Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez Ruditapes decussatus et Mytilus galloprovincialis dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : Validation de certains biomarqueurs.

Mohamed Dellali

▶ **To cite this version:**

Mohamed Dellali. Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez Ruditapes decussatus et Mytilus galloprovincialis dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : Validation de certains biomarqueurs.. Sciences de l'environnement. faculté des sciences de Bizerte, 2001. Français. NNT : . tel-03462504

HAL Id: tel-03462504
https://theses.hal.science/tel-03462504

Submitted on 1 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE 7 NOVEMBRE CARTHAGE
FACULTE DES SCIENCES DE BIZERTE

THESE DE DOCTORAT

Présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biologiques

Par

Mohamed DELLALI

UTILISATION D'INDICATEURS MICROBIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES CHEZ *RUDITAPES DECUSSATUS* ET *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* DANS LA BIOSURVEILLANCE DE LA LAGUNE DE BIZERTE : VALIDATION DE CERTAINS BIOMARQUEURS.

Soutenue le 13 Juillet 2001

devant le jury composé de :

Président	**M^r^ M. SAKLY**	**FSB**
Rapporteur	**M^r^ A. BOUDABOUS**	**FST**
Rapporteur	**Mme M. ROMEO**	**FS Nice**
Examinateur	**M^r^ M. BOUMEIZA**	**FSB**
Directeur de thèse	**Mme P. AISSA**	**FSB**
Invité	**M^r^ A. EL ABED**	**INSTM**

AVANT PROPOS

Le Présent travail n'aurait pu voir le jour sans les encouragements et l'aide morale et matérielle de plusieurs personnes. Il m'est agréable de leur exprimer mes plus vifs remerciements.

Ma première pensée va à Madame ***P. AISSA****, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte à laquelle je voudrais tout particulièrement exprimer ma profonde gratitude et ma très sincère reconnaissance pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour ses conseils bienveillants, son expérience, son humour et surtout ses qualités humaines. Celle-ci n'a épargné ni son temps, ni ses documents. Que Madame* ***AISSA*** *trouve dans ce travail le fruit de ses efforts pour sa gentillesse infinie et la patience qu'elle a eue à mon égard.*

Monsieur ***M. SAKLY****, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, a accepté malgré ses obligations incessantes de présider mon jury de thèse et de juger un travail un peu éloigné de ses préoccupations habituelles. Qu'il veuille trouver ici l'expression de toute ma considération.*

Je remercie vivement Monsieur ***M. BOUMAIZA****, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, d'avoir accepté de faire partie du jury de ce travail malgré ses nombreuses occupations.*

Monsieur le Professeur ***A. BOUDABBOUS*** *de la Faculté des Sciences de Tunis a accepté de juger ce travail en tant que rapporteur et de faire partie du jury. Qu'il veuille trouver dans ces mots ma profonde reconnaissance pour ces conseils et sa gentillesse infinie.*

Ma gratitude et mes plus vifs remerciements s'adressent à Madame ***M. ROMEO,*** *Docteur ès Sciences, chargée de recherche à l'INSERM et grande spécialiste des biomarqueurs. Celle-ci m'a initié à l'écotoxicologie marine et m'a cordialement accueilli au cours de trois stages successifs au sein de son laboratoire d'abord à la Faculté de Médecine puis à la Faculté des Sciences de Nice. Madame* ***ROMEO*** *qui n'a cessé de m'encourager a accepté d'être rapporteur de ma thèse et de venir juger mon travail jusque en Tunisie.*

J'exprime ma sincère reconnaissance à Monsieur ***A. EL ABED,*** *Professeur et Directeur général de l'INSTM pour m'avoir autorisé à travailler dans un premier temps au laboratoire de l'INSTM dans le but de m'initier aux techniques microbiologiques. Je suis honoré qu'il ait accepté de faire partie du jury.*

Je tiens à remercier Mademoiselle ***M. EL BOUR,*** *Maître assistante à l'INSTM ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire de Pathologie (****Hedia, Radhia, Wassila, Kaouther*** *….) pour l'accueil qu'elles m'ont toujours réservé dans leur laboratoire et pour l'aide considérable et les précieux conseils qu'elles ont su me prodiguer au cours des analyses bactériologiques. Je leur dois la réussite d'une partie de ce travail.*

L'équipe du laboratoire de Physiologie et d'Ecotoxicologie environnementale de la Faculté de médecine puis de la Faculté des Sciences de Nice m'a considérablement aidé lors des dosages des biomarqueurs et lors de mes premiers essais d'infestation. Je tiens à remercier ***Pascal, Xavier*** *et tout particulièrement* ***Mauricette*** *pour la sollicitude, l'attention et la disponibilité que j'ai toujours trouvées auprès d'eux. Je garde un excellent souvenir de leur aide sympathique.*

Je remercie également Monsieur ***M. BEN ATTIA*** *pour sa patience et son aide précieuse lors du traitement statistique des données.*

Mes remerciements vont aussi à Madame ***N. ALOUI-BEJAOUI****, Maître assistante à l'INAT, qui m'a prêté sa documentation personnelle sur la moule.*

J'exprime ma sincère reconnaissance à tout le cadre administratif de la Faculté des Sciences de Bizerte pour ses encouragements et pour m'avoir facilité plusieurs tâches administratives. Je citerai Monsieur ***C. CHEFI****, Doyen de la Faculté des Sciences de Bizerte, Monsieur* ***M. SAKLY****, Vice-doyen et Monsieur* ***H. HADJ MABROUK,*** *Directeur du département des Sciences de la vie.*

Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à ***Hassen, Nabil, Ezzeddine, Hammouda, Mehdi, Naceur, Inès, Monia, Imen*** *et tous les autres chercheurs et enseignants de la Faculté des Sciences de*

Bizerte qui m'ont aidé par leur encouragements, leurs conseils et l'ambiance chaleureuse qu'ils ont su créer autour de moi.

A tous mes amis et collègues du Lycée de Sejnène, je tiens à formuler toute ma reconnaissance pour la compréhension et le soutien moral que j'ai trouvés auprès d'eux. Je citerai particulièrement ***A. Béchir, S. Hassen, Mustapha, Sabri, Mondher, Mabrouk, Zouheir et Fethi.***

Je remercie vivement Messieurs ***N. HAJRI et L. CHEBLI*** *pour leur gentillesse et leur patience au cours de la réalisation des photocopies.*

Mehrez*, tu as été pour moi plus qu'un ami et je sais bien que je t'ai causé beaucoup d'ennuis. Tu mérites plus qu'un merci, que tu sois assuré de mon éternelle amitié.*

Tahar, Mounira, Rabah et Bahâa*, je n'oublierai jamais les moments que nous avons passés ensemble. Vous avez été pour moi une véritable famille qui m'a encouragé et qui mérite un très grand merci.*

Radhouane*, tu m'as fourni beaucoup d'aides, surtout avec tes logiciels, tes photos et ta générosité.*

C'est à ma fiancée ***Ichrak****, qui m'a encouragé durant la dernière année de ma thèse, que je m'adresse pour saluer en elle la générosité de l'esprit et du cœur et les sacrifices qu'elle a fait pour moi. Qu'elle trouve dans ce travail le témoignage de mon éternelle reconnaissance.*

Enfin je ne saurais terminer ces remerciements sans exprimer mon affectueuse reconnaissance à mes parents, mon frère, ma sœur et sa famille, à mes beaux parents, mes oncles et mes tantes pour l'aide et le soutien qu'ils m'ont toujours témoignés. Mes parents ont dû souffrir de mes nombreuses absences durant la longue période de préparation de ma thèse. Qu'ils trouvent avec ce mémoire le fruit de leur sacrifice.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS 1
INTRODUCTION GENERALE 3
CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES 9
I) Stratégie d'échantillonnage 9
1) Localisation des stations 9
2) Caractéristiques des stations et modalités de prélèvements 9
a) Menzel Jemil 11
b) Menzel Abderrahmen 11
c) Faroua 12
d) La Baie des carrières 12
e) Menzel Bourguiba 13
f) L'oued Tindja 13
g) Rimel 13
II) Mesures in situ 14
1) Paramètres abiotiques 14
2) Collecte des divers échantillons 14
III) Etude biométrique des moules et des palourdes 15
IV) Microbiologie 19
1) Isolement et culture de la flore hétérotrophe mésophile 19
2) Sulfato-réducteurs 20
3) Flore fécale 20
4) *Vibrionaceae* 21
a) Isolement et dénombrement 21
b) Coloration Gram 22
c) Identification 22
d) Antibiogramme 23

V) Biomarqueurs 25
1) *Stress on stress* 25
2) Autres biomarqueurs étudiés (AChE, CAT et GST) 25
a) Collecte du matériel biologique 25
b) Préparation de la fraction post-mitochondriale 26
c) Dosage des protéines 26
d) Dosage de l'activité catalase (CAT) 26
e) Dosage de l'activité AchE 28
f) Dosage de l'activité des GSTs 31
VI) Expériences d'infestation 33
VII) Traitement statistique 34
1) Test de Student 34
2) Test U de Mann-Whitney 34
3) Analyse de Variances: ANOVA 35
4) Corrélation de Bravais-Pearson 35
5) Regroupement sur la base de la distance euclidienne 35
6) Analyse factorielle 36
CHAPITRE 2 : CARACTERISTIQUES DU MILIEU ET DU MATERIEL BIOLOGIQUE 38
I) Présentation du milieu 39
1) Historique 39
2) Historique des travaux 40
3) Pêche et conchyliculture 43
II) Facteurs abiotiques 45
1) Précipitations 45
2) Evapotranspiration (ETP) 46
3) Vents 48
4) Apports d'eaux par les oueds et les bassins versants 50
5) Température 52
6) Oxygène dissous 55
7) Salinité 57

8) pH 60
III) Bivalves 64
1) La palourde : *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) 65
2) La moule : *Mytilus galloprovincialis.* (Lamarck, 1819) 67
3) Maladies liées à la consommation des bivalves 69
IV) Etude écobiologique des bivalves 70
1)Etude biométrique chez la palourde 70
a) Paramètres linéaires 70
b) Paramètres pondéraux 75
2)Etude biométrique chez la moule 78
V) Conclusion 83
CHAPITRE 3 : SUIVI MICROBIOLOGIQUE 85
I) Intérêt du suivi microbiologique dans la lagune de Bizerte 86
II) Microflore hétérotrophe mésophile totale 87
1) Résultats 87
2) Discussion 93
III) Sulfato-réducteurs 95
1) Résultats 95
2)Discussion 100
IV) *Vibrionaceae* 101
1) Résultats 102
a) Isolement et dénombrement 102
b) Répartition spécifique 108
c) Résistance d'*Aeromonas hydrophila* aux antibiotiques 108
2) Discussion 114
V) Flore Fécale 118
1) Résultats 118
2) Discussion 124
VI) Conclusion 128
CHAPITRE 4 : SUIVI DES BIOMARQUEURS 130
I) Généralités sur les biomarqueurs 131

1) Stress oxydant et métabolisme oxydatif 131
a) Stress oxydant et radicaux libres 131
b) Systèmes antioxydants 133
b1- Superoxyde dismutase 133
b2- Catalase (CAT) 133
b3 Lipoperoxydation 134
b4- Glutathion peroxydases 134
b 5 - Glutathion S-transférases 135
2) L'acétylcholinestérase 135
3) Classification des biomarqueurs 136
II) Résultats 138
1) *Stress on stress* 138
2) La catalase 141
a) Activité catalase des Palourdes 141
b) Activité catalase des Moules 144
c) Influence des facteurs du milieu 144
d) Discussion 146
3) Acétylcholinestérase 148
a) Réponse des palourdes 148
b) Réponse des moules 151
c) Discussion 153
4) L'activité des Glutathion – S – Transférases 158
a) Activité GSTs chez la palourde 158
b) Activité GSTs chez la moule 160
c) Influence des facteurs du milieu 162
d) Discussion 163
III) Conclusion 165
CHAPITRE 5 : SYNTHESE ET VALIDATION DES BIOMARQUEURS CHEZ LA PALOURDE 168
I) Analyses en Composantes Principales 169
1) Introduction 169

2) Résultats 169
a) Validation temporelle 169
b) Validation spatiale 177
3) Discussion 181
II) Etude *in vivo* : Effets de l'infestation par *Aeromonas hydrophila* sur les biomarqueurs 183
1) *Stress on stress* 183
2) Autres biomarqueurs 183
3) Discussion 184
III) Conclusion 185
CONCLUSION GENERALE 187
BIBLIOGRAPHIE 193
ANNEXES 219

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'antiquité, les rives des milieux aquatiques constituent pour l'Homme des lieux de prédilection où développer ses activités. Actuellement, la moitié de la population mondiale est localisée à moins de 50 km des côtes et les ports, les complexes industriels et plusieurs grandes villes se trouvent concentrés à proximité des mers et des grands fleuves. Avec l'épanouissement de la civilisation humaine, il s'est produit une explosion des activités commerciales et industrielles et par suite une intensification des rejets en milieu marin. L'opinion publique a longtemps admis que le pouvoir auto-épurateur des océans et leur capacité d'assimilation suffisaient à contenir les grands problèmes de pollution, si bien que l'eau, "source de vie" et "milieu vivant" a été longtemps considérée comme le véhicule naturel des déchets domestiques et industriels. La qualité des hydrosystèmes s'est ainsi peu à peu altérée, du fait de la quantité et de la diversité croissantes des effluents polluants rejetés. Ceci est d'autant plus vrai que les mers constituent l'exutoire de tous les polluants produits par l'homme, y compris les contaminants atmosphériques et terrestres qui s'immiscent dans le milieu marin par les voies pluviale et fluviatile.

Les déversements de xénobiotiques* dans le milieu marin ont été à l'origine de plusieurs catastrophes. L'une des plus célèbres est celle de Minamata (Japon), cause de la mort de 850 personnes et de plus de 20.000 habitants atteints de troubles nerveux graves en consommant du poisson contaminé par des déchets mercuriels (Fujiki, 1972; Toukoumi, 1979). Ces événements ont fait que la préservation du milieu est devenue un des soucis majeurs de l'opinion publique, les polluants « apatrides» touchant les pays du monde entier.

Pour faire face aux problèmes de l'environnement, plusieurs commissions de réflexion se sont réunies. En 1972, la conférence des Nations Unies sur l'environnement planétaire décidait que l'océan et par suite les mers et les lagunes ne constitueraient plus des exutoires infinis, capables d'absorber tous les déchets de notre civilisation (Laubier, 1991). Par la suite, de nombreux programmes scientifiques ont vu le jour. Les plus importants ont été initiés par le Conseil International pour l'Exploration de la Mer (CIEM, 1978), la Commission Océanographique

* Xénobiotique : tout élément étranger à la vie

Intergouvernementale de l'UNESCO (IOC-UNESCO, 1986) et le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) sans compter plusieurs commissions nationales et internationales.

Au départ, la surveillance de l'environnement reposait uniquement sur des méthodes de chimie conventionnelles, plus ou moins sensibles (chromatographies, spectroscopies, électroanalyses, radiochimie, etc.), cherchant à évaluer dans l'eau, les sédiments et les organismes les concentrations des xénobiotiques. Ce type d'analyse qui a l'avantage d'identifier dans le milieu les substances dangereuses et d'évaluer leur devenir (augmentation ou diminution de leurs concentrations, transformations en d'autres composés,….), présente cependant quelques inconvénients (Amiard *et al*., 1998). Ainsi, les difficultés analytiques, le seuil de sensibilité des méthodes de détection, le rejet de molécules totalement nouvelles et l'apparition de produits de dégradation ainsi que le coût élevé de campagnes pluriannuelles sont autant de problèmes auxquels se heurte ce type d'approche. Il s'y surajoute l'impossibilité de tirer des renseignements pertinents sur l'impact de la pollution sur l'organisme vivant d'une part et l'effet d'une combinaison de polluants agissant le plus souvent en synergie. Tout ceci explique qu'il soit apparu vers les années 1980, le concept de biosurveillance (ou *biomonitoring*), qui repose sur l'étude de la réponse biologique des organismes aux polluants. Ce type d'approche fait appel aux biomarqueurs destinés à se substituer à terme aux analyses chimiques dans l'établissement d'un diagnostic de l'état de santé d'un écosystème parce qu'ils constituent des outils précoces de détection de pollution aquatique (Narbonne, 1998). Selon Lagadic *et al.* (1997), un biomarqueur ou marqueur biologique est « *toute variation cellulaire, biochimique ou moléculaire induite par des xénobiotiques, observable et/ou mesurable dans un système biologique (tissu, cellule ou liquide biologique)* ». Ainsi, la caractérisation de ces marqueurs peut permettre la mise en évidence précoce de pollutions avant l'altération de la structure des organismes, et surtout avant que toute la population ou l'écosystème soit perturbée (Lafaurie *et al.* 1992 ; Namour, 1992).

Les mollusques bivalves tels la moule (*Mytilus galloprovincialis*) et la palourde (*Ruditapes decussatus*) sont des espèces sentinelles (Philips, 1980 ; Widdows, 1985 ; Farrington et *al.*, 1987) qui constituent un matériel biologique de choix dans la biosurveillance de l'environnement aquatique. En effet, ces bivalves sont abondants et faciles à récolter, sédentaires donc exposés en permanence à la pollution et bioaccumulent par conséquent des composés chimiques dans leurs tissus, avec des facteurs de concentration allant de 10 à 10^5 (Najimi, 1997). De plus, ces mollusques sont relativement tolérants aux variations des conditions

environnementales, y compris à des teneurs relativement élevées en divers types de contaminants. Ces animaux sont utilisés dans la plupart des programmes de biosurveillance dans le monde : *Mussel watch* aux USA, (Goldberg *et al*., 1983 ; Bayne, 1989) ou Réseau National d'Observation en France (Cossu, 1989 ; Joanny *et al*., 1993 ; Amiard *et al*., 1998), le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE, 1999) et récemment le GILEA (Groupe Inter-Laboratoires d'Ecotoxicologie Aquatique) en Tunisie.

Dans notre pays, la lagune de Bizerte constitue un plan d'eau économiquement important qui est le siège d'activités de pêche et de conchyliculture. Durant la période 1989-1998, la production halieutique moyenne a été de 86.7 T/an, celle de moules et de palourdes y a atteint respectivement une moyenne annuelle de 116,5 T/an et 4,6 T/an, (CRDA, 1998). Malgré son intérêt économique et biologique, ce milieu est soumis à deux contraintes écologiques majeures :

- Une variabilité de ses conditions ambiantes comme la majorité des lagunes méditerranéennes, notamment en ce qui concerne des paramètres fondamentaux comme la salinité, la température et la teneur en oxygène dissous du fait de sa position assez particulière entre la Méditerranée et le lac Ichkeul.
- Une perturbation anthropique générée par divers rejets (domestiques et/ou industriels) en provenance des agglomérations limitrophes mais aussi agricoles après lessivage des sols cultivés, situés plus en amont. En effet, selon un rapport de l'ANPE (1990), sur les 400 000 habitants recensés dans le gouvernorat de Bizerte, 50 % d'entre eux sont concentrés autour de la lagune dans les villages et les villes limitrophes. Il a été inventorié sur les bords de la lagune quatre cent unités industrielles recouvrant plusieurs secteurs (pétrochimie, textile, sidérurgie, plastiques….). Avec les rejets industriels, c'est actuellement 10 millions de m^3 d'eaux usées par an qui seraient évacués dans cette lagune (Essid, 1999). D'autre part, l'activité agricole pratiquée sur les 17.200 hectares qui entourent la lagune utilise 20,5 T/an d'engrais chimiques, 26 850 litres/an et environ 10 T/an de produits agricoles (pesticides, fongicides..).

A la lumière de ces diverses données, il semblait impératif d'entreprendre une biosurveillance de la lagune de Bizerte durant un cycle annuel. La présente étude qui constitue un triple suivi de cette lagune, à la fois physico-chimique, microbiologique et écotoxicologique, a été réalisée de mai 1998 à mai 1999 au niveau de 7 stations littorales. Ses objectifs essentiels ont été :

- L'évaluation de l'état de " santé " de l'écosystème et surtout la détection sa qualité bactérienne en considérant tous les compartiments (eau, sédiment et bivalves représentés par *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*)
- La surveillance des biomarqueurs en tenant compte de l'instabilité temporelle de certains paramètres abiotiques comme la température, l'oxygène, la salinité et le pH.
- La validation *in situ* de certains biomarqueurs pour leur éventuelle utilisation dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte.

La première partie du mémoire décrit les diverses méthodes d'échantillonnage et d'analyses microbiologiques et biochimiques utilisées.

Le second chapitre est consacré aux caractéristiques abiotiques du milieu (climatologie et physico-chimie durant un cycle annuel) et à celles du matériel biologique (biométrie).

Le troisième chapitre présente les résultats de l'évaluation de l'état bactérien durant la période d'étude et l'évolution spatio-temporelle de plusieurs groupes bactériens (flore totale, flore fécale, sulfato-réducteurs et *Vibrionaceae*) dans les compartiments aqueux, sédimentaire et vivant (*Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*) en parallèle avec celle des facteurs abiotiques pour mieux comprendre la dynamique des concentrations bactériennes au niveau de la lagune de Bizerte.

La quatrième partie, quant à elle, est un suivi biochimique à l'échelle spatio-temporelle de plusieurs biomarqueurs chez les deux bivalves considérés dans le but de connaître l'état de perturbation de la lagune de Bizerte. Les biomarqueurs retenus sont l'activité de deux enzymes antioxydantes: la catalase de phase I (CAT) (Livingstone, 1993 ; Pellerin-Massicotte, 1994, Rigoli et Principato, 1995 ; Viarengo *et al.*, 1995 ; Labrot *et al.*, 1996 ; Cossu *et al*, 1997, Dellali *et al*, 1998) et les Gluthation –S- Transférases (GSTs), un groupe d'enzymes de conjugaison de phase II (Chatterjee et Bhattacharya, 1984 ; Narbonne *et al*., 1991 ; Hoarau *et al*.,1998 ; Stein, 1998 ; Dellali *et al.*, 1998) ainsi que l'activité acétylcholinestérasique (AChE), biomarqueur spécifique, inhibé par les organophosphorés et les carbamates (Brown et Bryson, 1992 ; Lafaurie *et al*., 1992 et Forget, 1998).

Le dernier chapitre est une synthèse de toutes les données physico-chimiques, microbiologiques et biochimiques obtenus pour valider l'utilisation de ces biomarqueurs dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte. Il y est présenté au moyen d'une analyse multivariée

(ACP) toutes les corrélations entre les différents paramètres mesurés *in situ* et surtout les effets des facteurs abiotiques et des concentrations bactériennes sur les activités enzymatiques chez les palourdes et les moules. Les données préliminaires sur la réponse de certains biomarqueurs chez la palourde à une infestation par des *Vibrionaceae* sont également exposées pour confirmer leurs effets sur les marqueurs biochimiques.

Dans la conclusion, sont présentés les principaux résultats permettant de valider les biomarqueurs utilisés dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte ainsi que les perspectives de recherche *in situ* et *in vivo*.

1) STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE

1) Localisation des stations (Fig. 1)

Sept stations littorales ont été prospectées dans les buts d'une part d'établir un suivi physico-chimique et microbiologique de l'état de perturbation de la lagune de Bizerte et d'autre part d'estimer l'impact de la qualité du milieu sur les bivalves qui s'y trouvent et secondairement celui de certains germes pathogènes sur la santé humaine.

Diverses contraintes ont motivé notre choix:

- La présence du matériel biologique représenté par :

- des moules au niveau des parcs aquacoles de Menzel Jemil (J) et de la baie des carrières (C),

- des palourdes aux stations de Menzel Abderrahmen (A), Faroua (F) et Menzel Jemil (J),

- la nécessité d'évaluer l'état microbien en divers points de la lagune, les eaux usées provenant des villes de Menzel Bourguiba, Menzel Abderrahmen et Menzel Jemil étant des sources évidentes de contamination avant la mise en route de la station d'épuration (1999),
- la nécessité de disposer d'une station de référence, représentée par la station marine de Rimel (R),
- la nécessité de prendre en compte une autre station, celle de l'oued Tindja (T), pour évaluer les apports bactériens provenant du lac Ichkeul par l'intermédiaire de l'oued Tindja.

2) Caractéristiques des stations et modalités des prélèvements

Tableau I1 : Coordonnées GPS des différentes stations prospectées au niveau de la lagune de Bizerte et stratégie d'échantillonnage (mai 1998 – mai 1999).

A: Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C: Baie des carrières ; F : Faroua ; J : Menzel Jemil; R: Rimel ; T: Oued Tindja.

Station	**A**	**B**	**C**	**F**	**J**	**R**	**T**
Coordonnées GPS	N37°13'56'' E9°51'38''	N 37°08'24'' E 9°56' 07''	N37°14'01'' E9°50'11''	N37°12'10'' E9°47'03''	N37°13'12 E 9°55'07''	N37°15'42'' E 9°56'18''	N37°1017' E 9°45'33''
Type des Prélèvements mensuels	Eau Sédiment Palourde	Eau Sédiment	Eau Sédiment Moule	Eau Sédiment Palourde	Eau Sédiment Palourde Moule	Eau Sédiment	Eau Sédiment
Nombre total de prélèvements	39	26	39	39	54	26	26

a) Menzel Jemil (J)

Cette station se situe au sud est de la ville de Menzel Jemil près du secteur mytilicole de l'ex-ONP (Office National des pêches) juste en face de la zone industrielle. La zone de balancement des marées y est importante et peut même dépasser les 10 mètres à quelques endroits (Dellali, 1996). Le plan d'eau constituant un lieu propice à la conchyliculture, ce secteur aquacole abrite 15 parcs mytilicoles situés à une profondeur de 3 à 5 m. Ce site a été retenu pour diverses raisons dont les plus importantes sont l'existence de bivalves (moules et palourdes) et du phénomène sporadique d'eutrophisation signalé par plusieurs auteurs (Dridi, 1977 ; Aïssa, 1991 et Dellali, 1996). Deux types de prélèvements y ont été effectués en parallèle (Tabl.1) :

- D'une part des prélèvements d'eau, de sédiment et de palourdes au niveau d'un point (J1), très proche du rivage, dans la zone de balancement des marées. En fait, le gisement de palourdes est localisé entre le déversement de l'oued Nechrine et les digues de la station d'élevage de moules de Menzel Jemil, entre les cordonnées topographiques 37°13' 10''N, 9°55'00''E et 37°12'45''N, 9°55'55''E.
- D'autre part, des prélèvements d'eau et de moules au niveau de la première table de culture de moules, à une plus grande hauteur de la colonne d'eau (environ 5m).

b) Menzel Abderrahmen (A) :

Plusieurs égouts déversent directement dans le secteur oriental de la lagune de Bizerte des eaux usées qui sont en grande partie domestiques. La station de collecte de Menzel Abderrahmen se situe au nord du port de pêche de la ville du même nom, à une centaine de mètres d'une bouche d'égout. Les rejets industriels (liquides, solides, poussières et dépôts de ferrailles) qui s'y déversent proviennent de diverses petites entreprises industrielles, installées dans la ville ou sur la rive nord du canal, surtout la cimenterie et d'autres industries textiles, électroniques et métallurgiques (ANPE, 1990). Vue la qualité des eaux environnantes, le site n'abrite qu'une petite population de palourdes non consommables. Un seul mode d'échantillonnage y a donc été effectué avec des prélèvements d'eau, de sédiment et de palourdes au niveau du point (A) proche de la côte. La hauteur de la colonne d'eau, faible au niveau de cette station, varie entre 15 et 25 cm.

c) Faroua (F):

Le secteur de Faroua qui renferme une grande population de palourdes fait l'objet durant l'année d'une collecte presque continuelle d'animaux destinés essentiellement à la consommation locale. Ce site qui est limitrophe d'une zone de 17 200 hectares à grande activité agricole, essentiellement céréalière (7 800 hectares) selon l'ANPE (1990), est donc susceptible de recevoir des apports en pesticides. Des prélèvements d'eau, de sédiments et de palourdes ont été réalisés mensuellement au niveau de la station (F) afin d'y évaluer les taux de contamination bactérienne et d'étudier la réponse biochimique des palourdes à la qualité du site. Les palourdes se répartissent entre la pointe sud de « Jazira El kébira » et à 1 km du pont de la voie ferrée de Tindja, soit 37°12'00''N, 9°47'00''E et 37'12'20''N, 9°47'05''E.

d) La Baie des carrières (C) :

Au niveau de ce site situé sur la berge sud du canal de Bizerte, il se trouve un parc privé limité à une seule table de moules. Le secteur est soumis à une pollution mixte, d'abord domestique à cause des villes avoisinantes (Bizerte, Zarzouna et Menzel Abderrahmen) mais aussi industrielle. En effet, d'après l'ANPE (1990), la cimenterie très proche de la station considérée rejette 28 000T/an de poussières de ciment, 5 750 T/an de soufre, 100T/an de chlore sous différentes formes, 2 000T/an de SO_2 et d'autres rejets sous forme de fumées, de sable et de débris de roches. Des rejets liquides et solides sous forme de Pb, Zn et Ld proviennent du traitement de métaux par la SIMET-SGI[1]. La CIAMIT[2] qui fabrique des tuyaux en amiante rejette quant à elle 100 000 m^3/j d'eau dans la lagune sans compter les poussières de ciment et d'amiante (ANPE, 1990). Le canal de navigation (et par suite la station de la baie des carrières) est le siège d'une contamination pétrolière ; celle-ci résulte essentiellement des lâcher d'hydrocarbures par les bateaux même si des résidus d'hydrocarbures provenant de la raffinerie de Bizerte peuvent y pénétrer lorsque le courant est entrant (Beyrem, 1993). La station (C) située au niveau de ce site a fait l'objet de prélèvements d'eau, de sédiments et de moules. Les tables mytilicoles, proches du littoral, y sont situées entre 2 et 3 m de profondeur.

[1] Traitement des métaux Chaudronnerie
[2] Tuyaux et amiantes

e) Menzel Bourguiba (B) :

Au sud de la ville de Menzel Bourguiba, derrière le complexe métallurgique, la couleur rouille de l'eau lagunaire est révélatrice d'une pollution métallique par le fer (Ouakad, 1983 ; Dellali, 1996 ; Essid,1999). En effet, le complexe sidérurgique de Menzel Bourguiba, nettement polluant, y rejette des eaux chaudes (40°C) riches en fer, Zn et Cd ainsi que des fumées renfermant des oxydes de fer et de manganèse en dispersion très fine et même des gaz provenant de la combustion du fuel à l'origine du dégagement dans l'atmosphère de 250 T/an de SO_2 (ANPE, 1990). En raison de cette contamination chimique, le site n'abrite que quelques rares algues entéromorphes, fixées au substrat rocheux. Ce qui explique en partie que la station (B) n'ait fait l'objet que de prélèvements d'eau et de sédiment pour les analyses microbiologiques et physico-chimiques.

f) L'oued Tindja (T):

Ce cours d'eau reliant la lagune de Bizerte au lac Ichkeul constitue la voie d'alimentation la plus importante de la lagune en eau douce (345 Mm^3 selon Aouij , 1995) ainsi qu'en apports terrigènes ; le sens des courants s'y inverse selon la pluviométrie et les saisons. D'après Chaouachi (1995), la période de courants entrant durant laquelle le lac Ichkeul se déverse dans la lagune de Bizerte a été de 6.5 mois en 1991/1992 et seulement de 5 mois en 1992/1993.

La station retenue pour la présente étude est localisée au niveau de l'intersection de l'oued avec la route reliant Bizerte à Menzel Bourguiba à une centaine de mètres du pont ; il y a été effectué des collectes d'eau et de sédiments pour les suivis microbiologique et physico-chimique.

g) Rimel (R) :

Cette station de référence (R) est située sur la côte méditerranéenne, à l'ouest de l'agglomération de Rimel, au niveau d'une plage appelée localement « Bhar El kbir ». Aucun rejet, domestique ou terrigène, ne s'y déverse. La plage de Rimel utilisée à des fins récréatives pendant la saison estivale ne risque donc qu'une éventuelle pollution microbienne. Cette station a fait l'objet de prélèvements d'eau et de sédiments pour le suivi microbiologique, les moules n'y étant présentes que de façon occasionnelle au niveau du faciès rocheux, limité à quelques blocs épars, situés à une profondeur relativement importante et inaccessibles durant la plus grande partie de l'année. Il nous a donc été impossible de les utiliser pour un suivi annuel.

II) MESURES *IN SITU*

Toutes les mesures des paramètres physico-chimiques sur le terrain et les prélèvements du matériel biologique ont été réalisés entre 9 et 12 heures afin de limiter leurs fluctuations journalières.

1) Paramètres abiotiques

Les températures de l'air et de l'eau ont été mesurées avec un thermomètre électronique (WTW, LF 196). Ces mesures ont été effectuées respectivement à un hauteur de 1 m au dessus de la surface de l'eau (température de l'air) et à une profondeur de 20 cm (température de l'eau). L'oxygène dissous a été mesuré aux différentes stations grâce à un oxymètre portatif de type CG867. La formule donnée par Endeco Ysi (1992) a permis de calculer la concentration en oxygène en équilibre avec l'atmosphère (100% de saturation), les pourcentages de saturation permettant de mieux comprendre les variations des teneurs en oxygène en tenant compte des corrections de température et de salinité. Les salinités ont été mesurées grâce à un salinomètre WTW à microprocesseur type LF196 et le pH avec un pH-mètre digital type CRISON micro pH 2001.

Les données climatologiques, journalières et mensuelles, ont été fournies par l'Institut National de la Météorologie (INM) et la Direction Générale des Ressources en Eau.

Les valeurs utilisées dans la présente étude ont été :

- la moyenne des deux valeurs extrêmes journalières de la température mesurée sous abri météorologique,
- le total de deux valeurs enregistrées le soir à 18 h et le lendemain matin à 8 h pour les variables précipitation et évaporation Piche,
- la direction de la vitesse maximale instantanée du vent,
- la valeur moyenne calculée sur les huit observations tri-horaires pour la vitesse moyenne du vent et de l'humidité relative.

2) Collecte des divers échantillons

La collecte des échantillons pour les analyses microbiologiques a été réalisée selon les directives de l'OMS[3](1995 a et b). Avant la réalisation de la sortie, il a été procédé à une

[3] OMS : Organisation Mondiale de la Santé

stérilisation des flacons de prélèvement d'eau (1l) et de sédiments (200ml) ainsi qu'à celle des récipients utilisés pour le transport des bivalves (500ml à col large).

Sur le terrain, le flacon utilisé pour le prélèvement d'eau a été débouché sous l'eau puis déplacé face au vent tout en restant immergé à une profondeur de 10 à 20 cm. Ce flacon a été ensuite émergé et rapidement fermé en laissant un peu d'air dans la bouteille pour permettre une homogénéisation de l'eau lors des analyses. Pour le sédiment, les prélèvements ont été réalisés en enfonçant le récipient stérile dans le sédiment en évitant tout contact manuel avec le col du récipient.

Les échantillons de bivalves collectés pour l'analyse microbiologique ont été prélevés parallèlement et dans les mêmes conditions puis placés dans des récipients stériles. Ces échantillons ont été transportés par la suite dans une glacière à 4 °C.

Les échantillons de bivalves destinés à l'étude biochimique ont été pris au hasard sans tenir compte du sexe mais de la taille égale à 58 ± 6 mm pour les moules et à 32 ± 4 mm pour les palourdes.

III) ETUDE BIOMETRIQUE DES MOULES ET DES PALOURDES

Dans le but de comparer les lots stationnels de bivalves prélevés dans la lagune de Bizerte d'une part et de les comparer à d'autres populations, méditerranéennes et atlantiques, d'autre part, il a été entrepris sous forme d'équations mathématiques une étude ponctuelle (août 1999, août 2000, décembre 2000) des relations existant entre les divers paramètres linéaires et pondéraux des animaux. Ceci permet d'avoir une idée, même partielle, sur la croissance relative d'organismes provenant de différents sites et par suite sur la croissance d'animaux soumis à des conditions abiotiques dissemblables (Trigui-El Menif, 1995). Cette méthode qui consiste à mettre en évidence les relations d'allométrie globale liant les paramètres métriques et pondéraux, pris deux à deux, constitue l'une des méthodes les plus utilisées pour étudier la croissance relative chez la moule (Hamon, 1983 ; Aloui-Bejaoui, 1998 a).

Pour chacun des quatre sites de prélèvement (A, C, F et J), les lots de moules et de palourdes collectées ont été constitués de 150 individus. Les mesures ont été réalisées le jour même du prélèvement pour éviter l'effet du jeûne et une émission éventuelle des gamètes, due au stress, ces phénomènes biologiques diminuant le poids de la masse molle totale et par suite l'indice de condition (Beninger et Lucas, 1984).

Les mensurations ont été effectuées à l'aide d'un pied à coulisse gradué au 1/10 de mm pour les paramètres linéaires et à l'aide d'une balance de précision à 0.1mg. La comparaison des

moyennes a été effectuée par les tests t de Student et U de Mann-Whitney. Les corrélations ont été recherchées par le calcul du coefficient de corrélation de Bravais- Pearson.

Les différents paramètres retenus pour cette étude ont été :

- des paramètres linéaires :

* la longueur L correspondant à la plus grande distance séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille,

* la hauteur H qui va de la charnière dorsale au bord ventral,

* l'épaisseur E qui est la largeur maximale de la convexité des deux valves réunies.

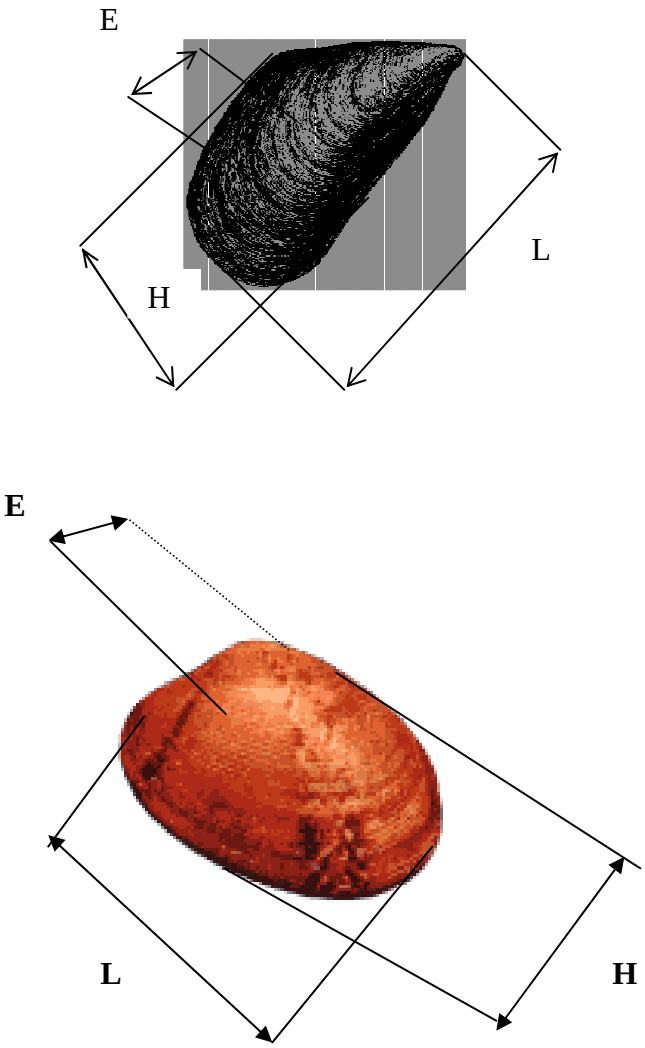


Fig. 2 : Paramètres linéaires considérés pour l'étude biométrique des moules et des palourdes présentes dans la lagune de Bizerte.

- Des paramètre pondéraux :

* Poids total frais (Pt-f)

* Poids total sec (Pt-s)

* Poids frais de la chair (Pch-f)

* Poids sec de la chair (Pch-s)

* Poids frais de la coquille (Pcq-f)

* Poids sec de la coquille (Pcq-s)

La croissance relative des deux organes a été étudiée par la loi d'allométrie simple qui s'exprime par l'équation suivante :

$$y = b\, x^{a}$$

y : dimension de l'organe ou proportion du corps étudié ou poids du corps.

x : longueur de l'organe de référence.

a : coefficient d'allométrie.

b : indice d'origine.

Pour déterminer le type d'allométrie, la pente a été comparée a une valeur théorique égale à 1 pour les paramètres linéaires et à 3 pour les paramètres pondéraux à l'aide du test t de Student et f de Snedcor (à 5%) (Trigui-El Menif, 1995).

$$t = \frac{a - 1 \; ou \; (3)}{écart\, type}$$

$$t = \frac{a - 1 (ou 3)}{\sqrt{\frac{sy^{2}}{sx^{2}}(1 - r^{2})}{N - 2}}$$

* s^2y : variance de y ou dispersion de y

*s^2x : variance de x ou dispersion de x

* r : coefficient de corrélation

* N-2 : degré de liberté

Pour les paramètres linéaires des bivalves, si leur croissance se fait dans les mêmes proportions, on parle d'isométrie (a = 1) ; si a < 1, l'allométrie est dite minorante et si a > 1, l'allométrie est dite majorante.

Pour la croissance relative du poids par rapport à la mesure de la longueur, Trigui-El Menif (1995) a signalé que le poids augmente en général proportionnellement au cube de la longueur et la loi d'allométrie s'exprime par l'équation de croissance :

$$\text{Log } y = \text{Log } b + a \text{ Log } x$$

$$Y = \text{Log } b + a X$$

Il y a isométrie quand a = 3 (croissance des deux proportions du corps dans le même sens).

Si a < 3, l'allométrie est dite minorante et si a > 3, l'allométrie est dite majorante, la croissance d'un paramètre étant alors proportionnellement inférieure ou supérieure à la croissance du paramètre de référence.

Les paramètres a et b ont été calculés par la méthode des moindres rectangles, appelée aussi axe majeur réduit. La comparaison de la croissance des bivalves aux différentes stations a été réalisée par le test de parallélisme de Student préconisé par plusieurs auteurs (Schwartz, 1983 ; Fisher et Yates, 1957 et Kleinbaum et Kupper, 1987). Ce test consiste à comparer les pentes des droites de régression qui s'écrit :

$$T = \frac{|b1 - b2|}{\sqrt{\sigma 2_{Y.X}\left[\frac{1}{(SCE_x)1} + \frac{1}{(SCE_x)2}\right]}}$$

avec

$$\sigma 2_{Y>X} = \frac{(SCE_{y.x})_1 + (SCE_{y.x})_2}{n_1 + n_2 - 4}$$

$$\sigma 2_{Y>X} = \frac{(SCE_y)_1 - SPE_1^2/(SCE_x)_1 + (SCE_y)_2 - SPE_2^2/(SCE_x)_2}{n_1 + n_2 - 4}$$

Les valeurs b_1, $(SCE_x)_1$, $(SCE_y)_1$, SPE_1 et $(SCE_{y.x})_1$ et n_1 sont relatives au premier échantillon et les valeurs b_2, $(SCE_x)_2$, $(SCE_y)_2$, SPE_2 et $(SCE_{y.x})_2$ et n_2 sont relatives au deuxième échantillon.

$\sigma^2_{y.x}$ correspond aux variances résiduelles estimées.

$SCE_{y.x}$ est la somme des carrés des écarts résiduels dans chaque modèle.

SCE_x est la somme des carrés des écarts de x.

SCE_y est la somme des carrés des écarts de y.

SPE_1 est la somme des produits des écarts dans l'échantillonnage 1.

SPE_2 est la somme des produits des écarts dans l'échantillonnage 2.

n1 est l'effectif de l'échantillonnage 1

n2 est l'effectif de l'échantillonnage 2

La valeur de t est comparée à la valeur critique à p= 0.05. Lorsque le test (t) s'avère significatif (t > 1.96), la croissance relative du bivalve diffère d'un lot stationnel à l'autre.

IV) MICROBIOLOGIE

1) Isolement et culture de la flore hétérotrophe mésophile

Selon les directives de l'OMS[4] et les normes internationales ISO[5] 8784-1 (1987), la flore bactérienne est *le nombre total des colonies bactériennes formées après incubation d'un volume de l'échantillon ou de sa dilution sur un milieu de culture approprié et dans des conditions spécifiques standardisées*.

Tous les prélèvements ont été effectués dans des récipients stériles, transportés à 4°C ; les analyses ont été réalisées au laboratoire quelques heures après (4 heures au maximum).

L'eau a été analysée à l'état brut. Pour le sédiment, 10 g ont été dissous dans 100ml de tampon phosphate (pH = 7). Chaque échantillon de bivalve est constitué de 10 individus pris au hasard (d'âge et de sexes différents) qui sont lavés à l'eau puis brossés à l'alcool. La partie molle a été broyée stérilement avec le liquide intravalvaire ; 10 g du broyât ont été dilués dans 100 ml de tampon phosphate (pH =7).

La flore mésophile totale a été dénombrée après ensemencement sur gélose nutritive à 2% de NaCl par la technique de Plate Counting Agar ou PCA (peptone de caséine, extrait de levure, dextrose, agar) en mélangeant 1ml de l'échantillon ou de sa dilution (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) avec le milieu de culture maintenu en surfusion (45°C à 50°C) , l'incubation se faisant à 37°C pendant 24 à 48 heures (Aysin et Ayten., 1998). L'addition de NaCl vise à isoler seulement la flore halophile représentative de la flore marine. Les résultats ont été exprimés en unités formant colonie (UFC) après calcul de la moyenne pondérée (N) selon l'équation suivante (ISO 15214, 1998) :

$$N = \frac{\sum c}{v(n_1 + 0{,}1 n_2)\, d}$$

$\sum c$ est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes de deux dilutions successives contenant entre 30 et 300 colonies.

v est le volume de l'*inoculum* appliqué à chaque boîte,

n_1 est le nombre de boîtes retenues à la première dilution,

n_2 est le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution,

d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

[4] OMS : Organisation Mondiale de la Santé

2) Sulfato-réducteurs

La présence de ce groupe bactérien a été déterminée dans l'eau, le sédiment et la masse molle totale des bivalves en respectant les étapes suivantes :

- Sélection des spores dans l'échantillon par chauffage à 80°C et pendant 15 mn, ce qui permet l'élimination des bactéries végétatives (NT ISO 6461/2, 1986),
- Isolement des germes sur gélose T.S.N. (sulfite, fer, gélose) qui est un milieu de culture sélectif de ces micro-organismes anaérobies. En effet, 1 ml de l'eau ou de la solution obtenue après dissolution du sédiment ou broyage de la chair des animaux a été introduit stérilement dans un tube incliné de gélose à T.S.N qui représente un milieu sélectif de ce type de bactéries représenté essentiellement par l'espèce ***Clostridium perfringens*** (normes tunisiennes NT ISO 6461/2-1986**).**
- Incubation des tubes 24 à 48 heures à 37°C.
- Recherche de la présence de sulfato-réducteurs par le virage de la couleur de la culture au noir indicateur d'un dégagement d'hydrogène sulfureux (présence d'un anneau noir).

3) Flore fécale

La méthode standard des tubes multiples, norme internationale ISO 9308/2 (1990) et norme tunisienne NT 09.90 (1994) recommandée par l'OMS (OMS/PNUE[6], 1995 a et b) qui permet la détermination du nombre le plus probable (NPP[7]) des germes en tubes multiples a été utilisée pour la détermination des coliformes totaux (C.T[8]) et fécaux (C.F[9]) et celle des entérocoques fécaux (S.F[10]). Cette méthode consiste à mettre une série de dilutions de l'échantillon à analyser dans un milieu sélectif (vert brillant bilié pour les coliformes et milieu litsky pour les entérocoques). La culture a été réalisée pendant 24 à 48 heures à une température sélective (35.5°C) pour les coliformes totaux et les entérocoques fécaux et à une température de 44.5 °C pour les coliformes fécaux (OMS/PNUE, 1995). Notons que Grasso *et al.* (2000) ont récemment démontré que cette technique des tubes multiples est plus fiable

[5] ISO : Normes internationales
[6] Plan des Nations Unies pour l'Environnement
[7] Nombre le Plus Probable
[8] Coliformes Totaux
[9] Coliformes Fécaux
[10] EntérocoquesFécaux

que le dénombrement de la flore fécale par la méthode de membrane filtrante. Les résultats pour les bivalves ont été comparés aux normes tunisiennes en vigueur inspirées des normes européennes (NT[11]54.04, 1987). Selon celles-ci, le seuil de salubrité est fixé à **300 C.F/100ml** de chair et de liquide intravalvaire pour les bivalves de mer mais sont tolérés des taux de dépassement pour 5 % des échantillons à condition que le résultat soit inférieur à 1500 C.F ou encore pour 1 % des prélèvements à condition que le résultat soit inférieur à 3000 C.F. Au niveau de l'eau de mer, ce seuil est limité à **2 C.F/100ml** d'eau mais peuvent être acceptés des taux supérieurs pour 10 % au maximum des échantillons à condition que ces derniers contiennent moins de 7 CF par 100 ml d'eau. Par ailleurs, une zone peut être classée comme **zone conditionnelle** si le taux en coliformes fécaux pour les bivalves est inférieur ou égal à **3900 C.F / 100ml** de chair et de liquide intravalvaire et si pour l'eau, il est inférieur ou égal à **34 C.F/100ml** d'eau de mer, un taux de 49 C.F/100ml d'eau pouvant être toléré pour 10% au maximum des échantillons analysés.

4) Vibrionaceae

a) Isolement et dénombrement

L'isolement des germes de *Vibrionaceae* a été effectué selon la normalisation française V45-111 (1985) par ensemencement sur milieu sélectif TCBS (thiosulfate - citrate- bile-sodium) (Bisignano *et al*., 1981; Bruni *et al*., 1987). Leurs dénombrements exprimés en UFC (unités formant colonies) ont été réalisés en versant 15ml du milieu TCBS maintenu en surfusion dans une boîte de pétri stérile contenant 1 ml de l'échantillon ou de sa dilution (10^{-1}, 10^{-2} et 10^{-3}). Pour les échantillons d'eau, les dénombrements ont nécessité au préalable une filtration sur membrane de 0.45µm (nitrate de cellulose). Par la suite, celle- ci a été placée à la surface du milieu de culture pour incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Le calcul du nombre de colonies jaunes (saccharose +) et vertes (saccharose -) a été effectué pour chacun des trois compartiments étudiés à partir de deux boîtes de la même série de dilution.

[11] Normes Tunisiennes

b) Coloration Gram:

Une colonie de la souche isolée sur TCBS a été cultivée sur gélose nutritive (Marine Agar) avant d'être mise en suspension dans une goutte d'eau distillée stérile puis étalée sur une lame à l'aide d'une anse stérile. Le frottis obtenu après séchage à 37°C a d'abord été coloré au violet de gentiane (20 s) et au lugol (20 à 30 s) puis décoloré à l'alcool et à l'eau distillée stérile. La préparation a été par la suite colorée à la fuschine, rincée à l'eau et observée au microscope. Les bactéries Gram(+) se colorent ainsi en bleu violet et les Gram(-) en rose rouge.

b) Identification

Tableau I 2 : Tableau de lecture des réactions de la souche testée sur les galeries Api 20 NE

Tests	substrats	Réactions/ Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
Rose – rouge Incolore	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites Réduction des nitrites en azote	Incolore Rose	Rose – rouge Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	Incolore-jaune	Rose
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu - vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	B-Galactosidase	Jaune	Orange/rose/rouge
GEL	Gélatine à l'encre de chine	Protéase	Pas de diffusion	Diffusion (noir)
PNPG	P-nitrophényl-BD-galactopyranoside	B-Galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose	Assimilation	Transparence	Trouble
MNE	Mannose	Assimilation	Transparence	Trouble
MAN	Mannitol	Assimilation	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation	Transparence	Trouble
MAL	Maltose	Assimilation	Transparence	Trouble
GNT	Gluconate	Assimilation	Transparence	Trouble
CAP	Caprate	Assimilation	Transparence	Trouble
ADI	Adipate	Assimilation	Transparence	Trouble
MLT	Malate	Assimilation	Transparence	Trouble
CIT	Citrate	Assimilation	Transparence	Trouble
PAC	Phényl-acétate	Assimilation	Transparence	Trouble

Les *Vibrionaceae* étant des bactéries Gram négatif à réaction oxydase positive, il a été procédé à la détermination de ces espèces bactériennes en utilisant le système API 20 NE (Biomérieux, France). Ce test consiste à soumettre la souche isolée à une série de 20 tests biochimiques pour déterminer son biotype selon son activité métabolique. Le tableau I2 représente les résultats des différents tests biochimiques appliqués.

d) Antibiogramme

Une grande partie des *Vibrionaceae* isolées dans la lagune de Bizerte étant d'origine terrigène, ces germes peuvent engendrer au contact d'antibiotiques des souches plus ou moins résistantes. La méthode d'antibiogramme standardisée par l'OMS[12] permet de donner des résultats qualitatifs en classant les souches étudiées selon leur réaction à divers antibiotiques (Sensibles : S, Intermédiaires : I et Résistantes : R).

Les souches de *Vibrionaceae* identifiées ont été congelées à –20 °C (½ glycérol stérile ; ½ suspension bactérienne cultivée sur bouillon lactosé à 2% NaCl). Celles-ci ont été repiquées sur milieu nutritif non sélectif (Marine broth, Difco) après décongélation à 30°C pendant 24 h afin d'avoir une suspension homogène dont la concentration est d'environ 10^6. Pour obtenir une répartition relativement homogène de ces bactéries, l'ensemencement de l'*inoculum* sur gélose de Mueller Hinton a été réalisé selon les normes de la C.A.S.F.M[13] (1998) par inondation de la boîte de pétri avec quelques ml (2 à 4) de la suspension à l'aide d'une pipette pasteur stérilisée. L'excédent de liquide une fois enlevé par aspiration, les boîtes ont été séchées à 37°C pendant 15 mn. Les disques antibiotiques (Sanofi Diagnostics Pasteur) ont été placés sur la culture bactérienne à l'aide de pinces stériles tout en appuyant légèrement pour assurer une diffusion homogène de l'antibiotique (Richardson *et al.*, 1982 ; Freney *et al.*, 1988) en veillant à respecter une distance de 3 cm entre les centres de deux disques voisins afin d'éviter une éventuelle interférence entre les antibiotiques testés. Le diamètre de la zone inhibée a été mesuré puis comparé aux valeurs critiques exprimées dans le tableau I3. Les souches ont été par la suite classées en résistantes (R), sensibles (S) ou à résistance Intermédiaire (I) selon les normes de la C.A.S.F.M[14] (1998).

Les antibiogrammes ainsi obtenus ont servi à grouper les souches bactériennes en fonction de leurs profils de résistance.

[12] OMS : Organisation Mondiale de la Santé
[13] : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
[14] : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau I3 : Antibiotiques testés avec leurs principales caractéristiques.

Classe	Dénomination commune	Dénomination commerciale	code	Charge (µg)	[CC] critiques µg/ml	Diamètre des zones (mm)		
						R	I	S
Béta - Lactamines	Pénicilline G (1)	Extencilline, Oracilline, Oracilline, Bipénicilline,	P	10 U.I 6 µg	0.25 - 16	<8	8-28	>29
	Pénicilline A (Amoxicilline)	Clamoxyl, Hiconcil, Agram, Bristamox, Flemoxil, Bactox	AMX	25 µg	4-16	<14	14-20	>21
	Pénicilline M	Bristopen, Orbénine, Cloxipen	OX1	5 µg	2	<20		>20
	Céphalosporines (Céfoxitine)	Méfoxin	FOX	30 µg	8-32	<15	15-21	>22
	Céphalosporines (Ceftriaxone)	Rocéphine	CRO	30 µg	4-32	<15	15-20	>21
Aminosides et amino-caclitols	Streptomycine	Streptomycine	S	10 UI	8-16	<13	13-14	>15
	Tobramycine	Nebcine	NN	10 µg	4-8	<14	14-15	>16
	Néomycine	Néomycine	N	30 UI	8-16	<15	15-16	>17
Phénicols	Chloramphénicol	Tifomycine, Cébénicol	C	30 µg	8-16	<19	19-22	>23
Tétracy-clines	Tétracycline	Abiosan, Xexacycline, Tétracycline, Terramycine, Tetramig	TE	30 UI	4-8	<17	17-18	>19
Macro-lides	Oléandomycine	T.A.O	OL	15 UI	1-4	<17	17-21	>22
Nitro-furanes	Furanes	Furadoine, Furadantine, Furoxane, Furazolidone, Urfadyn	FM	300 UI	25-100	<14	14-16	>17
Sulfa-mides	Triméthoprime-Sulfamides	Bactrim, Eusaprim, quam, Supristol, Rimactan	SXT	1.25 + 23.75µg	2-8 38-152	<10	10-15	>16
Rifam-picines	Rifampicine	Rifadine, Rimactan	RA	30 µg	4-16	<14	14-18	>19
Autres	Acide Oxolinique	Urotrate	AR	10µg	2-4	<17		>20

IV) BIOMARQUEURS

1) *Stress on stress*

La méthode d'Eertman et Zwaan (1994) reprise par Viarengo *et al.* (1995 b) consiste à soumettre des mollusques prélevés en mer, en différentes stations du littoral, à deux types de stress. Au stress que subissaient déjà les animaux dans leur milieu naturel si celui-ci était pollué, il est ajouté un deuxième facteur perturbant obtenu en plaçant les bivalves en situation d'anoxie, par mise à l'air libre au laboratoire (d'où l'appellation de "stress sur le stress"). Si les mollusques sont d'ordinaire capables de supporter des émersions prolongées, leur résistance à la mise à l'air libre est amoindrie quand ils ont été au préalable soumis dans leur milieu naturel à une contamination chimique. Ce sont donc ces individus, doublement perturbés, qui mourront les premiers tandis que leurs congénères sains seront en mesure d'endurer le traitement pendant un laps de temps plus long. En fin de compte, la comparaison aux même temps des taux de mortalité pour des animaux provenant de sites différents donne une indication relative sur l'état de "santé" des stations étudiées. La réponse au *stress on stress* s'avère être une méthode originale, d'une extrême facilité de mise en oeuvre puisqu'elle ne nécessite en tout et pour tout qu'une enceinte thermostatée où entreposer les organismes à l'air libre.

Dans notre étude, des lots stationnels de 50 individus mesurant 58 ± 6 mm (moules) ou 32 ± 4 mm (palourdes) ont été soumis à des périodes d'anoxie dans une chambre climatisée à une température de 18 °C et à une photopériode normale. Les morts ont été prélevées au fur et à mesure et leurs nombres ont été cumulés toutes les 24 heures.

2) Autres biomarqueurs étudiés (AChE, CAT et GST)

a) Collecte du matériel biologique

Afin d'étudier les variations mensuelles de trois biomarqueurs à savoir l'AChE, la CAT et les GST, il a été collecté mensuellement durant la période allant de mai 98 à mai 99 des échantillons spécifiques comprenant 10 individus/ station/ biomarqueur. Les bivalves ont été collectés au hasard sans tenir compte du sexe, Serafim *et al.* (2001) ayant démontré, chez la palourde, que la réponse d'un biomarqueur (comme les métallothionéines) ne varie pas avec le sexe.

Les palourdes (*Ruditapes decussatus*) proviennent de J, A et F et les moules (*Mytilus galloprovincialis*) de J et C.

b) Préparation de la fraction postmitochondriale (S9)

Les bivalves prélevés *in situ* (ou infestés *in vivo*) ont été détachés de leurs coquilles, égouttés sur papier absorbant, pesés puis placés dans l'azote liquide et stockés à -80°C, une température qui empêche toute action biologique et préserve les échantillons d'éventuelles dégradations. Leur masse molle totale a été reprise dans quatre volumes du tampon TBS (TRIS Buffer Saline) ajusté à pH 7.4, PMSF 1mM (inhibiteur de protéase préparé à partir d'une solution mère 100mM dans l'isopropanol et conservé à –20°C) et DTT 1mM (ajoutés *extempore*) pour le dosage des GSTs ou dans du tampon phosphate 100mM, pH 7.5 (activité CAT) ou dans du tampon TRIS 100mM, pH 7.5 (activité AChE). Ces tissus ont été homogénéisés à l'aide d'un ultra-turrax et l'homogénat obtenu a été centrifugé à 9000g pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant (S9) contenant le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les protéines cytosoliques a été récupéré pour le dosage des protéines ou des activités enzymatiques recherchées.

Toutes les opérations à savoir dissection des animaux, broyage et centrifugation se sont déroulées à 4 °C (dans la glace). Il faut noter qu'un échantillon décongelé n'est jamais congelé par la suite et qu'il est utilisé le jour même (Najimi, 1997).

c) Dosage des protéines :

La quantité de protéines présentes dans les fractions S9 a été déterminée avant la mesure des activités enzymatiques, grâce à la méthode de Bradford (1976), en utilisant le bleu de Coomassie comme réactif (50 µl de la gamme étalon ou de l'échantillon avec 1.5 ml du bleu de Coomassie). Ce dernier réagit avec les protéines en donnant des complexes de couleur bleu qui absorbent à une longueur d'onde de 595 nm ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des protéines présente dans chaque échantillon. La gamme étalon a été réalisée avec de l'albumine bovine sérique (BSA) à des concentrations de 0; 75; 100; 250; 400; 500; 1000; 1500 µg/ml ; ces dilutions ont été réalisées avec le tampon d'homogénéisation spécifique à chaque biomarqueur (voir paragraphe IV, 2b). Chaque échantillon de S9 a été dilué au dixième avec le tampon d'homogénéisation.

d) Dosage de l'activité catalase (CAT)

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces oxygénées réactives et en accélérant la réaction spontanée de dismutation du

peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Regoli et Principato, 1995).

La réaction se fait en deux étapes:

Catalase (Fe III) + H_2O_2 --------> Catalase (Fe V) H_2O_2

Catalase (Fe V) H_2O_2 + H_2O_2 ---------> Catalase (Fe III) + H_2O + O_2

$$2\ H_2O_2 \text{ --------> } +2\ H_2O + O_2$$

L'activité catalase (CAT) a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6105) par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (ε= 40 $M^{-1}.cm^{-1}$) en faisant réagir dans 100mM de tampon phosphate pendant 1 mn à pH 7,5, 100 µl de H_2O_2 (500mM) sur 20 µl du S9, à une température d'incubation de 25°C. Les réactifs ont pour origine Sigma Aldrich. Les résultats ont été exprimés en µmol d'H_2O_2 par minute et par mg de protéines.

Le tableau 4 ci-dessous représente les concentrations et les quantités des réactifs nécessaires au dosage de l'activité catalase.

Tableau 4 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité CAT

	essai (µl)	**blanc (µl)**
Tampon phosphate (100mM; pH 7.5)	780	800
H_2O_2 500mM	200	200
S9 (1 à 1.5 mg prt./ml)	20	0

On note que :

- la quantité du surnageant (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1.5 mg/ml soit une quantité de 10 à 20 µl de S9.

- L'activité décroissant rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre.

- La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

Le coefficient d'extinction étant de 0.040 $mM^{-1}.cm^{-1}$, l'activité CAT peut être calculée selon l 'équation suivante :

$$\text{activité}\,(\mu\text{mol/mn mg prt}) = \frac{(\Delta DO x 10)}{(\varepsilon x L x X x 0.05)}$$

e) Dosage de l'activité AChE

L'acétylcholinestérase est une enzyme qui est nécessaire au fonctionnement normal du système nerveux sensori-moteur et surtout au fonctionnement de la plaque motrice (Payne *et al.*, 1996). En effet, cette enzyme permet l'hydrolyse de l'acétylcholine libérée lors du passage d'un message nerveux par les boutons synaptiques de la jonction neuromusculaire, ce qui provoque la contraction musculaire. L'activité de cette enzyme étant inhibée par de nombreux neurotoxiques, le médiateur chimique s'accumule et il s'en suit le maintien du passage de l'influx nerveux conduisant à la tétanie et à la mort (Bocquené, 1996).

Si les effets inhibiteurs de l'AChE ont été utilisés auparavant pour la mise au point de gaz de combat neurotoxiques (sarin, soman), plusieurs composés susceptibles d'inhiber l'AChE sont encore employés aujourd'hui à des fins phytosanitaires. Parmi ceux-ci, citons les organophosphorés (ou organophosphates), largement utilisés comme matière active dans la préparation d'insecticides. De fait, l'emploi massif des organophosphates (Fig.3) en tant qu'insecticides date du début des années 1970, favorisé par l'interdiction d'utiliser des composés organochlorés comme le DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane, hautement rémanent) dont le comportement lipophile en fait une substance extrêmement bioaccumulable. Les organophosphorés se sont rapidement imposés du fait de leur très grande efficacité, notamment contre les insectes, et de leur comportement dans l'environnement considéré comme relativement inoffensif en comparaison avec les organochlorés. Ceci dit, l'effet de ces molécules ne doit en aucun cas être considéré comme négligeable au plan écotoxicologique (Tabl. 5 et 6).

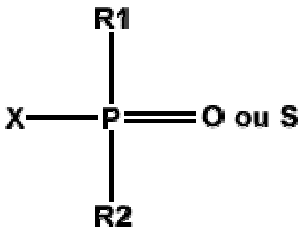


Figure. 3 - Formule des organophosphorés. Ce sont des dérivés esters, amides ou thiols de l'acide ortho et thiophosphorique. R1 et R2 sont des chaînes alkoxy ou aryloxy et X est un groupe aliphatique ou aromatique, facilement détachable.

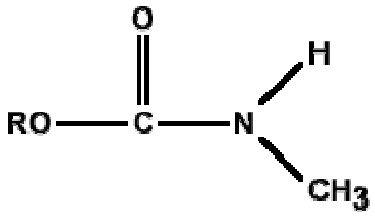


Figure. 4:- Formule des carbamates.
Ce sont des méthylcarbamates dérivés de l'acide méthylcarbamique. R est une chaîne alkyl ou aryl.

Tableau I5 - Liste des 39 pesticides selon la directive européenne 76/464/EEC dont la surveillance est prioritaire dans la lutte contre la pollution par des substances dangereuses déchargées dans l'environnement aquatique. Parmi ces composés figurent 19 molécules organophosphorées (en gras), soit un peu plus de 50% d'entre eux .

Aldrine	**Disulphotone (op)**	Monolinuron
Arazine	Endosulphane	**Omethoate (op)**
éthyl d'azinphos (op)	Endrin	**Ethyl d'oxydemeton (op)**
méthyl d'azinphos (op)	**Fenitrothione (op)**	
Chlordane	**Fenthion (op)**	**Ethyl de parathion (op)**
Coumaphos (op)	Heptachlor	**Méthyl de parathion (op)**
2,4-D	Hexachlorobenzène	Phoxim
DDT	Linuron	Propanil
Demeton (op)	**Malathion (op)**	**Pyrazon (op)**
Dichlorprop	MCPA	Simazine
Dichlorvos (op)	Mecoprop	2,4,5-T
Dieldrine	**Metamidophos (op)**	**Triazophos (op)**
Dimethoate (op)	**Mevinphos (op)**	**Trichlorfon (op)**

Tableau I6 - Liste française des 30 substances actives prioritaires établies par le Comité de liaison eau-produits phytosanitaires des Ministères français de l'Agriculture, de l'Environnement et de la Santé (20 mai 1994). Curieusement, cette liste ne comporte plus que 3 produits organophosphorés ou carbamates (en gras).

Alachlore	Dinoterbe	Lindane
Aldicarbe (c)	Diquate	Linurone
Aminotriazole	Diurone	Méthomyl
Atrazine	Endosulfane	**O-demeton (op)**
Captane	Fenpropimorphe	Pendiméthaline
Carbendazime	Fluroxyxpyr	Simazine
Chlorpyriphos-éthyl (op)	Flusilazole	Terbuthylazine
Chlortoluron	Folpel	Triallate
Cyanazine	Ioxynyle	Tridémorphe
Cyproconazole	Isoproturone	Trifluraline

Les carbamates (Fig.4) sont apparus vers la fin des années 1940 et on dispose aujourd'hui d'une cinquantaine de molécules actives qui en font des insecticides en constante progression. Leur essor semble lié, comme pour les organophosphates, aux restrictions d'utilisation des insecticides organochlorés imposées par de nombreux pays industrialisés. Notons encore qu'il existe d'autres composés inhibiteurs potentiels de l'activité cholinestérasique comme les pyréthroïdes (utilisés dans les produits domestiques de lutte contre les insectes), les triazines et le paraquat (deux puissants herbicides agissant sur les processus de respiration et de photosynthèse des végétaux), certaines toxines algales et les métaux lourds (Galgani et Bocquené, 1989 ; Bocquené *et al*., 1997, Najimi *et al*., 1997 et Hamza- Chaffaï *et al*., 1998).

La méthode utilisée, dans cette étude, pour le dosage de l'activité AChE est celle décrite par Ellman *et al*. (1961). C'est une méthode colorimétrique dont le principe est le suivant : l'acéthylcholinestérase catalyse l'hydrolyse d'un ester de choline (Acétylthiocholine : ASCh). La thiocholine libérée réagit avec le 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB) pour former le 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB), produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm. L'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente dans la milieu. La réaction peut se schématiser ainsi :

$$ASCh + H_2O \xrightarrow{AChE} SCh + \text{Acide acétique}$$

$$SCh + DTNB \longrightarrow TCh\text{-}TNB + TNB$$

Le protocole de dosage se déroule comme suit :

dans les cuves essais, sont introduits dans l'ordre :

- 900 µl de tampon TRIS 100 mM, pH 7.5
- 50 µl du réactif DTNB (0.008 M) : DTNB 1.875 mM + 150 % $NaHCO_3$, le tout dans le TRIS 100 mM, pH 7.5 (soit 10 mg DTNB + 15 mg $NaHCO_3$ dans 13.45 ml de TRIS). *Le DTNB doit être conservé à l'abri de la lumière.*
- 50 µl du (S9) contenant l'enzyme sous forme d'extrait brut correspondant à une quantité de protéines de l'ordre de 0.1µg/ml.
- 50 µl d'acétylthiocholine 8.25 mM (soit 11.9 mg d'acétylthiocholine iodide (Sigma ®) dans 5 ml de TRIS) déclenchant la réaction enzymatique.

Les cuves ont été incubées à 25 °C et la densité optique a été suivie à 412 nm pendant 25 mn. Pour mesurer l'hydrolyse spontanée du substrat, l'échantillon a été remplacé par un volume équivalent du tampon afin de mesurer la variation de l'absorbance en absence de l'enzyme.

Les résultats ont été exprimés en nmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.

$$\text{activité}\,(\mu\text{mol/mn mg prt}) = \frac{(\Delta DO/mn x 1000)}{(\varepsilon x V x p)}$$

ΔDO/mn = Variation de densité optique par minute.

V = Volume de l'échantillon en ml

P = mg de protéines /ml de S9

ε = coefficient d'extinction molaire de l'acéthylcholinestérase égal à 13.6 mM^{-1}.cm^{-1}.

f) Dosage de l'activité des GSTs

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèses intracellulaires (George, 1990). Les GSTs représentent une importante famille enzymatique dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit (GSH) à des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther. Les produits sont ensuite métabolisés en mercaptures puis excrétés dans les déchets liquides (bile, urine). La fonction des GSTs la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans l'environnement demeure leur propriété de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir dangereusement avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). De fait, la conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee et Bhattacharya, 1984).

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat (en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde. Il est possible de quantifier cette absorption au moyen d'un spectrophotomètre et la valeur de la densité optique mesurée à 340 nm est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formée, elle-même liée à l'intensité de l'activité GST (Habig *et al.*, 1974). Les mesures de l'activité GST globale ont été réalisées en utilisant le CDNB (1-Chloro, 2,4-Dinitro Benzène) qui est un substrat des différentes isoenzymes de la GST, ce qui permet la mesure globale des activités GSTs (, 1998 et Stein *et al*. 1998).

Une grande variété de composés chimiques induisent l'activité des GSTs, dont certains sont inducteurs des cytochromes P450 comme les hydrocarbures polyaromatiques et

les PCB. Dans l'état actuel de nos connaissances sur les poissons par exemple, toutes les isoenzymes de la famille des GSTs n'ont pas encore été individualisées (comme c'est le cas pour les cytochromes P450) et leur activité spécifique demeure mal connue. Leur utilisation comme biomarqueur d'un type de polluant dans l'environnement restant encore à définir, les GSTs sont encore aujourd'hui plutôt considérées comme des indicateurs non-spécifiques, témoins de l'état de santé global des organismes qui peuplent les écosystèmes marins.

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig *et al.* (1965) ; celle-ci consiste à faire agir les G.S.Ts contenues dans le cytosol sur un mélange GSH+ CDNB à 37° C et à pH 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1mn à 340 nm.

Protocole expérimental

La masse molle totale de l'animal préalablement congelée dans l'azote liquide a été broyée dans 4 volumes du tampon d'homogénéisation, formé de :

10 mM tampon HEPES
250 mM de saccharose
1mM de Na_2EDTA
1mM de DTT
1mM de PMSF

L'homogénat ainsi obtenu a été centrifugé à 9000g et à 4° C (25mn) et le surnagent S9 a été récupéré afin de doser l'activité des GSTs. Le protocole du dosage se réalise dans des cuves en quartz (Tabl. I7).

Tableau I7 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité GST

	blanc(µl)	**essai (µl)**
Tampon Phosphate (100mM) pH 6.5	850	830
CDNB (20 mM)	50	50
GSH (100mM)	100	100
cytosol (S9 ou S100)	0	20

Les cuves ont été incubées à 37 °C durant la manipulation. La valeur de la densité optique correspondant au blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

Sachant que le coefficient d'extinction du GSH-CDNB est de 9.6 mM^{-1}. Cm^{-1}

$$\text{activité GST} = \frac{(DO/mn - DO/mn\ blanc)}{(9.6\ \text{X}\ mg\ de\ proteines\ dans\ lacuve)}$$

VI) EXPERIENCES D'INFESTATION

Les palourdes de la lagune de Bizerte qui ont été utilisées pour les infestations proviennent uniquement de la station J ; leur taille moyenne est égale à 32 ± 4 mm. Les animaux ont été au préalable acclimatés pendant 3 jours dans de l'eau de mer stérile, filtrée sur membrane filtrante (0.2 µm) et autoclavée (121 °C pendant 15 mn) afin d'éliminer les bactéries contenues dans l'eau. Des lots de 10 individus chacun (50 pour le *stress on stress*) ont été placés dans des cristallisoirs stériles contenant de l'eau de mer stérilisée, comme indiquée précédemment, à raison de 0.5 l /individu. La charge en *Vibrionaceae* a été déterminée sur TCBS toutes les 24 heures durant la période d'acclimatation et d'infestation pour connaître leur évolution au cours du temps dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes. Une souche d'*Aeromonas hydrophila* isolée des palourdes provenant de la lagune de Bizerte a été cultivée à 18°C sur Marine Broth (Difco) pendant 24 heures. La concentration bactérienne après culture sur TCBS a été évaluée par mesure de la densité optique de la suspension à 620 nm (Paillard et Maes, 1995). Une suspension de 10^8 UFC a subi une centrifugation de 10 000 g pendant 20 mn puis une dilution au 1/10 dans de l'eau de mer stérile. L'infestation a été réalisée par injection intravalvaire de 0.25 ml de la suspension bactérienne à l'aide d'une fine aiguille (utilisée pour les injections d'insuline). Il est impératif que la suspension soit introduite entre les deux valves dans la cavité palléale sans toucher les tissus pour éviter tout stress de contact. Les palourdes ont été laissées 12 h (*over night*) en dehors de l'eau dans un milieu humide à 18 °C puis replacées dans de l'eau de mer stérile (Maki *et al.,* 1998). Parallèlement, un deuxième lot témoin a été placé dans les mêmes conditions expérimentales en remplaçant la suspension bactérienne injectée par de l'eau de mer stérile. L'eau a été renouvelée toutes les 48 heures. Il est à noter que chaque expérience a été réalisée en quatre exemplaires. La matière molle totale a été prélevée puis broyée d'une part pour le dénombrement des *Vibrionaceae* et d'autre part pour les dosages biochimiques (GST, CAT et AChE).

VII) TRAITEMENT STATISTIQUE

1) Test de Student

Toutes les concentrations bactériennes par station et par compartiment ont été comparées après calcul de la moyenne à l'aide du test de Student non apparié. Ce test est utilisé pour comparer les moyennes de petits échantillons (A et B, indépendants) quand n_A ou (et) n_B <30.

n_A = nombre d'échantillons à la première station

n_B = nombre d'échantillon à la deuxième station

$$t\ calcule = \frac{\overline{X_A} - \overline{X_B}}{\sqrt{\frac{S^2}{n_A} + \frac{S^2}{n_B}}} = \frac{\overline{X_A} - \overline{X_B}}{\sqrt{s^2(\frac{1}{2} + \frac{1}{2})}} = \frac{\overline{X_A} - \overline{X_B}}{\sqrt{S^2}}$$

$$S^2 = \frac{\sum (X_A - \overline{X_A})^2 + \sum (X_B - \overline{X_B})^2}{n_A + n_B - 2}$$

X_A: Valeur moyenne du paramètre considéré à la première station

X_B : Valeur moyenne du paramètre considéré à la deuxième station

S^2 : Variance estimée.

ddl: n_A+n_B-2.

Au seuil de 5% :

Si t calculé < t théorique, la différence entre les deux moyennes est non significative.

Si t calculé > t théorique, la différence entre les deux moyennes est significative.

2) Test U de Mann-Whitney :

Il permet de définir une règle de décision concernant la validité de l'hypothèse relative à l'identité des distributions d'un caractère dans deux populations A et B. Les deux échantillons sont tirés de façons indépendantes de deux populations d'effectifs m et n.

$$UA = mn + \frac{m(m+1)}{2} - RA$$

$$UB = mn + \frac{n(n+1)}{2} - RB$$

Avec RA et RB étant les sommes des rangs de chaque série ordonnée obtenu dans les m+n observations.

3) Analyse de Variance: ANOVA

L'analyse de variance ou ANOVA est un test statistique qui consiste à comparer des groupes de variables quantitatives. La variation entre les moyennes est comparée à la variation moyenne dans des groupes qui sont mathématiquement équivalents de façon à tester la signification de coefficients dans le modèle du retour en arrière. L'ANOVA a été calculé grâce au logiciel (INSTAT1.13).

4) Corrélation de Bravais-Pearson

Les corrélations entre les paramètres abiotiques et les concentrations bactériennes ont été établies après calcul du coefficient de Bravais-Pearson . Ce test statistique permet de tester l'indépendance entre deux séries de variables.

$$r^2=(\frac{\sum(X-\overline{X})(Y-\overline{Y})}{\sum(X-\overline{X})^2(Y-\overline{Y})^2})^2$$

avec -1 < r < 1

$$r=\sqrt{r^2}=\sqrt{(\frac{\sum(X-\overline{X})(Y-\overline{Y})}{\sum(X-\overline{X})^2(Y-\overline{Y})^2})^2}$$

$$r=(\frac{\sum(X-\overline{X})(Y-\overline{Y})}{\sum(X-\overline{X})^2(Y-\overline{Y})^2}$$

$\overline{X}$: Moyenne de x

$\overline{Y}$: Moyenne de y

r calculé < r théorique : variables indépendantes

r calculé > r théorique : variables liées

ddl = n-2

La valeur absolue de ce rapport étant comprise entre 0 et 1, la corrélation est parfaite lorsque la valeur de **r** est confondue à l'unité et les deux variables sont entièrement aléatoires lorsque la valeur de **r** est proche de zéro. Il est à signaler que le test **r** manque de puissance puisqu'il ne permet de déceler qu'une variation linéaire (constamment croissante ou constamment décroissante) dans l'intervalle étudié.

5) Regroupement sur la base de la distance euclidienne :

Ce traitement statistique permet d'associer dans un même groupe des échantillons qui présentent des affinités très proches pour un ou plusieurs critères préfixés.

Le principe du regroupement utilisé qui se base sur le calcul de la distance euclidienne (Legendre et legendre, 1984) a permis de séparer les stations étudiées en fonction de leur charge bactérienne ou de l'activité enzymatique des bivalves qui s'y trouvent. La formule suivante a été utilisée pour calculer la distance euclidienne à partir du logiciel (Systat.5.01).

$$D(x1-x2)=\left[\sum_{1}^{n}(yi1-yi2)^2\right]^{1/2}$$

x1 et x2 : deux stations prospectées

yi1 et yj1 : valeurs des paramètres considérés à la station x1

yi2 et yj2 : valeurs des paramètres considérés à la station x2

Au cours de ce traitement, une matrice de données constituée de *n* échantillons (échantillons mensuels) et de *p* descripteurs (bactéries, biomarqueurs…) a été employée. Il est toutefois intéressant de noter que vues les différences d'échelles des descripteurs, la matrice a subi une transformation du type Y = log (X + 1) permettant d'homogénéiser les données quantitatives et de les rendre ainsi comparables.

6) Analyse factorielle :

L'analyse multidimensionnelle permet d'exprimer en se limitant à un espace de dimensions réduites à deux ou trois axes principaux les informations provenant d'un ensemble complexe de données (biotiques et abiotiques). Elle assure ainsi une interprétation plus rigoureuse et plus générale que celle provenant des analyses courantes qui ne considèrent à chaque fois que l'évolution simultanée de deux paramètres parmi l'ensemble des facteurs étudiés. Ainsi, bien que ces dernières demeurent généralement suffisantes pour mettre en évidence des relations de dépendance entre deux paramètres considérés, l'analyse factorielle permet de donner une vue plus générale sur le comportement de l'ensemble des facteurs étudiés et des différentes interactions qui existent dans l'écosystème considéré.

L'analyse en composantes principales a été réalisée avec le logiciel Statbox 3.0., après transformation de l'ensemble des données brutes du type Y = log (X + 1) pour stabiliser et homogénéiser les variances à cause de la grande diversité des variables (De Lagarde, 1983).

Ce type d'analyse est adapté à un tableau de variables quantitatives hétérogènes, c'est-à-dire d'unités *a priori* différentes. L'arbitraire que représente les échelles de mesure différentes des variables, et qui rend leur dispersion non comparable, est supprimé en centrant et en réduisant chaque variable. Dès lors, chaque variable a une variance égale à 1. S'il y a J variables dans le tableau, la variance totale (qui mesure la dispersion globale des individus due à toutes les variables) est égale à J.

Géométriquement, cela revient à traduire ces variables par autant de points géométriques situés sur une sphère. L'angle fait entre deux variables illustre leur corrélation (coefficient de corrélation linéaire de Bravais-Pearson). Celle-ci est le cosinus de l'angle, donc la corrélation est d'autant plus fortement positive que l'angle est aigu, et d'autant plus fortement négative que l'angle est obtus. Elle est nulle lorsque les deux variables forment un angle droit.

I) PRESENTATION DU MILIEU

1) Historique

La lagune de Bizerte située au niveau de la partie septentrionale de la Tunisie est un étendue d'eau qui s'étend sur une superficie de 1500 hectares. Sa longueur est de 15 km et sa largeur de 11 km. Sa profondeur variable avec une moyenne de 7 m peut atteindre 12 m dans la partie centrale (Aïssa, 1991).

Ce plan d'eau présente un intérêt économique certain du fait de ses ressources halieutiques et aquacoles. Autrefois, la pêche s'y pratiquait avec une grande facilité. Selon De Fages et Parzevera (1903), il suffisait de quelques bordigues en clayonnages grossiers pour capturer en permanence de grandes quantités de poissons (262 308 kg en 1893, 338 739 kg en 1895 et 528 893 kg en 1897).

Des travaux d'aménagement tels que le creusement du canal en 1895 à l'emplacement de l'ancien chenal, l'accroissement démographique et surtout l'implantation de diverses industries ont conduit à une déstabilisation de l'écosystème comme en témoigne la diminution des quantités de poissons pêchés. Ainsi, selon l'ANPE[1] (1990), la production piscicole a baissé de 148 018 kg en 1982 à 99 390 kg en 1988. D'après l'ANPE (1990), l'activité aquacole dans la lagune de Bizerte a débuté vers les années 50 par l'ostréiculture (*Crassostrea angulata*). En 1958, l'ONP[2] a tenté l'élevage de l'huître plate (*Ostrea edulis*) puis en 1972 celui de l'huître japonaise (*Crassostrea gigas*). La moule (*Mytilus galloprovincialis*), espèce autochtone, a été mise en culture en 1963 à partir de gisements naturels récoltés dans le canal de Bizerte. Les essais ont porté aussi sur des clovisses (*Ruditapes decussatus*). La production moyenne des bivalves dans la lagune qui était élevée et atteignait 375.5 tonnes en 1979, a chuté en 1989 à 146.2 tonnes. Seule la mauvaise qualité du secteur d'élevage peut expliquer cette baisse de production.

De fait, il existe plusieurs sources de pollution dans la lagune. Les principales sont :

- Les eaux usées urbaines: Selon un rapport de l'ANPE (1990), la moitié des habitants recensés dans le gouvernorat de Bizerte sont concentrés autour de la lagune. Les agglomérations limitrophes les plus connues sont celles de Menzel Bourguiba (25 000 habitants), Menzel Abderrahmen (10 000 habitants), El Alia (15 000 habitants) et Menzel Jemil (10 000 habitants). Cependant, la majeure partie des eaux usées déversées dans cette lagune provient des 100 000 habitants de la ville de Bizerte, située en partie sur les berges du canal de navigation.

[1] ANPE : Agence de Protection de l'Environnement

➢ Les rejets industriels : Ceux-ci ne sont pas limités à ceux provenant de l'usine sidérurgique, la cimenterie et la raffinerie de Bizerte. Selon l'ANPE (1990), 400 unités industrielles ont été recensées autour de la lagune (tabl. II1). Celles-ci couvrent plusieurs secteurs industriels (pétrochimie, textile, sidérurgie et transformation des plastiques) et consomment des quantités d'eaux considérables qu'elles rejettent en grande partie sous forme d'eaux polluées. Sachant que les rejets industriels représentent 20 % environ du rejet urbain et en tablant sur 120 l de rejet / j / habitant, 10 millions de m^3 d'eaux usées par an seraient actuellement évacués dans cette lagune (ANPE,1990).

Par ailleurs, il est à signaler que la construction de barrages (Joumine, Sejnane …) au niveau des oueds qui alimentent le complexe lagunaire lac Ichkeul- lagune de Bizerte a participé secondairement au déséquilibre de ce plan d'eau.

2) Historique des travaux

La lagune de Bizerte a eu depuis toujours une vocation aquacole en raison de sa position géographique. Ainsi, le plan d'eau était réputé du temps des Carthaginois puis des arabes et des français comme un abri aquacole et militaire (De Fages et Parzevera.,1903). Les travaux scientifiques consacrés à ce site privilégié sont nombreux et les premiers datent du XIV^{ème} siècle. Ainsi en 1306, Abou Elfida indiquait que ce lac mesurait 16 000 m de long et 8 000 m de large avec un canal plus large du côté de la mer. La richesse en poissons de cette lagune et sa grande productivité halieutique ont été plusieurs fois signalées (Léon l'Africain, 1550 ; De Lacroix,1668 ; Shaw, 1734). D'après Salvator (1900), la lagune de Bizerte pendant la décennie 1895 – 1905 comptait parmi les plus poissonneuses du monde, les pêches saisonnières permettaient d'y obtenir jusqu'à 22 000 daurades en une seule journée avec des spécimens de très grande taille (5 kg).

Sur le plan géologique, les travaux sont moins nombreux. Ceux de Soussi (1981) et Soussi *et al*. (1983 et 1985) se sont intéressé aux mécanismes de la sédimentation dans le site et à son évolution paléo-géographique. Selon Soussi (1981), le sédiment du lac est essentiellement sablo-vaseux et riche en matière organique. L'analyse granulométrique a permis de définir 3 types de faciès : sableux caractérisant tout le littoral, silteux à argilo-silteux au niveau de la zone orientale de la lagune et argileux au niveau des secteurs central et occidental, avec des faciès mixtes (sablo-argileux, argilo-silto-sableux…) marquant le passage d'un secteur à l'autre (Soussi *et al.,* 1983). Kamens *et al*. (1985) ont précisé les origines des

[2] ONP : Office National des Pêches

sédiments déposés (érosion des sols, lac Ichkeul et organismes marins). Mansouri (1996) a mis en évidence l'existence d'un gradient granulométrique décroissant vers le centre de la lagune.

Les études les plus nombreuses sont relatives à la physico-chimie et à la faune ou à la flore du milieu. Azouz (1966) et Zaouali (1974, 1979, 1980, 1984 et 1993) se sont intéressés aux facteurs climatiques et physico-chimiques ainsi qu'aux peuplements présents dans la lagune. Dridi (1977), Soussi (1981), Ouakad (1982), Belkhir *et al.* (1985), Frisoni *et al.* (1986), Djellouli (1988), Khalfallah et Majri (1989), Aïssa (1991), Ben hadj (1992), Dellali (1996), Mansouri (1996) et Mastouri (1998) ont fourni des suivis abiotiques et/ou biotiques montrant la variabilité de l'écosystème. Le rapport synthétique de l'ANPE (1990) a tenu compte des facteurs anthropiques risquant de perturber l'équilibre écologique de la lagune.

La faune macrobenthique présente dans le plan d'eau a été abordée par Zaouali (1973, 1974, 1979, 1980 et 1993) et Guelorget et Pertuisot (1983). Trigui-El Ménif (1994, 1995), Dellali (1996), Dellali et Aïssa (1998) et Aloui-Béjaoui (1998 a et b) se sont intéressés aux populations de moules et/ ou de palourdes. Aïssa (1991), Hermi (1995) et Essid (1999) ont étudié la méiofaune et/ ou la nématofaune en différents points de la lagune et leur intérêt dans la biosurveillance du plan d'eau.

Concernant la flore benthique, les fonds de la lagune seraient tapissés selon Guelorget et Pertuisot (1983) par des herbiers à *Caulerpa prolifera* et *Cymodocea nodosa*, notamment dans la partie centrale. Zaouali (1984) a subdivisé la lagune en deux sous- unités bionomiques principales : la première correspondant à l'étage infralittoral (0 –9 m) et la deuxième à l'étage circa-littoral à partir de -9 m. Djellouli (1988) a établi une liste macro-phytobenthique de la région de Menzel Jemil. Ksouri et Ben Said (1998) ont étudié les macroalgues gracilaires dans la frange comprise entre les rivages et l'isobathe –3m.

Les travaux concernant le phytoplancton et le zooplancton sont limités à ceux de Azouz (1966) qui a pu montrer la présence de 27 espèces zooplanctoniques et de 58 espèces phytoplanctoniques représentées essentiellement par des diatomées.

Les études consacrées à la microbiologie dans la lagune de Bizerte sont aussi très peu nombreuses ; celles-ci se limitent à des observations ponctuelles, relatives à la salubrité du milieu. Belkhir *et al.*(1985) ont montré l'absence de pollution bactérienne au niveau de l'eau et des huîtres mais cette étude n'a été réalisée qu'au cours d'une seule sortie. L'étude de Chadli *et al.*(1986), de Khalfallah et Majri (1989) ainsi que les rapports d'expertise de la banque mondiale (1989) ont consisté en la recherche de la pollution fécale dans l'eau et les bivalves. Il faut cependant noter que des analyses bactériologiques sont faites par les services

de l'institut national des recherches vétérinaires, tous les 15 jours, afin de s'assurer de la salubrité des coquillages. En ce qui concerne les travaux microbiologiques que nous avons publiés (Dellali *et al.*, 2000 et 2001a), les premiers sont consacrés au suivi de plusieurs peuplements bactériens (flore totale, flore fécale, sulfato-réducteurs et *Vibrionaceae*) et les seconds à la caractérisation des populations de *Vibrionaceae* dans les compartiments lagunaires (eau, sédiment, bivalves).

Les études relatives au suivi *in situ* de la pollution par le biais des biomarqueurs au niveau de la lagune de Bizerte sont quasi absentes. La seule étude multi-biomarqueurs réalisée au niveau de cette région est celle de Dellali *et al.* (1998) qui a évalué les réponses CAT, AChE, GSTs et MT de palourdes provenant de deux sites (Menzel Jemil et Faroua).

3) Pêche et conchyliculture

L'activité conchylicole a démarré dans la lagune de Bizerte en 1951 avec l'implantation d'un premier parc conchylicole dans la zone de Menzel Jemil, au nord est, et le grossissement d'huîtres plates et creuses (Gimazane et Madhioub, 1979 a et b). En 1958, ce parc privé est passé au domaine étatique (Office National des Pêches : O.N.P). Dès 1961, l'O.N.P s'est lancé dans une conchyliculture plus intensive, la ferme aquacole regroupant 15 tables d'une surface unitaire de 650m^2 (Briki, *Comm. Personn.*). Le système adopté est celui des cultures sur cordes suspendues : système de relais plantés au fond auxquels sont accrochés des pieux en bois comme structures horizontales servant à la suspension des cordes et poches en filet. Cette technique est couramment utilisée dans les sites abrités et peu profonds (5 à 8 m). Les tables de l'O.N.P, qui sont implantées sur des fonds de 4 à 6m à une distance du rivage variant de 800 à 1200 m, sont largement espacées entre elles de plusieurs centaines de mètres. La surface totale d'exploitation est de 1 hectare et la capacité d'une table permet de suspendre entre 3000 et 3500 cordes d'élevage (Gimazane, 1981). Depuis novembre 1999, l'exploitation de l'O.N.P a été privatisée.

Le même type de culture est utilisé pour l'élevage des moules au niveau des tables de la baie des carrières et pour la ferme aquacole de la région de Jouaouda, dans le secteur est de la lagune. La lagune de Bizerte est propice a la culture des moules (*Mytilus galloprovincialis*) qui s'y reproduisent naturellement. Les naissains sont captés dans le milieu naturel ou prélevés sur des filets (poches de grossissement). Les eaux lagunaires sont relativement favorables à l'élevage des huîtres ; l'huître creuse ou japonaise *Crassostrea gigas* s'y développe très bien, en toute saison, avec une bonne croissance (6.5 cm/an) mais ne peut se reproduire sur place en raison des fortes salinités relevées en été (> 34‰) (Gimazane et Medhioub ,1979 b). L'huître plate (*Ostrea edulis*) y présente un fort grossissement au

printemps mais souffre aussi de l'élévation de la température estivale (Gimazane et Medhioub,1979 a).

La palourde autochtone (*Ruditapes decussatus*), improprement appelée clovisse par les riverains, est relativement abondante dans les zones sablo-vaseuses, peu profondes, surtout dans le secteur Nord Est où elle fait l'objet d'une collecte active (pêche à pied). Au premier temps de l'O.N.P, les palourdes étaient achetées aux pêcheurs puis mises en attente (épuration naturelle) dans des paniers d'alfa suspendus dans l'eau au niveau de l'appontement principal de la station (Zaouali, 1984). Actuellement, l'épuration des palourdes se fait grâce à une unité d'épuration spécialisée utilisant des radiations ultraviolettes. Les deux sites de production de palourdes les plus importants sont ceux de Menzel Jemil et de Faroua, celui de Menzel Abderrahmen étant limité à un reliquat de quelques centaines d'individus isolés. La médiocre qualité du site proche de la bouche d'un égout rejetant les eaux usées de l'agglomération voisine et secondairement le faible effectif de la population font que les palourdes n'y sont pas collectées.

La production conchylicole de la lagune de Bizerte varie d'une année à une autre. Au cours de ces dix dernières années (1989 – 1998), la production moyenne a été de 125.3 t/an dont 116.5 t de moules (93%), 4.6 t/an d'huîtres (4%) et 4.1 t/an de palourdes (3%) (DGPA[3], 1999) ; la production de bivalves a fluctué entre 130 et 180 t/an. Les chutes spectaculaires de production notées en 1997 (65 tonnes) et en 1994 (45 tonnes) coïncident avec des conditions sanitaires particulièrement défavorables (tabl. II2), à l'origine d'une interdiction prolongée de la commercialisation des coquillages et ce en application avec la réglementation en vigueur.

Tableau II2 : Production conchylicole (Tonnes) de la lagune de Bizerte pendant la décennie 1989 – 1998 (d'après les données de la DGPA, 1999).

	1989	**1990**	**1991**	**1992**	**1993**	**1994**	**1995**	**1996**	**1997**	**1998**	**moyennes**
Moules	126.7	165.5	139	128.3	122.5	45	120.5	136.8	65	115.4	116.5
Huîtres	12.4	7.7	4.7	7	5.9	0.9	7.7	0.04	0	0.003	4.6
Palourdes	7.1	8.7	7.7	2.9	2	0.2	5.7	4.8	0	2.3	4.1
Total	146.2	181.9	151.4	138.2	130.4	46.1	133.9	141.6	65	117.9	125.3

D'autre part, la lagune de Bizerte a depuis longtemps une vocation halieutique. Selon Zaouali (1984), le tonnage des pêches, très productives au XIXème siècle, est passé de 339 tonnes en 1895 à 530 tonnes en 1897. Cette production pendant la dernière décennie (1989 - 1998) y a oscillé entre un minimum de 2.7 Kg/ha/an en 1994 et un maximum de 9.2 Kg/ha/an en 1989, cette production restant toutefois inférieure à celles d'autres lagunes

méditerranéennes (DGPA, 1999). Le tableau II3 résume les principales espèces pêchées dans la lagune de Bizerte au cours de cette période ainsi que les quantités pêchées.

Tableau II 3 : Production halieutique annuelle (Kg) par espèce au niveau de la lagune de Bizerte (d'après DGPA[4] Bizerte, 1999)

	1989	1991	1993	1995	1997	1998
Chien de mer	1000	2752	60	0	1931	4081
Anguille	1860	2056	1437	874	1914	2928
Aiguillette	0	0	828	405	108	293
Merlu	0	124	137	0	0	0
Muge doré	3000	1486	48	0	0	242
Bigeron	7300	4879	2684	7936	9998	6280
Autres muges	0	0	3846	0	2700	347
Rouget rouge	3100	696	769	6218	1524	2014
Rascasse	70	0	61	0	95	0
Serre	0	913	553	0	0	0
Loup	2860	735	4158	3976	2373	2000
Sole	685	650	3127	2085	1568	2075
Saupe	3330	2501	907	228	3232	3427
Spars	8300	2187	4482	6910	10253	8460
Marbré	17770	17986	8631	3415	8907	19217
Pageot	250	244	30	0	754	516
Daurade	2400	670	1438	2588	5216	4544
Divers	0	3774	2834	5996	3359	4347
Crevette	4050	1210	386	8640	1849	1095
Calmar	85	0	40	1097	206	124
Poulpe	1180	260	117	0	17	203
Seiche	16090	18066	14530	15451	45031	65915
Total	73330	61189	51103	65819	101035	128108

II) Facteurs abiotiques :

1) *Précipitations*

La lagune de Bizerte reçoit des eaux douces sous trois formes : pluies arrosant directement le plan d'eau, eaux de ruissellement et ceux de drainage par les oueds se déversant dans le lac. Ces apports ont une influence sur l'équilibre ionique des eaux (Zaouali, 1974) et entraînent une variation de la salinité de l'eau dans la lagune.

D'après Mansouri (1996), les précipitations dans la région de Bizerte sont du type averses et la période pluvieuse s'étend d'octobre à février alors que la saison sèche dure de juin à août. Chaouachi (1995) a enregistré des précipitations moyennes maximales au mois de décembre et des moyennes minimales au mois d'août.

[3] DGPA : Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture.
[4] DGPA : Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture.

Tableau II4: Pluviométrie moyenne mensuelle de la région de Bizerte au cours des périodes 1901-1970 et 1994-1998 (d'après les données de l'INM[5], 2000).

P (mm)	Jan	Fév.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Jul.	Août	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.	Somme
1901-70	113,2	74,2	53,8	43	27,2	12,5	3,3	7,6	33,4	94,4	88,3	115,7	666,9
1994	45,2	55	0,2	29,9	7,7	5	0	0	61,6	85,3	59,3	88,2	437,4
1995	112,3	1,3	50,2	20,2	8,7	36	0	24,9	39,9	28,1	55,2	84,2	461
1996	68,7	251	59,9	73	33,9	46,1	0,7	19,7	39	67	60,2	60,7	780
1997	74,7	26,6	5,2	77,3	11,9	9,7	0	6,4	133,8	179	149	94,8	768,4
1998	53.1	29.9	20.7	33.6	21.5	8,1	0	70.5	30,1	51,6	86,4	50,50	526
1999	155.5	96.5	42	33.5	18	2.7	0	0.4	17.4	5.5	174.7	65.4	611.6

Tableau II5 : Nombre de jours pluvieux (N.J.P) dans la région de Bizerte au cours des périodes 1946-1950 et 1995-1998 (d'après les données de l'INM, 2000).

N.J.P	Jan	Fév.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Jul.	Août	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.	Total
46-50	14	10	10	8	7	2	1	2	4	10	12	20	100
1995	17	3	9	9	3	9	0	6	12	6	13	17	104
1996	15	21	14	14	11	4	2	5	9	10	11	14	130
1997	14	8	3	9	6	3	0	4	10	21	18	18	114
1998	13	7	9	9	10	3	1	5	9	10	18	15	109

La comparaison des précipitations moyennes pour la période 95-99 (607.32 mm) avec celles de la période 1901-70 (666,9 mm) montre une stabilité climatique du moins d'un point de vue pluviométrique. En réalité, cette stabilité n'est que toute relative puisque l'écart pluviométrique entre les années 1994 et 1996 a atteint 342,6 mm (tabl. II4). Le nombre de jours pluvieux lui aussi est variable, 100 jours durant la période 1946-1950, 133 jours pendant celle de 1985 à 1994 et 116 jours de 1995 à 1997. D'après le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen (1953) obtenu à partir des précipitations et des températures de l'air durant les périodes 1901-1970 et 1995-1999, la période de sécheresse dans la région couvre un peu plus que la saison estivale (mai - septembre) (Fig II1a et II1b).

2) Evapotranspiration (ETP)

L'évaporation au niveau de la lagune de Bizerte est nettement inférieure à celle relevée pour la ville de Bizerte (Ouakad, 1993 ; Mansouri, 1996), la valeur moyenne y atteignant 1802.5 mm/an avec un maximum de 248,7 mm durant les mois de juillet – août et un minimum de 70.6 mm au cours du mois de janvier (Ouakad, 1993 ; Mansouri, 1996). Selon l'ANPE[6] (1990), l'humidité relative pour le secteur passe de 80% en été à 100% durant

[5] INM : Institut National de Météorologie
[6] ANPE : Agence Nationale pour la Protection de l'Environnement

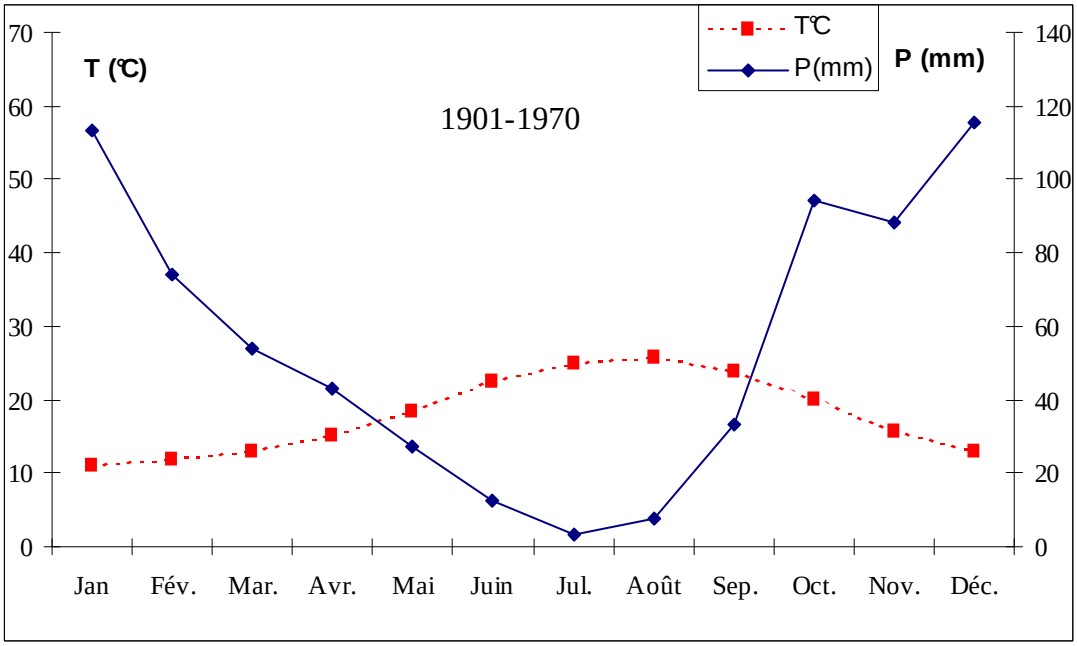


Fig. II1a : Diagramme ombrothermique de la région de Bizerte pour la période 1901 – 1970.

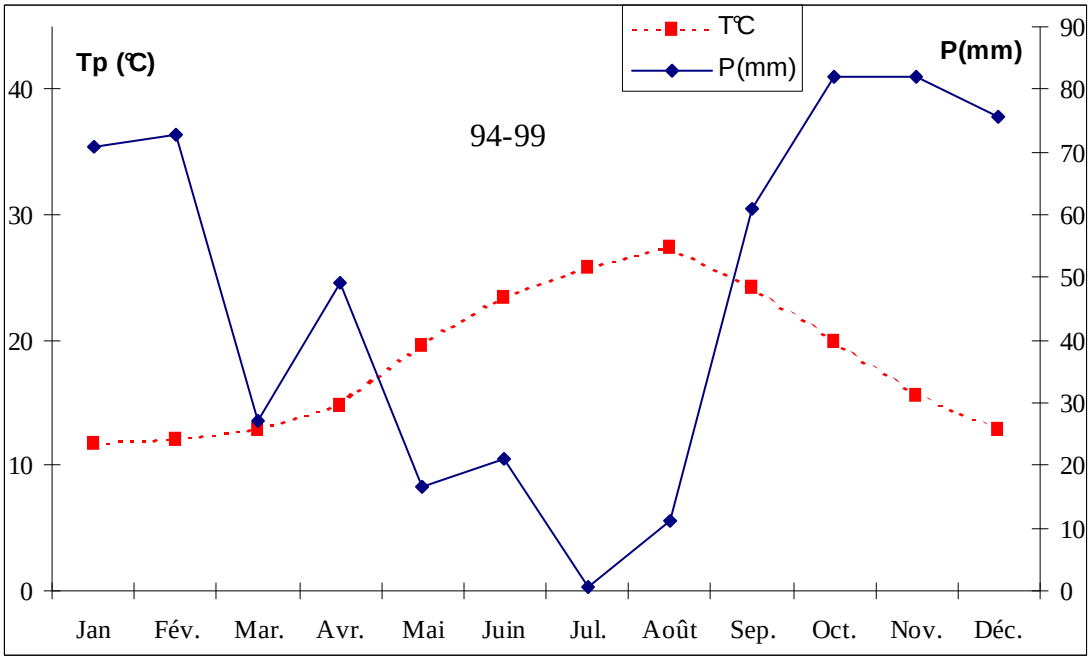


Fig. II1b : Diagramme ombrothermique de la région de Bizerte pour la période 1994 - 1999

l'hiver. D'après Essid (1999), l'évapotranspiration pour la région de Bizerte au cours de la période 1995-1997 a été de 401 mm/an avec un maximum (67,44 mm) en juillet et au contraire deux minima (11 mm) aux mois de décembre et janvier. l'ETP a été relativement élevée durant les années 1998 (1166 mm/an) et 1999 (1438.3 mm/an) avec un maximum de 202 mm au cours des mois de juillet et d'août 1998 (INM[7], 1999).

On peut ainsi conclure que la lagune de Bizerte comme toutes les lagunes méditerranéennes est sujette à une forte évapotranspiration parallèlement à une diminution des apports en eau douce ce qui provoque une augmentation des concentrations en plusieurs éléments chimiques et notamment une élévation des salinités surtout au niveau des stations les moins profondes (T, F et B).

3) ***Vents :***

L'étude de la direction et de la vitesse des vents permet de mieux comprendre le comportement d'un écosystème aquatique, surtout fermé. En effet, le vent influe sur divers facteurs abiotiques (transparence, évaporation, pluviométrie...) et sur plusieurs facteurs biotiques (déplacement des espèces, …).

La région de Bizerte est caractérisée par des vents soufflant généralement du secteur ouest avec un vent dominant de direction Ouest- Nord-Ouest (270 – 315 °) ou *Chirch* qui est très fréquent pendant la saison humide et qui est responsable de la majorité des précipitations (Ouakad, 1982 ; Lemoalle et Vidy, 1984). Les vents des secteurs est et sud-est moins fréquents dominent pendant la saison estivale sous forme de Sirocco ou *Chili* (Fig. II2a et II2b).

Tableau II6 : Vitesse du vent maximale absolue dans la région de Bizerte au cours de la période 1995 –1998 (d'après les données de l'INM[7], 2000)

Vent m/s	Jan	Fév.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Jul.	Août	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
1995	31	22	26	23	26	25	16	21	22	13	23	21
1996	26	36	20	24	22	19	22	22	23	29	25	32
1997	16	23	20	22	24	27	21	16	15	24	27	28
1998	28	19	23	24	22	31	22	23	20	20	22	18
1999	29	34	22	22	19	20	21	24	19	17	28	25

[7] INM : Institut National de la Météorologie

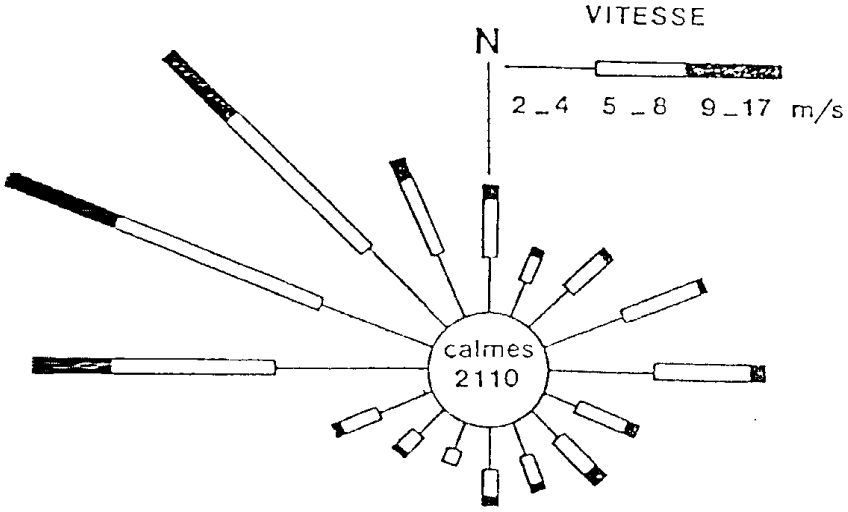


Figure II2a : Fréquence moyenne des vents à Bizerte (1951 – 1960) d'après Soussi (1981).

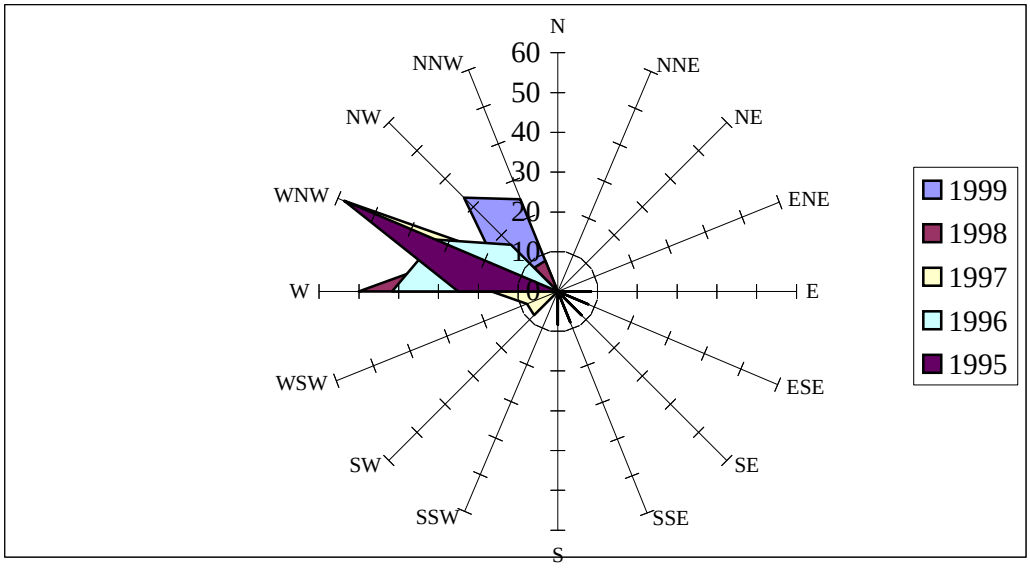


Figure II2 b : Fréquence moyenne des vents à Bizerte (1995 - 1999).

L'étude de l'ANPE (1990) indique que les vents inférieurs à 1m/s ne dépassent pas 58j/an et que les vents dominants (200 j/an) sont de secteur Nord-Ouest et sont généralement générateurs de pluies. Cette étude mentionne aussi que les vents du sud soufflent pendant une cinquantaine de jours et sont chauds et secs. Azouz (1966) a indiqué que durant la période 1944 – 1955 les vents dominants ont été de direction NW. Les roses des vents établies pour 1981 par Soussi et durant la période d'étude (Fig. II2) prouvent que les vents les plus forts et les plus abondants sont de direction Ouest- nord-ouest. Plusieurs autres études (Soussi, 1981, Ouakad,1982 ; Ben hadj, 1992 ; Mansouri,1996 ; Masri, 1996 et Essid, 1999) ont confirmé que les vents de la région de Bizerte sont assez forts, leur vitesse moyenne étant de 5 à 8 m/s. La vitesse moyenne des vents pour la période 1985-1994 a varié de 3,3 à 4,6 m/s (Masri, 1996), les vents d'Est constituant des brises thermiques qui soufflent en début de matinée. L'analyse des valeurs des maxima absolus pour la région montre que les vents peuvent devenir très violents, essentiellement durant la période hivernale, avec une vitesse de 13 à 36 m/s soit environ 120 Km/h (INM, 1995-1999).

4) ***Apports d'eaux continentales par les oueds et les bassins versants***

Le réseau hydrographique associé à la lagune de Bizerte est assez bien développé (Fig II3a et II3b). Il draine un bassin versant occupant une superficie totale d'environ 384 km² (Masri, 1996). Le bassin versant de la lagune est de 252 km^2 avec un indice de pente moyen de 3.28 m/km. C'est en fait la résultante des bassins versants des oueds avoisinants, les principaux étant :

Au Nord : Oued El M'razig (48 km²) et Oued El Graa (100 km²).

Au Sud : Oued Guenine (22 km²) et Oued Ben Hassine (45 km²).

A l'Est : Oued Gueniche (55 km²), et Oued El Garek (14 km²).

A l'Ouest : l'oued Tindja reliant le lac Ichkeul à la lagune de Bizerte et jouant ainsi un rôle essentiel dans son alimentation en eaux douces, surtout en hiver.

Il a été constaté une diminution des apports en eaux douces passant par l'oued Tinja. En effet, leur quantité depuis les travaux de Chaumont (1956) jusqu'à ceux de Zaouali (1979) s'est réduite de 93 Mm^3. De nos jours, l'alimentation de la lagune en eaux douces continue à diminuer en raison de certaines contraintes anthropiques (construction de barrages, écluse…), ce qui favorise automatiquement le déséquilibre du plan d'eau. D'ailleurs, le bilan hydrique établi par l'ANPE (1990) a montré que les apports d'eaux douces à la lagune qui étaient de 165 Millions de m^3 (Mm^3) avant la construction de deux barrages en amont du lac Ichkeul ont baissé pour atteindre 20 Mm^3 après leur mise en fonction (Fig. II3 a).

En comparant les bilans hydriques dans la lagune de Bizerte pour l'hiver et l'été (Fig. II3 b), ceux-ci ont été nettement modifiés après l'aménagement du « lac » Ichkeul, les apports venant de cette lagune et des bassins versants y jouant maintenant un rôle mineur comparés à ceux provenant de la mer. Il en résulte surtout durant la saison estivale une diminution des apports en eaux douces et des transports solides dans la lagune de Bizerte, essentiellement sous influence marine.

5) Température

D'après le tableau II7 et les figures II 4a et II 4b, relatifs aux températures de l'eau relevées pendant la campagne de prospection (mai 1998- mai 1999), deux périodes ont pu être distinguées :

- Une saison froide de décembre à avril au cours de laquelle les températures moyennes ont varié entre 12.1 $\pm$ 0,64° C et 15.8 $\pm$ 1,23° C. Le mois de février y a été le plus froid avec une température moyenne minimale de 12.12°C. La valeur mensuelle la plus faible a été enregistrée au niveau de la station de Faroua au mois de janvier (9.2 °C).

- Une saison relativement chaude de juin à octobre durant laquelle la moyenne des températures s'est échelonnée entre 21.76 $\pm$ 0,53°C et 22.06 $\pm$ 1,23°C. Le mois de septembre y a été le plus chaud, avec une moyenne de 31.49 $\pm$ 2,04°C. La valeur mensuelle la plus forte a été enregistrée au mois de septembre (34.7°C) au niveau de la station de l'oued Tindja, la plus continentale et par suite la plus influencée par la température atmosphérique. En effet, il y a eu au niveau de cette station une diminution de la vitesse du courant du fait de la raréfaction estivale des apports en eaux continentales.

Tableau II8: Evolution spatio-temporelle de la température de l'eau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – 1999)
Moy : Moyenne, SD ; Déviation standard ; M - m : Ecart mensuel maximal, A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières ; F : Faroua ; J : Menzel Jemil ; T : Oued Tindja ; R : Rimel

	mai	juin	juil.	août	sept.	oct.	nov.	déc.	jan.	fév.	mar.	avr.	mai	M-m
A	20,1	24,6	24,6	27,1	31,4	21,7	17,6	15,3	14,2	12,3	16,6	15,7	18,9	19.1
B	18	21,2	27,3	29	33,9	21,8	17,8	15,36	13,2	12,1	14,8	15,6	17,5	21.8
C	17,2	21,5	24,1	26	30,7	21,1	18,1	16,3	14,6	12,6	15,3	17,1	18,3	18.1
F	17,8	22,7	26,8	26	29,3	21,6	17,9	16	9,2	10,6	13,4	14,6	16,5	20.1
J	19,9	21,3	26,3	27,1	29,9	21,4	17,3	14,5	12,8	9,6	13,7	15,9	17,3	20.3
T	16,4	21,8	27,6	29	34,7	21,9	17,9	15,3	12,2	12,1	13,1	14,2	17,5	22.6
R	19,3	21,3	25,7	28	30,5	22,8	20,1	14,7	15,3	15,5	16,2	17,7	18,7	15.8
Moy	18,39	22,06	26,06	27,46	31,49	21,76	18,1	15,35	13,08	12,12	14,73	15,84	17,82	
SD	1,41	1,23	1,33	1,26	2,04	0,53	0,92	0,64	2,02	1,84	1,38	1,23	0,85	

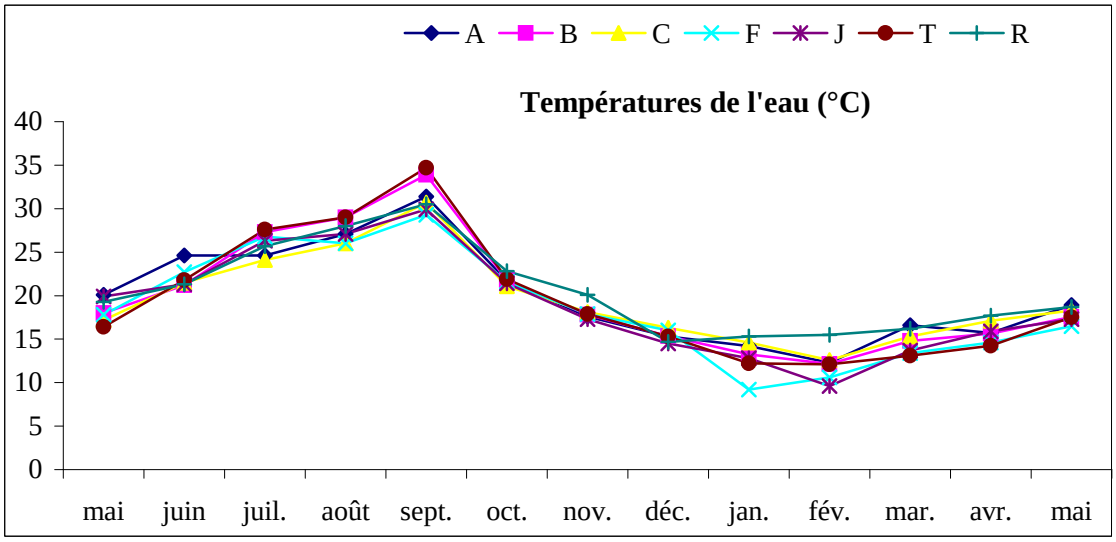


Fig.II 4a : Evolution spatio-temporelle des températures (°C) de l'eau au niveau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

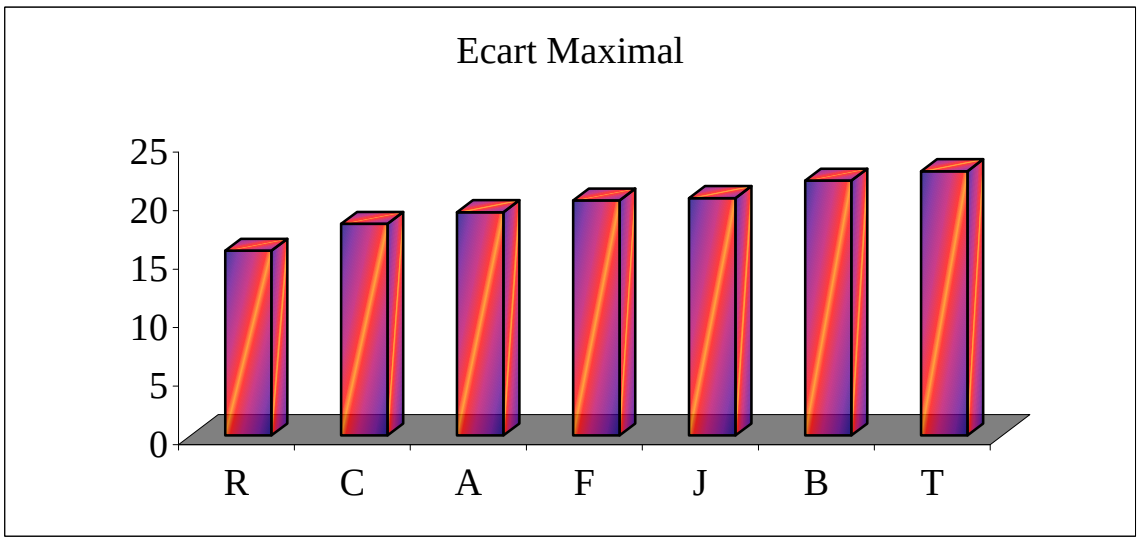


Fig.II 4b: Evolution de l'écart maximal des températures de l'eau au niveau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Menzel Abderrahmen, B : Menzel Bourguiba, C : Baie des carrières, F : Faroua, J : Menzel Jemil, R : Rimel et T : Oued Tindja.

Il ressort de la comparaison des écarts thermiques stationnels maximums, équivalents à la différence entre la température du mois le plus chaud et celle du mois le plus froid que :

- Ceux-ci ont été les plus faibles au niveau des stations de Rimel, franchement marine (15.8°C), et de la baie des carrières (18.1°C), située dans le canal de navigation et donc proche de la mer. Au niveau de ces stations directement sous influence marine, les températures des eaux sont restées relativement constantes malgré une diminution importante des températures de l'air.
- Au niveau des autres stations, plus ou moins continentales, les écarts entre les minima et les maxima ont été au contraire plus importants. Ainsi, des écarts de 22.6 °C et de 21.8°C ont été relevés respectivement au niveau des stations de l'oued Tindja et de Menzel Bourguiba. Les eaux des stations lagunaires de Menzel Abderrahmen, Menzel Jemil et Faroua ont présenté des différences thermiques moins marquées et comprises entre 19.1 et 20.3°C.

Les données bibliographiques, relatives à la température de l'air et de l'eau pour la lagune de Bizerte, sont nombreuses et s'accordent pour dire que les températures des eaux de la lagune sont largement influencées par celles de l'air. Ces données proviennent de l'Institut National de Météorologie ou de mesures directes, effectuées par plusieurs auteurs : Azouz (1966), Ouakad (1982), Djellouli (1988), ANPE[8] (1990), Aïssa (1991), Ben M'barek (1995), Dellali (1996), Mastouri (1997) et Essid (1999). Les valeurs- limites de 10.5°C pour l'hiver et de 28°C pour l'été qui ont été fournies par Ben Hadj (1992) sont proches des températures de l'eau enregistrées lors de nos prospections (9.6°C en février à Menzel Jemil et 34.7 °C à l'oued Tindja en septembre 99). Nos valeurs estivales diffèrent légèrement de celles de Frisoni et *al.* (1986), ces auteurs ayant signalé pour l'été 1985 des fluctuations de températures entre 25 et 26.5°C à la surface et entre 25 et 26°C au fond, mais sans mentionner avec précision les sites de mesure. Ces mêmes auteurs ont cependant enregistré un maximum thermique de 40°C sur la côte, dans une zone de rejets industriels (eaux de refroidissement de l'usine El Fouled. Nous avons constaté des variations saisonnières de la température des eaux plus tranchées dans la lagune que dans la baie de Bizerte comme Ben Hadj (1992), celui-ci ayant noté en mer des écarts thermiques de 8°C inférieurs à ceux relevés dans la lagune pendant la saison estivale et supérieurs de 7°C à ceux enregistrés dans le plan d'eau pendant la saison hivernale.

[8] ANPE : Agence Nationale de Protection de l'Environnement

6) Oxygène dissous :

Les teneurs en oxygène dissous en mg/l, très variables dans le temps et dans l'espace, ont oscillé entre un minimum de 3.9 mg/l (station J en août) et un maximum de 9.6 mg/l (station B en mars), la solubilité de l'oxygène diminuant durant la saison estivale et inversement en hiver, parallèlement à des vents forts et des minima de salinité et de température. Leurs valeurs pour l'hiver (6.3 – 8.6 mg/l) ont été celles d'eaux bien aérées, le taux de saturation pour l'eau de mer étant de 6.8 mg/l selon Frisoni et *al. (*1986). Par ailleurs, la corrélation négative et très significative (1%) constatée dans notre étude entre les taux en oxygène dissous et la température (-0.63 ; ddl=48) a confirmé que l'évolution saisonnière de l'oxygénation des eaux (tabl. II8) était directement liée au facteur thermique (Ramade,1982). Nos résultats ont été dans l'ensemble conformes à ceux signalés dans la littérature, même si tous les chercheurs n'ont pas adopté un pas et une structure d'échantillonnage identiques (tabl. II8). Ainsi, Aïssa (1991) a signalé pour Menzel Jemil une valeur estivale de concentration en oxygène dissous, minimale et égale à celle relevée dans la présente étude.

Tableau II8: Evolution spatio-temporelle des teneurs en oxygène dissous et du taux de saturation en oxygène (%) dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – 1999).

A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières ; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : oued Tindja. ; [C] : concentration (mg/l) ; % : % de saturation ; M - m : Ecart mensuel maximal

		mai	juin	juil.	août.	sept.	oct.	nov.	déc.	jan.	fév.	mar.	avr.	mai	M-m
A	[C]	7,2	6,3	5,7	4,9	5,6	6,1	7,1	7,36	7,63	8,1	6,9	6,8	7,6	3,2
	%	**98,18**	**93,97**	**85,21**	**76,51**	**93,9**	**86,95**	**93,88**	**92,55**	**92,87**	**94,44**	**85,89**	**85,15**	**99,91**	
B	[C]	6,5	6,3	5,8	6,1	4,8	5,6	6,3	6,9	7,50	7,9	7.9	6,3	8,6	3,1
	%	**84,4**	**87,6**	**90,1**	**97,7**	**83,2**	**79,5**	**83,2**	**86,5**	**89,8**	**92,1**	**96,9**	**78,4**	**113.2**	
C	[C]	7,6	6,4	6,1	5,1	5,3	6,5	7,5	7,8	7,22	7,6	7,28	7,3	7,54	2,7
	%	**98,4**	**89,9**	**90**	**77,9**	**87,5**	**91,3**	**99,7**	**99,8**	**88,4**	**89,6**	**89,8**	**95**	**100,1**	
F	[C]	7,1	6,1	6,4	4,9	6,3	6,7	7,1	7,3	8,36	8,5	7,3	7,1	7,98	3,6
	%	**92,6**	**86,7**	**98,7**	**75,6**	**101,7**	**95,05**	**94,2**	**93**	**91,8**	**93,7**	**86,9**	**87**	**102.9**	
J	[C]	6,9	6,7	5,3	3,9	4,8	5,4	6,9	6,35	6,99	7,5	8,30	7,4	7.00	4,4
	%	**93,8**	**94,4**	**81,4**	**61,1**	**78,6**	**76,4**	**90,7**	**78,5**	**82,9**	**82,9**	**98,7**	**92,6**	**90,5**	
T	[C]	6,8	6,5	6,3	6,1	5,8	6,1	7,1	7,3	8,38	7,61	7,2	7,4	8,63	2,5
	%	**99,1**	**104,1**	**112,4**	**113,5**	**122,1**	**107.0**	**107,4**	**99,2**	**98,52**	**103,9**	**98,09**	**114,4**	**111,8**	
R	[C]	7,3	7,4	7,4	7,2	7,2	7,4	7,8	7,99	8,35	8,6	7,9	8,7	8,33	1,5
	%	**76,8**	**82,2**	**93,1**	**97,9**	**102,7**	**87,4**	**93,8**	**88,9**	**94,2**	**83,3**	**73,3**	**78,3**	**98,4**	

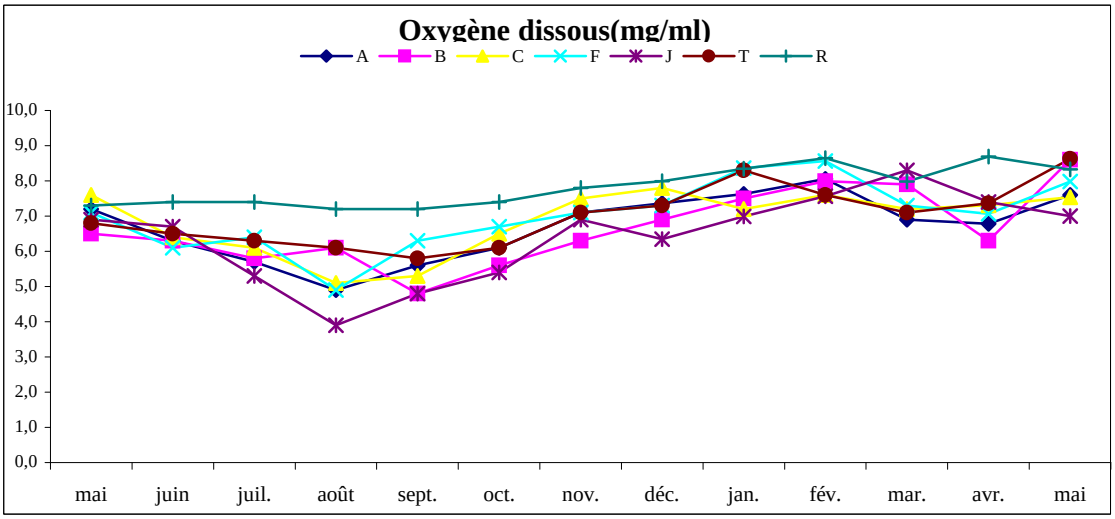


Fig. II 5a : Evolution spatio-temporelle de l'oxygène dissous (mg/l) au niveau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

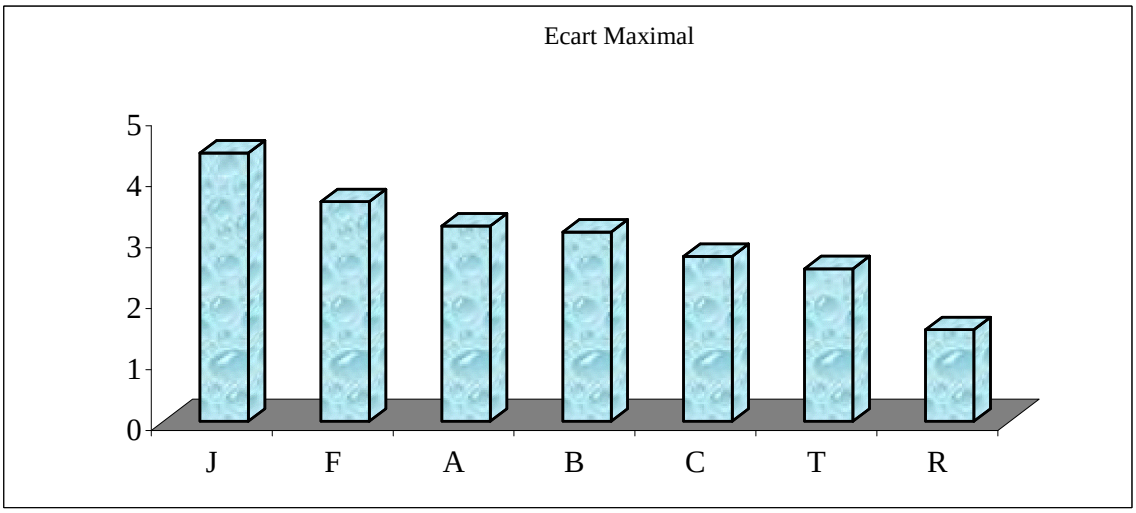


Fig. II5b: Variation spatiale de l'écart maximal pour les teneurs des eaux en oxygène dissous relevées dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Menzel Abderrahmen, B : Menzel Bourguiba, C : Baie des carrières, F : Faroua, J : Menzel Jemil, R : Rimel et T : Oued Tindja.

Le plus grand écart temporel des concentrations en oxygène (4.4 mg/l) a été enregistré à la station (J) et le plus faible (1.5 mg/l) à la station de référence de Rimel où est apparue une nette stabilité des conditions d'oxygénation (tabl. II7 et Fig. II5 b)**.** D'autre part, la comparaison pour une même station des teneurs mensuelles en oxygène (Fig. II5 a et II5 b) a permis de conclure à une importante variation saisonnière de l'oxygénation susceptible d'influer sur les organismes présents**.** Ce sont les eaux de la station Menzel Jemil qui ont présenté la variation temporelle la plus importante du taux en oxygène avec un écart maximal de 4.4 mg/l (Fig. II5b). De fait, ceci pourrait être lié à l'eutrophisation estivale signalée dans le secteur (Dridi, 1977 ; Aïssa, 1991 et Dellali, 1996) favorisant la prolifération des micro et macrophytes responsables, par leur activités photosynthétique et respiratoire, d'importantes variations journalières des conditions d'oxygénation. Ce que ne confirment pas toutefois les pourcentages de saturation en oxygène relevés dans le site, les maxima mensuels ayant été enregistrés à la station T de juillet (112%) à septembre (valeur stationnelle maximale de 122%). Par contre, le plus faible écart saisonnier des teneurs en oxygène a été observé au niveau de la station franchement marine de Rimel (1.49 mg/l), l'eau y étant bien oxygénée avec des taux de saturation souvent inférieurs à 100% (12 fois sur 13). Les variations saisonnières ont également été relativement faibles à la station de la Baie des carrières, très proche de la mer, où l'écart entre l'été et l'hiver a été de 2.7 mg/l.. Les concentrations qui y ont été enregistrées (correspondant à des pourcentages de saturation variant de 77.98% à 100.07%) paraissent comparables à celles enregistrées en milieu marin (Dajoz, 1996 et Beyrem, 1999). L'influence de la mer est donc très prononcée au niveau de cette station.

7) *Salinité*

C'est l'une des caractéristiques essentielles de l'eau de mer. La variation de salinité modifie plusieurs propriétés de l'eau (densité, compressibilité, point de congélation, température du maximum de densité). D'autres composantes hydriques (conductivité, pression osmotique) sont essentiellement déterminées par la quantité présente de sel.

Dans la lagune de Bizerte, les salinités ont évolué à la fois dans le temps et dans l'espace (tabl. II9 et Fig. II6a et II6b), la salinité des eaux de surface étant contrôlée par plusieurs facteurs :

- le bilan E-P (Evaporation moins Précipitation) des échanges d'eau entre le plan d'eau et l'atmosphère,

Tableau II9 : Evolution spatio-temporelle de la salinité (P. S. U ou $^0/_{00}$) dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – 1999).

A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières ; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : oued Tindja. ; M - m : Ecart mensuel maximal, Gras : Valeur spatio-temporelle maximale ; Souligné : Valeur spatio-temporelle minimale

	mai	juin	juil.	août	sept.	oct.	nov.	déc.	jan.	fév.	mar.	avr.	mai	M-m
A	35,8	37,5	37,9	38,2	38,7	38,4	38,5	37,6	35,9	36,3	31,7	36,1	33,4	5,1
B	34,3	35,7	36,6	37,3	37,9	37,4	37,8	36,9	36,4	33,9	34,1	34,8	37,9	3,8
C	36,4	36,6	37,1	37,7	38	37,7	37,9	37,2	36,1	36,1	36,3	37,2	36,9	1,9
F	35,6	34,9	36,9	39,3	37,8	37,9	38,2	37,4	36,4	31,2	35,1	36,6	37,8	8,1
J	35,9	37,7	37,7	38,9	38,8	38,2	38,5	37,4	36,5	34,9	33,8	34,8	35,7	5,1
T	16,3	17,7	26,9	37,6	39,6	38,7	37,4	32,5	31,4	26,1	13,1	13,9	14,2	26,5
R	37,5	37,5	37,5	37,3	37,6	37,5	37,5	37,5	37,2	37,6	37,4	37,5	37,6	0,4

- l'importance des apports en eaux douces au nord-ouest de la lagune, l'oued Tindja y déversant 345 millions de m^3 d'eaux douces par an en provenance du lac Ichkeul (Aouij, 1995).
- le sens des courants (entrant ou sortant) à travers le canal de Bizerte,
- l'hydrodynamisme dans la lagune, l'advection d'eaux de salinité différente provoquant un mélange des eaux de surface avec celles des couches sous-jacentes.

La variation stationnelle de la salinité a été très importante. Ainsi, le plus grand écart mensuel de salinité a été enregistré à l'oued Tindja (13.1 ‰ en mars 1999 contre 39.6‰ en septembre, soit un écart halin maximal de 23.8‰). Par contre, la salinité a été relativement stable à la station marine de Rimel (écart maximal seulement égal à 0.4‰). Les stations lagunaires, hormis celle de Tindja, plus faiblement alimentées en eaux douces par l'intermédiaire de petits oueds souvent asséchés, ont présenté des salinités intermédiaires (Fig. II6b).

La variation de la salinité entre l'été et l'hiver a été nette partout, exception faite des stations marines de Rimel et de la baie des carrières (Fig II6a). Du fait de la raréfaction des pluies et de l'assèchement des oueds entourant la lagune en été, les salinités estivales sont apparues plus stables au plan spatial. L'évolution temporelle de la salinité dans la lagune de Bizerte a été directement liée à celle de la température (corrélation très significative à 1% ; 0.427, ddl=48).

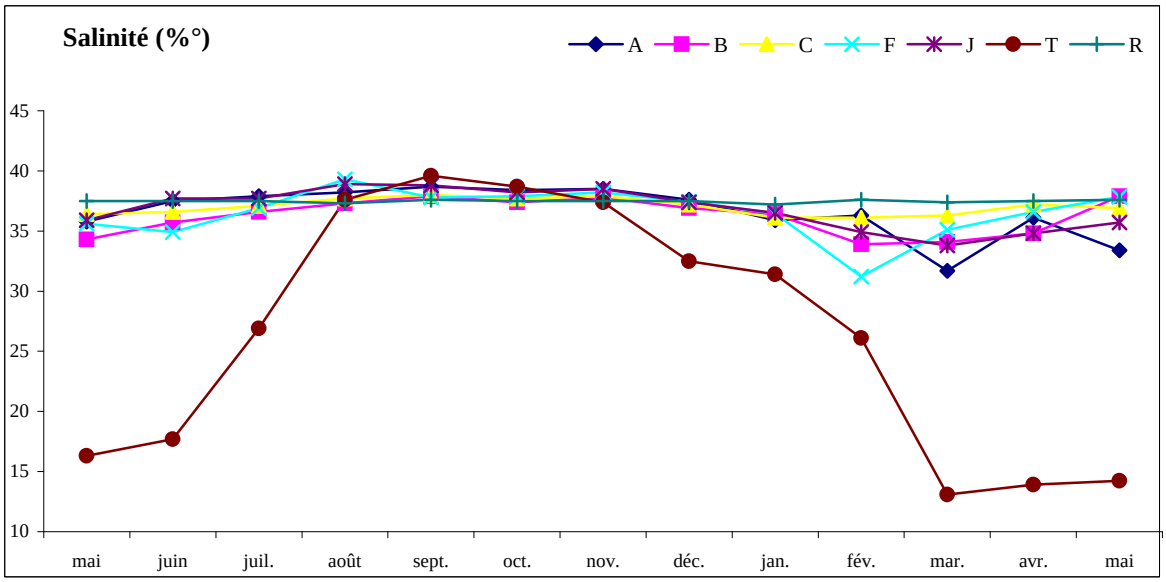


Fig. II 6a : Evolution spatio-temporelle de la salinité de l'eau (°/°° ou P.S.U) dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

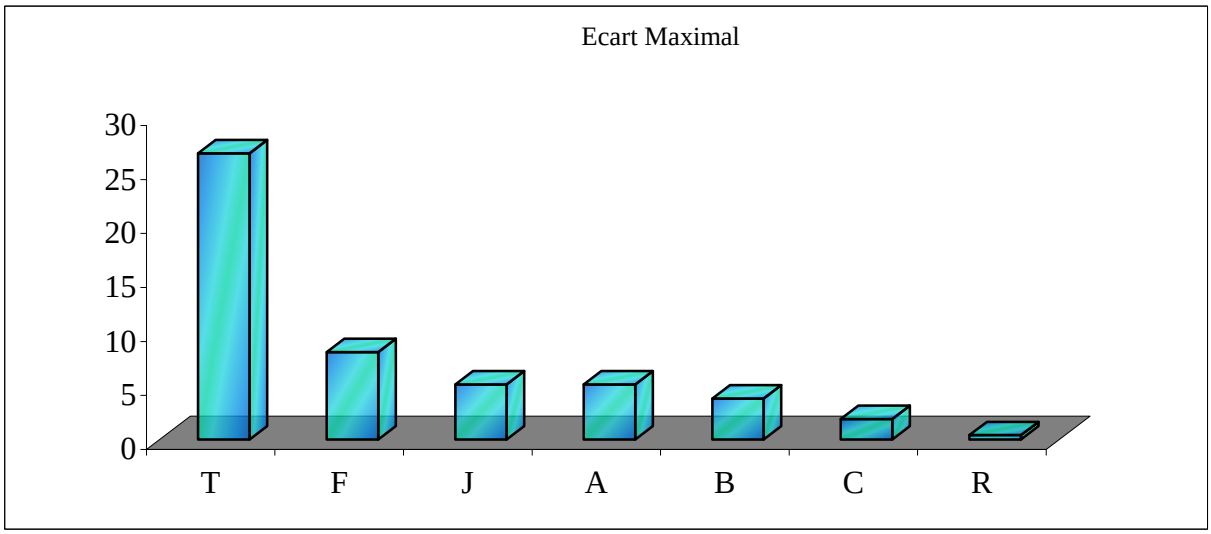


Fig. II 6b : Ecart maximal des salinités de l'eau (°/°°) dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Menzel Abderrahmen, B : Menzel Bourguiba, C : Baie des carrières, F : Faroua, J : Menzel Jemil, R : Rimel et T : Oued Tindja.

Tableau II10 : Comparaison des données halines de la lagune de Bizerte (mai 98- mai 99) avec celles rencontrées dans la bibliographie.

Référence	**Prélèvement**	**Variation des salinités ($^0/_{00}$)**
Azouz (1966)	Prélèvements mensuels	27.5 – 38.8
Dridi (1979)	Prélèvements mensuels	31.9 – 40.2
Belkhir *et al.* (1985)	Prélèvements ponctuels (été)	23.2 – 44.9
Aïssa (1991)	Prélèvements mensuels	31,6 - 40,18
Frisoni *et al*. (1986)	Prélèvements ponctuels(été)	23 - 45
Dellali (1996)	Prélèvements saisonniers (hiver – été)	28.8 – 38.8
Mastouri. (1997)	Prélèvements trimestriels	29 – 36.5
Essid (1996)	Prélèvements ponctuels (été)	39.1 – 39.9
Dellali (*Présent travail*)	Prélèvements mensuels	13,1 – 39.6

La comparaison de nos valeurs de salinité avec celles consignées dans la bibliographie confirme que les eaux de la lagune de Bizerte, comme celles de beaucoup de lagunes méditerranéennes, souffrent d'une instabilité haline (tabl. II10). Les salinités que nous avons enregistrées dans la lagune durant la période de prospection ont été proches de celles relevées par d'autres auteurs (tabl. II10).

7) pH

Le pH des eaux varie en fonction de la salinité et de la température (Chaouachi,1995). Il est influencé en outre par la respiration des organismes, l'activité photosynthétique et la décomposition de la matière organique ainsi que par les rejets acides d'origine anthropique. Le suivi de ce facteur abiotique peut donc nous renseigner indirectement sur le degré de pollution chimique et/ou organique.

D'après le tableau II11 et les figures II 7a et II 7b, le pH des eaux a été relativement stable sur l'ensemble de la lagune de Bizerte, à la fois dans le temps et dans l'espace. Les eaux de la station marine de Rimel ont présenté un intervalle de variation mensuelle minimal (0.48) et celles de l'oued Tindja le maximal (1.36), immédiatement suivie de celles de la station de Menzel Bourguiba (1.34). A la station T, les valeurs du pH ont été nettement plus faibles pendant la période pluvieuse de décembre 1998 à février 1999 avec un minimum de 7.33

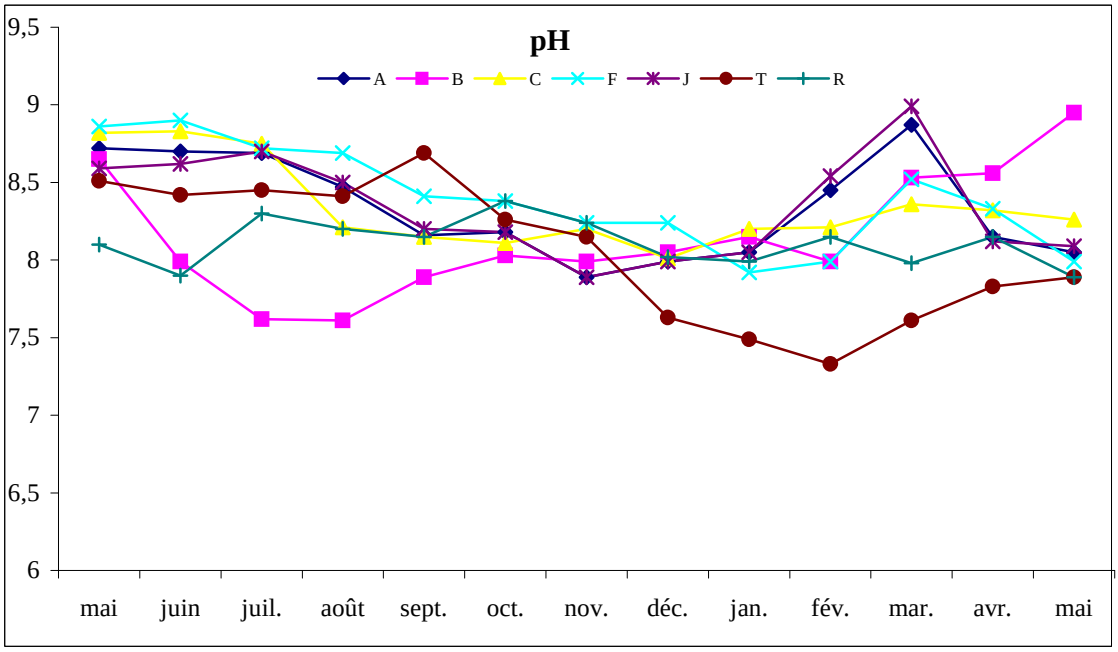


Fig. II 7a : Evolution spatio-temporelle du pH de l'eau au niveau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

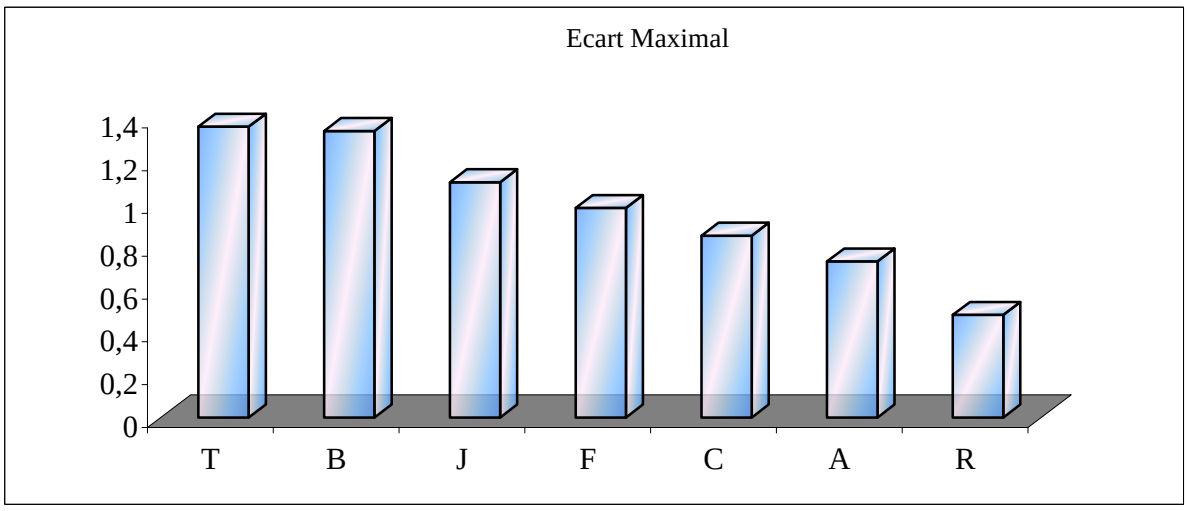


Fig. II 7b : Evolution Spatiale de l'écart maximal du pH de l'eau au niveau de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Menzel Abderrahmen, B : Menzel Bourguiba, C : Baie des carrières, F : Faroua, J : Menzel Jemil, R : Rimel et T : Oued Tindja.

Tableau II11: Evolution spatio-temporelle du pH de l'eau dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – 1999).
A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières ; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : oued Tindja. ; M - m : Ecart mensuel maximal, Gras : Valeur spatio-temporelle maximale ; Souligné : Valeur spatio-temporelle minimale.

	mai	juin	juil.	août	sept.	oct.	nov.	déc.	jan.	fév.	mar.	avr.	mai	M-m
A	8,72	8,70	8,69	8,47	8,16	8,18	7,89	7,99	8,05	8,45	8,87	7,92	8,05	0,73
B	8,65	7,99	7,62	7,61	7,89	8,03	7,99	8,05	8,15	7,99	8,53	8,56	8,95	1,34
C	8,82	8,83	8,75	8,21	8,15	8,11	8,2	8,01	8,2	8,21	8,86	8,32	8,26	0,85
F	8,86	8,9	8,72	8,69	8,41	8,38	8,24	8,24	7,92	7,99	8,52	8,33	7,99	0,98
J	8,59	8,62	8,70	8,5O	8,20	8,18	7,89	7,99	8,05	8,54	8,99	7,99	8,09	1,10
T	8,51	8,42	8,45	8,41	8,69	8,26	8,15	8,01	7,99	7,33	8,61	8,63	7,89	1,36
R	8,10	7,90	8,30	8,20	8,15	8,38	8,24	8,02	7,99	8,15	7,36	8,15	7,89	0,48

en février. Par contre, à la station de Menzel Bourguiba, c'est durant la saison estivale (juin-septembre) que les plus faibles valeurs de pH ont été relevées (7.61 à 7.99). Au niveau des stations A et J, les maxima de pH ont été notés en juillet-août (période d'eutrophisation) et en mars 99, parallèlement au bloom printanier du phytoplancton (Ivanoff, 1972).

Tableau II12 : Comparaison bibliographique des pH relevés dans les eaux de la lagune de Bizerte.

Référence	pH
Soussi, 1981 (Prélèvements mensuels)	7,7 - 7,85
Khalfallah et Majri, 1991 (Prélèvements ponctuels, été)	6,8 - 7,2
Belkhir *et al.*, 1985 (Prélèvements ponctuels, été)	8,1 - 8,7 (lagune)
	3.3 – 4 (rejets du Fouled)
Dellali, 1996 (Prélèvements saisonniers, hiver et été)	7,82 - 8,32
Mastouri (1997) (Prélèvements trimestriels)	7.9 – 11.86
Dellali (*Présent travail*) (Prélèvements mensuels)	7,62 - 8,94

D'après le Tableau II 12 montrant les valeurs de pH relevées dans la lagune de Bizerte, nos résultats sont proches de ceux signalés dans la bibliographie. Il faut cependant noter que les valeurs relativement faibles de pH (3.3 à 4) qui ont été signalées par Belkhir et *al.* (1985) et Frisoni et *al.*(1986) correspondent à celles des rejets de l'usine El Fouled, située près de Menzel Bourguiba.

La stabilité spatio-temporelle des pH constatée dans la lagune s'explique d'abord par la nature des eaux fondamentalement marines et secondairement par l'absence de grandes quantités de rejets acides, même dans les secteurs les plus industrialisés (Menzel Bourguiba…). Les faibles variations mensuelles du pH enregistrées aux stations R (franchement marine) et C (à influence marine) sont liées elles aussi à l'action alcalinisante de l'eau de mer. Une augmentation de l'activité photosynthétique des micro et macrophytes tendant à alcaliniser le pH des eaux (Ivanoff, 1972), celle-ci pourrait expliquer certaines valeurs élevées de pH relevées pendant les périodes printanière et estivale, notamment aux stations A et J. Les fluctuations mensuelles du pH à la station de Menzel Bourguiba sont liées à la quantité d'eaux rejetées par le complexe métallurgique d'une part et aux apports d'eaux continentales d'autre part. Ceci explique que de faibles valeurs de pH aient été relevées à cette station en été, une période de raréfaction des apports terrigènes.

III) Bivalves :

Les bivalves et surtout les moules constituent un matériel biologique approprié dans la biosurveillance de l'environnement marin parce que:

- Ils sont faciles à récolter, leurs densités étant suffisantes pour permettre de les prélever sans modifier la structure ou l'importance numérique de leurs populations ;
- Ils constituent une part importante et représentative des communautés côtières et estuariennes et ont une large distribution géographique (Fig. II9 et II11) ;
- Ils sont sédentaires et sont par conséquent susceptibles d'être exposés en permanence à la pollution ;
- Ces organismes filtreurs qui pompent de grands volumes d'eau (plusieurs litres / heure) peuvent concentrer de façon importante des composés chimiques dans leurs tissus, avec des facteurs de concentration allant de 10 à 10^5 (Najimi, 1997 a). Ceci rend les mesures des contaminants traces plus faciles à détecter dans leurs tissus que dans l'eau.
- Ils sont relativement tolérants (mais non insensibles) à de larges variations des conditions environnementales, y compris à des teneurs relativement élevées en divers types de contaminants.
- Les mesures des contaminants chimiques dans leurs tissus ont l'avantage d'évaluer la biodisponibilité, ce qui n'est pas possible avec les mesures des concentrations des polluants chimiques dans l'eau, les particules en suspension ou le sédiment.

Les espèces de bivalves utilisées dans la présente étude ont été la palourde et la moule.

Photo 1 : La palourde (*Ruditapes decussatus*)

Photo 2 : La moule (*Mytilus galloprovincialis*)

1) La palourde : *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758)

Ce filtreur capable d'accumuler d'importantes quantités de métaux et de composés organiques (Roméo et Gnassia-Barelli, 1995; Roméo et *al*., 1997) constitue un excellent indicateur de contamination des écosystèmes aquatiques, par son aptitude considérable à la bioaccumulation.

Classification :

La classification adoptée pour cette espèce est la suivante :

Classe : Bivalve

Sous- classe : Hétérodontae

Ordre : Véneroïdae

Famille : Veneridae

Sous famille : Topetinae

Genre : *Ruditapes*

Espèce : *decussatus*

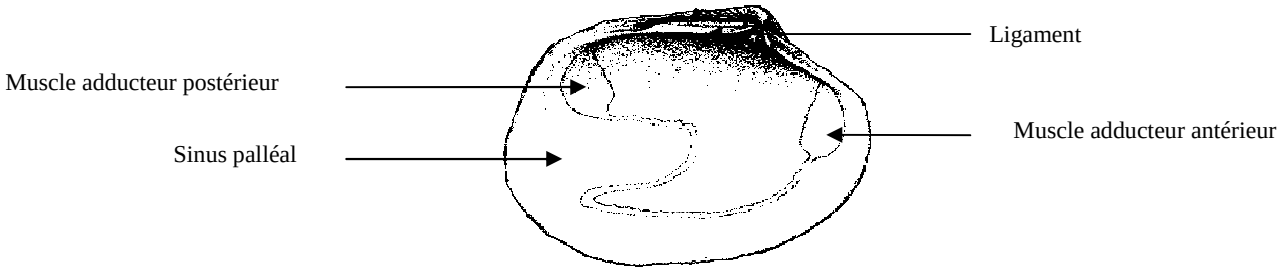
Plusieurs autres noms scientifiques sont encore en usage:

Amygdale decussata (Linnaeus, 1758)

Tapes decussatus (Linnaeus, 1758)

Venerupis decussata (Linnaeus, 1758)

Vue interne de la valve gauche



Vue externe de la valve droite

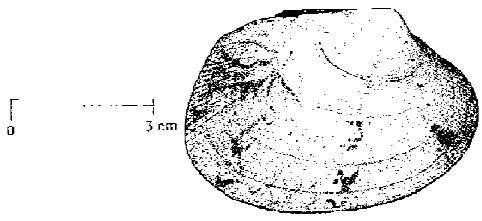


Fig. II8 : Vues externe et interne des valves de la palourde *Ruditapes decussatus*

Caractères distinctifs (Fig.II8) : Coquille en ovale allongé subquadrangulaire, assez solide, à lunule nette. Sculpture externe avec des costules rayonnantes serrées et des sillons concentriques, plus prononcés vers l'avant et l'arrière, ce qui donne un aspect treillissé caractéristique. Charnière à plateau cardinal étroit, avec à chaque valve trois dents cardinales divergentes concentrées sous le crochet. Sinus palléal profond (ne dépassant pas la ligne médiane des valves), formant une angulosité mousse à son extrémité antéro-dorsale. Marges lisses. Coquille blanchâtre à brun clair extérieurement, uniforme ou avec des motifs bruns plus intenses, intérieur blanchâtre à jaunâtre.

Taille : Au niveau de la lagune de Bizerte, la taille commune des animaux varie entre 2.5 et 5 cm mais leur taille maximale peut atteindre 6 cm.

Habitat et biologie : Fonds de sables, sables et graviers vaseux, vases compactes de l'étage infra-littoral et de lagunes côtières telles que celle de Bizerte, objet de la présente étude. Sexes séparés mais sans dimorphisme sexuel. Ponte en juillet-août essentiellement. Selon l'INSTM (2000) la taille de la première maturité sexuelle est de 30 mm chez les palourdes de la lagune de Bizerte et la période de reproduction s'étend de juin à septembre.

Cette espèce répandue dans tout le bassin méditerranéen se rencontre dans l'Atlantique est, de la Norvège (61° N) au Congo (12 °N), ainsi que dans le nord de la mer Rouge où l'espèce a immigré par le canal de Suez. En Tunisie, cette espèce est présente sur tout le littoral mais elle est abondante dans les lagunes de Bizerte et de Tunis et dans le golfe de Gabès.

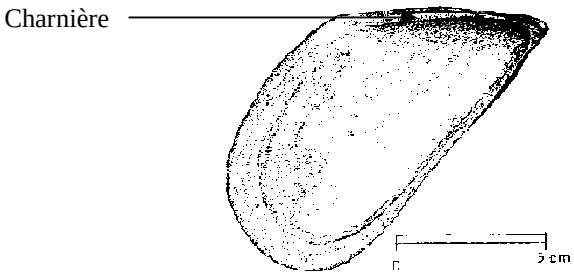
Pêche et utilisation : Cette espèce activement recherchée dans la majeure partie du bassin méditerranéen peut être collectée par pêche industrielle ou semi-industrielle (Italie, Espagne), pêche artisanale ou occasionnelle ou aquaculture (France, Italie). Les engins utilisés sont variés: dragues, râteaux ou à la main. L'espèce, régulièrement présente sur les marchés, est utilisée fraîche, marinée ou en conserves. Les statistiques donnent des productions de: 416 t/an (Turquie: exportation pour 1979-80), 300 t/an (Adriatique occidentale), 200 t/an (France: *pour Ruditapes decussatus* et *Venerupis aurea*), 65 t/an (Espagne) et 5 t/an (Yougoslavie) (FAO, 1998). En Tunisie, cette espèce est vendue en quantité importante pour le marché local mais aussi pour l'exportation. Sa production au niveau de la lagune de Bizerte a atteint 4.3 tonnes/an pendant la dernière décennie (DGPA[9], 1999).

[9] DGPA : Direction Générale de la Pêche et l'agriculture

1) **La moule** : *Mytilus galloprovincialis.* Lamarck, 1819

Autres noms scientifiques encore en usage : *Mytilus edulis* var. *galloprovincialis* Lamarck, 1819.

Vue interne de la valve gauche



Vue externe de la valve droite

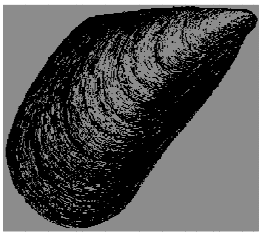


Fig. II10 : Vues externe et interne des valves de la moule *Mytilus galloprovincialis*

Classification :

Classe : Bivalve

Sous- classe : Pteriomorphia

Ordre : Mytiloida

Famille : Mytiloidae

Sous famille : Mytilidae

Genre : *Mytilus*

Espèce : *galloprovincialis*

Caractères distinctifs (Fig. II10): Coquille anisovalve (avec valve droite pesant moins que la valve gauche ; Ricci, 1957) allongée, très variable, de contour grossièrement triangulaire à subquadrangulaire, renflée et pointue en avant, comprimée et arrondie en arrière. Crochets terminaux, assez aigus et incurvés. Zone postérodorsale tendant à former une expansion aplatie qui rend le bord ligamentaire assez saillant. Bord antérieur très réduit, à aspect de lunule. Sculpture externe formée de marques d'accroissement. Périostracum lisse, très adhérent. Bande calcifiée infraligamentaire ponctuée. Charnière avec quelques dentelons sous

le crochet. Sa taille commune est de 5 à 8 cm. Sa coloration est en général noir violacé extérieurement; intérieur gris bleuté à violacé, plus ou moins teinté de blanchâtre et irisé de reflets nacrés vers la cavité umbonale. Le manteau des femelles est orange brique et celui des males est jaune blanc. Les coquilles des mâles sont plus petites que celles des femelles qui pèsent un à quelques grammes de plus que les mâles de même âge (Zouari, 1985).

Habitat et biologie : L'espèce, qui vit fixée par son byssus sur les fonds très variés des étages médiolittoral et infralittoral, soit durs (rocheux, graveleux), soit meubles (sableux, vaseux), pénètre largement dans les eaux saumâtres des lagunes côtières. Du point de vue bathymétrique, la moule se trouve sur des fonds très variables allant de 0 à 60 m de profondeur (Zouari, 1985) et celle-ci supporte des salinités très variables allant de 10 à 45 ‰. L'animal forme fréquemment des communautés monospécifiques, très denses. Sa longévité varie de 7 à 25 ans. Son régime alimentaire à base de plancton est constitué essentiellement de copépodes, d'ostracodes, de diatomées et de spores d'algues…

Répartition géographique : C'est une espèce très abondante qu'on trouve en Mer Noire, en mer Adriatique, en Méditerranée septentrionale et méridionale. Elle se rencontre également en Manche occidentale et en Atlantique. En Tunisie, elle occupe la façade nord du pays depuis Tabarka jusqu'à la pointe du cap-Bon qui semble marquer la limite orientale de son aire de distribution.

Pèche et utilisation : Son exploitation est intense, à partir des bancs naturels et plus encore par mytiliculture. Sa récolte se fait à la main ou au moyen de divers engins (chaluts de fond, dragues, râteaux). Sa culture est souvent effectuée sur des cordes suspendues à des parcs fixes ou à des bouées. Sa présence est régulière sur les marchés. L'espèce est utilisée fraîche, réfrigérée, congelée, en conserves ou comme appât. Les statistiques donnent des productions de: 70 000 t/an (Italie), 12 000 t/an (URSS), 5 200 t/an (France), 1980 t/an (Turquie), 955 t/an (Espagne, dont 937t par mytiliculture) environ 250 t/an (Yougoslavie), 116.5 t/n (Tunisie), 100 t/an (Maroc), 35 t/an (Bulgarie) (FAO[10], 1998).

Dans la lagune de Bizerte, cette espèce sessile a été introduite en 1961, où elle se reproduit de façon naturelle. Sa vaste répartition géographique, les facilités de sa collecte et de son maintien en stabulation lui permettent d'être un témoin privilégié de la qualité des milieux littoraux. La moule qui a comme la palourde une grande capacité de filtration (jusqu'à 100 l/ jour, selon Orozco Borbon, 1986) présente l'avantage, en plus de son intérêt

économique, d'être largement utilisée en écotoxicologie (Ribera, 1990 ; Arnoux, 1992). En effet, l'espèce se nourrissant des nutriments en suspension (suspensivore) dans l'eau de mer et non dans les sédiments, sa contamination par les polluants dépend uniquement de la qualité de l'eau (Landrum, 1987).

3) Maladies liées à la consommation des bivalves :

La sédentarité des bivalves dans la frange littorale les amène à être exposés en continu à toutes sortes d'agents provenant de l'activité anthropique comme des polluants (pesticides, bactéries, métaux,…..) mais aussi divers agents pathogènes (bactéries, virus, toxines) du fait de leur processus de filtration, non spécifique et non sélectif. Comme l'a souligné Dodgson (1928) *« Shellfish are, at best, a dirty food and may be and frequently are a dangerous one* », les bivalves comestibles peuvent constituer des vecteurs potentiels de certains agents infectieux, transmissibles à l'homme. Ainsi, au début du siècle, le choléra asiatique et la fièvre typhoïde étaient généralement associés à la consommation de coquillages (Shumway, 1992). Sans évoquer ces maladies extrêmement graves mais peu répandues, il est actuellement reconnu que plusieurs infections chez l'homme sont liées à la consommation de palourdes et de moules crues (choléra, hépatite, gastro-entérite..) et que les toxines ingérées par ces bivalves peuvent être à l'origine de cas d'empoisonnement et de diarrhées (Shumway, 1990) .

L'exposition des bivalves à la pollution fécale se traduit par une bioaccumulation non sélective de diverses bactéries, pathogènes telles les genres *Salmonella, Shigella* et *Clostridium* ou peu pathogènes comme *Escherichia coli*. Ces bactéries se concentrent dans la chair de ces animaux à des concentrations supérieures à celles du milieu (Wood,1972 ; Ayres *et al*.,1975 ; Legnani *et al.*, 1998 et Dellali *et al*., 2001 b). A noter que plusieurs bactéries pathogènes ont été identifiées dans les bivalves comme V. *cholerae* (à l'origine du choléra) dans des moules collectées sur les côtes italiennes (Baine *et al.*, 1974), V. *cholerae* et *V. cholerae-01* dans des coquillages provenant de côtes européennes (Ayres *et al*.,1975) et plus récemment dans des palourdes originaires de la lagune de Bizerte (Rafrafi, 2000 a). *V. parahaemolyticus*, V. *vulnificus* et V. *alginolyticus* pouvant provoquer des gastro-entérites ont été identifiées à plusieurs reprises dans des produits de la mer et surtout dans des bivalves (Kampelmacher *et al.,* 1972 ; Trollope, 1984 ; Ripabelli *et al.,* 1999 ; Rafrafi *et al*., 2000 et Dellali *et al*.,2000). D'autres espèces moins pathogènes pour l'homme (*Aeromonas, V. tapetis* et *V. fluvialis*) ont été isolées à partir de plusieurs lamellibranches (Trollope, 1984 ; Paillard,1995 ; Fiorentini *et al*., 1998 ; Rafrafi, 2000 et Dellali *et al.*, 2000). De la même

[10] FAO : Food and Agriculture Organisation

façon, Gerba et Goyal (1978) ont pu isoler des entérovirus d'origine humaine dans les coquillages marins. Leur nombre a été estimé à plus de 100 types (polio, hépatite A, adénovirus et rétrovirus) responsables de plusieurs pathologies (fièvre, paralysie, méningite, diarrhée…). Les bivalves constituent également un vecteur potentiel des toxines phyto-planctoniques libérées lors de certains blooms. Divers troubles (gastro-entérites, troubles nerveux, troubles de la mémoire, instabilité de la pression artérielle et même coma) peuvent alors se manifester (Teitelbaum *et al*., 1990).

IV) Etude écobiologique des bivalves

1) Etude biométrique chez la Palourde

a) Paramètres linéaires

Tableau II10 : Equations liant les différents paramètres linéaires chez les palourdes des trois sites de collecte : Menzel Jemil (J), Menzel Abderrahmen (A) et Faroua (F).

H : hauteur ; L : longueur ; E : épaisseur ; r : coefficient de corrélation. $\overline{X}$ et $\overline{Y}$ moyennes de x et de y ; Extr…x, Extr…y : valeurs extrêmes de x et de y ; s : écart type ; t : test de student ; (++) différence significative à 5% ; (-) différence non significative.

	station	Equation	R^2	$\overline{X}$	Extr…x	$\overline{Y}$	Extr…y	sdx	sdy	Test de Student
H=f(L)	J	$y=0,8707x^{0,9241}$	0,878	32,54	29-37	21,76	19,5-25	1,922	1,383	t=1,376 (-)
	A	$y=0,8025x^{0,9674}$	0,891	32,49	27,36 -39,72	21,95	17,34-26,1	1,8206	1,547	t=1,642 (-)
	F	$y=1,5838x^{0,755}$	0,956	32,85	28,8-40,9	22,18	18,7-27	2,846	1,976	t=3,535 (++)
E=f(L)	J	$y=0,339x^{1,105}$	0,859	32,54	29-37	13,98	12--16	1,922	1,071	t=2,298 (++)
	A	$y=0,302x^{1,154}$	0,826	32,49	27,36 -39,72	13,79	13,15,3	2,436	1,356	t=2,562 (++)
	F	$y=0,416x^{1,001}$	0,811	32,85	28,8-40,9	13,82	11,6-17,3	2,846	1,521	t=0,0209 (-)
E=f(H)	J	$y=0,273x^{1,123}$	0,896	21,76	19,5-25	13,68	12--16	1,383	1,071	t=2,23 (++)
	A	$y=0,246x^{1,358}$	0,826	21,63	17.34 – 26.1	13,56	11,8-176	1,596	1,243	t=2,596 (++)
	F	$y=0,749x^{0,939}$	0,89	22,18	18,7-27	13,82	11,6-17,3	1,976	1,521	t=0,847 (-)

D'après le tableau II10, le coefficient de corrélation R^2 reliant les variables linéaires deux à deux dans les équations allométriques (droites de régression) sont comprises entre 0.811 et 0.952 pour les trois modèles et cela, quelle que soit la station. Ces valeurs révèlent qu'il existe chez la palourde de la lagune de Bizerte d'étroites relations entre la longueur antéro-postérieure, l'épaisseur et la hauteur de la coquille.

En considérant la relation hauteur- longueur, la croissance de la coquille est apparue isométrique chez les palourdes du secteur Nord –Nord Est (stations A et J). Pour les animaux du secteur Sud Ouest de la lagune (F), l'allométrie a été minorante, c'est à dire que la croissance en hauteur a été significativement inférieure à celle de la longueur (valeur de la pente *a* significativement inférieure à 1 comme le prouve la valeur de t = 3.53) (tabl.II 10 ; Fig. II12).

D'après les équations décrivant la relation entre la longueur et l'épaisseur de la coquille (tabl.II10), l'allométrie a été majorante chez les palourdes des stations J et A, comme le prouvent les valeurs de « *a* » respectivement égales à 1.105 et 1.154. Cela signifie qu'au niveau de ces deux sites, la croissance des palourdes en épaisseur a été significativement supérieure à celle en longueur. Ce qui n'a pas été vérifié avec les palourdes de la station F, la pente « *a* » égale à 1.001 et presque égale à l'unité (t = 0.02) indiquant une isométrie de croissance entre les paramètres linéaires considérés (Fig. II12).

Tableau II 11 : Comparaison par le test T des pentes des droites reliant les différents paramètres linéaires. A : Menzel abderrahmen, J : Menzel Jemil et F : Faroua, NS : Non significatif, S : Significatif .

	A - J	A - F	J - F
Hauteur – Longueur	0.7473 NS	**-8.2184 S**	**-8.1021 S**
Epaisseur – Longueur	0.8532 NS	-1.7813 NS	0.8390 NS
Epaisseur - Hauteur	0.2959 NS	1.739 NS	0.3930 NS

En analysant l'évolution de la hauteur en fonction de la longueur de la coquille des palourdes provenant de la lagune de Bizerte, celles-ci pourraient être scindées en deux groupes (tabl. II 10 et II11) :

1. Celui des *Ruditapes decussatus* de la station F chez qui l'allométrie est minorante et la croissance en épaisseur est plus importante que celle en hauteur,

2. Celui des animaux des stations A et J qui présentent une allométrie majorante (t respectivement égale à 2.56 et 2.29, ddl > 30). En d'autres termes, les palourdes de la station F tendraient à être plus épaisses et moins longues que celles des deux autres sites de collecte. Cependant, l'évolution de l'épaisseur en fonction de la longueur et de l'épaisseur en fonction de la hauteur ne présente pas de différences significatives entres les palourdes des trois stations de collecte. Cette homogénéité morphologique relative de la coquille, constatée pour

toutes les palourdes prélevées dans la lagune de Bizerte, constitue une preuve de leur appartenance à une même population.

En comparant nos résultats pour les palourdes de Menzel Jemil aux données antérieures (Trigui-El Menif, 1994 et 1995), les relations longueur - épaisseur et épaisseur - hauteur sont identiques à celles signalées en 1995, l'auteur ayant alors noté une allométrie majorante. Toutefois, la croissance des palourdes de Menzel Jemil varie selon l'année puisqu'il est apparu en été 1992 une isométrie légèrement minorante de la longueur par rapport à la hauteur (a = 0.9583, t = 2.88) (Trigui-El Menif, 1995). Notons que ce même auteur a enregistré une inversion de la croissance de la longueur par rapport à l'épaisseur chez les palourdes de J entre les années 1987 (Trigui-El Menif, 1994) et 1992 (Trigui-El Menif, 1995). Ceci montre bien que la croissance relative des palourdes n'est pas totalement contrôlée génétiquement et qu'elle est nettement influencée par plusieurs facteurs du milieu.

Le tableau II12 a permis de comparer la croissance des palourdes des trois sites prospectés dans la présente étude non seulement avec celle de la population de Menzel Jemil durant les années 1987 (Trigui-El Menif,1994) et 1992 (Trigui-El Menif, 1995) mais aussi avec celle d'autres populations méditerranéennes (Arnaud et Raimbault,1963 ; Gérard,1978) et atlantiques (Gras et Gras,1981).

Tableau II12: Comparaison bibliographique des équations liant les paramètres linéaires (L, H, E) chez la palourde.

Références	**Stations**	**Equations H = f (L)**	**Equations E = f(L)**
Arnaud et Raimbault, 1963	Etang de Thau	H = 0.65L+ 0.81	E = 0.448 L
Gérard,1978	Etang de Thau	$H = 0.685L^{0.975}$	$E = 0.363L^{1.077}$
	Arcachon	$H = 0.751L^{0.969}$	$E = 0.495L^{0.973}$
	Douron	$H = 0.787L^{0.957}$	$E = 0.440L^{1.036}$
	Kerity	$H = 0.726L^{0.985}$	$E = 0.417L^{1.052}$
Gras et Gras, 1981	Bassin de Marennes-Oléron	H = 0.663L + 0.073	0.419L + 0.079
Trigui- El Ménif, 1995	Menzel Jemil	$H = 0.792L^{0.9583}$	$E = 0.3266L^{1.0778}$
Dellali (*Présent Travail*)	Menzel Jemil	$H= 0,8707L^{0,924}$	$E=0,359L^{1,105}$
	Menzel Abderrahmen	$H= 0,8025L^{0,967}$	$E=0,302L^{1,154}$
	Faroua	$H= 1,5838L^{0,755}$	$E=0,416L^{1,001}$

Les hauteurs et les épaisseurs théoriques des palourdes pour des longueurs-types (tabl. II13) ont été calculées à partir des équations du tableau II12. La comparaison des pentes des droites de régression confirme que pour une même longueur-type (20, 30, 40 mm) les palourdes de la lagune de Bizerte se subdivisent en deux sous-groupes, celles de Faroua présentant une épaisseur plus faible et une hauteur plus élevée que celles collectées à Menzel Jemil et à Menzel Abderrahmen. Toutefois, ceci n'est pas vérifié à une longueur-type de 40 mm, les palourdes de Menzel Abderrahmen présentant une hauteur maximale. Cette dernière observation confirme l'observation de Hrs Brenko (1968) pour les moules chez qui la croissance s'effectue aussi bien en longueur qu'en hauteur et qu'au delà d'une taille seuil des contraintes d'ordre spatial influencent la morphologie de la coquille.

Tableau II13: Valeurs théoriques des hauteurs (H) et des épaisseurs (E) calculées à partir de quelques valeurs de la longueur (L) chez la palourde.

Références	Stations	Hauteurs théoriques			Epaisseurs théoriques		
	Longueur-type (mm)	**20**	**30**	**40**	**20**	**30**	**40**
Arnaud et Raimbault, 1963	Etang de Thau	13.81	20.31	26.81	8.96	13.44	17.92
Gérard, 1978	Etang de Thau	12.71	18.49	24.98	9.14	14.15	19.3
	Arcachon	13.68	20.27	26.79	9.13	13.54	17.92
	Douron	13.48	20.39	26.86	9.08	14.92	20.1
	Kerity	13.88	20.69	27.47	9.74	14.93	20.21
Gras et Gras, 1981	Bassin de Marenne-Oléron	13.33	19.86	26.59	8.46	12.65	16.84
Trigui El Ménif, 1995	Menzel Jemil	13.85	20.44	27.32	8.12	12.67	17.35
Dellali (*Présent travail*)	Menzel Jemil	13.87	20.18	26.32	9.83	15.39	21.15
	Menzel Abderrahmen	14.56	21.55	28.46	9.58	15.30	21.32
	Faroua	15.20	20.65	25.66	8.34	12.52	16.70

b) Paramètres pondéraux

Les mêmes calculs ont été établis pour les paramètres pondéraux des palourdes de la lagune de Bizerte, ce qui a permis par la suite de comparer nos valeurs à celles de la littérature (tabl. II14).

Notre étude biométrique s'est limitée, en raison de l'existence de données antérieures sur la palourde (*Ruditapes decussatus*) de la lagune de Bizerte et de son caractère secondaire dans le présent travail, à l'établissement des équations reliant la longueur au poids total frais et au poids total sec. Nos résultats sont consignés dans le tableau II14.

Tableau II14 : Equations liant les différents paramètres pondéraux chez les palourdes des trois sites : Menzel Jemil (J), Menzel Abderrahmen (A) et Faroua (F).

L : longueur ; Ptf : Poids total frais ; Pts : poids total sec ; r : coefficient de corrélation. . $\overline{X}$ et $\overline{Y}$ moyennes de x et de y ; Extr…x, Extr…y : valeurs extrêmes de x et de y ; s : écart type ; t : test de student ; (++) différence significative à 5% ; (-) différence non significative.

	station	Equation	R^2	$\overline{X}$	Extr…x	$\overline{Y}$	Extr…y	sdx	sdy	Test de Student
P tf=f(L)	J	$y=8E-5x^{3,2125}$	0,887	32,54	29-37	4,03	2,592-6,005	0,922	0,851	t=1,631 (-)
	A	$y=7E-5x^{3,189}$	0,759	32,49	28,56-39,85	4,369	2,089-7,253	1,365	1,536	t=236 (++)
	F	$y=69E-6x^{3,211}$	0,887	32,85	28,8-40,9	4,379	2,709-7,799	2,846	1,198	t=13,123(++)
P ts=f(L)	J	$y=5\ E-4x^{2,908}$	0,823	32,54	29-37	2,819	1,871-4,317	1,852	0,61	t=3,186 (++)
	A	$y=5^{E}-4x^{2,908}$	0,789	32,49	28,56-39,85	2,875	1,785-5,014	1,862	0,78	t=7,25 (++)
	F	$y=3^{E}-4x^{2,679}$	0,865	32,85	28,8-40,9	3,112	2,155-5,649	2,846	0,92	t=12,977 (++)

En comparant les coefficients de détermination (R^2) des droites de régression reliant les paramètres pondéraux à la longueur, ceux-ci sont relativement élevés et compris entre 0.759 et 0.865 pour toutes les palourdes collectées, ce qui prouve l'étroite relation reliant les deux variables. En comparant les valeurs de la pente à la valeur théorique 3 par le test de student *t*, l'allométrie est toujours majorante par rapport au poids total frais ou au poids total sec, exception faite de l'isométrie notée entre la croissance en longueur et le poids total frais chez les palourdes de la station J. Cela signifie que la croissance pondérale est plus importante que celle de la longueur chez les palourdes de Faroua et de Menzel Abderrahmen. L'augmentation du poids constaté pourrait résulter d'une gamétogenèse importante ou d'une accumulation de réserves due à l'abondance de la nourriture. Par contre, l'isométrie relevée pour les palourdes

de Menzel Jemil plaide en faveur d'une perte de poids, consécutive à une émission de gamètes ou à une modification du métabolisme (anabolisme) provoquée par une perturbation des facteurs abiotiques.

D'autre part, à partir du tableau II 15, la comparaison de l'évolution du poids total frais et du poids total sec en fonction de la longueur par le test de parallélisme (T) ne montre aucune différence significative entre les animaux prélevés des trois sites, ce qui témoigne d'une homogénéité de l'évolution des paramètres pondéraux et par suite laisse supposer que les palourdes de lagune de Bizerte constitueraient une seule population.

Tableau II 15 : Tests T de parallélisme des droites reliant les différents paramètres linéaires. A : Menzel abderrahmen, J : Menzel Jemil et F : Faroua, NS Non significatif.

	A - J	**A - F**	**J - F**
Poids total frais – Longueur	0.0047 NS	0.00108 NS	0.0011 NS
Poids total sec – Longueur	0.0022 NS	0.0028 NS	0.012 NS

L'étude de la relation entre la longueur et le poids total frais nous a permis d'une part de comparer nos résultats à ceux enregistrés chez cette espèce de bivalve par d'autres auteurs et d'autre part de les confronter à ceux rencontrés en Méditerranée et en Atlantique (tabl. II16).

Tableau II16: Valeurs théoriques du poids total frais (Ptf) calculées à partir de quelques valeurs de la longueur (L) chez la palourde.

Références	**Stations**	**Equations Ptf = f(L)**	**Valeurs théoriques du poids**		
		Taille-type (mm)	20	30	40
Gérard, 1978	Etang de Thau Arcachon Douron Kerity	$Ptf = 0.147L^{3.118}$ – $Ptf = 0.260L^{0.571}$ $Ptf = 0.189L^{3.119}$	1.276 – 1.54 –	4.51 – 4.38 –	11.08 – 9.18 –
Gras et Gras, 1981	Bassin de Marenne-Oléron	$Ptf = 0.3L^{2.596}$	1.81	5.19	10.96
Trigui- El Ménif, 1995	Menzel Jemil	$Ptf = 1.192E\text{-}4L^{3.1081}$	1.32	4.65	11.37
Dellali, *(Présent Travail)*	Menzel Jemil Menzel Abderrahmen Faroua	$Ptf=8E\text{-}5L^{3,1025}$ $Ptf=7E\text{-}5L^{3,239}$ $Ptf=69E\text{-}6L^{3,211}$	1.21 1.13 1.20	4.45 4.11 4.43	11.21 10.28 11.15

Concernant la relation longueur – poids total frais, les résultats de cette étude sont pratiquement identiques à ceux relevés antérieurement chez les palourdes de Menzel Jemil (Trigui-El Menif, 1995) et ils se rapprochent de ceux obtenus par Gérard (1978) et Gras et Gras (1981). Ceci prouve que la *Ruditapes decussatus* présente dans la lagune de Bizerte présente une évolution pondérale similaire aux autres populations méditerranéennes. La comparaison des données de la présente étude à celles de Trigui-El Menif (1995) montre une constance relative de ce paramètre dans le temps qui pourrait résulter d'une stabilité temporelle des cycles de reproduction et des conditions trophiques au niveau du plan d'eau.

2) Etude biométrique chez la moule

Tableau II 17 : Equations liant les différents paramètres linéaires chez les moules des deux sites de collecte : Menzel Jemil (J) et Baie des carrières (C).

H : hauteur ; L : longueur ; E : épaisseur ; r : coefficient de corrélation. $\overline{X}$ et $\overline{Y}$ moyennes de x et de y ; Extr…x, Extr…y : valeurs extrêmes de x et de y ; s : écart type ; t : test de student ; (++) différence significative à 5% ; (-) différence non significative

	station	Equation	R^2	$\overline{X}$	Extr…x	$\overline{Y}$	Extr…y	sdx	sdy	Test de Student
H=f(L)	J	$y = 0,9153x^{1,1998}$	0,92	47.28	20.13-62.65	26,76	11.25-42.65	4.596	12.36	t=6,523 (++)
	C	$y = 0,96x^{1,1718}$	0,941	38.56	21,26 –51,77	23,95	19,25-51,1	3.256	10.253	T= 4.257 (++)
E=f(L)	J	$y = 0,9537x^{1,3253}$	0,899	16.98	20.13-62.65	24.29	6.61 – 21.36	5.06	11.65	t=9.652 (++)
	C	$y = 0,9211x^{1,3277}$	0.953	15.27	21,26 –51,77	23.05	5.48 – 20.16	4.21	13,35	t=8,425 (++)
E=f(H)	J	$y=0,429x^{1,.206}$	0,929	23.243	11.25-42.65	16.29	6.61 – 21.36	8.263	9.255	t=11.25 (++)
	C	$y=0.4112x^{1,158}$	0,947	21,63	19,25-51,1	14.26	5.48 – 20.16	3,96	10,81	t=13.84 (++)
ptf=f(L)	J	$y = 0.0002L^{2.819}$	0,891	23,49	20.13-62.65	12,41	2,01- 20.4	11,36	10,71	t=7.156 (++)
	C	$y =0.0001x^{2.995}$	0,97	25.36	21,26 -51,77	13.97	1.06- 19.56	12.63	9.21	t=1,501 (-)

Concernant la relation longueur-hauteur, le coefficient de corrélation (régression) R^2 a été de 0.94 pour les moules de la station C et de 0.92 pour celles de la station J, ce qui prouve l'étroite relation existant entre ces deux paramètres linéaires chez cette espèce. Les pentes respectivement égales à (b= 1.1998, t= 6.523) et (b= 1.1718, t= 4.257) indiquent une allométrie majorante pour les moules des deux stations, leur croissance en longueur étant plus rapide que leur croissance en hauteur (Tabl. II 17).

La relation entre l'épaisseur et la longueur suit le même sens d'évolution que celle reliant la longueur à la hauteur pour les animaux de C (b= 1.3277, t= 8.425) et J (b= 1.3253, t= 9.625). On peut donc conclure que les moules des deux sites présentent une allométrie majorante en faveur de la longueur.

Le coefficient de corrélation R^2 reliant l'épaisseur à la hauteur est relativement faible par rapport à ceux reliant les deux autres paramètres linéaires puisqu'il est égal à 0.411 pour les moules de C et 0.429 pour celles de J. On peut donc en déduire une certaine indépendance des deux paramètres, mais l'allométrie est majorante pour les deux populations qui ont tendance à croître en épaisseur plus qu'en hauteur (b= 1.206 et t= 11.25 pour la station J ; b = 1.138 et t= 13.84 pour la station C) .

Tableau II12: Comparaison bibliographique des équations liant les paramètres linéaires (L, H, E) chez la moule.

Références	Stations	Equations H =f(L)	Equations E = f(L)
Hrs Brenko, 1968	Est Adriatique	H = L x 0.553	E = L x 0.369
Ricci, 1957	Golf de Tunis	H = L x 0.529	E = L x 0.379
Dalla via *et al*., 1987	Nord Adriatique	L/H = 1.72 ± 0.14	L/E = 2.65 ± 0.27
Aloui- Bejaoui , 1998a	Menzel Jemil (st1)	$L= 1.4699H^{1.064}$	$L= 3.4566E^{0.915}$
	Menzel Jemil (st2)	$L= 1.5965H^{1.038}$	$L= 3.5282E^{0.909}$
	Baie des carrières (st3)	$L= 1.5325H^{1.03}$	$L= 3.8004E^{0.864}$
Dellali (*Présent travail*)	Menzel Jemil	$H = 0,9153L^{1,1998}$	$E = 0,9537L^{1,3253}$
	Baie des carrières	$H = 0,96L^{1,1718}$	$E = 0,9211L^{1,3277}$

Il ressort de la comparaison de la croissance des trois paramètres linéaires que les moules de la lagune de Bizerte ont tendance à croître en longueur puis en épaisseur et enfin en hauteur. Les résultats de cette étude biométrique corroborent ceux de Ricci (1957) réalisés sur des spécimens du golfe de Tunis et ceux de Aloui- Bejaoui (1998 a) sur les moules de la lagune de Bizerte, cette dernière ayant signalé une variation de la vitesse de croissance en fonction du temps et une harmonie de croissance en longueur et en épaisseur aux périodes de fin d'activité sexuelle et de recrutement des jeunes.

Plusieurs auteurs (Seed, 1968 et 1973 ; Brown *et al.*, 1976 ; Aloui-Bejaoui, 1998 a) ont attribué les variations spatio-temporelles de la croissance coquillière à la densité des individus. Ainsi, dans les lieux où la croissance est rapide et la densité élevée (cas de la station J), une forte compression physique engendre un allongement de la coquille et

inversement, une faible compression facilitant une croissance en hauteur de la coquille lui conférant une forme plutôt triangulaire.

La comparaison de l'évolution des paramètres linéaires par le test de Student chez les moules des deux stations est résumée dans le tableau II 18.

Tableau II 18 : Tests T de parallélisme des droites reliant les différents paramètres linéaires chez *Mytilus galloprovincialis*. A : Menzel abderrahmen, J : Menzel Jemil et F : Faroua, NS Non significatif.

	Hauteur – Longueur	Epaisseur – Longueur	Epaisseur - Hauteur	Poids total - longueur
J - C	0.178 NS	0.102 NS	0.076 NS	0.001 NS

L'absence de différence dans l'évolution des paramètres linéaires et pondéraux entre les moules provenant des stations de Menzel Jemil et de la baie des carrières corrobore les résultats de Aloui Bejaoui (1998 a et b) qui prouvent que les spécimens provenant des deux sites ont la même origine génétique et constituent une même population dont les larves sont transportées par les courants avant leur fixation sur les cordes des deux fermes mytilicoles.

Les valeurs des épaisseurs et des hauteurs théoriques ont pu être calculées à partir des équations de croissance ; les résultats sont consignés dans le tableau II 19.

Tableau II19: Valeurs théoriques des hauteurs (H) et des épaisseurs (E) calculées à partir de quelques valeurs de la longueur (L) chez la moule (*Mytilus galloprovincialis*).

Références	Stations	Hauteur (mm)			Epaisseur (mm)		
Longueurs théoriques en (mm)		**20**	**30**	**40**	**20**	**30**	**40**
Hrs Brenko, (1968)	Est Adriatique	36.1	54.2	72.3	54.2	81.8	108.4
Ricci, (1957)	Golf de Tunis	37.8	56.7	75.6	52.7	79.1	105.5
Dalla via *et al.*, (1987)	Nord Adriatique	34.4	51.6	68.8	53	79.5	106
Aloui- Bejaoui a, (1998)	Menzel Jemil (st. 1)	35.6	54.8	74.4	53.5	77.6	101.0
	Menzel Jemil (st. 2)	35.7	54.5	73.4	53.7	77.6	100.8
	Baie des carrières (st. 3)	33.5	50.9	68.4	50.5	71.7	92
Dellali (*Présent Travail)*	Menzel Jemil	33.31	54.18	76.51	50.54	86.50	126.65
	Baie des carrières	32.12	51.66	72.37	49.11	84.13	123.27

La comparaison de nos données relatives à la croissance pondérale en fonction de la longueur avec celles rencontrées dans la littérature ont permis d'établir le tableau II20.

Tableau II 20: Valeurs théoriques du poids total frais (Ptf) calculées à partir de quelques valeurs de la longueur (L) chez la palourde.

Références	Stations	Equations	Longueur (mm)		
		Longueurs théoriques en (mm)	**20**	**30**	**40**
Krichene, 1981	Cap d'Adge	$Ptf = 0.0005L^{2.585}$	1.15	3.29	6.92
	Bouzigues	$Ptf = 0.00033L^{2.719}$	1.13	3.42	7.49
Hamon, 1983	Etang de thau	$Ptf = 0.00019L^{2.804}$	0.84	2.63	5.90
Aloui Bejaoui, 1998	Menzel Jemil (st1)	$Ptf = 0.00017L^{2.824}$	0.82	2.58	5.83
	Menzel Jemil (st2)	$Ptf = 0.00015L^{2.856}$	0.80	2.55	5.80
	Baie des carrières (st3)	$Ptf = 0.00023L^{2.776}$	0.94	2.89	6.44
Dellali (*Présent travail*)	Menzel Jemil	$Ptf = 0.0002L^{2.819}$	0.93	2.92	6.57
	Baie des carrières	$Ptf = 0.0001L^{2.995}$	0.79	2.65	6.28

V- CONCLUSION

Le suivi des données climatologiques et physico-chimiques pour la lagune de Bizerte durant la période (mai 1998 – mai 1999) a montré:

- *Une évolution saisonnière normale des températures de l'air et de l'eau avec des minima hivernaux et des maxima estivaux. L'évapotranspiration a évolué d'une manière synchrone avec la température mais l'humidité relative dans le sens inverse.*
- *Une pluviométrie très fluctuante aussi bien à l'échelle saisonnière qu'inter-annuelle avec cependant une relative stabilité au plan spatial.*
- *Des vents fréquents de direction ouest nord- ouest, la fluctuation de leur vitesse étant modérée au printemps et en été et au contraire accentué en hiver et en automne.*
- *Des salinités dans la lagune très variables dans le temps et l'espace, leur fluctuation temporelle étant maximale à la station T. D'une manière générale, les salinités les plus basses ont été observées à la fin de l'hiver et au printemps ; celles-ci ont augmenté progressivement par la suite surtout en fonction des précipitations. Le maximum halin a été observé en automne dans le secteur ouest (T et F).*
- *Des teneurs en oxygène dissous maximales en hiver, même au niveau des stations les plus éloignées de la mer (B et T), parallèlement à une diminution des températures et des salinités et d'un brassage accru de l'ensemble des couches d'eau par les vents, surtout au niveau des zones peu profondes. Durant la période estivale, il a été noté une diminution des taux en*

oxygène dissous au niveau de toutes les stations. La valeur minimale enregistrée au niveau de la station J pourrait être le signe d'une crise dystrophique localisée et passagère.

- *Des valeurs de pH relativement stables, généralement alcalines, observées durant toute la période de prospection. Celles-ci ont été révélatrices de l'influence prépondérante de la mer ainsi que de l'absence de rejets acides en grande quantité au niveau du plan d'eau.*
- *D'après l'étude biométrique des deux espèces de bivalves considérées (Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis), il est apparu une étroite liaison entre les différents paramètres linéaires (hauteur, longueur et épaisseur). La croissance pondérale a été proportionnelle à celle de la longueur. Par ailleurs, la comparaison intersite des paramètres linéaires et pondéraux pour une même espèce a généralement montré l'absence de variation biométrique intraspécifique, ce qui tend à prouver que la lagune de Bizerte n'héberge qu'une seule population de palourdes et qu'une seule population de moules, les courants concourant au brassage génétique en dispersant leurs larves.*

I) INTERET DU SUIVI BACTERIEN DANS LA LAGUNE DE BIZERTE

Selon Crouzet (1972), chaque lagune «*lieu d'échange permanent de conflit entre les eaux marines et les eaux continentales, est un cas particulier qui doit être étudié* ». Nous avons vu que la lagune de Bizerte (Chap.2) abrite plusieurs parcs mytilicoles d'une importance économique certaine et qu'elle présente une instabilité naturelle causée par sa position géographique et plusieurs composantes exogènes. Ce plan d'eau de dimensions relativement restreintes est en plus confronté à un réel problème d'anthropisation car il constitue un milieu récepteur des eaux domestiques déversées par les villes limitrophes d'une part et des résidus provenant des terres agricoles bordières d'autre part (engrais, pesticides). De plus, les eaux de ruissellement contribuent à enrichir ce plan d'eau en toutes sortes de micro-organismes susceptibles de s'accumuler dans les fruits de mer. Ainsi, il a été signalé une épidémie de thypho-parathyphoïde faisant suite à l'ingestion de moules crues (Paponnet et Brisou, 1937 *in* Gimazane et Medhioub, 1979 a). Par ailleurs, Zaouali (1993) a relevé dans la lagune des problèmes d'eutrophisation et de mortalités massives de bivalves. Certaines *Vibrionaceae* sont à l'origine de pathologies chez l'homme et les animaux aquatiques ; citons les gastro-entérites provoquées par les genres *Vibrio* et *Aeromonas* ou la maladie de l'anneau brun causée chez la palourde par *Vibrio tapetis* (Maes et Paillard, 1992).

La présente étude constitue un suivi mensuel durant la période de mai 1998 à mai 1999 non seulement de l'état de pollution microbienne de la lagune de Bizerte mais aussi des interactions existant entre les différents compartiments du plan d'eau (eau, sédiments, moules et palourdes), avec trois objectifs essentiels :

1. Connaître l'état de santé des bivalves en recherchant la présence de germes pathogènes pour ces animaux, essentiellement les *Vibrionaceae* ;
2. Evaluer l'état de salubrité des eaux lagunaires, de la plage de Rimel et celui des bivalves récoltés pour la consommation humaine en comparant les taux bactériens relevés aux normes nationales et internationales ;
3. Rechercher d'éventuelles interactions entre les groupes bactériens considérés et les principaux facteurs du milieu (température, oxygène dissous, salinité et pH de l'eau) par le calcul des indices de corrélations liant les concentrations bactériennes et les paramètres physico-chimiques.

Dans ce but, les facteurs physico-chimiques ont été mesurés *in situ*, la flore mésophile totale, les sulfato-réducteurs, la flore fécale (coliformes et entérocoques) et les *Vibrionaceae* ont été recherchés et/ou dénombrés dans les compartiments aquatique, sédimentaire et biologique (palourde et moule) selon les directives de l'OMS[1] (1995 a et b).

II) MICROFLORE HETEROTROPHE MESOPHILE TOTALE

Ce terme regroupe *tous les groupes bactériens capables de se développer à des températures comprises entre 15 et 37°C*. Si ce vaste compartiment microbien a été considéré dans la présente étude, c'est que les températures relevées dans la lagune de Bizerte sont généralement modérées et favorables à son développement.

1) Résultats

Dans le tableau III1, sont consignées les concentration bactériennes en 10^2 UFC[2]/ml dans les différents compartiments de la lagune de Bizerte durant la période allant de mai 1998 à mai 1999.

L'étude de la variation mensuelle de la flore mésophile totale, tous compartiments confondus, montre que les concentrations les plus élevées ont été enregistrées au niveau des stations lagunaires (A, J, C, et B) durant la période chaude de juillet à septembre. (Fig. III1a et b). A la station marine de Rimel, les concentrations de bactéries mésophiles ont été, quel que soit le compartiment, les plus faibles (de 2.4 10^4/ml dans l'eau en mai 1998 à 2.4 10^5/ml dans les sédiments en septembre) et les moins fluctuantes mensuellement, avec cependant une augmentation de leurs taux durant la saison estivale. Quant à la station continentale de l'oued Tindja, elle s'est caractérisée par des taux de mésophiles bien plus élevés qu'ailleurs (tabl.III1, Fig.III1a et b).

En suivant la répartition de cette flore bactérienne dans les trois compartiments considérés, le compartiment sédimentaire a été le plus riche en flore mésophile avec des concentrations relativement élevées à la station (A) où les maxima mensuels ont été enregistrés pendant les mois de septembre (3.4 10^5 dans l'eau et 8.7 10^5 UFC/ml dans le sédiment). Les sédiments de la station (T) ont été les plus chargés en flore mésophile

[1] OMS : Organisation Mondiale de la Santé
[2] UFC : Unité Formant Colonie

pendant les mois de juin (1.4 10^5 UFC/ml) et d'août (4.3 10^5 UFC/ml). En septembre, par contre, ce sont les sédiments de la station (J) qui ont présenté les plus fortes charges en mésophiles (9.87 10^5 UFC/1ml).

Tableau III1: Evolution annuelle de la flore mésophile totale dans les divers compartiments prospectés dans la lagune de Bizerte (mai 98- mai 99) : eau, sédiments et bivalves (10^2 UFC/ ml).
e : eau, e': eau prélevée au niveau des tables de moules, s : sédiment, p : palourdes et m : moules. A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières ; F : Faroua ; J : Menzel Jemil ; T : Oued Tindja ; R : Rimel ; **Gras** : Valeur spatio-temporelle maximale par compartiment, *Italique* : valeur spatio-temporelle minimale par compartiment.

Station	Compart.	mai	juin	juillet	août	Sept.	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	mars	Avril	Mai
F	e	304	1280	1222	1968	1999	1968	1706	1587	968	1023	296	1256	1452
	s	1250	2456	3256	6859	8692	4563	3654	2896	1862	1263	987	2563	2360
	p	1198	2340	2875	8452	9325	2875	2112	1945	1642	1416	*623*	987	1156
R	e	241	431	802	2300	2423	1221	1155	1263	1469	1130	1258	1845	1198
	s	*425*	856	1108	9356	6235	1987	1644	1546	1856	1125	1869	1598	1845
B	e	306	*207*	219	1504	1542	1532	1245	1369	1126	1654	1169	1254	1423
	s	1420	1530	2300	2652	2845	2563	1869	1785	1263	1563	1235	1869	1569
T	e	684	690	980	1640	2308	**6542**	4988	5699	6253	2361	2936	698	796
	s	1211	1390	2635	4320	4296	3250	2568	2431	3652	2351	2536	2563	3524
C	e	1151	239	1270	1430	1652	1563	1423	1236	1362	1423	968	1456	1536
	s	2536	4582	6584	7854	8754	2530	1890	2436	1236	1845	1632	2563	2869
	m	987	1340	3082	6470	7695	1970	1690	2563	1365	1256	*684*	758	1120
A	e	1281	1530	1440	3200	3468	3456	1423	2130	2430	1630	1360	1253	1632
	s	2598	3210	6854	7770	8659	6210	5169	4563	3628	2639	1290	1563	2486
	p	1418	4650	3220	7584	9854	5362	4236	2638	1989	1632	959	1253	2634
J	e	380	724	1380	2160	2864	2289	1789	1523	1254	1369	1210	1240	987
	e'	310	1395	708	1730	2100	1856	1624	1254	1456	1436	896	769	635
	s	859	2986	4587	8695	**9874**	6524	5896	4895	3256	2466	1897	1869	1230
	p	748	985	2896	7948	**9942**	3456	3254	2863	3624	2536	1475	1563	1465
	m	798	978	3562	6547	8452	1642	1354	1236	1456	1256	989	1123	839

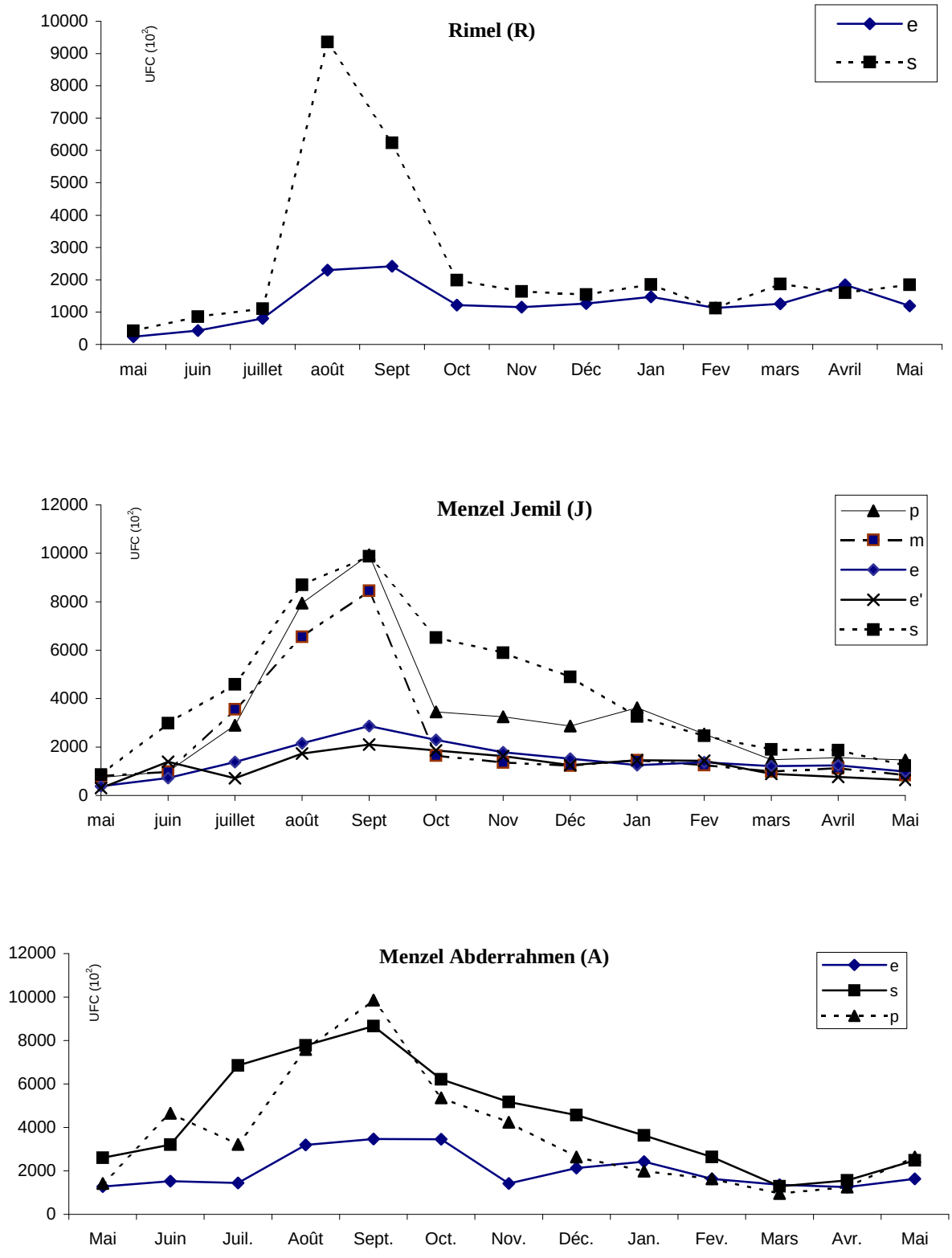
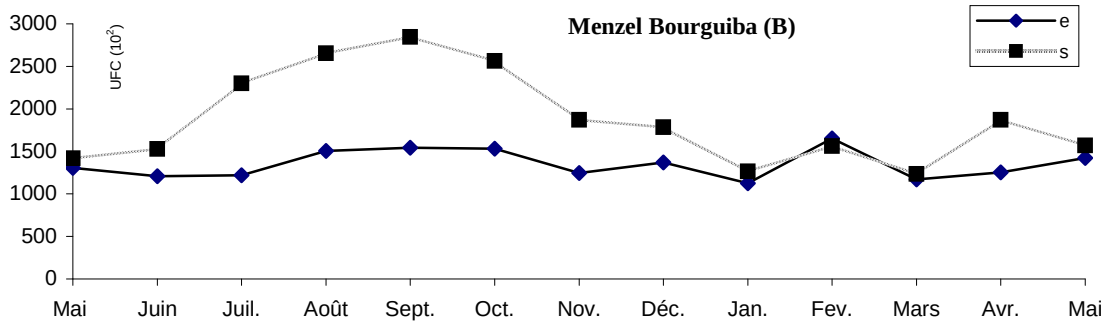
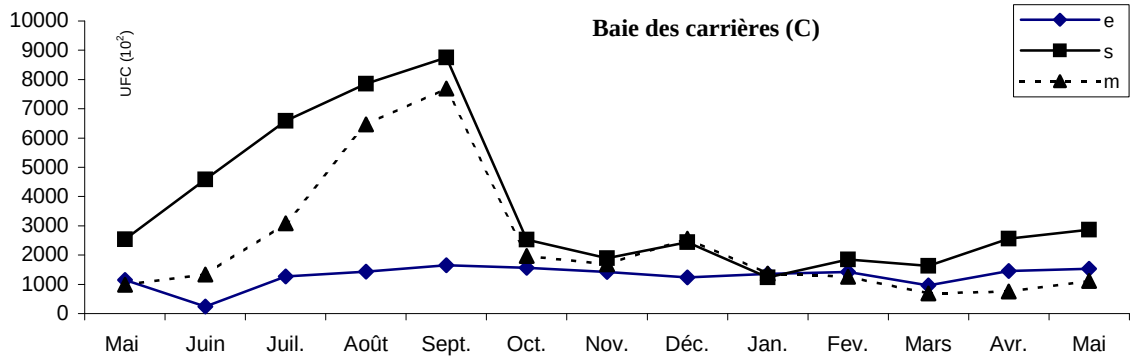
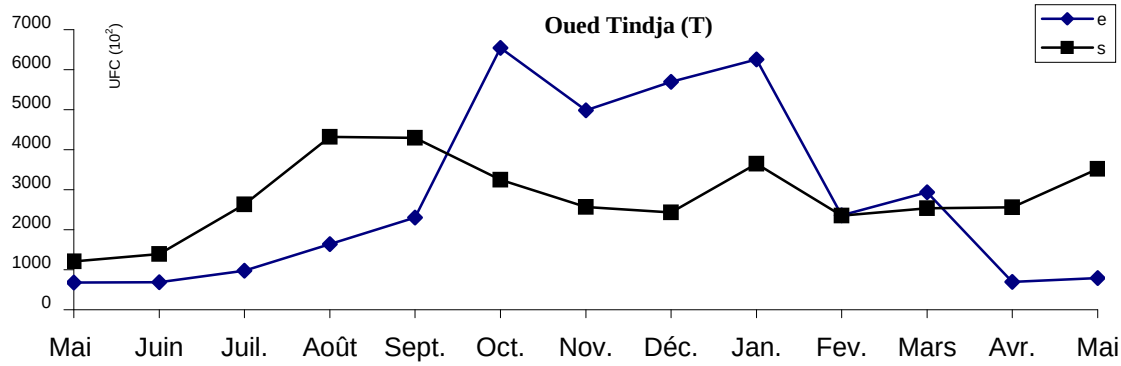


Figure II1a : Evolution spatio-temporelle de la flore mésophile totale (10^2 UFC/ml) dans les différents compartiments des stations R, J et A (mai 1998 – mai 1999).

e : eau ; é : eau d'élevage des moules ; s : sédiment ; p : palourde et m : moules.







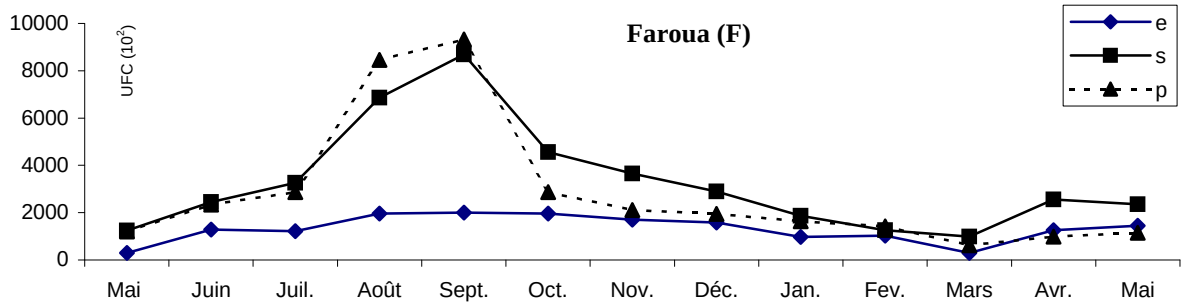


Figure III 1b : Evolution spatio-temporelle de la flore mésophile totale (10^2 UFC/ml) dans les différents compartiments des stations B, C, T et F (mai 1998 – mai 1999).

e : eau ; s : sédiment ; p : palourde et m : moules.

Les sédiments ont été nettement plus chargés en flore mésophile que les eaux durant la période de juin à septembre. A partir du mois de septembre 1998 et durant les saisons pluvieuses (automne-hiver), les concentrations en mésophiles ont augmenté au niveau du compartiment aquatique mais sans dépasser les taux sédimentaires. Le calcul du facteur de concentration (F.C[2]) a permis de confirmer que les germes mésophiles ont été plus concentrés dans les sédiments avec un F.C moyen de 2.42 et un F.C maximal de 6.48 (en juillet à la station J). Par contre, le facteur de concentration a montré un minimum en hiver (0.43 en décembre à la station de l'oued Tindja), en période d'importants apports hydriques. Les palourdes ont constitué le second site d'élection de la flore hétérotrophe mésophile (F.C moyen de 1.97). Comme dans l'eau, le facteur de concentration y a augmenté proportionnellement à la température pour atteindre un maximum (4.76) en juillet à la station de Menzel Abderrahmen. En comparant les F.C pour les sédiments et les palourdes, il ressort que ce rapport a été généralement plus élevé au niveau du premier compartiment.

En ce qui concerne les moules, le facteur de concentration (F.C) par rapport à l'eau d'élevage y a été en moyenne égal à 1.31. Notons que les moules de Menzel Jemil ont concentré plus de bactéries mésophiles que celles de la station de la Baie des carrières et que le facteur de concentration y a été maximal pendant la période chaude. En comparant les UFC de mésophiles chez les palourdes et les moules, les premières en ont accumulé bien davantage que les secondes (différence statistiquement significative : $t = 1.14$; $ddl = 63$).

Il ressort de la comparaison inter-site des taux en flore mésophile totale, tous compartiments confondus, que la station de l'oued Tindja est la plus chargée. Vient ensuite la station de Menzel Abderrahmen, celles de Rimel et de Menzel Bourguiba apparaissant au contraire les plus pauvres en bactéries mésophiles.

Au niveau du compartiment aqueux, la station de Rimel, franchement marine, a été la plus pauvre en flore mésophile, les valeurs y étant comprises entre 241. 10^2 UFC/ ml au mois de mai et 2423. 10^2 UFC/ ml en septembre (Fig. III1a et III 2a). En revanche, les mésophiles ont été particulièrement abondantes dans l'eau de la station de Menzel Abderrahmen pendant les cinq premiers mois de prospection avec des concentrations oscillant entre 1281.10^2 UFC/ml (mai 98) et 3486.10^2

[2] F.C : Facteur de concentration

UFC/ml (septembre 98). Les eaux de l'oued Tindja ont été plus chargées en mésophiles que le sédiment durant la période allant d'octobre à mars (F.C variant de 0.43 en décembre à 0.99 en février). Il est intéressant de noter que les concentrations hivernales en mésophiles y ont dépassé celles enregistrées en été.

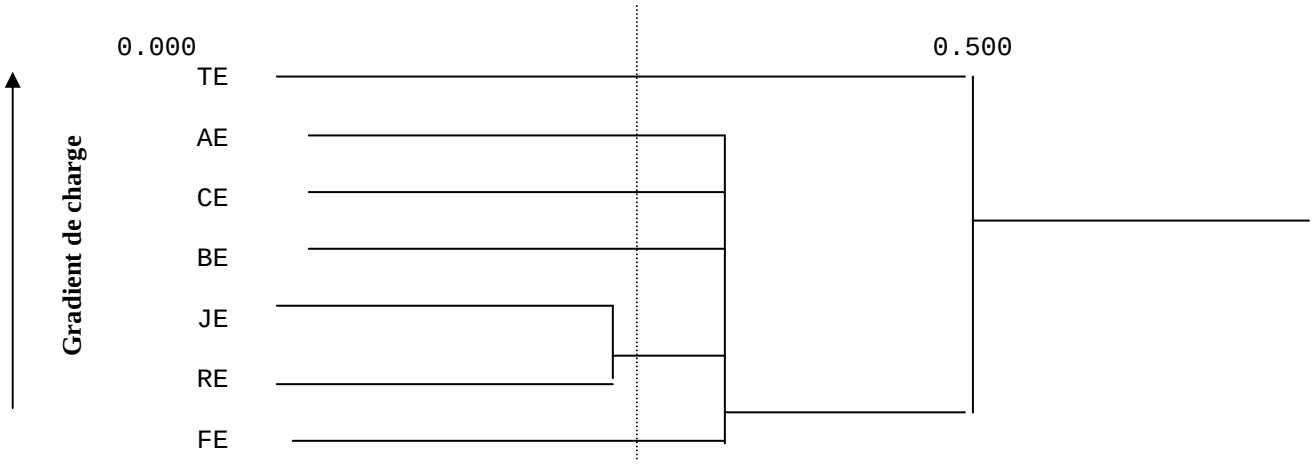


Fig.III2a: Regroupement des prélèvements d'eau en fonction de leurs concentrations en microflore hétérotrophe en fonction de la distance Euclidienne (LogX +1) (Logiciel SYSTAT 5.01)

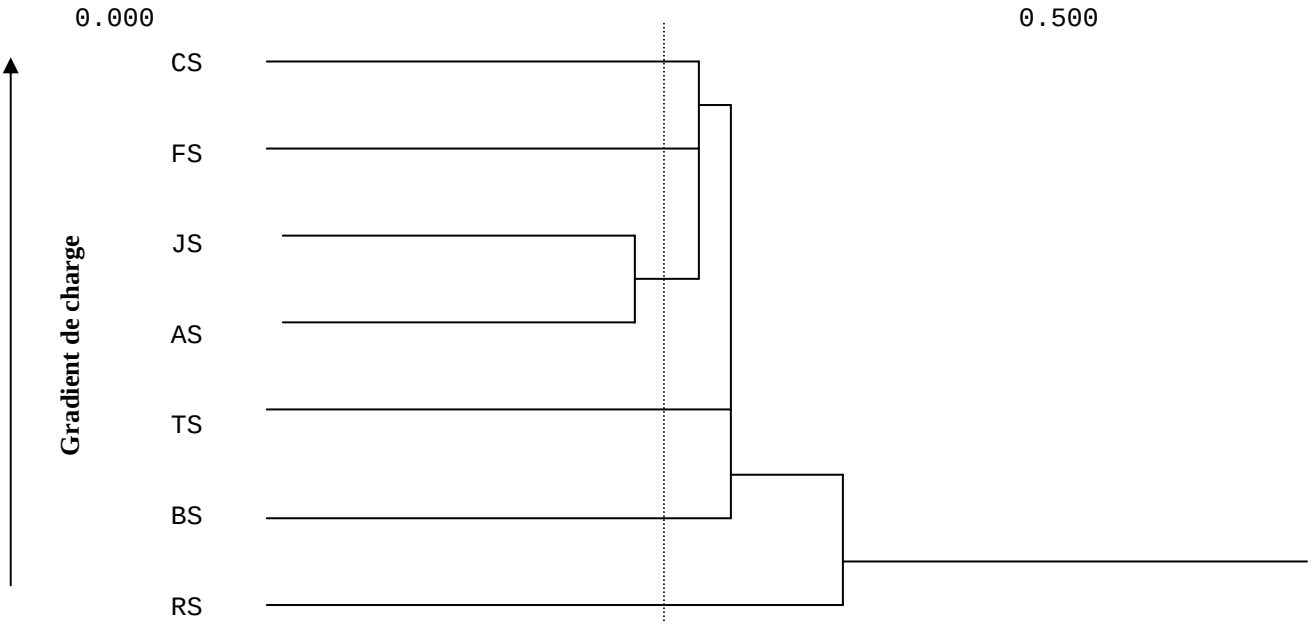


Fig.III2b: Regroupement des prélèvements de sédiment en fonction de leurs concentrations en microflore hétérotrophe en fonction de la distance Euclidienne (LogX +1) (Logiciel SYSTAT 5.01)

E : eau ; S : sédiment, A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : Oued Tindja. La ligne pointillée verticale indique le niveau de similitude entre les différents échantillons.

D'après les figures III2a et III2b, les regroupements des stations selon leurs charges moyennes annuelles en flore mésophile totale ont différé selon le compartiment considéré. Ainsi, la station A la plus riche en mésophiles au niveau du compartiment aqueux a occupé le troisième rang de concentrations bactériennes pour les sédiments ; par contre, la station F la plus pauvre en mésophiles a été l'une des plus chargées en ces micro-organismes (deuxième rang). A noter que les concentrations sédimentaires en mésophiles ont été les plus faibles au niveau de la station franchement marine de Rimel.

2) Discussion

Les fortes concentrations en mésophiles enregistrées dans le compartiment sédimentaire de la lagune de Bizerte révèlent que celui-ci est favorable à leur explosion démographique. En effet, le développement des bactéries autochtones et la survie des allochtones dépendent non seulement de la disponibilité de la matière organique en décomposition mais aussi des phénomènes de sédimentation et d'adsorption aux particules fines du sédiment, ces deux processus fondamentaux étant d'autant plus rapides que l'intensité de l'hydrodynamisme est faible, comme c'est le cas au niveau de la majorité des stations lagunaires prospectées.

Les bivalves, qui sont des microphages filtrant de 50 à 100 litres d'eau par jour (Orozco Borbon, 1986), sont capables d'accumuler davantage de mésophiles que l'eau. Seul le mode de vie des bivalves explique les taux d'accumulation observés, différents entre les palourdes et les moules. Si les premières, par leur comportement fouisseur, sont en contact permanent avec les sédiments riches en mésophiles, les secondes constituent un milieu peu favorable au développement de ces bactéries en vivant dans la colonne d'eau, souvent plus froide. C'est surtout l'importante augmentation de température observée dans les eaux en septembre (Chap.2) qui pourrait expliquer la distribution atypique des profils de concentrations de mésophiles dans les différents compartiments étudiés. De fait, l'accroissement des taux bactériens relevé chez les palourdes (Fig.III1a et b) durant ce mois coïncide avec une élévation de température et surtout une diminution du taux d'oxygène, à l'origine d'une augmentation de l'activité métabolique des bivalves pouvant engendrer une altération générale de leur état de santé.

Il a été effectué pour les palourdes une classification hiérarchique ascendante en fonction de la distance euclidienne séparant leurs concentrations bactériennes moyennes annuelles (Fig. III 2). D'après celles-ci, les moyennes stationnelles des charges

bactériennes dans les palourdes, tous prélèvements mensuels confondus, peuvent être séparées en deux groupes:

(1) celui des palourdes de Menzel Abderrahmen, les plus chargées en bactéries mésophiles,

(2) celui des palourdes les plus faiblement chargées en mésophiles, associant les animaux de Faroua et de Menzel Jemil.

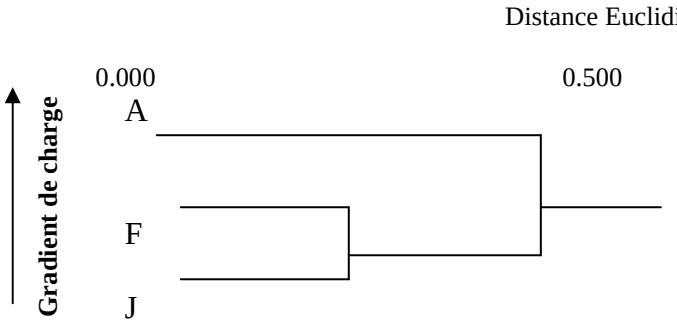


Figure III2: Regroupement des stations en fonction de leurs concentrations moyennes annuelles en microflore hétérotrophe en fonction de la distance Euclidienne (Logiciel SYSTAT).

A: Palourdes de Menzel Abderrahmen; F : Palourdes de Faroua ; J : Palourdes de Menzel Jemil

Le suivi inter-site des concentrations maximales en flore mésophile amène à conclure que cette microflore rassemble non seulement des bactéries autochtones, aptes à se développer dans le milieu marin mais aussi des germes allochtones, les sources essentielles d'apports en ces mésophiles dans la lagune de Bizerte étant:

- *L'oued Tindja* qui draine les eaux sortant du lac Ichkeul pendant la saison pluvieuse (automne-hiver). De fait, plusieurs oueds se déversant dans ce lac charrient des débris organiques auxquels peuvent être adsorbés des microorganismes. Pendant la période estivale, ces bactéries trouvent dans le « lac Ichkeul », du fait de sa richesse en matière organique et de ses températures élevées, un milieu favorable à leur développement. Cette hypothèse est considérablement étayée par les taux en mésophiles relevés dans les eaux de Tindja pendant la période pluvieuse, lesquels dépassent les valeurs enregistrées dans les sédiments.

- *Les eaux usées*, non traitées et rejetées à la station de Menzel Abderrahmen qui enrichissent le milieu en divers types de bactéries d'origine anthropique, entre autres des mésophiles.

III) LES SULFATO-REDUCTEURS :

Les sulfato-réducteurs sont des micro-organismes largement répandus dans l'environnement. Il s'agit de bactéries sporogènes, anaérobies modérées, immobiles et dépourvues de flagelle, à Gram positif et à capsule visible. Ces bactéries produisent plusieurs types de toxines qui peuvent être responsables chez l'homme et l'animal de septicémies, de gangrènes gazeuses et de toxi-infections alimentaires (Bryant *et al*., 2000). Ces micro-organismes sont présents dans le sol et les eaux usées ainsi que dans les matières fécales de l'homme et des animaux. A la différence des autres coliformes, leurs spores survivent dans l'eau pendant longtemps car elles sont plus résistantes à l'action des facteurs chimiques et physiques que les formes végétatives (Brown, 2000). Ces bactéries peuvent ainsi fournir des renseignements sur une pollution intermittente, ancienne ou éloignée.

1) Résultats

L'analyse du coefficient moyen de présence des sulfato-réducteurs dans les trois compartiments étudiés pendant la campagne de prospection (mai 98- mai 99) (tabl. III2) montre que ces bactéries se sont concentrées sélectivement dans les sédiments où *Clostridium perfringens* a été détecté dans 62.63 % des cas. D'après la figure III3a, ces germes ont été peu abondants dans les bivalves avec cependant un coefficient moyen de présence dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes (53.82 %) plus élevé que dans les moules (46.15 %), le compartiment aquatique étant le plus pauvre en sulfato-réducteurs (43.27%).

La figure III3a' représentant la répartition globale de *Clostridium perfringens*, tous prélèvements mensuels confondus, dans la chair et le liquide intravalvaire de *Ruditapes decussatus* prouve que les palourdes de la station A ont été les plus contaminées par ces germes bactériens, 61.15 % des échantillons ayant présenté des réactions positives de mise en évidence. Les animaux provenant de la station J ont été par contre les plus pauvres en sulfato- réducteurs avec un taux de contamination de 46.50 %.

Au niveau du compartiment sédimentaire (Fig. III3 a''), la répartition de *Clostridium perfringens*, tous prélèvements mensuels confondus, montre que les sédiments des stations A et T ont été les plus contaminés par les sulfato- réducteurs

avec des taux de présence respectifs de 100 % et 92.23 %. En ce qui concerne les stations lagunaires (B, C, F et J), les taux de contamination ont été relativement proches et ont varié entre 53.38 % (J) et 69.20 % (B). Aucun échantillon de la station marine de Rimel n'a par contre présenté de germes de *Clostridium perfringens*.

Tableau IV2 : Variation mensuelle des réactions positives sur milieu T.S.N (présence de *Clostridium perfringens*) dans les différents compartiments de la lagune de Bizerte (mai 98- mai 99). + : présence, - : absence, A : Menzel Abderrahmen; B: Menzel Bourguiba; C : Baie des Carrières; F : Faroua ; J: Menzel Jemil ; R: Rimel et T: Oued Tindja. e: eau, e': eau prélevée au niveau des tables de moules, s : sédiment, p : palourdes et m : moules, my : moyenne.

Station		Mai	Juin	Juil.	Aoû.	Sept	Oct.	Nov.	Déc	Janv	Fév.	Mar	Avr.	Mai	Fréquence
A	**e**	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	8/13
	s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13/13
	p	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	8/13
B	**e**	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	8/13
	s	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	9/13
C	**e**	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	3/13
	s	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	8/13
	m	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	6/13
F	**e**	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2/13
	s	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	8/13
	p	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	7/13
J	**e**	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	6/13
	s	+	-	+	+	+	+	+	-	-		+	-	-	7/13
	p	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	6/13
	e'	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	4/13
	m	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	7/13
R	**e**	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	3/13
	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
T	**e**	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	10/13
	s	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	12/13
Fréquence Moyenne (%)	**e**	50	62.50	62.50	75	37.5	12.5	37.50	50	12.5	25	50	37.5	50	43,27
	s	57.14	71.42	85.71	85.71	85.71	71.42	42.85	14.28	42.85	42.85	85.71	71.42	57.14	62,63
	p	66.66	33.33	66.66	66.66	66.66	100	33.33	0	66.6	66.6	66.6	33.3	33.3	53,82
	m	50	50	50	50	0	50	0	100	0	100	100	0	50	46,15
	my	55,95	54,31	66,22	69,34	47,47	58,48	28,42	41,07	30,49	58,61	75,58	35,56	47,61	51,47

Le suivi mensuel de ce groupe bactérien, tous compartiments confondus (Fig. III3a), montre qu'un « bloom » de *Clostridium perfringens* a été observé au mois de mars 1999, 75.58% des prélèvements renfermant alors les sulfato-réducteurs. Des taux de présence élevés ont été enregistrés en juillet (66.22%) et en août 1999 (69.34%). Les minima des coefficients de présence ont été observés pendant la période hivernale, avec un minimum de 28.42% décelé en novembre. Curieusement, une diminution du taux de contamination des échantillons par les sulfato-réducteurs a été constatée en septembre (47.47%), mois au cours duquel il s'est pourtant manifesté dans la lagune de Bizerte des phénomènes limités de confinement et d'eutrophisation dans la frange littorale.

Le suivi temporel des pourcentages de contamination par les germes de *Clostriduim perfringens* révèle qu'au niveau du compartiment aquatique, leurs taux de présence ont été relativement élevés durant la période allant de juin à août et que ceux-ci ont nettement diminué durant les mois de septembre et d'octobre (Fig. III3b). Pour le compartiment sédimentaire, la contamination par les sulfato-réducteurs a été quasi-totale aux mois d'août et de septembre ; leur taux de présence y a diminué progressivement ensuite jusqu'à la valeur minimale de 14.20% au mois de décembre. Une nette augmentation de ce taux de contamination a été relevée dans le sédiment en mars 99 (Fig. IIIc).

Chez la moule, 100% des échantillons ont présenté des tests positifs de présence de *Clostridium perfringens* aux mois de décembre, février et mars et au contraire 0% aux mois de septembre, novembre, janvier et avril. Quant aux palourdes, si aucune n'a renfermé le sulfato-réducteur en décembre, 100% d'entre elles ont été contaminées en octobre.

La comparaison intersite des taux de présence des sulfato-réducteurs montre que la station de l'oued Tindja a été la plus chargée en ces germes (*Clostridium perfringens* y étant détecté dans 80.76 % des échantillons analysés). La station de Menzel Abderrahmen a présenté elle aussi des valeurs relativement élevées (100% de réactions positives pour les échantillons sédimentaires et 61.53% pour les palourdes). Les valeurs les plus faibles ont été enregistrées à la station de référence (Rimel) qui n'a présenté des réactions d'identification positives qu'au niveau du compartiment aqueux pendant la saison estivale.

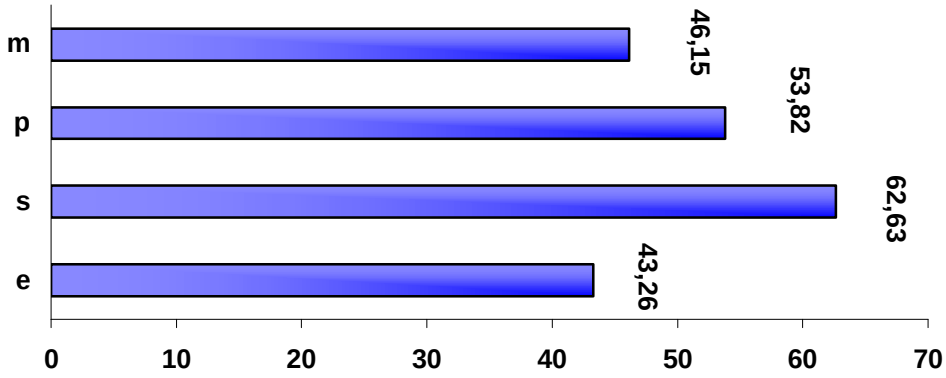


Figure III 3a: Taux de présence de *Clostridium perfringens*, tous prélèvements mensuels confondus, dans les différents compartiments de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999). s : sédiment ; e : eau ; m : moule et p : palourde.

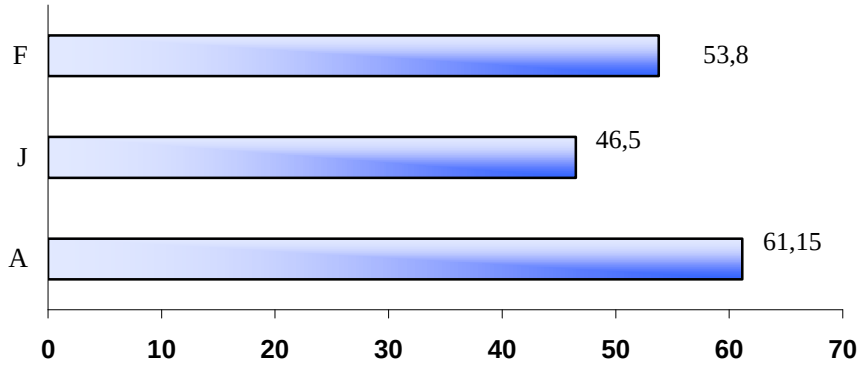


Figure III 3a': Variation spatiale du taux de présence de *Clostridium perfringens*, tous prélèvements mensuels confondus, dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes (mai 1998 – mai 1999).

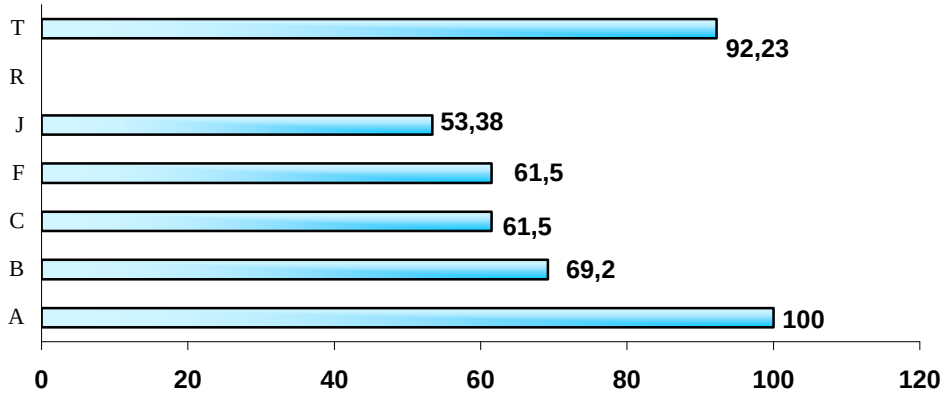


Figure III 3a'': Variation spatiale du taux de présence de *Clostridium perfringens*, tous prélèvements mensuels confondus, dans les sédiments de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).
A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : Oued Tindja

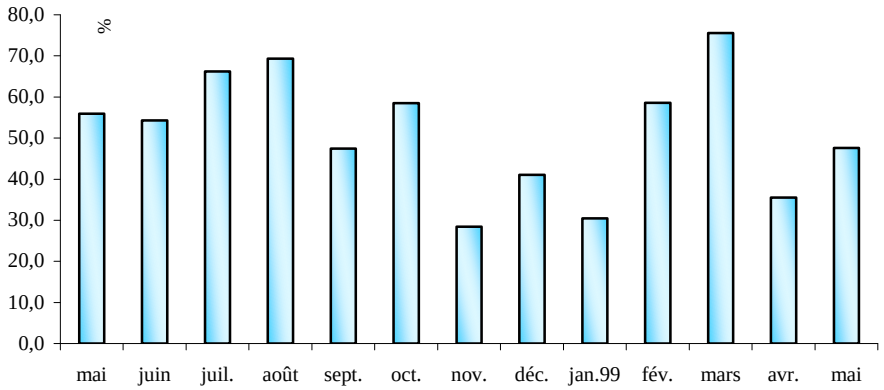


Figure III 3a: Evolution temporelle du taux de présence de *Clostridium perfringens*, tous compartiments confondus, dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

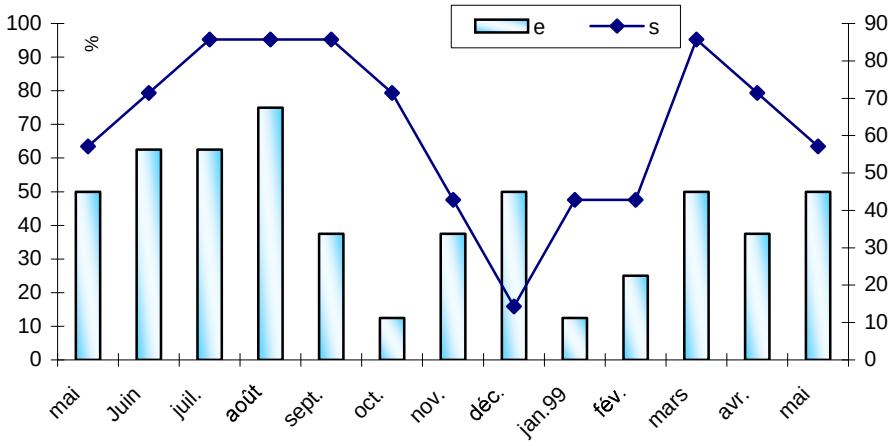


Figure III 3b : Evolution temporelle du coefficient de présence de *C. perfringens* dans les compartiments aqueux et sédimentaires toutes stations confondues, dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999) ; s : sédiment ; e : eau.

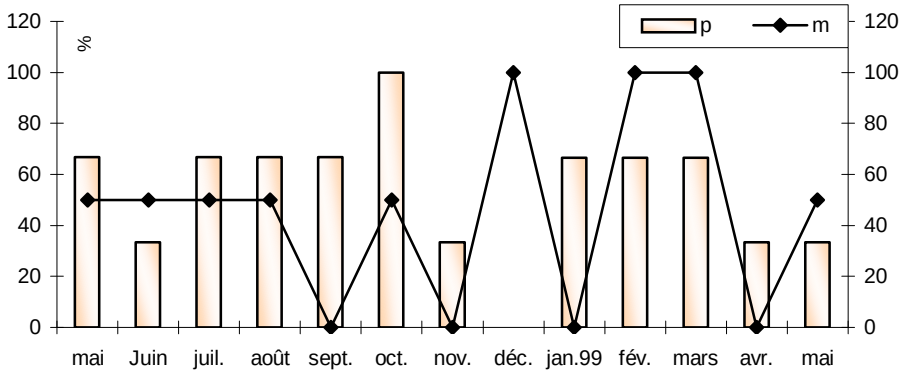


Figure III3 c: Evolution temporelle du pourcentage de présence de *C. perfringens* dans les bivalves, toutes stations confondues, dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999. p : palourdes ; m : moules

2) Discussion

Les sulfato-réducteurs dont l'espèce *Clostridium perfringens* sont des micro-organismes anaérobies provenant exclusivement d'animaux à sang chaud, notamment l'homme. Lorsque la température du milieu est comprise entre 20 et 60°C, leurs formes sporulées peuvent se développer et se transformer en formes végétatives, capables de se multiplier et de produire des toxines dans le milieu. Leur présence dans un milieu témoigne d'une contamination par des rejets domestiques, fusse -t- elle ancienne. Ainsi, Hill *et al*. (1996) ont montré que *Clostridium perfringens* peut survivre dans l'eau de mer sous forme sporulée plus d'une année après l'arrêt de rejets d'eaux usées. En raison de l'influence primordiale de la température sur le développement des sulfato-réducteurs, les tests de réactions de présence ont été majoritairement positifs en été dans tous les compartiments de la lagune de Bizerte. L'origine terrigène de ces germes explique l'augmentation de leurs coefficients de présence dans l'eau pour les mois de novembre et de décembre, la lagune étant enrichie durant cette période pluvieuse d'importants apports d'eaux continentales et par la même occasion de déchets domestiques. En été, seules la fréquentation de la plage de Rimel par les estivants et l'augmentation de la température des eaux peuvent être à l'origine de la présence accidentelle des sulfato-réducteurs dans les eaux de cette station de référence. Nos résultats sur la distribution temporelle de ces bactéries sont assez concordants avec ceux de Burkhardt *et al.* (1992). Selon ces auteurs, la concentration des sulfato-réducteurs dans la chair et le liquide intravalvaire de la palourde *Mercenaria mercenaria* est apparue maximale pendant la saison printanière à des températures comprises entre 11.5 à 21.5°C. Notons que Edwards *et al*. (1998) avaient déjà signalé une concentration préférentielle de *Clostridium perfringens* au sein du sédiment, les taux de présence de l'espèce décroissant à une certaine distance de la source de contamination (égout). Signalons enfin que ces germes drainés par les cours d'eau avec une microflore associée peuvent être des indicateurs de l'existence de certains agents pathogènes (*Giardia lamblia* ou *Cryptosporidium*, virus entérique humain) (Payment *et al*., 2000). En retenant ce critère, l'état de salubrité de la lagune de Bizerte est potentiellement alarmant au niveau des stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja où les sulfato-réducteurs ont été présents au moins 7/13 dans un compartiment donné.

IV) LES *VIBRIONACEAE*

Selon la définition actuelle (Leclerc et Mossel, 1989 ; Bertrand, 1990), une bactérie appartient à la famille des *Vibrionaceae* si elle est:

- un Bacille ou un Coccobacille Gram-, parfois incurvé (en virgule), mobile par ciliature polaire (avec un mouvement bien particulier) ou immobile.
- Aéro-anaérobie, de type fermentatif du glucose oxydase positive réduisant les nitrates en nitrites et habituellement catalase +.

Les *Vibrionaceae* sont des bactéries fréquentes dans les eaux (rivières, mers, lagunes…). Certaines pourtant halophiles sont capables de se multiplier dans des milieux hypotoniques. Plusieurs d'entre elles sont à l'origine de pathologies chez l'homme et les animaux aquatiques. Citons les gastro-entérites provoquées par les genres *Vibrio* et *Aeromonas* ou la maladie de l'anneau brun causée chez la palourde par *Vibrio tapetis* (Maes et Paillard, 1992). Il est connu que des animaux filtreurs comme les bivalves constituent une vecteur de contamination pour l'homme. Selon Lipp et Rose (1997), les poissons et les fruits de mer consommés aux Etats-Unis au cours de la période 1983 –1992 sont arrivés au troisième rang des aliments responsables de toxi-infections alimentaires. Selon les mêmes auteurs, *Vibrio* spp. d'abord puis au moins dix autres genres de bactéries et enfin le virus de l'hépatite A ont été à l'origine des affections contractées par l'ingestion de mollusques et de crustacés. Ces bactéries ont été responsables de 20 % des toxi-infections alimentaires recensées et de 99 % des décès enregistrés, la plupart d'entre elles appartenaient à la famille des *Vibrionaceae* comprenant les genres *Vibrio*, *Aeromonas* et *Plesiomonas* (Lipp et Rose, 1997).

Malgré leur importance dans l'évaluation de l'état de salubrité des coquillages, les *Vibrionaceae* n'ont fait l'objet d'aucune étude dans la lagune de Bizerte hormis le suivi des services vétérinaires qui se limite à de simples tests de présence/ absence.

1) Résultats

a) *Isolement et dénombrement*

Tableau III3 : Variation mensuelle des réactions positives sur TCBS dans les différents compartiments de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1998) (+: présence de *Vibrionaceae*).

A : Menzel Abderrahmen; B: Menzel Bourguiba; C : Baie des Carrières; F : Faroua ; J: Menzel Jemil ; R: Rimel et T: Oued Tindja. e: eau, e': eau prélevée au niveau des tables de moules, s : sédiment, p : palourdes et m : moules. En première colonne, figurent le nom de la station et le pourcentage stationnel (%) de présence (tous compartiments et mois confondus)

Station	Compartiment	Mai	Jui.	Juil.	août	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Fréq
	e	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	6/13
J	s	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	8/13
	p	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	9/13
	E'	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	7/13
56.92%	m	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	7/13
A	e	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	9/13
	s	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	9/13
71.79%	p	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	10/13
T	e	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	9/13
76.92%	s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11/13
B	e	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	7/13
50%	s	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	6/13
	e	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	8/13
C	s	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	5/13
56.41%	m	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	6/13
	e	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+	0	9/13
F	s	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	5/13
56.41%	p	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	8/13
R	e	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	6/13
53.84%	s	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	8/13
	e	62..5	75	100	100	100	75	50	37.5	50	25	37.5	37.5	0	57.69
	s	71.42	85.71	100	100	100	85.71	57.14	42.85	42.85	57.14	42.85	14.28	14.28	62.63
	p	33.33	100	100	100	100	66.66	66.66	66.66	33.33	66.66	0	66.66	33.33	64.1
	m	0	100	50	100	100	0	50	50	0	50	0	50	0	42.31

D'après le tableau III3 et la figure III4a représentant la fréquence des réactions positives sur TCBS, les *Vibrionaceae* se sont concentrées, toutes saisons et stations confondues, le plus fréquemment au niveau des palourdes (64,1%) et du sédiment (62.63%). Ces germes ont été plus rarement présents dans les moules vivant dans la colonne d'eau (42.31%).

Le suivi temporel de cette famille bactérienne, toutes stations et compartiments confondus, a montré que la présence des *Vibrionaceae* a été relativement élevée durant la période estivale (Fig III4b). Ainsi, tous les échantillons récoltés pendant les mois d'août et de septembre ont renfermé des *Vibrionaceae*. Une forte représentation de ce groupe bactérien a été enregistrée en juin (90.17%) et en juillet (87.50%), mois au cours duquel ces germes n'ont été absents que dans les moules de la baie des carrières. Par contre, de faibles taux de présence ont été notés durant les périodes hivernale et printanière : 31.54% en janvier, 20.08% en mars et un minimum de 11.90% au mois de mai 1999. Au niveau des compartiments aquatiques et sédimentaires (fig III4 c), la présence des *Vibrionaceae* a été maximale (100% des réactions positives) aux mois de juillet, août et septembre et minimale au mois de mai 1999 (14.28% des échantillons de sédiment et 0% des échantillons d'eau).

Pour les bivalves, il a été relevé une forte présence des *Vibrionaceae* pendant la saison estivale (Fig. III4d). Ainsi, durant la période allant de juin 99 à septembre 99, tous les échantillons de bivalves ont contenu des *Vibrionaceae* à l'exception des moules de la baie des carrières en juillet. Pendant le mois de mars au contraire, aucun lamellibranche étudié n'a renfermé ce groupe bactérien.

La comparaison inter- site du taux de présence de ce groupe bactérien (Fig. III 4a'') a révélé que ce sont les sédiments prélevés à la station de l'oued Tindja drainant les eaux du lac Ichkeul qui en contenaient le plus souvent (84.61%) puis secondairement les palourdes de la station de Menzel Abderrahmen, proche de l'agglomération (76.92%). Des taux de présence de 69.23% (soit 9 mois sur 13) ont été enregistrés au niveau des eaux des stations A, F et T et dans les sédiments de la station (A). Cependant, le calcul du pourcentage stationnel de présence des *Vibrionaceae*, tous mois et compartiments confondus (tabl. III3), a montré que la station de Menzel Bourguiba, proche du complexe métallurgique, était la plus pauvre en *Vibrionaceae* (50%) et que celle de l'oued Tindja était au contraire la plus contaminée (76.92% des échantillons), suivie de très près par la station de Menzel Abderrahmen (71.79%).

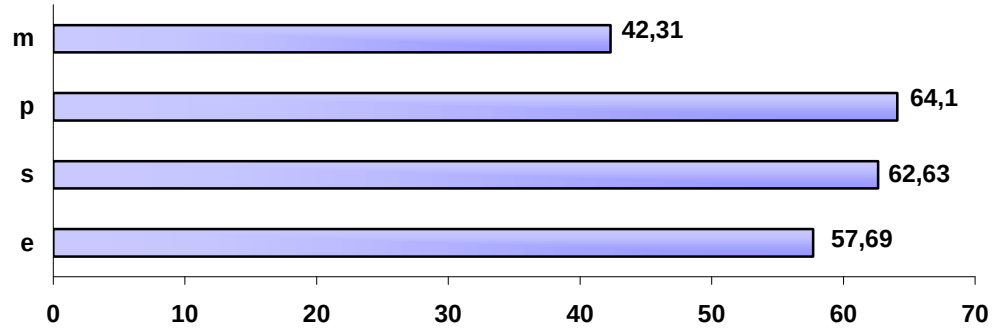


Figure III 4a: Taux de présence des *Vibrionaceae*, tous prélèvements mensuels confondus, dans les différents compartiments de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999). S : sédiment ; e : eau ; m : moule et p : palourde.

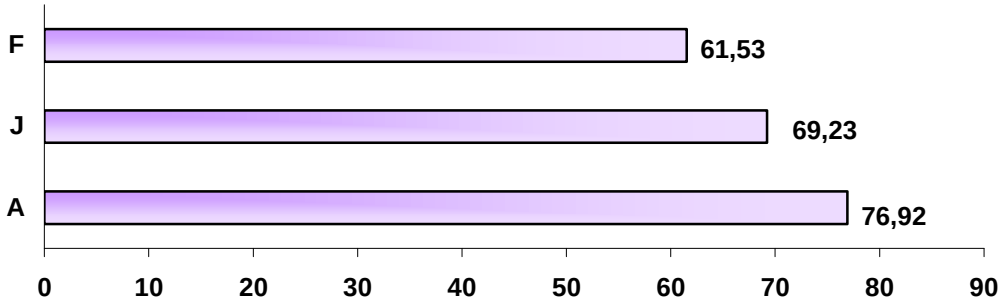


Figure III 4a': Variation spatiale du taux de présence des *Vibrionaceae*, tous prélèvements mensuels confondus, dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes (mai 1998 – mai 1999).
A : Menzel Abderrahmen ; J : Menzel Jemil ; F : Faroua

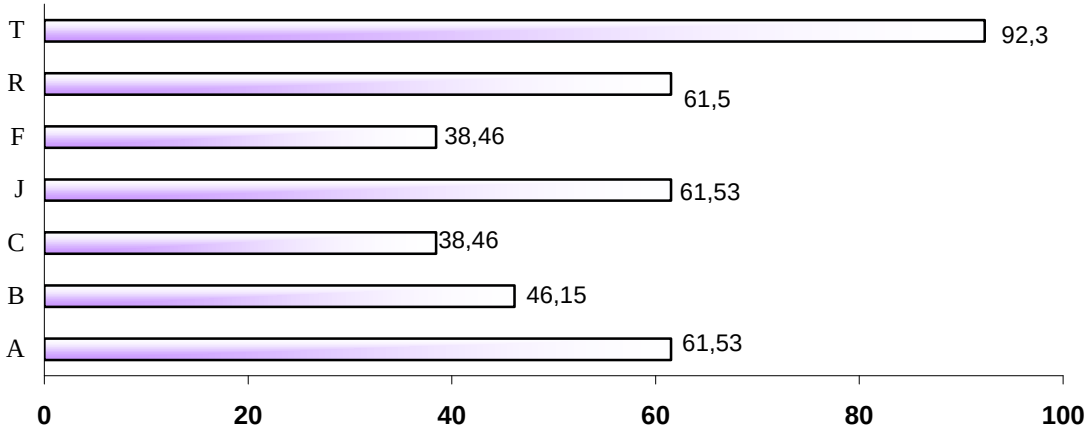


Figure III 4a'': Taux de présence des *Vibrionaceae*, tous prélèvements mensuels confondus, dans les sédiments de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).
A : Menzel Abderrahmen ; B : Menzel Bourguiba ; C : Baie des carrières; J : Menzel Jemil ; F : Faroua ; R : Rimel et T : Oued Tindja

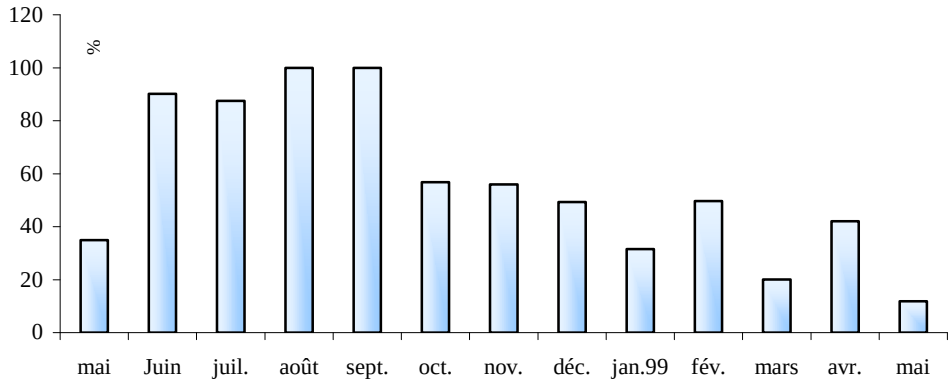


Figure III 4b: Evolution temporelle, tous compartiments confondus, du pourcentage de présence des *Vibrionaceae* dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

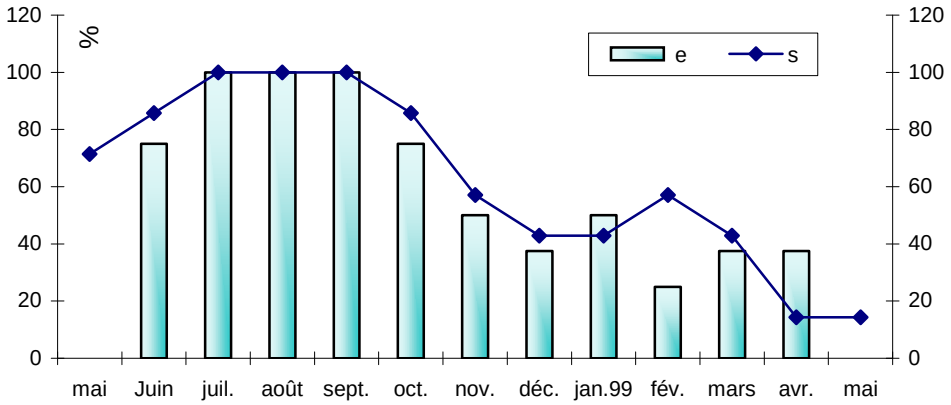


Figure III 4c : Evolution temporelle, toutes stations confondues, du pourcentage de présence des *Vibrionaceae* dans les compartiments aqueux et sédimentaires de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

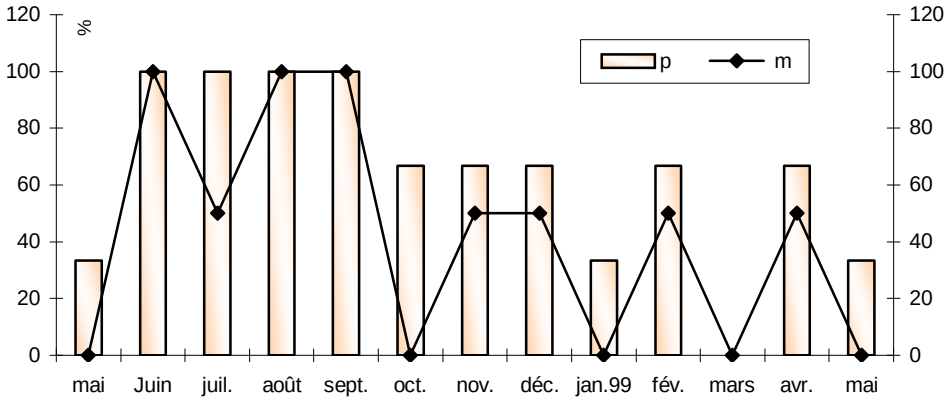


Figure III 4c: Evolution temporelle, toutes stations confondues, du pourcentage de présence des *Vibrionaceae* dans les bivalves de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

D'après la figure III5, les concentrations estivales en ces germes ont fluctué entre 1.2 10^3 UFC/ ml dans les sédiments de Rimel (juillet) et 5.98 $.10^4$ dans les sédiments de Menzel Abderrahmen (août). Cependant, il faut noter un décalage temporel des taux bactériens en fonction du réchauffement du compartiment considéré; ainsi, les teneurs maximales mensuelles par compartiment ont été relevées en juillet dans l'eau et au contraire aux mois d'août et de septembre dans les sédiments et les palourdes.

D'après le calcul des coefficients de corrélation de Pearson, les concentrations stationnelles en *Vibrionaceae*, toutes espèces confondues, ont été corrélées pendant les 6 premiers mois de prospection significativement, voire très significativement, à la température (*r* variant de 0.55 à 0.88 pour un ddl=11) et à la salinité (r compris entre 0.56 et 0.81), exception faite des stations marines de Rimel à salinités presque constantes (37.3 0/00 – 37.6 0/00) et de la baie des carrières à salinités peu variables (36.1 0/00 – 38 0/00). Par contre, les taux en *Vibrionaceae* ont été inversement corrélés à la teneur en oxygène dissous (r compris entre –0.51 et –0.83). Pour les stations sous influence marine (C et A), cette corrélation est demeurée significative durant toute la période d'étude. Pour les stations plus continentales (T, F, B et J), il s'est produit de novembre à mars une augmentation importante de la charge bactérienne au niveau du compartiment aqueux, consécutivement aux précipitations automnales et hivernales (Fig. III5). Ceci explique que la concentration maximale en *Vibrionaceae* (13.98 10^6 UFC/ml) ait été enregistrée dans les eaux de la station (T) en janvier 99 malgré une température relativement faible (12.2° C).

La comparaison des moyennes mensuelles pour les trois compartiments considérés amène à conclure que le sédiment a été souvent le plus riche en germes bactériens et qu'au contraire l'eau a été généralement la plus pauvre (phénomène de dilution). Il faut cependant souligner que les taux bactériens dans l'eau pour la période estivale ont dépassé ceux enregistrés dans les compartiments sédimentaires et biologiques par suite du réchauffement de la couche superficielle de l'eau. En ce qui concerne les prélèvements d'août et de septembre, 100% des échantillons de bivalves testés ont réagi positivement au TCBS avec une concentration mensuelle maximale en *Vibrionaceae* de 590 10^2 UFC/ml dans les palourdes de la station (A), valeur qui dépasse nettement les concentrations relevées dans les sédiments et l'eau.

b) Répartition spécifique

La détermination spécifique réalisée pour chaque peuplement de *Vibrionaceae*. (tabl. III6) a permis d'isoler 4 espèces parmi lesquelles *Aeromonas hydrophila* est la plus répandue. Sa fréquence a été de 82.4 % durant toute la période de prospection. Cette espèce a été rencontrée dans tous les compartiments et pendant toutes les prospections. C'est à la station de l'oued Tindja drainant les eaux du lac Ichkeul que cette espèce a présenté sa fréquence la plus élevée (82.84% des échantillons analysés) avec des concentrations variant entre 4.6 10^3 et 13.9 10^6 UFC/ml. Cette *Aeromonas* a été également bien représentée à la station de Menzel Abderrahmen (48.13 % des échantillons prélevés) ; sa fréquence la plus faible a été enregistrée au niveau de la station de Menzel Bourguiba et principalement durant la saison estivale (34.61%).

L'espèce *Aeromonas sobria* a été rencontrée dans 4.58 % des échantillons analysés, toutes stations et saisons confondues. A signaler que 50 % de ses souches ont été isolées dans le sédiment qui représente le compartiment préférentiel de l'espèce. Sa présence à l'état viable et cultivable dans les bivalves n'a été qu'occasionnelle puisqu'elle n'a été relevée qu'une fois dans les palourdes et les moules.

Deux espèces de *Vibrio* ont été isolées : *Vibrio parahaemolyticus* (10.68 %) et *Vibrio vulnificus* (2.2 %). La première espèce a été identifiée dans tous les compartiments mais avec une fréquence relativement élevée dans le sédiment (35,13 % des souches isolées contre 28.51 % dans l'eau, 21.42 % dans les palourdes et seulement 13.14 % dans les moules). A noter que 42.85 % des souches ont été isolées durant la période allant d'octobre à août 1998. La seconde espèce a été rencontrée essentiellement dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes (66.66 %) et dans le compartiment sédimentaire (33.33 %).

c) Résistance d'*Aeromonas hydrophila* aux antibiotiques

Quinze antibiotiques se répartissant en 8 familles (*Béta-lactamines, aminosides, phénicols, tétracyclines, macrolides, nitrofuranes, sulfamides et rifamycines*) ont été appliqués aux différentes souches d'*Aeromonas* isolées durant la période de prospection, à raison de 13 prélèvements mensuels au niveau des 5 stations d'étude (J, A, C, T, R) dans les 4 compartiments que sont l'eau, le sédiment, les

palourdes et les moules, soit 132 souches au total. Le tableau (III6a ci dessous) présente en ordre décroissant les profils de résistance des 11 prototypes obtenus.

Tabl. III4a : Différents Profils antibiotiques obtenus pour les 132 souches *d'Aeromonas hydrophila* isolées de la lagune de Bizerte (mai 1998-mai 1999) tous compartiments confondus, N : nombre d'antibiotiques ; P : pourcentages de Souches résistantes ; Béta-lactamines, aminosides. Sulfamides, Autres familles d'antibiotiques.

Prototype	N	Profils de résistance	P
1	**12**	**OX1P10 AMX25 FOX30 NN10 C30 S10 N30** RA30 FM300 TE30 OL15	6.06 %
2	**11**	**OX1 P10 AMX25 FOX30 NN10 S10 N30** RA30 FM300 TE30 OL15	6.81 %
3	**10**	**OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10 N30** C30 AR30 TE30 OL15	9.84%
		OX1AMX25 FOX30 CRO30 NN10 S10 C30 FM300 TE30 OL15	5.30%
4	**9**	**OX1 NN10 CRO30 S10 N30** C30 AR30 TE30 OL15	6.81 %
		OX1 P10 AMX 25 FOX30 NN10 S10 N30 C30OL15	6.81 %
5	**8**	**OX1 FOX30 NN10 S10 N30** C30AR30 OL15	6.81 %
		OX1AMX25 FOX30 CRO30NN10 S10 N30 OL15	3.78 %
		OX1AMX25 FOX30 S10 RA 30 P10 C30 OL15	3.03 %
6	**7**	**OX1 P10 AMX25 FOX30 S10** TE30 OL15	6.06 %
		OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10 N30 OL15	3.03 %
7	**6**	**OX1 CRO30 NN10 S10** AR30 OL15	6.06 %
		OX1 FOX30 NN10 S10 TE30 OL15	6.06 %
		OX1P10 AMX25 FOX30 S10 OL15	2.2 %
		OX1 P10 CRO30 NN10 S10 N30	3.78 %
8	**5**	**OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10**	3.03 %
		OX1 NN10 S10 AR30 OL15	2.2 %
		OX1 NN10 AR30 TE30 OL15	3.03 %
9	**4**	**OX1 NN10 S10** OL15	4.4 %
		OX1 NN10 AR30 OL15	1.51 %
10	**3**	**OX1 S10** OL15	1.51 %
11	**2**	**OX1AMX25**	0.75 %

D'après la figure illustrant l'efficacité relative des antibiotiques vis à vis de la totalité des 132 souches d'*Aeromonas* isolées, aucun des 11 prototypes prédéfinis n'a résisté aux 15 antibiotiques testés. Les Pénicillines M représentées par l'oxacilline (OX1) n'ont eu aucun effet sur la croissance des souches d'*Aeromonas* isolées de la lagune de Bizerte, aucune d'entre elles n'ayant été affectée par cet antibiotique (Fig.

III6a). 95.45% des souches considérées ont présenté une résistance aux macrolides (OL 15) et 75% d'entre elles une résistance aux aminosides (néomycine : N30).

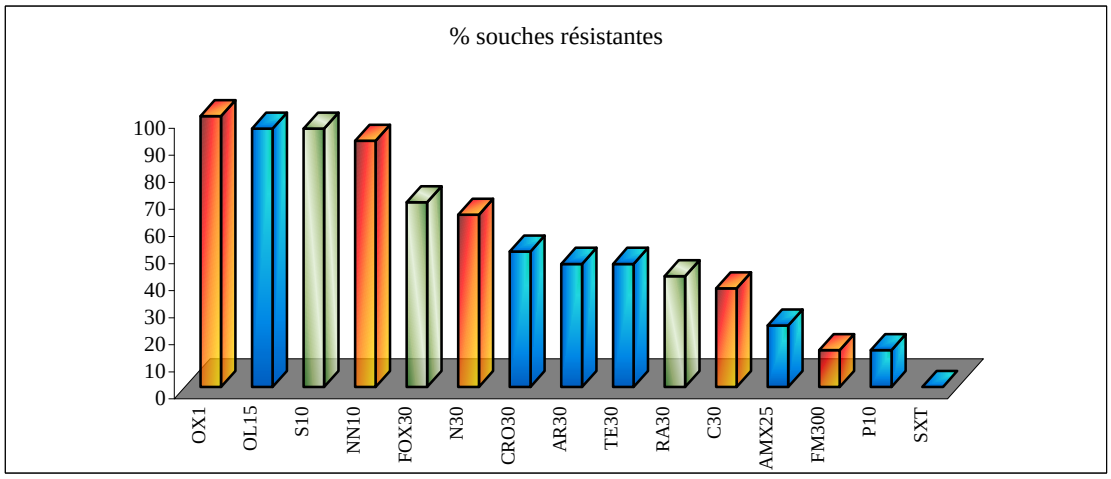


Figure III6a : Pourcentage de résistance d'*Aeromonas* aux 15 antibiotiques testés, toutes souches confondues.

P10 : Pénicilline G ; AMX 25: Pénicilline A OX1: Pénicilline M ; FOX 30: Céphalosporines CRO30 : Céphalosporines ; S10 : Streptomycine ; NN10 : Tobramycine ; N30 : Néomycine ; C30: Phénicols ; TE30: Tétracyclines ; OL15: Macrolides ; FM300:Nitro furames ; SXT: Sulfamides RA30 : Rifampicines ; AR30 : Acide Oxolinique (Rouge : béta-lactamines ; Vert : Aminosides ; bleu : autres familles d'antibiotiques)

Les sulfamides (SXT) ont été les plus efficaces puisque aucune souche d'*Aeromonas* n'a pu résister à cette catégorie d'antibiotiques et seulement 16.53 % d'entre elles ont présenté une résistance intermédiaire. Toutes les souches d'*Aeromonas* provenant de la lagune de Bizerte ont été aussi sensibles à des antibiotiques comme les rifampicines (RA30) et les furames (FM300), leur inefficacité respective n'ayant été que de 15.91% et 16.67%. Par ailleurs 40.90% des souches isolées, tous compartiments confondus, ont présenté une résistance vis à vis des tétracyclines (TE30).

En comparant les profils de résistance par site (Annexe I), les souches d'*Aeromonas* les moins sensibles ont été celles isolées de la station de Menzel Abderrahmen. Ainsi, 13 souches sur les 22 isolées (59.09%) au niveau de ce site ont résisté à au moins 8 antibiotiques (Annexe I). En effet, 28.57% (8/28) des souches isolées ont présenté un profil de résistance de type 12, une souche un profil de type 11 (résistant à 11 antibiotiques sur les 15 testés).

Il a été enregistré des taux de résistance à plus de 8 antibiotiques relativement élevés respectivement à la station de Menzel Bourguiba (48.52 %) et de la baie des

carrières (37.05 %). En ce qui concerne les autres stations (Menzel Jemil, Faroua, oued Tindja et Rimel) différents types de profils de résistance aux antibiotiques variant de 12 antibiotiques (prototype 1) à 2 seulement (prototype 8) ont pu être isolés à partir des différents compartiments de ces stations.

A noter que la souche d'*Aeromonas* la plus sensible a été celle isolée dans les eaux de la station de Menzel Bourguiba au mois de juin 1998, celle- ci n'a pu résister qu'à l'oxacilline et à l'amoxicilline. Deux autres souches isolées des eaux de la baie des carrières en septembre et des sédiments de l'oued Tindja en janvier 1999 ont présenté de fortes sensibilités aux antibiotiques puisqu'elles n'ont pu résister qu'à l'oxacilline (OL15) , à la streptomycine (S10) et aux pénicillines M (OX1).

Tabl. III4b : Différents Profils antibiotiques obtenus pour les 33 souches *d'Aeromonas hydrophila* isolées des palourdes de la lagune de Bizerte (mai 1998-mai 1999) tous prélèvement confondus. N : nombre d'antibiotiques ; P : pourcentages de Souches résistantes ; Béta-lactamines, Aminosides, Sulfamides, Autres familles d'antibiotiques.

Prototype	N	Profils de résistance	P
1	**12**	**OX1P10 AMX25 FOX30 NN10 C30 S10 N30** RA30 FM300 TE30 OL15	9.09 %
2	**10**	**OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10 N30** C30 AR30 TE30 OL15	4.54%
		OX1AMX25 FOX30 CRO30 NN10 S10 C30 FM300 TE30 OL15	4.54%
3	**9**	**OX1 NN10 CRO30 S10 N30** C30 AR30 TE30 OL15	9.09 %
		OX1 P10 AMX 25 FOX30 NN10 S10 N30 C30 OL15	4.54 %
4	**8**	**OX1 FOX30 NN10 S10 N30** C30AR30 OL15	13.63 %
		OX1 AMX25 FOX30 CRO30 NN10 S10 N30 OL15	4.54%
5	**7**	**OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10 N30** OL15	13.63 %
6	**6**	**OX1 CRO30 NN10 S10** AR30 OL15	9.09 %
		OX1 FOX30 NN10 S10 TE30 OL15	4.54 %
7	**5**	**OX1 FOX30 CRO30 NN10 S10**	4.54%
		OX1 NN10 AR30 TE30 OL15	9.09 %
8	**4**	**OX1 NN10 S10** OL15	4.54 %

Sachant que les bivalves hébergent des bactéries qui peuvent contaminer l'homme en consommant des animaux crus ou mal cuits tels des bivalves, il a été considéré la résistance des souches isolées de la palourde (*Ruditapes decussatus*), toutes stations de collecte confondues (tabl. IIIb). D'après ceci, il n'a pu être isolé que les prototypes 9, 10 et 11 qui résistent respectivement à 3, 2 et 1 antibiotiques, ce qui prouve que

toutes les souches d'*Aeromonas* colonisant la chair et le liquide intravalvaire des palourdes ont résisté à au moins 4 antibiotiques. En considérant la variation spatiale des profils de résistance, les prototypes 1 et 2 (résistant respectivement à 12 et 10 antibiotiques) proviennent des palourdes collectées aux stations de Menzel Abderrahmen et de Menzel Jemil (Annexe I). La souche la plus sensible qui n'a pu résister qu'à un Béta- lactamine (OX1), à deux Aminosides (NN10 et S10) et à un Macrolide (OL15) a été isolée des palourdes de Faroua.

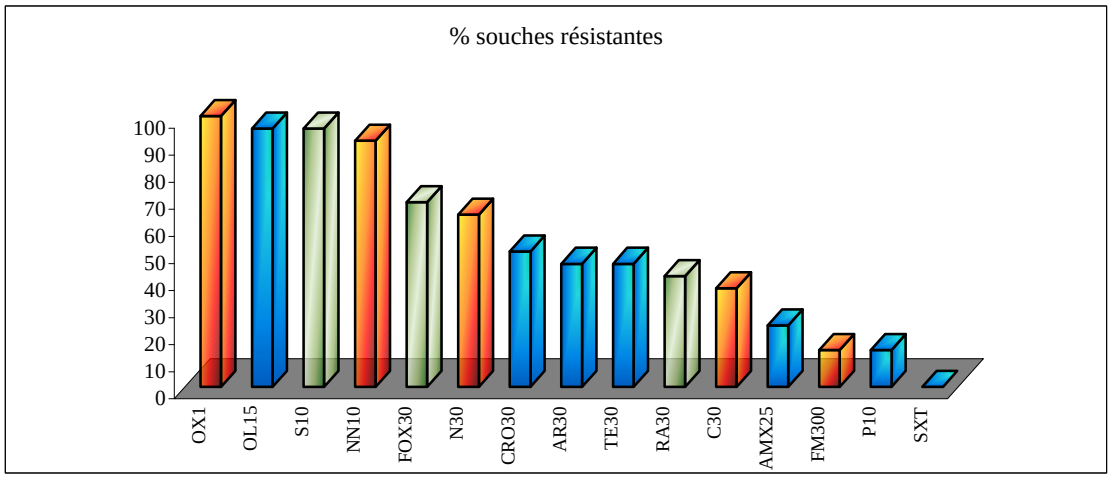


Figure III6b : Pourcentages de résistance aux 15 antibiotiques testés chez les souches d'*Aeromonas* isolées de la chair et du liquide intravalvaire de la palourde (*Ruditapes decussatus*).

P10 : Pénicillines G ; AMX 25: Pénicillines A OX1: Pénicillines M ; FOX 30: Céphalosporines CRO30 : Céphalosporines ; S10 : Streptomycines ; NN10 : Tobramycines ; N30 : Néomycines ; C30: Phenicols ; TE30: Tétracyclines ; OL15: Macrolides ; FM300:Nitro furanes ; SXT: Sulfamides RA30 : Rifampicines ; AR30 : Acide Oxolinique ; (Rouge : béta-lactamines ; Vert : Aminosides ; bleu : autres familles d'antibiotiques)

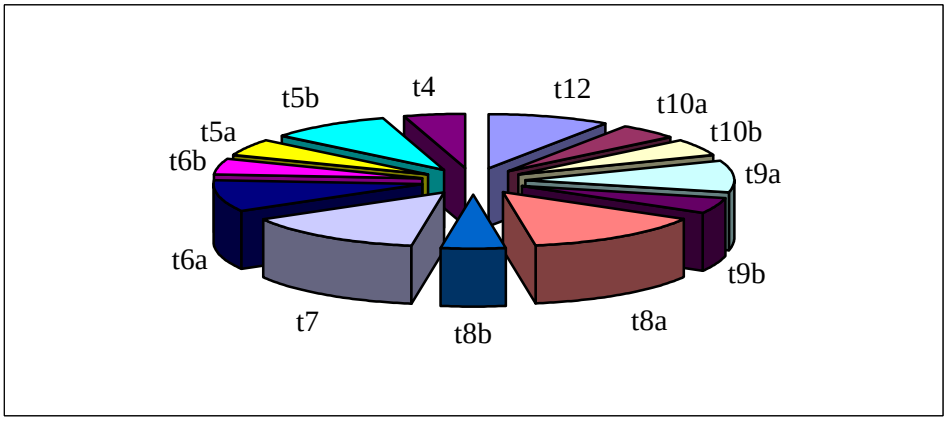


Fig. III 6c : Répartition des différents profils de résistance aux antibiotiques chez les souches d'*Aeromonas* isolées de la palourde (*Ruditapes decussatus*). t : prototype ; le chiffre indique le nombre d'antibiotiques auxquels ont résisté les souches d'*Aeromonas*.

A partir de la figure III 6c, les prototypes 3 - 4 - 5 et 6 résistant respectivement à 5 - 6 - 7 et 8 antibiotiques ont été les plus répandus chez la palourde, le prototype 7 étant plus représenté (18.17 %) que les trois autres (même fréquence de 13.63 %). En tenant compte du type d'antibiotiques testés, chacun des prototypes 9 ; 8 et 6 a été représenté par deux types de profils (tabl. III 4b).

En comparant la sensibilité par compartiment aux antibiotiques des souches d'*Aeromonas* isolées (Fig. III 6 a et b), toutes les souches provenant des palourdes ont résisté aux pénicillines M (OX1) et 95.45 % d'entre elles aux macrolides (OL15). Seulement 13.63 % d'entre elles ont pu résister aux Nitrofurames (FM300) et aux pénicillines G (P10). Par contre, toutes les souches isolées de ces bivalves ont été sensibles aux sulfamides (SXT). D'autre part, plus de 50 % d'entre elles ont pu résister à 3 béta-lactamines (OX1, FOX300 et CRO30) parmi les 5 testés et à 2 aminosides (NN10 et N30) parmi les 3 considérés (Fig. III 6 b).

2) Discussion

La famille des *Vibrionaceae* constitue une famille bactérienne très répandue dans l'eau et les sédiments. Si certaines espèces sont pathogènes pour l'homme et les animaux, la plupart d'entre elles interviennent dans la minéralisation de la matière organique et surtout la transformation des nitrates en nitrites (Leclerc et Mossel ; 1989 ; Bertrand, 1990).

L'étude de l'évolution spatio-temporelle des populations de *Vibrionaceae* dans un milieu aquatique est donc d'un grand intérêt à la fois pour la santé humaine et l'état général de l'écosystème. On aurait tort de croire que l'état d'insalubrité d'un milieu ne dépend que de la présence de la flore fécale. Ainsi, Brown (2000) a montré que dans des milieux où les normes tolérées de coliformes fécaux ne sont pas dépassées, des cas de gastro-entérites peuvent se rencontrer à cause de *Vibrio parahaemolyticus*.

La distribution des *Vibrionaceae* dans la lagune de Bizerte a révélé que ces germes sont les plus abondants dans les palourdes et les sédiments. Ce résultat est identique à celui de Kueh et Chan (1985), ces auteurs ayant prouvé qu'une partie de la flore bactérienne (*Vibrio, Aeromonas*…) se concentre davantage dans des bivalves comme *Crassostrea gigas*, *Perna viridis* et *Scapharca cornea* que dans le milieu ambiant. Toujours selon ces auteurs, plus de 90% des coliformes fécaux et des bactéries hétérotrophes se trouveraient concentrées dans l'appareil digestif des

bivalves. Sugita *et al*. (1988), Cahill (1990) et Stecchini et Domenis (1994) ont signalé que les *Vibrionaceae* constituaient la part la plus importante de la flore bactérienne des animaux à sang froid. Arias *et al*. (1999) ont pu quant à eux isoler plusieurs espèces de *Vibrio* de lamellibranches collectés sur les côtes espagnoles de la Méditerranée. Pour Pujalte *et al. (*1999), *Vibrio ssp.* peu abondant dans l'eau constituerait la microflore dominante des huîtres.

La confrontation des concentrations en *Vibrionaceae* relevées dans la lagune de Bizerte avec les données de la littérature montre que ces taux sont proches de ceux enregistrés dans des milieux comparables. Ainsi, Barbieri *et al.* (1999) ont relevé des concentrations en *Vibrionaceae* variant entre 10^2 et 10^6 UFC/ml au niveau des estuaires des côtes de l'Adriatique. La variation mensuelle de cette charge bactérienne résulte d'un changement des facteurs du milieu. En effet, ces bactéries mésophiles, sont tout d'abord directement influencées par les facteurs abiotiques du fait que leur développement et leur survie en milieu marin dépendent de la température et de la richesse du milieu en matière organique nécessaire à leur métabolisme (Colwell *et al.* 1978 ; Gauthier et Pietri, 1989 ; Gauthier *et al.*, 1993; Barbieri *et al.*, 1999). En fait, les concentrations (relativement élevées) en *Vibrionaceae* qui ont été enregistrées pendant la saison estivale sur l'ensemble de la lagune expliquent les corrélations significatives trouvées entre les concentrations de ces bactéries et la température, la salinité et surtout l'oxygène dissous. Par ailleurs, les facteurs abiotiques influent indirectement sur l'abondance des *Vibrionaceae,* ces bactéries étant adsorbées et fixées au plancton étroitement dépendant de la température pour son abondance (Kaneko et Colwell, 1978).

Les résultats des travaux de Bonang *et al.* (1974), Joseph et Kaper (1980) et Nair *et al.* (1980) rejoignent ceux de la présente étude et montrent une corrélation positive entre l'évolution temporelle des peuplements mésophiles et halophiles de *Vibrionaceae* et l'augmentation de la température et de la salinité. En ce qui concerne l'eau, les stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja ont été les plus riches en ces germes alors qu'au niveau du compartiment sédimentaire, la station (T) a abrité une importante population allochtone. L'existence de cette famille bactérienne au niveau de la station de Rimel durant l'été est probablement en relation avec l'utilisation de cette plage à des fins récréatives.

Au niveau des bivalves, surtout dans la chair et le liquide intravalvaire des palourdes, il s'est produit une augmentation importante des taux de *Vibrionaceae*

pendant la saison estivale. Ainsi, le rapport des concentrations de deux mois successifs a été le plus élevé d'août à septembre pour les palourdes de Menzel Jemil (19.25) et celles de Faroua (16.46). Par contre, ce rapport a été le plus faible pour les moules des stations (J) (6.4) et (F) (1.68). On peut supposer qu'en été les palourdes de la station (J) du fait de l'augmentation simultanée de la température (29.9°C) et de la salinité (38.9‰) et surtout du fait de la diminution du taux d'oxygène dissous (3.6 $mg.l^{-1}$) ont filtré davantage d'eau et concentré un plus grand nombre de bactéries. En fait, plusieurs auteurs (Dridi, 1977, Aïssa, 1991 et Dellali, 1996) ont signalé que cette station était le siège d'une forte eutrophisation vers la fin d'août et le début de septembre. Au niveau de la station de Menzel Abderrahmen, les apports d'eaux usées (non traitées au cours de la période de prospection) ont contribué en permanence à enrichir les palourdes de cette station en *Vibrionaceae* et à les maintenir à des taux relativement élevés durant toute l'année.

L'augmentation de la charge en *Vibrionaceae* observée au niveau de Faroua pourrait s'expliquer par les apports organiques qui viennent de l'oued Tindja et qui sont transportés jusqu'à cette station par les courants sortants de cet oued. Ainsi, d'après Gauthier et Pietri (1989), les *Vibrionaceae* sont capables de survivre pendant plusieurs jours et de se développer lorsqu'elles sont adsorbées sur les éléments particulaires.

La position des moules en suspension dans des tranches d'eau non confinées et par suite plus aérées et plus froides donc peu favorables au développement des *Vibrionaceae* explique que ces bivalves aient présenté des concentrations bactériennes hivernales peu différentes des estivales. Leur charge au niveau des moules de la station (J) est devenue plus importante au mois de septembre parallèlement à l'eutrophisation. L'action épurante de l'eau de mer a été nette à la station de la Baie des Carrières, là où les concentrations bactériennes ont été faibles voire même nulles.

L'identification spécifique des *Vibrionaceae* corrobore les résultats bibliographiques, l'espèce la plus fréquente *Aeromonas hydrophila* étant une souche isolée dans différents milieux (mer ouverte, eaux côtières, aliments, animaux…). Cette espèce, responsable de gastro-entérites chez l'homme, provoque des maladies chez les animaux à sang froid tels que les poissons, les reptiles et les amphibiens. Elle est actuellement connue pour sa pathogénocité vis à vis des moules (Maki *et al.*, 1998). Cette espèce dont la présence dans les eaux côtières témoigne d'un déversement d'effluents (Araujo *et al.*, 1991) constitue selon Cook et Ruple (1989) un

bio-indicateur d'une pollution d'origine côtière, apte à nous renseigner sur le degré de dégradation de l'eau en étant associée aux phénomènes d'eutrophisation (Rippey et Cabelli, 1989 ; Markus et Manfred. 1998). Monfort et Baleux (1991) ont prouvé que les concentrations d'*Aeromonas* diminuaient en allant de la côte vers le large d'une lagune saumâtre recevant des effluents urbains. La répartition spatiale de cette espèce au niveau de la lagune de Bizerte nous a permis de connaître l'état de pollution organique du plan d'eau. Ainsi, les concentrations élevées enregistrées en septembre à la station de Menzel Jemil (de 1,38 10^4 UFC/ml dans l'eau à 4,35 10^4 UFC/ml dans les moules) ont été liées au phénomène d'eutrophisation déjà signalé dans le site (Dridi, 1977; Aïssa, 1991; Dellali et Aïssa, 1998). La présence d'*Aeromonas* dans l'eau et le sédiment de l'oued Tindja indique que le lac Ichkeul constitue probablement, par ses caractéristiques biotiques et abiotiques, un milieu favorable au développement de cette souche bactérienne.

Pour ce qui est du genre *Vibrio*, celui-ci a été rencontré dans tous les compartiments étudiés et pendant toutes les saisons mais avec une faible fréquence pour chacune des deux espèces identifiées *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio vulnificus*. Selon Bockemuhl et Triemer (1974), l'accumulation de *Vibrio Parahaemolyticus* dans les sédiments pourrait être liée à la répartition des copépodes, les vibrions s'attachant à leur carapace pour se nourrir de chitine. Le facteur qui semble le plus influencer la répartition des vibrions dans la lagune de Bizerte, milieu apparemment peu propice à leur développement, est la distance séparant la station de la côte. Leur origine terrigène semble confirmée par leur absence à la station franchement marine de Rimel et aux stations conchylicoles de J et C ainsi que par leur présence au niveau des stations de l'oued Tindja et de Menzel Abderrahmen. Leur isolement pendant la période hivernale à une concentration relativement élevée (93 10^2 UFC/ml) permet de conforter notre hypothèse. Les faibles concentrations de ce groupe bactérien au niveau de la station de Menzel Bourguiba pourraient être liées aux concentrations en fer relativement élevées qui y ont été enregistré (471 ppm dans l'eau et 642 ppm dans le sédiment selon Dellali, 1996). En effet, Kersters et Verstraete (1996) ont montré que de fortes concentrations de Fe^{2+} (460 µM) avaient une action inhibitrice sur *Aeromonas hydrophila* prédominante dans la lagune de Bizerte.

D'après les travaux de Al-Jebouri (1985) , Al-Ghazali *et al.* (1988), Bhattacherjee *et al. (*1988), Pathak *et al.* (1993) et Rhodes *et al.* (2000), l'utilisation

accrue d'antibiotiques dans les domaines médicaux et agricoles est à l'origine de l'enrichissement des écosystèmes aquatiques en bactéries résistantes et en antibiotiques. Halling-Srensen *et al.* (1998) considèrent que les rejets urbains et par suite les milieux récepteurs des rejets domestiques contiennent des teneurs élevées en antibiotiques et en bactéries résistantes. Selon Smith *et al.* (1994) l'apparition de germes résistants est favorisée par le transfert des plasmides de résistance entre les bactéries des différents compartiments.

La résistance aux antibiotiques chez *Aeromonas* peut être naturelle. Les souches de cette espèce sont résistantes aux béta-lactamines et surtout aux ampicillines car elles produisent des béta-lactamases (Aoki *et al*., 1974; Depaola et Roberts, 1995 ; Walsh *et al.,* 1995). C'est ainsi que McKeon *et al.* (1995) ont trouvé que 100% des souches d'*A. hydrophila* isolées dans les eaux résistent à l'ampicilline et à la céfalotine. Depaola et Roberts (1995) ont pu isoler 97.3% de souches résistantes à partir de l'eau d'élevage de poissons et de leur appareil digestif. Le degré de résistance aux antibiotiques est lié à l'importance des rejets urbains, l'existence d'un gradient de résistance des *Aeromonas* ayant été observé le long d'une rivière collectant en amont des rejets d'eaux usées (Goni-Urriza *et al.,* 2000). Le taux de résistance aux tétracyclines des souches isolées au niveau de la lagune de Bizerte (40.90%) paraît relativement différent de celui de 27.5% enregistré par Goni-Urriza *et al*. (2000) chez des souches de la même espèce isolées des eaux d'une rivière espagnole recevant des rejets domestiques ; il est toutefois intéressant de signaler que ce même auteur a noté que moins de 10% de ces souches résistaient aux béta-lactamines.

V) FLORE FECALE

1) Résultats

La flore fécale est un indicateur de la pollution fécale provoquée par les rejets urbains puisque ces bactéries sont des entérobactéries qui se développent dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur concentration dans le milieu marin et/ou les milieux lagunaires permettent de déterminer le degré de contamination du milieu et par suite d'établir le degré de salubrité des côtes en fonction des normes nationales et internationales.

1) Résultats

Selon les normes tunisiennes en vigueur inspirées des normes européennes (NT54.04, 1987), le seuil de salubrité est fixé à 300 CF/100ml de chair et de liquide intravalvaire pour les bivalves mais sont tolérés des taux de dépassement pour 5 % des échantillons à condition que le résultat soit inférieur à 1500 CF/100ml ou encore pour 1 % des prélèvements à condition que le résultat soit inférieur à 3000 CF/100ml. Au niveau de l'eau de mer, ce seuil est limité à 2 CF/100ml d'eau mais peuvent être acceptés des taux supérieurs pour 10 % au maximum des échantillons à condition que ces derniers contiennent moins de 7 CF par 100 ml d'eau. Par ailleurs, une zone peut être classée comme zone conditionnelle si le taux en coliformes fécaux pour les bivalves est inférieur ou égal à 3900/ 100ml de chair et de liquide intravalvaire et si pour l'eau, il est inférieur ou égal à 34 CF/100ml d'eau de mer, un taux de 49 CF/100ml d'eau pouvant être toléré pour 10% au maximum des échantillons analysés.

Au niveau de la lagune de Bizerte, les entérobactéries les plus répandues ont été les coliformes totaux (Fig. III5). Les NPP[3] de ce groupe bactérien ont été les plus élevés au niveau des stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja avec des valeurs qui atteignaient 1600 CT/100ml. D'autre part, il a été enregistré un accroissement des concentrations en coliformes totaux sur l'ensemble de la lagune pendant la période la plus chaude allant de juillet à septembre. Une augmentation relativement importante des concentrations en coliformes totaux a été notée aux stations de l'oued Tindja, de Faroua et de Menzel Jemil pendant la période hivernale, parallèlement à une intensification des apports en eaux de pluies lessivant les terrains limitrophes. Les compartiments vivants (palourdes et moules) ont été les plus riches en coliformes totaux durant la plus grande partie de l'année avec cependant une concentration maximale de ce groupe bactérien dans le compartiment aquatique pendant la période hivernale.

[3] NPP : Nombre le Plus Probable

En tenant compte de normes nationales et internationales, 6.2% des échantillons d'eau et de sédiments ont été pollués par la flore fécale (annexes II1I, II2 et II3). Pour les palourdes, toutes celles de la station (A), 71.42% de celles de la station (F) et seulement 28.57% de celles de la station (J) ont été insalubres. Si les moules de (J) n'ont jamais atteint le seuil limite de salubrité, celles de la station (C) ne l'ont dépassé que durant les mois d'août et de septembre. L'étude de la distribution spatiale de la flore fécale a montré que la station (A), limitrophe de la ville de Menzel Abderrahmen, était le site le plus pollué, totalement insalubre au niveau des palourdes et du sédiment. A la station balnéaire de Rimel, l'activité de baignade n'a semblé avoir aucune incidence sur la contamination fécale, les valeurs enregistrées dans l'eau et les sédiments étant inférieures aux normes tunisiennes et internationales. Cette station peut donc être considérée comme exempte de pollution fécale, du moins pendant la période de prospection.

Au niveau des stations où les prélèvements de coliformes totaux et fécaux ont pu être réalisés dans les trois compartiments, les palourdes ont représenté le site préférentiel de ces germes, le sédiment occupant le second rang alors que les plus faibles concentrations ont été relevées dans l'eau et les moules (Fig. III8). Aux stations R, T et B où seuls les compartiments aqueux et sédimentaires ont été prospectés, c'est le sédiment qui a accumulé davantage de coliformes fécaux durant la plus grande partie de l'année, exception faite des charges maximales relevées dans l'eau pendant la période pluvieuse (de décembre à février) aux stations de l'oued Tindja et de Rimel.

L'évolution spatio-temporelle des concentrations en entérocoques fécaux (Fig. III9) a été similaire à celle des coliformes fécaux. Ainsi, des concentrations relativement élevées en SF ont été aussi décelées durant toute la période de prospection dans l'eau et les sédiments de l'oued Tindja (Fig.III9). Des maxima mensuels (NPP = 120) ont été décelés au niveau des compartiments aqueux (février et mai 1999) et sédimentaire (août et décembre 1998) de l'oued Tindja. Des taux relativement élevés en entérocoques ont été enregistrés dans tous les compartiments de la station de Menzel Abderrahmen durant toute la période d'étude. Au niveau de la station de Menzel Jemil, une augmentation de la charge en entérocoques fécaux a été notée durant la période estivale (de juillet jusqu'à septembre). D'autre part, les concentrations en entérocoques comme celles des autres formes bactériennes ont présenté des maxima dans les bivalves filtreurs et le sédiment, avec cependant une

augmentation de leur charge parallèlement à celle des apports terrigènes durant la période hivernale aux stations les plus éloignées de la mer (T, F, J).

2) Discussion

Des animaux filtreurs comme les bivalves qui accumulent des micro-organismes tels les bactéries pathogènes et les virus provenant des rejets domestiques sont actuellement tenus responsables de plusieurs maladies lorsque ceux-ci sont consommés crus ou légèrement cuits (Fleet, 1978 ; West *et al.*, 1985 ; Sobsey et Jaykus, 1991). Il est donc nécessaire d'y effectuer un suivi des taux en flore fécale totale (coliformes et entérocoques). Afin de s'assurer de l'état de salubrité d'un milieu d'aquaculture ou d'une plage, il a été procédé à une confrontation des taux de coliformes fécaux rencontrés aux normes de salubrité. Pourtant, certains microbiologistes considèrent que le terme de coliformes fécaux doit être éliminé et remplacé par celui, plus adéquat, de coliformes thermo-tolérants, capables de se développer à une température supérieure à 40°C (Brodsky, 1997; Mossel, 1997). Selon Alonso *et al*. (1999), l'étude de la pollution fécale nécessite un dénombrement des bactéries, tous genres confondus, ou seulement d'*E. coli* puisque la composition taxonomique des matières fécales de l'Homme est connue. Ainsi, selon Leclerc et Moriamez (1980) et Leclerc *et al.* (1981), différentes espèces d'entérobactéries ont été isolées dans les fécès humains avec des fréquences d'isolement variables: *100%* d'*E. coli, , 70%* de *Citrobacter diversu*, *70%* de *Citrobacter amalonaticus*, *70%* de *Citrobacter freundii*, *49%* de *Klebsiella pneumoniae*, *49%* de *Klebsiella oxytoca*, *9%* de *Enterobacter cloacae et 9%* de *Enterobacter aerogenes.* Pour Leclerc *et al.* (1981), plusieurs espèces de coliformes seraient d'origine non fécale comme *Enterobacter trevisami , Enterobacter agglomerans, Enterobacter terobacter, Enterobacter gergoviae, Enterobacter sakazakii, Hafnia alvei, Serratia marcescens, S. liquefaciens, S. marinorubra et S. odorifera.* Il n'en reste pas moins que le présent travail fournit un suivi simultané de la flore fécale totale, des coliformes thermo-tolérants (ou coliformes fécaux) et des entérocoques fécaux.

Les résultats de cette étude auront permis non seulement de classer les eaux de la lagune de Bizerte en se référant aux normes nationales et internationales et par suite d'évaluer l'état de salubrité du milieu mais aussi de suivre l'évolution temporelle des diverses charges bactériennes dans la lagune de mai 98 à mai 99 et de les comparer aux données de la littérature. Les quelques travaux bactériologiques entrepris

auparavant sont ponctuels et fragmentaires (tabl. III9). Ainsi, Chadli *et al*. (1986) et Khalfallah et Majri (1991) ont effectué un suivi annuel, limité au secteur de Menzel Jemil. L'étude antérieure de Belkhir *et al*. (1985) a porté sur des échantillons collectés en divers points de la lagune mais au cours d'une seule campagne de prospection. Par ailleurs, l'Institut Pasteur de Tunis, dans le cadre du programme Medpol, et les services de l'Institut National des recherches Vétérinaires ont effectué périodiquement des analyses ponctuelles de routine pour s'assurer de la salubrité des coquillages au niveau des stations de Menzel Jemil et de Faroua. Les données disponibles se rapportent à la flore fécale (Chadli *et al*.,1986 ; Khalfallah *et al*., 1991)(Tableau III9). Il en ressort qu'il s'est produit au cours du temps, malgré une utilisation de normes différentes, une augmentation de la pollution fécale au niveau de la station (J), en parallèle avec une intensification de l'activité urbaine sur les berges du plan d'eau. Trois paramètres hydrologiques (la température, la salinité et le taux en oxygène dissous) sont apparus déterminants pour l'évolution temporelle des concentrations en flore fécale, corrélées positivement à la température et à la salinité mais négativement à la teneur en oxygène dissous (Tableau III8). Ce point explique aussi la prolifération de la flore fécale durant la saison estivale.

Tabl. III8: Mise en évidence des facteurs hydrologiques limitant les concentrations en coliformes totaux (C.T), coliformes fécaux (C.F) et en entérocoques (E.F) dans la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999). * significatif à 5%, NS : non significatif.

Paramètre	**C.T (UFC/100ml)**	**C.F (UFC/100ml)**	**E.F (UFC/100ml)**
Température (°C)	0.62 à 0.90 *	0.11 à 0.60*	0.07 à 0.52 *
Salinité (‰)	0.18 à 0.45 *	0.12 à 0.17 *	**NS**
Oxygène dissous (mg.l^{-1})	-0.7 à -0.3 *	-0.35 à -0.15 *	-0.74 à -0.19 *

Il est actuellement connu que la pollution fécale a une origine purement terrestre et qu'elle provient d'animaux à sang chaud (mammifère, oiseaux…). Certaines entérobactéries rejetées dans l'eau de mer peuvent survivre et se développer dans le milieu si les conditions sont favorables (entérocoques fécaux…). D'autres peuvent sporuler et attendre des conditions plus favorables en attendant de se retrouver dans le corps humain lors d'une infestation directe ou *via* les produits de la mer, notamment ceux qui sont consommés crus ou mal cuits. Ces espèces

bactériennes en se dispersant dans le milieu constituent une voie de contamination des animaux aquatiques.

L'origine de la pollution fécale à la station (A), comme le prouve la valeur minimale du rapport EF/CF (0.22) résulte de sa situation sur les berges, non loin de l'émissaire urbain en provenance de Menzel Abderrahmen. Par contre, la charge fécale à la station (T) vient en priorité des rejets continentaux sortant des petits villages situés en amont. Il est probable que l'étude de la courantologie aurait pu lever toute équivoque à propos de la forte valeur du rapport EF/CF enregistrée à la station (J) (2.16). Notre résultat corrobore cependant celui de Caruso *et al*. (2000), ces auteurs ayant constaté un effet négatif des cours d'eau sur la qualité bactériologique des eaux côtières italiennes avec une augmentation des concentrations en coliformes fécaux pendant les mois les plus froids.

La comparaison de nos résultats avec les données bibliographiques disponibles sur l'état de salubrité de la lagune de Bizerte (tabl. III 9) permet de constater d'une part que peu de travaux ont cherché à l'évaluer et que d'autre part ceux-ci n'ont considéré que la station de Menzel Jemil.

Tableau III9: Comparaison bibliographique de l'état de salubrité relevé dans la lagune de Bizerte.

Références	Lieu de prélèvement	Résultats
Chadli et al., 1986	J parcs (eau)	100% Propres
	bord (eau)	50% Propres
Khalfallah et Majri, 1991	J eau	93,75% Propres
	palourdes et moules	100% Propres
Dellali, (Présent travail)	J,A,B,C,R,T et F	
	eau et sédiments	85,71% propres
	palourdes	57,14% propres
	moules	85,57% propres

La corrélation positive relevée dans la lagune de Bizerte entre la flore fécale et la température est due au fait que le thermopréférendum de ces bactéries commensales du tube digestif d'animaux à sang chaud (surtout des Mammifères) est voisin de 37° C. L'origine entérique des coliformes et des entérocoques explique aussi la corrélation négative, très significative, enregistrée entre la teneur en oxygène

dissous et les charges en ces bactéries, essentiellement anaérobies. Il est curieux par contre de noter une corrélation entre la densité des coliformes et la salinité, l'augmentation haline constituant généralement un facteur d'agression pour les bactéries entériques lors de leur passage dans l'eau de mer (Busta, 1978 ; Gauthier et Pietri, 1989). Il se pourrait que pour le peuplement allochtone d'entérobactéries présentes dans la lagune de Bizerte l'agression haline soit compensée par d'autres facteurs favorables à son développement comme le confinement du milieu en période estivale.

En comparant la répartition des entérobactéries dans les trois compartiments durant la période d'étude, la flore fécale à l'échelle spatio-temporelle, comme le reste de la flore bactérienne, s'est concentrée préférentiellement dans les sédiments puis secondairement dans les palourdes et enfin dans le compartiment aqueux. L'augmentation des charges en coliformes dans les eaux de baignade de la station de Rimel pendant la période estivale (juillet, août et septembre) est liée en partie à l'élévation de température mais surtout à la fréquentation de cette plage, un surnombre d'estivants pouvant entraîner diverses pathologies comme des rhinites ou des vaginites (Aubert et Mor, 1992).

La sortie du mois d'août ayant eu lieu peu de temps après un violent orage, l'augmentation exceptionnelle des charges en coliformes fécaux observée dans les eaux de l'oued Tindja (nettement supérieures à celles relevées dans les sédiments), pourrait expliquer l'enrichissement du cours d'eau en rejets domestiques, surtout animaux.

Les entérocoques fécaux (SF) étant plus résistants aux conditions du milieu marin que les coliformes fécaux (CF) (Majori *et al*.,1985 ; O'shanahan et Monzon-Moreno, 1990), la comparaison du rapport SF/CF (Geldreich, 1978) peut amener à déterminer si la zone prospectée a été ou non exposée en permanence à une contamination d'origine animale. Au niveau de la lagune de Bizerte, ce rapport est apparu minimal à la station de Menzel Abderrahmen (0.22) et relativement faible à la station de l'oued Tindja (0.97) ; ces valeurs dénoncent une pollution récente au niveau du premier site de prélèvement où se déversent des rejets liquides de la ville avoisinante. Au niveau de la deuxième station, la contamination du site est probablement d'origine animale et liée aux rejets sortant des petits villages situés en amont. Par contre, seuls la position relativement éloignée de la station (J) par rapport aux égouts de la ville de Menzel Jemil et les fréquents phénomènes de houle, dus aux

vents soufflant du NW dans cette région, pourraient expliquer au niveau du site la surabondance des entérocoques et les valeurs élevées du rapport SF/CF (2.16) enregistrées. De la même façon, seuls les courants peuvent être à l'origine de la contamination de Faroua par les apports venant de l'oued Tindja. Notons qu'à la station de référence (Rimel), les valeurs très faibles (0.06 à 0.08) du rapport SF/CF enregistrées pour les mois de juillet –août confirment que les coliformes proviennent des activités de baignade.

VI) CONCLUSION

En tenant compte de tous les paramètres bactériens considérés, il est possible de classer les stations prospectées par ordre décroissant de contamination:

1) *La station A de Menzel Abderrahmen, la moins salubre, classée comme zone conditionnelle et polluée en permanence d'une part par la flore fécale et d'autre part par les germes sulfato-réducteurs et les vibrions d'origine essentiellement domestique. Fort heureusement, les palourdes collectées à cette station ne font l'objet d'aucune commercialisation.*
2) *La station T de l'Oued Tindja, souvent insalubre et polluée en permanence par la flore fécale, les germes sulfato-réducteurs et les vibrions en priorité d'origine continentale.*
3) *Les stations F de Faroua, J de Menzel Jemil, C de la baie des carrières et B de Menzel Bourguiba qui ne sont polluées que temporairement par les coliformes, les sulfato-réducteurs et les vibrions venant des rejets domestiques, des eaux continentales et qui peuvent secondairement proliférer en cas d'eutrophisation.*
4) *La station balnéaire R de Rimel sans pollution fécale mais contaminée accidentellement au niveau de ses sédiments par les sulfato-réducteurs en juin et par les vibrions en été pendant la période de baignade.*

Il ressort de l'identification spécifique des formes viables et cultivables de Vibrionaceae que l'espèce Aeromonas hydrophila a été la plus abondante, sa répartition et sa concentration étant directement influencée par certains facteurs abiotiques, notamment la température et l'oxygène dissous.

I) GENERALITES SUR LES BIOMARQUEURS

Les biomarqueurs présentent l'avantage de détecter précocement les effets d'un polluant au sein des individus avant l'apparition d'effets néfastes au niveau de la population (Lagadic *et al*, 1997 a ; Hamza-chaffaï *et al*., 1998). D'autre part, ces biomarqueurs présentent en plus de cet avantage une spécificité relative de leur réponse (Lafaurie *et al*., 1992). Il existe plusieurs marqueurs biochimiques.

1) Le stress oxydant et le métabolisme oxydatif

a) stress oxydant et radicaux libres

Dans les cellules eucaryotes, l'oxygène essentiellement utilisé dans le processus respiratoire subit une réduction et réagit avec l'hydrogène provenant de la déshydrogénation des substances organiques pour donner de l'eau. Cette réaction est couplée à la phosphorylation oxydative (ADP + P $\longrightarrow$ ATP) et permet de fournir de l'énergie aux cellules. Une réduction partielle peut toutefois se produire et engendrer des formes d'oxygène réactives appelées oxydo-radicaux (Lemaire *et al*., 1993 ; Cossu *et al*., 1997 a ; Lagadic *et al.*, 1997 a). Parmi les oxydo-radicaux les plus connus, on peut citer l'anion superoxyde considéré comme toxique parce qu'il peut inactiver certaines enzymes et acides gras insaturés et même casser des brins d'ADN (Brawn et Fridovic, 1980, Cossu *et al*., 1997 a et b).

La métabolisation des polluants passe par diverses réactions de bio-transformation, notamment l'oxydation des xénobiotiques (phase I) et leur conjugaison et transformation en produits hydrosolubles faciles à excréter (phase II). Ainsi, la phase I est une oxydation avec transfert d'électrons réalisée a l'aide des MFO (Mixed Function Oxidases) dont l'EROD (*Ethoxyrésorifine-O-déséthylène*) largement utilisée dans les programmes de biosurveillance. Cependant, Baturo (1995) et Cajaraville *et al.* (2000) ont montré que chez les mollusques la mesure de l'activité EROD n'est pas efficace, d'où la nécessité d'utiliser chez ces animaux d'autres biomarqueurs antioxydants.

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) provient de la dismutation spontanée de l'anion superoxyde sous l'effet de la superoxyde dismutase (SOD). Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre mais il est doué d'une grande réactivité et toxicité et peut servir comme précurseur pour les radicaux hydroxyles (Livingstone *et al.*, 1990) qui sont responsables des processus initiaux de la peroxydation lipidique (Fong *et al.*, 1973)(Figure IV1). Ainsi, les radicaux libres sont une forme particulière des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui

possède un électron célibataire (ou non apparié). Le champ magnétique, crée par sa rotation ou spin, n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié.

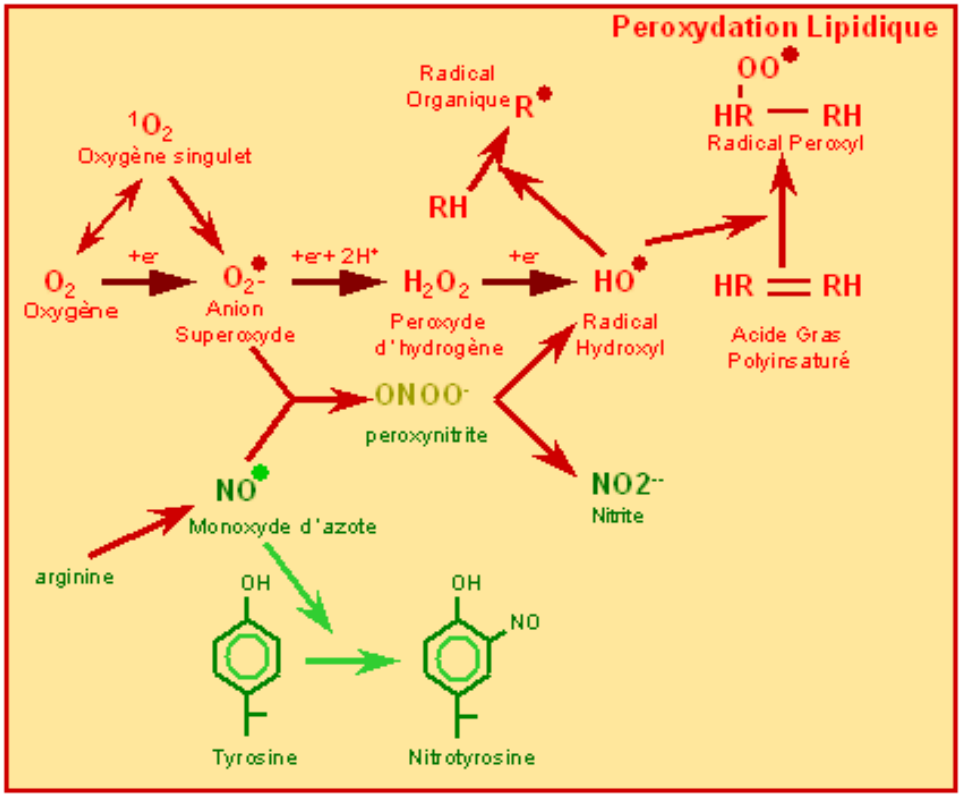


Fig. IV1 : Relations existant entre les radicaux issus de l'oxygène et ceux issus de l'azote. Les espèces à l'état radicalaire sont désignées par un point symbolisant l'électron célibataire.

Plusieurs types d'enzymes antioxydantes interviennent dans la neutralisation de ces radicaux et pourraient être utilisées comme biomarqueurs de contamination de l'environnement. Les plus connus de ces systèmes de défense sont : la catalase, les peroxydases, la glutathion - réductase … Mais ces systèmes biologiques dépendant du potentiel redox seront déréglés, lors du stress oxydant, par une production excessive d'espèces radicalaires. On assistera alors à la surexpression ou l'inhibition d'un nombre important de fonctions biochimiques, anomalies qui viendront s'ajouter aux effets directs des radicaux sur les molécules biologiques (Fig. IV 2).

Il est intéressant de noter que les radicaux libres ne peuvent être considérés que comme des produits nuisibles, leurs rôles utiles se manifestant de plusieurs manières. D'une part, certaines enzymes (ribonucléotide réductase, phénylalanine hydroxylase...) ont besoin de radicaux libres au centre de leur site actif dans la réalisation du cycle catalytique ; d'autre

part, ces radicaux participent au contrôle de la transmission des signaux cellulaires en modulant l'action des protéines kinases.

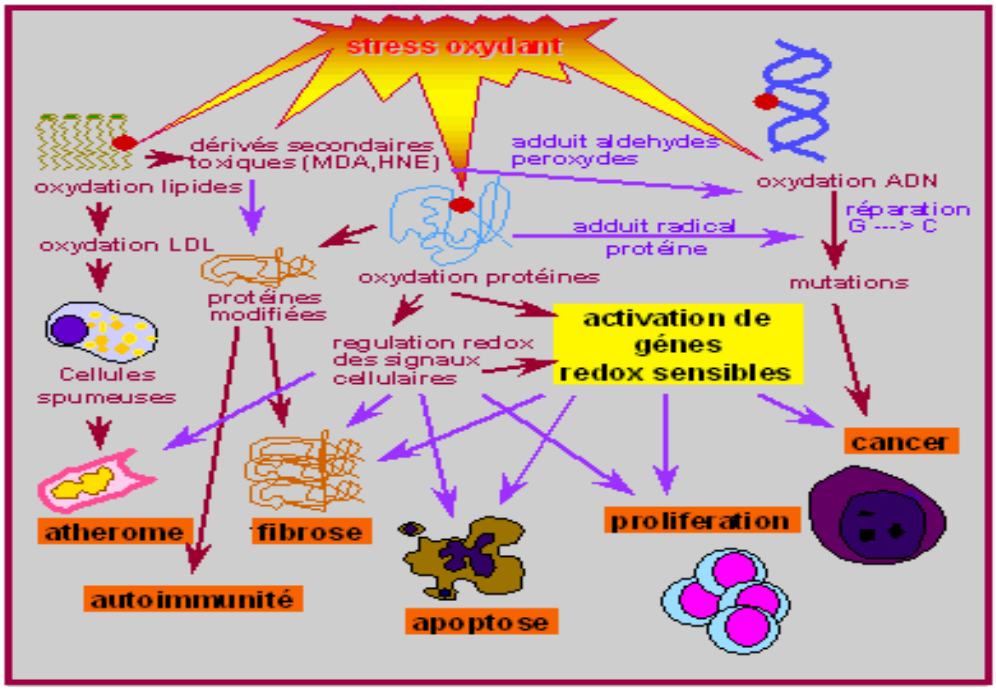


Figure IV 2: Mécanismes des lésions biochimiques induites par le stress oxydant et conséquences cellulaires.

b) Systèmes antioxydants

b1- Superoxyde dismutase :

Le superoxyde dismutase (SOD) appartenant aux métalloenzymes intervient dans la première phase de détoxication. Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée (Lemaire *et al.*, 1993 ; Regoli et principato, 1995 ; Cossu *et al.*, 1997 a et b ; Lagadic *et al.*, 1997 b).

$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$

Cette enzyme présente chez plusieurs groupes animaux (bivalves, poissons, mammifères..) existe sous diverses formes, les plus importantes se trouvant au niveau du cytosol et de la mitochondrie (Lagbouri, 1997). Cette enzyme se caractérise par une activité variable selon les espèces, les tissus et les xénobiotiques (Livingstone *et al.*, 1990 ; Lemaire *et al.*, 1993 ; Viarengo *et al.*, 1995 a ; Venugopal *et al.* ,1997).

b2- Catalase (CAT)

La catalase (CAT) est un groupe d'enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Cette enzyme prévient les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée. Elles sont sensibles à certains

contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB, certains pesticides (Livingstone, 1993).

Cette enzyme catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Regoli et Principato, 1995). La réaction se fait en deux étapes:

$$\text{Catalase (Fe III)} + H_2O_2 \longrightarrow \text{Catalase (Fe V) } H_2O_2$$

$$\text{Catalase (Fe V) } H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow \text{Catalase (Fe III)} + H_2O + O_2$$

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$$

L'activité CAT a été détectée chez plusieurs espèces et différentes groupes zoologique (mollusques, insectes, mammifères…). Elle varie selon l'espèce, les saisons, les conditions abiotiques et la présence de xénobiotiques (Livingstone *et al.,* 1990 ; Pellerin-Massicotte, 1994, Rigoli et Principato, 1995 ; Viarengo *et al.,* 1995 a ; Labrot *et al.,* 1996 ; Cossu *et al*, 1997 a et b, Dellali et Aïssa, 1998 ; Dellali *et al*., 2001 b).

b3 – Lipoperoxydation

La lipoperoxydation (LPO) est une réaction radicalaire en chaîne qui peut provoquer une altération structurale et fonctionnelle des membranes (Kappus, 1987 ; Lagbouri, 1997). Le produit de dégradation des réactions de peroxydation lipidique est le malonedialdéhyde (MDA) qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générées par des contaminants comme les HAP, PCB ou métaux. Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Il présente aussi une variation en fonction de l'espèce, de l'âge, des saisons, des conditions abiotiques, des tissus et surtout de la présence de xénobiotiques (Kappus, 1987 ; Viarengo *et al.* 1990 ; Viarengo *et al.,* 1991 ; Pellerin-Massicotte, 1994; Labrot *et al.,* 1996 ; Cossu *et al,* 1997 a ; Lagbouri, 1997 ; Pellerin-Massicotte, 1997 ; Roméo et Gnassia-Barelli, 1997). Le dosage du taux de MDA est actuellement utilisé comme indicateur de stress oxydatif induit par des contaminants dans les bivalves marins (Pellerin-Massicotte, 1994). Le dosage du MDA est actuellement remplacée par le dosage des TBARS (*thiobarbituric acid reactive substances*)

b4 - Glutathion peroxydases

Ce groupe d'enzymes (GPx) peut exister sous deux formes : l'une séléno-dépendante (Se-GPx) et l'autre séléno-indépendante. Les deux formes de GPx catalysent la réduction de

l'eau oxygénée en eau et hydroperoxydes en utilisant le glutathion comme cofacteur. Ce qui permet une protection efficace de la cellule et par suite de l'organisme contre les dommages oxydants et les radicaux libres (Rigoli et Principato, 1995).

$GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPx} 2H_2O + GSSG$

$2GSH + ROOH\ (Lipoperoxyde) \xrightarrow{GPx} ROH\ (Alcool) + H_2O + GSSG$

Ce groupe d'enzymes présentant une activité variable en fonction de l'espèce, l'organe, la nature et la concentration du polluant (Rageb Radi et Matkovics, 1988 ; Freedman *et al.*, 1989 ; Livingstone *et al.*, 1990 ; Viarengo, 1995 b) peut être utilisé comme biomarqueur d'exposition aux xénobiotiques.

b 5 - Les Glutathion S-transférases

Ce sont des enzymes cytosoliques de métabolisation de phase II, dont la fonction est de conjuguer à une molécule de glutathion une grande variété de substrats pour permettre leur élimination (Habig *et al*., 1974). Ces substrats peuvent être des molécules endogènes, mais aussi des xénobiotiques comme les HAP, les PCB et les pesticides selon la réaction :

GSH + CE-R ------> GS-R + HCE

La catalyse de cette conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés qui seront moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee et Bhattacharya, 1984). Les conjugués du glutathion formés sont ensuite métabolisés par coupure du glutamate et du glycocolle et acétylation du groupe thiol libre de la cystéine. Les dérivés acides mercapturiques qui en résultent sont excrétés. Les glutathion -S- transférases possèdent aussi une activité peroxydasique vis à vis des peroxydes organiques mais pas vis à vis de H_2O_2. Ces enzymes sont présentes sous plusieurs isoformes dont certaines sont inductibles par les contaminants qu'elles détoxiquent. Hayes et Pulford (1995) ont pu mettre en évidence 5 familles d'isoenzymes chez les mammifères et Hoarau (1998) et Hoarau *et al*. (2001) au moins 3 isoformes de GSTs chez la palourde (*Ruditapes decussatus*) exposée à différents polluants. Ceci explique que ce type de biomarqueur puisse être tantôt induit, tantôt inhibé selon le contaminant (Narbonne *et al*., 1991 ; Stein, 1998 ; Dellali et Aïssa, 1998).

2) L'acétylcholinestérase

Les acétylcholinestérases (AChE) qui font partie des cholinestérases hydrolysant les esters de choline se présentent sous différentes formes moléculaires (Stein *et al.* 1998). Selon Bocquené (1996), on peut subdiviser chez les mammifères les cholinestérases en deux

groupes : celui des acétylcholinestérases et celui des butyrilcholinestérases. Contrairement aux systèmes enzymatiques précédents, l'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxication chez les êtres vivants. Cette enzyme est, pour sa part, impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux neurotoxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Murphy 1986 ; Bocquené, 1996). Parmi les composés neurotoxiques, les organophosphorés et les carbamates (70% des insecticides) sont considérés comme les plus puissants inhibiteurs spécifiques des cholinestérases (Brown et Bryson, 1992 ; Lafaurie *et al*., 1992 et Forget, 1998).

Les effets neurotoxiques induits par une grande partie des contaminants majeurs des systèmes aquatiques sont détectables par la mesure de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les espèces animales. Dans les programmes de biosurveillance, surtout celle du milieu aquatique, l'utilisation de ce biomarqueur est largement répandue car sa réponse est proportionnelle au degré de contamination du milieu, spécifique et que son dosage est facile.

2) Classifications des biomarqueurs:

Plusieurs classifications ont été proposées:

- **Selon la spécificité de la réponse** : Il existe deux types de réponses et par suite de biomarqueurs :

❖ *Les biomarqueurs non spécifiques* ou biomarqueurs de stress général qui permettent une évaluation globale de la santé d'un milieu en réponse à un grand nombre de facteurs de stress (Lafaurie *et al*., 1992 ; Lagadic *et al.*, 1997 a ; Stein, 1998). C'est le cas du *stress on stress*, de la perturbation du métabolisme oxydant, marquée par une variation des activités enzymatiques comme celles de la CAT (catalase), SOD (superoxyde dismutase), GSTs (glutathion –S- transférases), GPx (glutathion –peroxydase), LPO (lipoperoxydation), la stabilité de la membrane lysosomale, les adduits de l'ADN…

❖ Les *biomarqueurs spécifiques* dont la réponse est associée à une classe particulière de polluants. C'est le cas de l'acétylcholinestérase (AChE) dont l'activité est essentiellement inhibée par les composés organophosphorés et les carbamates, des métallothionéines (MT) spécifiques aux métaux, des « *Mixed Function Oxidase* » (MFO) induites par les HAP et les PCBs…

➢ **Selon l'effet du xénobiotique sur l'organisme** :

La présence de polluants chimiques dans l'organisme induit des changements moléculaires correspondant à deux types d'effets:

❖ *Augmentation de certains systèmes protecteurs* : c'est le cas par exemple de la CAT permettant la dégradation des molécules d'hyperoxyde d'hydrogène, du cytochrome P450 (système enzymatique mono-oxygénase dépendant du cytochrome P450) dont la fonction est d'introduire un atome d'oxygène sur des polluants organiques hydrophobes en les transformant en métabolites hydrosolubles, des métallothionéines qui piègent les métaux toxique (Hamza-chaffai *et al.*, 1995; Roméo *et al*. 1997 et Viarengo *et al*., 1999) et des GSTs permettant la métabolisation des polluants hydrophobes en composés hydrophiles par conjugaison des radicaux libres au groupement thiol des GSTs.

❖ *Modification de l'activité de certaines substances biologiquement actives pouvant devenir toxiques :* C'est le cas de l'acétylcholinestérase (AChE) dont l'activité est inhibée par les composés organophosphorés et les carbamates ou encore de l'induction des monooxygénases à fonction mixte (MFO) qui constitue une réponse protectrice mais peut provoquer par débordement de ce système, un dommage cellulaire par apparition de métabolites réactifs.

Pour surveiller l'état de santé de la lagune de Bizerte, il a été choisi deux catégories de marqueurs biochimiques : trois aspécifiques pour répondre à une perturbation mixte du site de prospection et notamment à une pollution bactérienne et en plus un biomarqueur plus spécifique pour détecter une éventuelle pollution agricole

- le *stress on stress* utilisé pour une simple comparaison stationnelle de l'état de santé général des bivalves.
- L'activité catalase CAT (EC 1.11.1.6), l'une des activités enzymatiques antioxydantes souvent augmentée en présence de polluants aquatiques (Cossu *et al*., 1997) et connue pour être induite notamment par divers polluants organiques (HAP, PCB) (Cossu *et al.*, 1997).
- Les GSTs (EC 2.5.1.18), enzymes de phase II, ayant dans certains cas une action antioxydante qui interviennent dans un deuxième temps et participent à l'élimination du polluant.
- L'activité AChE, connue pour être inhibée par les organophosphorés et les carbamates (Brown et Bryson, 1992 ; Lafaurie *et al*., 1992 ; Forget, 1998 ; Mora *et al*., 1999). Son

inhibition est proportionnelle au degré de contamination du site prospecté (Galgani et Bocquené, 1989 ; Bocquené et Galgani, 1991 ; Escartin et Porte, 1997 ; Stein *et al*., 1998).

II) RESULTATS

1) *Stress on stress*

Les figures IV3a et IV3b illustrent les variations spatiales des TL50 pour des moules et des palourdes collectées au niveau des stations (A, C, F et J) pendant la campagne estivale (août 1999).

D'après les résultats de la comparaison des TL50 par le test t de Student (tabl. IV1), il est apparu chez les palourdes des différences significatives ($p < 0.05$) voire très significatives ($p < 0.01$), de résistance physiologique selon le site, les animaux ayant été préexposés dans leur milieu à des conditions abiotiques différentes. Ainsi, ce sont les palourdes provenant de Faroua qui ont le mieux résisté à l'anoxie (TL50 = 8.66 ± 0.85 j) et au contraire celles originaires de Menzel Abderrahmen qui ont présenté la plus faible résistance au *stress on stress* (TL50 = 6 ± 0.84 j)

Tableau IV1 : Comparaison des TL 50 des bivalves provenant des différentes stations par le test de Student : A : Menzel Abderrahmen, J : Menzel Jemil, F : Faroua, C : Baie des carrières, M : moules, P : palourdes, S : différence significative, TS : différence très significative, NS différence non significative

	PA	PF	PJ	MC
PJ	0.048 S	0.013 S		
PF	0.0028 TS			
MJ			0.032 S	0.36 NS

En ce qui concerne les moules par contre, les TL50 pour celles originaires de la baie des Carrières et celles provenant de Menzel Jemil (TL50 = 6.23 ± 0.51j) n'ont pas été significativement différentes, ce qui pourrait plaider en faveur soit de conditions environnementales relativement similaires au niveau de ces deux sites soit d'une plus faible sensibilité des moules à la variation spatiale des composantes abiotiques.

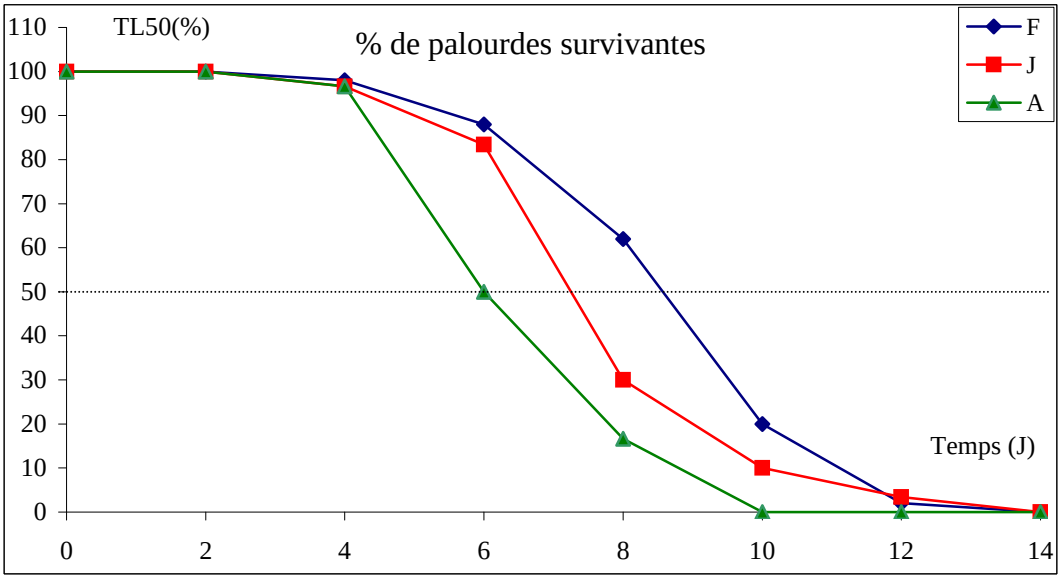


Fig. IV3a : Comparaison des TL 50 des palourdes collectées au niveau des stations A, J et F de la lagune de Bizerte. A : Menzel Abderrahmen, J : Menzel Jemil, F : Faroua

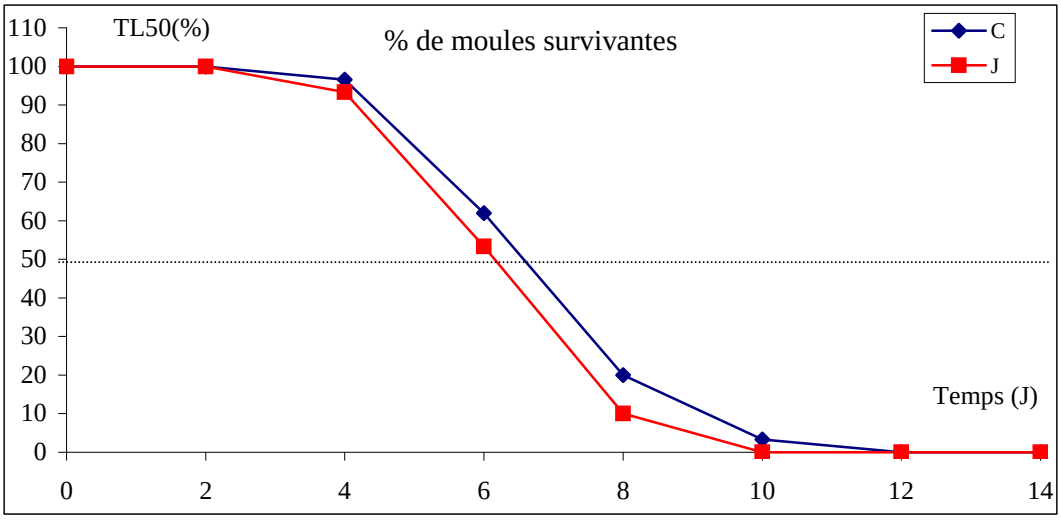


Fig. IV3b : Comparaison des TL 50 des moules collectées au niveau des stations J et C de la lagune de Bizerte. J : Menzel Jemil, C: Baie des carrières

Pour les animaux collectés à la station de Menzel Jemil, il a été procédé a une comparaison des TL50 des palourdes et des moules, montrant que les palourdes résistent mieux à l'anoxie que les moules ($p = 0.032$), ce qui pourrait indiquer l'intervention chez ces deux espèces de mécanismes différents de métabolisation et de lutte contre la contamination.

Tableau IV 3 : Comparaison bibliographique des TL 50 relevés chez les moules et les palourdes.

Référence	Lieu	Espèce	TL50
Interreg (1993)	Bordighera (Italie)	Mytilus galloprovincialis	7.10
	Frontière France - Italie	Mytilus galloprovincialis	7.40
Percic (1996)	Frontière France - Italie	Mytilus galloprovincialis	7.1 –7.5
Hamza-Chaffaï *et al*. (1998)	Sète (France)	Ruditapes decussatus	9.75
Khessiba (1999)	Lagune de Bizerte	Ruditapes decussatus	5.75
	Lagune de Bizerte	Mytilus galloprovincialis	4.16 – 8.17
Dellali (*Présent travail*)	Lagune de Bizerte	Ruditapes decussatus	6 – 8.66
	Lagune de Bizerte	Mytilus galloprovincialis	6.23 – 6.67

En comparant nos résultats pour la palourde à ceux de la bibliographie (tabl. IV3) les TL50 obtenus dans cette étude ponctuelle sont supérieurs à ceux d'individus collectés dans le même site en décembre 1998 (Khessiba, 1999) mais ils sont inférieurs à ceux enregistrés avec des spécimens ramassés sur les côtes françaises (TL50 = 9.75 j)

Il est probable que la résistance à l'anoxie varie non seulement avec le site mais aussi avec l'état général de l'animal.

Les TL 50 pour les moules de la lagune de Bizerte, proches de ceux obtenus par Khessiba en 1999 avec les mêmes lieux de collecte, sont inférieurs à ceux signalés pour des animaux collectés sur les côtes de la Méditerranée occidentale. Il faut remarquer que ces plus faibles valeurs des TL 50 obtenus avec les animaux de la lagune de Bizerte, par rapport à d'autres sites, sont liées certes à des conditions abiotiques différentes mais aussi à deux autres raisons. La première est que les TL 50 cités plus haut (tabl. IV3) se rapportent à des moules de milieu franchement marin ; la seconde est liée à l'absence de standardisation, les animaux n'étant pas tous soumis pendant la période d'anoxie à la même température.

On peut conclure que la réponse au stress on stress s'avère être une méthode originale qui peut être utilisée comme outil d'évaluation globale des contaminations côtières

car elle permet de comparer des taux de pollution mais non un type précis de contamination. Il est cependant nécessaire pour évaluer l'état de santé d'un écosystème de compléter l'étude du stress on stress par le suivi d'autres biomarqueurs plus spécifiques.

2) La catalase

a) Activité catalase des Palourdes

Le suivi des activités mensuelles (CAT) dans la masse molle de *Ruditapes decussatus* montre une nette évolution temporelle de la réponse enzymatique, quelle que soit la station de prospection (Fig. IV4). Ainsi, les activités CAT ont varié, toutes stations confondues, entre un minimum de 42,01 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot en juillet (J) et un maximum de 189,32µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot en septembre (J), les augmentations étant plus marquées pour l'ensemble des stations durant les mois d'août- septembre et toujours supérieures à 146µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot. (fig.IV4).

D'après le calcul des activités CAT moyennes, effectué pour évaluer leur évolution temporelle, toutes stations cumulées, la plus faible réponse mensuelle (101,56 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) a été enregistrée en avril 99 (Fig.IV5 ; tabl IV4) et la plus forte en septembre (178.83 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.). La comparaison des activités mensuelles moyennes par rapport à la moyenne annuelle par le test de Student montre une augmentation très significative ($p < 0.001$) pendant les deux mois les plus chauds de l'année (août et septembre) alors que pendant le reste de l'année la variation demeure non significative. D'ailleurs, toutes les activités moyennes CAT ont été inférieures à la moyenne annuelle hormis celles relatives aux mois d'août, septembre et octobre (tabl. IV4).

Il ressort de l'étude de la réponse enzymatique de la palourde en tenant compte des stations de collecte qu'au niveau de Menzel Jemil l'activité mensuelle (CAT) a été souvent plus élevée qu'aux autres sites, notamment en septembre (189,32µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot pour seulement 174,8 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot à Menzel Abderrahmen et 172,36 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot à Faroua (Fig.3). En ce qui concerne les palourdes de la station de Menzel Jemil, les mesures mensuelles de leurs activités CAT ont permis d'observer deux périodes dans le suivi annuel . Ainsi, la première de faibles augmentations (activités CAT<100 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) s'étend de décembre à mai alors que la seconde démarre dès le mois de juin avec des activités enzymatiques plus fortes (> 100 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) qui croissent et deviennent maximales

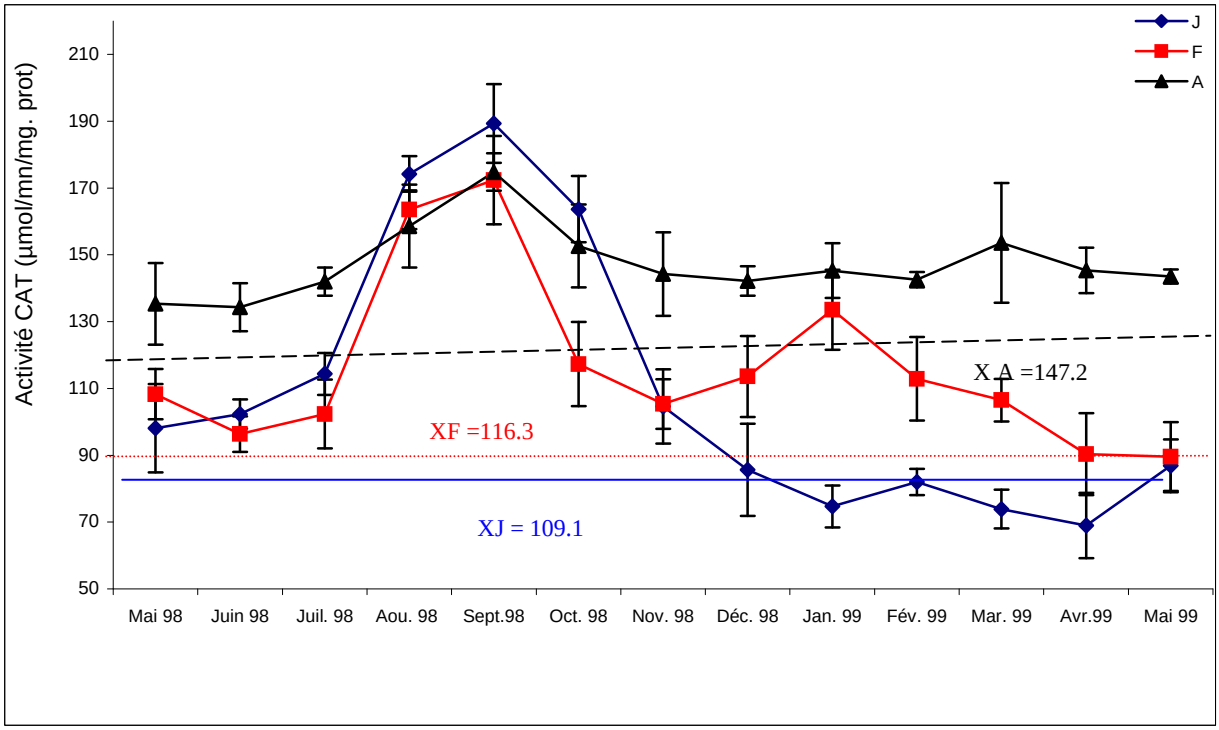


Fig. IV 4: Suivi spatio-temporel de l'activité CAT (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) chez la palourde de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Palourdes de Menzel Abderrahmen ; F : Palourdes de Faroua et J : Palourdes de Menzel Jemil. XA, XF et XJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité CAT chez les palourdes des stations A, F et J

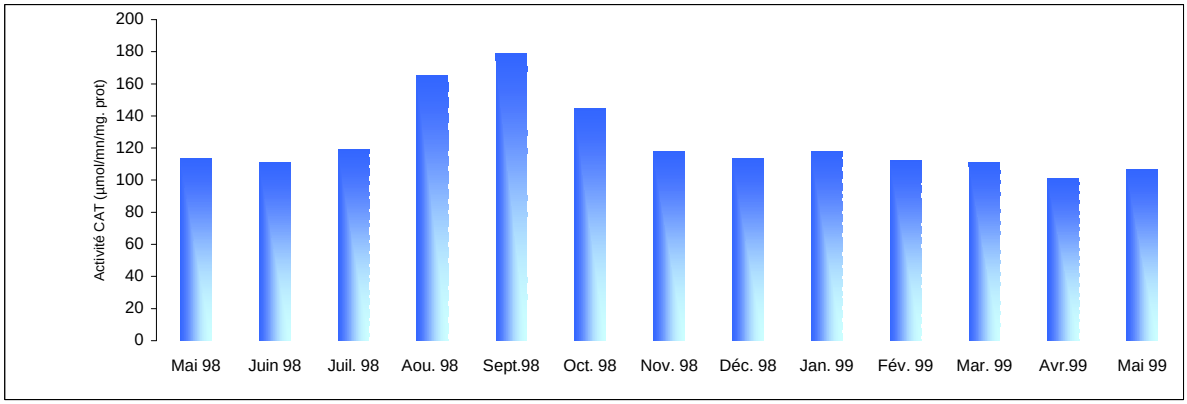


Figure IV5: Suivi annuel de l'activité CAT (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) mensuelle moyenne chez la palourde de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues (mai 1998 – mai 1999).

au mois de septembre, la réponse étant alors presque égale au double de celle enregistrée en mai 98.

Le suivi de l'évolution temporelle des activités de la catalase chez les palourdes de Faroua a mis en évidence l'existence de deux pics d'induction, le plus important étant observé en septembre (172,36 $\pm$ 13,2 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) et le second moins marqué au mois de janvier (133,54 $\pm$ 12 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot). C'est à Menzel Abderrahmen que les palourdes ont présenté les réponses enzymatiques les plus constantes (tabl. IV4), l'écart maximal des activités mensuelles CAT n'étant que de 40.5 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot pour des écarts plus importants aux stations de Faroua et Menzel Jemil, soit respectivement 82.76µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot et 120.35µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.

b) Activité catalase des Moules

Pour les moules vivant en pleine eau à distance des sédiments contaminés, la réponse enzymatique a été généralement plus faible que celles enregistrée chez les palourdes, les valeurs moyennes étant respectivement égales à 67.09µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot (moules) et 124.24 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot (palourdes) (tabl. IV5). La comparaison des données enzymatiques mensuelles (Fig.IV6 et IV7) montre dans l'ensemble la même évolution temporelle que celle relevée chez les palourdes avec des activités CAT plus faibles (< 72 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) et relativement stables de novembre en juin puis des inductions estivales ; celles-ci ont été maximales en septembre (87.59 ± 11,7µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot à Menzel Jemil et 83,54 ±7.5µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot à Faroua).

La comparaison de l'activité CAT pour les moules provenant des deux sites J et C a montré que celle-ci a été la plus élevée chez les animaux de la station C durant une grande période de l'année (10/13 mois). Une forte augmentation a été notée chez les animaux de la station (J) pendant la période allant d'août à octobre avec une augmentation de 72% entre juin et septembre.

c) Influence des facteurs du milieu

Il a été calculé les coefficients de corrélation de Bravais-Pearson entre l'activité CAT et certains facteurs abiotiques, peu stables dans la lagune de Bizerte et susceptibles de moduler la réponse de ce biomarqueur (température, teneur en oxygène, salinité et pH) (tableau IV5). Cette activité enzymatique a été souvent corrélée significativement, positivement avec la température et négativement avec l'oxygène dissous aussi bien chez la moule que chez la palourde, exception faite des palourdes de Faroua. Le pH et la salinité ont

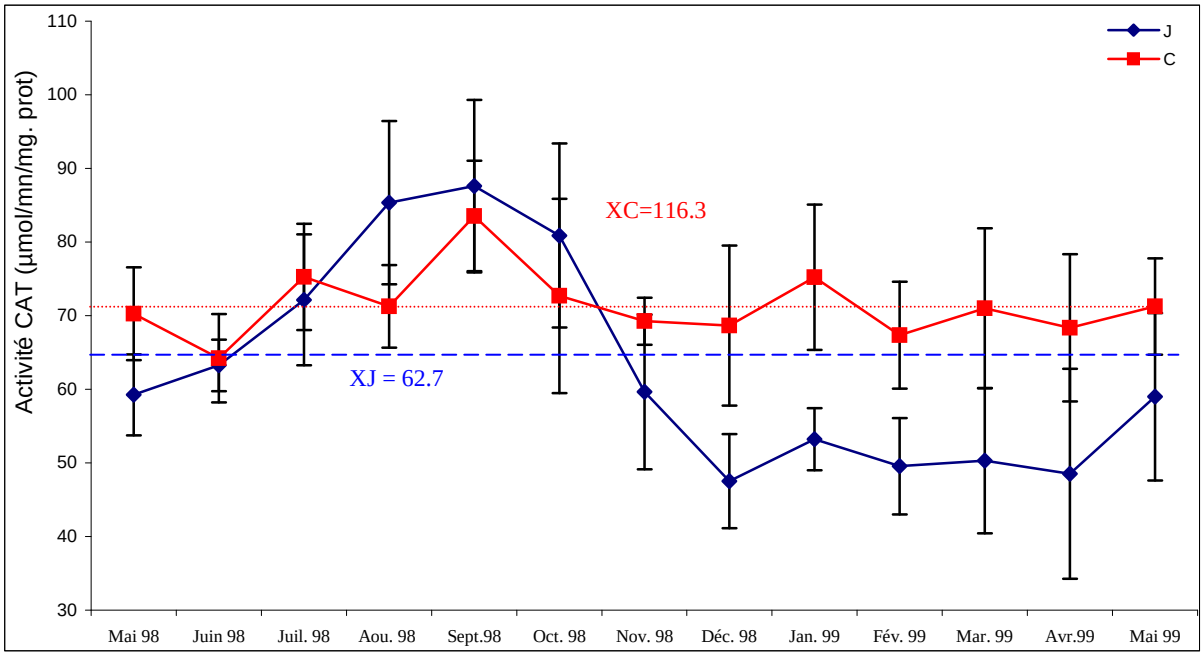


Fig. IV 6: Suivi spatio-temporel de l'activité CAT (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) chez la moule de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

C : moules de la Baie des carrières et J : moules de Menzel Jemil. XC etXJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité CAT chez les moules des stations C et J

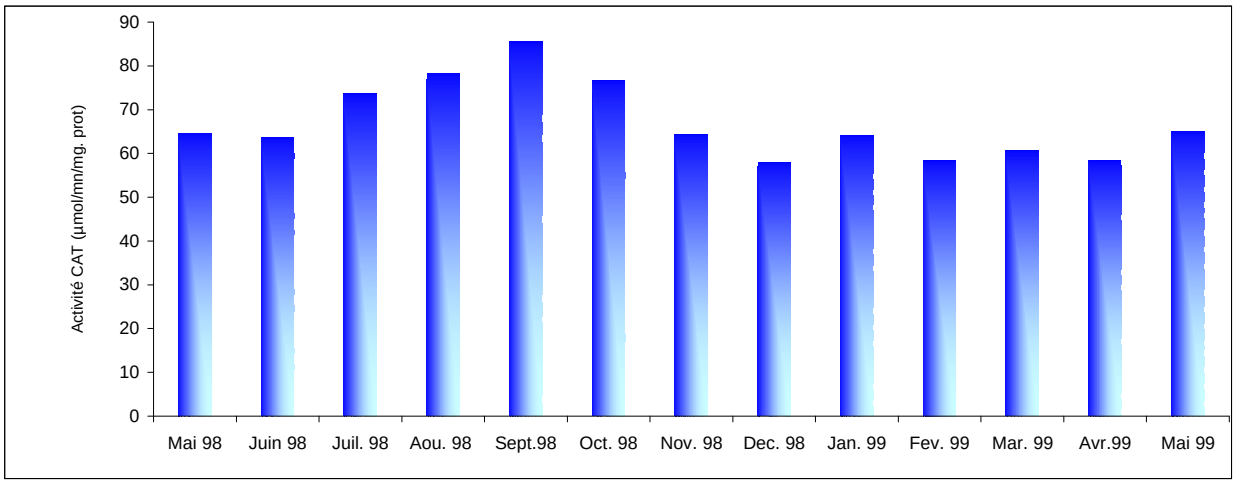


Figure IV7: Suivi annuel de l'activité CAT (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) mensuelle moyenne chez la moule de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues. (mai 1998 – mai 1999).

présenté des coefficients non significatifs sauf chez les animaux de Menzel Jemil, l'activité CAT ayant évolué dans le même sens que la salinité (corrélation très significative) (tabl. IV5).

Tableau IV5 : Coefficients de corrélation entre l'activité catalase (CAT) et certains facteurs du milieu ; ddl =11.
A : Menzel Abderrahmen ; C: Baie des carrières; J : Menzel Jemil et F : Faroua
TS : Très significatif (p<0.001) ; S: significatif (p<0.05) ; NS : non significatif .

Espèce	***Palourde***			***Moule***	
Paramètres / station	**A**	**F**	**J**		**C**
Température/ CAT	0,53 NS	0,45 NS	**0,84 TS**	**0,91 TS**	**0,60 S**
Oxygène/ CAT	-0,54 NS	-0,42 NS	**-0,90 TS**	**-0,79 TS**	-0,53 NS
Salinité/ CAT	0,18 NS	0,33 NS	**0,77 TS**	**0.75 TS**	0.37 NS
pH/ CAT	-0.15 NS	0.02 NS	0.02 NS	0.07 NS	-0.22 NS

4) Discussion

Chez les mollusques marins exposés à des xénobiotiques, la pollution chimique induit fortement la formation d'oxyradicaux libres et augmente les activités enzymatiques antioxydantes (Livingstone *et al*. ,1990). Le métabolisme cellulaire est altéré soit par liaison de ces radicaux aux biomolécules solubles ou membranaires soit par réaction avec les groupements thiols (SH) de biomolécules telles que les peptides ou les protéines (Christie et Costa, 1984 ; Kägi et Hapke, 1984 ; Goering *et al.*, 1987 ; Viarengo *et al*., 1990). Ces altérations cellulaires induisent un stress oxydant qui se traduit par la formation de nombreuses espèces réactives de l'oxygène qui sont potentiellement toxiques (Borg et Schaich.,1984). Parmi les défenses antioxydantes de la cellules, on note la catalase dont l'activité renseigne sur le degré d'altération de la cellule (Richard *et al.*, 1993). Rodriguez – Ariza *et al.* (1993) ont montré que les poissons se protègent du stress oxydant provoqué par les polluants organiques (hydrocarbures, pesticides…) en augmentant leur activité catalase. Chez les bivalves, Torreilles *et al.* (1996) ont prouvé que leur glande digestive réagit à la stimulation par les contaminants en produisant des espèces oxygénées réactives qui induisent la production d'enzymes antioxydantes. Les travaux effectués sur les biomarqueurs de stress oxydant (au laboratoire et surtout dans le milieu naturel) tendent à montrer que le caractère « aspécifique de leur réponse constitue un avantage comme indicateur d'un état de pollution mixte » (Cossu *et al*., 1997 a). Ainsi, le suivi des activités CAT chez des palourdes et des moules collectées dans la lagune de Bizerte révèle des modifications temporelles qui

sont sous l'étroite dépendance de certains facteurs abiotiques du milieu, notamment la température et l'oxygène, très limitants en milieu lagunaire. L'effet de l'augmentation de la température sur l'activité catalase a déjà été observé chez des moules provenant d'une zone estuarienne (Pellerin-Massicotte, 1994). D'autre part, Abel *et al*. (1998) ont signalé que la diminution de la teneur en oxygène était à l'origine d'un stress oxydant tendant à augmenter l'activité catalase. C'est ainsi qu'au niveau de la station de Menzel Jemil, il s'est produit pendant la saison estivale par suite du confinement une nette augmentation des températures et subséquemment une diminution des taux en oxygène dissous, à l'origine d'un phénomène épisodique de forte eutrophisation, plusieurs fois signalé dans la littérature (Dridi,1977 ; Aïssa 1991 et Dellali et Aïssa, 1998).

Tableau IV 6: Comparaison statistique intersite des activités CAT mensuelles : valeurs de p déterminées à partir du test de student (t) non apparié (ddl = 18).

S : significatif (5%) ; TS : très significatif (1%); NS: non significatif

A : Menzel Abderrahmen ; F: Faroua et J: Menzel Jemil; C: Baie des carrières.

		Mai 98	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan 99.	Fév.	Mars	Avr.	Mai99
	J/F	NS	NS	NS	**S**	NS	**TS**	NS	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**S**	**S**
Palourdes	J/A	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**NS**	**S**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**
	F/A	**TS**	**TS**	**TS**	NS	NS	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**
Moules	J/C	**TS**	NS	NS	**TS**	NS	NS	**S**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**	**TS**

Le maintien durant la majeure partie de l'année des activités CAT à un niveau relativement élevé dans les palourdes de Menzel Abderrahmen montre que les animaux récoltés dans ce site sont soumis en continu à un stress oxydant plus important qu'ailleurs. Cependant, la non spécificité d'un biomarqueur comme la catalase empêche d'identifier la véritable cause du stress observé (tabl. IV6). Il est probable que celui-ci résulte en premier lieu d'une perturbation anthropique, engendrée par les rejets domestiques de la ville avoisinante mais il n'est pas impossible non plus qu'interviennent la position du site, son hydrodynamisme et leurs implications sur le degré de dilution des contaminants. Ce point explique qu'il soit peu aisé d'établir un classement annuel des stations selon l'importance du stress oxydant chez les bivalves étudiés. Ainsi, lorsque les eaux ne sont pas confinées, Menzel Abderrahmen apparaît la plus perturbée, Menzel Jemil arrivant en dernière position. Par contre, cet ordre s'inverse d'août en septembre quand la lagune est le siège d'une eutrophisation localisée comme c'est le cas au niveau de Menzel Jemil. Cette observation limitée dans le temps exclut une origine purement anthropique de la perturbation observée

dans la lagune de Bizerte. Les faibles augmentations de l'activité catalase notées à la station de Faroua pendant la période allant de décembre à février 1999 avec un pic assez net au mois de janvier pourrait s'expliquer par la localisation du site recevant des apports terrigènes transitant par l'oued Tindja en période de crues. Ces apports pourraient enrichir la lagune en divers contaminants organiques, notamment en pesticides et en engrais chimiques, connus pour induire l'activité catalase (Rodriguez-Ariza *et al*., 1993).

En ce qui concerne les moules, il apparaît que ce sont celles de la baie des carrières qui ont souvent montré les activités (CAT) les plus élevées et les moins variables, consécutivement à l'exposition de ces mollusques à divers polluants (tabl. IV 6). Le site pourrait être contaminé conjointement par les rejets urbains, les bateaux transitant par le canal de Bizerte, la cimenterie toute proche et secondairement les hydrocarbures rejetés dans le port et/ou l'effluent sortant de la raffinerie de Bizerte (Beyrem, 1999). La faible augmentation de la réponse enzymatique qui a été observée à la baie des Carrières en été s'explique par l'absence de fluctuations thermiques marquées au niveau de cette station marinisée. Les moules de la station mytilicole de Menzel Jemil n'ont manifesté une augmentation notable du stress oxydant qu'en période d'eutrophisation.

En conclusion, nos résultats valident l'utilisation in situ du suivi de l'activité catalase chez les palourdes et chez les moules provenant d'écosystèmes perturbés anthropiquement et/ ou naturellement comme celui de la lagune de Bizerte

3) L'Acétylcholinestérase

Les Figures IV8 et IV 10 représentent le suivi annuel de l'activité acétylcholinestérasique (AChE) chez les deux espèces étudiées.

a) Réponse des palourdes

Il ressort de la comparaison des activités mensuelles AChE chez la palourde que les animaux provenant de la station (A) ont présenté les plus faibles activités AChE de mai 1998 à mars 1999 avec une activité minimale de 1,77 ± 0,43 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1} en juillet 1999. Il faut cependant noter que les palourdes de cette station ont montré pendant la saison hivernale (de décembre 98 à février 99) une légère augmentation de l'AChE (>3,10 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}).

Par contre, les palourdes de Menzel Jemil ont presque toujours présenté les plus fortes activités AChE (> 4 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1} durant la période mai - novembre 98 et le mois de mai 99) avec cependant durant le mois de mars 99 une réponse enzymatique

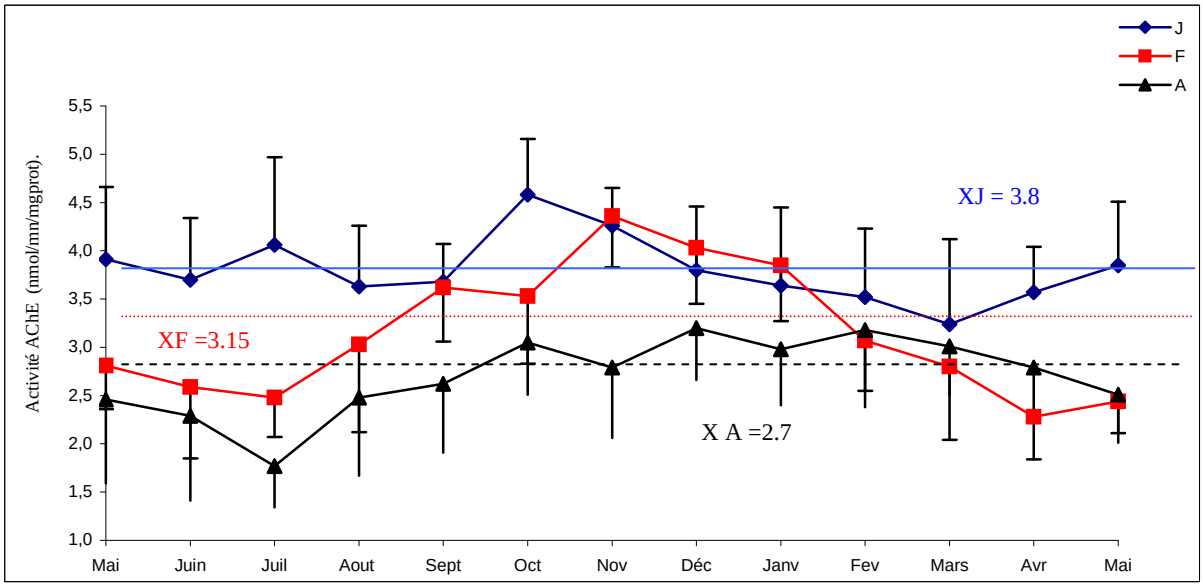


Fig. IV 8: Suivi spatio-temporel de l'activité AChE (nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) chez la palourde de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Palourdes de Menzel Abderrahmen ; F : Palourdes de Faroua et J : Palourdes de Menzel Jemil. XA, XF et XJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité AChE chez les palourdes des stations A, F et J

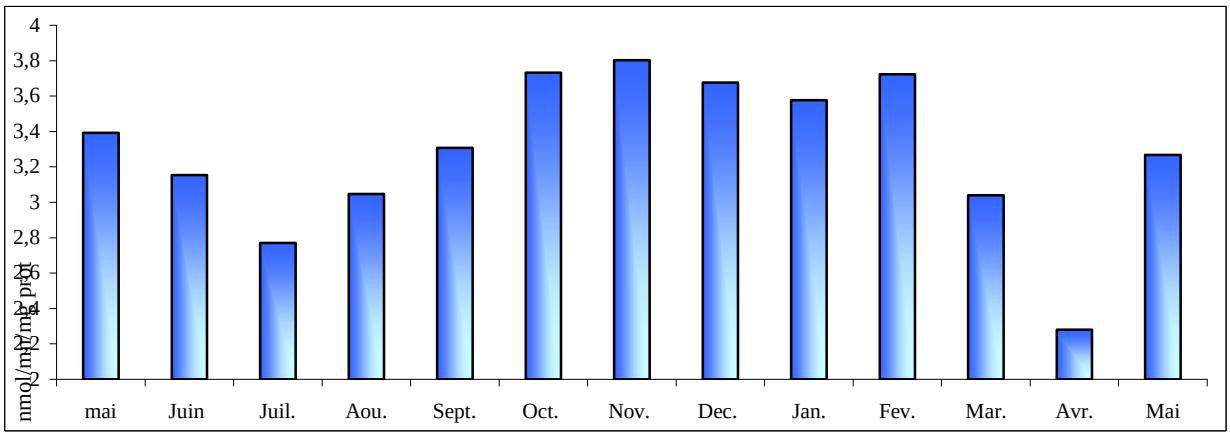


Figure IV9: Suivi annuel de l'activité AChE (nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) mensuelle moyenne chez la palourde de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues. (mai 1998 – mai 1999).

minimale (3,04 ± 0,88 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}), tout à fait similaire à celles enregistrée aux deux autres stations.

Les activités AChE des palourdes provenant de Faroua, plus fluctuantes au cours de la période de prospection (tabl. IV7) ont été comprises entre un minimum de 2,28 ± 0,44 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}. en avril 99 et un maximum de 4,36 ± 0,53 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1} en novembre 98 avec des inhibitions enzymatiques très nettes pendant les périodes avril- juillet 98 et avril-mai 99. C'est ainsi que l'activité AChE égale en février 99 à 4,07± 0,44 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1} a chuté à 2,28 ± 0,44 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1} en avril de la même année.

D'après les tests statistiques de comparaison des valeurs stationnelles pour un même mois de prospection (Tableau IV 8), les activités AChE des palourdes de Menzel Jemil ont été 10 mois sur 13 significativement ou très significativement plus élevées que celles observées chez les animaux de Menzel Abderrahmen, ces réponses enzymatiques étant également assez souvent différentes (10 mois/ 13) des activités plus modérées relevées pour les palourdes de Faroua. C'est ainsi que pendant les 3 mois de la saison printanière (avril, mai, juin), il est apparu une inhibition significative des activités AChE des palourdes de Menzel Abderrahmen et de Faroua comparativement à celles observées chez les animaux de Menzel Jemil.

Le suivi temporel de l'activité AChE moyenne chez la palourde de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues (Fig. IV9), a montré des réponses minimales aux mois de mai et deux périodes d'inhibition de l'activité AChE , la première bien marquée au printemps et la seconde en hiver, au début novembre.

b) Réponse des moules

En ce qui concerne l'activité enzymatique observée dans la masse molle totale des moules de J et A, les animaux récoltés au niveau de Menzel Jemil ont présenté les plus fortes activités enzymatiques de mai 98 en février 99 avec une réponse maximale en septembre 98 (6,22 ± 1,4 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}.) mais ces différences n'ont pas été significatives exception faite des échantillons du mois d'août (tabl. IV 10). A partir de mars 99, l'activité AChE a diminué progressivement, quelle que soit la station, mais la pente a été plus forte pour les animaux de Menzel Jemil.

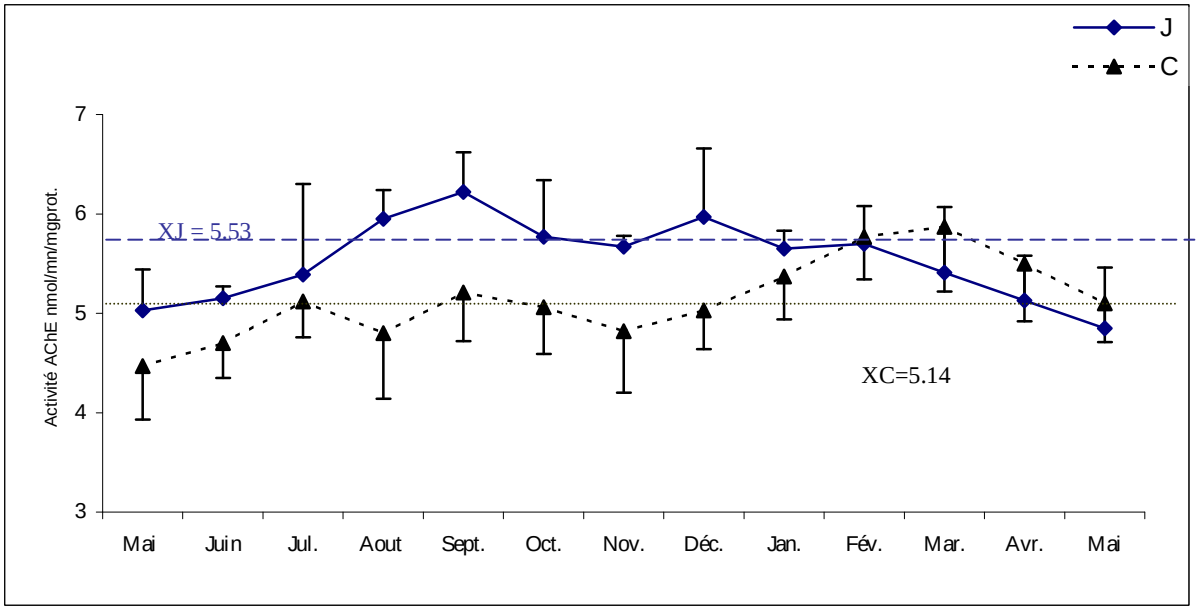


Fig. IV 10: Suivi spatio-temporel de l'activité AChE (nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) chez la moule de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

C : moules de la Baie des carrières et J : moules de Menzel Jemil. XC etXJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité AChE chez les moules des stations C et J

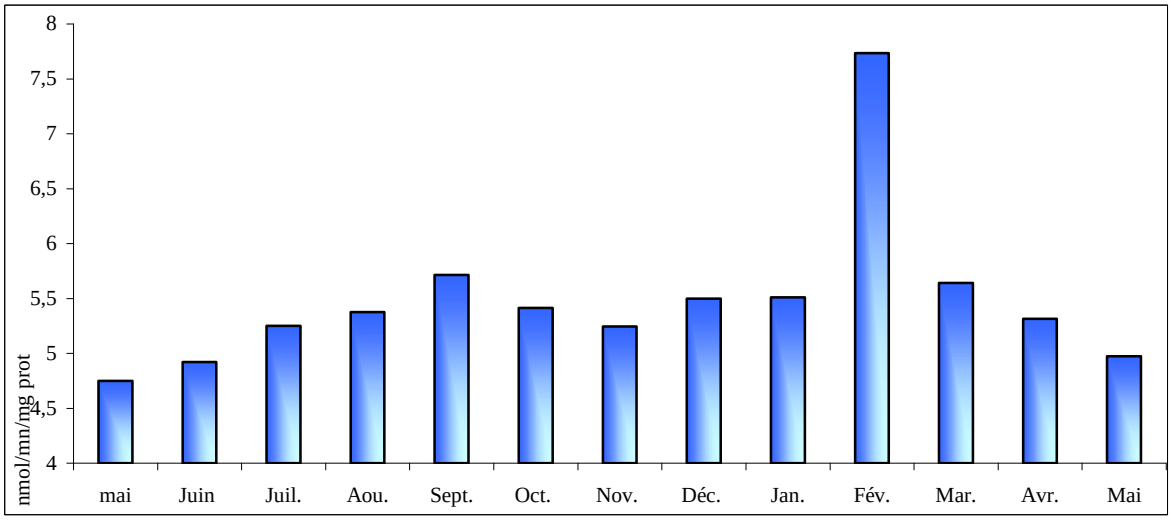


Figure IV11: Suivi annuel de l'activité AChE (nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) mensuelle moyenne chez la moule de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues (mai 1998 – mai 1999).

c) Discussion

Plusieurs travaux réalisés essentiellement *in vivo* ont montré que l'activité acétylcholinestérasique était inhibée par certains xénobiotiques (organophosphorés et carbamates), ceux-ci réagissant de façon covalente avec l'enzyme comme le fait le substrat (Aldrige et Reiner, 1972). Par conséquent, plusieurs auteurs ont considéré l'activité AChE comme indicateur spécifique de l'exposition à des pesticides organophosphorés et carbamates (Galgani et Bocquené, 1989 ; Day et Scott, 1990 ; Bocquené et Galgani, 1991 ; Escartin et Porte, 1997) et ont prôné son utilisation dans des programmes de biosurveillance nationaux (Lafaurie *et al*., 1992) et internationaux comme le RAMOGE (France, Italie et Monaco) (Stein *et al*., 1998). Il est cependant intéressant de signaler que pour d'autres auteurs (Devi et Fingerman, 1995, Labrot *et al*., 1996 et Amiard-Triquet *et al*., 1998), l'activité AChE, modérée par la présence de métaux lourds *in vivo* et *in vitro*, peut être également considérée comme indicateur de pollution métallique. Selon Bocquené *et al.* (1997 a), l'activité AChE peut même être inhibée par les anatoxines libérées lors des périodes de prolifération du phytoplancton. Dans tous les cas, la diminution de l'activité AChE résulte d'une perturbation des conditions environnementales et constitue un signal d'une éventuelle altération de l'écosystème.

En l'absence de données bibliographiques sur l'activité AChE des palourdes *in situ*, il n'a pu être envisagé de comparer la réponse enzymatique des palourdes originaires de la lagune de Bizerte avec les données existantes. En revanche, ceci a été possible pour la moule *Mytilus galloprovincialis* ; ainsi, il s'avère que nos valeurs, comprises entre 4,47 $\pm$ 0,94 et 5,87 $\pm$ 0,65 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}, sont comparables à celles enregistrées (entre 4,6 et 6,9 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) par Najimi 1997 chez des moules collectées dans la baie d'Agadir (Maroc) ou encore à l'activité moyenne annuelle AChE (4 ± 0.1 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}) relevée dans la glande digestive de moules prélevées dans le delta de l'Ebre (Espagne) (Escartin et Porte, 1997). Ajoutons que ces auteurs ont montré que la réponse enzymatique était nettement plus forte au niveau des branchies (24,2 ± 3,5 nmol.mn^{-1}.mg prot^{-1}).

Dans la lagune de Bizerte, la localisation des stations de collecte des palourdes et par suite l'état des sédiments expliquent largement la variation spatiale de leurs réponses AChE. Ainsi, des activités AChE relativement modérées ont été notées, durant presque toute la période d'étude, chez les palourdes de la station (A), limitrophe de la ville de Menzel Abderrahmen, ce site recevant en continu des eaux usées non traitées (avant la mise en fonction de la station d'épuration). Il est probable que ces rejets enrichissent le secteur en

toutes sortes de polluants, entre autres des organophosphorés intervenant dans la composition de divers produits ménagers ainsi que certains métaux traces. D'ailleurs, plusieurs données bibliographiques ont fait état pour la station A de taux relativement élevés en métaux, susceptibles de contaminer des organismes filtreurs et fouisseurs tels les palourdes. Ainsi, Dellali (1996) et Essid (1999) ont enregistré dans les sédiments de la station (A) des teneurs en Cd, Ni, Pb et Zn relativement élevées (tabl IV9). Fort heureusement, les palourdes de Menzel Abderrahmen constituent une population isolée qui ne fait l'objet d'aucune récolte pour la consommation humaine.

Tabl. IV 9 :Teneurs des sédiments des stations de Menzel Abderrahmen (A) et de Menzel Jemil (J) en certains métaux en ppm (d'après Dellali, 1996 et Essid, 1999). En gras : valeur stationelle maximale.

Auteurs	**Dellali, 1996**		**Essid, 1999**	
Stations	**A**	**J**	**A**	**J**
Zn	181	128	120.1	84.14
Cd	1	1	-	-
Ni	18.5	45	89	98.5
Pb	135	103	112.6	85.71
Cu	67	45	14	13.86

Quant aux palourdes de la station (F) qui constituent une part importante de la production de bivalves collectés dans la lagune de Bizerte, celles-ci ont présenté des valeurs relativement faibles de l'activité AChE au printemps, parallèlement à des précipitations relativement fortes. En lessivant une région agricole de grandes cultures où sont utilisés en masse des pesticides, les pluies printanières amènent de tels contaminants dans le secteur nord ouest de la lagune *via* l'oued Tindja. Par exemple, entre février 99 et avril 99, il y a eu au niveau de Faroua une très forte inhibition de l'activité AChE (de 56,01 %) qui pourrait résulter d'apports de pesticides (tabl. IV 10 et IV 11).Par contre, au niveau de la station (J) située dans le secteur Nord-Est de la lagune, les palourdes ont montré la plus forte activité AChE, ce qui pourrait indiquer une moindre contamination du site par ces polluants agricoles. Par ailleurs, la diminution printanière de l'activité AChE observée aux deux autres stations a été plus tardive à la station de Faroua, ce temps de latence étant d'autant plus long que les polluants proviennent de sites éloignés et que les organophosphorés généralement

considérés comme « biodégradables» présentent des demi-vies pouvant atteindre 100 à 200 jours (Lafaurie *et al.*, 1992).

Tableau IV 10 : Quantités d'engrais et de désherbants épandus sur les terrains limitrophes de la lagune de Bizerte (d'après les données du CRDA[1] Bizerte, 1998)

Engrais		**Désherbants chimiques**	
Produit	Quantité (quintaux)	Produit	Quantité (litres)
Super 45	9000	Illoxan	6600
Ammonitre	10000	MCCP	4000
DAP	1200	2-4 D	6500
Sulfate de Potasse	300		

Tableau IV 11: Quantités d'insecticides et de fongicides utilisés sur les terrains limitrophes de la lagune de Bizerte (d'après les données du CRDA Bizerte, 1998)

Les insecticides		Fongicides	
Produits	Quantité	Produits	Quantité
Produits à base de diméthoate	2100 l	Oxychlorure de cuivre	3 tonnes
decis	2000l	benlate	250 Kg
Ultracide 40	100l	Cuprosan liquide	1 Tonne
dimecron	250l	poudre	250 Kg
malathion	3 tonnes	Diathame M45	400 kg
ambox	600 Kg	pelthar	250 kg
symboch	100 l	Pelt 44	100 Kg
lanate	100 l	Ridomil	450 Kg
autres liquides	500l	Karatane	300 Kg
Autres poudres	200 Kg	Autres	230 Kg

S'il est certain que le lessivage des terrains agricoles contribue à enrichir le secteur Nord-Ouest en produits pesticides dont les organophosphorés et les carbamates (tabl IV10 et IV 11), il est probable que les vents dominants (direction NW – SE) et les courants entrant (Essid, 1999) interviennent dans le transport de ces contaminants jusqu'au secteur Nord-Est, après un temps de latence plus au mois grand. Par contre, les valeurs minimales de l'activité AChE enregistrées en août et septembre chez les palourdes de la station J pourraient résulter de l'action inhibitrice des phytotoxines, cette station étant sujette pendant cette période à une

forte eutrophisation et à un bloom phytoplanctonique (Dridi, 1977 ; Aïssa, 1991 et Dellali, 1996).

Tabl. IV 12: Comparaison statistique intersite des activités CAT mensuelles : valeurs de p déterminées à partir du test de student (t) non apparié (ddl = 18).

S: significatif; TS : très significatif ; NS : non significatif ; A : Menzel Abderrahmen ; F: Faroua et J: Menzel Jemil.

		Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars	Avril	Mai
Palourdes	J/F	**TS**	**TS**	**S**	NS	NS	**S**	NS	NS	NS	**TS**	NS	**TS**	**TS**
	J/A	**TS**	**TS**	**TS**	**S**	**S**	**TS**	**S**	NS	NS	**TS**	NS	**S**	**TS**
	F/A	NS	NS	NS	NS	**S**	NS	**TS**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Moules	J/C	NS	NS	NS	**TS**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Le calcul du test de Student destiné à différencier les palourdes par station (tabl. IV 12) montre que les animaux de la station (J) ont eu une activité AChE significativement différente de celle enregistrée chez les palourdes des stations (A) pendant 10 mois et de celles de la station (F) durant 7 mois seulement. Par contre, les bivalves de Faroua n'ont présenté de différences significatives avec celles de (A) que pendant deux mois. Ceci tendrait à montrer que l'état de contamination des secteurs Ouest et Nord-Est provoque une inhibition de l'activité AChE chez les palourdes. Cette hypothèse est confortée par la classification hiérarchique des lots mensuels de palourdes en fonction de la distance euclidienne du Log (activité) de l'AChE (Fig. IV12). Celle-ci a permis en effet d'individualiser deux types de réponse: la première correspondant à une activité AChE normale chez les animaux de Menzel Jemil et la seconde regroupant les palourdes de Faroua et celles de Menzel Abderrahmen à plus faible activité révélant un plus fort degré de contamination.

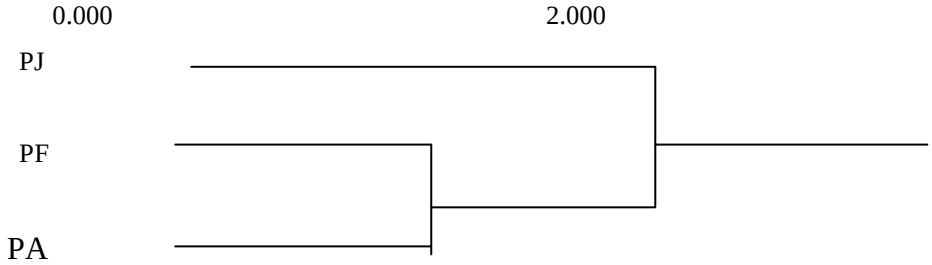


Fig IV 12 : Regroupement des activités AChE chez la palourde en fonction de la distance euclidienne (Log(activité+1) logiciel sysstat 5.0

[1] CRDA : Commissariat Régional pour le Développement de l'Agriculture

Par ailleurs, le suivi temporel de l'activité moyenne chez *Ruditapes decussatus*, toutes stations confondues, tend à prouver que l'inhibition de l'AChE a été provoquée par des pesticides épandus sur les terres agricoles bordières, les périodes d'inhibition correspondant essentiellement à celles des pluies printanières et hivernales.

En ce qui concerne les moules, ce sont celles de la baie des carrières qui ont eu les plus faibles activités AChE durant la plus grande partie de l'année d'étude, cette station étant soumise à une plus forte contamination vue sa localisation sur les berges du canal reliant la lagune à la mer. Il est probable que ce canal (avant la mise en route de la station d'épuration du grand Bizerte) est chargé en pesticides rejetés par les égouts des villes de Bizerte et Zarzouna qui s'y déversent mais il n'est pas impossible que le site soit également enrichi en hydrocarbures *via* les courants transitant par le port de Bizerte. Sans compter la cimenterie située sur l'autre berge qui participe à l'enrichissement du canal en divers types de rejets domestiques et industriels. Toutefois, le rôle de ces apports polluants par les courants entrant dans la lagune est relativement peu important et son effet s'atténue en s'éloignant du canal, notamment en allant vers les tables d'élevage de Menzel Jemil dont les moules ont présenté une activité AChE nettement plus élevée, exception faite de l'été. Les plus faibles valeurs estivales de l'activité AChE relevées chez ces animaux pourraient être liées à une prolifération ponctuelle de phytoplancton libérant des anatoxines inhibitrices de cette réponse enzymatique (Carmichael et Falconer, 1993 ; Bocquené *et al*., 1997).

Tabl. IV 13: Coefficients de corrélation entre l'activité catalase (AChE) et certains facteurs du milieu ; ddl =11. A : Menzel Abderrahmen ; C: Baie des carrières; J : Menzel Jemil et F : Faroua ; TS: Très significatif ($p<0.001$) ; S: significatif ($p<0.05$) ; NS : non significatif.

Espèce	***Palourde***			***Moule***	
Paramètres / station	**A**	**F**	**J**		**C**
Température/ AChE	**-0,683 TS**	-0,296 NS	0,208 NS	0,256 NS	-0,384 NS
Oxygène/ AChE	**0,605 S**	0,318 NS	0,002 NS	**-0,548 S**	0,195 NS
Salinité/ AChE	-0,156 NS	-0,046 NS	0,281 NS	**0,560 S**	-0,351 NS
pH/ AChE	-0,364 NS	-0,501 NS	-0,177 NS	-0,200 NS	-0,101 NS

L'absence de corrélations significatives entre l'inhibition de l'AchE et des facteurs du milieu comme la température et l'oxygène dissous (tabl. IV 13) pourrait indirectement plaider en faveur de la spécificité de ce biomarqueur répondant à certains contaminants (organophosphorés, carbamates, métaux et phytotoxines).

4) Les Glutathion – S – Transférases

a) Activité GSTs chez la palourde

D'après la figure IV13 et le tableau IV 14, il est clair que l'activité GSTs chez *Ruditapes decussatus* a subi de nettes variations à la fois mensuelles et spatiales. Ainsi, si les activités mensuelles enregistrées chez les animaux de Menzel Jemil pendant les mois de mai et de juin 1998 ont été inférieures à la moyenne intra-site (0.36 ± 0.06 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.), celles-ci l'ont significativement dépassé durant la période allant d'août à novembre avec des valeurs comprises entre 0.41± 0.04 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot. et 0.55 ± 0.07 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot. Il y a donc eu chez les palourdes de J une réponse maximale durant la période estivo-automnale.

Par contre, chez les palourdes de Faroua, l'activité GSTs a montré deux pics d'induction dépassant significativement la moyenne stationnelle annuelle (0.44 ± 0.04 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.). Le premier a été enregistré ponctuellement au mois de septembre (0,49 ± 0,02 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) alors que le second pic, optimum, a été noté durant la période hivernale (décembre 98 – janvier 99), les activités mensuelles oscillant alors entre 0,52 ± 0,03 (janvier 1999) et 0,54 ± 0,03 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.(décembre 1998).

C'est chez les bivalves collectés à Menzel Abderrahmen que les fluctuations mensuelles de l'activité GSTs ont été les plus faibles puisqu'elles n'ont varié qu'entre 0.24 ± 0.02 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot. en février et 0.42 ± 0.0401µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot. en septembre. Ainsi, cette activité enzymatique a significativement diminué ($p < 0.01$) durant la période hivernale 1999 (janvier - février) avec un minimum (0,24 ± 0,02 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) en février. Une augmentation significative des GSTs a été au contraire notée chez ces animaux pendant les mois de septembre (0,42 ± 0,04 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) et d'octobre 1998 (0,39 ± 0,02 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.).

Pour suivre l'influence de la variation temporelle de facteurs naturels comme la température sur l'activité GST chez *Ruditapes decussatus*, il a été calculé des moyennes mensuelles, toutes stations confondues (fig. IV 14). Ceci a permis de vérifier qu'il s'est produit une variation mensuelle marquée de cette activité avec notamment une augmentation significative des GSTs durant la période chaude s'étendant d'août à octobre.

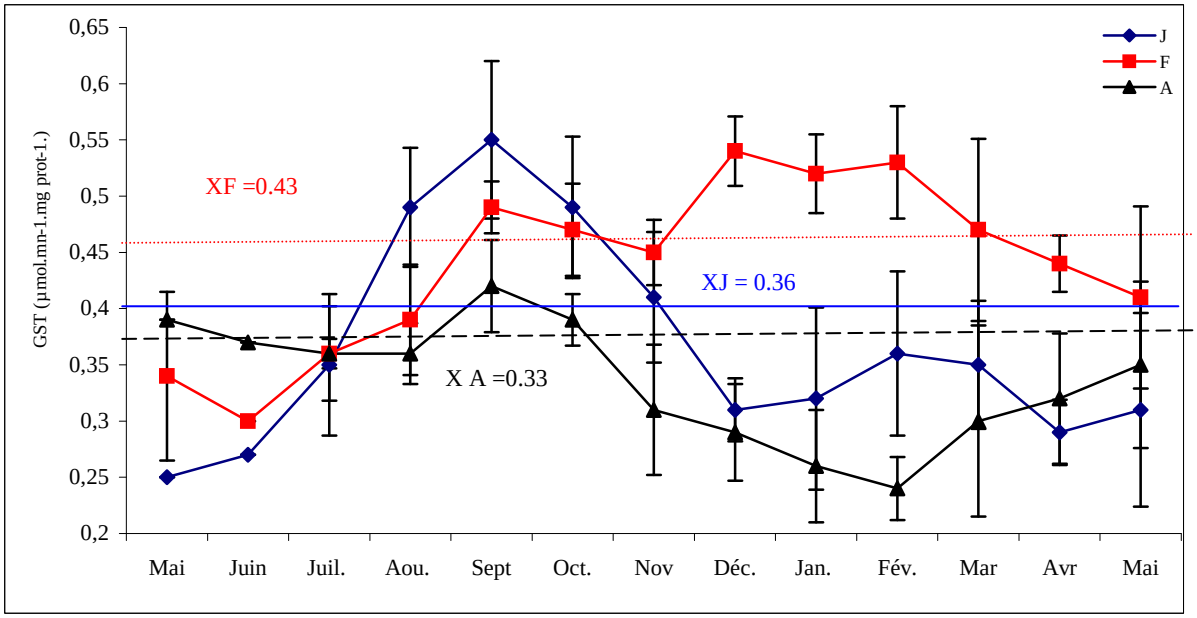


Fig. IV 13: Suivi spatio-temporel de l'activité GST (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) chez la palourde de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

A : Palourdes de Menzel Abderrahmen ; F : Palourdes de Faroua et J : Palourdes de Menzel Jemil. XA, XF et XJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité GSTs chez les palourdes des stations A, F et J

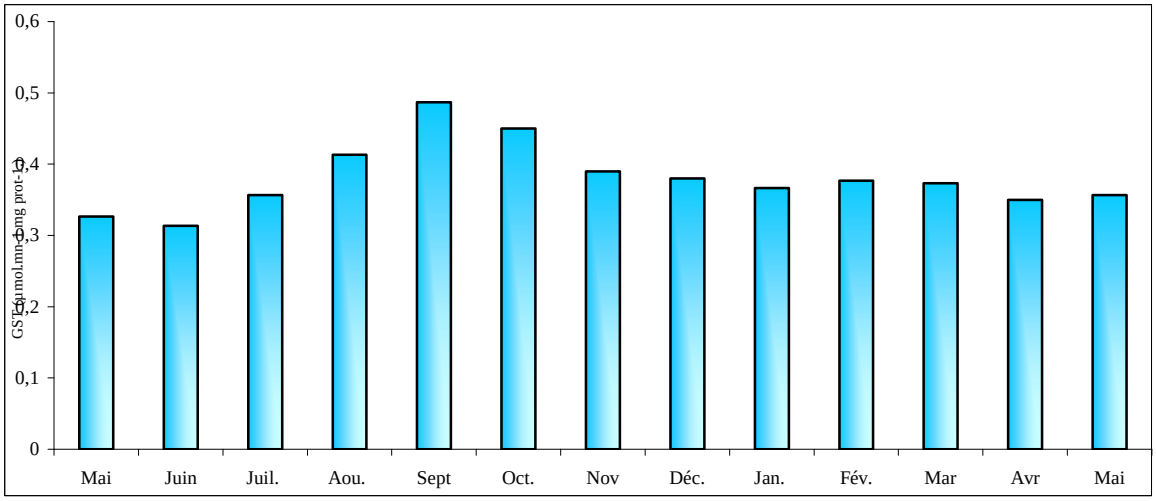


Figure IV14: Suivi annuel de l'activité GST (µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) mensuelle moyenne chez la moule de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues (mai 1998 – mai 1999).

Tableau IV 15: Valeurs de p déterminées à partir du test de student (t) non apparié (ddl = 18).

TS : différence très significative ($p < 0.01$) ; NS: différence non significative

A : Menzel Abderrahmen ; F: Faroua et J: Menzel Jemil ; C: baie des carrières

		Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars	Avril	Mai
Palourdes	J/A	TS	NS	NS	TS	TS	TS	NS	TS	TS	TS	TS	TS	NS
	J/F	TS	NS	NS	NS	TS	NS	TS	TS	TS	TS	TS	TS	NS
	F/A	NS	NS	NS	TS	TS	TS	TS	TS	NS	NS	NS	NS	NS
Moules	J/C	NS	NS	NS	TS	TS	TS	TS	TS	NS	NS	NS	NS	NS

Il ressort de la comparaison intersite de l'activité GST que l'augmentation estivale a été la plus prononcée chez les palourdes de la station J avec un record d'activité en septembre ($0,55 \pm 0,07 \mu mol.mn^{-1}mg^{-1}$.prot.), l'activité GST chez ces bivalves ayant doublé entre juin ($0,27 \pm 0,04 \mu mol.mn^{-1}mg^{-1}$.prot.) et septembre. Par contre, la variation spatiale de cette activité a été non significative durant la période printanière et le début de la période estivale (absence de différences entre les trois sites avec des activités variant de 0.25 ± 0.03 $\mu mol.mn^{-1}mg^{-1}$.prot. à $0.39 \pm 0.03 \mu mol.mn^{-1}mg^{-1}$.prot. Durant la fin de la période estivale et le début de la période automnale, il a été observé une augmentation des activités GSTs chez les palourdes, quel que soit le site, mais avec cependant l'existence de degrés d'induction significativement différents ($p < 0.05$). A partir du mois de novembre (Fig. IV 14), les palourdes de la lagune de Bizerte ont pu être subdivisées en deux groupes selon leurs activités GSTs:

- Le premier groupe, celui des animaux de forte activité GST provenant de Faroua,
- le second rassemblant les palourdes récoltées aux stations A et J de faible activité GST.

Au mois de mai 99, cette activité enzymatique s'est de nouveau homogénéisée chez les trois groupes de palourdes.

b) Activité GST chez la moule.

Il ressort de l'analyse des courbes présentées dans la figure IV 15 et illustrant l'évolution spatio-temporelle de l'activité GST chez la moule *Mytilus galloprovincialis* de la lagune de Bizerte que :

Chez les moules collectées à la station de Menzel Jemil, les activités mensuelles GSTs nettement augmentées entre les mois de septembre ($0.47 \pm 0.07 \mu mol.mn^{-1}mg^{-1}$.prot.) et de

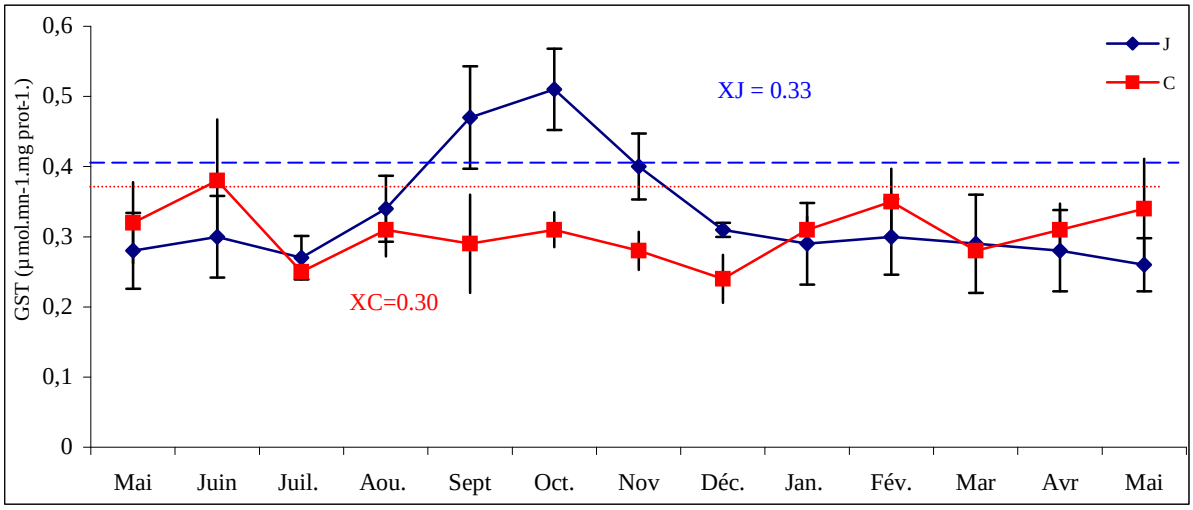


Fig. IV 15: Suivi spatio-temporel de l'activité GST chez la moule de la lagune de Bizerte (mai 1998 – mai 1999).

C : moules de la Baie des carrières et J : moules de Menzel Jemil. XC etXJ : Moyennes annuelles respectives de l'activité GSTs chez les moules des stations C et J

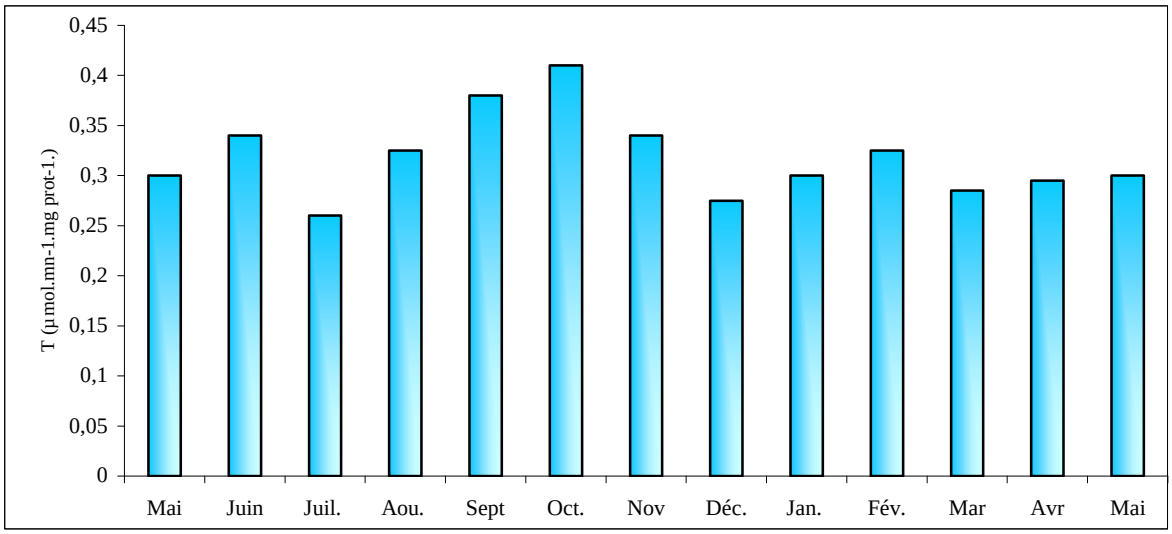


Figure IV16: Suivi annuel de l'activité GST mensuelle moyenne chez la moule de la lagune de Bizerte, toutes stations confondues (mai 1998 – mai 1999).

novembre 1998 (0.4 ± 0.04 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) ont été significativement supérieures à la moyenne stationnelle annuelle (0.33 ± 0.05 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) avec une activité GST record chez les animaux de J en octobre 1998 (0,51 ± 0,058 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.). Durant le reste de la période de prospection, les valeurs de cette activité enzymatique ont été proches de la moyenne annuelle, exception faite des deux diminutions significatives de l'activité GST au cours des mois de juillet (0,25 ± 0,09µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot) et de mai 99 (0,26 ± 0,058 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.).

Chez les moules collectées à la ferme aquacole de la baie des carrières, l'activité GST a été relativement stable au cours du temps. Ainsi sur les 13 mois de prospection, 10 des valeurs mensuelles n'ont pas présenté de différence significative ($p<0.05$) avec la moyenne annuelle (0,30 ± 0.05 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot). C'est pendant le mois de juin 98 que l'activité maximale des GSTs a été enregistrée (0,34 ± 0,07 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) alors que la minimale a été notée en mai 1999 (0,38 ± 0,08 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.).

La comparaison intersite de l'activité GST chez les moules a montré une relative stabilité spatiale de cette réponse durant la majorité de la durée de prospection (8/13 mois). Une différence intersite n'a été observée que d'août à décembre 1998, une augmentation importante de l'activité GST ayant été relevée dans la masse molle totale des moules de la station de Menzel Jemil et pas dans celles de la baie des carrières. C'est ainsi que chez les moules de la première station, l'activité a presque doublé de juin (0,27 ± 0,03 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.) à octobre (0,51 ± 0,05 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.).

A la station de Menzel Jemil où *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis* ont été présentes simultanément, la comparaison interspécifique des activités GSTs a été abordée en calculant les moyennes spécifiques, tous prélèvements confondus. Il en ressort que la réponse GST de la palourde (0.36 ± 0.06 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.), contrairement à celle obtenue avec le *stress on stress*, n'a pas été statistiquement différente (test de Student) de celle déterminée chez la moule (0.33 ± 0.05 µmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.).

c) Influence des facteurs du milieu

Le tableau IV 16 présente les coefficients de corrélation de Pearson déterminés entre l'activité GST et les différents paramètres abiotiques mesurés dans l'eau au cours des prospections.

Tableau IV 16 : Coefficients de corrélation de l'activité GST avec certains facteurs du milieu ; ddl =11.
A : Menzel Abderrahmen ; C: Baie des carrières; J : Menzel Jemil et F : Faroua ; TS : Très significatif ($p<0.001$) ; S: significatif ($p<0.05$) ; NS : non significatif

Espèce	**Palourde**			**Moule**	
Paramètres / station	**A**	**F**	**J**		**C**
Température/ GST	**TS**	-0,49	**S**	0,42	-0,12
Oxygène/ GST	**TS**	**S**	**TS**	-0,49	0,015
Salinité/ GST	0,33	-0,13	**TS**	**TS**	-0,37
pH/ GST	0,19	**TS**	-0,11	-0,30	0,17

Il apparaît que l'activité GST a été corrélée négativement au taux d'oxygène dissous et positivement à la température chez les palourdes des stations A et J. La réponse de cette enzyme a semblé modulée par la salinité, d'après les coefficients positifs de corrélation obtenus aussi bien pour les palourdes que les moules de Menzel Jemil. Par contre, le pH presque constant dans les eaux de la lagune de Bizerte n'a eu aucune influence sur la réponse GSTs des deux espèces étudiées, exception faite des palourdes de la station A chez qui l'activité enzymatique a été corrélée négativement et significativement à ce paramètre. D'autre part, l'activité GST des moules vivant dans la colonne d'eau n'a pas été notablement dépendante des facteurs du milieu, hormis la salinité pour les animaux de la station J.

d) Discussion

Les GSTs qui constituent un groupe d'isoenzymes cytosoliques intervenant dans la conjugaison d'un grand nombre de molécules sont impliquées dans la détoxification de la cellule et l'excrétion de plusieurs substances physiologiques et surtout xénobiotiques (Najimi *et al*, 1997). Ce biomarqueur constitue en fait une réponse relativement complexe à la présence de plusieurs polluants dans le milieu , certains métaux comme le cuivre inhibant son activité alors que les insecticides ou les PCB l'induisent (Foureman, 1989 ; Stein, 1998 ; Dellali *et al.*, 2000 a). Son utilisation comme biomarqueur dans les programmes de biosurveillance est donc sujette à caution. Ainsi, Lee (1988) n'a pas relevé *in situ* d'induction de la GST dans la glande digestive de *Mytilus edulis* accumulant différentes concentrations en HAP et PCB. Sheehan *et al.* (1991) et Fitzpatrick *et al.* (1995) ont indiqué chez *M. edulis* et *Mytilus galloprovincialis* l'existence d'une faible induction dépendante du

degré de contamination des sites d'échantillonnage. D'après Fenet (1997), la GST n'est pas induite significativement chez l'anguille européenne par les HAP et les PCB. Pour d'autres auteurs au contraire, il se produit une induction significative de l'activité GST chez l'anguille européenne en présence de polluants (Zhang *et al.*, 1990) ou chez le rouget pêché dans des sites pollués (Burgeot *et al*., 1996). Narbonne *et al.* (1991) ont indiqué l'existence d'une corrélation entre le taux des GST et celui des PCB et HAP dans l'eau. Percic (1996) a mis en évidence par des expériences de transplantation « *caging* » que l'activité des GSTs augmentait au niveau des sites pollués. Najimi (1997) a confirmé que cette enzyme était significativement induite chez les animaux originaires de sites pollués par les métaux. Hoarau (1998) a mis en évidence *in vivo* une augmentation de la GST chez *Ruditapes decussatus* contaminée par le pp'DDE et l'aroclor 1254, en notant cependant différents degrés d'induction selon les isoenzymes de la GST. Khessiba *et al.* (2000) ont prouvé une augmentation de cette activité enzymatique chez la moule *Mytilus galloprovincialis* contaminé par le pp'DDE.

Malgré la rareté des travaux relatifs à la variation temporelle de l'activité GST, les résultats de cette étude corroborent plusieurs données bibliographiques faisant état de cette évolution. Ainsi, Mathieu *et al.* (1991) ont montré que la GST hépatique du mullet (*Mullus barbatus*) diminuait en hiver. George et Buchanan (1990) ont indiqué que la GST cytosolique de la plie (*Pleuronectes platessa*) présentait un minimum d'activité en été et un maximum au printemps. Chez la moule *Mytilus edulis*, Power et Sheehan (1996) ont noté que l'activité GST des branchies était maximale en hiver (pic en décembre). Najimi (1997) a montré chez des spécimens de *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* originaires des côtes marocaines que l'activité GST présentait un rythme saisonnier net, avec des niveaux élevés en été et en automne et plus faibles en hiver et parfois au printemps.

L'évolution temporelle de l'activité GSTs étant dépendante tout à la fois de la nature des polluants, de leur concentration et des saisons, ceci amène à conclure que les GSTs ne peuvent être utilisées seules dans les suivis *in situ* recourant à l'outil biomarqueur ; celles-ci constituent cependant un excellent indicateur de pollution si elle sont associées, comme dans la présente étude, à d'autres biomarqueurs. En effet, les GSTs permettent d'évaluer l'efficacité d'autres systèmes de détoxification de la cellule, puisqu'elles agissent sur les métabolites issus de la phase I (Cytochromes CYPA1, SOD…) pour les conjuguer et les excréter. D'autre part, la présence de xénobiotiques dans le milieu est à l'origine d'un stress oxydant qui entraîne non seulement une augmentation de l'activité catalase mais aussi une

augmentation de l'activité GST, cette dernière intervenant dans la conjugaison des contaminants comme moyen de protection de l'organisme.

Pour les palourdes de Faroua, l'augmentation significative de l'activité enzymatique observée durant l'hiver pourrait résulter d'une augmentation des apports en eaux pluviales lessivant les terrains agricoles limitrophes et enrichissant ainsi la lagune en pesticides. Cette hypothèse est étayée par l'inhibition significative de l'activité AChE observée à la même époque.

Pour les palourdes de la station de Menzel Abderrahmen, les valeurs des GSTs qui sont souvent apparues très significativement plus faibles que celles relevées aux deux autres stations (Tabl. IV 15) pourraient résulter d'une plus médiocre qualité du site. Cette hypothèse est renforcée par le fait que :

- Les réponses d'autres biomarqueurs chez ces bivalves (augmentation de la CAT et inhibition de l'AChE fortes) ont révélé un état avancé de perturbation au niveau du site.
- Plusieurs auteurs (Ouakad, 1993 ; Dellali et Aïssa, 1998 ; Essid, 1999), ont signalé des teneurs relativement élevées en métaux au niveau de cette station (tabl. IV 9)

Seule l'analyse multimarqueurs et multivariée (Chapitre 5) fournira plus de précisions sur la nature des stress auxquels ont été soumises les palourdes de Menzel Abderrahmen.

Les palourdes de la station de Menzel Jemil ont présenté quant à elles une augmentation significative de leur activité GSTs en été parallèlement a une augmentation de leur activité CAT. Cette réponse enzymatique pourrait être liée à l'hypereutrophisation pouvant survenir dans le secteur (Dridi, 1979 ; Aïssa, 1991 ; Dellali, 1996), tout comme l'augmentation observée à la même époque chez les moules collectées dans le site. Là encore, une analyse en composantes principales semble impérative pour cerner l'origine du stress enregistré au niveau des bivalves.

III) CONCLUSION

Cette étude multi-biomarqueurs a permis de tirer diverses conclusions. Certaines fondamentales concernent l'utilisation des biomarqueurs dans les programmes de biosurveillance et d'autre d'ordre pratique nous ont fourni des renseignements sur l'état de contamination de la lagune de Bizerte.

Ainsi, cette étude a permis de :

➢ *Montrer que la réponse au stress on stress est une méthode originale et extrêmement facile susceptible d'être utilisée en tant qu'outil d'évaluation globale des contaminations côtières.*

➢ *Valider l'utilisation de l'acétylcholinestérase comme biomarqueur spécifique de la pollution par les pesticides et les métaux lourds. En effet, au cours de ce suivi effectué de mai 98 à mai 99, l'activité printanière AChE a été inhibée au maximum chez les palourdes de la station de Faroua, parallèlement au lessivage des terrains avoisinants à forte activité agricole. Dans les bivalves de la station de Menzel Abderrahmen chargée en divers contaminants (pesticides, HAP et divers métaux traces), cette activité a été également faible et souvent minimale. Chez les palourdes de la station de Menzel Jemil, seulement deux légères inhibitions de cette activité enzymatique ont été relevées durant la période estivale d'eutrophisation et au printemps, les phytotoxines pouvant présenter un effet inhibiteur sur l'activité AChE.*

➢ *Valider la catalase, comme biomarqueur du stress général, induite in situ par divers contaminants et notamment par les bactéries mais capable de répondre à des stress abiotiques (température, oxygène dissous, salinité…). La CAT peut être donc être utilisée comme système précoce pour détecter les perturbations générales de systèmes lagunaires comme la lagune de Bizerte.*

➢ *Conclure que l'activité GSTs, groupe de plusieurs isoenzymes de conjugaison de phase II peut être induite, dans les bivalves de la lagune de Bizerte, par plusieurs types de stress : par exemple, la prolifération bactérienne pour l'ensemble des stations durant la période chaude ou les surcharges de microbes en période de crues à la station de Faroua ou encore l'eutrophisation observée à Menzel Jemil durant la période estivale. L'évolution de la réponse de cette enzyme étant complexe et dépendant du type de contaminant, de l'isoenzyme et aussi de la saison, son utilisation en exclusivité comme biomarqueur de biosurveillance d'un milieu semble délicate. Cependant, la GST constitue un outil indispensable dans les programmes de biosurveillance lorsque ce biomarqueur est associé à d'autres systèmes antioxydants comme la CAT par exemple.*

➢ *Confirmer que la contamination bactérienne et surtout celle générée par des Vibrionaceae comme Aeromonas hydrophila constitue une voie possible d'augmentation de l'activité de certains biomarqueurs (CAT et GSTs) dans les milieux lagunaires.*

➢ *Constater que la palourde Ruditapes decussatus est un organisme-sentinelle plus approprié que la moule Mytilus galloprovincialis même si les deux bivalves utilisés dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte ont présenté des variations spatio-temporelles de leurs activités enzymatiques fonction de la qualité du site. Ainsi, les réponses de la palourde ont été plus perceptibles que celles de la moule en raison de :*

- *sa localisation en première ligne dans les zones côtières à proximité des rejets anthropiques et des sédiments contaminés,*
- *sa plus large répartition dans la lagune de Bizerte (trois sites de collecte contre deux pour la moule).*

➢ *Observer une variation spatiale de la réponse des biomarqueurs testés. Ainsi, il a été observé :*

- *Une forte inhibition de l'activité AChE chez les animaux de la station de Faroua durant la période pluvieuse, lorsque les pesticides épandus sur les terrains agricoles limitrophes sont déversés dans le secteur.*
- *Une augmentation marquée des activités CAT et GST à Menzel Jemil, aussi bien chez les palourdes que chez les moules, coïncidant avec une forte eutrophisation estivale.*
- *Une augmentation de l'activité CAT et une inhibition de l'activité AChE, durant la plus grande partie de l'année, chez la moule de la baie des carrières plaidant en faveur d'une pollution permanente et mixte au niveau de la station (domestique, pétrolière et/ou métallique).*
- *Une inhibition de l'activité AChE et une augmentation relative de la CAT et des GSTs chez les palourdes de la station de Menzel Abderrahmen indiquant que ce site est le siège d'une perturbation permanente et mixte, divers contaminants étant rejetés par la ville limitrophe.*

I) ANALYSES EN COMPOSANTES PRINCIPALES

1. Introduction

Nous avons vu au chapitre précédent que trois biomarqueurs avaient été utilisés chez la palourde : la catalase (CAT), les glutathion-S-transférases (GSTs) et l'acétylcholinestérase (AChE) en postulant que la lagune de Bizerte était contaminée en priorité par deux types d'apports, à savoir les eaux usées et les pesticides épandus sur les terrains agricoles voisins. Si le suivi de ces biomarqueurs chez la palourde de mai 98 à mai 99 nous a permis de constater que ceux-ci pouvaient constituer des outils de biosurveillance de la lagune de Bizerte, il n'est pas paru toutefois très aisé de relier leur réponse aux conditions bactériennes du milieu d'une part et à l'instabilité de certaines composantes hydrologiques d'autre part. Dans le but d'y parvenir et de valider leur utilisation chez la palourde de la lagune de Bizerte, il a été réalisé plusieurs analyses en Composantes Principales (A.C.P). Celles-ci ont eu pour finalités d'étudier la réponse temporelle des biomarqueurs testés et de comparer au plan spatial la réponse ponctuelle de ces biomarqueurs en choisissant les deux mois les plus représentatifs du suivi (septembre et février).

Les variables considérées ont été les réponses des trois biomarqueurs (Catalase, glutathion- S- transférases, Acétylcholinestérase) et les charges microbiennes en flore mésophile totale (FT), en flore fécale (FC), en entérocoques fécaux (SF) et en *Vibrionaceae* (ViB) dans les palourdes mais aussi dans le compartiment sédimentaire, leur biodisponibilité dépendant des taux bactériens présents dans les sédiments. Notons que pour les données physico-chimiques ont été considérées les valeurs ponctuelles des variables et les valeurs moyennes pour les biomarqueurs. Les indices de corrélations (r) entre deux paramètres utilisés pour l'interprétation des résultats sont consignés dans l'annexe III. Toutes les données brutes ont été au préalable transformées (Log x + 1) pour homogénéiser les variances. La part des diverses variables a été analysée en considérant leur contribution relative (CTR) à la définition des axes considérés (F1, F2 et F3). Pour les observations, il n'a été fourni que leurs coordonnées calculées par le logiciel « Statbox » proportionnellement à leur contributions.

2. Résultats

a) Validation temporelle

Tableau V1 : Liste des variables, des observations et des symboles utilisés dans les A.C.P.

Compartiment		Variable	Symbole ACP
EAU	1	Température (°C)	Tmp
	2	Oxygène ($mg.l^{-1)}$	oxyg
	3	Salinité ($^{0}/_{00}$)	Sal
	4	PH	PH
PALOURDE	5	Flore totale UFC	FT
	6	Coliformes fécaux (NPP)	FF
	7	Entérocoques fécaux (NPP)	SF
	8	*Vibrionaceae* UFC	Vibrio
	9	**Activité CAT** ($\mu moles.mn^{-1.}.mg^{-1}$. prot.)	CAT
	10	**Activité GST** ($\mu moles.mn^{-1.}.mg^{-1}$. prot.)	GST
	11	**Activité AChE** ($nmoles.mn^{-1.}.mg^{-1}$. prot.)	AChE
SEDIMENT	12	Flore totale UFC	FTS
	13	coliformes fécaux (NPP)	FFS
	14	entérocoques fécaux (NPP)	SFS
	15	*Vibrionaceae* UFC	VibS

Liste des observations et des symboles utilisés dans l'A.C.P

Station	mois	Symbole ACP
Menzel Abderrahmen	Mai 98, juin,……mai 99	A5 (98), A6,……A5 (99)
Menzel Jemil	Mai 98, juin,……mai 99	J5 (98), J6,……..J5 (99)
Faroua	Mai 98, juin,……mai 99	F5 (98), F6,……F5 (99)

Pour étudier la réponse temporelle des biomarqueurs, il a d'abord été réalisé une A.C.P pour chacun des trois sites de collecte en considérant les 13 observations mensuelles ainsi que quinze variables décrivant l'état général de l'écosystème dont 4 pour définir les conditions de l'eau (température, taux en oxygène, salinité et pH), 7 paramètres pour décrire l'état des palourdes estimé par leur état de contamination microbienne et par la réponse de leurs biomarqueurs et enfin 4 variables pour définir l'état microbien des sédiments (en FT, FC, SF et ViB). Le tableau I fournit la liste des variables considérées et les symboles utilisés pour l'analyse statistique. Il a été réalisé ensuite une A.C.P., toutes stations confondues, pour conforter ou infirmer les données obtenues en considérant les 15 mêmes variables et les 39 observations mensuelles (tableau I).

a1- Données de Menzel Jemil

Les trois premiers axes (F1, F2 et F3) ont extrait 77,52 % de la variance totale soit respectivement 51 %, 14.03 % et 12.49 % de l'inertie.

- sur l'axe F1 (Fig. V1), se projette au pôle négatif la teneur des eaux en oxygène avec une forte contribution relative (CTR de 0,86) et du côté positif d'abord l'activité CAT des palourdes (CTR de 0,88), les charges sédimentaires en flore totale (CTR de 0,76), la salinité et la flore fécale dans les palourdes (CTR de 0,71) et plus faiblement l'activité GSTs et la flore totale (CTR > 0,6). La température et les entérocoques fécaux dans les palourdes s'y projettent également avec une plus faible contribution relative (CTR $\geq$ 0,54) ainsi que les *Vibrionaceae* des sédiments.

En ce qui concerne les observations, sept d'entre elles se projettent sur l'axe principal dont les mois de septembre J9 (0.49 , - 0.14), d'août J8 (0.44 , -0.09) et d'octobre (0.24 , 0.22). L'axe F1 met donc en évidence l'existence d'un double gradient temporel inverse : l'un de l'état d'oxygénation du milieu et l'autre de charge bactérienne (en flore totale pour le sédiment et en flore fécale pour les palourdes).

- Sur l'axe F2 (Fig. V1), il se projette au pôle positif l'activité AChE des palourdes (CTR de 0,64) et les observations de février- janvier du côté négatif, cette activité enzymatique étant inhibée en hiver, en période de pluies.
- L'axe F3 n'est bien défini au pôle positif que par le pH (CTR de 0,89) et très modestement par les observations mensuelles de juin et décembre 98.

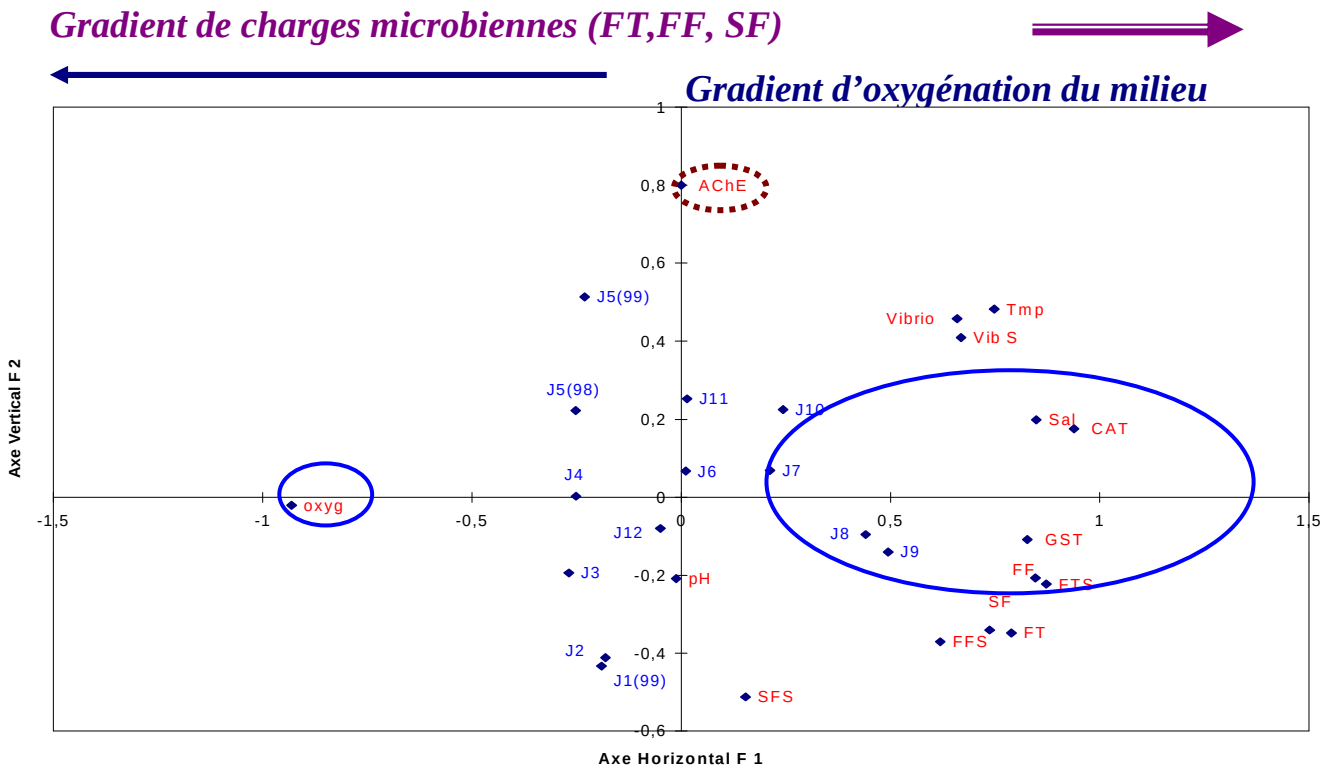


Fig. V1 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et observations considérées de mai 98 à mai 99 à la station de Menzel Jemil (en traits pleins : projection sur F1 et en points carrés : projection sur l'axe F2).

En conclusion, à la station de Menzel Jemil, les réponses biochimiques des palourdes à l'état de perturbation du site ont été nettement validées. C'est ainsi qu'il a été enregistré durant les mois chauds une augmentation significative de la CAT, sous l'effet d'abord d'une déplétion d'oxygène (r= -0.89), d'une élévation de la salinité (r=0.80) et de la température (r= 0.75) mais aussi sous l'effet d'un stress microbien, généré surtout par une augmentation notable de la charge en flore fécale (r= 0.79) et secondairement en Vibrionaceae. Il a été observé en parallèle une augmentation de la réponse des GSTs, nettement corrélée à la déplétion d'oxygène (r= -0.73) et au stress microbien (r= -0.87 avec FT) mais non influencée quant à elle par l'élévation estivale de la température (r = 0.44) et de la salinité (0.58)

(AnnexeII1). Ces deux biomarqueurs non spécifiques peuvent donc répondre à des surcharges bactériennes. Par contre, la réponse spécifique de l'AChE chez les palourdes de Menzel Jemil, n'a été observée que ponctuellement pendant la période pluvieuse (janvier- février), l'activité agricole côtière étant minime au niveau de ce site. Le pH n'a été un paramètre modulateur pour aucun des biomarqueurs étudiés.

a2- Données de Menzel Abderrahmen

Les trois axes (F1, F2 et F3) ont permis d'extraire 68,56 % de la variance totale soit respectivement 41.16 %, 16.61 % et 10.79 %.

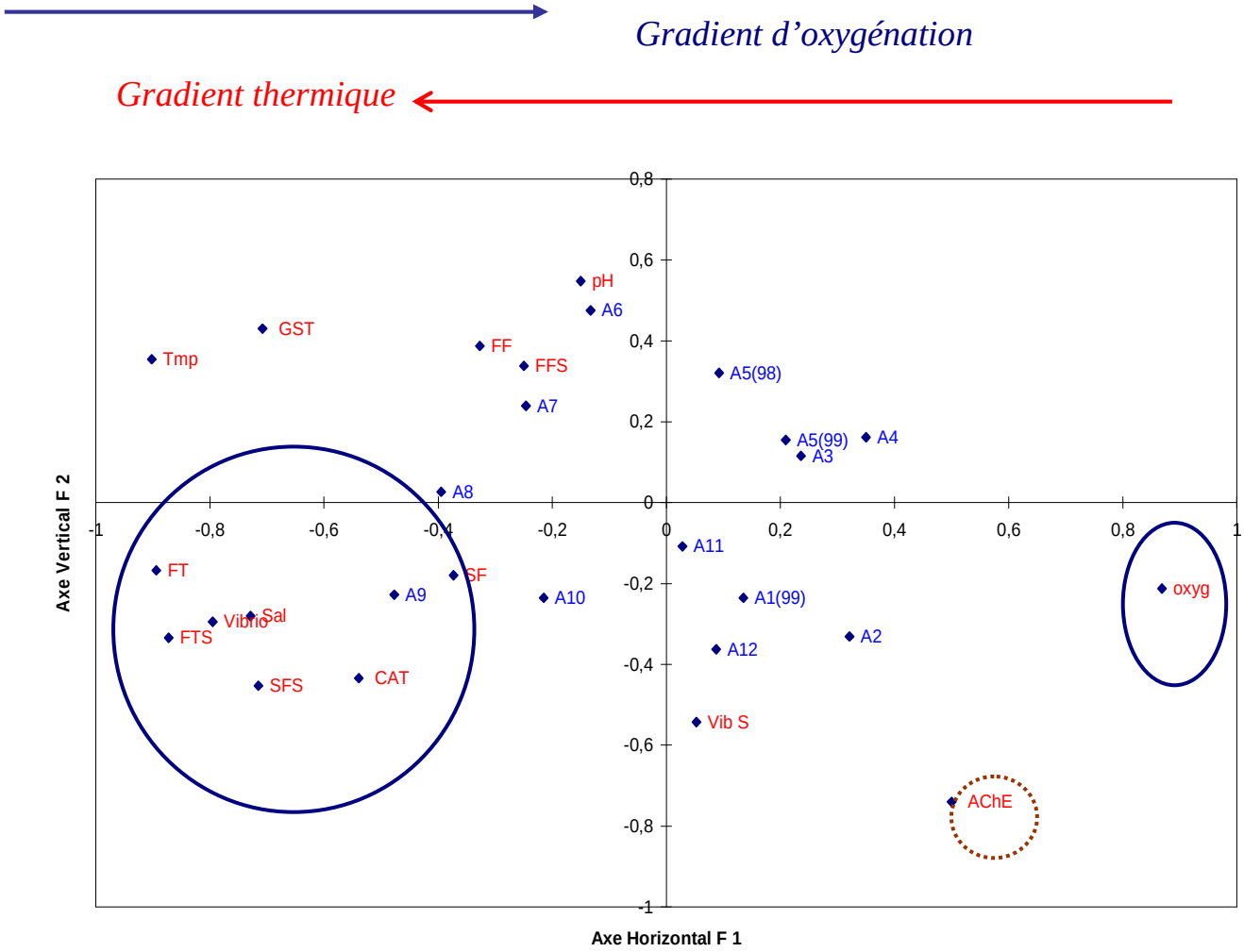


Fig. V2 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et observations considérées de mai 98 à mai 99 à la station de Menzel Abderrahmen (en traits pleins : projection sur F1 et en points carrés : projection sur l'axe F2).

- L'axe F1 (Fig. V2) : Du côté négatif, se projettent d'abord la température (CTR = 0,81), puis la flore totale dans les palourdes et le sédiment (CTR ≥ 0,76), les *Vibrionaceae* (CTR de 0,63), et plus modestement la salinité et l'activité GST (CTR de 0,5). Son pôle positif est défini par l'oxygène dissous (CTR de 0.75). Sur l'axe F1 se projettent également du côté négatif les observations des mois de septembre A9 (- 0.47, - 0.22), d'août A8 (- 0.39, 0.02), octobre A10 (- 0.22, - 0.23) et beaucoup plus faiblement au pôle positif celles d'avril A4 (0.34, 0.16), février A2 (0.32, 0.33), mars A3 (0.23, 0.11) et mai 99 A5 (0.20, 0.15).
- sur l'axe F2 (Fig. V2), faiblement défini, ne se projettent au pôle négatif que l'observation mensuelle de décembre (CTR de 0.65) et l'activité AChE (CTR de 0,54). Son pôle positif est défini modestement par les observations de mai et juin 98.
- Sur l'axe F3, ne se projettent que faiblement au pôle positif la flore fécale des sédiments et des palourdes et enfin le pH donc peu influant sur les biomarqueurs utilisés.
- L'axe F4 n'est défini que négativement par les entérocoques fécaux (CTR de 0,66).

En ce qui concerne les palourdes de Menzel Abderrahmen, celles-ci ont répondu différemment. Ainsi, en été il s'est produit surtout une induction plus marquée des GSTs que de la CAT ; la réponse des GSTs, a été influencée par l'élévation de la température des eaux (r = 0.89), la déplétion d'oxygène (r= -0.67) et plus modestement la surcharge de la microflore totale dans les eaux (r= 0.58) (Annexe III 2). Il a été curieusement relevé en parallèle une inhibition de l'AChE, concomitante à une élévation de la température (r= -0.71), cette réponse pourrait être consécutive à une contamination accidentelle (traitements estivaux de démoustication, apports inhabituels de HAP ou encore de métaux).

a 3- Données de Faroua

Les trois axes (F1, F2 et F3) ont permis d'extraire respectivement 50.38%, 19.92 % et 10,81 % de la variance soit au total 91.18 % de l'inertie globale.

- sur l'axe F1 (Fig . V3), se projettent au pôle négatif la température (CTR de 0.89), la microflore totale des palourdes (CTR de 0.80) puis secondairement la flore fécale, les *Vibrionaceae* et la flore totale dans les sédiments (CTR ≥ 0,63), la flore fécale dans les palourdes et les entérocoques fécaux des sédiments (CTR ≥ 0,57) puis plus modestement les *Vibrionaceae* dans les palourdes. Du côté positif, se trouve l'oxygène dissous (CTR de 0.89). Les contributions relatives les plus fortes pour les observations sont celles d'août (CTR de 0.94) puis de septembre et de juillet (CTR ≥ 0.6).

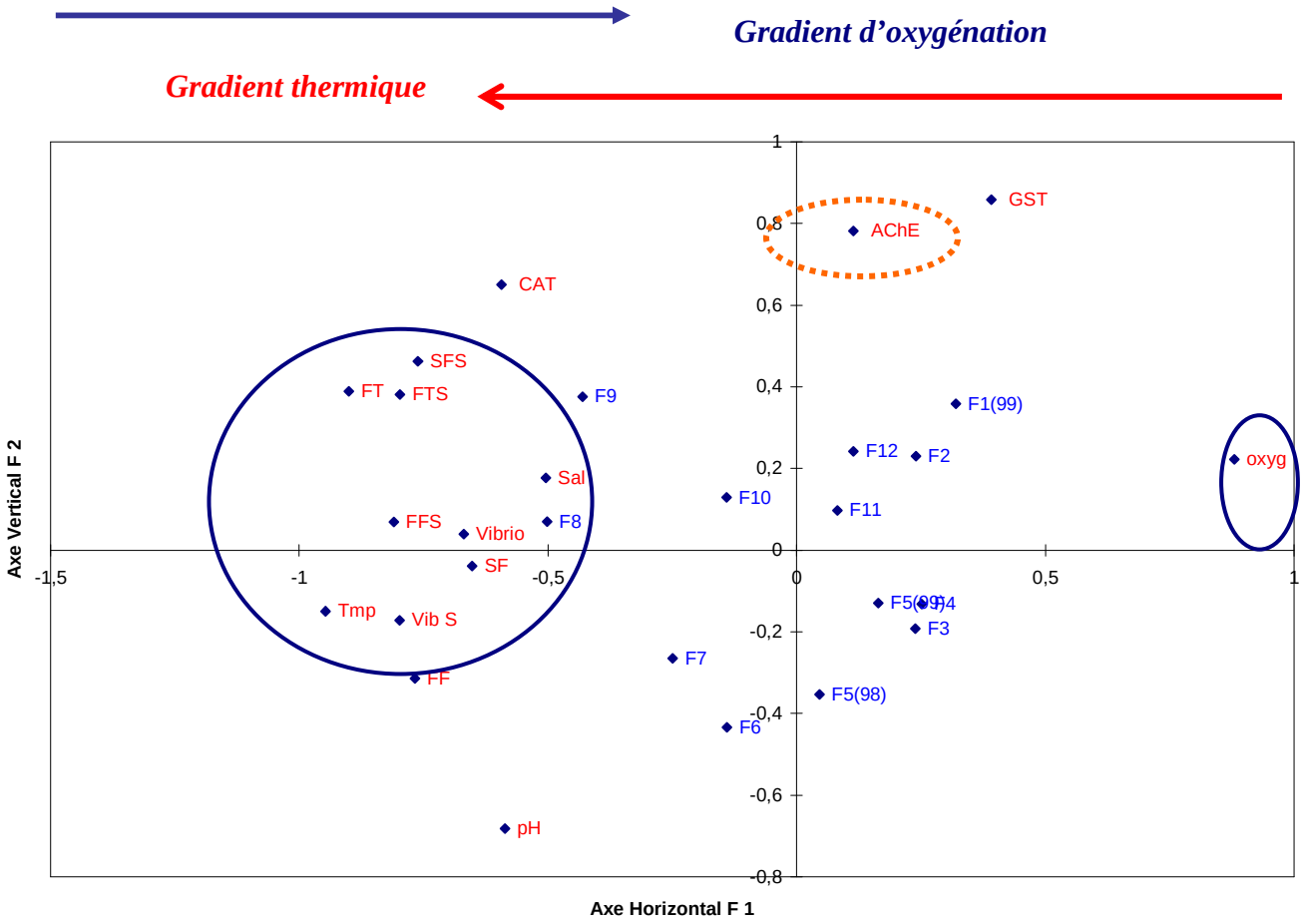


Fig. V3 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et observations considérées de mai 98 à mai 99 à la station de Faroua (en traits pleins : projection sur F1 et en points carrés : projection sur l'axe F2).

- sur l'axe F2 (Fig. V3), se projettent au pôle positif d'abord l'activité GST (CTR de 0,73) et celle de l'AChE (CTR de 0.6) puis très faiblement la catalase et au pôle négatif le pH (CTR de 0.4) et les prélèvements de mai et juin 98 (CTR $\geq$ 0.57).
- L'axe F3 ne se trouve que faiblement défini positivement par la salinité (CTR de 0.46) (CTR de 0,71) et négativement par le mois d'avril 99.

En conclusion, il a été enregistré en été dans les palourdes de Faroua une augmentation significative de la CAT en réponse à des surcharges en entérocoques fécaux dans les sédiments (r= 0.79) et en flore totale dans les palourdes (r = 0.77) ; les conditions de température, de salinité et d'oxygénation plus médiocres qu'en hiver n'ont eu au niveau de ce site aucun effet modulateur sur la réponse CAT (Annexe III3). En hiver par contre, il a été

noté une nette inhibition de l'AChE et en parallèle une induction des GSTs en réponse à la contamination du site par l'épandage de pesticides sur les terrains agricoles limitrophes, ceux-ci étant solubilisés et transportés par les pluies jusqu'à la lagune. Si les trois biomarqueurs utilisés ont été validés pour surveiller les palourdes de Faroua, la réponse temporelle de leur activité CAT a été la moins pertinente. La salinité n'a pas été pour ce lot de palourdes un paramètre déterminant pour la réponse des biomarqueurs considérés.

a4-Ensemble des données

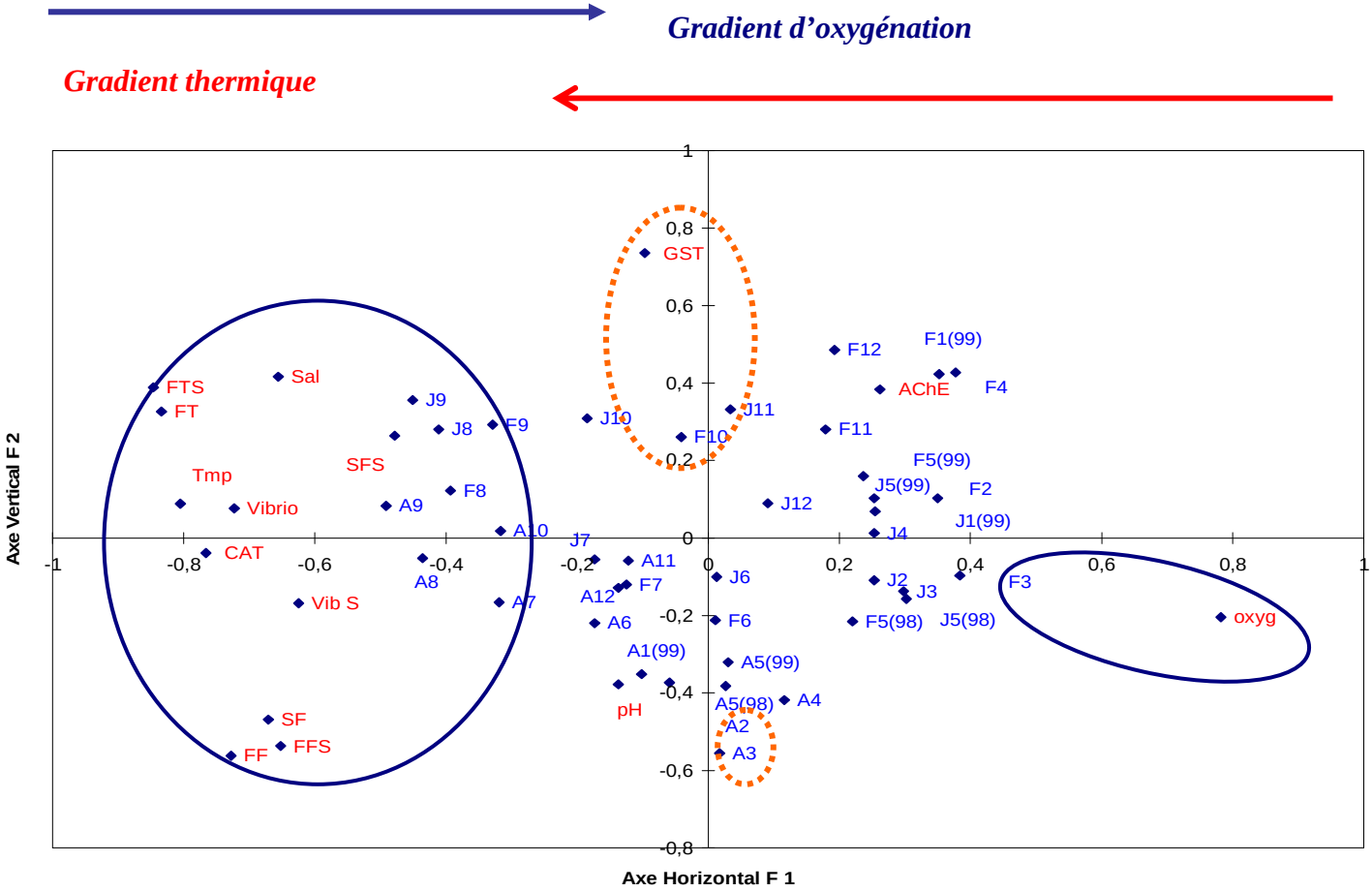


Fig. V4 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et observations considérées de mai 98 à mai 99 toutes stations confondues (en traits pleins : projection sur F1 et en points carrés : projection sur l'axe F2).

Les trois axes (F1, F2 et F3) ont extrait 66.55% de la variance totale, soit respectivement 42.17 %, 14.94 % et 9.44 %.

- Sur l'axe F1 (Fig. V4), Cet axe représente un double gradient inverse de température et d'oxygénation des eaux (deux paramètres corrélés entre eux avec r= -0.76) auxquels sont sensibles certaines charges microbiennes (FT, FF et ViB) (Annexe III 4). Sur cet axe se projettent négativement d'abord les observations A8, A9, A10, F8 les charges en flore totale dans les sédiments et les palourdes très corrélées entre elles (r= 0.88) (CTR $\geq$ 0,69), les observations J9, F9 et J8, puis la température (CTR de 0,64) et plus faiblement la réponse de la catalase (CTR $\geq$ 0.52) ainsi que les *Vibrionaceae* et la flore fécale des palourdes très corrélée à celle des sédiments (r = 0.73). Il s'y projette aussi très modestement les entérocoques fécaux dans les palourdes, la salinité et la flore fécale et les ViB dans les sédiments. Du côté négatif, se trouvent l'oxygène de l'eau et l'observation F3 (0.38, - 0.09).
- l'axe F2 (Fig. V4), est essentiellement défini par l'activité GST (CTR de 0.54), sur cet axe se projettent au pôle négatif les observations A3 (0.01, – 0.55) et plus modestement A5 (0.02, - 0.32) et au pôle positif les observations F10, F12 et J11.

l'axe F3, est définie surtout par le pH (CTR de 0,67), Il s'y projettent successivement les stations F6, F7, J3, J11, J12 A11 et A12.

En conclusion, il a été enregistré en été pour l'ensemble des palourdes de la lagune de Bizerte une augmentation significative de la CAT en réponse à des surcharges en flore fécale, en flore totale et en Vibrionaceae aussi bien dans les palourdes que dans les sédiments; l'élévation de température et la déplétion d'oxygène ont eu un net effet modulateur sur cette réponse, les concentrations en flore totale du sédiment étant corrélées à la teneur en oxygène (r= 0.88) et celles en Vibrionaceae à la température (r=0.68).

Les GSTs ont été des outils ponctuellement valides pour surveiller les palourdes de Faroua. Pour l'ensemble des palourdes de la lagune de Bizerte, un biomarqueur plus spécifique comme l'AChE n'est apparu valide que ponctuellement ; la salinité corrélée pourtant aux taux en flore totale (r=0.77) n'a pas été un paramètre modulateur déterminant pour la réponse des biomarqueurs considérés.

b) Validation spatiale

Dans le but de ne pas privilégier la réponse temporelle des biomarqueurs testés et d'essayer de comparer ponctuellement le degré de contamination des trois sites étudiés, les variables ont été considérées arbitrairement, une fois en septembre, mois de fortes

augmentations de la catalase et une fois en février, mois de forte inhibition de l'activité acétylcholinestérasique. Ceci explique que les deux premiers axes extraient au moins 99% de l'inertie totale.

b1- Réponse des biomarqueurs en septembre

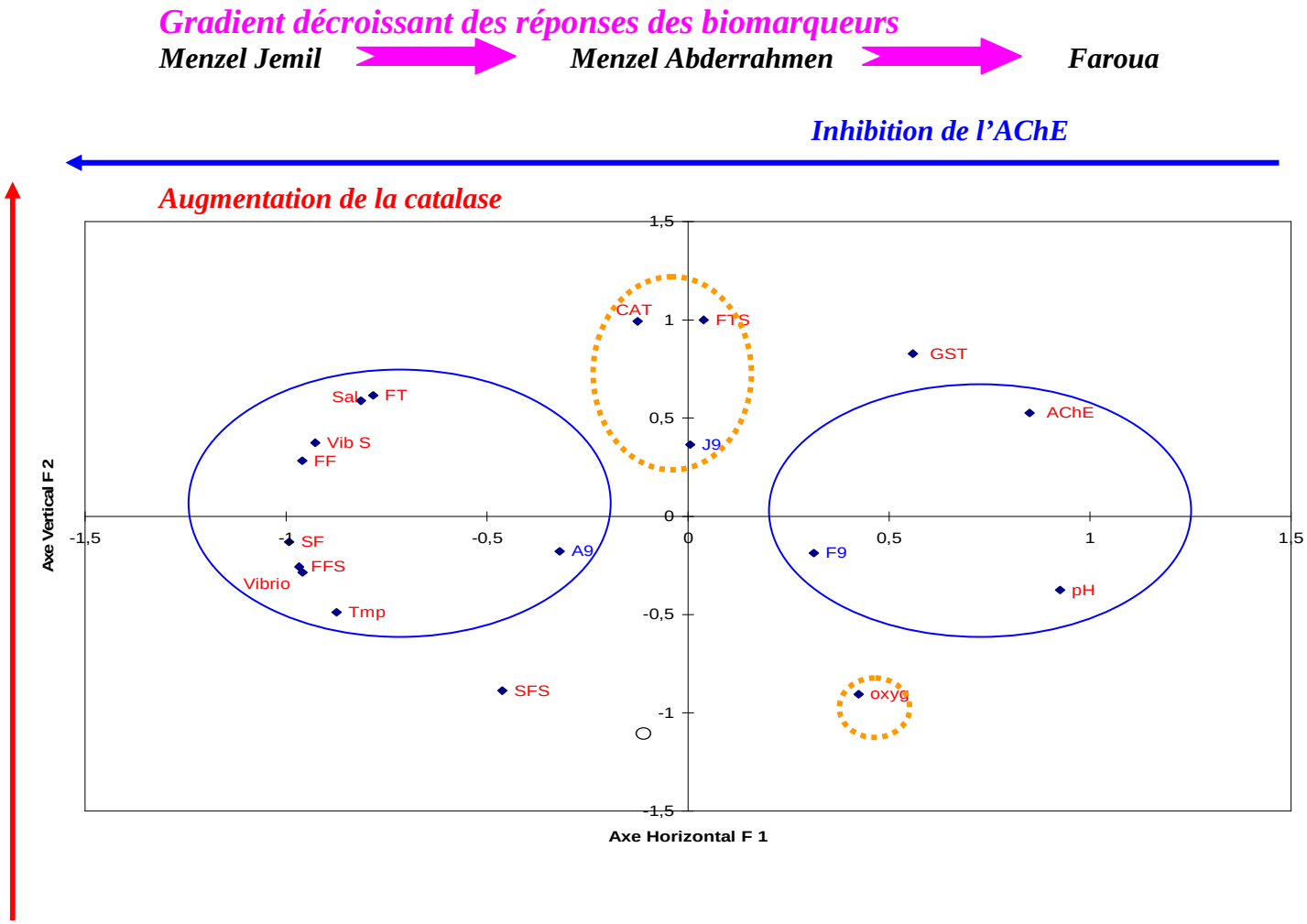


Fig. V5 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et stations considérées en septembre 98 (en traits pleins bleus: projection sur F1 et en points carrés orange : projection sur l'axe F2).

Sur l'axe F1 (Fig. V5), se projettent au pôle négatif d'abord les entérocoques fécaux dans les palourdes (CTR ≥ 0.98), la flore fécale dans les sédiments et les palourdes très corrélées (r = 0.72) avec une forte contribution relative (≥ 0.92), les *Vibrionaceae* dans les palourdes et les sédiments (CTR de 0.91) et plus faiblement la température (CTR de 0.72) et la salinité (0.66). Sur l'axe F1 se projette également la station de Menzel Abderhamen (A9). Du côté positif, se situent le pH et l'AChE (CTR de 0,72) et se projette la station de Faroua (F9).

- L'axe F2 (Fig. V5), est déterminé essentiellement, au pôle positif, la flore totale des sédiments et l'activité CAT, deux paramètres très corrélés entre eux (r = 0.99) et il s'y projettent la station de Menzel Jemil (J9). Négativement, c'est essentiellement l'oxygène dissous qui contribue à la définition de cet axe (CTR de 0.81) et plus modestement l'activité GSTs (CTR de 0.68).
- Sur l'axe F3, ne se projettent aucune variable et station considérées.

En conclusion, l'axe F1 représente un gradient complexe à la fois de charges en Entérocoques Fécaux, Flore Fécale et Vibrionaceae mais aussi de température, de salinité et de réponse AChE. L'axe F2 représente lui aussi un gradient complexe de charge en flore totale, des taux en oxygène et des réponses de la CAT et des GSTs, corrélées entre elles (r égal à 0.75). Il a été constaté que l'activité CAT augmente fortement en cas de déplétion d'oxygène (r très significatif = - 0.95) et que l'activité des GSTs dépendante de la température (r= - 0.89) est activée comme la CAT par certaines charges bactériennes.

En ce qui concerne la variation spatiale des réponses biochimiques des palourdes qu cours du mois de septembre, elle est variable selon le biomarqueur:

- Les palourdes de la station de Menzel Jemil soumises à une forte eutrophisation se caractérisent par une forte augmentation des activités CAT et GST.

- Celles de Menzel Abderhamen soumises à une forte perturbation mixte (maximum de température, de salinité, HAP et probablement de pesticides) ont montré la plus forte inhibition de l'AChE en même temps qu'une forte augmentation de la CAT.

- Les palourdes de la station de Faroua au contraire sont apparues les moins perturbées (plus faible augmentation de la CAT et plus faible inhibition de l'AChE) .

B2- Réponse des biomarqueurs en février

Les deux premiers axes (F1, F2) ont extrait respectivement 54.79% et 45.20% de l'inertie soit 99.99% de la variance totale.

- Le pôle positif de l'axe F1 (Fig. V6) est défini principalement par la flore fécale des palourdes (CTR de 0.99), la salinité (CTR de 0.92), les charges des sédiments en *Vibrionaceae* et en flore totale (CTR $\geq$ 0.74) ainsi que par la température et la flore fécale du sédiment (CTR $\geq$ 0.66). Du côté négatif, se projettent d'abord l'activité GST des palourdes (CTR de 0.97), puis les streptocoques fécaux des sédiments (0.83), et plus modestement

l'activité AChE avec une contribution relative de 0.56. Il se projettent également sur cet axe positivement l'observation de Menzel Abderrahmen et négativement celle de Faroua.

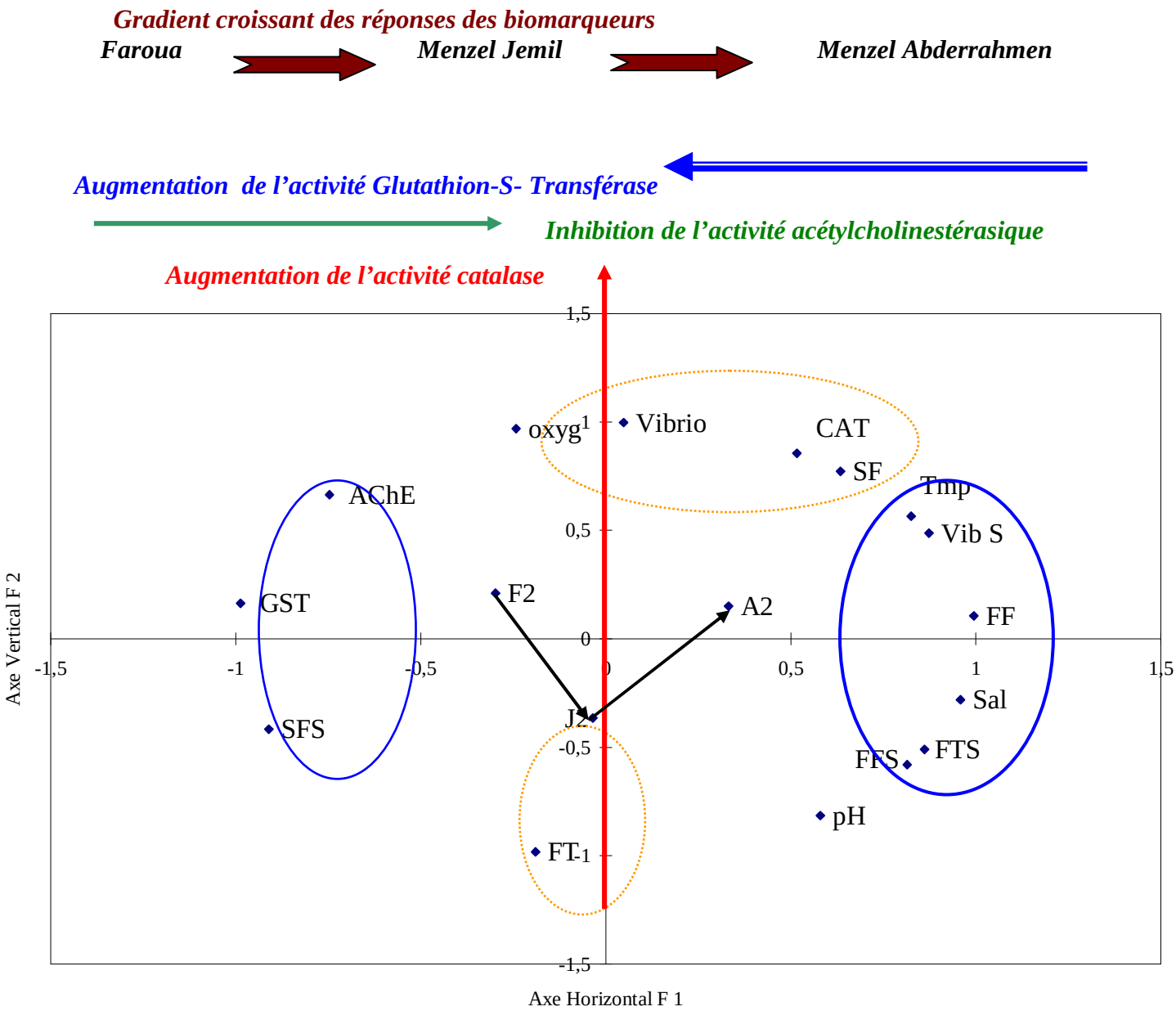


Fig. V6 : Projection sur les axes F1 et F2 des diverses variables et stations considérées en février 99 (en traits pleins bleus: projection sur F1 et en points carrés orange : projection sur l'axe F2).

L'axe F2 : A son pôle négatif, se projettent la flore totale des palourdes (avec une très forte contribution (0.96) puis secondairement le pH et les SF des palourdes (CTR de 0.6). Son côté positif est défini d'abord par la charge des palourdes en *Vibrionaceae* et la teneur des

eaux en oxygène avec de fortes contributions relatives (≥ 0.94) puis par la réponse de la CAT (CTR de 0.66). L'observation de Menzel Jemil participe fortement à la définition de l'axe (CTR de 0.98).

En ce qui concerne les données de février 99, l'activité GST se projetant sur l'axe F1 et induite au maximum chez les palourdes de Faroua a été un système enzymatique dont la réponse a été indépendante de l'activité CAT se projetant sur l'axe F2. Ceci tendrait à prouver que ces deux biomarqueurs n'ont pas répondu au même type de contaminants, ce que conforte la corrélation entre les activités GST et AChE (r = 0.84). L'existence de corrélations négatives entre l'activité GST et les charges en flore fécale des palourdes d'une part et celle en flore totale et en Vibrionaceae des sédiments d'autre part pourrait expliquer le minimum de cette activité à la station de Menzel Abderrahmen, site apparemment le plus contaminé par les eaux usées chargées en divers groupes microbiens (FF et SF des palourdes, FFS et FTS) mais aussi probablement par les apports de pesticides, de HAP ou même de métaux, à en juger par la forte inhibition de l'activité AChE qui a été relevée chez les palourdes du site. Comme en septembre 98, les palourdes de Faroua sont apparues les moins perturbées.

3. Discussion

Il ressort de ces diverses Analyses en Composantes Principales plusieurs résultats intéressants qui permettent de valider la CAT, les GSTs et l'AChE comme des outils efficaces dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte, même si leurs réponses ont varié aux plans spatial et temporel, selon les conditions de perturbation du site et les fluctuations de certains facteurs du milieu.

Au plan temporel :

- De l'A.C.P, tous sites confondus, il ressort qu'une *augmentation de la CAT a été relevée dans toutes les palourdes de la lagune durant l'été* ; celle-ci a été *directement corrélée à certaines surcharges bactériennes* (FT surtout mais aussi FF).
- L'AChE plus spécifiquement inhibée (par des pesticides par exemple) a été *inhibée en septembre à la station A* (démoustication , apports de HAP ?) et au contraire aux stations J et F durant la période des pluies se déversant dans la lagune et y amenant les résidus de pesticides épandus sur les terres agricoles (d'octobre à décembre).

Au plan spatial :

- Les palourdes de la station A ont présenté les minima d'activités AChE et de fortes activités CAT témoignant d'une *forte perturbation anthropique et permanente du site de collecte*.
- Celles de la station J ont présenté en été des augmentations maximales des GSTs (d'août à octobre) et de la CAT (août-septembre) qui semblent répondre à *une perturbation estivale temporaire de la station.*
- En septembre, en période sèche, les palourdes de la station F ont été les moins perturbées, la *perturbation du site étant liée aux apports d'eaux pluviales***.**

Selon les conditions de perturbation :

- La CAT a été induite par des surcharges microbiennes mais sa réponse n'a été nettement observable que si la station n'était pas soumise en permanence à une forte perturbation (comme par exemple à la station A).
- Les GSTs, non spécifiques, ont été induites par divers contaminants organiques (pesticides, HAP,..) et aussi par des surcharges microbiennes.
- L'AchE, la plus spécifique à un type de polluants, n'a fourni que des renseignements partiels sur l'état de contamination du site par les résidus de pesticides.

Selon la variation de certains facteurs du milieu :

- Les réponses de la CAT et des GSTs peuvent être modulées par les facteurs du milieu (T°C, O_2, S°/°°) comme aux stations J et F.

Au terme de l'étude validant une plus large utilisation de la CAT sur le terrain, il semble que ce biomarqueur mérite d'être employé dans les études de suivi de milieu lagunaire, notamment ceux qui sont le siège d'une pollution microbienne. La réponse spécifique de l'AChE à même de fournir des renseignements sur le degré de contamination du site par les pesticides présente l'avantage de ne jamais être sensible au stress halin. Les GSTs, dont la réponse est modulée à la fois par l'intervention d'autres systèmes enzymatiques et certaines conditions abiotiques, doivent au contraire être utilisées dans les études sur le terrain avec beaucoup plus de circonspection et toujours en association avec d'autres biomarqueurs. Par ailleurs, toute étude d'un milieu lagunaire faisant appel aux biomarqueurs se doit pour être

rationnelle d'inclure un suivi en parallèle de la température, de la salinité et de la teneur en oxygène pour minimiser l'interférence des bruits de fond.

II) ETUDE *IN VIVO* : EFFETS DE L'INFESTATION PAR *AEROMONAS HYDROPHILA* SUR LES BIOMARQUEURS.

Les palourdes ont été infestées par une souche d'*Aeromonas hydrophila* et les résultats ont été exprimés après 48h et 96 h.

a) *Stress on stress*

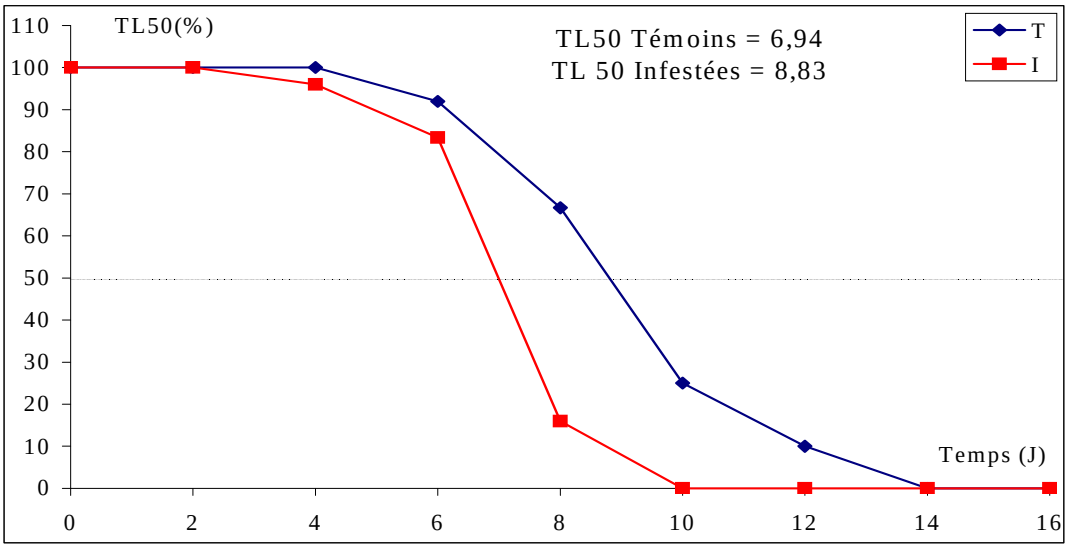


Figure V7 : Evolution des pourcentages des survivants de palourdes après infestation.

D'après la figure V 7, l'infestation par *Aeromonas hydrophila* a provoqué une diminution du TM 50 qui est passé de 8.83 ± 0.68 jours chez les témoins à 6.94 ± 0.43 jours chez les spécimens infestés. La comparaison de ces deux moyennes par le test de Student a montré une différence statistiquement significative ($p = 0.027$). Il est donc clair que cette souche bactérienne constitue un agent stressant pour *Ruditapes decussatus*.

b) Autres biomarqueurs

Le tableau V2 montre les valeurs des différentes activités enzymatiques chez les témoins ainsi que celles des infestées au bout de 48 h et de 96 h.

La GST a présenté une augmentation non significative au bout de 48 h. Cette induction de l'activité GST demeure sans signification pratique puisque celle-ci peut être due au stress

général consécutif à l'expérience, sachant qu'une induction GST a été notée chez les témoins à 96h et non à 48h. Au bout de 96 h d'infestation, une augmentation significative ($p < 0.05$) de cette activité enzymatique a été relevée chez les palourdes infestées par rapport aux témoins.

Tableau : Comparaison des activités CAT, GSTs et AChE après 48 et 96 heures d'infestation de la palourde *Ruditapes decussatus* par une suspension d'*Aeromonas hydrophila.*

NS : différence non significative au seuil de 5% ; S : différence significative au seuil de 5% TS : différence significative au seuil de 1%

	48 heures		96 heures	
Palourdes	Témoins	Infestées	Témoins	Infestées
CAT (μmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.)	48.23 ± 4.56	46.53 ± 9.53 NS	52.13 ± 7.98	63.12 ± 5.23 TS
GST(μmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.)	0,32 ± 0,029	0.34 ± 0.042 NS	0.34 ± 0.031	0.40 ± 0.019 S
AChE (nmol.mn^{-1}mg^{-1}.prot.)	4.25 ± 0.23	4.62 ± 0.58 NS	4.15 ± 0.78	4.84 ± 0.15 NS

La comparaison des activités enzymatiques chez les palourdes après et sans infestation microbienne montre que:

- La variation de l'activité CAT s'est faite exactement dans le même sens que celle des GSTs ; il faut cependant noter que l'induction observée par rapport aux témoins à 96 h a été très significative ($p < 0.001$).

- L'activité AChE est demeurée relativement constante durant toute la période d'expérimentation aussi bien chez les témoins que chez les animaux infestés.

c) Discussion

Si plusieurs auteurs ont évoqué l'action stressante de l'infestation bactérienne et surtout de celle des *Vibrionaceae*, les travaux sur la réponse des biomarqueurs aux contaminations bactériennes sont quasiment absents de la littérature scientifique. Parmi ceux qui en font mention, citons ceux d'Auffret et Oubella (1997) qui ont étudié l'effet de certaines *Vibrionaceae* sur la réponse immunitaire des huîtres et ceux de Paillard (1991), Oubella *et al*. (1993) ; Auffret et Oubella (1995 et1997) qui ont effectué la même étude chez des palourdes. Seuls Maki *et al.* (1998) ont analysé *in vivo* la réponse des moules (*Dreissena polymorpha*) à une injection d'une suspension microbienne de l'espèce *Aeromonas hydrophila*.

La présente étude qui constitue un travail préliminaire qui mérite d'être approfondi ultérieurement tente de confirmer les corrélations observées *in situ* lors du suivi en parallèle des biomarqueurs et des taux en *Vibrionaceae* chez les palourdes de la lagune de Bizerte. Ces expériences d'infestation confirment la spécificité de la réponse de l'activité AChE inhibée par les organophosphorés, les carbamates et certains métaux traces (Brown et Bryson, 1992 ; Lafaurie *et al*., 1992 et Forget, 1998) mais en aucun cas par des bactéries comme les *Vibrionaceae*.

L'infestation bactérienne provoque chez les bivalves l'activation de systèmes cellulaires de défense dans le but de lyser les cellules des organismes pathogènes (Canicatti et Roch, 1993). Chez les bivalves, l'activité lytique est due à la sécrétion d'hémolysines par les hémocytes (Leippe et Renwrantz, 1988). Selon Hubert (1995), le traitement des huîtres *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis* par des suspensions bactériennes induit la synthèse de peptides antibactériens. D'après Adema *et al.* (1991), Pipe (1992) et Greger *et al.* (1995), l'activation des hémocytes (des phagocytes) chez les bivalves marins provoque un choc respiratoire avec production d'espèces oxygénées réactives. D'après nos résultats, ces espèces oxygénées réactives pourraient induire chez les palourdes de la lagune l'activation d'enzymes antioxydantes comme la catalase, seulement à partir de 96 heures ($p < 0.01$). Ce temps de latence pourrait être nécessaire d'une part à la multiplication des bactéries dans la chair et le liquide intravalvaire des animaux et d'autre part à la stimulation des hémocytes et à leur multiplication. L'induction seulement significative des GSTs, enzymes de conjugaison de phase II, laisse supposer que les espèces oxygénées réactives ont généré sous l'effet des enzymes de la phase I des radicaux libres qui vont induire des enzymes de conjugaison de phase II telles que les GSTs.

III) CONCLUSION

L'analyse multivariables en composantes principales est méthode qui présente un grand intérêt dans les études de validation in situ puisqu'elle permet de tenir compte des différents paramètres biotiques et abiotiques du milieu et de leurs actions simultanés sur l'évolution spatio-temporelle des taux de biomarqueurs.

Cette étude multimarqueur a permis de conclure que :

La CAT, les GSTS et l'AChE sont effectivement des outils efficaces dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte. Leurs réponses varient aux plans spatial et temporel selon les conditions de perturbation du site et les fluctuations de certains facteurs du milieu.

Au niveau de la lagune de Bizerte :

- *La CAT et les GSTs ont été induites à toutes les stations en été.*
- *L'AChE spécifiquement inhibée par des apports de pesticides a été inhibée durant la période pluvieuse aux stations J et F et au contraire en juillet à la station A.*
- *Les maxima d'activités CAT et les minima d'activités AChE observés chez les palourdes de la station A témoignent d'une forte perturbation anthropique, permanente.*
- *Les inductions estivales maximales des GSTs et de la CAT chez les animaux provenant de J indiquent l'existence d'une perturbation estivale temporaire.*
- *Les fortes inhibitions de l'AChE et les importantes inductions des GSTs de décembre à mars chez les palourdes de la station F plaident en faveur d'une perturbation reliée aux apports d'eaux pluviales.*

La réponse des biomarqueurs peut être modulée par les conditions de perturbation :

- ***La** CAT a été induite par des surcharges microbiennes mais sa réponse n'a été observable que si la station n'est pas soumise en permanence à une forte perturbation.*
- *Les GSTs induites par les pesticides ou les HAP peuvent répondre à des surcharges microbiennes. Sa réponse comme celle de l'activité CAT pourrait être modulée par les facteurs du milieu (T°C, O_2, S°/°°) comme aux stations J et F.*
- *L'AChE ne fournit que des renseignements partiels sur l'état de contamination du site par des pesticides.*

Il ressort de tous ces résultats que la biosurveillance de la lagune de Bizerte nécessite :

- *Une étude multimarqueur.*
- *La prise en considération des charges microbiennes*

La prise en compte des paramètres abiotiques fondamentaux (Température, salinité, oxygène,….).

Les expériences d'infestation ont permis de confirmer in vivo l'action des bactéries et particulièrement des Vibrionaceae sur l'activité des biomarqueurs tel que la CAT et les GST.

CONCLUSIONS GENERALES

Dans la partie septentrionale de la Tunisie, la lagune de Bizerte, siège d'activités de pêches et de conchyliculture, constitue un plan d'eau économiquement important. Ce milieu, du fait de sa position assez particulière entre la Méditerranée et le lac Ichkeul, présente une variabilité temporelle de plusieurs de ses composantes abiotiques. Cette fragilité naturelle est aggravée par une perturbation anthropique, générée par des rejets domestiques, agricoles et/ou industriels en provenance des agglomérations et des champs limitrophes. Il semblait donc impératif que ce plan d'eau fasse l'objet d'une biosurveillance. Au terme de la présente étude qui a atteint ses deux objectifs essentiels (évaluer l'état de l'écosystème « lagune de Bizerte » et valider *in situ* certains biomarqueurs pour les utiliser dans les programmes de biosurveillance du site en particulier et d'autres milieux similaires), plusieurs résultats ont été obtenus.

Sur le plan écologique :

Les paramètres physico-chimiques de la lagune de Bizerte ont montré une variabilité mensuelle, non seulement directement liée aux conditions climatiques mais aussi influencée par la position du site de collecte et la distance le séparant de la mer. C'est ainsi que :

Les températures de l'eau ont présenté, parallèlement aux températures de l'air, des maxima estivaux et des minima hivernaux. Leurs écarts saisonniers, plus faibles au niveau des stations de Rimel (R) et de la baie des Carrières (C), ont révélé l'influence essentielle de la mer dans la variation spatiale de ce paramètre.

Les salinités ont été très fluctuantes dans le temps et l'espace, leur variation temporelle étant maximale à la station de Tindja (T), la plus continentale, et minimale aux stations marinisées (R et C). Les salinités les plus basses ont été observées à la fin de l'hiver et au printemps en périodes de fortes précipitations.

Les teneurs en oxygène dissous ont elles aussi montré des maxima hivernaux, parallèlement à une diminution des températures et des salinités et à un brassage accru de l'ensemble des couches d'eau par les vents. La période estivale a été caractérisée par une diminution des teneurs en oxygène dissous, quelle que soit la station. La teneur minimale pour l'été, enregistrée à la station J, a témoigné que cette station était eutrophisée sporadiquement.

La stabilité relative des valeurs de pH, généralement alcalines pour l'ensemble des stations, a confirmé l'importance de la mer dans la physico-chimie du plan d'eau et l'absence de rejets acides en grande quantité à son niveau.

Au terme de l'étude biométrique des palourdes (*Ruditapes decussatus*) et des moules (*Mytilus galloprovincialis*) montrant une étroite relation entre leurs paramètres linéaires et pondéraux, il n'est pas apparu de variation intraspécifique au plan spatial, tous les individus étant originaires de la même population souche. Cette homogénéité spécifique permettra de supposer que toutes les variations spatiales des réponses des biomarqueurs sont imputables au degré de perturbations du site de collecte.

Sur le plan microbiologique :

La flore mésophile totale a présenté des maxima en été, parallèlement à une augmentation des températures de l'eau et de l'air. Les sédiments et les palourdes ont été les sites d'élection de ce groupe bactérien.

Les sulfato-réducteurs ont été présents dans 73,43 % des sédiments analysés et de façon continue dans les sédiments des stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja.

La présence des *Vibrionaceae*, notée dans 66,92% de l'ensemble des échantillons considérés, a été signalée plus fréquemment au niveau des stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja. Pendant la période d'août à septembre 1998, leur fréquence a été maximale dans les palourdes et les sédiments et leur concentration a été directement influencée par certains facteurs abiotiques, notamment la température et l'oxygène dissous. Quatre espèces différentes ont été identifiées : *Aeromonas hydrophila*, nettement prédominante (82,24 % des souches isolées), *Vibrio parahaemolyticus* (10,68 %), *Aeromonas sobria* (4,58 %) et *Vibrio vulnificus* (2,2 %). Les souches d'*Aeromonas hydrophila* isolées des différents compartiments considérés ont présenté des résistances aux antibiotiques relativement élevées pouvant aller jusqu'à 12 antibiotiques sur les 15 testés.

Selon les normes en vigueur pour la flore fécale, 6.2 % des prélèvements d'eau et de sédiment ont dépassé le seuil de 34 CF/100 ml contre 28,57% des échantillons de palourdes qui ont présenté des taux supérieurs au seuil de 300 CF/100ml. Toutes les moules analysées ont présenté des taux inférieurs aux normes nationales et internationales en vigueur.

En tenant compte de tous les résultats obtenus avec l'étude microbiologique, il a été proposé un classement des stations prospectées selon leur degré de contamination :

- Les stations de Menzel Abderrahmen et de l'oued Tindja, les moins salubres, ont présenté une pollution par la flore fécale et les germes sulfato-réducteurs et des taux relativement élevés de *Vibrionaceae*. Cette contamination est d'origine domestique à la première station et continentale à la seconde.

- Les stations de Faroua, de Menzel Jemil, de la baie des carrières et de Menzel Bourguiba qui n'ont été polluées que temporairement par les coliformes, les sulfato-réducteurs ont présenté des taux moyens de *Vibrionaceae*. Les bactéries allochtones y proviennent des rejets domestiques, des eaux continentales et peuvent secondairement proliférer en cas d'eutrophisation.

- La station balnéaire de Rimel sans pollution fécale n'a été contaminée qu'accidentellement au niveau de ses sédiments par les sulfato-réducteurs en juin pendant la période de baignade. Cette station mérite donc d'être considérée comme station de référence.

Sur le plan écotoxicologique :

L'étude multi-biomarqueurs a permis de tirer diverses conclusions. Certaines d'ordre pratique nous ont fourni des renseignements sur l'état de contamination de la lagune de Bizerte et d'autres fondamentales nous ont permis de valider les biomarqueurs testés comme outils de biosurveillance. Ainsi le *stress on stress*, la Catalase (CAT), les glutathion-S- transférases (GSTs) et l'acétylcholinestérase (AChE) se sont révélés des moyens efficaces de surveiller la lagune de Bizerte. Leurs réponses ont varié aux plans spatial et temporel selon les conditions de perturbation du site et les fluctuations de certains facteurs du milieu.

➢ ***Au plan temporel***

- La CAT et les GSTs répondant à divers types de contamination ont été induites chez les deux espèces (*Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*) à toutes les stations en été,

- L'AChE spécifiquement inhibée par des apports de pesticides a été inhibée durant la période pluvieuse (octobre à décembre) aux stations J et F et au contraire en juillet à la station A.

➢ ***Au plan spatial***

- Les bivalves provenant des 4 stations de collecte (A, C, J et F) ont montré qu'ils étaient exposés à diverses conditions environnementales en répondant différemment au *stress on stress*.

- Les palourdes de la station A qui ont présenté les maxima mensuels d'activités CAT et les minima mensuels d'activités AChE ont indiqué une forte perturbation anthropique et permanente du site.
- Les inductions estivales maximales des GSTs (août à octobre) et de la CAT (août-septembre) chez les moules et les palourdes de la station J ont été des arguments en faveur d'une perturbation estivale, temporaire, liée à la mauvaise qualité ponctuelle du site (eutrophisation).
- Les palourdes de la station F ont montré de fortes inhibitions de l'AChE de février à avril et d'importantes inductions des GSTs de décembre à mars, la perturbation du site étant liée aux apports d'eaux pluviales lessivant les terrains agricole voisins.
- Les moules de la station C se sont caractérisées, en dehors de la période estivale, par des activités CAT fortes et des activités AChE faibles témoignant d'une perturbation du site par des rejets mixtes (domestiques, industriels et pétroliers).

➢ ***Selon les conditions de perturbation***

- La CAT a été induite par des surcharges microbiennes estivales mais sa réponse n'a été observable que si la station n'était pas soumise en permanence à une forte perturbation, comme celle de Menzel Abdarrahmen.
- Les GSTs induites non spécifiquement par les pesticides ou les HAPs ont pu répondre à des surcharges microbiennes.
- L'AChE n'a fourni que des renseignements partiels sur l'état de contamination du site par un type de contaminants (pesticides).
- Les réponses de la CAT et des GSTs ont été modulées par les facteurs du milieu (température, O_2, salinité) comme aux stations J et F.
- L'induction des réponses CAT et GSTs *in situ* en présence de certaines bactéries a été confirmée *in vivo* par des tests d'infestation par *Aeromonas hydrophila*. Cette infestation est au contraire demeurée sans effet sur la réponse d'un biomarqueur spécifique comme l'AChE.

Il ressort de tous ces résultats que la biosurveillance de la lagune de Bizerte, sujette à une perturbation mixte, engendrée à la fois par des surcharges bactériennes (sites J, A et F), des pesticides (stations A et F) et par l'eutrophisation (J) ***nécessite une étude multimarqueur prenant en considération aussi bien les concentrations microbiennes que des paramètres abiotiques fondamentaux (température, salinité, oxygène….).***

Si nos premiers travaux *in vivo* ont permis de vérifier que certaines souches bactériennes intervenaient sur la réponse de la CAT et celle des GSTs, il serait intéressant d'approfondir ultérieurement ce thème de recherche. C'est ainsi qu'il serait souhaitable d'étudier leur réponse à diverses souches bactériennes (autochtones et allochtones) d'une part et leur modulation face aux variations de certaines conditions du milieu (température, salinité, oxygène….) d'autre part, sans oublier l'effet des toxines élaborées par le phytoplancton.

ABEL D., GROBPIETSCH H. et PORTNER H., 1998. -Temporal fluctuations and spatial gradients of environmental PO_2, H_2O_2 and H_2S in its intertidal habitat trigger enzymatic antioxidant protection in the capitellid worm *Heteromastus Filiformis*. *Mar. Ecol. Prog. Series.* (163): 179-191.

ABOU ELFIDA A., 1306.- Géographie. Traduction de REINARD, 1883., *Imp. Nation. Paris* 1 (2): 327 p.

ADEMA C. M., VAN DER KNAAP W. P. W., SMINIA T., 1991. Molluscan hemocytes mediated cytotoxicity: the role of reactive oxygen intermediates. Rev. Aquatic. Sci. (4): 201- 223.

AISSA P., 1991. - Ecologie des nématodes libres de la lagune de Bizerte. Dynamique et biocénotique. *Thèse de Doct. Etat, Fac.Sci. Tunis* : 370 p.

ALDRIGE W. N. et REINER E., 1972. -Enzyme inhibitors as substrats. Interaction of esterases with esters of organophosphorus and carbamic acids. *Frontiers. Biol*. (26): 1-328.

AL-GHAZALI M., JAZRAWI S. et AL-DOORI Z., 1988. - Antibiotic resistance among pollution indicator bacteria isolated from Al-Khair river, Baghdad. *Water Res*. (22): 641–644.

AL-JEBOURI M., 1985. - A note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage-polluted river Tigris in Mosul, *Iraq. J. Appl. Bacteriol.* (58): 401–405.

ALONSO J.L., SORIANO A., CARBAJO O., AMOROS I., et GARELICK H., 1999. - Comparison and Recovery of *Escherichia coli* and Thermotolerant Coliforms in Water with a Chromogenic Medium Incubated at 41 and 44.5°C. *Appl. Environ. Microbiol.:* 8 (65): 3746–3749.

ALOUI–BEJAOUI N., 1998 a. - Ecobiologie de la population de moules *Mytilus galloprovincialis* Lamark (1819) du lac de Bizerte. *Thèse. Doct. Fac. Sci. Tunis*. 263 p.

ALOUI –BEJAOUI N., 1998 b. - La croissance absolue de *Mytilus galloprovincialis* dans le lac de Bizerte : Relation Taille/age dans les stations d'élevage. *Bull. Instit. Nat. Sci. Techn. Mer*. (25) : 51-66.

AMIARD-TRIQUET C., ALTMANN S., AMIARD J. C, BALLAN-DUFRANCAIS C., BAUMARD P., BUDZINSKI H., CROUZET C., GUARRIGUES. J. P., HIS E, JEANTET A. Y., MENARSIA R., MORA P., MOUNEYRAC C., NARBONNE J. F. et PAVILLON J. F., 1998.- Fate and effects of micropolluants in the Girond estuary, France: a multidisciplinary approach. *Hydrobiologia.* (373/374) : 259 - 279.

ANPE. 1990. - Diagnostic préliminaire pour l'étude de l'équilibre écologique du lac de Bizerte : 72 p.

AOKI, T., EQUASA S., KIMURA T. et WATANABE T. 1971. - Detection of R factors in naturally occurring *Aeromonas salmonicida* strains. *Appl. Microbiol*. (22): 716–717.

AOUIJ S. 1995. - Etude des Bio-indicateurs (les poissons et leurs parasites) dans l'évolution de l'écosystème Ichkeul. *Thèse doct. Univers. Tunis II* : 209 p.

ARAUJO R., ARRIBAS R. et PARES R., 1991 - Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution. *J. Appl. Bacteriol*. (71): 182.186.

ARIAS C., MACIAN M, AZNAR R, GARAY E et PUJALTE M. - 1999 Low incidence of *Vibrio vulnificus* among *Vibrio* isolates from sea water and shellfish of the western Mediterranean coast. *J. Appl. Microbiol* 86(1): 125-34.

ARNAUD P. et RAIMBAULT R., 1963. - Note préliminaire sur la palourde *Tapes decussatus* L. de l'étang de Thau. *Rev. Trav. Inst. Pêches. Marit*. ,27(2) : 195-201.

ARNOUX A. 1992.- Indicateurs physico-chimiques de la qualité du milieu marin « Qualité du milieu marin – Indicateurs biologiques et physico-chimiques », *Boudouresque C.F., Avon M. et Pergent- Martini C. edt.* GIS Posidonie *publ.* :43 – 48.

AUBERT M. et MOR I., 1992. - Bain de mer et manifestations pathologiques. *Rev. Inter. Océanogr.* Med. CERBOM. 19-31.

AUFFRET M. et OUBELLA R.1995.- Cytology and Cytometric analysis of bivalve mollusc hemocyte. *in*: Techniques in Fish Immunology, (4): *Immunology and Pathology of Aquatic Invertebrates* (J.S. Stolen *et al, Edt*) SOS Publications, Fair Haven, NJ, USA: 55-64.

AUFFRET M. et OUBELLA R. 1997. - Hemocyte aggregation in the oyster *Crassostrea gigas*: *In vitro* measurement and experimental modulation by xenobiotics. *Comp. Biochem. Physiol*. 118A (31): 705-712.

AYRES P.A., BURTON H. et CULLUM M. L.1975. - Sewage pollution and shellfish. *J. Hyg*. (74) : 51- 62.

AYSIN C. and AYTEN, 1998. Seasonal distibution of indicator bacteria in seawater from Bosphorus. *Rapp. Comm. int. Mer Médit* 35: 346-347.

AZOUZ A. 1966. - Etude des peuplements et des possibilités d'ostréiculture du lac de Bizerte. *Ann. inst. Ocea.Pêches. Salambo*. (15) : 1- 69.

BAGNOULS F. et GAUSSEN H., 1953. Saison sèche et indice xérothermique. *Doc. Cartes prod. vég. Serie*. (3): 193-239.

BAINE W.B., MAZZOUTTI M., GRECO D., IZZO E., ZAMPIERI A., ANGIONI G., DI GIOIA M., GANGAROSA E. J. et POCCHIARI F. 1974. - Epidemiology of cholera in Italy in 1973. *Lancet.* 2(7893): 1370 –1374.

BARBIERI E. L., FALZANO C., FIORENTINI A., PIANETTI W., BAFFONE A., FABBRI P., MATARRESE A., CASIERE M., KATOULI I., KÜHN R., MOLLBY F. BRUSCOLINI et DONELLI G. 1999. - Occurrence, diversity and pathogenicity of halophilic *Vibrio* spp. and Non-O1 *Vibrio cholerae* from estuarine waters along the Italian Adriatic coast. *Appl.Envir. Microb*., 65 (6): 2748-2753.

BATURO W. 1995. – Etude des effets écotoxicologiques de l'atrazine et de l'héxachlorobenzène sur *Lymnaea palustris* (Müller) (Gasteropoda, Pulmonata) maintenue en mésocosmes : Identification et validation expérimentale de biomarqueurs . *Thèse Doct. Univ. Paris –sud*. 301 p.

BAYNE B.L., 1989. – Measuring the biological effects of pollution: The Mussel Watch approach. *Wat. Sci. tech.* (21): 1089- 1100.

BELKHIR M., GHABI H., DRIDI S., AMARA H., KSOURI A. et HADJ ALI SALEM M., 1985. - *Lac de Bizerte: étude physico-chimique et microbiologique de l'écosystème lagunaire*- Rapports et documents INSTOP Tunisie (3): 3 - 14.

BEN HADJ S., 1992. - Contribution à l'étude paléogéographique des palourdes (*Ruditapes decussatus*). *Thèse. Doct. Special. Fac. Sci. Nantes* : 200 p.

BENINGER P.A. et LUCAS A., 1984. - Seasonal variation in condition reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams et Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*., (79): 19-37.

BEN M'BAREK N., 1995. - Impacts des ouvrages sur l'équilibre de l'écosystème « lac Ichkeul » : suivi mensuel des principaux paramètres physico-chimiques. *D.E.A. Fac. Sci. Tunis*.

BERTRAND C., 1990. - Bactériologie médicale. Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical. *Edt. Décarie Montréal. Paris* : 358 p.

BEYREM H., 1993. - Impact sur la méiofaune du déversement d'eaux de refroidissement et de lavage par la raffinerie de Bizerte. *D.EA. Fac. Sci. Tunis* : 144 pp.

BEYREM H. 1999. - Ecologie des nématodes libres de deux milieux anthropiquement perturbés: la baie de Bizerte et le lac Ichkeul. *Thèse doct. Fac. Sci. Bizerte* : 297 pp.

BHATTACHERJEE J., PATHAK S. et GAUR A., 1988. - Antibiotic resistance and metal tolerance of coliform bacteria isolated from Gomati River water at Lucknow city. *J. Gen. Appl. Microbiol*. (34): 391–399.

BISIGNANO, V., LOCURTO R.B., MAUGERI T. et SCOGLIO M., 1981. - The annual cycle of halophilic vibrios in the brackish lake of Ganzirri. *Rev. Int. Oceanogr. Méd.* (62): 15.21.

BOCKEMUHL J. et TRIEMER A., 1974.- Ecology and epidemiology of *V. Parahaemolyticus* on the coast of Togo. *Bull. World Health org*. (51): 353.

BOCQUENE G., 1996. - L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. *Thèse Doct., Ecole Pratique des Hautes Etudes* : 250 p.

BOCQUENE G. et GALGANI F., 1991. - Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbaryl and Phosalone. *Ecotox. Environ. Safety*. (22): 337 - 345.

BOCQUENE G., GALGANI F. et WALKER H., 1997. - Les cholinestérases, Biomarqueurs de neurotoxicité. *In* Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., *Edt*, Biomarqueurs en écotoxicologie – aspects fondamentaux. *Masson*, Paris. France : 209 – 240.

BONANG G., LITONG M. et SANTOSO U.S., 1974. - The isolation and susceptibility to various antimicrobial agents of *V. parahaemolyticus* from acute gastroenteritis case and from sea food in Jakarta. *In Int. Symp. Vibrio parahaemolyticus*. *Saikon Pub. Co. Tokyo*: 27 p.

BORG D. et SCHAICH K. 1984. - Cytotoxicity from coupled redox cycling of autoxidizing xenobiotics and metals. *Isr.Jour. Chem.* (24): 38-53.

BRADFORD M., 1976. -A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* (72): 248-254.

BRAWN K. et FRIDOVICH I., 1980. - Superoxide dismutase : threat and defense. *Acta Physiol. Scand.* 492: 9-18.

BRODSKY M., 1997. - Abolition of the term “fecal coliforms” seconded. *ASM News* (63): 345–346.

BROWN K., 2000. - Control of bacterial spores. *Br. Med. Bull.*, 56(1):158-71.

BROWN R. A., SEED R. et O’CONNOR R.J., 1976. - A comparison of relative growth in *Cerastoderma (= Cardium) edule, Modiolus modiolus* and *Mytilus edulis* (Mollusca, bivalvia). *J. Zool*. (179): 297- 315.

BROWN T. et BRAYSON L., 1992. - Selective inhibitors of methyl parathion resistant acetylcholinesterase from *Heliothis virescens*. *Pest. Biochem. Physiol.* (44) : 155 - 164.

BRUNI V., CRISAFI T. et MAUGERI T., 1987. - Preliminary data on halophilic vibrios in the straits of Messina. *Rev. Int. Ocean. Méd.* (82-83): 67-74.

BRYANT A.E., CHEN R.Y., NAGATA Y., WANG Y., LEE C., FINEGOLD S., GUTH PH., et STEVENS D.L., 2000. - Clostridial Gas Gangrene. II. Phospholipase C-Induced Activation of Platelet gpIIbIIIa Mediates Vascular Occlusion and Myonecrosis in *Clostridium perfringens* Gas Gangrene. *J Infect Dis.,* 182(3): 808-815.

BURGEOT T., BOCQUENE G., PORTE C., DIMEET G., SANTELLA R.M., GARCIA DE LA PARRA L. M., PFHOLLESZKOWICZ A., RAOUX C. et GALGANI F. 1996.- Bioindicators of pollutant exposure in the north-western Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, (131): 125- 141.

BURKHARDT W., WATKINS W. et RIPPEY S., 1992. - Seasonal effects on accumulation of microbial indicator organisms by *Mercenaria mercenaria*. *Appl. Environ. Microbiol* ., 58(3): 826-31.

BUSTA F., 1978. -Introduction to injury and repair of microbial cells: 195-201 *in* D. PERLMAN, ed. *Advances in applied microbiology*. Academic press, New York.

CAHILL M., 1990. - Bacterial flora of fishes: a review. *Microbiol. Ecol.,* 19: 21– 41.

CAJARAVILLE M., BEBIANNO M., BLASCO J., PORTE C., SARASQUETE C., VIARENGO A., 2000. - The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. : *Sci. Total Environ*. (2-3): 295-311.

CANCIO I., IBABE A. et CAJARAVILLE M., 1999. - Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in mussels *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content: *Comp. Biochem. Physiol.* 123(2):135-144.

CANICATTI C. et ROCH P. 1993. – stratégies de défenses immunitaires, biologie et évolution des systèmes lytiques. *Eds. Masson. Paris, Milan, Barcelone, Bonn*.

CARMICHAEL W. et FALCONER I. R., 1993. - Diseases related to freshwater blue-green algal toxins and control measures. *In* FALCONER I. R . Algal Toxins in Seafood and Driking Water. *Academic Press. Londres*: 187- 209.

CARUSO G., ZACCONE R., MONTICELLI L., CRISAFI E. et ZAMPINO D., 2000. - Bacterial pollution of Messina coastal waters: a one year study. *New Microbiol.,* 23(3): 297-304.

C. A. S. F. M., 1998. - Comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie. Antibiogramme Pasteur. Technique des disques par diffusion en gélose pour les bactéries à croissance rapide (18 à 24 h). Edt. Sanofi Pasteur : 11 p.

CHADLI A., CAPAPE C., ZAOUALI J. et JEKOV S., 1986. - La pollution bactérienne des eaux littorales du nord de la Tunisie (régions de Tabarka et de Bizerte) et du lac de Bizerte. *Archs Inst. Pasteur. Tunis*., 63 (4): 481 - 512.

CHAOUACHI B., Contribution à l'étude de l'écosystème Ichkeul: Conditions du milieu et peuplements ichtyques. *D.E.A. Fac. Sci. Tunis* : 282 p.

CHATTERJEE S. et BHATTACHARYA S. (1984).- Detoxication of industrial pollutants by the glutathione S-transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (bloch). *Toxicol. Lett.*, 22 : 187-198.

CHAUMONT M., 1956. - Hydrologie du lac Ichkeul et de ses affluents. *Arch. Minist. Agri., Tunis :* 83 p.

CHRISTIE N. et COSTA M., 1984. - In vitro assessment of the toxicity of metals compounds. IV Disposition of metals in cells: Interaction with membranes, glutathione, metallothionein and DNA. *Biol. Trace. Ele. Research.*, (6): 139-158.

CLAIBORNE A., 1985. - Catalase activity *In* Greenwald R A Ed. Handbook of methods for oxygen radical research. *(CRC Press, Boca Raton, Florida)*: 283-284.

COLWELL R.R., KAPER J.B., REMMERS E.F. et LOCKMAN H., 1978. - Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake bay during the summer season. *Estuaries*, 4: 321- 327.

COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, 1998.- Communiqué du Comité de l'Antibiogramme de la Société française de Microbiologie. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 13:243–258.

COOK D.W. et RUPLE A.D., 1989- Indicator bacteria and *Vibrionaceae* multiplication in post-harvest shellstock oysters. *J. Food. Prot*., 52: 343. 349.

COSSA D., 1989. – A review of the use of Mytilus spp. As quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanol. Acta*. (12) : 417-432.

COSSU C., DOYOTTE A., JAQUIN M. et VASSEUR P., 1997 a. - Mécanismes de formation et effets des espèces réactives de l'oxygène. *In Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux* : 125-147.

COSSU C., DOYOTTE A., JAQUIN M. et VASSEUR P., 1997 b. - Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. *In Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux* : 149-163.

COSSU C., DOYOTTE A., BABUT M., EXINGER A. et VASSEUR P., 2000. - Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol Environ. Saf.* , 45(2):106-21.

CRDA (Commissariat Régional au Développement Agricole de Bizerte), 1998. Rapport annuel de l'arrondissement de la pêche.

CROUZET P., 1972. - Contribution à la connaissance de la physico-chimie et de la production primaire du lac nord de Tunis. *Thèse. Doct. Univ. Paris :* 72 p.

DAJOZ R., 1996. Précis d'écologie, 2e et 3e cycles universitaires. 6e edition. *Dunod. Paris :* 551 p.

DALLA VIA G. J., TAPPEINER U. et BITTERLICH G., 1987. - Shore level related morphological and physiological variations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) (Mollusca, bivalvia) in the North Adriatic Sea. *Monitore. Zool. Ital*., 21: 293- 305.

DANIELS N., RAY B., EASTON A., MARANO N., KAHN E., MC SHAN A., DEL ROSARIO L., BALDWIN T., KINGSLEY M., PUHR N., WELLS J., ANGULO F., 2000. - Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in raw oysters: A prevention quandary. *JAMA*, 284 (12): 1541-1545.

DAY K. E. et SCOTT I. M., 1990. - Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphorate insecticides. *Aquat. Toxicol.* (18): 101 - 114.

DE FAGES E. et PARZEVERA C., 1903. - Les pêches maritimes en Tunisie. *Edt Picard*. Tunis: 323 p.

DE LACROIX F., 1668. - Relations universelles de l'Afrique ancienne et moderne. *Edt Thomas Almany*. Lyon : 576 p.

DE LAGARDE J., 1983. - Initiation à l'analyse des données. *Edt. Bordas* Paris : 157 p.

DELLALI M., 1996. - Etat de pollution de la lagune de Bizerte et effets à court terme de certains polluants sur *Sphaeroma serratum* (Fabricius, 1787), *Idotea balthica* (Pallas, 1772) et *Ruditapes decussatus* (Linné,1758) : 144 p.

DELLALI M. et AISSA P., 1998. - Etat de pollution de la lagune de Bizerte. *Bull. Inst. Nat. Sci. Techn. Mer.* (3) : 56-60.

DELLALI M., AISSA P., GNASSIA- BARELLI M. et ROMEO M. 1998. - Utilisation des palourdes dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : résultats préliminaires. *Bull. Inst. Nat. Sci. Techn. Mer.* (4) : 41 - 44.

DELLALI M., ELBOUR M. et AISSA P., 2000. - Caractérisation des populations de *Vibrionaceae* de la lagune de Bizerte (Tunisie). *Jour. Europ. Hydrol.* 31 (1) : 91-103.

DELLALI M., ELBOUR M. et AISSA P., 2001 a - Evaluation de la pollution bactérienne dans la lagune de Bizerte : résultats préliminaires (*Jour. Rech. Océanogr*.) (*sous presse).*

DELLALI M., ROMEO M. et AISSA P., 2001 b - Suivi annuel de l'activité catalase chez des moules et des palourdes de la lagune de Bizerte. *Oceanologica Acta*. 24 (3) : 1-9.

DGPA, 1998. - Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture.

DGPA, 1999. - Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture.

DEPAOLA A. et ROBERTS M.C. 1995. - Class D and E tetracycline determinants in gram negative bacteria from catfish ponds. *Mol. Cell. Probes*. (9): 311-313.

DEVI M. et FINGERMAN M., 1995. - Inhibition of acetylcholinesterase activity in the central nervous system of the red Swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, by Mercury, cadmium and lead. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.,* (55): 746- 750.

DJELLOULI A. S., 1988. - Recherche sur le Macrophytobenthos de la lagune de Bizerte (Tunisie). *D. E. A. Fac. Sci. Tunis*: 144 p.

DODGSON R.W., 1928. - Report on mussel purification. *His Majesty's Stationery Office*. London: 497 p.

DORIS A., HEIKE G. et HANS O. P., 1998. - Temporal Fluctuations and Spatial gradients of environmental PO_2, temperature, H_2O_2 and H_2S in its intertidal habitat trigger enzymatic antioxidant protection in the capitellid worm *Heteromastus filiformis*. *Mar. Ecol. Prog. ser.,* (163): 179-791
.

DRIDI S., 1977. - Recherches écologiques sur les milieux lagunaires du nord de la Tunisie. *Tunis*: 88 p.

EDWARDS D., MC FETERS G. et VENKATESAN M., 1998. - Distribution of *Clostridium perfringens* and fecal sterols in a benthic coastal marine environment influenced by the sewage outfall from Mc Murdo Station, Antarctica .*Appl. Environ. Microbiol.,* 64(7): 596-600.

EERTMAN R. H. M et ZWAAN A., 1994. – Survival of the fittest : resistance of mussels to aerial exposure. In Biomonitoring of coastal waters ans estuaries K.I.M. Kramer (eds). CRC Press, Boca Raton : 269-282.

ELLMAN G.L., COURTNEY K.D., ANDRES V.J. et FEATHERSTONE R.M., 1961., - A new and rapid colorimetric of acetylcholinesterase activity. *Biochemic. Pharmacol*., (7) : 88-95.

ENDECO YSI, 1992. - Manuel Endeco Ysi de mesure de l'oxygène.

ESCARTIN E. et PORTE C., 1997. - The use of cholinesterase and carboxylesterase activities from *Mytilus galloprovincialis* in pollution monitoring. *Environ. Toxicol. Chem.*, (16) : 2090 - 2095.

ESSID N., 1999.- Contribution à l'étude de la pollution organo-minérale de la lagune de Bizerte: Caractérisation géochimique, sédimentologique et impact sur les nématodes libres marins. *D.E.A Fac. Sc. Bizerte* : 198 p.

F. A. O ., 1998. Statistiques de la production en aquaculture. Food Agriculture Organisation Publications. 195 p.

FARRINGTON J.W., DAVIS A.C., TRIPP B.W., PHELEPS D.K. et GALLOWAY W.B. 1987. – Mussel Watch, Measurement of chemical pollutants in bivalves as one indicatyors of coastal environnemental quality. In: BOYLE T.P., (eds). New approaches to Monitoring Aquatic Ecosystems, ASTM STP 940. *American Society for testing and Materials, Philadelphia.* 125-139.

FENET H., CASELLAS C., NUNEZ-DELGADO A., BONNET M., STIEN S., LAFAURIE M. et BONTOUX J.1994. - Mesure de l'activité EROD pour la biosurveillance du milieu aquatique chez l'Anguille européenne *Anguilla anguilla. Conférence: Le recours biologique pour la surveillance en continu de la qualité des eaux.* Nancy. France: 121- 128.

FIORENTINI C., BARBIERI E., FALZANO L., MATARESSE P., BAFONNE W., PIANETTI A., KATOULI M., KÜHN M., MOLLBY R., BRUSCOLINI F., CASIERE A. et DONELLI G., 1998. - Occurrence, diversity and pathogenicity of mesophilic *Aeromonas* in estuarine waters of the Italian coast of the Adriatic Sea. *Jour. Appl. Microb.*, (85): 501. 511.

FISHER et YATES, 1957.- Statistical tables of biological, agricultural and medical research. *Oliver and body – Edimburgh Tweeddal court*. London.

FITZPATRICK P.J., KRAG T.O.B., HOJRUP P. et SHEEHAN D., 1995. - Characterization of a glutathione S -transferase and a related glutatione-binding protein from gill of the blue musssel, *Mytilus edulis. Biochem. Jour*., (305): 145- 150.

FLEET G., 1978.- Oyster depuration a review. *Food Technol. Aust.*, (30): 444–454.

FONG K. L., MC CAY P. B., POYER J. L., KEELE P. B. et MISRA H., 1973. - Evidence that peroxidation of lyososomal membranes is initiated by hydroxyl free radicals produced during flavin enzyme activity. *J. Biol. Chem*., (248): 7792- 7797.

FORGET J., 1998. - Impact neurotoxique de contaminants (Pesticides et métaux) sur un crustacé marin (*Tigriopus brevicornis)* (Müller). Caractérisation de la Cholinestérase et application à la surveillance des effets de polluants sur l'environnement marin. *Paris*. 171 p.

FOUREMAN G.L., 1989. - Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals : Hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes). *In*: Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environnement. *Edt. VARANASI U. CRC Press. Boca Raton*: 185- 202.

FREEDMAN J.H., CIRIOLO M.R. et PEISACH J., 1989. - The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J. Biol. Chem.* (264): 5598-5605.

FRENEY J., HUSSON M. O., GAVINI F., MADIER S., MARTRA A., IZARD D., LECLERC H. et FLEURETTE J., 1988. - Susceptibilities to antibiotics and antiseptics of new species of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Che-mother*., 32: 873–876.

FRISONI G. F., GUELORGET O., PERTUISOT J. P. et FRESI E. 1986. - Diagnose écologique et zonation biologique du lac de Bizerte. Applications aquacoles. *Rapport du projet MEDRAP :* régional Méditerranean developpement of aquaculture. FAO : 41 p.

FUJIKI M., 1972. – The transisional condition of Minamata bay and the neighbouring sea polluted by factory waste containing mercury. *6th. Conf. Water. Poll. Res*. Paper N° 12.

GALGANI F. et BOCQUENE G., 1989. - A method for routine detection of organophosphorates and carbamates in sea water. *Envir. Technol. Lett,*. (10): 311 - 322.

GARDINI F., TRIVISANO C., LANCIOTTI R., MAFFEI M., GUERZONI F, 2000. - Suitability of log-linear models to evaluate the microbiological quality of baby clams (*Chamelea gallina L.*) harvested in the Adriatic Sea. *Int. J. Food Microbiol* ; 54(1-2): 63-74.

GAUTHIER P. M. et PIETRI C., 1989. - Devenir des bactéries et des virus entériques en mer. *In : Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques.* BIANCHI. M: *Edt. Masson*: 319- 337.

GAUTHIER P. M., FLATAU M., CLEMENT R. et BREITTMAYER V.A., 1993 - Nouvelles perspectives sur l'adaptation des entérobactéries dans le milieu marin. *Mar. Life,* 3: 1-18.

GELDREICH E., 1978. - Bacterial populations and indicators concepts in feces, sewage, stromwater and solid wastes. *In*: *Indicators of virus in water and food* (*BERG, G., Edt). Ann. Arbor. Publ.*: 4-97

GEORGE G. S. et BUCHANAN G., 1990. - Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione S-transferases. *Fish. Physiol. Biochem.,* 8 (6) : 437-449.

GEORING P L., MISTRY P. et FOWLER B A., 1987. - Mechanisms of metal induced cell injury. *Handbook of toxicology*: 384- 425.

GERARD A., 1978.- Recherches sur la variabilité de diverses populations de *Ruditapes decussatus* et *Ruditapes philippinarum* (Veneridae). *Thèse Doct*. C. O. B : 149 p.

GERBA C. P. et GOYAL S. M., 1978. - Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish. *J. Food. Prot*., (41): 743- 754.

GIMAZANE J. P. et MADHIOUB M. N. 1979 a. - Croissance de l'huître plate dans le lac de Bizerte. Premiers résultats. *Bull. Off. Nat. Pêches*. (3): 91 – 94.

GIMAZANE J. P. et MADHIOUB M. N. 1979 b. - Croissance du naissain de la clovisse japonaise dans le lac de Bizerte. Premiers résultats. *Bull. Off. Nat. Pêches*. (3): 99 – 108.
GIMAZANE J. P. 1981. - La reproduction de la moule au lac de Bizerte. *Bull. Off. Nat. Pêches*. (5): 128 – 129.

GOERING P. L., MISTRY P. et FOWLER B. A., 1987. - Mechanisms of metal induced cell injury. *Handbook of toxicology*: 384-425.

GOLDBERG E.D., KOIDE M., HODGE V., FLEGAL A. R. et MARTIN J. 1983. - U. S Mussel Watch: 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. *Est. Coast. Shelf. Sci.* (16): 69-93.

GONI-URRIZA M., CAPDEPUY M., ARPIN C., RAYMOND N., CAUMETTE P. et QUENTIN C., 2000. - Impact of an Urban Effluent on Antibiotic Resistance of Riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Appl. Envir. Microbiol,* 66 N :125–132.

GRAS M. P. et GRAS P. 1981. - Aquaculture des bivalves en claires dans le bassin de Marennes- Oléron. *Bull. inst. Pêches. Marit*., 314 : 1- 30.

GREGER E. A., Drum A. S. et ELSTON R. A. 1995. – Measurement of oxidative activity in hemocytes of the pacific rzor clam, Siliqua patula, and the oyster, Crassostrea gigas, Using lucigenin and luminol-dependant chemluminescence. *J. Invertebr. Pathol*. (65) : 48 – 60.

GUELORGET O. et PERTUISOT J. P. 1983. - Le domaine paralique. Expressions géologiques, biologique et économique du confinement. Travaux du laboratoire de géologie. *Presse de l'ENS*. France : 16 p.

HABIG W.H., PABST M.J. et JACOBI W.B., 1974. - The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, (249): 7130-7139.

HALLING-SRENSEN B., NORS NIELSEN S., LANZKY P., INGERSLEV F., HOLTEN LUTZHFT H. et JRGENSEN S. 1998. - Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment. *Chemosphere*. 36: 357–393.

HAMON P. Y., 1983. - Croissance de la moule *Mytilus galloprovincialis* (LmK) dans l'étang de Thau et estimation des stocks de mollusques en élevage. *Thèse d'état. Univer. Sci. Techn. Languedoc* : 286 p.

HAMON P. Y., 1983. - Croissance de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) dans l'étang de Thau et estimation des stocks de mollusques en élevage. *Thèse d'état. Univ. Languedoc* : 286 p.

HAMZA-CHAFFAI A., COSSON R.P., AMIARD-TRIQUET C. et EL ABED A., 1995.- Physico-chemical forms of storage of metals (Cd, Cu and Zn) and metallothionein-like proteins in gills and liver of marine fish from the Tunisian coast: ecotoxicological consequences. *Comp. Biochem. Physiol*., (111C): 329- 341.

HAMZA-CHAFFAI A., ROMEO M., GNASSIA-BARELLI M. et EL ABED A., 1998. - Effect on copper and lindane on some biomarkers measured in the clam *Ruditapes decussatus*. *Bull. Enviro Contam. Toxicol*., 61: 397 – 404.

HAYES J.D., PULFORD D.J., 1995. - The glutathione S- transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*. (30): 445 – 600.

HERMI M., 1995. - Les nématodes libres: Bio-indicateurs des conditions physico-chimiques de deux lagunes tunisiennes (Lagune de Bizerte et Lagune de Tunis). *D.E.A d'Ecologie Animale. Fac. Sci Tunis.* : 134 p.

HILL R., STRAUBE W., PALMISANO A., GIBSON S. et COLWELL R., 1996. - Distribution of sewage indicated by *Clostridium perfringens* at a deep-water disposal site after cessation of sewage disposal. *Appl Environ Microbiol.*, 62(5): 1741-1746.

HOARAU P. 1998. - Induction des Glutathion – S- Transférases par des polluants organiques chez la palourde méditerranéenne *Ruditapes decussatus. D.E.A. Univ. Méditer*: 35 p.

HOARAU P., GNASSIA- BARELLI M., ROMEO M. et GIRARD J.P., 2001. – Differential induction of Glutathion S- Tranferases in the clam Ruditapes decussatus exposed to organic compounds. *Environ. Toxicol. Chem*. (20): 141-147.

HRS BRENKO M., 1968. -Biometrical analysis of the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) along the eastern coast of the Adriatic. *Thalassia Jugoslavica*. 4: 19- 30.

HUBERT F. 1995. – Cytotoxicitic and antibacterial properties of bivalve mollusks *In* Torreilles *et al*.(1996) Espèces oxygénées réactives et systèmes de défense des bivalves marins. *C.R. Acad. Sci. Paris.* (319) : 209-218.

INSTM. 1999.- Institut National des Sciences et Technologies de Mer. Programme national d'évaluation des ressources halieutiques. *Edt. INSTM*: 40 p.

INTERREG, 1993. - Utilisation des biomarqueurs (moules et poissons) pour évaluer la présence et les effets biologiques des polluants dans la zone côtière de Imperia- Nice. *Rapport final:* 34 p.

ISO 8784 – 1., 1987. - Paper and board – Determination of microbiological properties – Part 1: Total bacterial count. *Edt ISO*. 5p

.

ISO 9308/2, 1990. - Qualité de l'eau- Recherche et dénombrement des organismes coliformes, des organismes coliformes thermotolérants et des *Escherichia coli* présumés – Partie II : Méthode du nombre le plus probable. *Edt ISO*: 9 p.

ISO 15214, 1998. - Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles –Technique par comptage des colonies à 30 °C. *Edt ISO* : 7 p.

IVANOFF A., 1972.- Introduction à l'océanographie. 1. Propriétés physiques et chimiques des eaux de mer. *Vuibert, Paris* : 208 p.

JOANNY M., BELIN. et CLAISSE D. 1993. Qualité du milieu marin littoral. Ifremer, Brest.

JOSEPH S.W. et Kaper J.P., 1983. - *Vibrio parahaemolyticus* and related vibrios. *Crt. Rev. Microbiol*., (10): 77-124.

KAGI J R. et HAPKE H J., 1984. -Biochemical interactions of mercury, cadmium and lead. *Changing metals cycles and human, Dahlem Workshop Report:* 237-250.

KANEKO T. et COLWELL R.R., 1978. - The annual cycle of *V. Parahemolyticus* in Chesapeake Bay. *Microbiol Ecol*. (4): 135 p.

KAMENS J., PILKEY. O. et WHALING P., 1985. - "La sédimentation dans le lac de Bizerte*." Notes serv. Géol. de Tunisie. 49* : 5-25.

KAMPELMACHER E. H., NOORLE L. M., VAN MOSSEL D. A. et GROEN F. J., 1972. - A survey of the occurrence of *Vibrio parahaemolitucus* and *V. Alginoliticus* on Mussels and Oysters and in Estuarine waters in the Netherlands*. J. Appl. Bacteriol*. (35): 431-438.

KAPPUS A., 1987. - Survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems. *Chem. Phys. Lipid*., (45): 105-115

KERSTERS I. et VERSTRAETE W. 1996. Inactivation of *Aeromonas hydrophila* by Fe(II)-Related-Radical Generation in Oxidizing Groundwaters. *Appl. Environ. Microbiol*. 62(9): 3277–3283.

KHALFALLAH N. et MAJRI S., 1991. - Suivi bactérien du parc conchylicole du lac de Bizerte., *Bull. Inst. Natn. Scient. Tech. Océan. Pêche. Salamboo*. 18: 93 – 112.

KHESSIBA A., -Premières données sur la moule de la lagune de Bizerte: Potentialités mytilicoles d'une ferme aquacole et étude des biomarqueurs. *DEA, Fac. Sci. Bizerte*: 108 p.

KHESSIBA A., HOARAU P., GNASSIA-BARELLI M., AISSA P. et ROMEO M., 2000. - Biochemical responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* from Bizerta (Tunisia) exposed to chemical pollutants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*., (40) : 222-229.

KLEINBAUM D.G. et KUPPER L. L., 1987. - Applied regression analysis and other multivariable methods. Duxbury Press. Boston, Massachussets: 556 p.

KRICHENE Y., 1981. - Contribution à l'étude de la conchyliculture en mer : biologie comparée avec celle du milieu lagunaire et techniques d'élevage. *Thèse. Doct. Inst. Nat. Agro. Tunis*: 222 p.

KSOURI J. et BEN SAID R. 1998.- Potentialités en macroalgues : cartographie et biomasse de l'agarophyte *Gracilaria* dans le lac de Bizerte. *Bull. Inst. Nat. Sci. Mer*. 17-34.

KUEH C. et CHAN K, 1985. - Bacteria in bivalve shellfish with special reference to the oyster. *J. Appl. Bacteriol.*, 59(1): 41-7.

LABROT J., RIBERA D., SAINT DENIS M. et NARBONNE J. 1996. - *In vitro* and *in vivo* study of potential biomarkers of lead and Uranium contamination: Lipid peroxidation, acetylcholinesterase and glutathione peroxidase activities in three non mammalian species. *Biomarkers.* (1) : 21-28.

LAFAURIE M., NARBONNE J-F. et GALGANI F., 1992. - Indicateurs biochimiques de contamination de l'environnement marin. *Anal. Mag.* (20) : 27 - 33.

LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD JC. et RAMADE F., 1997 a. - Biomarqueurs en écotoxicologie : Principes et définitions : 1-7. *In* : Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. *Edt. Masson*. : 419 p.

LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD JC. et RAMADE F., 1997 b. - Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement : 393- 401. *In :* Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. *Edt. Masson*. : 419 p.

LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD JC. et RAMADE F., 1998. - Utilisation des biomarqueurs pour la biosurveillance de la qualité de l'environnement. *Edt. Lavoisier* : 320 p.

LAGBOURI A., 1997. - Etude de la biologie de *Donax trunculus* dans la baie d'Agadir et de sa réponse à la pollution à travers trois biomarqueurs (Acétylcholinestérase, Peroxydation lipidique et Glutathion –S - Transférase). *Fac. Sci. Agadir* (Maroc): 171 p.

LANDRUM P. F., 1987. - Toxicokinetics of organic xenobiotics in the amphipod, *Pontopereia hoyi*. Role of physiological and environnemental variables. *Aqu. Toxicol*. 275 : 246-271.

LAUBIER L., 1991. Avant propos. *Oceanis*. 17 (4) : 331-333.

LECLERC H. et MORIAMEZ J. 1980. - Etude quantitative de la flore fécale de l'adulte et du nourrisson alimenté artificiellement. *Pathol. Biol.*, 28:217–226.

LECLERC H. et MOSSEL D., 1989. - Le tube digestif. *In*: Microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments, *Ed. Doin, Paris*: 141 - 162.

LECLERC H., GAVINI F. et OGER C. 1981. - Les indicateurs bactériens dans le contrôle bactériologique de l'eau: exigences et limites. *J. Fr. Hydrol*., 12:213– 228.

LEE R. F., 1988. - Glutathion- S - Transférase in marine invertebrates from Langsindfjord. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 46**:** 33- 36.

LEGENDRE L., et LEGENDRE P., 1984. - Ecologie numérique. *Edt Masson*. 335 p.

LEGNANI P., LEONI E., LEV D., ROSSI R., VILLA G.C. et BISBINI P., 1998. - Distribution of indicator bacteria and bacteriophages in shellfish and shellfish-growing waters. *J. Appl. Microbiol*., 85(5) : 790- 798.

LEIPPE M., RENWRANTZ L., 1988. – Release of cytotoxic and agglutinating molecules by *Mytilus* hemocytes. *Dev. Comp. Immunol*. (12): 297 – 302.

LEMAIRE P., VIARENGO A., CANESI L. et LIVINGSTONE D. R., 1993. - Prooxidant and antioxidant process in gas gland and other tissues of cod (*Gadus morhua*). *J. Com. Bioch. Physiol*. ,163 : 477- 786.

LEMOALLE J. et VIDY G., 1984. - Conditions de milieu et pêche dans la lagune hyersaline d'El Biban (Tunisie). *In Aménagement des pêches dans les lagunes côtières*. FAO/CGPM : 175-197.

LEON L'AFRICAIN, 1550. Description de l'Afrique. Traduction de PAULARD A. E. *Edt. Maison neuve*. Paris : 630 p.

LIPP E. et ROSE J., 1997.- Le rôle des poissons et des fruits de mer dans les toxi-infections alimentaires aux États-Unis d'Amérique. *Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.* ,16 (2): 620 – 640.

LIVINGSTONE D.R., GARCIA P., MARTINEZ, MICHEL X., NARBONNE J.F, O'HARA S., RIBERA D. et WINSTON W., 1990. - Oxyradical production as a pollution- mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L. and other molluscs. *Ecology*. (4): 415-424.

LOPEZ C., VILLALBA A., BACHERE E., 1994. Absence of generation of active oxygen radicals coupled with phagocytosis by the hemocytes of the clam, Ruditapes decussatus (Mollusca, bivalva). *J. Invertebr. Pathol.* (64): 188 – 192.

MC KEON, D., CALABRESE J. et BISSONNETTE G. 1995.- Antibiotic resistant gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. *Water Res*., 29:1902–1908.

MAES P. et PAILLARD C., 1992.- Effet de Vibrio P1, pathogène de *Ruditapes philippinarum* sur d'autres espèces de bivalves. *In* : Les mollusques marins, biologie et aquaculture, *Ifremer, Actes de colloques, (14)* : 141-148.

MAJORI C., NEDOCLAN MODONUTTI G. et POLI A., 1985. - Inquinamento de natura organica di un ecosistima fluviale-marino. *Ig. Mod.,* (83): 873-888.

MAKI S. I., PATEL G. et MITCHELL R., 1998. Experimental pathogenicity of *Aeromonas* spp. For the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*. *Current. Micribiol.* (36): 19- 32.

MANSOURI T. 1996. - Application de la Télédétection et des systèmes d'information géographiques à l'étude du fonctionnement hydrologique du lac de Bizerte et de son bassin versant. *DEA, Géologie appliquée à l'environnement, Univ. Tunis II Fac. Sci. Tunis*. : 101 p.

MARKUS G. et MANFRED G., 1998. - Distribution and Life Strategies of Two Bacterial Populations in a Eutrophic Lake. *Appl. Environ. Microbiol*., 64(10): 3776–3783.

MASRI A., 1996. - Etude d'impact de la dynamique sédimentaire sur la stabilité du littoral de la baie de Bizerte. *D.E.A, Fac. Sci. Tunis* : 100 p.

MASTOURI A. 1998. - Etude de l'hydrobiologie du lac de Bizerte. *Rapp. Interne*. INSTM.

MATHIEU A., LEMAIRE P., CARRIERE S., DRAI P., GIUDICELLI J. et LAFAURIE M., 1991. - Seasonal and sex linkeds variations in hepatic and extrahepatic biotransformation activitites in stripped Mullet (*Mullus barbatus*). *Ecotox. Environ. Safety*. (22): 45 – 57.

MONFORT P. et BALEUX B., 1991. - Distribution and survival of motile *Aeromonas* spp. *in* brackish water receiving sewage treatment effluent. *Appl Environ. Microbiol.* 57(9): 2459-67

MORA P., FOURNIER D. et NARBONNE J. F., 1999. - Cholinesterases from the marine mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk. and *Mytilus edulis* L. from the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* Muller. : *Comp. Biochem. Physiol.* , 122(3): 353-361.

MOSSEL D**.,** 1997. - Request for opinions on abolishing the term "fecal coliforms." *ASM News*. 63: 175.

MURPHY S .D., 1986. - Pesticides. *The basic science of poisons*: 519 - 581.

NAIR G.B., ABRAHAM M. et NATARAJAN R., 1980. - Distribution of *V. parahaemolyticus* in finfish harvested from Porto Novo (S. India) environs: a seasonal study. *Can. Jour. Microbiol.,* (26): 264 p.

NAJIMI S., 1997 - Evaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir: Bioaccumulation métallique et réponses de deux biomarqueurs de pollution chez *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna. Université IBNOU ZOHR* : 161 p.

NAJIMI S., BOUHAIMI A., DAUBEZE M., ZEKHNINI A., PELLERIN J., NARBONNE J.F. et MOUKRIM A., 1997. - Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution of Agadir marine bay (South of Marocco). *Bull. Enviro Contam. Toxicol*., 58: 901-912.

NAMOUR P. 1992. - Les mono-oxygénases de poissons, un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. Etudes du CEMAGREF, *Sér. Res. Eau*, N°6. 232 p.

NARBONNE J.F., GARRIGUES P., RIBERA D., RAOUX C., MATHIEU A., LEMAIRE A. I., SALAÜN J. P. et LAFAURIE M. 1991. - Mixed- function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring: Field studies on the French coasts of the mediterranean sea. *Comp. Biochem. Physiol*., (100C): 37- 42.

NARBONNE J. F., 1998. - Historiques- fondements biologiques de l'utilisation des biomarqueurs en écotoxicologie. *In* : *Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects fondamentaux., Edt Masson:*1-7.

NT 54.04, 1987. - Norme tunisienne enregistrée : coquillage – Classification des eaux conchylicoles en fonction de leurs caractéristiques microbiologiques, biologiques et physico-chimiques. Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle (INNORPI). Tunis : 3 p.

NT 09.90, 1994.- Norme tunisienne enregistrée : - Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des organismes coliformes, des organismes coliformes thermotolérants et

des *Esherichia coli* présumés – Partie 2 : Méthode du nombre le plus probable. Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle (INNORPI). Tunis : 9 p.

NT ISO 6461/2., 1986. - Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridia*) – Partie 2: Méthodes par filtration sur membrane. Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle (INNORPI). Tunis :3 p.

OMS/PNUE, 1995 a. -Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles (Partie II). Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée (MED/POL phase II).

OMS/PNUE, 1995 b.- Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles (Partie III). Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée (MED/POL phase III).

ORBEA A., MARIGOMEZ I., FERNANDEZ C., TARAZONA J., CANCIO I. et CAJARAVILLE M., 1999. - Structure of peroxisomes and activity of the marker enzyme catalase in digestive epithelial cells in relation to PAH content of mussels from two Basque estuaries (Bay of Biscay): seasonal and site-specific variations. : *Arch. Environ. Contam. Toxicol*., 36(2):158-66

OROZCO BORBON J. A, 1986. - Bacteriological quality of the mussel *Mytilus californianus* in the northwestern shoreline of Baja California, Mexico. *Ciencias marinas* .12 (1): 7-17.

O'SHANAHAN, L. et MONZON-MORENO C., 1990. - Influencia del vertido a través de emisarios submarinos en la calidad bacteriologica de playas en Gran Canaria. *Congress on oceanography and marine ressources in the central-east atlantic*, Gran Canaria Islas Canarias. Espana, Comm.38A.

OUAKAD M., 1982. - Evolution sédimentologique et caractères géochimiques des dépôts récents de la Garaet El Ichkeul (Tunisie septentrionale). *Thèse. Doct. Univ. Toulouse*: 162 p.

OUAKAD M., 1993. - Caractères sédimentologiques et géochimiques des dépôts superficiels de la lagune de Bizerte (Tunisie septentrionale). In*: Circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes des pays du Maghreb,* (IZMIR, Edt) ,Turquie: 187-194.

OUBELLA R., MAES P., PAILLARD C. et AUFFRET M., 1993. – Experimentally induced variation in hemocyte density for Ruditapes decussatus (Mullusca, bivalvia). *Dis. Aqua. Org.* (15) : 193 -197.

PAILLARD C. et MAES P., 1995. - The brown ring disease in manila clam, *Ruditapes philippinarum*. Interaction bacteria-shell growth. II. Microscopic study of the brown ring symptom. *J. Invert. Path*. (65) : 101-110.

PATHAK, S, BHATTACHERJEE J. et RAY P. 1993. - Seasonal variation in survival and antibiotic resistance among various bacterial populations in a tropical river. *J. Gen. Appl. Microbiol*., (39):47–56.

PAYMENT P., BERTE A., PREVOST M., MENARD B. et BARBEAU B., 2000. - Occurrence of pathogenic microorganisms in the Saint Lawrence river (Canada) and comparison of health risks for populations using it as their source of drinking water. *Can. J. Microbiol*. 46(6):565-576

PAYNE J. F., MATHIEU A., MELVIN W. et FANCEY L.L., 1996. - Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials an association with two urban rivers and a paper mill in new found land. *Mar. Pollut. Bull*., (32): 225 –231.

PELLERIN- MASSICOTTE J., 1994. - Oxidative processes as indicator of chemical stress in marine Bivalves. *Jour. Aquat. Ecosy.Health*., (3): 101-111.

PELLERIN-MASSICOTTE J., 1997. - Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Jour. Rech. Océanogr*., (22): 91- 98.

PERCIC P., 1996. - Indicateurs biologiques de la qualité du milieu marin. *Univ. Nice. Sophia Antipolis*: 41 p.

PHILIPS D. J. H., 1980. – Quantitative aquatic biological indicators : their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. *Applied Science Publishers Ltd*. London. 488 p.

PNUE (United Nations Environment Programme, Mediterranean action plan) 1999. – Manual on the biomarkers Recommended for the Med Pol Biomonitoring Programme. Athens. 92 p

PIPE R. K. 1992. Generation of reactive oxygen metabolites by the haemocytes of the mussel Mytilus edulis. *Dev. Comp. Immunol*. (16): 111 – 122.

POWER A. et SHEEHAN D., 1996. - Seasonal variation in the antioxydant defense systems of gill and digestive gland of the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol.* (114C) : 99 – 103.

PUJALTE M., ORTIGOSA M., MACIAN M. et GARAY E., 1999. - Aerobic and facultative anaerobic heterotrophic bacteria associated to Mediterranean oysters and seawater. *Int. Microbiol.,* 2(4):259-266.

RAFRAFI S., 2000. Caractérisation biochimique, antibiotypique et physiologique des vibrios isolés en milieux lagunaires en Tunisie. *D.E.A. Fac. Sci. Tunis* : 115 p.

RAFRAFI S., EL BOUR M. et ATTIA ELHILI H., 2000. - Caractérisation biochimique, antibiotypique et physiologique des vibrios isolés en milieux lagunaires en Tunisie. *4èmes Journées Tunisiennes des Sciences de la Mer*. 17 – 19 Novembre 2000 : 49.

RAGEB RADI et MATKOVICS., 1988. - Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* (90C): 69-72.

RAMADE F. 1982.- Eléments d'écologie, écologie appliquée : Action de l'Homme sur la biosphère. *Edt Mc Graw-Hill*: 452 p.

REGOLI F., 1998. - Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Arch Environ. Contam. Toxicol*. 34(1): 48-63.

REGOLI F. et PRINCIPATO G., 1995. - Glutathione, Glutathione- dependent and antioxydant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis*; exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biomarkers. *Aquatic Toxicology*. (31): 143 – 164.

RHODES G., HUYS G., SWINGS J., MCGANN P., HINEY M., SMITH P., et PICKUP W., 2000. - Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between Aeromonads in hospital and aquaculture environments: Implication of Tn 1721 in Dissemination of the tetracycline resistance determinant T and A. *Apll. Environ. Microbiol*. 66 (9): 3883-3890.

RIBERA D., 1990. - Métabolisme oxydatif chez la moule: Peroxydation lipidique et biotransformation des xénobiotiques. *Thèse Doct*. Univ. Bordeaux I.

RICCI E., 1957. - Contribution à la biométrie, à la biologie et à la physico-chimie de la moule commune. *Sta. Océanogr. Salammbô*: 163 p.

RICHARD T., HABIG C. et EVAN P G., 1993. - Effects of black rock harbor sediments in indices of biotransformation, oxidative stress and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Ecotoxicol.,* (26): 1-22.

RICHARDSON, C. J., ROBINSON J. O., WAGENER L. B. et BURKE V. 1982. *In-vitro* susceptibility of *Aeromonas spp.* to antimicrobial agents. *J. Antimi-crob. Chemother*. (9): 267–274.

RIPABELLI G., SAMMARCO M.L., GRASSO G.M., FANELLI I., CAPRIOLI A. et LUZZI I., 1999. - Occurrence of *Vibrio* and other pathogenic bacteria in *Mytilus*

galloprovincialis (mussels) harvested from Adriatic Sea, Italy. *Int. J. Food Microbiol*., 49(1-2): 43-48.

RIPPEY S.R. et CABELLI V.J. 1989. - Use of thermotolerant *Aeromonas* group for the trophic state classification of fresh water . *Wat. Resch*., (23): 1107-1114.

RODRIGUEZ ARIZA A., PEINADO J., PUEYO C. et LOPEZ BAREA J., 1993. - Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*., (50) : 2568- 2573.

ROMEO M. et GNASSIA- BARELLI M. 1995. - Metal distribution in different tissues and in subcellular fraction of the mediterranean clam *Ruditapes decussatus* treated with cadmium copper and zinc. *Comp. Bioch. Physiol*., 111 (3): 457-463.

ROMEO M., GNASSIA-BARELLI M. 1997. - Effects of heavy metals on lipid peroxidation in the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus*. *Comp. Biochem. Physiol*. 118 C: 33-37.

ROMEO M., COSSON R., GNASSIA- BARELLI M., RISSO C., STEIN X. et LAFAURIE M. 1997. - Metallothionein determination in the liver of the sea Bass *Dicentrarchus labrax* treated with copper and B(a)P. *Mar. Envir. Res*., 44 (3): 275-284.

RUDNEVA J. 1999 - Antioxidant system of Black Sea animals in early development: *Comp. Biochem. Physiol*., 122(2): 265.

SALVATOR L., 1900. - Bizerte, son passé, son présent et son avenir. *Edt. J. Rotschild. Paris.* 79p.

SCHWARTZ D., 1983. - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. *Flammarion Médecines Science* : 318 p.

SEED R., 1968. - Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass*., 48: 561- 584.

SEED R., 1973. - Absolute and allometric growth in the mussel *Mytilus edulis* (Mollusca, bivalvia). *Proc. Malacol. Soc. Lond*., 40: 343- 357.

SHAW M.D., 1734. - Voyages de Monsieur Shaw dans plusieurs provinces de barbarie et du levant. *Edt. J. Nealun. La Haye* : 414 p.

SHEEHAN D., CRIMMEND K. M. et BURNELL. G.M., 1991. - Evidence for glutathione – S- Tranferase activity in *Mytilus edulis* as an index of chimical pollution in marine estuaries. *In*: JEFFREY D.W. et MADDEN B., Bioindicators and Environmental Management. *Edt. Academic Press. London*: 419- 425.

SHUMWAY S. E., 1990. - A review of the effects of algal bloom on shellfish and aquaculture. *J. World. Aquacult. Soc*., (21): 65- 104.

SHUMWAY S. E., 1992. - Mussel and Public Health. *In:* GOSLING E., The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. *Edt Elsevier*: 511- 542.

SMITH P., HINEY M. et SAMUELSON O., 1994. - Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Rev. Fish. Dis*. (4): 273-313.

SOBSEY M. et JAYKUS L., 1991. - Human enteric viruses and depuration of bivalve molluscs, p. 71–114. *In:* W. S. Otwell, G. E. Rodrick, and R. E. Martin (ed.), Molluscan shellfish depravation. CRC Press, Boca Raton.

SOLE M., PORTE C. et ALBAIGES J., 1995. - The use of biomarkers for assessing the effects of organic pollution in mussels. : *Sci. Total Environ*., 159(2-3):147-153.

SOUSSI N., 1981.- Mécanismes de la sédimentation et évolution paléogéographique de la lagune de Bizerte (Tunisie) durant le quaternaire récent. *Thèse de spécialité, Toulouse*: 229p.

SOUSSI N., LEVY A. et Zaouali J., 1983.- La lagune de Bizerte : Sédimentologie et écologie des foraminifères et mollusques. Notes du service géologique de Tunisie. (47) : 27-40.

SOUSSI N., ALOISI J.C., GOT H. et MONACO A.- MIRBILE L., 1985. - Reconnaissance du remplissage sédimentaire de la lagune de Bizerte par Sismique réflexion haute résolution. *Notes du service géologique de Tunisie* : 51 p.

STECCHINI M. et DOMENIS C., 1994. - Incidence of *Aeromonas* species in influent and effluent of urban wastewater purification plants. *Lett. Appl. Microbiol*., 19: 237–239.

STEIN X. 1998. Validation des biomarqueurs d'exposition pour la surveillance de l'environnement marin et clonage du cytochrome P 4501A chez *Dicentrarchus labrax*. *Thèse Doct. Océanol. Univ. Medit.*:210 p.

STEIN X., PERCIC P., GNASSIA-BARELLI M., ROMEO M. et LAFAURIE M., 1998 - Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to asses the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean sea. *Environ. Poll.,* (99) : 111 - 117.

SUGITA H., TSUNOHARA M., OHKOSHI T. et DEGUCHI Y., 1988.- The establishment of an intestinal microflora in developping goldfish (*Carassius auratus*) of culture ponds. *Microb. Ecol.,* (15): 333–344.

TEITELBAUM J.S., ZATORR R.J., CARPENTER S., JONDRON D., EVANS A. C., GJEDDE A. et CASHMAN N. R., 1990. - Neurologic sequelae of domoic acid

intoxication due to the ingestion of contaminated mussels. *New. Engl. J. Med.* (322): 1781- 1787.

TORREILLES J., GUERIN M C. et ROCH P., 1996. - Espèces oxygénées réactives et systèmes de défense des bivalves marins. *C.R. Acad. Sci. Paris.* (319) : 209-218.

TOUKOUMI H., 1969. – Medical aspects of Minamata disease. *Rev. Inter. Oceanogr. Med.* (13- 14) : 5-35.

TRIGUI – EL MENIF N., 1994.- Notes préliminaires sur la palourde *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) de la lagune de Bizerte et de Monastir (Tunisie). *Bull. Soc. Nat. Tunisie*. (23): 54-56.

TRIGUI – EL MENIF N., 1995. - La palourde *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) des côtes tunisiennes. Biométrie, reproduction et impact de l'environnement sur la bioaccumulation en métaux traces. *Thèse Doct. Fac. Sci. Tunis:* 261 p.

TROLLOPE D. R., 1984. - Use of molluscs to monitor bacteria in water: 393- 408. *In* GRAINGER J. M. et LYNCH J. M., Microbiological methods for environmental biotechnology. *Academic Press*. London.

UNEP, 1999. - Manual on the Biomarkers recommended for the MED POL biomonitoring program: 91 p.

V 45-111, 1985. - Normalisation française : Produits de pêche – Recherche de *Vibrio parahaemolyticus* dans les eaux conchylicoles et dans les coquillages marins vivants. *Edt* AFNOR: 16 p.

VENUGOPAL N.B.R.K., RAMESH T.V.D.D. ,REDDY D.S. et REDDY S.L., 1997. - Effects of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in a fresh water field crab; *Barytelphusa guerini*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.,* (57): 132-138.

VIARENGO A., CANESI L., PERTICA M., MOORE M N. et ORENESU M., 1990. - Heavy metals effects on lipid peroxidation in the tissu of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Comp. Biochem.Physiol.,* (97C): 37- 42.

VIARENGO A., CANESI L., PERTICA M. et LIVINGSTONE D.R., 1991. Seasonal variation in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Compar. Biochem. Physiol*., (100C) : 187-190.

VIARENGO A., ARENA N., CANESI L., ALIA F.A. et ORUNESU M., 1995a. - Structural and biochemical alterations in the gills of copper-exposed mussels: 134-144 *In* Contaminants in the Environment: A multidisciplinary assessment of risks to man and other organisms. *Lewis Publishers.*

VIARENGO A., CANESI L., PERTICA M., MANCINELLI G., ACCOMANDO R., SMAAL A. C. et ORUNESU M., 1995b. - Stress on stress response: a simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. *Mar. Environ. Res.*, 39 : 245-248.

VIARENGO A., ERINCA P., FRANCESCO D. et RITA F., 1997. - A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms : an application to mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Envir. Resch.*, 44 (1) : 69-84.

VIARENGO A., BURLANDO B., CAVALETTO M., MARCHI B., PONZANO E. et BLASCO J., 1999. - Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis. Am. J. Physiol.* 277: R1612-1619.

WALSH T., PAYNE D., MAC GOWAN A. et BENNETT P**.,** 1995. - A clinical isolate of *Aeromonas sobria* with three chromosomally mediated inductible beta lactamases: a cephalosporine, a penicillinase and a third enzyme, displaying carbapenemase activity. *J. Antimicrob. Chemother*. (35): 271–279.

WEST P., WOOD P. et JACOB M**.,** 1985. - Control of food poisoning risks associated with shellfish. *J. R. Soc. Health.* 1: 15–21.

WIDDOWS J., DONKIN P., BRINSLEY M. D., EVANS S. V., SALKELD P. N., FRANKLIN A., LAW R. J. et WALDOCK M. J. 1995. - Scope for growth and contaminants levels in North Sea mussels *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* (127): 131-148.

WOOD P. C., 1972. - The principles and methods employed for the sanitary control of molluscan shellfish. *In* RUIVO M., Marine pollution and sea life. *Fishing news. Ltd*: 560-565.

WRIGHT A., HILL R., JOHNSON J., ROGHMAN M., COLWELL R. et MORRIS J., 1996. - Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Chesapeake Bay. *Appl. Environ. Microbiol*., 62(2): 717-24.

ZAOUALI, J., 1974. - Les peuplements malacologiques dans les biocénoses lagunaires tunisiennes. Etude de la biologie de l'espèce pionnière *Ceratoderma glaucum Poiret*. *Th. Sci. Nat. Caen:* 345 p.

ZAOUALI J., 1979. - Etude écologique du lac de Bizerte. *Bull. off. Nat. Pêch.,* Tunisie, 3 (2) : 107-140.

ZAOUALI J., 1980. - Flore et faune benthiques de deux lagunes tunisiennes : le lac de Bizerte (Tunisie septentrionale) et la mer de Bougrara (Tunisie méridionale). *Bull. Off. Nat. Pêche. Tunisie*. 4(1) : 196 – 200.

ZAOUALI J., 1984. - La pêche dans les lagunes tunisiennes : Le lac de Bizerte : Tunisie septentrionale. *Etudes et revues, CGPM - FAO,* 61 (1) : 297-321.

ZAOUALI J., 1993. - Ecologie des milieux lagunaires tunisiens. Les populations exploitables aux niveaux halieutique et aquacole. *Rapport du plan directeur de l'agriculture en Tunisie :* 86 p.

ZHANG Y. S., ANDERSON T., et FORLIN L., 1990. - Induction of hepatic xenobiotic biotransformation enzymes in rainbow trout by β Naphthflavone. Time- course- studies. *Comp. Biochem. Physiol*., (95B): 247- 253.

ZOUARI S., 1985. - Contribution à l'étude systématique des lamellibranches des côtes tunisiennes. *D.E.A. Fac. Sci. Tunis* : 245 p.

Titre : Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis* dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : Validation de certains biomarqueurs.

Mots clés : Ecotoxicologie, Biomarqueurs, Microbiologie, *Vibrionaceae*, Lagune de Bizerte, Catalase, Acéthylcholinestérase, Glutathion -S- transférase, Biosurveillance.

Pour valider *in situ* certains biomarqueurs comme outils de biosurveillance de la lagune de Bizerte (Tunisie), des prélèvements mensuels d'eau, de sédiment et de bivalves **(*Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*)** ont été réalisés de mai 98 à mai 99 au niveau de 7 stations. Divers résultats ont été obtenus.

Sur le plan écologique : Les divers paramètres physico-chimiques suivis (température, salinité, pH, O_2,…) ont montré une instabilité spatio-temporelle de la lagune. Ainsi, les salinités les plus basses ont été observées à la fin de l'hiver et au printemps. Les écarts temporels, minimaux aux stations marinisées de Rimel (R) et de la Baie des Carrières (C), ont été maximaux à la station de Tindja (T). Les teneurs en oxygène dissous ont quant à elles montré des maxima hivernaux et des minima estivaux, surtout à la station de Menzel Jemil (J).

D'après l'étude biométrique des palourdes et des moules montrant une étroite relation entre leurs paramètres linéaires et pondéraux, il n'est pas apparu de variation intraspécifique au plan spatial, tous les individus étant originaires de la même population souche.

Sur le plan microbiologique : La flore mésophile totale a présenté des maxima en été, les sédiments et les palourdes étant les sites d'élection de ce groupe bactérien. Les sulfato-réducteurs et les *Vibrionaceae* ont été respectivement présents dans 51.47% et 66,92% des échantillons analysés. Quatre espèces de *Vibrionaceae* ont été identifiées : *Aeromonas hydrophila* (82,24 % des souches isolées), *Vibrio parahaemolyticus* (10,68 %), *Aeromonas sobria* (4,58 %) et *Vibrio vulnificus* (2,2 %). Les souches d'*Aeromonas hydrophila* isolées des différents compartiments considérés ont présenté des résistances aux antibiotiques relativement élevées pouvant aller jusqu'à 12 antibiotiques sur les 15 testés.

Selon les normes en vigueur pour la flore fécale, 6.2 % des prélèvements d'eau et de sédiment ont dépassé le seuil de 34 CF/100 ml contre 28,57% des échantillons de palourdes qui ont présenté des taux supérieurs aux normes. Toutes les moules analysées ont présenté des taux inférieurs aux normes nationales et internationales en vigueur.

Sur le plan écotoxicologique : Il ressort du suivi multimarqueurs, (*stress on stress*, Catalase (CAT), glutathion-S- transférase (GST) et acétylcholinestérase (AChE) que ces biomarqueurs sont des moyens efficaces de surveiller la lagune de Bizerte. Ainsi, l'activité CAT chez les palourdes et les moules a significativement varié quel que soit le site en fonction des saisons avec une forte induction en septembre. Si les palourdes de la station de Menzel Abderhamen (A) ont présenté les maxima mensuels, celles de la station (J) ont présenté les plus grandes fluctuations mensuelles de la CAT. L'activité AChE a été la plus faible chez les palourdes de la station (A). Celles de Faroua (F) ont répondu par une diminution de l'activité AChE après la période pluvieuse. Durant la majeure partie de l'année, les palourdes de la station (J) ont présenté l'activité AChE la plus élevée. Chez les moules de la station (C), l'activité AChE a été plus faible que chez celles de la station (J). L'activité GST (CDNB) a augmenté durant la saison estivale chez les bivalves des stations (A) et (J). Chez les palourdes de (F), l'activité GST a augmenté en hiver. Les moules de la station (C) ont présenté les plus faibles fluctuations de l'activité GST. Les réponses de la CAT et des GSTs, contrairement à l'activité AChE, ont été influencées par les charges bactériennes et modulées par les facteurs du milieu (température, O_2, salinité). L'induction des réponses CAT et GSTs *in situ* en présence de certaines bactéries a été confirmée *in vivo* par des tests d'infestation par *Aeromonas hydrophila*. Cette infestation est au contraire demeurée sans effet sur la réponse de l'AChE.