48h.

➤ Lecture

- Ce milieu reste rouge, les colonies sont mannitol (-) car elle ne fermente pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.
- Si le milieu devient jaune, les colonies sont mannitol (+) car elle fermente le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

Les colonies suspectes sont confirmées par un examen microscopique après coloration de Gram. (Fig.11).

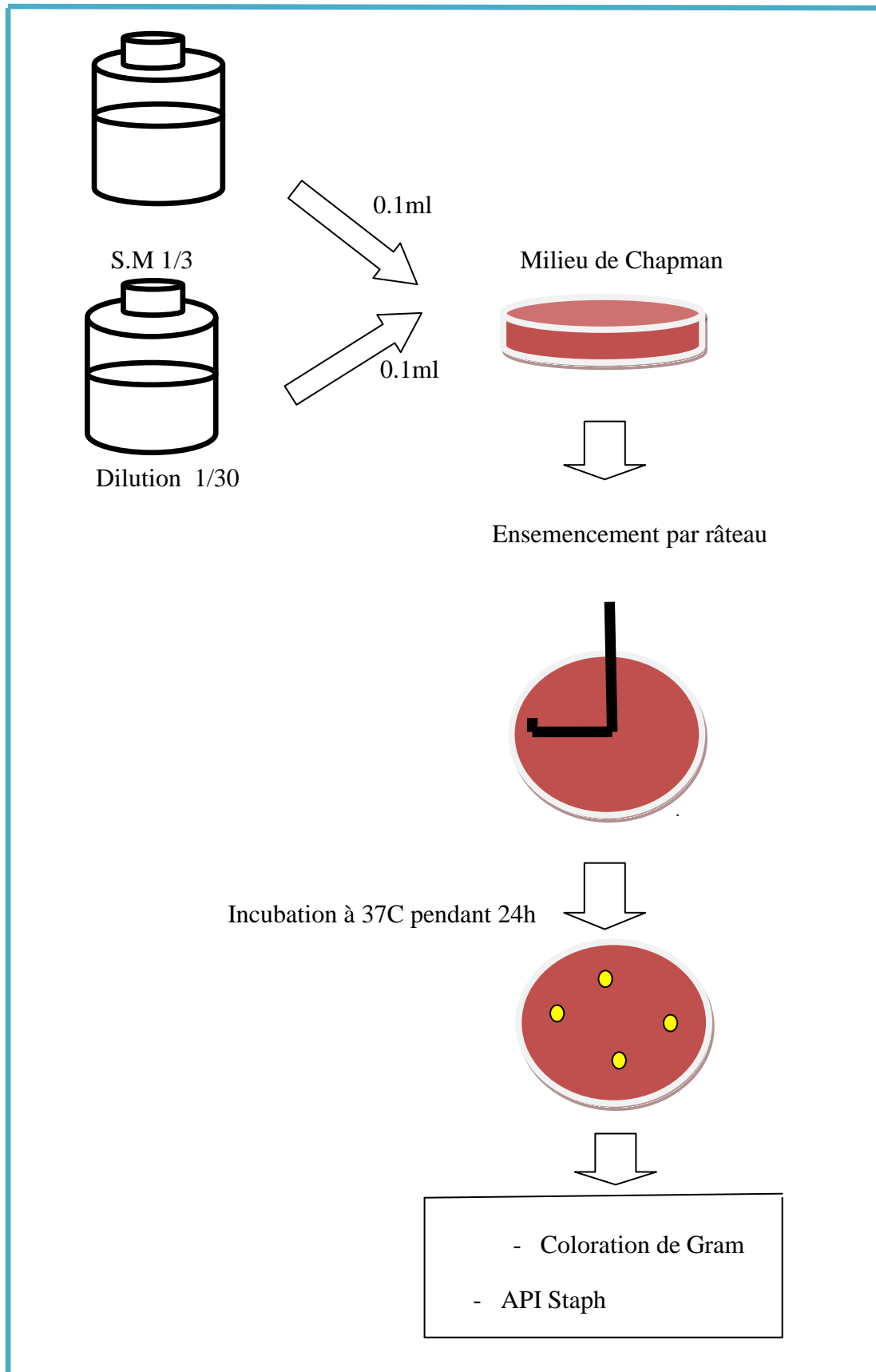


Figure 11: Recherche des Staphylocoques.

5.1.5 Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

Les Streptocoques du groupe D (possèdent l'antigène du groupe D) sont des cocci à Gram (+), catalase (-), immobile, anaérobie facultatif, et non sporulant formant quand ils sont cultivés en milieu liquide des diplocoques et / ou chainettes.

On réalise deux tests successivement: un test présomptif en milieu de Rothe, et un test confirmatif en milieu Eval-litsky. L'incubation dans les 2 tests se fait en 37°C pendant 2 à 48h (**Manuel de Bergey, 1984**).

a. Test présomptif

➤ Mode opératoire

- Préparer une série de 03 dilutions (1/30, 1/300 et 1/3000) dans 3 tubes contenant 9 ml de Tryptone sel à partir de la suspension mère au 1/3.
- Prélever 1ml de dilution 1/30 et mettre dans 03 tubes contenant 9ml de milieu Rothe s/c.
- Prélever 1ml de dilution 1/300 et mettre dans 03 tubes contenant 9ml de milieu Rothe s/c.
- Prélever 1ml de dilution 1/3000 et mettre dans 03 tubes contenant 9 ml de milieu Rothe s/c.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

➤ Lecteur

Les tubes présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs et la lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP.

b. Test confirmatif

➤ mode opératoire

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques du groupe éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes due Rothe trouvés positif feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans un tube contenant le milieu Eva-Lisky, bien mélangé le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait cette fois ci à 37°C, pendant 24 heures.

➤ **Lecture**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois:

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube
- La lecture finale s'effectue selon les prescriptions de la table du NPP. **(Fig.12)**.

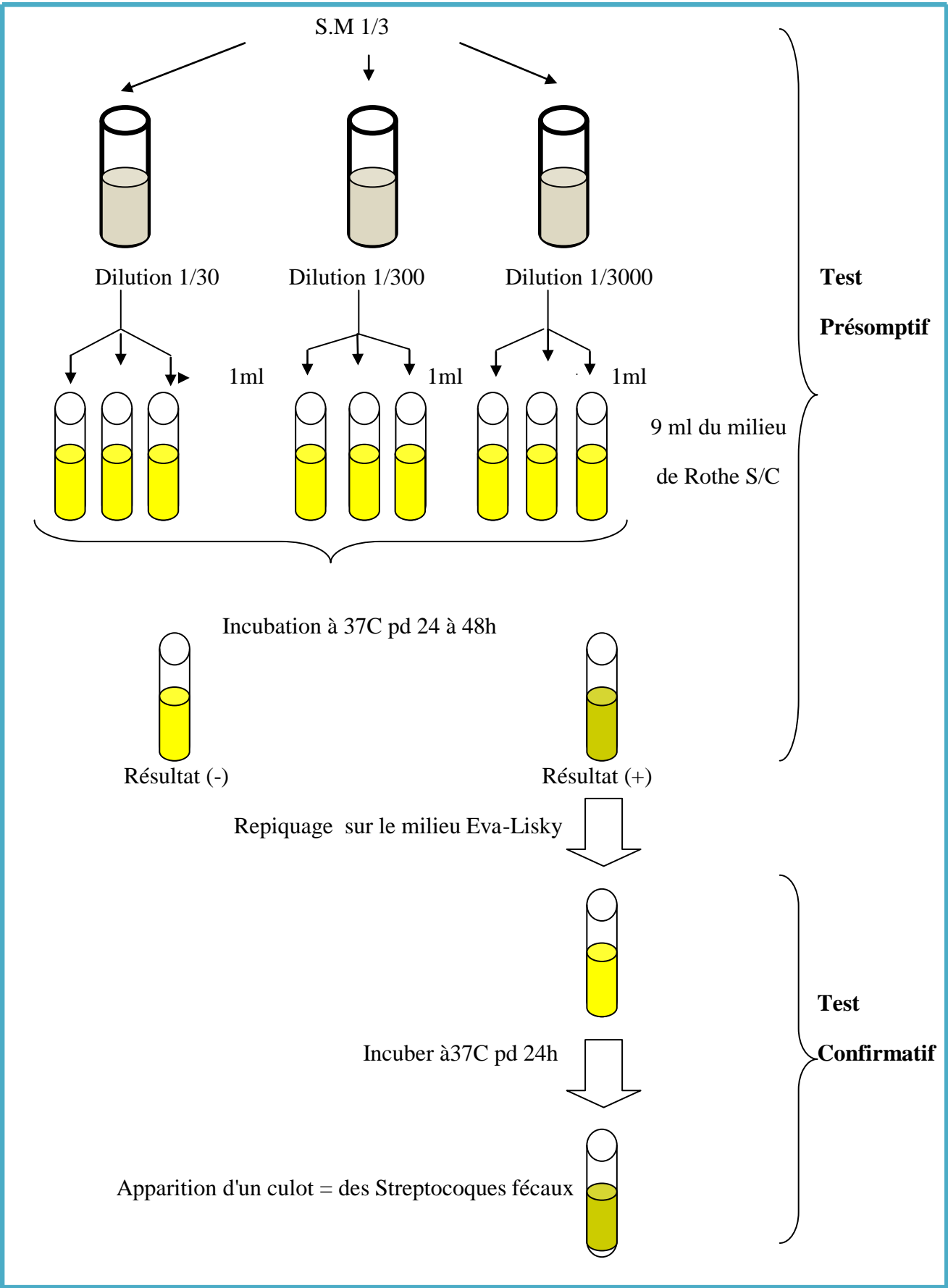


Figure 12: Recherche des Streptocoques.

6. Identification des bactéries isolées

6.1 Examen macroscopique des caractères cultureux

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées.

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments:

- La taille
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation (**Delarras, 2003**).

6.2 Examen microscopique après coloration de Gram

▪ Les étapes de coloration de Gram

- A partir de la culture à étudier préparer un frottis.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute. Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes (**Delarras, 2003**).

▪ Lecture

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram (-) sont roses.
- Les bactéries Gram (+) sont de coloration violette (**Delarras, 2003**).

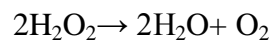
6.3 Examen lié aux caractères biochimiques

a. Examen lié aux caractères biochimiques

▪ Test catalase

➤ Principe

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La catalase permet la dégradation de H₂O oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivant :



➤ **Technique**

La technique consiste à déposer une colonie de la culture à test sur une goutte d'eau oxygénée (**Delarras, 2003**).

➤ **Lecture**

Si les bactéries examinées possèdent une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses. Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît, le test est dit positif (**Delarras, 2003**) (**Fig.13**).

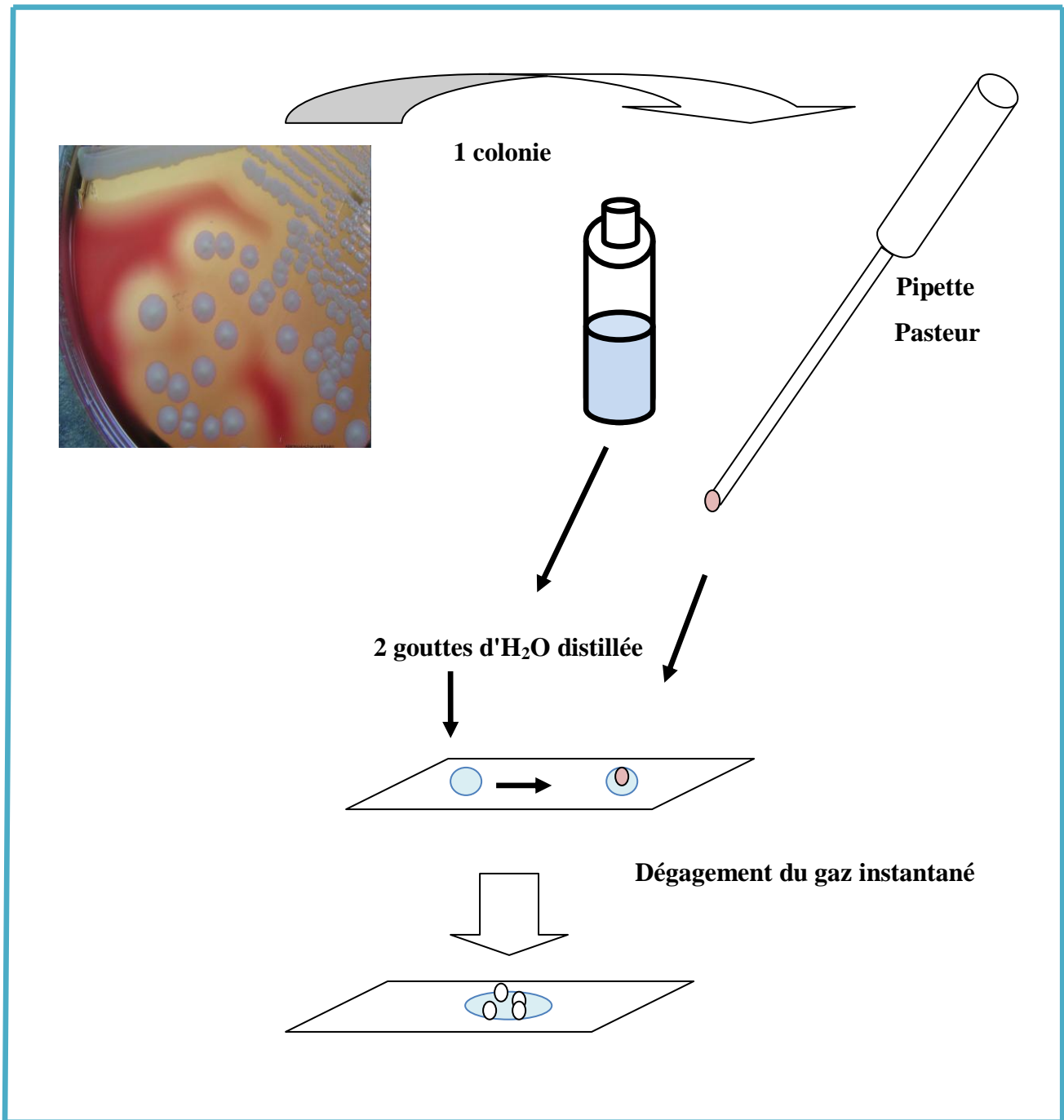


Figure 13: Test catalase.

▪ La galerie API 20E

➤ Principe

La galerie API 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatifs, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec suspension bactérienne. Les réactions sont révélées par l'addition de réactifs (**Delarras, 2000**).

➤ Mode opération

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes:

- Réunir fond et couvercle d'un biote d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : | CIT | , | VP | , | GEL | , avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine. (fig x)
- Incuber à 37° C pendant 18-240 heures (**Delarras, 2000**).

➤ Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes les réactions spontanées et révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- test VP: ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2 et attendre au minimum 10 minutes (Apparition d'une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive).
- Test TDA: ajouter une goutte de réactif TDA (Apparition d'une couleur marron foncé indique une réaction positive).
- Test IND: ajouter une goutte de réactif de Kovacs. (Formation d'un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive).

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide de catalogue analytique API 20E (Delarras, 2000) (Fig.14).

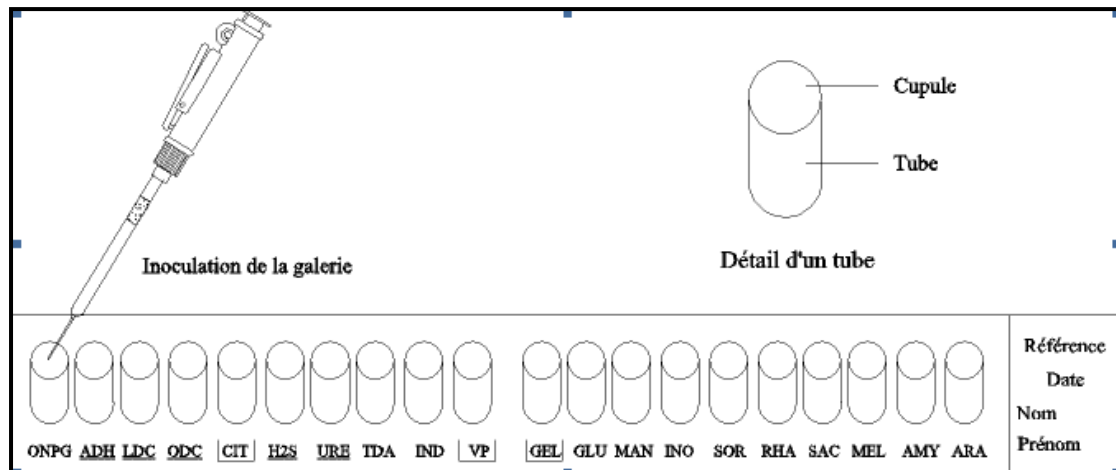


Figure 14: réalisation d'un API système 20E.

▪ la galerie API Staph

➤ Principe

La galerie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux (Aouissi, 2010).

➤ Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes:

• Préparation de la galerie

- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
- Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation (Aouissi, 2010).

• Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine on prélève 2 ou 3 colonies et les enseme dans l'ampoule d' API Staph Medium (Aouissi, 2010).

• L'inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé des tests NO₃ à PNPG. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
 - Les tests ADH et URE vont être complété avec l'huile de vaseline.
 - Renfermer la boîte d'incubation puis incubé à 37 °C pendant 24 heures (**Aouissi, 2010**).
- **Lecture et interprétation**
- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
 - la lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification (**Aouissi, 2010**).

V. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Recherche des Coliformes fécaux

1.1 Test présomptif

Le milieu BVBL à concentration 1,5 avec cloche simple a été utilisé pour mettre en évidence la présence ou pas des Coliformes fécaux. Après incubation à 37 °C dans l'étuve durant 48 heures les résultats obtenus sont enregistrés (**Tab.2**).

Tableau2: Résultats obtenus des Coliforme fécaux d'après le test présomptif.

		Série 1 Solution mère 1/3	Serie2 Dilution 1 /30	Serie3 Dilution 1 /300
Site El-Bettah	Tube 01	+	-	-
	Tube 02	+	-	-
	Tube 03	+	-	+
	Tube 04	+	+	-
	Tube 05	+	-	-
	Nombre de tube de gaz (+)	5	1	1
Site Sidi Salem	Tube 01	-	+	-
	Tube 02	+	+	+
	Tube 03	-	-	-
	Tube04	+	-	-
	Tube 05	+	-	+
	Nombre de tube de gaz (+)	3	2	2

(+) résultat positif

(-) résultat négatif.

- Le dénombrement des Coliformes se fait selon les prescriptions de la table du NPP

▪ **El-Bettah**

511 = 276 CF dans 100 g de CLI.

$$\left. \begin{array}{l} 276 \cdot 10^2 \longrightarrow 100\text{g} \\ X \longrightarrow 25\text{g} \end{array} \right\} X = 69 \cdot 10^2 / 100\text{g}$$

▪ **Sidi Salem**

322 = 102 CF dans 100 g de la CLI

$$\left. \begin{array}{l} 102 \cdot 10^2 \longrightarrow 100\text{g} \\ X \longrightarrow 25\text{g} \end{array} \right\} X = 25.5 \cdot 10^2 \text{CF} / 100\text{g}$$

On observe que le nombre des Coliformes fécaux dans le site d'El-Bettah présente une teneur de $276 \cdot 10^2 / 100\text{g}$ plus important que celle de Sidi Salem $102 \cdot 10^2 \text{CF} / 100\text{g}$. Ces données dépassent largement les normes guide 300 CF/ 100 g de la chair et du liquide intervallaire (C.E., 1991).

1.2 Test confirmatif

Après le repiquage des tubes VBL qui montrent un résultat positif dans des tubes contenant le milieu (eau peptone exempte d'indole) et incubation à 44°C pendant 24 heures.

La lecture se fait par l'adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs et les résultats sont exprimés (**Tab.3**).

Tableau 3: Identification d'*E.coli* d'après le test confirmatif.

		Serie1	Serie2	Serie3
		Solution mère 1/3	Dilution 1 /30	Dilution 1 /300
Site El-Bettah	Tube 01	Rouge (+)		
	Tube 02	+		
	Tube 03	+		+
	Tube 04	+	+	
	Tube 05	+		
	Nombre de tube de gaz (+)	5	1	1
Site Sidi Salem	Tube 01		+	
	Tube 02	+	+	+
	Tube 03			
	Tube 04	+		
	Tube 05	+		+
	Nombre de tube de gaz (+)	3	2	2

(+) résultat positif.

(-) résultat négatif

- Les résultats (+) montrent que les tubes sont lac (+) indole (+) donc ceci correspondons à *E. coli*.
- Le dénombrement d'*E. coli* se fait selon les prescriptions de la table du NPP à 5 tubes.

Après l'effectuation du test, on a signalé les mêmes résultats précédents. On a enregistré une teneur de 276.10^2 *E.coli*/100gCLI qui dépasse la valeur guide 230 *E.coli* /100g dans les échantillons d'El-Bettah. Concernant ceux de Sidi Salem, on enregistré une teneur de 102.10^2 *E. coli* /100g CLI. Donc, les résultats sont confirmés.

3. Recherche des Salmonelles

3.1 Pré-enrichissement

Après l'incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures le milieu de pré-enrichissement (eau peptonée tamponnée) devient trouble (**Fig. 15**).



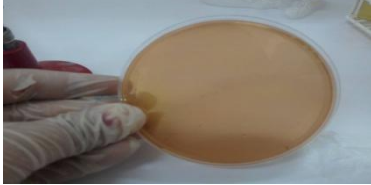
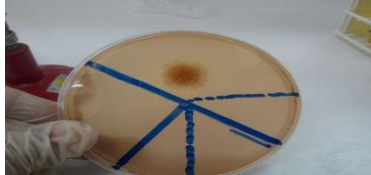
Site A

Site B

Figure 15: Phase de pré-enrichissement de *Salmonella*. **A:** El-Bettah, **B:** Sidi Salem

3.2 Isolement et identification: S’effectue sur la gélose SS utilisée pour l’isolement sélectif de *Salmonella* et *Shigella*.

Tableau 04: Résultats obtenus d’isolement de *Salmonella* sur la gélose SS.

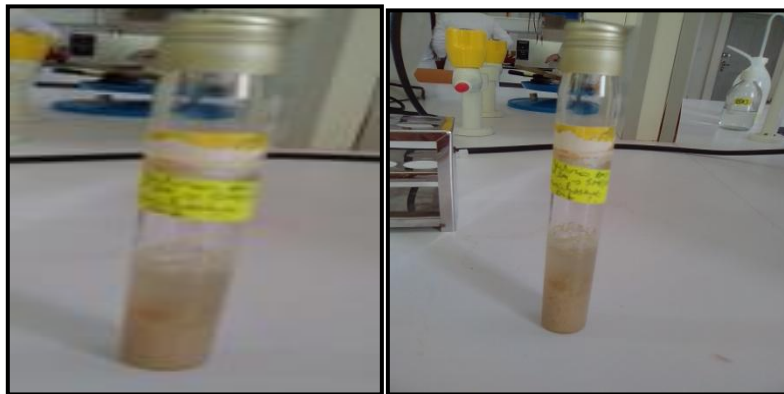
	Résultat
Site de El –Bettah	
Site de Sidi Salem	

Après 24 heures d’incubation à partir d’un milieu d’enrichissement (eau peptonée tamponnée) à 37°C aucune colonie bactérienne n’a été détectée dans les deux sites. Ce qui montre l’inexistence des Salmonelles dans les deux sites donc une teneur de 0/25g CLI.

4. Recherche des Vibrions

4.1 Enrichissement

Après incubation à l'étuve à 37°C pendant 6 à 8 heures les deux tubes contenant le milieu d'enrichissement (eau peptonée alcalin EPA) apparaissent troubler (**Fig. 16**)



Site A

Site B

Figure16: Enrichissement de Vibrion. **A:** site d'El-Bettah, **B:** site de Sidi Salem.

4.2 Isolement sur la gélose GNAB

Après incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures sur la gélose GNAB on observe la présence des colonies bactériennes (**Tab.05**).

Tableau 05: Résultats obtenus après isolement des Vibrions sur GNAB.

	Caractéristiques	
<p>Site El-Bettah</p>	<p>- 6 colonies bactériennes blanches cassé, arrondies, plat, leurs diamètres entre 1 à 3mm.</p> <p>- 10 colonies blanches, arrondies , bombé, leurs diamètres entre 1 à 5 mm.</p>	
<p>Site Sidi Salem</p>	<p>- il existe nombreuses colonies bactériennes (n > 200) sous forme arrondie, bombée, de couleur blanc cassé, leurs diamètres entre 1 à 3 mm.</p>	

Les résultats illustrés dans le tableau 05 montrent que la concentration des bactéries sous forme de colonie présente les teneurs suivants: dans le site d'El-Bettah sont en nombre de 6 et 10 colonies différentes. Par contre, dans les échantillons récoltés du site de Sidi Salem le nombre de colonies est plus élevé.

4.3 Identification

✓ La coloration de Gram

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré la présence de cocci violacé de Gram(-) (**Fig. 17**).

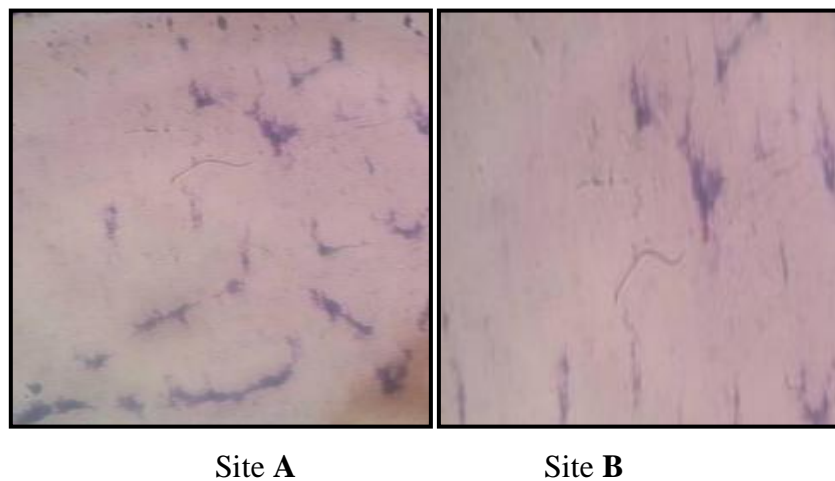


Figure 17: Coloration de Gram ($\times 1000$). **A:** El-Bethah, **B:** Sidi Salam

✓ Le système Api20E

▪ El-Bettah

Après 24 heures d'incubation le résultat obtenu est observé dans la (**Fig. 18**).



Figure 18: Profile biochimique illustrant la présence du germe *Pantoea spp.*

Le profil biochimique des souches bactériennes isolées sur gélose GNAB à partir du site d'El-Batteh montre la présence de l'espèce *Pantoea spp.* qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae.

▪ **Sidi Salem**

Après 24 heures d'incubation le résultat obtenu est montré dans la (Fig. 19).



Figure 19: Profil biochimique illustrant la présence du germe *Serratia fonticola*.

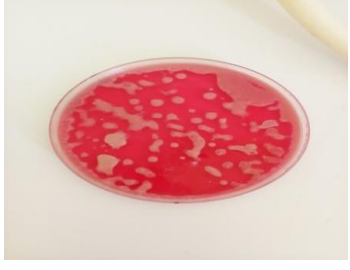
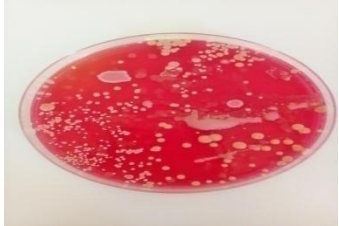
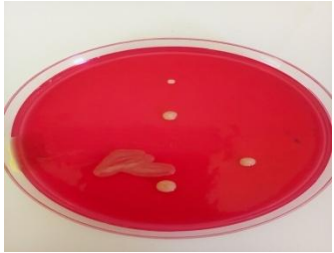
Le profil biochimique des souches bactériennes sur gélose GNAB a révélé l'existence de l'espèce *Serratia fonticola* prélevée du site Sidi Salem. Ce germe est une bactérie Gram (-) saprophytes.

5. Recherche des Staphylocoques

Après 48 heures d'incubation à 37°C sur le milieu Chapman on a détecté la présence de 2 types de colonies différentes (Tab. 06).

Tableau 06 : Résultats obtenus à partir de l'isolement des Staphylocoques.

		Caractéristique	
Site El-Bettah	Solution mère (1/3)	- 63 colonies blanc cassé, arrondies, plates, lisses et leurs diamètres compris entre 3mm et 5mm - 23 colonies blanchâtres arrondies et bombées. -virage du Chapman vers le jaune	
	Dilution (1/30)	- 25 colonies blanc cassé, arrondies, plates, leurs diamètres varient entre 1mm et 2mm - 04 colonies blanchâtres arrondies et	

		<p>bombées, leurs diamètres entre 1mm et 2mm.</p> <p>- pas de virage du Chapman</p>	
Sidi Salem	Solution mère (1/3)	<p>- 72 colonies blanc cassé, arrondies, plates, lisse leurs diamètres compris entre 3mm et 5mm.</p> <p>- 16 colonies blanchâtres arrondies et bombées leurs diamètres est entre 1mm à 2mm.</p> <p>- pas de virage du Chapman</p>	
	Dilution (1/30)	<p>- 4 colonies blanc cassé, arrondies, plates, leurs diamètres varient entre 3mm et 5mm.</p> <p>- pas de virage du Chapman</p>	

▪ **El-Bettah**

Solution mère (1/3)

- 1^{er} type de couleur blanc cassé, on a dénombré 63 CFU.
- 2^{eme} type de couleur blanche, on a dénombré 23 CFU.

Il ya un virage au jaune du milieu. Donc, les colonies sont mannitol (+) car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

Dilution (1/30)

- 1^{eme} type de couleur blanc cassé, on dénombré 25 CFU.
- 2^{eme} type de couleur blanchâtre, on dénombré 04 CFU.

Il n'y a pas de virage (le milieu garde la couleur rouge), les colonies ainsi, sont mannitol (-) car elles ne possèdent pas la capacité de fermenter le mannitol, une légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.

▪ Sidi Salem

Solution mère (1/3)

- 1^{er} type de couleur blanc cassé, on a dénombré 72 CFU.
- 2^{ème} type de couleur blanche, on a dénombré 16 CFU.

Dilution (1/30)

- un seul type de colonie blanc cassé, on a dénombré 04 CFU.

Il n'y a pas de virage (le milieu reste rouge) pour la solution mère (1/3) et la dilution (1/30) les colonies sont mannitol (-).

Les résultats du tableau 07 montrent la présence d'une forte concentration en Staphylocoques au niveau des deux sites, avec une concentration plus importante de enregistrée dans les échantillons prélevés d'El-Bettah.

✓ Identification

- La coloration de Gram

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré la présence des bactéries de formes cocci et de couleurs violacés groupés en amas à gram (+) (**Fig. 20**).

Site A

Site B

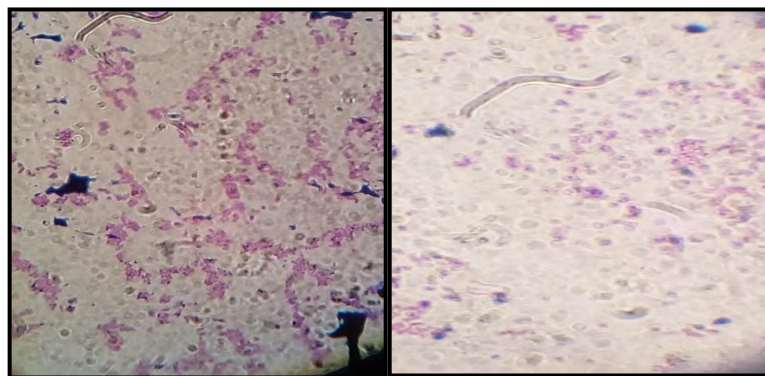






Figure (20): Coloration de Gram des Staphylocoques (X 1000).

- **Test catalase**

Tableau 07: Résultats obtenus du test catalase des Staphylocoque.

		Résultats	
Site El- Bettah	Solution mère 1/3	+	
	Dilution 1/30	+	
Site Sidi Salem	Solution mère 1/3	+	
	Dilution 1/30	+	

L'apparition des bulles et le dégagement gazeux de dioxygène montre que les espèces qui ont été isolées sont catalase (+).

- **Le système Api Staph**

▪ **El-Bettah**

Après 24 heures d'incubation le résultat obtenu est figuré (**Fig.21** et **22**).

La solution mère (1/3)



Figure 21: Profil biochimique illustrant la présence du germe *Staphylococcus capitis*.

Le profil biochimique appliqué a confirmé l'existence de *Staphylococcus capitis* sont des colonies coagulase négative appartenant à la flore endémoque.

La dilution (1/30)



Figure 22: Profil biochimique illustrant la présence du germe *Staphylococcus xylosus*.

La présence du germe *Staphylococcus xylosus* a été détectée par la réalisation du profil biochimique. Ce sont des bactéries ubiquitaires.

▪ Sidi Salem

Après 24 heures d'incubation le résultat obtenu est montré (Fig. 23 et 24).

La solution mère (1/3)



Figure 23: Profil biochimique illustrant l'existence du germe *Staphylococcus xylosus*

Le profil biochimique a prouvé l'existence de *Staphylococcus xylosus*, bactérie ubiquitaire, commensale de la peau de l'homme et des animaux.

La dilution (1/30)



Figure 24: Profil biochimique révélant l'existence de *staphylococcus caprae*.

L'application du profil biochimique a signalée l'apparition de *Staphylococcus caprae* coagulase (-).

6. Recherche des Streptocoque de groupe D

6.1 Test présumptif

Dans le milieu Roth

Après L'incubation à l'étuve 37°C pendant 24 à 48 heures les résultats sont exprimés (Tab.08).

Tableau 08: Résultats obtenus du test présumptif pour les Streptocoque D.

		Serie1 Dilution 1 /30	Serie2 Dilution 1 /300	Série 3 Dilution 1 /3000
Site El-Bettah	Tube 01	+	+	-
	Tube 02	+	+	+
	Tube 03	+	+	-
	Nombre de tube (+)	3	3	1
Site Sidi Salem	Tube 01	+	+	-
	Tube 02	+	+	-
	Tube 03	+	+	-
	Nombre de tube (+)	3	3	0

(+) résultat positif

(-) résultat négatif

- Un trouble (+) signal la présence éventuelle des Streptocoques fécaux qu'il sera ensuite confirmer par le test de Eva-Litsky,
- La lecture finale par la méthode **NPP** à 3 tubes.

▪ **El-Bettah**

331 = 13800 CF dans 100 g CLI

$$\begin{array}{l} 13800 \cdot 10^2 \longrightarrow 100 \text{ g} \\ X \longrightarrow 25 \text{ g} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 13800 \cdot 10^2 \\ X \end{array}} \right\} X = 3450 \cdot 10^2 / 25 \text{g CLI}$$

▪ **Sidi Salem**

330 = 7200 CF dans 100 g CLI

$$\begin{array}{l} 7200 \cdot 10^2 \longrightarrow 100 \text{ g} \\ X \longrightarrow 25 \text{ g} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 7200 \cdot 10^2 \\ X \end{array}} \right\} X = 1800 \cdot 10^2 / 25 \text{g CLI}$$

Les résultats de la lecture on signalés une forte concentration de Streptocoque dans l'échantillonnage d'El-Bettah présentée par la teneur de $1800 \cdot 10^2 / 25 \text{g CLI}$, celle-ci est plus élevé que la teneur enregistrée au niveau du site de Sidi Salem. Cela signifie que le 1^{er} site présente une contamination ancienne plus importante que le 2^{ème} site.

▪ **Test confirmatif**

Après le repiquage des tubes Roth trouvés positif dans des tubes contenant le milieu Eva-Litsky et l'incubation faite à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Les résultats sont exprimés dans le **(Tab.09)**.

Tableau 09: Résultat obtenus du test confirmatif de Streptocoque D.

	Série n°.... Milieu Roth	Serie1 Dilution 1 /30	Serie2 Dilution 1 /300	Série 3 Dilution 1 /3000
El-Bettah	Tube 01	-	-	
	Tube 02	-	-	-
	Tube 03	+	-	
	Nombre de tube (+)	1	0	0
Sidi Salem	Tube 01	+	+	
	Tube 02	+	+	
	Tube 03	-	-	
	Nombre de tube (+)	2	2	0

Le dénombrement : se fait par la méthode NPP à 3 chiffre.

▪ **El-Bettah**

108 = 108 dans 100 g CLI.

$$\begin{array}{lcl}
 108 \cdot 10^2 & \longrightarrow & 100 \text{ g} \\
 X & \longrightarrow & 25 \text{ g}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 108 \cdot 10^2 \\ X \end{array}} \right\} X = 27 \cdot 10^2 / 25 \text{ g CLI}$$

▪ **Sidi Salem**

220 = 630 dans 100 g CLI

$$\begin{array}{lcl}
 630 \cdot 10^2 & \longrightarrow & 100 \text{ g} \\
 X & \longrightarrow & 25 \text{ g}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} 630 \cdot 10^2 \\ X \end{array}} \right\} X = 157.5 \cdot 10^2 / 25 \text{ g CLI}$$

D'après le test confirmatif on a enregistré des teneurs différentes pour les Streptocoque D. Cependant, on a signalé une teneur de $27 \cdot 10^2 / 25 \text{ g CLI}$ au niveau du site d'El-Bettah qui a enregistré une teneur proche de celle du guide $25 \cdot 10^2 / 25 \text{ g CLI}$. De plus, une teneur plus importante de $157.5 \cdot 10^2 / 25 \text{ g CLI}$ à Sidi Salem.

On observe que les résultats sont différents et le nombre de Streptocoque D dépasse le seuil toléré et le site Sidi Salem est plus contaminé que le site El-Bettah.

Les analyses bactériologiques du *Donax trunculus* peuplant les deux sites d'étude (El Bettah et Sidi Salem), font apparaître des contaminations importantes par les Coliformes totaux, les teneurs 276.10^2 CF /100g CLI et 102.10^2 CF/100g CLI classées par ordre respectivement, dépassent largement la valeur guide 300 CF/100g CLI. La forte concentration de ces germes dans l'eau de mer exprime une pollution bactériologique sévère due à l'absence totale du traitement des eaux et pourrait aussi trouver son origine dans l'impact du changement global du milieu qui favoriserait la prolifération de ces germes. Similairement, des teneurs élevées sont rapportées par l'étude bactériologique de **Kerdoussi (2010)**, sur l'espèce *Perna perna* peuplant le golfe d'Annaba d'où l'étude a signalée au niveau du site de Sidi Salem une teneur de 140000 germes/100ml qui dépasse la valeur guide fixée à 1000 germes/100ml.

En ce qui concerne *E. coli*, qui fait partie de la microflore intestinale de tous les animaux, y compris les humains. Quand sa présence ne dépasse pas les valeurs tolérées, elle ne provoque pas de maladie. D'ailleurs, elle a une fonction de suppression de bactéries nuisibles et permet de synthétiser de nombreuses vitamines.

Une importante contamination d'origine fécale avec *E. coli* a été illustrée dans nos résultats présentés dans le (**tableau 02**). Toutefois, le degré de cette contamination varie d'un site à l'autre pour les deux sites d'étude. Dans ce sens les valeurs enregistrées dans le site El-Bettah ont présentés une valeur supérieure (276.10^2 *E. coli* /100g de CLI) par rapport à celle de Sidi Salem (102.10^2 *E. coli* /100g de CLI).

Les valeurs observés dépassent les normes guide (230E.coli/100gCLI), ces derniers peuvent être expliqués par la proximité de ces deux sites, des rejets urbains et industriels charriés par l'oued, Seybouse et Mafragh. Ces apports sont plus importants pendant les périodes de crue. Par ailleurs, le mode de vie de ces espèces qui vivent enfouis dans les sédiments à de faibles profondeurs cet habitat présente un véritable réservoir des bactéries, désigne une flore important d'*E. coli* dans les deux sites étudiier. Ce qui traduise ainsi une contamination récente favorisée par les conditions climatiques favorables à la survie et à la prolifération de ces bactéries (**Rodier et al., 1996**).

De plus, la conséquence d'un lessivage des sols par les pluies, d'après les travaux de **Catarina et Florbela (2012)** exige les pluies d'automne et d'hiver d'entraîner une augmentation du transport et de contaminants dans les eaux de ruissellement, qui s'écoule dans la lagune de Ria Formosa (côte sud du Portugal) en progressant la contamination fécale.

Nos résultats sont en concorde avec les résultats rapportés par **Dahel (2009)** qui a étudié la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est Algérien chez un la moule *Perna perna*. Les résultats des teneurs en *E. coli* ont enregistré des fortes concentrations à l'Hnaya, Aouinate et à Sidi Salem (2400 g/100ml, 2400 g/100ml et 1100 g/100ml) respectivement, ces teneurs dépassent largement les valeurs guides fixé par 500 g/100ml.

Les Salmonelles sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables de nombreuses infections (salmonellose). Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau ou un aliment contaminé (coquillages dans ce cas). Nos études montrent qu'aucune présence des Salmonelles n'a été détectée dans les deux sites d'études. Dans ce sens et en accord avec nos résultats **Eyles et Davey (1998)**, n'ont pas détecté de Salmonelles dans les échantillons d'huîtres. De même, l'étude de **Muniain et Mujika et al., (2003)** a mentionné une valeur norme qui signifie l'absence de *Salmonella spp.* qui est limité par 100 g de chaire et du liquide intervallaires.

En ce qui concerne, les Vibrions qui sont des bactéries colonisant les eaux polluées ainsi, au sein des objets contaminés elle provoque plusieurs pathologies tel que la choléra.

Vibrio cholera est considéré comme indicateur de contamination récente chez l'homme infecté. Une fois libéré dans l'eau, ce germe peut contaminer les coquillages qui le transmettent au consommateur (**Boutin et al., 1982; Garay et al., 1985**).

Dans nos études aucune *Vibrio* n'a été enregistré au niveau les deux sites d'études. Nos résultats sont en concorde avec les études de **Murilo et al. (2006)** n'ont pu détecter de *Vibrio cholera* sur les 90 échantillons analysés des huîtres sur la côte brésilienne.

L'absence de ces deux germes (*Salmonella* et *Vibrio*) dans nos échantillons récoltés au niveau des deux sites d'étude, ne signifie pas une absence de risques d'intoxication que

peut engendrer la consommation crue de ces espèces. En effet, un certain nombre d'études ont montré que les Entérobactéries, en particulier les Salmonelles, subissent une dérive des caractères phénotypiques (asporulée, cils péritriches ,mobile.....etc) dans l'eau de mer et aboutissent à des formes difficiles à retrouver par les techniques classiques de recherches et d'identification tel que la capsulasson, sporulation (**Bakhrouf et al., 1994**) et spécialement, la forme L pour les Selmonelles (**Brisou et Denis, 1978**).

En tenant compte à l'absence de ces deux germes précédant, la consommation de l'espèce *Donax* de point de vue microbiologique, ne présente aucun danger pour la santé humaine (**Tab.13**).

Les Staphylocoques sont des bactéries ubiquistes et pathogènes, ils sont très répandues dans la nature (air, eau et sol) (**Huss, 1995 ; Haslay et Leclerc, 1993**). Ils sont trouvés au niveau des muqueuses nasales, la contamination avec ce germe est due à un individu atteint d'une infection aux mains, d'un rhume ou d'un mal de gorge (**FAO, 1996**). L'utilisation de galerie biochimique Api Staph, nous à permis d'identifier l'existence des genres suivant dans nos échantillons récoltés des deux sites: *Staphylococcus capités*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus caprae*. Ces derniers représentent un risque majeure de la sante publique (**Altemeyer et al., 1990**) en causant des infections nosocomiale, fièvre...etc.

La détection de ces espèces à été permis grâce aux caractères biochimique suivant: mannitol de mobilité, catalase et coagulasse.

En effet, les Staphylocoques arrivent à proliférer grâce à leur particulière résistance aux conditions de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau (**Ait hamlet, 1998**)

Quant aux les Streptocoques D sont aussi des excellent indicateurs de contamination fécale. Ils survivent durablement dans l'eau de mer que les Coliformes fécaux. Concernant ces derniers, il existe une corrélation positive entre Entérocoques et les affections gastro-intestinales et les niveaux dans l'eau de mer (**Fleisher et al., 1996 ; Prüss, 1998**)

La présence des Streptocoques par des valeurs dépassant largement la norme guide (2500 /100g CLI) dans nos échantillons peut s'expliquer par la résistance de ces indicateurs de pollution (**Gleeson et Gray, 1997**).

Les Streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer les eaux sont typiques des déjections animales (Bitton, 1999 ; Clausen *et al.*, 1977; Farow *et al.*, 1984). Ces espèces colonisent le bétail, les chevaux et les volailles bien qu'elles peuvent, parfois, être présentes chez l'humain (Devriese *et al.*, 1998 ; Ruoff *et al.*, 1989).

Les résultats trouvés sont en concordance avec le travail de Dahel (2009), qui a étudié la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bio-indicateur la moule *Perna perna*. Montrant que, les teneurs en Streptocoques totaux sont élevés. Ces teneurs élevées font suite au lessivage par les eaux de ruissellements des zones agricoles, des rejets urbains et industriels charriés par les oueds Seybouse et Bedjimâa.

En raison, de la proximité de l'embouchure de l'oued Maffragh et Seybouse qui ramène des éléments très riches en composés organiques et minéraux (Attoum *et al.*, 2001). On outre, les contaminations humaine et mixte décelées à Sidi Salem, auraient pour origine, les rejets domestiques des riverains et des estivants en été. De ce fait, une importante contamination désignée au niveau de ces deux sites d'études.

En référant avec les normes de salubrité des fruits de mer, édictées par la communauté européenne en 1991. Nous pouvons classer le site Sidi Salem et El-Bettah sites dans la catégorie D (Tab.10).

On conclut que, les bivalves peuplant le site de Sidi Salem et El-Bettah sont déconseillés à la consommation directe, du fait que les taux de contamination mesurés sont nettement supérieurs aux valeurs normes européennes, préconisant moins de 230 *E. coli*/ 100 g de chair et du liquide intervallaire.

Tableau 10 : Critères microbiologiques pour les mollusques bivalves et niveau de salubrité des zones de production (**Communauté Européenne, 1991**).

<i>E.coli</i> (E.C)/ 100g de chair et de liquide intervalvaire	Zones	Exploitation	Exploitation
Seuils microbiologiques	Classement	Elevage	Pêche professionnelle, gisement naturel
Au moins 90% des résultats <230 E.C. Aucun >1000 E.C.	A	Autorisé pour une consommation directe	Autorisé pour une consommation directe
Au moins 90% des résultats <4600 E.C. Aucun >4600 E.C.	B	Autorisé à être consommé après reparçage ou purification.	Autorisé mais après reparçage ou purification nécessaire avant commercialisation
Au moins 90% des résultats <46000 E.C. Aucun >46000 E.C.	C	Autorisé à la consommation après reparçage (sur une longue période) ou après purification intensive.	Autorisé à la consommation après reparçage (sur une longue période) ou après purification intensive
Au moins 90% des résultats >46000 E.C	D	impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.	impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine.

CONCLUSION

Dans cette étude, nous avons testé la qualité microbiologique du bivalve (*Donax tranculus*) peuplant le golf d'Annaba. L'échantillonnage à été prélevé à partir de deux sites (El-Battah et Sidi Salem). L'analyse microbiologique à été basée principalement, sur le dénombrement des bactéries indicatrices, de la contamination fécale à savoir les Coliformes totaux, les Coliformes fécaux, les Streptocoques fécaux et la possibilité de détecter d'autres bactéries pathogènes.

Les tests d'identification des bactéries isolées ont permis d'identifier les espèces suivants: *Staphylococcus capités*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus caprae*, *Pantoea spp.* et *Serratia fonticola*.

Les bivalves avant leurs commercialisations, doivent répondre à des normes microbiologiques imposées par les pays de l'Union Européen pour préserver la santé publique. Car, la consommation des bivalves contaminés, expose le consommateur à des risques de toxi-infection tel que, la fièvre typhoïde, la salmonellose, la shigellose et le choléra.

Les deux sites (Sidi Salem et d'EL-Battah) ont représentés une forte contamination fécale qui dépasse les teneurs normaux du guide. A raison, de la proximité aux divers effluents de l'oued Bedjimâa et l'oued Seybouse (approximant de Sidi Salem) ainsi que, de l'oued Mafregh (embouchure d'El-Bettah), véhiculant les rejets urbains, industriels et le contenu d un lessivage des sols par les pluies.

Enfin, ces deux sites sont classés dans la catégorie D (trop fréquemment polluée) et dans la zone D (impossible de récolter des coquillages pour la consommation humaine).

En perspectives, il serait judicieux de :

- Prévoir, en agglomération, un traitement systématique des rejets par la mise en place de stations d'épurations des eaux.

- De mettre en place une réglementation nationale qui interdit tout rejet d'effluents non traités.
- D'assurer un contrôle bactériologique rigoureux et régulier des fruits de mer.
- Mettre en place des bassins de repérage ou de purification.

REFERENCES

Aberkane M., Harkat R. & Mekhalfi M. (2011). Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux d'un écosystème lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (Skikda). Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 de Guelma, **76p.**

Abessa R, Tabet S. (2014). Etude microbiologique et génotoxique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai, **101p.**

Ait hamlet S. (1998). Contribution à l'étude de la qualité de huîtres oueds de la Wilaya d'El tarf; Aspects microbiologique et écologique. Thèse de magister en microbiologie appliquée, Université Badji Mokhtar, Annaba, **150p.**

Altmeyer A., Abadia G., Schmitt S. & Le-prince A.(1990). Risque microbiologique et travail dans les stations d'épuration des eaux usées. Midico technique, **384p.**

Aminot A. & Kerouel R. (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Éd. Ifremer, **336 p.**

Amira A.(2008). Evaluation du stress environnemental chez *Donax trunculus* : Mesure de bio-marqueurs (GSH et MDA) et corrélation avec le métabolisme libido-glucidique durant la période de reproduction au niveau du Golfe d'Annaba. Mémoire de Magistère en Biologie et physiologie Animale. Université d'Annaba, **79 p.**

Ansell A.D. & La gardère F. (1980). Observation on the biology of *Donax trunculus* and *Donax vittatus* at lie d'Oleron (French Atlantic Coast). Mar.Biol, 57: **287-300p.**

Ansell A.D.(1983). The biology of the genus *Donax*. In Sandy beaches as ecosystems. (McLachlan A. & Erasmus T. eds). Junk publishers, The Hague, **607-635p.**

Aouadene A.(2003). Evaluation spatio-temporelle de quelques paramètres biométriques et biochimique chez *D. trunculus* (Mollusca, Bivalvia) dans un environnement pollué (golfe d'Annaba). Thèse de Magistère en Biologie Animale option écologie animale appliquée, université d'Annaba, **88p.**

Aouissi A. (2010). Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-est de l'Algérie). Diplôme de magister, université 8 mai de Guelma, **164p.**

Attoum D. & Bouzid S. (2001). Contribution à l'étude hydrologique et sédimentologique d'un faciès à *Donax trunculus* dans la plage de Chatte (golfe d'Annaba).

Bakhrouf A., Zaafrane S., Mzoughi R., MaatougK.& Gauthier M. (1994). Mar. Life, 4(2): **3 -8 p.**

Bayed A. (1990). Reproduction de *Donax trunculus* sur la côte Atlantique Marocaine. Cah. Bio. Mar, 31: **159-169p.**

Bazine N. & Bourenane A. (2011). Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued Messida. Mémoire de master. Université 8 Mai 1945 de Guelma, **98p.**

Beldi H., Gimbert F., Maas S., Scheifler R. & Soltani N. (2006). Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria, Afric. J. Agric. Res, 1(4): **85-90p.**

Beldi H. (2007). Etude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécy-pode): écologie, physiologie et impacts de quelques altéragènes. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba, **105p.**

Bitton G. (1999). Wastewater Microbiology. John Wiley et Sons, **578p.**

Bougis. (1976). Océanographie biologique appliquée, l'exploitation de la vie marine. Edition Masson, **17-23p.**

Bourlat S. J., Nielsen C., Economou A. D., and Telford M. J. (2008). Testing the new animal phylogeny: a phylum level molecular analysis of the animal kingdom. *Mol. Phylogenet. Evol.*49, **23-31p.**

Bryan G.W., Langston W.J., Hummerstone L.G. & Burt G.R. (1985). A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* Special publication n°4: **1-92p.**

Brisou J.F. & Denis F. (1980). Techniques de surveillance de l'environnement maritime. Edit. Masson, **206p.**

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:**79-118p.**

Brown A. & McLachlan A. (1990). Ecology of sandy shores. Elsevier, Amsterdam, **328 p.**

Bryan G.W., Langston W.J., Hummerstone L.G. & Burt G.R. (1985). A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* Special publication n°4: **1-92p.**

Burton G.A. (1992). Sediment toxicity assessment. Lewis Publishers, London, **211 p.**

Burton G.A. (1992). "Plankton Macrophyte, Fish and amphibian toxicity testing of fresh water sediment" In Burton, GAJ (Eds). *Sediment toxicity assessment*, Lewis, Chelsea, MT. USA, **167-176p.**

Carriker M.R. (1961). Interrelation of functional morphology, behavior, and autecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. *J. Elisha Mitchell Society*, 77: **168- 241p.**

Cassier P., Lafont R., Descamps M., Porchet M. & Soyez D.(1967). La reproduction Desin vertébrés, stratégies, modalités et régulation, intérêt fondamental et appliqué. Edition Masson Paris, **302-303p.**

Chambost-Manciet Y. (2009). Ampleur et effets biologiques de la contamination métallique (Cd, Cu, Fe, PB et Zn) des sédiments en Mer du Nord. Utilisation de l'étoile de mer *Asterias rubens* (L.) comme bio-indicateur et bio-marqueur (mémoire). Université Libre de Bruxelles.

Clausen E.M., Green B.L. & Litsky W. (1977). Fécals Streptococci. Indicators of pollution. In: Hoadley A.W., Dutka B.G, édit, Bactériels indicateurs /Health hazards associated of water. American Society for Testing of Materials, ASTM STP, **635 p.**

Cohen N., Ennaji H., Hassar M. & Karib H. (2006). The Bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). Mol. Nutr. Food Res, 50: **557-562p.**

Communauté Européenne. (1991). Directive du conseil européen, fixant les règles régissant la production et la mise sur marché de mollusques bivalves vivants (91/492/CEE) du 15 juillet 1991, modifié par l'arrêté du 21 juillet 1995. J.Off. Comm. Europ., 1-17. In B., De Schaetzen M.-A., Daube G., 2003. Les mollusques bivalves, des aliments dangereux. Ann. Méd. Vét., 147: 413-42p. Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Laboratoire de microbiologie des denrées alimentaires. Belgique.

Cossa D. & Lassus P. (1985). Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. Editions Ifremer, Plouzané, France : **26p.**

Creteur X. (1998). Pollution microbienne des eaux ; origines et mécanismes, Université Picardie Jules Verne Amiens, **60 p.**

Dahel Z.A. (2009). Analyse de la qualité bactériologique des eaux du littoral Nord-Est algérien à travers un bioindicateur la moule *Perna perna*. En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences de la Mer. Université Badji-Mokhtar de ANNABA, **69p.**

Davenport J, (1979). The isolation response of mussels (*Mytilus edulis L.*) exposed to falling sea-water concentrations. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 59: **123-132p.**

Degiovanni C. & Mouëza M. (1972). Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus L.* (Mollusque, Lamellibranche), dans l'Algérois: écologie en Baie de Bou-Ismaïl. Tethys, 4(3): **729-744p.**

Delarras. (2000). Microbiologie De L'environnement Avec Législation Gaëtan Morin. Editeur, **223p.**

Délarras C. & Trebaol B. (2003). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation – prélèvements – analyses. TEC & DOC, **269p.**

Devriese. (1998). Differentiation between *Streptococcus gallolyticus* strains of human clinical and veterinary origins and *Streptococcus bovis* from the intestinal tracts of ruminants. Journal of Clinical Microbiology, 38: **3520-3523p.**

Direction des pêches maritimes. (2004). Résultats généraux des pêches maritimes. Rapport 2004. Dakar: Ministère de l'économie maritime & des Transports maritimes internationaux.

Dortu C. & Thonart P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et Intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 13(1): **143-154p.**

Duvigneaud P. (1974). La synthèse écologique : population, communauté, écosystème, biosphère, noosphère. Doin, Paris, **296p.**

ECETOC. (1996). The role of bioaccumulation in environmental risk assessment: the aquatic environment and related food webs European Chemical Industry Ecology and Toxicology Center, Brussels, Belgium.

Edouard H. & Christian C. (1992). Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral, **118p.**

Elarfi A., Charchar N. & Sabber I. (2007). Valorisation eaux usées in vitro des principaux rejets de la ville de Guelma par le procédé des phragmifiltre. Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai de Guelma. Université 8 Mai 1945 de Guelma, **135p.**

Elliot E. & Kvenberg J. (2000). Risk assessment used to evaluate the US position on *Listeria monocytogenes* in Seaford. *Internat. J. Food Microbiol*, 62: **253-260p.**

Elston R.A. (1990). Molluscan diseases, Guide for the shell fish farmer. Washington sea Grant.

Environnement littoral et marin, (2011). Pollutions et qualité du milieu marin.

Eyles M. & Davey G. (1988). *Int. J. Food Microbiol*, 6: **207-218p.**

FAO. (1996). Assurance de qualité des produits de la pêche. Document technique sur les pêches n°334. FAO, Rome, Italie.

Farrow J.A.E. (1984). Taxonomic studies of *S. bavis* and *S. egypticus*; description of *S. alactolyticus* sp. nov. and *S. saccharolyticus* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 5: **467-482p.**

Fischer W., Bauchat M. & Schneider M. (1987). Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche, Méditerranéen et en mer noire. Zone de pêche 37: Végétaux et invertébrés. FAO/CEE, 1: **76p.**

Fleisher J.M., Kay D., Jones F., Salmon R.F., Wyer M.D. & Godfree A.F. (1996). Marine waters contaminated with domestic sewage: nonenteric illnesses associated with bather exposure in the United Kingdom. *American journal of public health*, 86 (9): **1228-1234p.**

Frehi H., Ayada M., Kara M.H. & Coute A. (2004). Hydrologie de la baie d'Annaba (Algérie- Nord-Est):Caractères physico-chimiques et biomasse chlorophyllienne. *Rapp. Comm. Int. Mer Medit*, 37: **359p.**

Gaspar M.B., Ferreira R. & Monteiro C. (1999). Growth and reproductive cycle of *Donax trunculus* L. (Mollusca: Bivalvia) in Faro, southern Portugal. *Fish. Res*, 41: **309–316p.**

Gelman A., Drabkin V. & Glatman L. (2001). Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products, as starter cultures for new fish-based food products. *Innovative Food Sci. Emerging Technol*, 1: **219-226p.**

Ghizellaoui S. (1994). Evaluation de la qualité des ressources en eau alimentant la ville de Constantine, prévision de la demande en eau à l'horizon de l'an 2010. Thèse de magister en chimie analytique et traitement des eaux, **13-24p.**

Gimenez M. (1999). Evaluation de la répartition du gisement de *Donax trunculus* L dans le golfe de Beauduc. Rapport de stage de Deust Gen. Centre universitaire d'Arles, Réserve Nationale de camargue, SNEN, **23p** et annexes.

Gillespie S.H. & Hawkey P.M. (2006). Principles and practice of Clinical Bacteriology. 2ème édition. John Wiley & Sons. England, **620p.**

Glatman L., Drabkin V. & Gelman A. (2000). Using lactic acid bacteria for developing novel fish food products. *J. Sci. Food Agric*, 80: **375-380p.**

Gleeson C. & Gray N.(1997). The coliform index and waterborne disease. E et FN Spoon, **194 p.**

Goeury D.(2014). "La pollution marine", in Woessner Raymond (dir.), Mers et océans, Paris: Atlante, Clefs concours.

Gomella C., Guerree H. (1978). Le traitement des eaux publiques industrielles et privées. Eyrolles, Paris, **262p.**

Gouletquer P. (1997). Natural reproduction cycle of the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France. IFREMER, Nantes.

Grimes. (1994). Contribution à la connaissance des populations de *Cardium glaucum*(Bruguière., 1789), Lorupes lacteurs (Lirmaly) du lac El-Mellah (El-Kala, Algérie).Ecologie et Dynamique. Thèse de Magister institut des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. ISMAL (Alger).

Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. DUNOD, Paris, **652p.**

Guiraud P.J. (2003). Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, **15p.**

Hackney C.R. & Dicharry A. (1988). Seafood borne bacterial pathogens of marine origin. Food Technol, 42:104-109p.

Hamdani A. (2013). La reproduction chez un Mollusque Bivalve *Donax trunculus L.* dans le golfe d'Annaba. Rapport entre les aspects cytologique et biochimique et la pollution. Thèse de doctorat en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba, **365p.**

Hamdani A. & Soltani-Mazouni N. (2011). Changes in Biochemical Composition of the Gonads of *Donax trunculus L.* (Mollusca, Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria) in Relation to Reproductive Events and pollution. Jordan Journal of Biological Sciences, 4 (3): **146-156p.**

Haslay C. & Leclerc H. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Technique & Documentation, Lavoisier, **495p.**

Haszprunar, G., Schander, C., and Halanych, K. M. (2008). Relationships of higher molluscan taxa. In: Phylogeny and Evolution of the Mollusca (W. F. Ponder and D. R. Lindberg, Eds.), University of California Press, Berkeley: **19-32p.**

Hirsch M. (2002). Evaluation des risques liés à la consommation de produits de la pêche importés. AFSSA, DERNS/Enr.22/Ind.D. Maisons-Alfort, Fr.

His. & Cantin.(1995). Biologie et physiologie des coquillages IFREMER Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral, R.INT.DEL/95.06/Arcachon, **108 p.**

Huss H.H. (1995). Assurance de la qualité des produits de la mer. FAO Document technique sur les pêches. No. 334, Rome, **186p.**

Jorgensen C.B. (1960). Efficiency of particle retention and rate of water transport in undisturbed Lamellibranchs. /.Cons. Perm. Int .Expl. Mer, 29: **96-116p.**

Käferstein F., Motarjemi K. & Bettcher D.W. (1997). Food born disease control: A transnational challenge. Emer. Infect. Disea, 3: **603-610p.**

Kennedy V.S. (1996). Biology of larvae and spat. In: V.S. Kennedy, R.I.E. Newell, and A.F.Able (Eds.), the eastern oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College Publication UM-SG-TS-96-01, **371-442p.**

Kerdoussi A. (2010). Moule *Perna perna* peuplant le golfe d'Annaba: croissance, reproduction et qualité bactériologique. Diplôme de magister, Université Badji-Mokhtar Annaba, **100p.**

Khammar H. (2007). Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de magister. Univ. Annaba, **49p.**

Khélifi-Touhami M., Ounissi M., Saker I., Haridi A., Djorfi S. & Abdenour C. (2006). The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria): Transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *Journal of food, agriculture and environment*, 4: **340- 346p.**

Kneese A.V. (1967). Economie et gestion de la qualité des eaux. Dunod, Paris, **260p.**

Kronkvist B. (2006). Prevalence of faecal indicator organisms and human bacterial pathogens in bivalves from Maputo Bay, Mozambique. Master Thesis, Kristianstad University, Sweden.

Lebres E. (2006). Cours D'hygiène et De Microbiologie Des Eaux (Manuel De Travaux Pratique Des Eaux). Institut Pasteur d'Algérie, **60p.**

Lebres. & Mouffok. (2008). La cour nationale d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie, **53p.**

Le Bec (coordonnateur). (2002). Incidence de la station d'épuration de Lannion sur l'estuaire du Léguer. IFREMER - Rapport de fin d'étude, **71 p.**

Leclerc H., Festy B. & Lazar P. (1982). Connaissances actuelles de la pathologie hydrique. Epidémiologie et santé publique, Masson, Paris, 30: **363-385p.**

Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M. (1995). Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit. Doin. **535p.**

Levêque C. (1996). Ecosystèmes aquatiques. Les fondamentaux, Ed. Hachette, **159p.**

Livingstone, D.R. & S. Gallacher, (2003). In: Encyclopaedia of Food Sciences and Nutrition, 2nd Edit. (Edit.-in-Chief B. Caballero), 5228-5245p. Academic Press.

Lucas A. (1965). Recherche sur la sexualité des Mollusques Bivalves. Thèse, Rennes, **135p.** In : Mouëza M, 197. Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque, Lamellibranche), Thèse de Doctorat en science Biologiques mention Océanographie, **130p.**

Manuel de Bergey. (1984). Systematic bacteriology; 9th edition.

Marobin D., Prat M. & Jouvenel J. (2007). Etude globale sur la Telline *Donax trunculus* (Linnée 1767) en Camargue. Parc Naturel Régional de Camargue. Rapport Intermédiaire de la campagne d'automne. Contrat BIOTOPE/P2A Développement.

McLachlan A. (1996). Physical factors in benthic ecology: effects of changing particle size on beach fauna. Marine Ecology Progress Series, 131: **205–217p.**

Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., Mccaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C. & Griffin P.M. (1999). TAUXE R.V. Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis, 5: **607-625p.**

Mechai A. (2009). caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologique des eaux usées d'Ouargla avec un essai d'épuration biologique en vue de leur utilisation en irrigation. Mémoire de magister. Université Badji Mokhtar, Annaba, **189p.**

Mouëza M. (1971). Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L (Mollusque, Lamellibranche). Thèse de Doctorat. En sciences Biologiques mention Océanographie, **130p.**

Mouëza M. (1972). Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche) dans l'Algérois : la croissance. Pelagos, 4: **25-35p.**

Mouëza M. & Frenkiel-Renault L. (1973). Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusques, Lamellibranches) dans l'Algérois : la reproduction. Cab. Biol. Mar, 14: **261-283p.**

Mouëza M. & Chessel D. (1976). Contribution à l'étude de la Biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque, lamellibranche) dans l'Algérois : analyse statistique de la dispersion le long d'une plage en baie de Bou-Ismaïl. J. Exp. Mar. Biol. Ecol, 21: **211-221p.**

Moukrim A., El Hamidi F., Lagbouri A., Kaaya A., Zekhnini A., Bouhaimi A. & Muniain., Mujika I., Calvo M., Lucena F. & Girones R. (2003). Comparative analysis of viral pathogens and potential indicators in shellfish. Intern. J. Food Microbiol, 83: **75-85p.**

Murilo A., Márcia M., Leonardo N., Denys S., Cleide R. & Vieira B. (2006). Brazilian Journal of Microbiology, 37:159-163p.

Navoun S. (2005). Thermorésistante de trois sérotypes de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. Université Coco du d'Abidjan, 87p.

Narbonne J. (2004). Study of *Donax trunculus* as a sentinel species for environmental monitoring of sandy beaches on Moroccan.

Neuberger-Cywiak L., Achituv Y. & Mizrahi L. (1990). The ecology of *Donax trunculus* Linnaeus and *Donax semistriatus* Poli from the Mediterranean coast of Israel. J. Exp. Mar. Bio. Ecol, 134: 203-220p.

OMS. (1983). Détermination des coliformes fécaux dans les bivalves par le test des tubes multiples. N° 5. Rev.1.

Organisation des Nations unies pour l'Agriculture et l'Alimentation. (2004). Pêche de capture et production de l'aquaculture, <http://faostat.fao.org/site/339default.aspx>, (10/05/08).

O'Sullivan L., Ross R.P. & Hill C.(2002). Potential of bacteriocin-producing lactic Acid bacteria for improvements in food safety and quality. Biochimie, 84: 593-604p.

Phillips D. (1980). Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Chapman & Hall, London.

Potasman I., Paz A. & Odeh M. (2002). Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a world-wide perspective. Clin. Infect. Dis, 35: 921-928p.

Poutiers J.M. (1978). Contribution n°15-Introduction à l'étude faunistique des bivalves du littoral français : les espèces marines du golfe d'Aigues-Mortes Deuxième partie. CERBAP.

Prüss A. (1998). Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational water. International Journal of Epidemiology, 27: 1-9p.

Ramachandraiah G. & Bhatt P. (2007). Bioaccumulation of heavy metals in some.

Ramade F. (1998). Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Édiscience international, Paris, **786p.**

Rarnon M. (1993). Estudio de las poblaciones de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) y *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca : Bivalvia) en el golf de Valencia (Mediterráneo occidental). Thesis, University of Barcelona.

Reddy M.S., Mehta B., Dave S., Joshi M., Karthikeyan L., Sarma VKS., Basha S., Ramachandraiah G. & Bhatt P. (2007). Bioaccumulation of heavy metals in some.

Rejesk F. (2002). Analyse des eaux ; aspect réglementaire et techniques ; centre régional de documentaires techniques pédagogique d'aquitaines (CRDP). Bordeaux, **358p.**

Report on the worldwide intercomparison exercise AIEA-437 (2007). Radionuclides in Mediterranean Mussel, Monaco.

Rittschof D. & McClellan-Green P. (2005). Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. *Marine Pollution Bulletin*, 50: **369-373p.**

Rodier J. (2009). L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eaux de mer. 9^{ème} édition. Dunod. Paris, **1579p.**

Rodier J., Bazin C., Chanbon P., Broutin J.P., Champsaur H. & Rodi L. (1996). L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer. 8^{ème} Ed. Dunod, Paris, **1383p.**

Rowse A.J & Fleet G.H. (1984). Effects of water temperature and salinity on elimination of *Salmonella* charity and *Escherichia coliform* Sydney rock oysters. *Appl. and Environ. Microbiol*, 48 (5): **1061 – 1063p.**

Ruoff K. (1989). Bacteremia with *Streptococcus bovis* et *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: **305-308p.**

Saker I.E. (2007). Pollutions chimiques par les effluents industriels directs introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de magister Université. Annaba. **34p.**

Sifi K., Chouahda S. & Soltani N. (2007). Bio-surveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). Mésogée, 63: **11-18p.**

Smith D., Barlow K., Alderton L. & Jacobson M. (2001). Outbreak alert: center for sciences in public interest (cspi): Washington, **48 p.**

Smith Dewaal c., Barlow K., Alderton L. & Jacobson M.F. (2001). Outbreak alert: center for sciences in public interest (cspi): Washington, **48 p.**

Souna D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques au niveau du C.H.U de SidiBel Abbas. Université Abou bekr belkaid –Tlemcen, **148p.**

Spadem D. & Adagp A. (1972). Grande encyclopédie (la rousse). Australie bond, Librairie Larousse. Paris VI. ed. librairie la rousse. Canada, 3: **1880p.**

Soudane F. (1968). incidence de la pollution sur la vie marin.

Tantillo M., Fontanarosa M., DI Pinto A. & Musti M. (2004). Updated perspectives on emerging vibrios associated with human infections. Letters in Appl. Microbiol, 39: **117-126p.**

Tefyeche L. (2014). Suivi de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux usées d'Ouargla au cours de leur traitement, **70p.**

Tholozan J.L., Carlin F., FACH P. & Poumeyrol M. (1997). Bactéries anaérobies strictes et hygiène des aliments. Bull. Soc. Fr. Microbiol, 14: **48-55p.**

Turgeon D.D, Quinn J.F, Bogan A.E, Coan E.V, Hochberg F.G.& Lyons W.G. (1998). Common and scientific names of aquatic invertebrates from the United States and Canada: Mollusks. 2nd ed: American Fisheries Society Special publication. Bethesda, Maryland, USA.

Usero J., Morillo J. & Gracia I. (2005). Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, 59 (8): **1175-1181p.**

Vaillant J.R. (1973). Protection de la qualité des eaux et maîtrise de la pollution : contrôle de déversement d'eaux polluées. Eyrolles, Paris, **419p.**

Wilson J. (1999). Population dynamics and energy budget for a population of *Donax 753 variabilis* (Say) on an exposed South Carolina beach. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 239:**61-83p.**

World Health Organisation (2007). Food Safety and Food borne Illness, Media centre. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>.

Zouaimia.& Brahmia. (2013). Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zimba (Guelma). Mémoire De Master. UNIVERCITE 8 Mai 1975 de Guelma, **149p.**

Annexe 1

Tab1: Matériels utilisés

Verrerie	Appareillage	Autre materiel
<ul style="list-style-type: none"> ○ Tube à essai ○ Béchers ○ Pipette pasteur ○ Flacon ○ Lame ○ Boite de pétri 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Etuve ○ Autoclave ○ Four pasteur ○ Centrifugeuse ○ Bain marie ○ Balance ○ Réfrigérateur ○ Microscope optique (objectif a immersion) ○ Mixeur ○ Agitateur et barreau magnétique ○ Etuve ○ Autoclave ○ Four pasteur ○ Centrifugeuse ○ Bain marie ○ Balance ○ Réfrigérateur ○ Microscope optique (objectif a immersion) ○ Mixeur ○ Agitateur et barreau magnétique 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Bec benzène ○ Anse de platine ○ Portoir ○ Micropipette et cône papier filtre ○ Pipette en plastique

Annexe 2

Tab2:Table de NNP à 3 tubes

Nombre de tube positifs			NPP	Catérogé	Limite de confiance			
1ml	0.1ml	0.01ml			95%		99%	
0	0	0	<90					
0	0	1	90	3	3	285	0	420
0	1	0	90	2	3	300	0	480
0	1	1		0				
0	2	0	186	3	36	510	15	750
0	3	0		0				
1	0	0	108	1	6	510	3	750
1	0	1	216	2	36	510	15	750
1	0	2		0				
1	1	0	222	1	39	600	18	810
1	1	1	330	3	105	1050	54	1380
1	2	0	330	2	108	1050	57	1380
1	2	1	450	3	135	1140	72	1560
1	3	0	480	3	135	1140	72	1560
2	0	0	276	1	45	1050	21	1380
2	0	1	420		108	1050	57	1380
2	0	2		0				
2	1	0	450	1	111	1140	60	1560
2	1	1	600	2	135	1140	72	1560
2	1	2		0				
2	2	0	630	1	135	1200	72	1660
2	2	1	840	3	261	2820	153	4260
2	2	2		0				
2	3	0	870	3	251	2820	153	4250
2	3	1		0				
3	0	0	690	1	138	2830	75	4240
3	0	1	1140	1	264	3120	156	4710
3	0	2	1920	3	480	5430	300	7500
3	0	3		0				
3	1	0	1290	1	273	5430	159	7500
3	1	1	2250	1	510	5970	330	8100
3	1	2	3600	3	1050	10800	630	13200
3	1	3						
3	2	0	2790	1	540	10800	360	12900
3	2	1	4500	1	1050	11400	660	15600
3	2	2	6300	2	1050	12000	750	16600
3	2	3	8700	3	2700	29700	1380	45600
3	3	0	7200	1	1080	29700	780	45600
3	3	1	13800	1	2730	59400	1410	84000
3	3	2	33000	1	5460	121500	3420	171000
3	3	3	> 72000					

Tab2:Table de NNP à 5 tubes

Nombre de tube donnant une réaction positive sur			NPP	Limite de confiance 95 %	
5 tube de 5ml	5tube de 0.5ml	5tube de 0.05ml		Limite inferieur	Limite supérieure
0	0	1	<12	1	59
0	1	0	<12	1	59
0	2	0	<12	1	59
1	0	0	12	1	59
1	0	1	24	4	60
1	1	0	24	4	66
1	1	1	36	10	84
1	2	0	36	10	84
2	0	0	27	4	84
2	0	1	40	10	90
2	1	0	40	11	102
2	1	1	55	19	132
2	2	0	55	20	132
2	3	0	72	24	150
3	0	0	46	12	132
3	0	1	66	24	132
3	1	0	66	24	150
3	1	1	84	36	204
3	2	0	84	36	204
3	2	1	102	42	234
3	3	0	102	42	234
4	0	0	78	24	204
4	0	1	102	36	204
4	1	0	102	36	234
4	1	1	121	42	234
4	1	2	156	60	246
4	2	0	132	42	396

4	2	1	156	60	288
4	3	0	162	60	396
4	3	1	193	60	396
4	4	0	204	78	600
5	0	0	138	42	234
5	0	1	186	60	396
5	0	2	258	78	600
5	1	0	193	60	600
5	1	1	276	84	678
5	1	2	378	126	894
5	2	0	294	90	894
5	2	1	420	132	1008
5	2	2	594	204	1320
5	3	0	474	138	1320
5	3	1	694	120	1440
5	3	2	846	300	2100
5	3	3	1050	420	2340
5	4	0	780	180	2100
5	4	1	1032	360	2340
5	4	2	1326	420	2640
5	4	3	1668	600	4200
5	4	4	2070	600	4200
5	5	0	1440	420	4200
5	5	1	2088	600	6360
5	5	2	3252	900	9960
5	5	3	5508	1380	15180
5	5	4	9654	2400	27600

Tap 1: tableau de lecture de l'API20E.

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactif/Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	-2 nitrophényl- βDgalactopyranoside	0.223	β-Galactosidase (Ortho NitroPhényl- βDgalactopyranosidas	incolore	Jaune
ADH	L-arginine	1.9	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge/oran gé
LDC	L-lysine	1.9	Lysine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/oran gé
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/oran gé
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du CITrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/ bleu
H₂S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H₂S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir / liseré
URE	urée	0.76	UREase	jaune	Rouge/ orangé
DTA	L-tryptophane	0.38	Tryptophane DésAminase	TDA/immédiat	
				jaune	Marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0.19	Production d'INDole	JAMES/immédiat	
				Incolore ver pale/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoine(Voges Proskauer)	VP1+VP2/ min	
				Incolore /rose pale	Rose /rouge
GEL	Gélatine (origine bovine	0.6	Gélatinase(GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noit
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation oxydation (GLUcose)	Bleu/bleu- vert	Jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	1.9	Fermentation oxydation(MANnitol)	Bleu/bleu- vert	Jaune
INO	inositol	1.9	Fermentation /oxydation(INOsitol)	Bleu/bleu- vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation /oxydation(SORbitol)	Bleu/bleu- vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation /oxydation(RHAMnose)	Bleu/bleu- vert	Jaune

SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation /oxydation(SACcharose)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiole	1.9	Fermentation /oxydation(MELibiose)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	amygdaline	0.57	Fermentation /oxydation(AMYgdaline)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation /oxydation(ARAbinose)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		Cytochrome-Oxydase	voir notice du test) oxydase)	

Tap 1: tableau de lecture de l'APISraph.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT		
				Négatif	Positif	
0	Aucun		Témoin négatif	Rouge	-	
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	Rouge	jaune	
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose) acidification (D-ManNosE)			
MNE	D-mannose	1.4				
MAL	D-maltose	1.4				
LAC	D-lactose (origine bovine)	1.4				
TRE	D-tréhalose	1.32				
MAN	D-mannitol	1.36				
XLT	Xylitol	1.4				
MEL	D-mélibiose	1.32				
NIT	nitrate de potassium	0.08				Réduction des NITrates en nitrites
					incolore-rose pâle	rouge

PAL	β -naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min	
				jaune	violet
VP	sodium pyruvate	1.904	production d'acétyl méthyl- carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore- rose pâle	violet- rose
RAF	D-raffinose	1.56	acidification (RAFFinose)	rouge	Jaune
XYL	D-xylose	1.4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1.32	acidification (SACcharose)		
MDG	Glucopyranoside	1.28	acidification (Méthyl- α DGlucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1.28	acidification (N- AcétylGlucosamine)		
ADH	L-arginine	1.904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange- rouge
URE	Urée	0.76	UREase	jaune	rouge- violet

Annexe 3 (composition des milieux de lecture utilisés)

Les milieux liquides

Milieu de ROTHE

<i>composition</i>	<i>S/C g/l</i>
Peptone	20,00g
glucose	05,00g
Azide de sodium	05,00g
Chlorure de sodium	05,00g
Phosphate bipostassique	02,70g
Phosphate mono potassium	02,70g
Eau distillée	1000ml

Milieu de Eva –litsky

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
peptone	20
glucose	5
Azide de sodium	5
Phosphate bipostassique	7.2
Azothvate de sodium	0.3
Ethyle-violette	5
Eau distillée	1000
PH	7

Le PH final: 6,8 à 7, l'autoclave à 120°C pendent 20min.

Eau peptonée exem pte d'indole

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Peptone exempte d'indole	10
Chlorure de sodium	5
PH	7.2

Les milieux solides (gélose)**Gélose salmonella- shigilla(SS)**

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Peptone pancréatique de caséine	10
Lactose	10
Sels biliaire	6
Extrait de viande citrate de sodium	5
Citrate de fer ammonical	1
Thiosulfate de sodium	8,5
Rouge neuter	0,0025
Vert brillant	0,00033
Citrate de sodium	8,5
Eau distille sterile	1000

Gélose Chapman

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Extrait de viande	5
Peptone	10
Extrait de levure	6
Lactose	20
Bleu de bromothymol	0,05
Agar	20

Gélose nutritive

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
peptone	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar	15
Eau distillée	1000
PH	7,4

Les reactifs**Reactif TDA**

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Perchlorure de fer	3.4
Eau distillee	100

reactifs de voges proskauer (VP)

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>	
VP1	Hydroxyde de potassium	40
	Eau distille	100
VP2	Alpha naphтол	6
	éthanol	100

RESUME

Cette étude porte sur l'évaluation de la qualité bactériologique des eaux et des mollusques bivalves (*Donax trunculus*) du golf d'Annaba pour cela nous avons effectués un échantillonnage de cette espèce à partir des deux sites Sidi Salem et El- Bettah.

Les analyses bactériologiques sont basés principalement sur le dénombrement des bactéries indicatrices de la contamination fécale à savoir les Coliformes totaux, les Coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux, et les germes non spécifiques de la contamination fécale qui sont les germes totaux présentes dans les échantillons.

Les résultats du profil biochimique réalisées ont montré des concentrations très élevées en Coliformes totaux, en Coliformes fécaux et en Streptocoques fécaux, qui dépassent largement les valeurs guide toléré, ainsi que, l'isolement des espèces bactériennes y compris des germes pathogènes susceptibles de causer des maladies graves (*Staphylococcus capités*, *Staphylococcus xylosus* 99,8 %, *Staphylococcus xylosus* 75,7%, *Staphylococcus caprae*, *Pantoea spp.*, *Serratia fonticola*).

Les sites Sidi Salem et El Bettah sont fortement polluées et présente des milieux de vie de mauvaise qualité microbiologique selon la communauté européenne décrite 1991. D'où ces deux sites sont classées dans la catégorie D, qui désigne que c'est interdit de récolter des coquillages pour la consommation humaine. Car sa peut provoquer un risque sanitaire grave pour la sante publique.

Cette forte contamination dans les sites étudiées est exprimée par une anthropisation nette, à laquelle est soumise cette zone du fait de sa proximité aux divers effluents de l'oued Seybouse et Mafragh.

Mots clés : microbiologiques, contamination, les bivalves, *Donax trunculus*, le milieu marin.

ABSTRACT

This study concerns the evaluation of the bacteriological quality of the bivalve molluscs (*Donax trunculus*) of the Annaba golf course for this reason we have carried out a sampling of this species from the two sites Sidi Salem and El-Bettah.

Bacteriological analyzes are based mainly on the enumeration of bacteria indicative of faecal contamination, ie total coliforms, fecal coliforms and faecal streptococci, and non-specific fecal contamination germs which are the total germs present in the samples.

The results of the biochemical profile showed very high concentrations of total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci which greatly exceed guideline values and the isolation of bacterial species including pathogenic germs likely to cause (*Staphylococcus capitalis*, *Staphylococcus xylosus* 99%, *Staphylococcus xylosus* 75.7%, *Staphylococcus caprae*, *Pantoea* spp., *Serratia fonticola*).

The Sidi Salem and El Bettah sites are highly polluted and present poor quality microbiological environments according to the European Community described in 1991. Hence these two sites are classified as category D, which means that it is forbidden to harvest Shellfish for human consumption. Because it can cause a serious health risk to public health.

This high contamination in the studied sites is expressed by a net anthropization, to which this zone is subjected because of its proximity to the various effluents of the wadi Seybouse and Mafragh.

Key words: microbiological, contamination, bivalves, *Donax trunculus*, marine environment.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نوعية البكتريولوجية للفوقاعيات ثنائية الصدفة المأخوذة من ساحل عنابة قمنا باخذ العينات من موقعين البطاح و سيدي سالم.

التحليل البكتريولوجية ارتكزت أساسا على تعداد البكتيريا الدالة على التلوث البرازي مثل القولونيات البرازية, المكورات السبحية و كذلك عن الاحياء الدقيقة الغير خاصة بالتلوث البرازي وهي جراثيم موجودة في العينة.

اظهرت نتائج التحليل البكتريولوجية وجود تلوث برازي مع تركيز عالي من القولونيلت البرازية المكورات العقدية التي تجاوزت بصفة ملحوظة القيم المسموح بها.

:بالاضافة الى تمكنا من عزل و التعرف على انواع البكتيريا الممرضة/القادرة على التسبب في امراض خطيرة
Staphylococcus capitalis, *Staphylococcus xylosus* 99%, *Staphylococcus xylosus* 75.7%, *Staphylococcus caprae*, *Serratia fonticola*.

يعتبر سيدي سالم و البطاح موقعين ملوثين بنسبة عالية مقارنة بالقيم المسموح بها من طرف الوحدة الأوروبية أي يستحيل استهلاكه لأنه يشكل خطر على الصحة حيث تم تصنيفهما ضمن الفئة 1199

تفسر نسبة التلوث العالية في المناطق الخاضعة للدراسة بالتأثير البشري الواضح حول تعديل البيئة الطبيعية ، والذي يخضع لهذه المنطقة بسبب قربها من النفايات السائلة المختلفة من وادي سبيوس و مافراغ.

الكلمات المفتاحية : بكتريولوجيا, التلوث , ثنائية الصدفة, *Donax trunculus* , الوسط المائي