

ÉVALUATION DE LA QUALITÉ MICROBIENNE DE L'EAU DE MER ET DES MOULES D'UNE FERME CONCHYLICOLE ALGÉRIENNE

NORA DJAHNIT^{1,2*}, HOUSSEYN OTMANI^{1,3}, RYHANE LOUNAS¹, AMEL YASMINE BEN ABD EL MOTALEB¹,
NARIMANE CHAMMA¹, NOUREDDINE DJERRAI¹, MOUSSAAB BERKANI^{1,3}

¹Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (ENSSMAL), BP 19, campus universitaire Dely Brahim, Alger, Algérie.

²Laboratoire de Conservation et Valorisation des Ressources Marines (LCVRM), Alger, Algérie.

³Laboratoire des écosystèmes marins et Littoraux (EcosysMarL), Alger, Algérie.

e-mail: djahnit.nora@gmail.com

DOI: 10.5281/zenodo.10350400

Résumé. Les fruits de mer, en particulier les mollusques, sont consommés crus ou insuffisamment cuits, ils constituent un risque potentiel d'intoxication alimentaire. De plus, ils filtrent l'eau et concentrent les micro-organismes et les toxines. Cette étude considère la qualité microbienne de l'eau de mer et des moules d'une ferme conchylicole située sur la côte algérienne. Les coliformes fécaux ont été dénombrés et des agents pathogènes tels que *Staphylococcus* et *Salmonella* ont été recherchés dans tous les échantillons. Les souches d'intérêt ont été caractérisées et identifiées avec les Galeries API 20E conformément aux instructions du fabricant.

Les résultats ont démontré que les concentrations des coliformes fécaux étaient inférieures à la limite autorisée (<500 UFC/100 ml) dans les échantillons d'eau de mer. Cependant, la présence de *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella spp.* était positive dans toutes les stations. Concernant les échantillons de moules, les résultats ont montré qu'ils étaient fortement contaminés par les coliformes fécaux (>300 UFC/100 g) cependant *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella spp.* ont été détecté. L'identification par les galeries API 20E a révélé la présence de la même espèce *Salmonella enterica ssp Arizona* dans les échantillons d'eau de mer et de moules. Compte tenu des indicateurs et des agents pathogènes bactériens étudiés, les moules examinées étaient de mauvaise qualité microbiologique, ce qui peut menacer la santé des consommateurs.

Mots clés : moules, qualité microbienne, Salmonelles, Algérie, risque sanitaire

Abstract. Seafood, particularly bivalve mollusks, are eaten raw or undercooked, making them a potential risk of food poisoning. Moreover, these animals filter water and concentrate microorganisms and toxins. This study considers the microbial quality of seawater and mussels sampled from a shellfish farm on the Algerian coast. Samples were investigated by enumeration methods for the fecal indicators and the research of pathogens such as *Staphylococcus* and *Salmonella*. Strains of interest have been characterized and then identified with API 20E test galleries following the manufacturer's instructions.

The seawater's microbiological results revealed that the levels of fecal coliforms were lower than the allowed limit (<500 CFU/100 ml) in all the stations during the study period. However, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* were positive in all stations. Regarding mussel samples, the results showed that they were highly contaminated by fecal coliforms (>300 CFU/100 g). Similarly to seawater's results, we detected the presence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* Isolate's identification by API 20E test galleries revealed the presence of the same species *Salmonella enterica ssp Arizona* in seawater and mussels' samples. When considering the indicators and bacterial pathogens investigated, the mussels examined were of bad microbiological quality, which can threaten consumer health.

Key words: mussels, microbial quality, Salmonella, Algeria, health risk

1. INTRODUCTION

L'aquaculture est une activité en pleine expansion et joue un rôle de plus en plus crucial dans la production alimentaire mondiale en fournissant des sources de protéines hautement nutritives essentielles à une population qui ne cesse de croître. L'aquaculture contribue à la sécurité alimentaire et à la réduction de la pression exercée sur les ressources halieutiques sauvages avec une contribution qui a pu atteindre 49,2% soit la moitié de la production mondiale d'animaux aquatiques en 2020 (FAO, 2020). Selon les rapports statistiques de la FAO, la production aquacole mondiale a connu une croissance significative au cours des dernières décennies avec un taux de croissance moyen de 5% entre 1994 et 2015 (FAO, 2022).

Les mollusques sont le deuxième groupe le plus produit dans le monde. La conchyliculture mondiale (l'élevage de coquillages ou des mollusques bivalves marins) produit 17,1 millions de tonnes pour une valeur estimée à 29,2 milliards d'USD en 2016 (FAO, 2018).

Les moules (mollusques bivalves) constituent une denrée alimentaire très appréciée par les consommateurs (China *et al.*, 2003). Leurs cultures sont généralement situées dans des zones côtières fortement anthropisées. Bien que ces zones garantissent un bon approvisionnement en nutriments pour l'élevage des moules, elles pourraient toutefois représenter une importante source de pollution (Battistini *et al.*, 2020). En effet, le milieu côtier est soumis à de multiples sources de contamination d'origine humaine : eaux usées urbaines, ruissellement des eaux pluviales dans les zones agricoles (Fiorito *et al.*, 2021).

La contamination des eaux littorales par les eaux résiduaires explique la présence des germes d'origine intestinale dont la survie varie : elle est courte (de quelques heures à quelques jours) pour les Salmonelles et Shigelles, elle peut être suivie par celle d'*Escherichia coli* qui sert de témoin de contamination fécale ; plus longue : plusieurs jours pour le virus de l'hépatite A dont la présence peut être suspectée par celle des Streptocoques fécaux dont la résistance est équivalente (Rozier, 1990). En filtrant l'eau, les moules concentrent les micro-organismes qui y sont. Aussi, la présence dans l'eau de bactéries ou de virus potentiellement pathogènes pour l'homme peut constituer un risque sanitaire (gastro-entérite, hépatite virale) lors de la consommation des moules qui sont généralement mangées crues ou mal cuites (Purpari *et al.*, 2019 ; Padovan *et al.*, 2020). La qualité sanitaire des moules est donc directement liée à celle des eaux dans lesquelles elles sont cultivées.

Les microorganismes pathogènes présents dans l'eau de mer sont pour l'essentiel d'origine fécale. Leur présence est due principalement aux activités anthropiques (les rejets d'eaux usées, les industries, les eaux pluviales). Ces microorganismes peuvent être filtrés par les moules et s'accumuler dans leurs chairs (Taminiau *et al.*, 2014). Dans ce

contexte, il est important d'évaluer la qualité microbiologique de l'eau ainsi que des moules destinées à la consommation afin de garantir leur qualité sanitaire. L'objectif de cette étude, est d'évaluer la qualité de l'eau ainsi que des moules issues d'une ferme conchylicole localisée au niveau de la baie de Bou Ismail en Algérie, et de voir si la qualité de l'eau en particulier les sels nutritifs et la contamination bactérienne ne montrent pas de niveaux alarmants pouvant présenter un risque à la santé publique.

2. ZONE D'ÉTUDE

La baie de Bou Ismail se situe dans la partie centrale du littoral algérien, elle est localisée au niveau de la wilaya de Tipaza. Délimitée par Ras-Acrata à l'Est et le mont Chenoua à l'Ouest elle couvre une superficie de 305 km² et est considérée comme l'une des plus importantes baies de la côte algérienne (Fig.1). La région de Bou Ismail est une région où se confondent diverses activités agricoles, touristiques et industrielles. De ce fait elle est de plus en plus soumise aux différentes sources potentielles de pollutions (Houma *et al.*, 2013 ; Benfares *et al.*, 2015). Ajoutant à cela les rejets d'eaux usées véhiculées par les Oueds (Nador et Mazafran) qui traversent les centres urbains et qui se déversent en mer, drainant les eaux de ruissellement des terres agricoles, des effluents urbains et industriels (Boudjema *et al.*, 2023).

La ferme aquacole au niveau de laquelle les échantillons ont été prélevés est une ferme composée de deux concessions à terre et en mer. La culture est faite sur filière de sub-surface. La ferme vise à produire 400 tonnes de moules (*Mytilus galloprovincialis*) annuellement.

3. MÉTHODES

3.1. ÉCHANTILLONNAGE

Quatre stations au total ont été choisies pour le prélèvement d'eau de mer, une à l'entrée des filières (S1), deux au niveau des filières (S2 et S3) et la quatrième (S4) à la sortie des filières.

Les prélèvements d'eau ont eu lieu durant le printemps 2021 et ont été effectués manuellement dans des flacons en verre préalablement nettoyés et stérilisés. Les flacons sont plongés à une profondeur d'environ ~30 cm au-dessous de la surface de l'eau puis ouverts à contre-courant. Une fois remplis, ils sont refermés sous l'eau pour éviter la formation de bulles d'air et tout risque de contamination.

Quant aux moules, il s'agit de l'espèce *Mytilus Galloprovincialis*. Le prélèvement a été effectué de manière aléatoire directement après récolte simultanément aux prélèvements des échantillons d'eau. Le choix s'est porté sur des individus matures ayant atteint la taille de commercialisation, à savoir 4 à 5 cm selon la loi algérienne (JORA, 2004). Après le prélèvement, tous les échantillons ont été immédiatement transportés au laboratoire dans une glacière (4–8°C) à l'abri de la lumière.

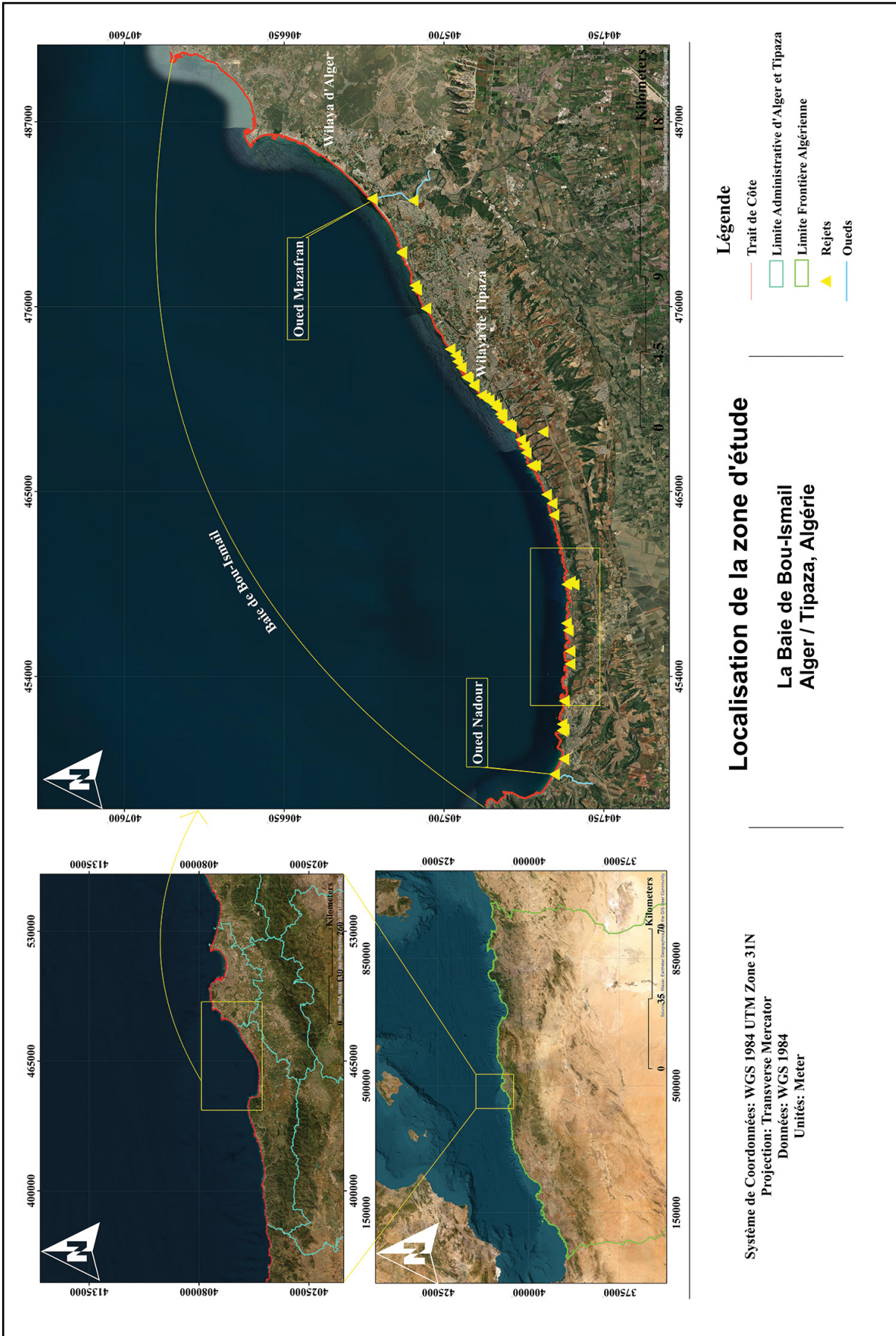


Fig. 1. Localisation de la zone d'étude

3.2. PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU

La température, salinité et pH ont été mesurés in situ à l'aide d'une valise multi-paramètres préalablement calibrée (Multiline F/SET W.T.W Wissenschaftlich, Technishe, Werstätten). L'oxygène dissous a été mesuré à l'aide d'un oxymètre de terrain (HANNA, HI9146).

La mesure des MES (matières en suspension) est basée sur la filtration d'un volume représentatif d'eau de mer (1 litre). La filtration a été effectuée sur une rampe de filtration reliée à une pompe à vide. Les filtres utilisés sont en fibres de verre de 0,7 µm de porosité (Whatman GF/C). Le filtre est séché et pesé avant et après filtration. La différence de poids entre les deux pesées nous renseigne sur la charge en MES (Aminot et Chaussepied, 1983 ; Rodier *et al.*, 2005). L'analyse des sels nutritifs (nitrate, nitrite, phosphate et silicium) a été faite par la méthode de colorimétrie, sur chaîne automatisée SKALAR (Auto-analyser SAN PLUS) (SKALAR, 1998).

3.3. ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES DE L'EAU DE MER

Les germes recherchés dans l'eau de mer sont les coliformes totaux, fécaux dont *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux par la méthode de dénombrement. Ces germes sont révélateurs de contamination fécale récente. Des germes supplémentaires : Staphylocoques, Vibrio et Salmonelles ; qui sont des indicateurs de proximité ou d'une contamination fécale ancienne sont également recherchés (absence ou présence). Les échantillons ont été inoculés dès leur arrivée au laboratoire. Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux et la recherche des staphylocoques dans les échantillons d'eau de mer, s'est fait suivant la méthode de filtration sur membrane. 100 ml d'eau de mer de chaque station, sont filtrée sur un filtre de 0,22 µm de porosité. Les filtres sont ensuite déposés sur des boites de pétri contenant le milieu sélectif pour chaque germe. Le résultat sera exprimé en Unité Formant Colonie par 100 ml d'eau

analysée (UFC/100ml) (Beleneva, 2011 ; Rio *et al.*, 2017). Afin de confirmer la présence d'*Escherichia coli*, des colonies jaunes apparues suite à la culture sur gélose Tergitol sont ensemencées dans des tubes contenant de l'eau peptonée exempt d'indole puis incubé à 44°C pendant 24h. L'apparition d'un anneau rouge après addition du réactif de Kovacs, indique la production d'indole et confirme donc la présence d'*Escherichia coli*.

La recherche des salmonelles et des vibrio s'est faite par la méthode qualitative qui consiste à faire deux enrichissements successifs afin d'inhiber le développement des autres bactéries (Uchiyama, 2000 ; Hebbar *et al.*, 2015). Le tableau 1, résume les différents milieux (d'enrichissement et d'isolement) utilisés pour chaque germe, ainsi que les conditions d'incubations et les résultats attendus.

3.4. ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES DES MOULES

L'analyse des échantillons de moules s'est faite dans les heures qui ont suivi leur récolte, afin d'éviter toute prolifération ou modification de la communauté bactérienne. Une fois au laboratoire, les moules sont débarrassées des byssus et des épizoaires présents sur leurs coquilles, puis brossées sous l'eau du robinet. Après ouverture aseptique, le contenu entier : chair et liquide inter-valvaire est recueilli stérilement et soumis au broyage par un broyeur homogénéisateur (OMS, 1983). 25g du mélange obtenu est ajouté à 225ml d'eau distillée stérilisée afin d'obtenir la solution mère (10⁻¹). A partir de cette solution, des dilutions décimales sont préparées (jusqu'à 10⁻⁴) qui serviront d'inoculum pour la suite des analyses.

Les germes recherchés sont les mêmes que ceux de l'eau de mer.

Tableau 1. Résumé des milieux utilisés pour l'enrichissement et l'isolement ainsi que les conditions d'incubation des différents germes dans les échantillons d'eau de mer.

Germes recherchés	Milieu d'enrichissement	Milieu d'isolement	Conditions d'incubation	Résultats attendus
Coliformes totaux	-	Tergitol	24-48h à 37°C	• Colonies rouge jaune
Coliformes fécaux	-	Tergitol	24-48h à 44°C	• Colonies jaune
Streptocoques fécaux	-	Slanetz et Bartley	24-48°C à 44°C	• Colonies rouge brique
Staphylocoques	-	Chapman	24-48h à 37°C	• Colonies jaune dorée • Virage de la couleur du milieu indique la présence de <i>S.aureus</i>
Salmonelles	Bouillon SFB (Bouillon Sélénite Cystine)	Gélose SS (Salmonelles- Shigelles)	18-24h à 37°C	• Colonies transparentes à centre noir
Vibrio	EPA (Eau Peptonée Alcaline)	TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose)	18-24h à 37°C	• Colonies jaune + virage de la couleur du milieu (<i>V.cholerae</i>) • Colonies verte (autre vibrio)

3.4.1. Les coliformes

Le dénombrement des coliformes s'est fait par ensemencement en masse sur milieu gélosé lactosé désoxycholate 1‰ qui est un milieu sélectif pour le dénombrement des coliformes. Un volume de 1 ml d'inoculum de chaque dilution est dispersé dans le fond d'une boîte de pétri, et le milieu de culture est ensuite coulé par dessus. L'opération est répétée deux fois pour chaque dilution. Les boîtes sont par la suite incubées pendant 24 à 48h à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux. Le dénombrement des coliformes se fait par le comptage des colonies roses de formes lenticulaire. Le nombre des coliformes est évalué par le calcul de la moyenne pondérée à partir des résultats de deux dilutions successives dont le nombre de colonies est compris entre 15 et 150 (selon la norme ISO 7218 :2007)

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1d} \quad (1)$$

Avec :

N : le nombre d'unité formant colonie ;

$\sum C$: le nombre de colonies comptées sur les deux boîtes retenues ;

V : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres

d : la dilution correspondant à la première boîte retenue avec l'inoculum le moins dilué.

3.4.2. Les Staphylocoques

La recherche des staphylocoques dans les échantillons de moules s'est faite par l'étalement en surface. 100 µl de chaque dilution est déposé puis étalé sur la surface de boîtes contenant le milieu Baird Parker, qui est un milieu utilisé pour l'isolement des *S.aureus*. Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 24 à 48h. La présence de ce germe est traduite par l'apparition de colonies noires. Une confirmation de la présence de *S.aureus* est faite par le transfert des colonies sur des boîtes de pétri contenant le milieu Chapman. L'apparition de colonies jaunes dorées avec un virage de la couleur du milieu confirme le résultat (Baird, 1979 ; Beleneva, 2011).

3.4.3. Les Salmonelles

La recherche des Salmonelles s'est faite par la méthode d'enrichissement. 1ml de la solution mère (10^{-1}) est ensemencé dans 10 ml de bouillon SFB (Bouillon Sélénite Cystine). Après incubation à 37°C pendant 18 à 24h, un second enrichissement est effectué puis l'isolement est réalisé sur gélose SS (Salmonelles- Shigelles).

3.4.4. Les vibrio

Pour la recherche des vibrio, le mélange chair-liquide intervalvaire (25g) est enrichie dans 225 ml d'EPA (eau peptonée alcaline). Après incubation à 37°C pendant 18-24h, un isolement est réalisé sur gélose TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Saccharose). Une lecture est faite après incubation dans les mêmes conditions (Nuñal *et al.*, 2023).

3.5. IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DES SOUCHES D'INTÉRÊT

Afin de mieux caractériser les souches isolées lors de la recherche des différents germes, une série de tests a été effectué tels que, la coloration de Gram, test de la Catalase et d'oxydase. Le test de Coagulase a également été réalisé pour différencier les souches de *S.aureus* des autres espèces à coagulase négative. Pour l'identification des entérobactéries (Salmonelles), le test TSI (Triple Sugar Iron) a été réalisé par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, glucose, saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène. Dans le but de confirmer les résultats obtenus par les différents tests, les souches sélectionnées ont été identifiées par galerie API 20E (Biomériaux, Marcy l'étoile, France) suivant les instructions du fabricant.

4. RÉSULTATS

4.1. LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU DE MER

Les paramètres physico-chimiques peuvent affecter de manière significative la qualité de l'eau dans les milieux côtiers. Les résultats des mesures de la température, salinité, pH, MES et O_2 sont récapitulés dans le tableau 2. Les résultats montrent que :

Pratiquement les mêmes valeurs de températures ont été enregistrées dans les différentes stations ($18,1 \pm 0,3^\circ C$).

Tableau 2. Résultats des paramètres physico-chimiques dans les échantillons d'eau de mer.

Stations	T°C (± 0,1)	Salinité (± 0,1 PSU)	pH (± 0,02)	MES (mg/l)	O_2 (mg/l)	Sels Nutritifs			
						Nitrate NO_3^- (µM)	Nitrite NO_2^- (µM)	Phosphate PO_4^{3-} (µM)	Silicium SiO_2 µM)
S1	17,9	35,40	8,05	5,97	6,98	0,035	0,049	0,070	0,099
S2	18,5	35,12	8,03	23,19	7,74	0,027	0,037	0,050	0,184
S3	18,2	34,88	8,07	20,30	6,84	0,037	0,041	0,038	0,194
S4	17,8	35,75	8,04	30,43	7,24	0,046	0,064	0,016	0,101

Ceci reflète les conditions météorologiques des périodes saisonnières printanières. Des valeurs similaires ont été obtenues dans la même zone par Boudjema *et al.* (2023) durant le printemps 2019 avec une température moyenne de $17,5 \pm 0,28^\circ\text{C}$.

Les valeurs de salinité obtenues sont assez homogènes dans les différentes stations et ont peu varié. Elles ont été comprises entre 34,88 et 35,75 psu, les mêmes résultats ont été observés par Mesbaiah *et al.* (2022) qui ont obtenu une moyenne de 35,75 psu durant le printemps 2019 dans la même zone d'étude. Cependant, Les taux de salinités obtenues sont plus faibles comparées à celles signalées au niveau la baie de Bou Ismail dans d'autres études. Chabane *et al.* (2020) ont obtenus des valeurs comprises entre 36,25 et 36,91 psu tandis que Boudjema *et al.* (2023) ont eu une moyenne de $36,7 \pm 0,42$ psu. Bakalem *et al.* (2020) ont obtenus des valeurs de salinité encore plus élevées entre 37 et 38 psu. Les taux de salinité observées sont légèrement inférieurs à la salinité des eaux de la méditerranée qui avoisine 37 psu (Millot *et al.*, 2005). Ceci semble être due aux précipitations survenues les jours précédents la période d'échantillonnage.

Le pH au niveau des stations d'échantillonnage était relativement stable et a peu varié avec une moyenne de $8,04 \pm 0,01$. Ces valeurs se rapprochent de celles obtenues par Mesbaiah *et al.* (2023) avec une moyenne de 8,1. Les valeurs de pH obtenues reflètent le pH des eaux superficielles. En effet en raison de l'acidification des océans, Il a été estimé que de 1950 à 2021, le pH des eaux de surface a diminué, passant de 8,15 à 8,05 (Harley *et al.*, 2006).

La présence des Matières En Suspension provoque une turbidité de l'eau et modifie qualitativement et quantitativement la pénétration de la lumière et donc une baisse de l'activité photosynthétique dans la couche euphotique. Les teneurs moyennes en MES au niveau des différentes stations ont varié entre 5,97 et 30,43 mg/l. Ces valeurs sont conformes aux normes nationales (Décret exécutif 06-141 du 19 avril 2006 / JORADP / 23-04-2006) et internationales (OMS/PNUE, 1995) qui fixent comme valeur limite pour les MES, une concentration de 35 mg/l. La comparaison des résultats avec des travaux antérieurs menés dans la même zone d'étude, tels que ceux de Mesbaiah *et al.*, (2023), met en évidence une fluctuation des teneurs en MES avec des concentrations dépassant 35 mg/l. La même tendance est observée dans les études de Bachari Houma, (2009) et Alouache *et al.*, (2012) qui ont signalé des valeurs de 100 mg/l et 174,4 mg/l respectivement.

Les concentrations en oxygène dissous au niveau des différentes stations ont peu varié et ont été comprises entre 6,84 et 7,74 mg/l. Ces valeurs sont supérieures à la norme qui exige des concentrations en oxygène dissous supérieur à 5 mg/l dans les établissements conchylicoles (MPRH, 2019). Les résultats révèlent que l'eau de mer est bien oxygénée. Ceci peut être dû à l'agitation à cause du mauvais temps survenu les jours précédents l'échantillonnage.

L'évaluation de la teneur des sels nutritifs en particulier l'azote et le phosphore joue un grand rôle dans la détermination du statut écologique des systèmes aquatiques (Jarvie *et al.*, 1998). Leurs présences dans les milieux aquatiques à des concentrations élevées contribuent à l'eutrophisation de ces derniers, qui trouvent leurs équilibres bouleversés avec le constat d'une menace aussi bien sur la faune que sur la flore. La surveillance du niveau de ces nutriments est nécessaire pour évaluer la qualité de l'eau.

Les résultats des analyses des sels nutritifs dans les différentes stations montrent que, les valeurs enregistrées sont relativement faibles. Les concentrations des nitrates ont peu varié et ont été comprises entre 0,027 et 0,046 μM . Tandis que les valeurs des nitrites variaient de 0,037 à 0,064 μM . Ces valeurs sont inférieures à celles rapporté par Mesbaiah *et al.* (2023) dans la baie de Bou Ismail, qui ont obtenues des valeurs autour de 0,29 μM et 0,08 μM pour les nitrates et les nitrites respectivement. Les valeurs de nitrates sont inférieures à celles rapportées Rouane-Hacene *et al.* (2015) sur la côte ouest algérienne (18,87 – 263,36 μM) ; Des concentrations élevées de nitrate (1,1 à 12,5 μM) ont également été signalées à l'Est au golf de Annaba par Ounissi *et al.* (2016).

En ce qui concerne les concentrations des orthophosphates, elles étaient comprises 0,016 et 0,070 μM ; tandis que celles des silicates ont été comprises entre 0,099 et 0,194 μM . Les résultats de ces études ont montré des concentrations plus faibles que celles mesurées par Ounissi *et al.* (2016), où la valeur maximale était de 4,4 μM . Cependant, un niveau élevé d'orthophosphate a été rapporté par Belkacem *et al.* (2016) (5,68 à 20,43 μM).

D'un point de vue général, les résultats des paramètres physico-chimiques étudiés au niveau des différentes stations, sont dans les normes de la qualité de l'eau de mer destinée à l'aquaculture et ne présentent pas de taux alarmants pouvant altérer la qualité des moules.

4.2. QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE DE L'EAU DE MER

La pollution microbienne de l'eau de mer constitue un sérieux problème de santé écologique et peut avoir des impacts sur la morphologie, la physiologie et la biodiversité des organismes vivants dans le plan d'eau. La présence de germes pathogènes d'origine fécale, peut entraîner des maladies et des pertes économiques pour les activités qui dépendent essentiellement de l'eau de mer telles que l'aquaculture.

Les concentrations moyennes en coliformes totaux dans les différents échantillons de l'eau de mer ont été comprises entre 100 et 273 UFC/100 ml. Ces valeurs sont inférieures à la valeur guide fixée par la législation algérienne (500 CT/100 ml) (JORA, 1993). Il en est de même pour les coliformes fécaux (y compris *E.coli*) dont les concentrations ont été comprises entre 4 et 30 UFC/100 ml sachant que la valeur guide est de 100 CF/100 ml d'eau de mer (Tableau 3).

Tableau 3. Valeurs moyennes des paramètres bactériologiques étudiés dans les échantillons d'eau de mer et des moules (+ : présence ; - : absence).

	UFC/100 ml d'eau de mer					UFC/100 g de chair	
	S1	S2	S3	S4	Valeur guide	Moules	Valeur guide
Coliformes totaux	100	135	134	273	500	920	300
Coliformes fécaux	4	3	10	30	100	436	300
Streptocoques fécaux	33	8	14	11	100	-	Absence
Salmonelles	+	+	+	+	Absence	+	Absence

Une faible concentration des coliformes fécaux a été signalée en mars 2009 par Alouache *et al.* (2012) (25 et 19 ufc/100 ml à Berrard et Anse de kouali dans la partie Ouest de la baie de Bou Ismail). Touahir *et al.* (2023) ont relevé que la concentration des coliformes (totaux et fécaux) dépassaient les valeurs guides au niveau de deux plages (paillote et colonel Abbas) dans la baie de Bou Ismail et la qualité des eaux a été considérée comme médiocre. Cependant, au niveau de Fouka Marine et l'Anse de Kouali, la qualité des eaux a été labellisée bonne car la concentration en coliformes totaux et fécaux n'a pas dépassé les valeurs guide.

La charge des eaux de surface en streptocoques fécaux au niveau de toutes les stations est inférieure à la valeur guide qui est de 100 SF UFC/100ml (JORA, 1993) (Tableau 3).

Mesbaiah *et al.* (2023) ont obtenus des résultats similaires, ou les concentrations des coliformes et des streptocoques fécaux ne dépassaient pas la valeur guide, dans la même zone d'étude. Sur le milieu Slanetz-Bartley, les colonies rouge brique ont été purifiées et ont fait l'objet d'une caractérisation biochimique. Les résultats de l'identification par la galerie API des souches sélectionnées ont démontré la présence d'*Enterococcus faecalis* au niveau de toutes les stations (tableau 4). Di Cesare *et al.* (2012) ont isolé la même espèce au niveau d'une ferme piscicole côtière en Italie et ont prouvé sa résistance à de nombreux antibiotiques. Kimiran-Erdem *et al.* (2007) ont pu isoler *E.faecalis* dans les échantillons d'eau de mer à Istanbul et ont également pu démontrer sa résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds. Le haut niveau de résistance de cette bactérie aux antibiotiques contribue à sa pathogénicité (Ray et Ryan, 2014). Les streptocoques fécaux sont de bons témoins d'une contamination fécale, elles résistent dans le milieu marin et cela grâce à leurs caractéristiques physiologiques qui leur confèrent une meilleure adaptation par rapport aux autres germes indicateurs.

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont Gram positifs, halophiles. Elles sont principalement isolées de la peau et des muqueuses des animaux à sang-chaud (Chapman 1945, Becker *et al.*, 2014). Ces bactéries sont considérées comme des marqueurs d'hygiène des produits alimentaires et notamment des produits aquatiques (Hammad *et al.*, 2012).

La recherche et le dénombrement des Staphylocoques a indiqué leur présence dans tous les échantillons d'eau de mer analysés. L'analyse des caractères biochimiques de ces germes a révélé qu'il s'agit de *Staphylococcus aureus* (Colonies jaune doré sur Chapman, mannitol+, cocci Gram+ en amas, catalase+, coagulase+) (Fig. 2). *S.aureus* est le pathogène le plus important du genre *Staphylococcus* et est souvent présent dans l'environnement (Stratev *et al.*, 2021).

Salmonella est fréquemment isolée dans les eaux marines, y compris celles utilisées pour les activités aquacoles. Les activités terrestres contribuent à la présence de Salmonella dans les eaux environnementales via les rejets d'eaux usées et le ruissellement urbain et agricole (Patchanee *et al.*, 2010 ; Walters *et al.*, 2011).

L'enrichissement sur milieu SFB et l'isolement sur milieu SS, ont révélé l'apparition de colonies transparentes à centre noir (Fig. 2). Après purification, ces souches ont été caractérisées (Gram, Catalase, TSI). Les résultats de l'identification par la galerie API des souches sélectionnées ont indiqué qu'il s'agit de l'espèce *Salmonella enterica* Subsp. *Arizonae*. La présence de cette bactérie a été signalé au niveau des stations 1, 2 et 4. *Salmonella enterica* est l'agent étiologique le plus courant des maladies gastro-intestinales bactériennes dans le monde (Bell et Kyriakides, 2008). Il est acquis par contact direct ou indirect avec les matières fécales d'un animal infecté, généralement par le biais d'aliments ou d'eau contaminés (Walters *et al.*, 2013). Une étude menée par Setti *et al.* (2009) au Maroc, a permis d'isoler 10 souches de *S.enterica* avec deux sérotype ; le sérovar *S. enterica* Senftenberg étant le plus fréquent. Au Portugal, 45 souches de Salmonella ont été isolées des eaux côtières, et *S. Virchow* était le plus répandu des 17 sérovars identifiés (Catalao-Dionisio *et al.*, 2000). Baudard *et al.* (2000) ont trouvé 35 sérovars différents parmi 413 souches isolées des milieux aquatiques français ; *S. Typhimurium* était le plus commun. Haley *et al.* (2009) ont identifié 13 sérovars parmi 197 isolats provenant d'eau de surface en Géorgie, aux États-Unis ; la majorité des isolats étaient *S. enterica* subsp. *arizona*. Il a été démontré que Salmonella reste viable plus longtemps que de nombreuses autres bactéries entériques présentes dans les eaux, ce qui suggère que le milieu aquatique peut représenter un environnement relativement stable pour ces bactéries, augmentant ainsi la probabilité d'exposition environnementale (Chao *et al.*, 1987 ; Wright, 1989).

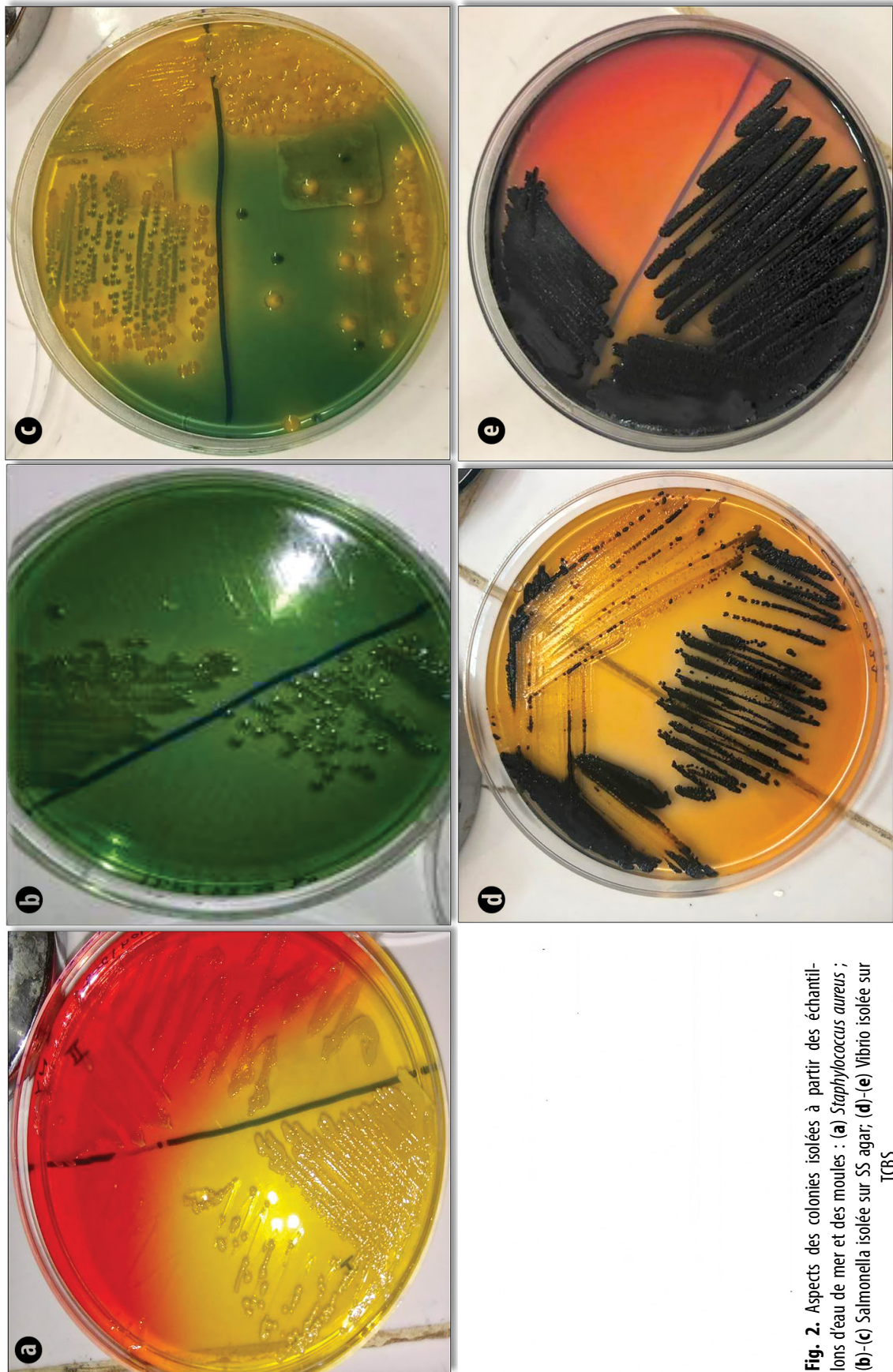


Fig. 2. Aspects des colonies isolées à partir des échantillons d'eau de mer et des moules : (a) *Staphylococcus aureus* ; (b)-(c) *Salmonella* isolée sur SS agar; (d)-(e) *Vibrio* isolée sur TCBS

Les bactéries du genre *Vibrio* sont des germes aquatiques appartenant à la famille des Vibrionaceae. Ce sont des bactéries à Gram négatif, incurvées et très mobiles capables de se multiplier à de fortes concentrations de salinité, ce qui leur permet de coloniser l'eau de mer (Carip *et al.*, 2015). Des colonies jaunes (avec virage de la couleur du milieu) et vertes de petites tailles ont été obtenues suite à l'isolement sur milieu TCBS. Ces colonies ont été par la suite caractérisées biochimiquement. L'observation au microscope après coloration de Gram a indiqué qu'il s'agit de bactérie Gram négatif, bacille et de forme incurvée. Le résultat de la caractérisation morphologique et microscopique indique que ces bactéries appartiennent au genre *Vibrio*. Cependant ce résultat n'a pas pu être confirmé par l'identification par galerie API. Ceci peut être dû au fait de la non spécificité des galeries utilisées pour l'identification des *Vibrio*. Il est donc suggéré de pousser l'identification vers le séquençage afin de confirmer l'appartenance des souches isolées au genre *Vibrio*.

4.3. QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE DES MOULES

Les mollusques sont des organismes qui présentent un risque de point de vue des toxi-infections alimentaires, surtout du fait que c'est des aliments souvent consommés crus ou peu cuits.

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux permettent d'apprécier l'importance de la contamination dans les produits conchylicoles destinés à la consommation humaine. La concentration des coliformes totaux dans les échantillons de moules était de 920 UFC/100g, tandis que celle des coliformes fécaux était de 436 UFC/100g. Ces valeurs sont supérieures à la norme fixée par la législation algérienne qui est de 300 UFC/100g pour les coliformes totaux et fécaux (JORA, 2017). Les concentrations des coliformes dans les moules sont plus importantes que celles trouvées dans l'eau de mer. Ceci peut être dû au fait que ces bactéries pourraient survivre plus longtemps dans les mollusques bivalves que dans l'eau de mer en plus de leur capacité de se reproduire (Solic *et al.*, 1999).

La recherche et le dénombrement des staphylocoques, notamment *Staphylococcus aureus* se fait afin d'apprécier la salubrité des milieux d'élevage et de contrôler la qualité de produit conchylicole. L'ensemencement sur le milieu Chapman a permis d'obtenir des colonies jaunes dorées avec un virage de la couleur du milieu. La caractérisation biochimique de ces souches a révélé qu'il s'agit de *S.aureus* (mannitol+, cocci Gram+ en amas, catalase+, coagulase+). Ce résultat est similaire à celui obtenu pour les échantillons d'eau de mer. La présence de ces bactéries dans les moules dépend de leur présence dans l'eau dans laquelle elles vivent. Cela met l'accent sur la capacité de *Mytilus galloprovincialis* à accumuler des bactéries du milieu environnant. *S.aureus* se trouve souvent dans divers aliments, y compris les fruits de mer (Vaiyapuri *et al.*, 2019). Le risque pour la santé publique est lié à la capacité de 50 % des souches de *S.aureus* à

produire des entérotoxines thermostables. Les symptômes d'intoxication staphylococcique apparaissent généralement rapidement (1 à 6 heures) et comprennent souvent des nausées, des vomissements, de la diarrhée et des douleurs abdominales (Stratev *et al.*, 2021).

Concernant les *Salmonelles*, les résultats ont été comparables à ceux obtenus pour les échantillons d'eau de mer. Des colonies transparentes avec centre noir sont apparues et leur identification a indiqué qu'il s'agit de l'espèce *Salmonella enterica* Subsp. *Arizonae*. La bactérie *Salmonella enterica* est l'une des causes les plus fréquentes d'infections d'origine alimentaire transmise à l'homme, principalement par des produits d'origine animale (Desenclos *et al.*, 1996). Les salmonelles ne font pas partie des germes présents naturellement dans les produits issus de la mer. Elles s'y trouvent suite à une pollution par les eaux dont l'origine est urbaine ou agricole. D'importantes précipitations peuvent augmenter leur présence, à noter que d'importantes pluies sont survenues les jours précédents l'échantillonnage. Sur la figure 01, est projetée la localisation des points de rejet dénombrés tout au long de la baie de Bou Ismail, ces points représentent une variété en matière d'eaux résiduelles déversées. Une forte densité des points de rejets est relevée au niveau du centre de la baie où se localise la zone industrielle, la partie ouest de la baie compte elle, plus de dix points de rejets, ce qui représente une source d'apports considérable en eaux domestiques non traitées.

La survie des salmonelles dans les eaux marines est de courte durée (quelques heures). Cependant un mécanisme de bioconcentration peut les rendre dangereuses si les produits sont consommés crus. C'est le cas des mollusques bivalves. En effet, les moules filtrent plus de 20l d'eau par jour et retiennent toutes les toxines et les bactéries. Dans les tissus de ces mollusques la survie est un peu plus longue ce qui permet de les retrouver vivantes et pathogènes au moment de la consommation (Rozier, 1990).

Lors de la recherche des vibrios dans les échantillons de moules, des colonies vertes et jaunes de petites tailles ont été obtenues sur le milieu TCBS. L'examen morphologique et microscopique indique que ces bactéries sont caractéristiques des vibrios. Cependant, comme pour les échantillons d'eau, ce résultat n'a pas pu être confirmé avec les galeries API 20, en raison de la non compatibilité de cette dernière avec les vibrios.

A l'aide des différents tests d'identification précités en méthodologie, un certain nombre de bactéries plus ou moins pathogènes a été identifié (Tableau 4).

Pseudomonas luteola a été isolé des échantillons de moules. Il s'agit d'une espèce opportuniste pathogène pouvant causer une bactériémie, une méningite, et autres infections lors la consommation d'un aliment contaminé (Chihab *et al.*, 2004 ; Ngoh *et al.*, 2011). Cette espèce a montré la capacité d'absorber certains métaux lourds comme le chrome et l'aluminium (Ozdemir et Baysal, 2004).

Tableau 4. Caractérisation et identification des souches d'intérêt isolées des échantillons d'eau de mer et des moules.

Isolat	Source	Aspect	Forme	Gram	Oxydase	Catalase	Coagulase
<i>Streptococcus faecalis</i>	Eau (S1,S2,S3,S4) Moules	Colonies rouge brique	Coques d'aspect ovoïde en courtes chaînes	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Eau (S1,S2,S3,S4) Moules	Colonies jaunes dorée	Coques disposé en grappe de raisin	+	-	+	+
<i>Salmonella enterica</i> <i>Subsp. Arizonae</i>	Eau (S1,S2,S4) Moules	Colonies transparentes à centre noir	Bacille droit mobile	-	-	+	-
<i>Pseudomonas luteola</i>	Moules	Colonies jaunâtres	Bacille	-	-	+	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Moules	Colonies rose	Bacille	-	-	+	-

Une autre souche pathogène a été identifié. Il s'agit de *Stenotrophomonas maltophilia*. C'est une bactérie qui peut être trouvé dans presque tous les environnements aquatiques ou humides, y compris l'eau de mer (Hoefel *et al.*, 2005). *S. maltophilia* est une cause relativement inhabituelle de pneumonie, d'infection urinaire ou de bactériémie (Whitby *et al.*, 2000). Une relation positive entre l'ampleur de la pollution et la prévalence de *S. maltophilia* a été indiquée pour la rivière Woluwe et les effluents en Belgique (Pirnay *et al.*, 2005).

5. CONCLUSIONS

Les mollusques bivalves sont des sources de protéines de plus en plus appréciées et leur culture constitue une stratégie adoptée par de nombreux pays afin d'assurer leur sécurité alimentaire. La qualité des moules dépend fortement de l'environnement dans lequel elles sont cultivées à cause de leur pouvoir filtrant qui les aide à accumuler les polluants présents dans l'eau. L'objectif de cette étude était d'évaluer la qualité bactériologique des moules et de l'eau de mer au niveau d'une ferme conchylicole. Les résultats ont démontré que les concentrations des indicateurs de contamination

fécale dans l'échantillons d'eau de mer étaient inférieur à la norme. Cependant, leur concentration a dépassé la norme en ce qui concerne les échantillons de moules. De plus la présence de *Salmonella spp* a été signalé dans tous les échantillons (eau de mer et moules), ce qui indique une mauvaise qualité bactériologique qui pourrait présenter un risque pour la santé des consommateurs. La présence de ces germes peut être due aux nombres importants de points de rejets au niveau de la baie de Bou Ismail.

La présence de ces agents pathogène indique que des mesures de sécurité, telles que la surveillance régulière des zones à activité aquacole, le renforcement des pratiques sanitaires, l'épuration dans des bassins d'eau de mer propre et une cuisson minutieuse des moules ; devraient être strictement employées afin de réduire ou éliminer la charge microbienne avant consommation. Dans le but de compléter cette étude, il serait intéressant de doser le taux des polluants chimiques tels que les métaux lourds et les hydrocarbures, par ailleurs une étude des courants côtiers permettra aussi de comprendre voir de prévoir le schéma de circulation des micro-organismes filtrés par les moules.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALOUACHE, S., KADA, M., MESSAI, Y., ESTEPA, V., TORRES, C., BAKOUR R. (2012). Antibiotic resistance and extended-spectrum β -lactamases in isolated bacteria from seawater of Algiers beaches (Algeria). *Microbes and environments*, **27**(1): 80-86.
- AMINOT, A., CHAUSSEPIED, M. (1983). Manuel des analyses chimique en milieu marin. Ed. CNEXO, 395p.
- BACHARI HOUMA, F. (2009). Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire (Doctoral dissertation, Paris Est).
- BAIRD P. (1979). Methods for identifying staphylococci and micrococci. *Soc. Appl. Bacteriol. Tech. Ser.*, 14: 201-210; ISSN 0583-8924.
- BAKALEM, A., HASSAM, N., OULMI Y., MARTINEZ, M., DAUVIN, J.C. (2020). Diversity and geographical distribution of soft-bottom macrobenthos in the bay of Bou Ismail (Algeria, Mediterranean Sea). *Regional Studies in Marine Science*, **33**, 100938.
- BATTISTINI, R., VARELLO, K., LISTORTI, V., ZAMBON, M., ARCANGELI, G., BOZZETTA, E., SERRACCA, L. (2020). Microbiological and Histological Analysis for the Evaluation of Farmed Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) Health Status, in Coastal Areas of Italy. *Pathogens*, **9**(5): 395.
- BAUDART, J., LEMARCHAND K., BRISABOIS, A., LEBARON, P. (2000). Diversity of *Salmonella* strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the

- ribosomal DNA spacer regions. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(4): 1544-1552.
- BECKER, K., HEILMANN, C., PETERS, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, **27**(4): 870-926.
- BELNEVA, I.A. (2011). Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Marine Pollution Bulletin*, **62**(2): 382-387.
- BELKACEM, T., BENFARES, B., HOUMA-BACHARI, F. (2016). Potential impacts of discharges from seawater reverse osmosis on Algeria marine environment. *J Environ Sci Eng B*, **131**.
- BENFARES, R., SERIDI, H., BELKACEM, Y., INAL A. (2015). Heavy metal bioaccumulation in brown algae *Cystoseira compressa* in Algerian Coasts, Mediterranean Sea. *Environmental Processes*, **2**: 429-439.
- BOUDJEMA, K., MOULAI-MOSTEFA, N., BADIS, A. (2023). Baseline levels of integrated biomarker response index (IBR) in *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) of Boussmaïl bay for monitoring Algerian Bays (Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin*, **192**: 115022.
- CARIP, C., SALAVERT, M.H., TANDEAU, A. (2015). *Microbiologie, hygiène et droit alimentaire*. Lavoisier-Tec & Doc.
- CATALAO DIONISIO, L.P., JOAO, M., SOARES FERREIRO, V., LEONOR FIDALGO, M., GARCÍA ROSADO, M.E., BORREGO, J.J. (2000). Occurrence of *Salmonella* spp in estuarine and coastal waters of Portugal. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **78**: 99-106.
- CHABANE, K., BAHBAH, L., SERIDI, H. (2018). Ecological Quality Status of the Algiers coastal waters by using macroalgae assemblages as bioindicators (Algeria, Mediterranean Sea). *Mediterranean Marine Science*, **19**(2): 305-315.
- CHAO W.L., DING R.J., CHEN R.S. (1987). Survival of pathogenic bacteria in environmental microcosms. *Zhonghua Minguo wei Sheng wu ji Mian yi xue za zhi. Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, **20**(4): 339-348.
- CHAPMAN, G.H. (1945). The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. *Journal of bacteriology*, **50**(2): 201-203.
- CHIHAB, W., ALAOU, A. S., AMAR, M. (2004). *Chryseomonas luteola* identified as the source of serious infections in a Moroccan University Hospital. *Journal of clinical microbiology*, **42**(4): 1837-1839.
- CHINA, B., DE SCHAEZTEN, M.A., DAUBE, G. (2003). Les mollusques bivalves, des aliments dangereux?. In *Annales de médecine vétérinaire*, **147**(6): 413-422. Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire.
- DESENCLOS, J.C., BOUVET, P., PIERRE, V., BRISABOIS, A., FREM, S., LAHELLEC, C., GRIMONT, P.A.D. (1996). Épidémiologie des infections à *Salmonella*: tendances récentes en France et en Europe. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*, **11**(3): 209-215.
- DI CESARE, A., VIGNAROLI, C., LUNA, G.M., PASQUAROLI, S., BIAVASCO, F. (2012). Antibiotic-resistant enterococci in seawater and sediments from a coastal fish farm. *Microbial Drug Resistance*, **18**(5): 502-509.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2018). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Valeurs des exportations mondiales.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2022). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture.
- FIORITO, F., DI CONCILIO, D., LAMBIASE, S., AMOROSO, M.G., LANGELLOTTI, A.L., MARTELLI, A., FUSCO, G. (2021). Oyster *Crassostrea gigas*, a good model for correlating viral and chemical contamination in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, **172**, 112825.
- HALEY, B.J., COLE, D.J., LIPP, E.K. (2009). Distribution, diversity, and seasonality of waterborne salmonellae in a rural watershed. *Applied and environmental microbiology*, **75**(5): 1248-1255.
- HAMMAD, A. M., WATANABE, W., FUJII, T., SHIMAMOTO T. (2012). Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *International journal of food microbiology*, **156**(3): 286-289.
- HARLEY, C.D., RANDALL HUGHES, A., HULTGREN, K.M., MINER, B.G., SORTE, C.J., THORNER, C.S., WILLIAMS, S.L. (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology letters*, **9**(2): 228-241.
- HEBBAR, CH., BELHOUCINE, F., BOUHADIBA, S., BOUTIBA, Z. (2015). Bacteriological quality of Sea water bathing water for two stations of Eastern Oran (Dahliiss, Sidi-Moussa) from Western Northern Algeria
- HOEFEL, D., MONIS, P.T., GROOBY, W.L., ANDREWS, S., SAINT, C.P. (2005). Profiling bacterial survival through a water treatment process and subsequent distribution system. *Journal of applied microbiology*, **99**(1): 175-186.
- HOUMA, F., BACHOUCHE, S., BACHARI, N.E.I., BELKESSA, R. (2013). Contribution of satellite measurements to the modeling and monitoring of the quality of coastal seawater. In *Perspectives in Water Pollution*. IntechOpen.
- JARVIE, H.P., WHITTON, B.A., NEAL, C. (1998). Nitrogen and phosphorus in east coast British rivers: speciation, sources and biological significance. *Science of the Total environment*, **210**: 79-109.
- JORA (JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE) (2005). Les tailles minimales marchandes des espèces biologiques.
- JORA (JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE) (1993). Principaux critères de qualité des eaux de baignade. Extrait de l'annexe 1 du décret n° 93-164 du 10 juillet 1993.
- KIMIRAN-ERDEM, A., ARSLAN, E.O., SANLI YURUDU, N.O., ZEYBEK, Z., DOGRUOZ, N., COTUK, A. (2007). Isolation and identification of enterococci from seawater samples: assessment of their resistance to antibiotics and heavy metals. *Environmental Monitoring and Assessment*, **125**: 219-228.
- MESBAIAH, F.Z., ZENATI, B., REBHI, Y., CHEGRANI, A. (2023). Fecal bacterial contamination and physicochemical parameters variation near shellfish zones and a hotspot point in Bou-Ismaïl Bay (Algeria). *Arabian Journal of Geosciences*, **16**(1): 36.
- MILLOT, C., TAUPIER-LETAGE, I. (2005). Circulation in the Mediterranean sea. *The Mediterranean Sea*, 29-66.
- NGOH, E., ZOHOUN, A., GHAZOUANI, M., EL HAMZAOU, S., EL OUEINASS, M. (2011). A fatal case of *Pseudomonas luteola* infection. *Médecine et maladies infectieuses*, **41**(7): 399-400.

- NUÑAL, S.N., MONAYA, K.J.M., MUEDA, C.R.T., SANTANDER-DE LEON, S.M. (2023). Microbiological Quality of Oysters and Mussels Along Its Market Supply Chain. *Journal of Food Protection*, **86**(3): 100063.
- OUNISSI, M., LASKRI, H., KHÉLIFI-TOUHAMI, M. (2016). Net-zooplankton abundance and biomass from Annaba Bay (SW Mediterranean Sea) under estuarine influences. *Mediterranean Marine Science*, **17**(2): 519-532.
- OZDEMIR, G., BAYSAL, S.H. (2004). Chromium and aluminum biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM05. *Applied microbiology and biotechnology*, **64**: 599-603.
- PADOVAN, A., KENNEDY, K., ROSE, D., GIBB, K. (2020). Microbial quality of wild shellfish in a tropical estuary subject to treated effluent discharge. *Environmental research*, **181**: 108921.
- PATCHANEE, P., MOLLA, B., WHITE, N., LINE, D.E., GEBREYES, W.A. (2010). Tracking Salmonella contamination in various watersheds and phenotypic and genotypic diversity. *Foodborne Pathogens and Disease*, **7**(9): 1113-1120.
- PIRNAY, J.P., MATTHIJS, S., COLAK, H., CHABLAIN, P., BILOCO, F., VAN ELDERE, J., CORNELIS, P. (2005). Global *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. *Environmental microbiology*, **7**(7): 969-980.
- PURPARI, G., MACALUSO, G., DI BELLA, S., GUCCIARDI, F., MIRA, F., DI MARCO, P., GUERCIO, A. (2019). Molecular characterization of human enteric viruses in food, water samples, and surface swabs in Sicily. *International Journal of Infectious Diseases*, **80**: 66-72.
- RAY, C.G., RYAN, K.J. (Eds.). (2014). *Sherris medical microbiology*. New York, NY, USA, McGraw-Hill Education/Medical, 579-583.
- RIO, M., SALLES, C., RODIER, C., CANTET, F., MARCHAND, P., MOSSER, T., TOURNOUD, M.G. (2017). An empirical model to quantify fecal bacterial loadings to coastal areas: application in a Mediterranean context. *Comptes Rendus Geoscience*, **349**(6-7): 299-309.
- RODIER, J., BZIN, C., BROUTIN, J.P., CHMBON, P., CHAMPSAUR, H., RODI, L. (2005). L'analyse de l'eau : eau naturelle, eau résiduaire, eau de mer. Ed. DUNOD, 1383 p.
- ROUANE-HACENE, O., BOUTIBA, Z., BELHAOUARI, B., GUIBBOLINI-SABATIER, M.E., FRANCOUR, P., RISSO-DE FAVERNEY, C. (2015). Seasonal assessment of biological indices, bioaccumulation and bioavailability of heavy metals in mussels *Mytilus galloprovincialis* from Algerian west coast, applied to environmental monitoring. *Oceanologia*, **57**(4): 362-374.
- ROZIER, J. (1990). Les produits de la mer et les toxo-infections alimentaires. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **143**(3): 33-41.
- SETTI, I., RODRIGUEZ-CASTRO, A., PATA, M.P., CADARSO-SUAREZ, C., YACOUBI, B., BENSMAEL, L., MARTINEZ-URTAZA J. (2009). Characteristics and dynamics of Salmonella contamination along the coast of Agadir, Morocco. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(24): 7700-7709.
- SKALAR ANALYTICAL (1998). User manual San Plus. SA1050 RANDOM ACCESS AUTO SAMPLER, Numéro de la publication : 0101003 C, 23 p.
- ŠOLIĆ, M., KRSTULOVIĆ, N., JOZIĆ, S., CURAĆ, D. (1999). The rate of concentration of faecal coliforms in shellfish under different environmental conditions. *Environment international*, **25**(8): 991-1000.
- STRATEV, D., STOYANCHEV, T., BANGIEVA, D. (2021). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus* in seafood. *Italian Journal of Food Safety*, **10**(4).
- TAMINIAU, B., KORSAK, N., LEMAIRE, C., DELCENSERIE, V., DAUBE, G. (2014). Validation of real-time PCR for detection of six major pathogens in seafood products. *Food Control*, **44**: 130-137.
- TOUAHIR, N., ALOUACHE, S., DEHANE, D. (2023). Assessment and characterization of heavy metals resistance bacteria isolated in Southwestern Mediterranean coastal waters (Bou-Ismaïl Bay): Impacts of anthropogenic activities. *Marine Pollution Bulletin*, **192**, 115085.
- UCHIYAMA, H. (2000). Distribution of *Vibrio* species isolated from aquatic environments with TCBS agar. *Environmental health and preventive medicine*, **4**: 199-204.
- VAIYAPURI, M., JOSEPH, T.C., RAO, B.M., LALITHA, K.V., PRASAD, M.M. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in seafood: prevalence, laboratory detection, clonal nature, and control in seafood chain. *Journal of food science*, **84**(12): 3341-3351.
- WALTERS, S.P., THEBO, A.L., BOEHM, A.B. (2011). Impact of urbanization and agriculture on the occurrence of bacterial pathogens and stx genes in coastal waterbodies of central California. *Water research*, **45**(4): 1752-1762.
- WALTERS, S.P., GONZALEZ-ESCALONA, N., SON, I., MELKA, D.C., SASSOUBRE, L.M., BOEHM A.B. (2013). *Salmonella enterica* diversity in central Californian coastal waterways. *Applied and environmental microbiology*, **79**(14): 4199-4209.
- WHITBY, P.W., CARTER, K.B., BURNS, J.L., ROYALL, J.A., LIPUMA, J.J., STULL, T.L. (2000). Identification and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* by rRNA-directed PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, **38**(12): 4305-4309.
- WRIGHT, R.C. (1989). The survival patterns of selected faecal bacteria in tropical fresh waters. *Epidemiology & Infection*, **103**(3): 603-611.