



République Algérienne Démocratique et Populaire
 Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
 Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie

Département de Biologie



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Par
Zerrouki rayan abdelhak

Thème :

Essais de biodégradation du pétrole par quelques bactéries isolées d'un site de la baie d'Arzew-Oran

Soutenue le 19/06/2024

devant le jury composé de :

Président	Chougrani fadéla	Professeur	Université de Mostaganem
Encadreur	Hammadi kheira	professeur	Université de Mostaganem
Examineur	Bengueneb Asmae	MAB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

Mes sincères remerciements s'adressent à mon Dieu, qui m'a donné le courage et la volonté de terminer ce travail. Sa lumière m'a guidé à chaque étape, illuminant mon chemin et me donnant la force nécessaire pour surmonter les obstacles.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers mes parents pour leur soutien inébranlable, leurs encouragements constants et leur amour inconditionnel qui ont été les piliers de mon parcours académique.

Je souhaite également exprimer ma sincère reconnaissance envers Madame HAMMADI Kheira, mon encadreur, dont les conseils éclairés, l'expertise et l'accompagnement attentif ont été d'une valeur inestimable tout au long de cette recherche.

Je tiens également à remercier chaleureusement Madame CHOUGRANI Fadéla, présidente de jury, ainsi que l'examineur BENGUENEB Asmae, pour leur temps, leur expertise et leurs précieux commentaires lors de l'évaluation de ce travail de recherche.

Un immense merci aux techniciens des laboratoires de microbiologie de l'université de Mostaganem, en particulier à Madame Hafida du laboratoire de microbiologie 1, pour leur assistance précieuse et leur dévouement tout au long de mes travaux expérimentaux.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour l'opportunité de stage pratique chez STH et le laboratoire GPNZ/1 ainsi le département HSE. Ce fut une expérience précieuse qui a enrichi ma formation et renforcé mon intérêt pour ce domaine. Merci infiniment pour cette opportunité.

Leur contribution a grandement enrichi ce mémoire et a contribué à son excellence. Je suis profondément reconnaissant envers chacun d'entre eux pour leur soutien inestimable tout au long de ce voyage académique.

Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Abréviation.....	V
Introduction.....	1

Partie Bibliographique

Chapitre I : l'écosystème marin

I.1 Caractéristiques physico-chimiques des eaux marines.....	5
I.1.1 La température.....	5
I.1.2 Détermination du Potentiel Hydrogène et de CO ₂	5
I.1.3 La salinité et la conductivité	6
I.1.4 Gaz dissous.....	6
I.1.5 M.E.S	6
I.1.6 D.B.O5	7
I.1.7 D.C.O.....	7
I.1.8 Les métaux lourds	7
I.2 La flore microbienne marine.....	8
I.2.1 Les bactéries.....	8
I.2.1.1 Paramètres d'analyse bactériologique.....	9
I.2.1.1.1 Les coliformes totaux.....	9
I.2.1.1.2 Les coliformes fécaux.....	9
I.2.1.1.3 Les <i>streptocoques fécaux</i>	9
I.2.1.1.4 Les <i>Salmonelles</i>	10
I.2.1.1.5 Les <i>Staphylocoques</i>	10
I.2.1.1.6 Les <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	11
I.2.1.1.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
I.2.1.1.8 <i>Vibrion cholera</i>	12
I.2.2 les champignons.....	12
I.2.2.1 <i>Aspergillus terreus</i>	13
I.2.2.2 <i>Candida sp</i>	13
I.3 La pollution des eaux marines par les hydrocarbures.....	14
I.3.1 Origine des hydrocarbures en mer.....	14

I.3.1.1	Activité humaine.....	15
I.3.1.2	Origine biogénique.....	16
I.3.2	Influence des hydrocarbures sur les biocénoses.....	16

Chapitre II : les hydrocarbures

II.1	Définition.....	20
II.2	Hydrocarbures aliphatiques.....	21
II.2.1	Hydrocarbures aliphatiques acycliques.....	21
II.2.2	Hydrocarbures aliphatiques acycliques insaturés.....	22
II.3	Hydrocarbures aliphatiques cycliques	22
II.3.1	Hydrocarbures alicycliques saturés	23
II.3.2	Hydrocarbures alicycliques insaturés.....	23
II.4	Hydrocarbures aromatiques	23
II.5	Les principales sources d'hydrocarbures.....	23
II.5.1	Le pétrole brute	24
II.5.1.2	Composé autre que les hydrocarbures	24
II.5.1.2.1	Composé organique hétéroatomique (non hydrocarbonés)	24
II.5.1.2.2	Les asphaltènes	25
II.5.1.3	L'état physique	26
II.5.2	Le gaz naturel	27
II.5.2.1	Composition	27

Chapitre III : Biodégradation

III. 1	La biodégradation des hydrocarbures en milieux estuarien et marin froids	29
III.1.1	Biodégradation	29
III.1.2	Les communautés microbiennes : grandes responsables de la biodégradation des hydrocarbures pétroliers.....	29
III.1.3	Facteurs limitant la biodégradation microbienne des hydrocarbures en milieu froid.....	31

Partie Expérimental

Chapitre I : Matériel et méthode

I.1 Stations d'échantillonnage.....	35
I.2 Méthodes d'analyse.....	35
I.2.1 prélèvements.....	35
I.2.2 Analyse physico-chimique.....	36
I.2.2.1 Détermination des paramètres physiques (PH/Température).....	36
I.2.2.2 Détermination des paramètres biochimiques et chimiques.....	37
I.2.2.3 Détermination de DCO.....	38
I.2.2.4 Détermination de DBO5.....	38
I.2.2.5 Détermination des Métaux lourds	38
I.2.2.6 Détermination d'hydrocarbures totaux.....	38
I.2.3 Analyse bactériologiques.....	39
I.2.3.1 Méthode de dénombrement Nombre le Plus Probable.....	39
I.2.3.1.1 Recherche et dénombrement <i>des coliformes totaux</i>	40
I.2.3.1.2 Recherche et dénombrement des <i>streptocoques fécaux</i>	41
I.2.3.1.3 Recherche et dénombrement des sports de <i>Clostridium sulfito-reductrice</i>	41
I.2.3.1.4 Recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i>	42
I.2.3.1.5 Recherche et dénombrement des <i>Vibrion cholériques</i>	42
I.2.3.1.6 Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus</i>	43
I.2.3.1.7 Recherche et dénombrement des <i>Pseudomonas</i>	43
I.2.4 Isolement des souches fongiques.....	43
I.2.5 Purification des souches.....	44
I.2.6 Identification des souches microbiennes.....	44
I.2.6.1 Etude macroscopique.....	44
I.2.6.2 Etude microscopique.....	45
I.2.6.3 Etude physiologique.....	45
I.2.6.3.1 Test de RM.....	45
I.2.6.3.2 Test de VP.....	46
I.2.6.3.3 Oxydase.....	46
I.2.6.3.4 Catalase.....	46

I.2.6.3.5 Etude de type respiratoire.....	47
I.2.6.3.5 Production des pigments.....	47
I.2.6.3.6 Hydrolyse de l'amidon.....	47
I.2.5.3.7 Nitrate réductase.....	48
I.3 Effet des hydrocarbures sur la croissance microbienne.....	48
I.3.1 Purification des souches.....	48
I.3.2 Préparation d'inoculum.....	48
I.3.3 Le milieu naturel.....	48
I.3.4 Source de carbone.....	48
I.3.5 Test de biodégradabilité.....	48
I.3.5.1 Test Confirmatif.....	49
I.3.6 Test des puis.....	49

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1 Résultats d'analyses physiques.....	52
II.2 Résultats d'analyses biochimique.....	52
II.3 Résultats d'analyses chimique.....	53
II.4 Résultats d'analyses microbiologique.....	54
II.4.1 Résultats <i>Coliformes totaux</i>	55
II.4.2 Résultats <i>Streptocoque fécaux</i>	56
II.4.3 Résultats <i>Clostridium sulfito-reductrice</i>	57
II.4.4 Résultats de recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i>	57
II.4.5 Résultats de recherche et dénombrement des <i>Vibrion cholériques</i>	58
II.4.6 Résultats de recherche des <i>Pseudomas sp</i>	59
II.5 Résultats de purification.....	59
II.6 Résultats Microscopique.....	60
II.7 Identifications biochimiques.....	62
II.8 Résultats Test de biodégradabilité.....	62
II.8.1 Résultats de Test confirmatif.....	63
II.9 Résultats Test des puis.....	64
Conclusion.....	66

Référence Bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau 1 : vue d'ensemble simplifiée des hydrocarbures	20
Tableau 2 : quelque caractéristique de fraction.....	25
Tableau 3 : Facteurs affectant la biodégradation des hydrocarbures pétroliers (Oliveira et <i>al.</i> 2015).....	31
Tableau 4 : Géographie de la zone d'échantillonnage.....	35
Tableau 5 : valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels.....	37
Tableau 6 : Présentation des Résultats de température et PH de la zone industriel Arzew..	51
Tableau 7 : Présentation des Résultats biochimique.....	51
Tableau 8 : Présentation des Résultats chimique.....	52
Tableau 9 : présentation des résultats microbiologique.....	53
Tableau 10 : Caractères biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61

Liste des figures

Figure 1 : le pourcentage de différente source de pollutions par le pétrole.....	15
Figure 2 : procédure de séparation des fractions lourdes.....	26
Figure 3 : Communauté microbienne impliquée dans la dégradation des hydrocarbures.....	30
Figure 4 : Zone littorale de la baie d'Arzew.....	35
Figure 5 : Composition chimique de réactif.....	49
Figure 6 : Résultats de test de présomption pour la recherche et dénombrements de <i>Coliformes totaux</i>	54
Figure 7 : Résultats de test de présomption pour la recherche et dénombrements de <i>Streptocoque fécaux</i>	55
Figure 8 : Résultats de test confirmatif pour la recherche de <i>Streptocoque fécaux</i>	55
Figure 9 : Résultats de la recherche et dénombrement de <i>Clostridium sulfito-reductrice</i>	56
Figure 10 : Résultats de recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i> de Pré-enrichissement..	61
Figure 11 : Résultats de Pré-enrichissement pour la recherche des <i>Vibrion cholériques</i>	57
Figure 12 : Résultats de confirmation pour la recherche des <i>Vibrion cholériques</i>	57
Figure 13 : Résultat de <i>Pseudomonas</i> sur King A.....	58
Figure 14 : <i>Pseudomonas sp</i> sur Milieu Cétrimide après purification.....	58
Figure 15 : <i>Staphylococcus</i> sur Gélose Nutritive après purification.....	58
Figure 16 : <i>Vibrion cholériques</i> sur Gélose Nutritive après purification.....	58
Figure 17 : <i>Streptocoque</i> sur Gélose Nutritive après purification.....	58
Figure 18 : Aspect microscopique de <i>Pseudomonas sp</i> après la coloration de Gram.....	59
Figure 19 : Aspect microscopique de <i>Staphylococcus</i> après la coloration de Gram.....	59
Figure 20 : Aspect microscopique de <i>Vibrion cholériques</i> après la coloration de Gram.....	60
Figure 21 : Aspect microscopique de <i>Streptocoque</i> après la coloration de Gram.....	60
Figure 22 : Résultat de test de biodégradabilité de pétrole d'Arzew.....	61
Figure 23 : Résultat de test de biodégradabilité de pétrole de Hassi Messaoud.....	61
Figure 24 : Résultat de test de confirmation de pétrole de Hassi Messaoud.....	62
Figure 25 : Résultat de test de confirmation confirmation de pétrole d'Arzew.....	62
Figure 26 : Résultat Test des puis pour <i>vibrion cholérique</i> dans pétrole d'Arzew.....	63
Figure 27 : Résultat Test des puis pour <i>Staphylococcus</i> dans pétrole d'Arzew.....	63
Figure 28 : Résultat Test des puis pour <i>Streptococcus</i> dans pétrole d'Arzew.....	63

Figure 29: Résultat Test des puis pour <i>Pseudomonas</i> dans pétrole d'Arzew.....	63
Figure 30: Résultat Test des puis pour <i>Pseudomonas</i> dans pétrole de Hassi Messaoud.....	64
Figure 31: Résultat Test des puis pour <i>Staphylococcus</i> dans pétrole de Hassi Messaoud.....	64
Figure 32: Résultat Test des puis pour <i>Streptocoque</i> dans pétrole de Hassi Messaoud.....	64
Figure 33: Résultat Test des puis pour <i>vibrion cholérique</i> dans pétrole de Hassi Messaoud..	64

Abréviations

°C : Degré celsius

DBO : demande biologique en l'oxygène pour période de cinq (5) jours

DCO : demande chimique en oxygène

MES : Matière en suspension

g : Gramme

OMS : organisme mondial de la santé

mg : Milligramme

mL : Millitre

pH : Potentiel hydrogène

h : heure

Introduction

Introduction

Les effets sur la faune et la flore lors de pollutions aux hydrocarbures en milieu marin sont à la fois physiques (engluement, étouffement des habitats) et toxiques (contamination des organismes par des processus chimiques).

Les marées noires, en particulier à court terme, ont des conséquences néfastes significatives sur les écosystèmes et la population locale (en raison de la perte de ressources et des conséquences sociales et économiques, notamment sur le tourisme)

En 1946, **Claude E. ZoBell** étudie les effets des micro-organismes sur les hydrocarbures. Il a été reconnu que de nombreux micro-organismes ont la capacité d'utiliser les hydrocarbures comme seules sources d'énergie et de carbone et que ces micro-organismes sont répandus dans la nature. Il a également reconnu que l'utilisation microbienne des hydrocarbures dépend largement de la nature chimique des composés présents dans le mélange pétrolier et de facteurs environnementaux.

Buckley et coll. A caractérisé la distribution des micro-organismes dans un estuaire par rapport à concentrations ambiantes d'hydrocarbures. Bien que les comptages aient été effectués sur des produits non-hydrocarbures médias, dans toutes les stations sauf deux, la plupart des espèces isolées étaient capables de se développer sur les hydrocarbures, indiquant que la capacité d'utiliser les hydrocarbures est répandue, même dans des environnements non soumis à des niveaux élevés de pollution par les hydrocarbures. Crow et coll. examiné la répartition des utilisateurs d'hydrocarbures dans les couches superficielles des océans et dans la colonne d'eau sous-jacente. Ils ont trouvé que les populations de micro-organismes hydrocarbonoclastes se produit à des concentrations de 10 à 100 fois plus grande dans la couche superficielle qu'à 10-cm de profondeur, pour déterminer avec précision la présence de micro-organismes spécifiques dans ces zones. Cette contamination soulève encore de nombreuses questions.

Les changements dans la composition d'un mélange de contaminants d'hydrocarbures pétroliers sont collectivement appelés altération. La dégradation microbienne joue un rôle important dans le processus d'altération. La biodégradation du pétrole dans les écosystèmes naturels est complexe.

L'évolution du mélange d'hydrocarbures dépend du type de pétrole, du type de communauté microbienne et de divers facteurs environnementaux qui influencent les activités microbiennes.

L'attention se porte sur l'environnement marin, car les océans du monde sont les principaux et derniers récepteurs de polluants d'hydrocarbures. La plupart des études antérieures sur la microbiologie des polluants pétroliers se sont concentrées sur le milieu marin, Cette étude élargit la portée pour examiner le sort d'hydrocarbures pétroliers dans les écosystèmes. De plus, plusieurs cas historiques pertinents au rôle de la dégradation microbienne dans la détermination du sort des contaminants pétroliers provenant de marées noires

L'objectif principal de notre travail C'est l'étude de l'effet et la biodégradation du pétrole par quelques bactéries isolées à partir du site pollué par le pétrole (Arzew-Oran)

Le plan de travail suivi durant l'étude est :

- D'isoler des souches résistantes aux hydrocarbures particulièrement au pétrole brut

À partir de l'eau de mer de port hyproc de la baie d'Arzew.

- Identification des microorganismes
- Essais de la biodégradation du pétrole d'Arzew et pétrole de Hassi Massoud par les microorganismes identifiés.

Ce mémoire contient trois parties :

- 1- la partie bibliographique sur (l'écosystème marin ; les hydrocarbures et la biodegradation)
- 2- la partie expérimentale
- 3- la partie résultats et discussion

Partie

Bibliographique

Chapitre I

L'écosystème marin

I.1 Caractéristiques physico-chimiques des eaux marines :

Un certain nombre de paramètres physiques, dont la température, le pH, etc., qui peuvent résulter de l'entraînement d'éléments minéraux mineurs en suspension, et de paramètres chimiques, tels que l'analyse des métaux lourds, qui peuvent résulter de la perte de produits pétroliers, ont été utilisés pour déterminer la qualité de l'eau.

I.1.1 La température :

Les hydrocarbures, qui peuvent se former à basse température (<50°C), caractérisent les écosystèmes susceptibles d'être contaminés par des marées noires. La température n'est généralement pas un facteur limitant significatif la dégradation des hydrocarbures dans l'environnement, à moins qu'elle ne soit liée à d'autres facteurs tels que l'état physique du pétrole ou la disponibilité de l'eau pour la croissance microbienne.

La température de l'eau joue également un rôle important dans la dissolution des sels et des gaz qu'elle contient. De plus, elle augmente la vitesse des processus chimiques et biochimiques de 2 à 3 fois avec une augmentation de température de 10 °C. À mesure que la température de l'eau augmente, l'activité métabolique des organismes aquatiques s'accélère également (**Institut bruxellois de gestion de l'environnement 2005**).

La température peut avoir un impact significatif sur la vitesse de décomposition des hydrocarbures. (**ZoBell 1969**) a constaté que la dégradation des hydrocarbures était beaucoup plus rapide à 25°C qu'à 5°C, L'effet de la température est lié à d'autres facteurs tels que la qualité du mélange d'hydrocarbures et la composition de la communauté microbienne.

I.1.2 Détermination du Potentiel Hydrogène et de CO₂ :

En l'absence d'activité biologique, d'une marée noire dans l'eau de mer provoque une baisse significative du pH, même pour une concentration de l'ordre de 2mg/L⁻¹ cette diminution se produit principalement dans les premiers jours après la dispersion de pétrole, une stabilité de PH après environ 9 jours de contamination (**Suzzane Roy et al. 1993**).

En condition naturelle dans un système ouvert, l'équilibre de carbone est modifié selon que le CO₂ est rajouté ou retiré du milieu. Ainsi, la production primaire, par assimilation de CO₂, déplace l'équilibre de Carbone vers une diminution relative des électrolytes faibles et,

contribue à augmenter le PH due à l'activité phytoplanctonique du milieu.(**Lindel et al. 1987**) ont démontré l'importance de mesurer les différences de pH pour étudier les effets des déversements d'hydrocarbures sur le milieu marin. Pour, récapitule, la augmentation de la concentration en CO₂ (acide carbonique) est entrainer une diminution du PH.

I.1.3 La salinité et la conductivité :

La conductivité de l'eau de mer est très élevée en raison de fortes concentrations en sels dissous. Du fait de la proportionnalité des concentrations des différents ions, la conductivité permet de déterminer la salinité avec une grande précision elle peut constituer un critère de répartition des espèces vivantes à cause de leur variation dans une large gamme, certaines mers présentent des salinités assez différentes, par exemple la Méditerranée: 38-39, la mer Rouge: 36-47, la Baltique: < 15, la mer Noire : 18-22 (**Aminot et Kérouel, 2004**).

I.1.4 Gaz dissous :

Une des mesures de la qualité de l'eau est le taux d'oxygène dissous de l'eau (**Davis, 1980 et Kettab et al, 2005**). Les problèmes de qualité des eaux sont liés à la diminution du taux d'oxygène dissous dans l'eau, en particulier dans les couches basses (**Davis, 1980 et Gafsi et al, 2004b**). Ces couches peuvent subir une dégradation significative si l'oxygène dissous utilisé par les processus biochimiques n'est pas réapprovisionné par l'aération de la surface ou la photosynthèse (**Zic et al, 1992 et Gafsi et al, 2005**). Il est recommandé d'avoir une concentration minimale d'oxygène dissous (DO) de 2 à 2,5 mg/l afin d'éviter la mort des poissons. Dans la réalité, il est recommandé d'avoir une concentration d'oxygène dissous de 3 mg/l (**Stefan et al, 2000 et Gafsi et al, 2005 et Kettab et al, 2005 et Kettab et al, 2006**).

I.1.5 Matière en suspension (MES) :

L'ensemble des particules minérales et organiques présentes dans les eaux est appelé matières en suspension. La nature des terrains traversés, la saison, la pluviométrie, le régime d'écoulement des eaux, la nature des rejets, etc., sont des facteurs qui influencent ces variables (**Rodier, 1984**). On peut considérer les concentrations élevées de matières en suspension comme une pollution. Selon **Hébert et Légare (2000)**, une telle augmentation peut également provoquer un réchauffement de l'eau, ce qui entraînera une diminution de la qualité de l'habitat pour les organismes d'eau froide.

I.1.6 DBO5 :

La DBO5 (demande biochimique en oxygène) correspond à la consommation d'oxygène dissous par les micro-organismes dans l'obscurité à une température de 20 °C pendant une période de 5 jours ,il permet d'évaluer les matières organiques biodégradables, Les valeurs moyennes de DBO5 fluctuent entre 5 mg/l et 19 mg/l pendant l'hiver et entre 8 mg/l et 37 mg/l pendant la saison sèche (**M. Makhoukh et al 2011**). On peut expliquer l'augmentation des niveaux de DBO5 pendant la saison sèche par la mise en place des conditions propices à la dégradation de la matière organique par les microorganismes, dont l'activité augmente avec la baisse de la vitesse d'écoulement et le réchauffement des eaux. La consommation d'oxygène de cette activité est responsable de l'autoépuration des eaux (**Bremond et Perrodon, 1979**).

I.1.7 DCO :

La quantité d'oxygène nécessaire (D.C.O.) est une évaluation de la matière organique présente dans l'eau en se basant sur son oxydabilité par le bichromate. Un des éléments qui déterminent la productivité des océans est la présence de matières organiques dans l'eau de mer : qu'elles soient assimilables directement ou qu'elles doivent d'abord être transformées en substances nutritives par les bactéries. Cette initiative a également ses limites. D'un côté, la quantité de matières organiques consommées reste limitée ; lorsqu'elles dépassent un certain niveau, il n'y a plus de hausse de productivité. (**Pierre MICHEL,1972**).

Par ailleurs, l'accumulation de matières organiques se détériore en absorbant de l'oxygène dissous et constitue une concurrence pour la vie marine. En cas de situation extrême, cette surabondance peut entraîner l'eutrophisation du milieu, c'est-à-dire sa détérioration presque irréversible. Enfin, il est possible de considérer les matières organiques comme des indicateurs de pollution car elles sont généralement présentes dans les effluents urbains et la plupart des effluents industriels. Au moment de l'analyse physicochimique du milieu, il est donc pertinent de les mesurer. (**Pierre MICHEL, 1972**).

I.1.8 Les métaux lourds :

Les métaux lourds (cadmium, plomb, mercure...) sont des métaux d'une densité supérieure à 5 g/cm³ et se retrouvent dans l'air, l'eau et le sol. Le pétrole, le charbon et le bois contiennent une grande variété de métaux lourds, et leur combustion peut conduire à la formation de métaux lourds et/ou de leurs composés dans l'air, le sol ou l'eau de pluie.

Certains métaux et autres éléments (éléments qui sont des oligo-éléments) peuvent être importants pour des organismes tels que les plantes et les animaux. Si un Métal « inutile » ne perturbe pas son absence, sa présence, même abondante, peut perturber les processus normaux d'échange. Les métaux lourds sont toxiques au-delà des très faibles niveaux admissibles (**Bliefert et Perraud, 2001**). Les propriétés spécifiques du métal lourd affectent à la fois sa toxicité et sa mobilité (**Charlatchka et Cambier 2000**). Il existe des métaux lourds solubles dans l'eau (Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Hg et Zn), mais de nombreux autres éléments sont insolubles dans l'eau, leur permettant de survivre au cycle biologique et/ou aquatique .

Les sédiments des systèmes aquatiques ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leur rôle d'indicateurs des niveaux de pollution environnementale, puisque petites particules ont la capacité de traiter les polluants (**Montuelle, 2003**). Ceci explique l'abondance de nombreux métaux dans le sol et la terre. En effet, les ions métalliques peuvent être adsorbés et échangés par des expériences à la surface de nombreux minéraux (argiles, oxydes de fer) et substances humiques (**Bliefert et Perraud, 2001**).

Outre les conditions du sol, certaines variables peuvent également affecter l'adsorption et le mouvement des métaux dans le sol. La différence de pH a un effet significatif sur la conductivité électrique. Des études montrent qu'une diminution du pH de 6,0 à 4,0 augmente significativement la concentration de Cd, Zn, Cu et Pb (**Charlatchka et Cambier 2000, Duchaufour 2001**). Ces changements de pH peuvent être liés à la saisonnalité de l'activité biologique, particulièrement importante pendant la saison sèche (**Bourg et al. 2000**). Les inondations et les changements dans les niveaux des eaux souterraines jouent également un rôle, affectant l'approvisionnement en oxygène du sol. Les lis créent des conditions redox (oxydo-réduction) qui affectent la minéralisation et d'autres mouvements de métaux dans le sol (**Van Den Berg et al. 1998**).

I.2 La flore microbienne marine :

I.2.1 Les bactéries :

Les bactéries présentes dans les environnements marins se distinguent au niveau physiologique de celles évoluant dans des habitats non marins. Leur adaptation remarquable aux conditions spécifiques des milieux marins, telles que la salinité, le pH, la faible oxygénation, les basses températures et les pressions élevées, est largement reconnue (**Morita et Colwell, 1984**). Ces organismes microbiens jouent un rôle prépondérant dans les écosystèmes aquatiques, constituant la composante la plus abondante. Leur contribution est

essentielle à l'équilibre écologique de ces milieux, notamment par leur implication dans la régulation des cycles énergétiques et biogéochimiques (**Bianchi et al., 1989**).

I.2.1.1 Paramètres d'analyse bactériologique :

I.2.1.1.1 Les *coliformes totaux* :

Les coliformes totaux sont des bactéries entériques qui comprennent des espèces bactériennes vivant dans les intestins des animaux à sang chaud et dans l'environnement général (sol, végétation et eau). Ce groupe bactérien est utilisé comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau car il contient des bactéries d'origine fécale, comme *E. coli* (**CEAEQ, 2015**). Il s'agit de bactéries aérobies ou anaérobies facultatives en forme de bâtonnet qui possèdent des enzymes β -galactosidase qui libèrent des réactifs chromogènes utilisés dans les milieux de culture pour les identifier (**Archibald, 2000; CEAEQ, 2015; Edberg et al, 2000; Ministère de la Santé du Canada, 2012; Organisation mondiale de la santé, 2011**). Les principaux genres bactériens inclus dans ce groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (**CEAEQ, 2015; Santé Canada, 2012; OMS mondiale, 2011**). Presque toutes les espèces sont non pathogènes et ne présentent pas de risque direct pour la santé (**Edberg et al., 2000 ; Organisation mondiale de la santé, 2011**).

I.2.1.1.2 Les *coliformes fécaux* :

Il s'agit de bâtonnets Gram (-), aérobies et éventuellement anaérobies ; sans trace de spores (**Rodier et al. 1996**). Les coliformes fécaux, également connus sous le nom de coliformes thermotolérants, sont une catégorie de coliformes totaux qui fermentent le lactose à une température de 44,5 °C. L'*Escherichia coli* (*E. coli*) est l'espèce la plus courante de ce groupe bactérien et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (**Elmund et al., 1999 ; Santé Canada, 1991 ; Edberg et al., 2000**). Cependant, 80 à 90 % des coliformes thermotolérants identifiés sont des bactéries *E. coli* (**Barthe et al. 1998 ; Edberg et al. 2000**). Même si la présence de coliformes fécaux est généralement associée à une contamination fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, mais sont plutôt issus d'eaux enrichies en matière organique, comme les effluents.

I.2.1.1.3 Les streptocoques fécaux :

Dans les années 1980, la classification générale des streptocoques fécaux a été modifiée pour inclure *Enterococcus*, qui correspond au groupe sérologique D de la classification de **Lancefield**. *Enterococcus* comprend vingt espèces trouvées dans divers habitats et hôtes. Les espèces les plus couramment identifiées sont *Enterococcus faecalis* et *E. faecium*, présentes dans environ 75 % des intestins humains. Les streptocoques du groupe sérologique D sont généralement des déchets animaux, tels que *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus*. Ces espèces se trouvent dans divers habitats et hôtes.

Ils sont assez résistants à la contamination fécale, même dans les environnements salés. Ils ont également la capacité de se reproduire dans des environnements avec un pH alcalin jusqu'à 9,6, ce qui permet de les utiliser comme indicateurs d'organismes pathogènes qui ont une résistance similaire au pH élevé (OMS 1977).

I.2.1.1.4 Les Salmonelles :

Salmonella est un genre de bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, nommé en l'honneur du Dr. vétérinaire Salmon, un bactériologiste américain du 19^e siècle. Selon (**KORSAK N et al.2004**), ce type de bacille se distingue par sa coloration Gram-négative, sans sporulation, et présente généralement une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*).

Ils sont aéro-anaérobies, transforment les nitrates en nitrites, peuvent se contenter du citrate comme seule source de carbone, fermentent le glucose mais pas le lactose ni le sucrose et génèrent du gaz à partir du glucose (à l'exception de *Salmonella Typhi*). En général, on produit du sulfure d'hydrogène à partir du milieu connu sous le nom de « triple sucre ». Le test à l'oxydase donne toujours une réponse négative (**Le Minor, 1984**)

I.2.1.1.5 Les Staphylocoques :

Les staphylocoques, qui sont généralement regroupés en amas, sont des cellules sphériques de 0,5 à 25 µm. Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores. Ils peuvent être aérobie ou anaérobies, avec des gènes Gram (+) et catalase (+). Ils fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique. Toutes ces caractéristiques sont présentes chez l'espèce *Staphylococcus aureus*, également

connue sous le nom de « staphylocoque doré ». De plus, il est remarqué que les staphylocoques sont ubiquistes et très répandus dans l'environnement (**Leclerc et al., 1995**). L'étude des staphylocoques a un intérêt pratique, en particulier dans les eaux de baignade.

I.2.1.1.6 Les *Clostridium* sulfito-réducteurs:

Clostridium est une espèce de microorganismes anaérobies sulfito-réducteurs du genre, pour certains d'entre eux une mobilité péri-triche. De nombreux pathogènes sont présents dans ce genre, dont *Clostridium perfringens*. Le *Clostridium perfringens* se trouve partout ; il se trouve dans les sols (principalement sous forme de spores), les eaux, les boues et enfin les sédiments (**LE Minor L, Veron M, 1982**).

Il se trouve également dans la flore intestinale de l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Il s'agit d'un bacille à Gram positif, qui reste immobile, avec une capsule et qui peut sporuler. Les bactéries *Clostridium perfringens* sont strictement anaérobies, mais elles peuvent supporter l'oxygène. Sa température de croissance idéale se situe entre 37 et 44 °C. Effectivement, il agit comme un réducteur, car il transforme les sulfites en sulfure en présence d'un donneur d'H₂ afin de créer de l'H₂S. Cette caractéristique est employée pour détecter et numériser les *Clostridium perfringens* dans des milieux solides (**Marie-Laure Le Mercier, 1998**)

Clostridium perfringens présent au niveau des stations d'épuration, et donc au niveau des rejets de ces stations dans la mer. C'est une bactérie d'origine fécale qui a la capacité de survivre très longtemps dans les sédiments sous forme de spore.

I.2.1.1.7 *Pseudomonas aeruginosa* :

Gessard a découvert *Pseudomonas aeruginosa* (couleur vert-de-gris) ou bacille pyocyanique en 1882. Son réservoir est appelé "ubiquitaire" et est étroitement lié aux milieux hydriques riches en matière organique. C'est un bacille à gram négatif, pathogène opportuniste, non fermentant, aérobie stricte, non sporulée et oxydase positive. Sa culture s'étend de 10°C à 42°C. Les souches cliniques, dans la plupart des cas, se développent sur des milieux gélosés en colonies lisses, bombées et de taille moyenne (entre 1 et 2 mm après 18 heures d'incubation) :

Classe des *Gammaproteobacteria*

Ordre des *pseudomonadaceae*

Famille des *pseudomonadaceae*

Genre des *pseudomonas*

Espèce du groupe *aeruginosa*

Le groupe *aeruginosa* regroupe les espèces *aeruginosa*, *otidis*, *composti*, *alcaligenes*, *pseudoalcaligenes*, *delhiensis*, *citronellolis*, *knackmussi*, *jinjuensis*, *panipatensis*, *nitroreducens*, *thermotolerans*, *resinovorans*, *cuatrocieneegasensis* et *tuomuerensis*. (**Katy Jeannot, 2019**)

I.2.1.1.8 *Vibrio cholerae* :

Les bactéries à Gram négatif, connues sous le nom de *Vibrio cholerae*, se trouvent principalement dans les environnements aquatiques, étant des hôtes naturels du milieu côtier, tropical et tempéré. Il s'agit d'un bacille halophile, anaérobie, Gram négatif, qui se trouve partout dans les milieux aquatiques. La toxine cholérique est produite par certains *V. cholerae* des sérogroupes O1 et O139 l'origine des épidémies de choléra.

D'autres espèces de *Vibrio*, telles que *Vibrio parahaemolyticus* ou *Vibrio vulnificus*, sont également présentes et sont responsables de tableaux d'infections gastriques ou extra-gastriques. (**J. Michel et al, 2021**)

I.2.2 les champignons :

Les mycètes sont des êtres eucaryotes et hétérotrophes, unis ou pluricellulaires, dont l'habitat est très vaste, où il y a une source d'alimentation (matière organique), de l'humidité et de l'air. Parmi les champignons microscopiques, certaines sont nocives pour l'Homme, les animaux et les plantes, tandis que d'autres sont bénéfiques.

Les champignons présents peuvent être des champignons supérieurs (basidiomycètes et ascomycètes), des levures ou des champignons inférieurs, généralement appelés moisissures (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, etc.) (**Bouchet et al., 2005 ; Figarella et al. 2007**).

Les champignons font partie du groupe des thallophytes, leur appareil végétatif ou thalle n'a pas de système conducteur distinct. En général, l'appareil végétatif des champignons (thalle)

est composé d'un mycélium composé de filaments. Les tubulaires cylindriques ramifiés présentent une croissance linéaire à l'apicale, avec un diamètre variant de 1 à 2 μm à plus de 50 μm (Semal et al., 1993). Ils se caractérisent par leur hétérotrophie. Leurs populations dépendent donc de la teneur en matière organique du sol. Les champignons sont principalement saprophytes, mais de nombreuses espèces sont des parasites redoutables. Certaines espèces vivent en symbiose avec des plantes supérieures (mycorhizes), La plupart des champignons prospèrent dans des conditions micro-aérobies et à pH acide. Les champignons sont principalement impliqués dans les processus de dégradation des sucres complexes (cellulose, lignine) et d'ammonification (décomposition des matières azotées) (Pichard et al, 2006).

I.2.2.1 *Aspergillus. terreus* :

Les filaments d'*Aspergillus terreus* sont un champignon. Têtes aspergillaires bisériées, conidiophore lisse et incolore, conidies globuleuses et lisses. (Conseil national de la mycologie et des antifongiques 2003). Il s'agit de champignons saprotrophiques qui se trouvent dans divers milieux, comme le sol, le compost et la poussière. Les espèces d'*Aspergillus* sont les plus fréquemment infectées par *A.spergillois*, dont *A. fumigatus*, *A. flavus* et *A. terreus*. (Denning DW, 1998).

Les colonies d'*Aspergillus* se multiplient rapidement (environ 4 cm en 7 jours à une température de 25-37 °C). Elles sont d'un blanc gazon, puis d'un vert ou d'un gris, puis d'un brun sombre avec une sensation de fumée. Le dessous de la culture est de couleur foncée. (Schmidt et Wolff 1997).

I.2.2.2 *Candida sp* :

Candida albicans est une levure unicellulaire microscopique qui peut se développer en filaments. Les cellules sont généralement ovoïdes avec un bourgeon unique, mesurant généralement plusieurs microns. D'autre part, les filaments sont des cellules allongées qui sont reliées entre elles. On la retrouve en quantité relativement faible dans l'organisme humain, mais elle peut entraîner des maladies graves dont la fréquence demeure constante (Pfaller et al. 2007). *Candida albicans* est une levure aérobie, non enveloppée et non pigmentée. Les bourgeois multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) de cette levure diploïde se

reproduisent de manière asexuée, créant ainsi des colonies blanches crémeuses (**Chu et al. 1993 ; Graser et al.1996**).

Candida albicans suit l'organisation suivante :

Règne : Fungi .

Division : *Ascomycota*.

Classe : *Saccharomycetes* .

Ordre : *Saccharomycetales* .

Famille : *Saccharomycetaceae* .

Genre : *Candida*.

Espèce : *Candida albicans* (**Krick et al. 2008**)

I.3 La pollution des eaux marines par les hydrocarbures :

La pollution marine est principalement causée par les activités terrestres, telles que les rejets naturels ou anthropiques qui se déversent en mer par les fleuves, l'air, le drainage des territoires littoraux ou par des rejets directs en mer (navires...). Cette pollution est principalement composée de micropolluants. À plus ou moins long terme, tous les polluants sont éjectés directement ou indirectement dans la mer : les rejets domestiques (égouts) directement sur la côte ou au large via des émissaires, dans les ports et les centres urbains, les fleuves qui apportent des pollutions continentales, les rejets industriels (centrales thermiques, raffineries...), les rejets en mer des navires, les naufrages, la pollution atmosphérique transmise à la mer principalement par les précipitations et les pollutions humaines directes (mégots, sacs plastique...). Selon le programme environnemental des Nations Unies(**PNUE**), l'origine de plus de 80% des pollutions marines est terrestre. La majorité des mers sont extrêmement polluées, ce qui limite l'effet de dilution. En revanche, les océans, malgré leur pollution superficielle, demeurent relativement sains en profondeur. (**Emeline Baudet ,2015**).

I.3.1 Origine des hydrocarbures en mer :

Les hydrocarbures pétroliers présents dans l'environnement marin proviennent principalement de quatre sources principales : les sources géochimiques naturelles, l'extraction de pétrole, le transport et la consommation. Les fuites naturelles au fond des

océans représentent 47 % de ces hydrocarbures. Les 53 % restants se répartissent comme suit : 38 % résultent des rejets liés à la consommation, tels que les déversements industriels et urbains, 12 % sont dus au transport, et 3 % proviennent de la production pétrolière offshore (Conseil national de la recherche, 2002).

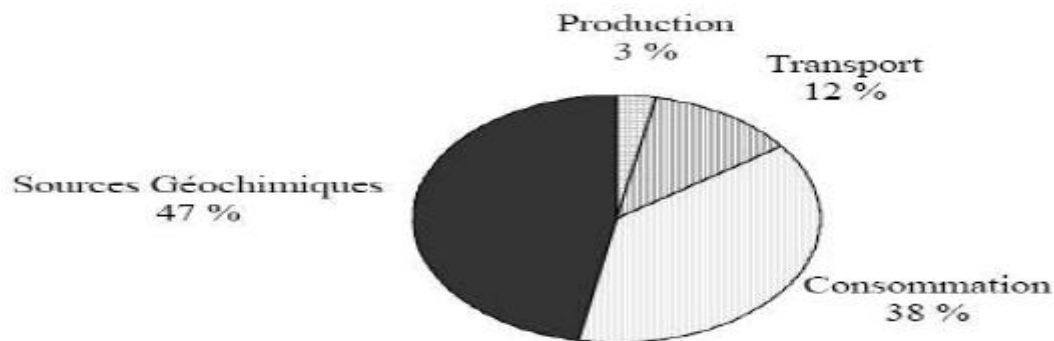


Figure 1 : le pourcentage de différente source de pollutions par le pétrole (Conseil national de la recherche, 2002).

I.3.1.1 Activité humaine (Les point de contamination pétrolière dans la baie d'Arzew) :

Nous pouvons voir bon nombre d'incidents relative aux marées noires se produire depuis les endroits où il se trouve l'exportation et le chargement du pétrole brut dans des navires citernes, On les nomme également « tankers » ou « supertankers » pour les plus grands d'entre eux. Le pétrole est transporté dans la coque du navire, divisée en compartiment formant pluie citernes indépendantes séparées par des cloisons afin .notamment de pouvoir transporter des produit différents .Ces citernes sont couvertes d'une peinture spéciale permettant d'évitera corrosion ou la contamination des cargaisons.

Il existe également des réservoirs pour le transport des eaux de ballast à proximité des pétroliers. Ces ballasts ne contiennent jamais de cargaison et permettent de charger de l'eau, gardant ainsi le navire manœuvrable lorsqu'il est vide. Ces pétroliers sont classés selon leur capacité d'emport, mesurée en tonnes de pétrole (1 000 tonnes = 40 réservoirs).

Par exemple :

- AFRAMAX peut transporter environ 80 000 tonnes de pétrole
- SUEZMAX jusqu'à 180 000 tonnes
- VLCC pèse entre 250 000 et 300 000 tonnes

- ULCC jusqu'à 500 000 tonnes, ce qui équivaut à 02 jours de consommation de pétrole brut dans un pays comme la France.

Il existe plusieurs stations de chargement à Arzew, dont la société qui exploite les terminaux marins d'hydrocarbures STH et effectue la majorité des chargements de pétrole brut, de fioul et de condensats à travers deux installations.

- ON-shore ou (sur le terrain) : Postes responsables du chargement flexible des condensats et de brut. Bras de chargement SOFRET pour le chargement d'AMMONIAC. Le port d'Arzew dispose de huit stations de chargement, dont trois stations d'hydrocarbures liquides exploitées par STH.

- MARINE (bouée SPM) : Les bouées d'amarrage à point unique sécurisent la cargaison (pétrole et condensats) des pétroliers offshore à l'aide de tuyaux et de flotteurs immergés, ce qui n'est pas possible avec les lignes d'amarrage traditionnelles. En raison du tirage requis pour les réservoirs de grande capacité.

Une telle conduite est soumise à la législation de l'O.C.I.M.F (International Maritime Forum of Oil Companies), une organisation mondiale qui établit des normes pour la conception et les performances de divers tuyaux, généralement destinés aux grands navires qui dépassent leur taille et leur profondeur d'amarrage.

En cas de perte de produit, canalisations ou tiges cassées, Il en va de même pour l'entretien. STH propose les mesures nécessaires pour lutter contre la pollution accidentelle par les hydrocarbures, telles que : Barrages flottants ou l'ensemble de la nappe phréatique pour empêcher toute propagation. Dans le cas des écumeurs et des absorbants, les hydrocarbures sont ensuite absorbés par la surface car ils ont la capacité de flotter, de s'évaporer et d'être fluides à la surface. Leur viscosité est la résistance à l'écoulement.

I.3.1.2 Origine biogénique :

Selon **Zaghden et al. (2007)** et **Mille et al. (2007)**, les hydrocarbures peuvent être synthétisés et libérés dans le milieu marin grâce à l'activité métabolique des organismes aquatiques et terrestres, ainsi qu'à la décomposition de leurs matières organiques. Selon le « Council national de recherche » (1985), l'apport annuel d'hydrocarbures biogènes à l'océan est d'environ 180 millions de tonnes/an.

I.3.2 Influence des hydrocarbures sur les biocénoses :

Les conséquences de la libération des hydrocarbures en milieu marin sont à la fois importantes sur le plan économique et écologique. Selon **Bouchez et al. (1996)**, les hydrocarbures déversés en mer peuvent avoir un impact sur l'équilibre écologique et parfois entraîner la destruction de l'écosystème. Cela entraîne la pollution des plages, l'engluement des oiseaux et la menace pour la faune et la flore aquatiques. Il est possible que la contamination par ces composés soit immédiate ou à long terme. Les déversements de produits pétroliers dans l'océan ont des conséquences considérables sur la faune et la flore marines.

En cas de colmatage de la surface par les nappes, il est possible que les échanges gazeux à l'interface soient interrompus. Les gouttelettes de pétrole peuvent également se dissoudre dans la masse d'eau, voire se sédimenter sous la forme de fractions vieilles, ce qui permet à celui-ci d'atteindre les organismes pélagiques et benthiques. En général, la contamination est causée par des facteurs mécaniques tels que l'alourdissement du corps, les troubles des mouvements et la respiration, ce qui entraîne dans la plupart des cas une mort immédiate, certaines espèces présentent des modifications de comportement ou des problèmes de santé à court terme, tandis que d'autres sont exposées à des effets toxiques instantanés et aigus parfois mortels.

Toutes les formes de vie en milieu marin sont exposées à la contamination par les hydrocarbures, depuis les planctons jusqu'aux mammifères marins. (**LOMI/PNUE, 2002**)

Les hydrocarbures sont les plus accumulés par les mollusques et les crustacés de mer (huître, moule, crevette, crabe) en raison de leur mode de vie. Même si la concentration des contaminants dans le milieu pollué est faible ou si la source est éliminée, ils ont une capacité naturelle à les bio accumuler. Le taux de reproduction des crustacés qui se nourrissent de détritiques ou de particules en suspension sera perturbé ou leurs habitudes alimentaires seront modifiées. Les huîtres, en revanche, accumulent moins d'hydrocarbures que les moules, car elles peuvent se fermer pendant des périodes assez longues après avoir été agressées par un agent chimique toxique. En revanche, les moules ne sont pas capables d'empêcher l'entrée des polluants. La génotoxicité et la cancérogénicité ont un impact sur la reproduction et le développement et l'immun-toxicité de certains hydrocarbures tels que les HAPs ont été principalement démontrées à différents degrés. (**Arkoosh et al., 1996 ; Johnson et al., 1998 ; Rice et al., 2000**)

En général, les mécanismes de toxicité des hydrocarbures sont associés à leur processus métabolique. Après leur entrée dans la cellule, ces composés sont gérés par des enzymes de métabolisation de phase I (oxydation) qui vont favoriser leur hydrophobicité afin de les excréter plus tard. Cependant, certains métabolites présentent une grande réactivité et peuvent soit participer à la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et donc entraîner un stress oxydant, soit interagir directement avec les composants cellulaires tels que l'ADN pour créer des adduits ou provoquer des cassures (**Akcha et al. 2000a, 2000b**). Les HAPs peuvent également avoir un impact sur le système immunitaire des organismes.

Chapitre II

Les Hydrocarbures

II.1 Définition :

Les hydrocarbures sont des substances qui ne contiennent que des atomes de carbone C et d'hydrogène H. Les liaisons entre les atomes de carbone peuvent être en chaîne ou en cycles. Les hydrocarbures ont une formule brute générale de C_nH_m . Cependant, il existe une exception qui concerne certains hydrocarbures cycliques qui contiennent des atomes autres que C et H dans leurs cycles, et qui sont désignés comme des hydrocarbures hétérocycliques. Les hydrocarbures sont classés en fonction de divers critères de structure :

- Un ou plusieurs cycles sont présents (hydrocarbures cycliques) ou n'ont pas de cycle (hydrocarbures acycliques, c'est-à-dire des chaînes ouvertes).
- Les hydrocarbures saturés sont des liaisons carbonées saturées (liaisons carbone simples - C-C-), tandis que les hydrocarbures insaturés sont des liaisons carbone insaturées (doubles - C=C- ou triples -C≡C-).

La nomenclature est complétée par des critères de structures supplémentaires portant sur la nature de la chaîne ou du cycle. Par exemple, les acycliques peuvent présenter des chaînes linéaires ou ramifiées (avec des chaînes latérales) ; tandis que les cycliques possèdent un seul cycle (monocycliques) ou plusieurs (polycycliques), ces cycles pouvant être aromatiques (cycles de structure benzénique) ou non (alicycliques), etc. Selon leur classement général, la formule brute des hydrocarbures est exprimée en indiquant éventuellement le nombre de cycles ou leur taux d'insaturation (tableau 1). (Élie Frédéric, 2022)

Tableau 1 : vue d'ensemble simplifiée des hydrocarbures (Frédéric Élie, 2022)

Structure		Saturés		insaturés
	<i>acycliques</i> (à chaînes ouvertes)	<i>Linéaires</i>	C_nH_{2n+2} ($n \geq 1$)	$C_nH_{2(n-i)+2}$ (i : nombre d'insaturation) i = nombre de liaisons - C=C- : alcènes si 1 seule, formule C_nH_{2n} i = 2 x (nombre de liaisons -C≡C-) : alcynes si 1 seule, formule C_nH_{2n-2}
		ramifiés (à chaînes latérales)	C_nH_{2n+2} ($n > 3$)	

<i>aliphatiques</i>	Cycliques	alicycliques (cycles non aromatiques)	$C_nH_{2(n-c)+2}$ (c : nombre de cycles) car dans chaque cycle il y a 1 paire d'atomes H en moins	pour c = 1 (1 seul cycle : monocycliques) : C_nH_{2n} si n > 2 : cycloalcanes pour c > 1 (polycycliques) $C_nH_{2(n-c)+2}$ cycles avec au moins 2 atomes C Si 1 seul atome C en commun : hydrocarbures spirannes	$C_nH_{2(n-i-c)+2}$ (i : nombre d'insaturation, c : nombre de cycles) si c > 1 (polycycliques), cycles avec au moins 2 atomes C en commun : polycycliques condensés
aromatiques (ou arènes)		cycles benzéniques	Néant (les aromatiques sont tous insaturés)	$C_nH_{2(n-i-c)+2}$ (i : nombre d'insaturation, c : nombre de cycles) si c > 1 (polycycliques), cycles avec au moins 2 atomes C en commun : polycycliques condensés	
		hétérocycliques : présence d'atomes non H et C, tels que O, S, N, P, As			

II.2 Hydrocarbures aliphatiques :

Les hydrocarbures aliphatiques comprennent les hydrocarbures acycliques ainsi que les hydrocarbures alicycliques, c'est-à-dire constitués d'un ou de plusieurs cycles non aromatiques. Une molécule hydrocarbure aliphatique appelée C_n est une molécule contenant n atomes de carbone C. Par exemple, le méthane CH_4 est un C_1 , tandis que le butane C_4H_{10} est un C_4 . Avec le C_n , les propriétés physiques diffèrent :

C_1 à C_4 : aliphatiques à l'état gazeux à température ambiante ;

C_5 à C_8 : aliphatiques à l'état liquide et volatil ;

C_9 à C_{16} : aliphatiques à l'état liquide et faiblement volatil

Au-delà de C_{16} : aliphatique à l'état solide

Les hydrocarbures aliphatiques acycliques saturés sont des alcanes (ou n-alcanes) et les hydrocarbures insaturés sont des alcènes et des alcynes (en fonction du nombre d'insaturations

i). Les aliphatiques acycliques sont constitués de chaînes droites ou ramifiées (présence de chaînes latérales). (Frédéric Élie, 2022)

II.2.1 Hydrocarbures aliphatiques acycliques :

Les alcanes sont des hydrocarbures aliphatiques acycliques saturés, ou alcanes. Peuvent être des hydrocarbures linéaires, de formule brute générale C_nH_{2n+2} ($n \geq 1$), ou des hydrocarbures ramifiés, de formule brute générale C_nH_{2n+2} ($n > 3$), sont regroupés. Exemples :

- **linéaires** (ou à chaînes droites) : Les aliphatiques linéaires, également appelés aliphatiques à chaînes droites, sont caractérisés, par un radical alkyle lié à un atome d'hydrogène, ce qui rend le radical alkyle seul extrêmement instable.
- **ramifiés** (ou à chaînes latérales) : Lorsqu'un ou plusieurs atomes de carbone C sont liés dans la structure linéaire de base, les atomes d'hydrogène H sont remplacés par un groupe formant une chaîne latérale. La molécule qui découle ainsi d'un aliphatique linéaire est nommée selon le nom de celui-ci, ou de sa chaîne modifiée, et selon les règles de la nomenclature internationale IUPAC, le ou les carbone C qui portent ces substitutions, ainsi que le nom des groupements substituants. (Frédéric Élie, 2022)

II.2.2 Hydrocarbures aliphatiques acycliques insaturés :

Ils renferment une ou plusieurs liaisons carbonées doubles et triples. La formule brute générale de leur formule $C_nH_{2(n-i)+2}$ implique le nombre d'insaturations.

Les alcènes ($C_nH_{2(n-m)+2}$) sont regroupés dans le cas $i = m$ ($m = 1, 2, 3$ doubles liaisons) et les alcynes ($C_nH_{2n-4m+2}$) dans le cas $i = 2m$ ($m = 1, 2, 3$ triples liaisons).

- **Alcènes** : Ils incluent une ou plusieurs liaisons carbonées doubles. Selon la classification IUPAC, ils sont habituellement appelés à partir de l'alcane qui leur est associé, avec une terminaison en « ène ». Leur nom indique l'emplacement du ou des carbonés C où se produisent la ou les doubles liaisons. Les monoalcènes (1 seule double liaison), les diènes (2 doubles liaisons), les triènes (3 doubles liaisons) sont classés selon le nombre de doubles liaisons.
- **Alcynes** : Ils incluent une ou plusieurs liaisons carbonées triples. L'alcyne est appelé selon la nomenclature IUPAC par le nom de l'alcane correspondant et un suffixe « -yne ».

Les monoalcynes (1 seule triple liaison), les diynes (2 triples liaisons), les triynes (3 triples liaisons) sont classés en fonction du nombre de triples liaisons.

Les alcynes présentent des effets narcotiques à des concentrations élevées, avec une forte odeur caractéristique et des effets secondaires graves.

II.3 Hydrocarbures aliphatiques cycliques :

II.3.1 Hydrocarbures alicycliques saturés :

Les hydrocarbures cycliques non aromatiques sont présents. Si c'est un seul cycle ($c = 1$), ils sont des cycloalcanes ; si c'est plus grand, ils sont polycycliques.

II.3.2 Hydrocarbures alicycliques insaturés :

- **Cycloalcènes** : Formule brute générale de $C_nH_{2(n-i)}$ (monocycliques $c = 1$). Au moins une double liaison $-C=C-$ est présente dans le cycle. Les cycloalcènes sont désignés par la désignation des alcènes correspondants, avec le préfixe « cyclo- ».
- **Cycloalcynes** : Formule brute générale $C_nH_{2(n-i)+2}$, monocyclique $c=1$. Au moins une triple liaison $-C\equiv C-$ est présente dans le cycle. Une cycloalcyne est nommée d'après l'alcyne correspondant précédé du préfixe « cyclo- ». Le premier cycloalcyne stable est le cyclooctyne C_8H_{12} ($n = 8$) : il s'agit d'un cycloalcyne chimiquement instable pour des C_n faibles.

II.4 Hydrocarbures aromatiques :

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont produits résultant d'une combustion incomplète de matières organiques (**Samanta et al. 2002**). Ceux-ci proviennent de processus naturels tels que les éruptions volcaniques ou d'activités anthropiques, qui sont la principale source de ces polluants. Le fluoranthène et le pyrène sont deux des HAP les plus courants dans l'environnement (**Rababah et Matsuzawa, 2002**). Les HAP sont généralement colorés et cristallins. Le courant, qui indique la direction du débit de l'eau, augmente avec la température.

polluants HAP sont retrouvés dans l'air et à proximité des villes. Les principales sources sont le chauffage et le refroidissement. Toutefois, le sol et l'eau peuvent être contaminés en raison d'une telle pollution, qui peut résulter de déversements de pétrole ou d'une pollution industrielle. Or de nombreux HAP sont rejetés dans l'atmosphère. Ce qui rend la pollution aux HAP particulièrement toxique, c'est

qu'elle est cancérigène et mutagène. La recherche montre que les HAP persistent dans l'environnement car ils endommagent les minéraux et ne se biodégradent pas facilement.

II.5. Les principales sources d'hydrocarbures :

Il est bien connu que Les principales sources naturelles d'hydrocarbures sont le pétrole et le gaz naturel. Ces sources (inflammables à température ambiante) font partie des énergies fossiles avec le charbon. Leurs réserves sont restreintes dans les profondeurs du sol ou sous les fonds marins, car elles sont issues de la dégradation de la matière organique des organismes vivants.

II.5.1 Le pétrole brute :

La matière première du pétrole brut est principalement composée d'hydrocarbures, mais elle renferme également des composés organiques soufrés, oxygénés et azotés. Il se trouve dans les bassins sédimentaires, où il occupe les espaces vides de roches poreuses connues sous le nom de réservoirs. L'accumulation de pétrole se produit dans une zone où le réservoir présente des caractéristiques favorables et constitue un piège : la fuite du pétrole – moins dense que l'eau – est rendue impossible vers le haut par la présence d'une couverture imperméable (argiles, sel) et latéralement par une géométrie favorable (dôme anticlinal, biseau de sables dans des argiles).

Le pétrole provient des organismes, qu'ils soient animaux ou végétaux, qui vivent à la surface du globe et surtout dans les eaux. La production de matière organique ainsi générée se dépose dans les profondeurs des mers et des lacs et est intégrée aux sédiments. Au fur et à mesure de leur enfouissement, les composés organiques se métamorphosent, principalement sous l'influence de la température, en hydrocarbures dont une partie se concentre progressivement dans les pièges des réservoirs poreux. **(Bernard TISSOT, 2024).**

II.5.1.2 Composé autre que les hydrocarbures :

Les molécules qui contiennent d'autres atomes que le carbone et l'hydrogène font partie de cette catégorie, il existe une distinction entre les composés organique et les organo-métaux.

II.5.1.2.1 Composé organique hétéroatomique (non hydrocarbonés) :

- **Composés soufrés** : Le soufre occupe une place prépondérante dans le pétrole brut, avec une concentration pouvant varier de 0.1 à plus de 8% en poids. Cette concentration est également liée à la densité du brut et donc à sa qualité (légère ou lourde)

Tableau 2 : quelque caractéristique de fraction (**Jean-Pierre Wauquier 1994**)

Brut	Origine	Visco (mm ² /s)	Asph (%pds)	O (%pds)	N (%pds)	S (%pds)	Ni (ppm)	V (ppm)
Edjeleh	Algérie	5.3	0.1	0.73	0.34	<0.10	<0.2	<0.2
Hassi Messaoud	Algérie	2.32	0.1	1.93	0.38	<0.10	<0.2	<0.2
Anguille	Gabon	14.1	1.2	0.92	0.26	0.28	115	14
Chauvin Source	Canada	28	6.0	0.48	0.66	2.80	35	67
Lacq sup.	France	81.7	13.2	0.57	0.42	4.94	19	29

On peut trouver du soufre sous forme inorganique : le S élémentaire, l'hydrogène sulfuré HS, l'oxysulfure de carbone COS ou l'oxysulfure de carbone utilisé dans des molécules organique

- **Composé oxygénée** : le brut contient généralement une quantité d'oxygène réduite que le soufre (tableau 2), il est le responsable de l'acidité de pétrole sous forme d'acides carboxyliques (R-COOH), de phénols (Ar-OH), de cétones (R-CO-R') et de type du dibenzofurane.
- **Composé azotés** : l'azote est principalement présent dans les fractions de point d'ébullition supérieur à 250 °C dans le pétrole brut, il est particulièrement concentré dans les résines et les asphaltènes. L'azote se présente sous différentes formes telles que l'amidon, les amines, le cycle azoté et les pyridines. (**Jean-Pierre Wauquier 1994**)

II.5.1.2.2 Les asphaltènes :

Au laboratoire, les asphaltènes sont précipités à l'heptane normal (figure 2). Les feuillets polyaromatiques condensés, reliés par des chaînes saturées par des chaînes saturées, forment leur composition. Les feuillets aromatique se regroupent en empilement grâce à un repliement de la construction, dont la cohésion est assurée par les électrons des doubles liaisons du cycle

benzénique. il s'agit de solides noirs, éclatants, avec une masse moléculaire qui peut fluctuer entre 1 000 et 100 000. les maltènes forment la partie soluble de l'heptane normal. Les rendements et les composition des asphaltènes varient en fonction de la nature du solvant utilisé par exemple aux États-Unis les asphaltènes obtient par la précipitation du pentane norml. (Jean-Pierre Wauquier 1994)

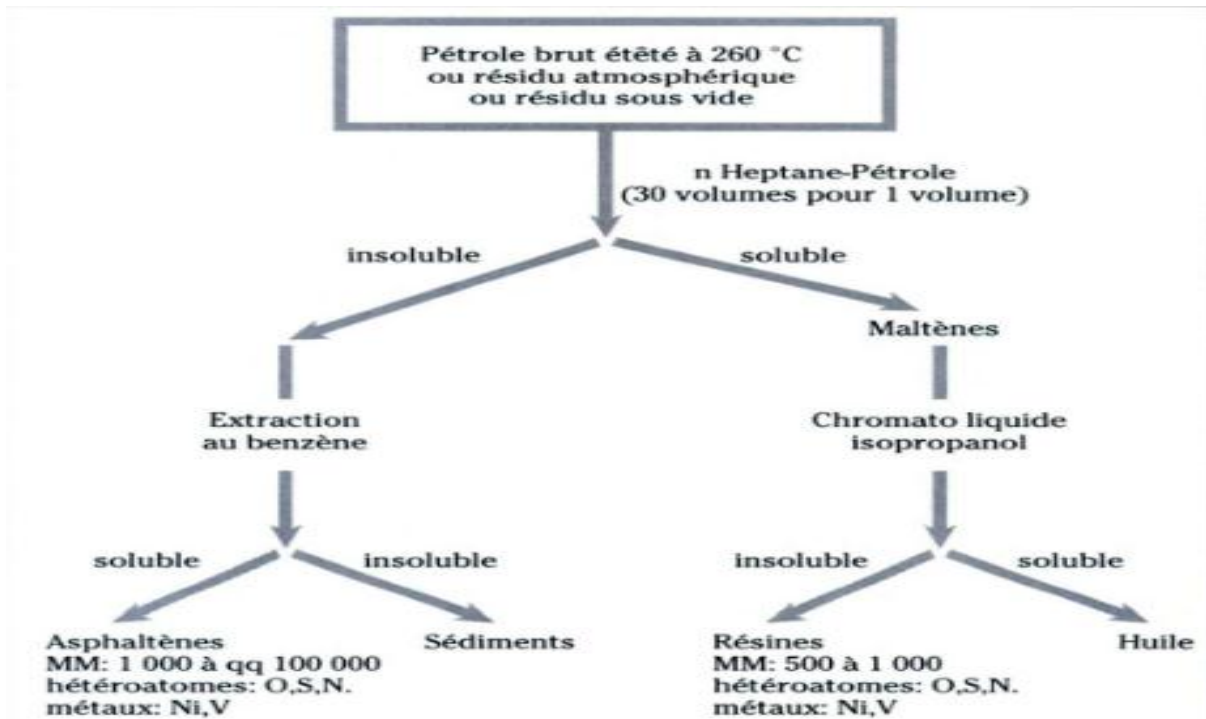


Figure 2 : procédure de séparation des fractions lourdes (Jean-Pierre Wauquier 1994)

II.5.1.3 L'état physique :

On peut trouver des pétroles légers et moelleux à peine colorés en rose jaunâtre (par exemple parme, Surachani) avec une odeur presque agréable et même éthérée et aromatique. Cependant, d'autres sont épais, visqueux, noirs, opaques, même en couches minces, et dégagent une odeur sulfurée désagréable .La couleur peut varier entre différentes nuances de brun avec ou sans reflets verdâtres.

La densité, qui n'est pas supérieure à 0.740 pour certains pétroles de Californie, atteint 1.060 pour d'autres, ce qui est supérieur à celle de l'eau.

Le poids spécifique varie en sens inverse : de 0.000820 pour le pétrole de poids spécifique de 0.920.

Le pouvoir de combustion du pétrole, un élément clé de son utilisation comme combustible, varie de 9000 à 11700 calories, ainsi le pétrole est le combustible qui produit le plus de chaleur pour un poids ou un volume spécifique. (**Léon Wenger, 1913**)

II.5.2 Le gaz naturel :

Le gaz naturel est un combustible fossile sous forme gazeuse qui se trouve naturellement dans les roches poreuses du sous-sol.

On l'obtient grâce à la sédimentation de matière organique datant de plusieurs millions d'années. La matière organique qui est enfouie dans le sous-sol se métamorphose généralement en kérogène, sous l'action de la pression et de la température. Avec une augmentation de la température (de 50 à 120°C), le kérogène se décompose. Cette dégradation thermique, connue sous le nom de pyrolyse, libère deux hydrocarbures : le gaz naturel et le pétrole qui forment, dans une roche imperméable, un gisement. Dans les mêmes gisements, le gaz et le pétrole se trouvent entre 1,5 et 3 km de profondeur.

Le gaz naturel peut être d'une nature différente : il est appelé thermogénique lorsqu'il est produit par la pression et la chaleur, tandis qu'il est appelé biogénique lorsqu'il est produit par la fermentation de bactéries présentes dans les sédiments organiques.

II.5.2.1 Composition :

Après avoir été purifié des composés annexes (CO₂, SH₂) parfois considérables, le gaz naturel est une source d'énergie constituée d'hydrocarbures : méthane (CH₄) à 95 %, étane (C₂ H₆), propane (C₃ H₈), butane (C₄ H₁₀) et pentane (C₅ H₁₂) respectivement.

La BTU (British Thermal Unit) est une des unités utilisées pour mesurer le pouvoir énergétique d'un gaz : cette unité internationale représente la quantité de gaz nécessaire pour augmenter la température d'une livre d'eau d'un degré Fahrenheit. Une BTU correspond à environ 1 055 J.

Chapitre III

La Biodégradation

III. 1. La Biodégradation des hydrocarbures en milieux estuarien et marin froids :

III.1.1 La Biodégradation :

La biodégradation, aussi appelée dégradation biologique, est la décomposition d'un produit organique complexe en molécules plus simples par l'action de microorganismes. D'un point de vue chimique, la biodégradation se traduit par un processus de simplification progressive de la structure d'un composé organique par l'action d'enzymes. Cette dégradation enzymatique permet la minéralisation du carbone organique par les microorganismes et la production de métabolites de plus faibles poids moléculaires.

La voie principale de biodégradation des contaminants dans l'environnement est la respiration aérobie par les microorganismes hétérotrophes. En absence d'oxygène, des mécanismes anoxiques peuvent être mis en place, mais la dégradation est alors beaucoup moins efficace. La biodégradation désigne donc le processus de dégradation moléculaire de substances organiques par l'action enzymatique de microorganismes aérobies ou anaérobies. Ce mécanisme joue un rôle important pour la dégradation des polluants organiques d'origine anthropique, tels que les hydrocarbures pétroliers, car le carbone contenu dans leur structure moléculaire peut servir de source de nourriture pour les microorganismes indigènes.

Le degré de biodégradabilité des hydrocarbures dans un milieu donné est un paramètre incontournable pour prédire l'impact environnemental d'un déversement. Un produit sera dit biodégradable s'il peut être décomposé (digéré) naturellement par les organismes indigènes (généralement des microorganismes – bactéries et champignons).

Dans les milieux estuariens et marins, la biodégradabilité des hydrocarbures dépend:

1. de la complexité du composé à dégrader, 2. des conditions environnementales prévalant dans le milieu impacté 3. de la présence d'une communauté microbienne possédant les caractéristiques génétiques nécessaires à la production d'enzymes adaptées à la dégradation des hydrocarbures. (**Karine Lemarchand et al, 2017**)

III.1.2 Les communautés microbiennes : grandes responsables de la biodégradation des hydrocarbures pétroliers :

De nombreux microorganismes ont la capacité de métaboliser les polluants organiques (hydrocarbures, pesticides, solvants, matières plastiques) pour les transformer en constituants cellulaires (Margesin & Schinner 1999, Dash et al. 2013). Les microorganismes, qui ont la faculté de métaboliser les hydrocarbures pétroliers sont essentiellement des bactéries et des champignons et sont les acteurs principaux de la biodégradation environnementale (Leahy

1990). Aucun microorganisme ne peut à lui seul dégrader tous les composants du pétrole brut, ou des carburants raffinés, qui sont déversés dans l'environnement. Certaines bactéries peuvent dégrader plusieurs hydrocarbures ou toute une classe d'hydrocarbures, (AAM 2011) mais les dizaines de milliers de composés différents qui forment le pétrole ne sont biodégradables que par l'action combinée de l'ensemble des membres d'une communauté microbienne complexe (Head et al. 2006) (Figure 3). (Karine Lemarchand et al, 2017)

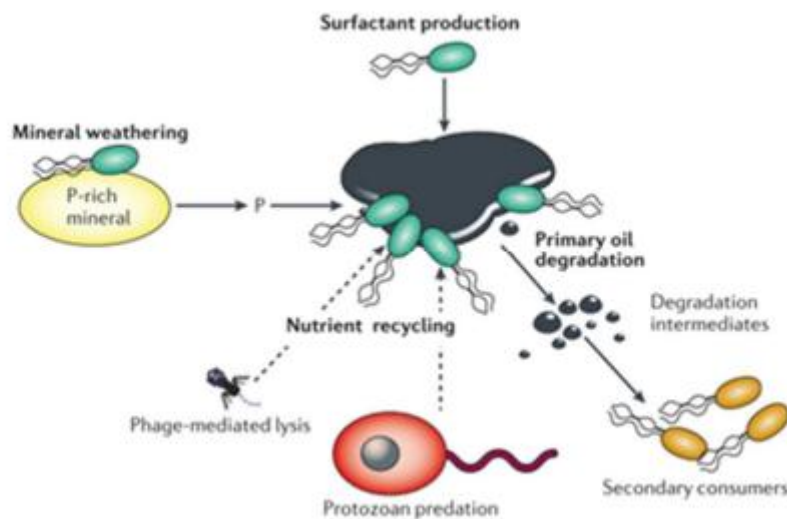


Figure 3 : Communauté microbienne impliquée dans la dégradation des hydrocarbures pétroliers (Head et al. 2006). (Karine Lemarchand et al, 2017)

Les communautés bactériennes sont étonnamment peu variables de par le monde (Wietz et al. 2010). La fraction de la communauté microbienne totale représentée par les bactéries utilisant les hydrocarbures comme source de carbone est cependant fortement variable, avec des fréquences allant de 6% à 82% pour les champignons du sol, de 0,13% à 50% pour les bactéries du sol, et de 0,003% à 100% pour les bactéries marines dépendamment des conditions du milieu (Leahy 1990, Dash et al. 2013). Les microorganismes dégradants les hydrocarbures sont communément appelés hydrocarbonoclastes. Ils représentent moins de 0,1% de la communauté microbienne indigène en milieu non pollué, mais peuvent représenter près de 100% dans les milieux pollués par des déversements d'hydrocarbures, que ces déversements soient d'origine naturelle ou anthropique (Atlas 1981, Yakimov et al. 2003, Yang et al. 2009). Parmi ces microorganismes, se distinguent les organismes dégradateurs d'hydrocarbures obligatoires pour lesquels la présence d'hydrocarbures est obligatoire à leur survie et des organismes dégradateurs opportunistes capables d'utiliser les hydrocarbures

comme source de carbone parmi d'autres sources possibles. (**Karine Lemarchand et al, 2017**)

II.1.3 Facteurs limitant la biodégradation microbienne des hydrocarbures en milieu froid :

Les hydrocarbures pétroliers peuvent être dégradés par différents mécanismes abiotiques. Toutefois, la respiration aérobie par les microorganismes indigènes est la voie principale d'élimination des hydrocarbures dans l'environnement. Les communautés bactériennes estuariennes et marines sont soumises aux conditions environnementales prévalant dans les milieux dans lesquelles elles évoluent.

Des conditions environnementales défavorables à la croissance bactérienne, et par conséquent à la métabolisation des hydrocarbures, représentent donc le principal obstacle à la biodégradation in situ (Juhász & Naidu 2000, Coulon et al. 2007, Dash et al. 2013). En conditions favorables à la croissance, le métabolisme bactérien sera élevé et une forte croissance microbienne pourra être observée. Les hydrocarbures constituant une source importante de carbone pour les microorganismes, la biodégradation sera efficace et rapide. À l'inverse, en conditions de croissance défavorables, le métabolisme global de la communauté sera réduit et donc, la biodégradation des hydrocarbures sera moins efficace. Plusieurs facteurs environnementaux peuvent affecter, positivement ou négativement, le métabolisme bactérien (Tableau 3). (**Karine Lemarchand et al 2017**)

Tableau 3 : Facteurs affectant la biodégradation des hydrocarbures pétroliers (Oliveira et al. 2015) (**Karine Lemarchand et al 2017**)

Facteurs	Rôle dans la décomposition des hydrocarbures pétroliers
Biodisponibilité	La composition et la concentration en hydrocarbures affectent le taux et l'efficacité de la biodégradation microbienne
Température	Affecte le comportement physicochimique des hydrocarbures (la viscosité, la diffusion, la solubilité). Affecte la physiologie et la diversité des microorganismes indigènes
pH	Inhibe l'activité microbienne en régulant le métabolisme microbien
Nutriments	Limite la disponibilité des substances nutritives (N, P, K, Fe). Affecte la croissance microbienne et par conséquent les taux de biodégradation.
Oxygène	Bien que la biodégradation des hydrocarbures puisse s'effectuer en conditions anaérobies et aérobies, la biodégradation aérobie présente un

	rendement beaucoup plus élevé. Une réduction de la concentration en oxygène entraîne donc une réduction de l'efficacité de la biodégradation
Salinité	Les variations de salinité modifient la structure et la diversité des communautés microbiennes indigènes en sélectionnant pour des espèces halophiles ou halotolérantes. Ceci peut avoir un effet indirect sur la biodégradation des hydrocarbures dans les milieux de transition comme les milieux estuariens en ajoutant un facteur de sélection supplémentaire sur les communautés indigènes.
Matière organique	La présence de matière organique entraîne une séquestration des hydrocarbures, diminuant ainsi leur disponibilité pour la biodégradation microbienne
Diversité de la communauté microbienne indigène	La présence de bactéries hydrocarbonoclastes au sein de la communauté bactérienne indigène favorisera une réponse rapide et efficace lors de l'introduction d'hydrocarbures pétroliers dans le milieu. Une communauté "adaptée" présentera donc une efficacité de dégradation des hydrocarbures supérieure à celle d'une communauté "non-adaptée"

Partie Expérimental

Chapitre I

Matériels et Méthodes

I.1 Stations d'échantillonnage :

L'échantillon a été prélevé dans le port d'Arzew dans une zone de transport de pétrole vers les navires, où on peut trouver une source de pollution. Le site de prélèvement privilégié est présenté sur la Figure (4).

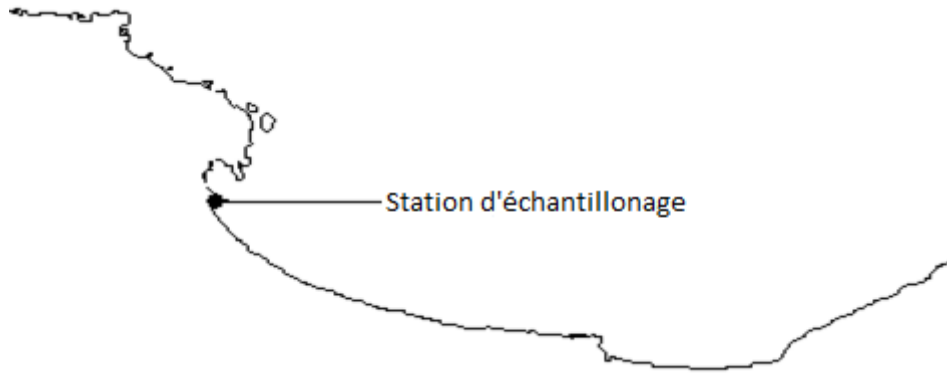


Figure 4 : Zone littorale de la baie d'Arzew

Tableau 4 : Géographie de la zone d'échantillonnage :

Stations	Longitude	Latitude
Port d'Arzew et Hyproc	00° 08'30" Ouest	35° 50' 00" Nord

I.2 Méthodes d'analyse :

I.2.1 prélèvements :

L'échantillon d'eau a été réalisé au mois de mars 2024 dans deux flacons de 1000ml. Ces flacons sont transportés dans une glacière à 4C° jusqu'au laboratoire de microbiologie 01 d'université de Mostaganem où les analyses bactériologiques sont effectuées et le deuxième flacon est transporté au laboratoire d'ONEDD de route d'Oran Mostaganem où des analyses physico-chimiques sont effectuées.

Au cours de l'échantillonnage, il a été tenu compte des difficultés d'accès et de prélèvements, car il convient de prélever l'échantillon avant toute altération des eaux. Les échantillons sont prélevés dans des conditions d'asepsie rigoureuse pour éviter toute contamination accidentelle durant la manipulation.

L'échantillonnage a été réalisé comme suit :

1. Les flacons en verre conçus pour les prélèvements d'eau sont préalablement lavés, rincés soigneusement pour éliminer toute trace d'un éventuel détergent.

2. Au moment du prélèvement, le flacon est rincé avec de l'eau à analyser.

3. Prélèvement manuel est effectué de la surface vers la profondeur, au niveau d'une zone de prélèvement.

4. Les flacons remplis complètement sont fermés hermétiquement puis recouverts avec du papier aluminium pour assurer une double protection contre toute contamination probable pour l'analyse bactériologique.

5. Les échantillons sont transportés dans une glacière pour éviter la multiplication des micro-organismes et le phénomène de photo oxydation de la matière organique.

I.2.2 Analyse physico-chimique :

I.2.2.1 Détermination des paramètres physiques (PH/Température) :

Un multi-paramètre mobile était utilisé pour mesurer les deux paramètres, Suivez ces étapes simples pour effectuer avec succès une analyse du pH et de la température de l'eau de mer.

Tout d'abord, assurez-vous que votre appareil est correctement calibré selon l'instruction du fabricant .pour le calibrage, utiliser des solutions tampons de PH adaptées à l'eau de mer

- Plonger les capteurs dans cette solution et ajustez les valeurs affichées pour correspondre aux valeurs connues des solutions tampons
- Répétez ce processus pour au moins deux solution tampons de PH différentes pour une calibration précise
- Une fois le calibrage du PH terminé, assurez-vous que votre appareil est également calibré pour la température en utilisant une source fiable de température .Une fois que les deux calibrages sont complets, plonger les capteurs dans l'eau de mer et attendez que les mesures se stabilisent.
- Prenez plusieurs mesures pour obtenir une moyenne fiables.

Le multi paramètre mobile peut tenu au compte plusieurs autre paramètre des facteurs environnementaux tels que la salinité et la présence d'autres composants chimiques.

I.2.2.2 Détermination des paramètres biochimiques et chimiques :

La connaissance de certains paramètres physico-chimiques donne une appréciation préliminaire de la qualité et le degré de la pollution des eaux de mer. Les paramètres étudiés sont regroupés dans le (tableau 5).

ils ont été déterminés par des méthodes standardisées selon le guide général pour la conservation et la manipulation dans le laboratoire de sonatrach

Tableau 5 : valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels selon le journal officiel de la république algérienne N°26

N°	Paramètres	Unité	Valeurs limites	Tolérances aux valeurs limites anciennes installations
1	Température	°C	30	30
2	PH	-	6.5-8.5	6.5-8.5
3	MES	Mg/l	35	40
4	Azote Kjeldahl	Mg/l	30	40
5	DCO	Mg/l	120	130
6	DBO ₅	Mg/l	35	40
7	Aluminium	Mg/l	3	5
8	Indice de phénols	Mg/l	0.3	0.5
9	Hydrocarbures totaux	Mg/l	10	15
10	Cadmium	Mg/l	0.2	0.25
11	Cuivre total	Mg/l	0.5	1
12	Plomb total	Mg/l	0.5	0.75
13	Chrome total	Mg/l	0.5	0.75
14	Manganèse	Mg/l	1	1.5
15	Nickel total	Mg/l	0.5	0.75
16	Zinc total	Mg/l	3	5
17	Fer	Mg/l	3	5

I.2.2.2.1 Détermination DCO :

La norme IOS 6060 :1989 est une norme essentielle pour l'évaluation de la qualité de l'eau, car elle définit une méthode pour évaluer la demande chimique en oxygène.

La DCO représente la quantité de matière organique dans l'eau capable d'être oxydée par un agent chimique particulier, ce qui permet d'évaluer la pollution de l'eau. Les échantillons d'eau ayant une DCO comprise entre 30 mg/l et 700 mg/l sont soumis à cette norme, avec une précision optimale entre 300 mg/l et 600 mg/l.

Afin d'assurer la précision des résultats, il est nécessaire que la concentration en chlorures des échantillons ne dépasse pas 1000mg/l.

I.2.2.2.2 Détermination DBO₅ :

L'étalon analytique OXITOP est une méthode de respirométrie standardisée mesurer la demande biologique en oxygène dans des échantillons d'eau qui détecte avec précision la contamination organique en surveillant la consommation d'oxygène à l'aide de capteurs de pression et permet une évaluation précise.

I.2.2.2.3 Détermination des Métaux lourds :

La norme ISO 8288 :19886 établit des méthodes analytiques précises pour évaluer la qualité de l'eau, telles que la détermination des métaux lourds (cobalt, nickel, cuivre, zinc, cadmium et plomb...).

L'identification et la quantification de ces éléments sont effectuées à l'aide de la spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, une méthode connue pour sa sensibilité et sa précision.

I.2.2.2.4 Détermination d'hydrocarbures totaux :

La norme d'analyse ASTM D 1664 A, aussi appelée Méthode de test standard pour l'huile et le gras et les hydrocarbures pétrolières par détermination gravimétrique, est employée afin de mesurer la quantité totale d'hydrocarbures présents dans les échantillons d'eau. Dans cette approche, les hydrocarbures sont extraits à l'aide de n-hexane, puis une analyse gravimétrique est effectuée afin de mesurer la concentration d'hydrocarbures dans l'échantillon.

I.2.3 Analyse bactériologiques :

I.2.3.1 Méthode de dénombrement Nombre le Plus Probable :

La méthode du nombre le plus probable (NPP) est une technique utilisée en microbiologie pour estimer la concentration de bactéries dans un échantillon donné. Cette méthode repose sur la dilution série et la culture des échantillons dans des milieux de culture liquide. Voici comment elle fonctionne généralement :

1. Préparation des dilutions en série : L'échantillon est dilué de manière répétée dans un milieu stérile pour obtenir différentes dilutions. Cette étape permet de réduire la concentration des bactéries à des niveaux où il est possible de compter les colonies individuelles.

2. Inoculation dans des tubes de culture : Chaque dilution est ensuite inoculée dans plusieurs tubes de milieu de culture liquide stérile. Cette étape permet de fournir un environnement propice à la croissance bactérienne.

3. Incubation : Les tubes sont incubés à une température et pendant une durée appropriée pour permettre la croissance des bactéries présentes.

4. Lecture des résultats : Après incubation, les tubes sont examinés pour détecter la présence de croissance bactérienne. Les tubes présentant une croissance sont considérés comme positifs, tandis que ceux sans croissance sont considérés comme négatifs.

5. Interprétation des résultats : Les résultats sont ensuite interprétés à l'aide de tables statistiques, telles que la table de Mac Grady mentionnée, qui fournissent une estimation du nombre le plus probable de bactéries dans l'échantillon en fonction du nombre de tubes positifs pour chaque dilution.

Cette méthode est largement utilisée dans les laboratoires microbiologiques pour estimer rapidement et efficacement la concentration de bactéries dans divers échantillons, tels que l'eau, les aliments et les échantillons cliniques. Elle est particulièrement utile lorsque les concentrations de bactéries dans les échantillons sont faibles et que d'autres méthodes de dénombrement, comme le comptage des colonies sur des milieux solides, ne sont pas pratiques.

I.2.3.1.1 Recherche et dénombrement *des coliformes totaux* :

La recherche et le comptage des coliformes sont effectués à l'aide de la méthode de la colimétrie en milieu liquide, qui comprend deux tests successifs :

1. Test de présomption, utilisé pour détecter les coliformes totaux :

- 50 mL d'eau à analyser sont aseptiquement transférés dans un flacon contenant 50 mL de milieu de BCPL (Bromo-Cresol-Pourpre-Lactose) D/C, équipé d'une cloche de Derham.

- 5 x10 mL d'eau à analyser sont aseptiquement transférés dans 5 tubes contenant 10 mL de milieu BCPL D/C, chacun étant muni d'une cloche de Derham.

- 5 x01 mL d'eau à analyser sont aseptiquement transférés dans 5 tubes contenant 10 mL de milieu BCPL S/C, munis d'une cloche de Derham.

Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures. Les tubes montrant un changement de couleur du milieu en jaune accompagné de la formation de gaz dans la cloche sont considérés comme positifs.

2. Test de confirmation ou test de Mac Kenzie :

- Les tubes de BCPL positifs lors du test de dénombrement des coliformes totaux sont inoculés dans des tubes contenant du milieu de Schubert, munis d'une cloche de Derham, et incubés à 44°C pendant 24 heures.

- Les tubes positifs présentent à la fois un dégagement gazeux et un anneau rouge en surface, indiquant la production d'indole après l'ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale est effectuée en conformité avec les directives du NPP, en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* produit à la fois du gaz et de l'indole à 44°C. L'incubation se fait à 44°C pendant 24 heures.

I.2.3.1.2 Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux* :

Les principes généraux de cette méthode sont décrits dans l'exposé de la Colimétrie en milieu liquide. Cependant, le tube primaire contient déjà une certaine quantité d'azide de sodium.

1. Test présomptif :

Inoculation de :

- 50 mL d'eau dans un flacon contenant 50 mL de milieu de Rothe D/C.
- 5 x 10 mL d'eau dans 5 tubes contenant 10 mL de milieu de Rothe D/C.
- 5 x 01 mL d'eau dans 5 tubes contenant 10 mL de milieu de Rothe S/C.

Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

2. Test confirmatif :

- Les tubes de Rothe positifs sont repiqués dans des tubes contenant le milieu de Litsky EVA.
- Incubation à 37°C.

Les tubes positifs présentent à la fois un trouble microbien et une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par 100 ml selon la table de Mac-Gray.

I.2.3.1.3 Recherche et dénombrement des sports de *Clostridium sulfito-reductrice* :

Les *Clostridium sulfito-réducteurs* forment un groupe de bactéries anaérobies résistantes à leurs spores et équipées d'un équipement enzymatique capable de réduire plus ou moins activement les sulfites en sulfures. La recherche de ces bactéries implique d'abord la destruction des formes végétatives par un chauffage à 80°C pendant 10 minutes, suivie d'un refroidissement par de l'eau de robinier. Ensuite, l'échantillon est incorporé dans un milieu de culture gélose viande de foie (VF) de base fondu, additionné de sulfite de sodium et d'alumine

de fer, permettant ainsi la mise en évidence de l'action sulfito-réductrice. Pour réaliser ce système anaérobie, il est également nécessaire de réaliser un bouchage pour empêcher l'entrée d'oxygène.

Les *Clostridium sulfito-reducteurs* donnant après 24 et 48 heures d'incubation à 37°C des colonies noires, le dénombrement se fait par comptage des colonies noires.

I.2.3.1.4 Recherche et dénombrement des *Salmonelles* :

La recherche de germes pathogènes dans l'eau nécessite une série d'étapes pour garantir une détection fiable. Voici les étapes recommandées :

1. Preenrichissement : Le premier enrichissement se fait sur le milieu de Sélénite-cystiène (SFB) à double concentration (D/C), additionné de l'additif de SFB. L'eau à analyser est ajoutée à raison de 100 mL par flocon, puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

2. Sélection : Le flacon est ensuite soumis à un deuxième enrichissement sur le milieu de SFB à simple concentration, additionné de l'additif de SFB. Simultanément, un isolement est effectué sur une gélose Hectoén. Tous ces éléments sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

3. Confirmation : La boîte de gélose Hectoén est ensuite examinée pour détecter les colonies. Les *Salmonelles*, par exemple, se présentent souvent sous forme de colonies gris-bleu à centre noir. Ces étapes permettent de détecter les germes pathogènes en présence de germes d'accompagnement (Coliformes) ou non (*Pseudomonas*) en raison de leur présence en nombre faible

I.2.3.1.5 Recherche et dénombrement des *Vibrion cholériques* :

1. Pré-enrichissement :

Introduire directement 450 mL d'eau de mer dans un flacon contenant 50 mL de milieu de culture (Eau peptonée concentrée 10 fois (EPA)).

Incuber le prélèvement à 37°C pendant 18 heures. Cette phase constitue un premier enrichissement EPA1.

2. Sélection :

Ensemencer le premier enrichissement (EPA1) dans un tube contenant de l'eau peptonée alcaline (EPA2).

Ensemencer également le premier enrichissement (EPA1) sur un milieu TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) additionné d'additifs.

Incuber à 37°C pendant 24 heures.

3. Confirmation :

Examiner les colonies pour détecter les Vibrions, qui se présentent souvent sous forme de colonies grosses, lisses et transparentes avec des bordures régulières.

Ces étapes permettent de détecter les germes pathogènes du genre *Vibrio*, responsables de toxi-infections alimentaire .car le milieu TCBS est sélectif que pour l'espèce *vibrio* .

I.2.3.1.6 Recherche et dénombrement des *Staphylococcus* :

1. Pré-enrichissement :

1ml de l'eau de mer à analyser inoculé dans 9ml de bouillon Giolitti-Cantoni plus additif (tellurite de potassium).

Incubation 37°C pendant 24 Heures

Les Staphylocoques à coagulase positive réduisent les tellurites et produisent des colonies noires.

2. Test confirmatif :

Les cultures sontensemencées par épuisement sur gélose mannitol-sel (chapman) et incubées à 37°C pendant 24 à 48H

I.2.3.1.7 Recherche et dénombrement des *Pseudomonas* :

- Ensemencer 0.1 ml de l'échantillon d'eau à la surface d'une gélose king A par la méthode des quatre quadrants.

- Incubation à 30°C pendant 24H

- Considérer comme colonies caractéristiques de *pseudomonas* celles qui présentent une pigmentation bleue. En effet, le milieu King A permet de mettre en évidence la production de pyocyanine, un pigment bleu spécifique de *P.aeuginosa*.

- Si la pigmentation n'est pas franche, elle peut être confirmée en ajoutant 0.5 à 1ml de chloroforme dans le tube, puis quelques gouttes d'HCL. La couleur passe alors rapidement du bleu au rouge, confirmant la présence de pyocyanine.

I.2.4 Isolement des souches fongiques :

Procédure d'isolement sur milieu spécifique : gélose de Sabouraud et gélose de PDA

1. Dépôt de l'échantillon :

- Déposer 0,1 mL de la solution mère en surface des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture (gélose de Sabouraud et gélose de PDA).

2. Étaler l'échantillon :

- Étaler uniformément l'échantillon avec un étaloir stérile.

3. Incubation :

- Incuber les boîtes à 30°C. Puis Observer les cultures après 48 heures, 4 jours et 7 jours.

I.2.5 Purification des souches :

Voici les étapes pour obtenir des souches pures de bactéries à partir de colonies isolées sur des milieux sélectifs :

1. Sélectionner des colonies caractéristiques sur les boîtes de Pétri après incubation sur le milieu sélectif.

2. Réaliser une purification par la méthode des stries simples sur un milieu gélosé non sélectif comme la gélose nutritive. Cette technique permet d'isoler des colonies issues d'une seule cellule.

3. Incuber les boîtes à la température optimale de croissance des bactéries, généralement 37°C pendant 18-24h.

4. Après incubation, sélectionner une colonie isolée et la repiquer sur un nouveau milieu gélosé non sélectif pour obtenir une souche pure.

Répéter si nécessaire l'étape de purification par stries simples jusqu'à l'obtention d'une culture homogène.

Conserver les souches pures obtenues sur des milieux de conservation adaptés (gélose nutritive inclinée, billes de verre...) à -80°C ou en azote liquide pour des utilisations ultérieures

I.2.6 Identification des souches microbiennes :

On identifie cinq à partir des souches pures obtenues

I.2.6.1 Etude macroscopique :

L'étude de colonies microbiennes est réalisée par l'observation à l'œil nu de plusieurs caractéristiques :

1- Taille : La taille d'une colonie bactérienne est une donnée importante. Elle peut varier de quelques micromètres à plusieurs millimètres. Pour éviter les quiproquos, il est recommandé de mesurer les colonies les plus grosses qui sont parfaitement isolées.

2- Forme : La forme générale d'une colonie est un caractère important. Les colonies peuvent être rondes, ovales, elliptiques, ou même irrégulières. Certaines espèces

forment des colonies avec des formes spécifiques, comme des colonies en étoile ou des colonies en forme de disque.

- 3- Couleur : La couleur des colonies peut être très variée, allant du blanc au gris, au jaune, au rouge, ou même au noir. Certaines espèces forment des colonies colorées en raison de la production de pigments spécifiques.
- 4- Aspect : L'aspect des colonies peut varier en fonction de la texture, de la consistance et de la surface. Les colonies peuvent être brillantes, mate, rugueuses, ou même avoir des reliefs spécifiques.

Ces caractéristiques sont essentielles pour identifier les colonies microbiennes et les souches isolées. L'observation à l'œil nu permet souvent de déduire l'espèce ou le genre de bactérie présente dans l'échantillon.

I.2.6.2 Etude microscopique :

L'étude microscopique des bactéries après coloration de Gram permet d'observer leur forme et leur disposition, en plus de leur réaction à la coloration qui différencie les bactéries Gram positives des Gram négatives. Voici les principales étapes de cette technique :

1. Réaliser un frottis de l'échantillon bactérien sur une lame, le laisser sécher et le fixer à la chaleur.
2. Recouvrir le frottis de cristal violet (colorant primaire) pendant 1 minute.
3. Rincer à l'eau et recouvrir d'une solution d'iode (mordant) pendant 1 minute.
4. Décolorer avec de l'alcool-acétone pendant 30 secondes à 1 minute.
5. Rincer abondamment à l'eau et recouvrir de safranine (colorant de contraste) pendant 1 minute.
6. Rincer à l'eau, laisser sécher et observer au microscope à l'objectif à immersion (x100).

Après cette coloration différentielle :

- Les bactéries Gram positives apparaissent en violet foncé car elles retiennent le cristal violet-iode.
- Les bactéries Gram négatives se colorent en rose car elles perdent le cristal violet lors de la décoloration et fixent le colorant de contraste (safranine).

Cette coloration permet donc d'observer la morphologie (forme) et le mode de groupement des bactéries, en plus de leur réaction Gram qui est un critère taxonomique important

I.2.6.3 Etude physiologique :

I.2.6.3.1 Test de RM :

Le test du rouge de méthyle est une méthode utilisée pour détecter la voie fermentative des acides mixtes. Pour le réaliser, on inocule un tube de Clark et Lubs, puis on incube pendant 24 heures à 30 °C. Après incubation, on ajoute 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle et on observe la couleur. Si la solution vire au rouge, le test est considéré comme positif (RM+), indiquant la présence de la voie fermentative des acides mixtes. Si la couleur reste jaune, le résultat est négatif (RM-).

I.2.6.3.2 Test de VP :

La réaction de Voges Proskauer est utilisée pour mettre en évidence la présence d'acétoïne par le biais d'une réaction colorée. Pour faire ce test, on ensemence un tube de Clark et Lubs contenant le milieu de culture, puis on incube pendant 24 heures à 30 °C. Ensuite, pour la lecture, on ajoute 5 gouttes d'alpha-naphtol (VPI) et le même volume d'hydroxyde de potassium (VPII) au tube, en inclinant légèrement le tube pour favoriser l'oxygénation. On attend quelques minutes à une heure. Si la solution devient rouge, le test est considéré comme positif (VP+), indiquant la présence d'acétoïne.

I.2.6.3.3 Oxydase :

Ce procédé permet de détecter la présence de l'enzyme phénylalanine déshydrogénase chez les bactéries à partir de leur culture sur milieu gélosé. Cette enzyme a la capacité de réagir avec le réactif N, N-diméthyl-p-phénylènediamine. Lorsque ce réactif est appliqué sur les colonies bactériennes, l'absence de coloration indique que la bactérie est négative pour l'oxydase (Oxydase-).

I.2.6.3.4 Catalase :

Cette méthode permet de repérer une enzyme respiratoire chez les bactéries qui utilisent un métabolisme oxydatif direct, aidant à réguler le niveau de peroxyde d'hydrogène. Sur une lame propre et sèche, une goutte d'eau oxygénée est placée, suivie de l'ajout de l'inoculum bactérien à l'aide d'une pipette Pasteur. La réaction est observée immédiatement. Si des bulles apparaissent, indiquant la libération d'oxygène, cela signifie que la catalase est présente (Catalase +).

I.2.6.3.5 Etude de type respiratoire :

La régénération de la gélose Viande-Foie s'effectue par ébullition au bain-marie pendant 30 minutes. Une fois liquide, vers 45 °C, le milieu est ensemencé à l'aide d'une pipette Pasteur, en l'introduisant au fond du tube et en remontant en spirale. Après refroidissement à l'eau, le tube est placé dans une étuve à 30 °C pendant 24 heures.

La lecture consiste à observer les zones de croissance bactérienne dans le tube, là où les conditions d'oxygénation leur permettent de se développer et de se multiplier.

Si la culture couvre toute la longueur du tube, la bactérie est qualifiée d'aéro-anaérobie facultative. En revanche, si la culture se limite au sommet du tube, la bactérie est dite aérobie strict. Lorsque la culture est seulement présente au bas du tube, la bactérie est qualifiée d'anaérobie strict. Enfin, si la culture est localisée principalement près de la surface, la bactérie est considérée comme micro-aérophile.

La présence de gaz qui fragmente la gélose indique un résultat positif pour le test du gaz (+).

I.2.6.3.5 Production des pigments :

La composition du milieu a un impact sur l'élaboration des pigments, ce qui explique pourquoi deux milieux différents utilisés. King A sera employé pour l'exploration de la pyocyanine. Le King B est un environnement propice pour la fabrication de pyoverdines.

La surface du milieu King A et King B est striée à partir d'une culture solide. Le King A et le King B sont incubés pendant 24 heures à 37 °C. Le milieu King A présente une couleur bleue qui indique la présence de pyocyanine, tandis que le milieu King B présente une couleur jaune-verdâtre fluorescente qui indique la présence de pyoverdine.

I.2.6.3.6 Hydrolyse de l'amidon :

On prépare le milieu d'amidon en ajoutant 10 g/l au milieu GN. Les souches sont placées en petites quantités, et après 48 heures d'incubation à 30°C, il est possible de rendre la lecture plus claire en versant quelques gouttes de lugol sur la surface du milieu. Si la couleur devient bleue, cela indique que la bactérie est amidon (-), tandis que si la coloration bleue est absente, elle est appelée amidon (+).

I.2.5.3.7 Nitrate réductase :

Les nitrates peuvent être réduits jusqu'au stade nitrites grâce à la nitrate réductase. La nitrite réductase permettra ensuite de convertir les nitrites en ammoniac. Les nitrates peuvent être réduits jusqu'au stade diazote (gazeux) grâce à la nitrate réductase.

Un tube de milieu nitraté (bouillon nitraté) est largementensemencé et incubé pendant 24 heures à une température de 30°C.

La lecture se fait en ajoutant 2 gouttes de nitrate réductase I (NRI) et le même volume de nitrite réductase II (NRII). Si la couleur est rouge, le test est considéré comme Nitrate-réductase (+), tandis que si elle est jaune, le résultat est considéré comme (-).

I.3 Effet des hydrocarbures sur la croissance microbienne :

I.3.1 Purification des souches :

Chaque souche obtenue a été purifiée dans deux milieux différents : la gélose cétrimide pour *Pseudomonas aeruginosa* et la gélose nutritive pour *Staphylococcus*, *Vibrio cholerae* et *Streptococcus*.

I.3.2 Préparation d'inoculum :

En utilisant une lance de platine stérile, on prélève une quantité équivalente à la taille de celle-ci pour récupérer la dernière souche (souche jeune) bien isolée. Ensuite, cette souche est transférée dans 2 ml d'eau de mer stérile.

I.3.3 Le milieu naturel :

Il s'agit de l'eau de mer naturelle prélevée depuis une zone non polluée est stérilisée par l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

I.3.4 Source de carbone :

La source de carbone additionnée au milieu de culture est d'un dérivé du pétrole brut pétrole d'Arzew et pétrole de Hassi Massaoud.

I.3.5 Test de biodégradabilité :

L'utilisation d'une technique basée sur l'indicateur de redox 2,6 dichlorophénol indophénol a permis de vérifier la biodégradation du pétrole brut de Hassi Messaoud et du pétrole commercialisé d'Arzew.

Le principe de cette technique est que, lors de l'oxydation microbienne de la source de carbone, des électrons sont transférés à des accepteurs d'électrons tels que l'O₂, les nitrates et les sulfates. En incorporant un accepteur d'électrons tel que le DCPIP dans le milieu de culture, il est possible de déterminer la capacité du microorganisme à utiliser le substrat en observant le changement de couleur du DCPIP de bleu (oxydé) à incolore (réduit) (**José Soares Junior et al, 2009**). Cette technique a été utilisée dans plusieurs travaux de (**Cormack and Fraile, 1997; Roy et al. 2002; Mariano et al. 2008a, b; Pirollo et al. 2008**)

On dépose 1mL d'inoculum microbien (*Pseudomonas aeruginosa*, *streptococcus*, *Vibrio Cholerae*, *streptococcus*) dans un tube d'essai contenu 9 mL d'eau de mer stérile et 0.1 mL de pétrole d'Arzew et un 0,1 mL de pétrole de Hassi Massaoud. La concentration de réactif est 0,16 mg/mL, les tubes agités et incubés 24 heures, 48h, 72h à 30°C.

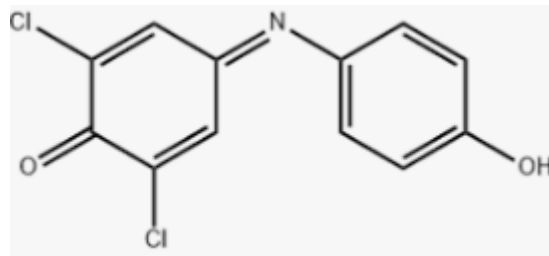


Figure 5 : Composition chimique de réactif

I.3.5.1 Test Confirmatif :

Après avoir incubé les tubes de test de biodégradation pendant 72h , 2ml de chaque tube a été prise et déposé dans 2ml de bouillon nutritif additioné de 2ml de pétrole de chaque type pour confirmé que la bactérie peut survie avec presence de petrole et la quelle de ces bactérie peut donné des bon résultat pour confirmer que le pétrole ne laffectes pas mais peut l'inciter a vivre

I.3.7 Test des puits :

Quatre bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *streptococcus*, *Vibrio Cholerae*, *streptococcus*) ont été inoculées dans deux puits dans un milieu GN supplémentés de pétrole brut provenant de deux sources distinctes : Arzew et Hassi messaoud. Chaque boîte de pétris contenait deux puits.

Le premier rempli d'inoculum témoin.

Le deuxième rempli d'inoculum + l'indicateur de redox 2.6 dichlorophénol indophénol + le pétrole (d'Arzew ou de Hassi messaoud) selon la boîte.

Les boîtes incubés à 30°C pendant 24 heures, 48h, 72h.

Chapitre II

Résultats et discussion

❖ Les valeurs limites des résultats chimique et biochimique ont prises du journal officiel de la République Algérienne N°26

Toutes les analyses physico-chimiques ont été réalisées au laboratoire d'analyse de GPN1/Z de SONATRACH et les paramètres trouvés sont :

II.1 Résultats d'analyses physiques :

Tableau 6 : Présentation des Résultats de température et PH de la zone industriel Arzew

Paramétré	Unités	Résultats	Valeurs limites	Normes d'analyses
Température	C°	25.3	30	Multi paramètre
PH	/	7.46	6.5 - 8.5	Multi paramètre

Une valeur de 25.3°C a était prise peut être due à des réactions chimique ou/et une activité microbienne.

Le pH de l'eau de mer varie généralement de 7,5 à 8,5 et est influencé par la température et les activités de photosynthèse et de la respiration des microorganismes (**Harvey 1955**). Les données recueillies du pH montrent une valeur de 7.46 Un peu réduite para-port au d'autre milieu marin non polluée.

II.2 Résultats d'analyses biochimiques :

Tableau 7: Présentation des Résultats biochimique

Paramétré	Unités	Résultats	Valeurs limites	Normes d'analyses
DCO	Mg/l	100	120	IOS : 6060/1989
DBO ₅	Mg/l	5	35	OXYTOP
MES	Mg/l	43.3	35	ISO11923.1997

La valeur de DCO (100 mg/l) témoigne d'une importante quantité de matière organique et inorganique oxydables présente dans l'eau. Cette valeur élevée, qui est presque à la limite, indique une pollution importante, qui pourrait être causée par des rejets industriels, des eaux usées domestiques ou d'autres sources de matière organique et inorganique.

La concentration de DBO5 (5mg/l) témoigne d'une faible nécessité d'oxygène pour la décomposition biologique des matières organiques pendant une période de 5 jours. Une DBO₅ inférieure à la DCO suggère que la plupart des composés oxydables présents dans l'eau sont difficilement biodégradables. Cela pourrait indiquer que la principale cause de la pollution est la présence de substances chimiques ou organiques résistantes qui ne peuvent pas être facilement décomposées par les microorganismes.

MES de 43,3mg/l témoigne d'une présence modérée de particules solides en suspension.

II.3 Résultats d'analyses chimiques :

Tableau 8 : Présentation des Résultats chimique

Paramétre	Unités	Résultats	Valeurs limites	Normes d'analyses
Plomb	Mg/l	<0.2	0.5	IOS : 8288:1986
Mercuré	Mg/l	<2	20	IOS : 8288:1986
Cadmium	Mg/l	<0.03	0.2	IOS : 8288:1986
Nickel	Mg/l	<0.2	0.5	IOS : 8288:1986
Manganèse	Mg/l	<0.03	1	IOS : 8288:1986
Cuivre	Mg/l	<0.1	0.5	IOS : 8288:1986
Fer	Mg/l	<0.2	3	IOS : 8288:1986
Chrome	Mg/l	<0.1	0.5	IOS : 8288:1986
Aluminium	Mg/l	<1	3	IOS : 8288:1986
Hydrocarbures totaux	Mg/l	<5	10	ASTM D 1664A

Selon **Agence de l'Eau Seine-Normandie** en 2008, la limite de Plomb (Pb) pour l'eau potable est de 10 µg/l (0,01 mg/l). La valeur de 0,2 mg/l ou presque pour le plomb dans l'eau de mer analysée est donc légèrement supérieure à la limite de qualité pour l'eau potable et pourrait être considérée comme élevée

Mercuré (Hg) : < 2 µg/l, très inférieur à la limite de 1 µg/l pour l'eau de mer le Cadmium (Cd) : < 0,03 mg/l, négligeable par rapport à la limite de 0,1 µg/l pour l'eau de mer. (**Agence de l'Eau Seine-Normandie, 2008**)

Les autres métaux comme le nickel, le manganèse, le cuivre, le fer, le chrome et l'aluminium sont aussi présents à l'état de traces, bien en deçà des normes pour l'eau de mer.

Les hydrocarbures totaux à < 5 mg/l sont faibles. Pour comparaison, les normes OMS pour les composés aromatiques individuels (benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes) sont de 0,1 à 1 mg/l.

Ces résultats indiquent que cette zone de rejet industriel liquide n'est pas significativement polluée par les métaux lourds et les hydrocarbures, les concentrations étant du même ordre de grandeur que les teneurs naturelles dans les eaux de mer non contaminées. Cela suggère que cette zone peut servir de référence pour évaluer l'impact de pollutions potentielles dans d'autres zones.

II.4 Résultat d'analyses microbiologique :

Les analyses microbiologiques d'échantillon ont montré que l'eau est contaminée. Le tableau 7 regroupe l'ensemble des germes rencontrés dans le prélèvement :

Tableau 9 : présentation des résultats microbiologique

Espèces	Résultats	Observations
<i>Coliformes totaux</i>	Négatifs	- Changement de couleur - Pas de production de gaz
<i>Streptocoque fecaux</i>	positifs	- Milieu troublé - Une pastille blanche au fond de tube
<i>Clostridium Sulfito-Réductrices</i>	Négatifs	- Milieu troublé - Pas de colonie noir

<i>Salmonelle</i>	Négatifs	- Milieu troublé - pas de changement de couleur du milieu
Souches fongiques	Négatifs	- pas de présence de colonie
<i>Staphylococcus</i>	positifs	- Milieu troublé - Points noirs
<i>Vibrion cholérique</i>	positifs	- Milieu troublé - présence des colonies
<i>Pseudomonas</i>	positifs	-présence des colonies

De point de vue bactériologique les résultats ont montrés une présence des *Streptocoques fécaux*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas* et *Vibrion cholérique*

II.4.1 Résultats *Coliformes totaux* :

➤ Test de présomption :



Figure 6: Résultats de test de présomption pour la recherche et dénombrements de *Coliformes totaux*

Les résultats indiquent un changement de couleur dans le flacon de 50 ml ainsi que dans deux tubes de 20 ml, tandis qu'aucun changement de couleur n'a été observé dans les autres tubes de 11 ml. De plus, aucun des tubes, y compris le flacon, n'a montré de production de gaz, confirmant ainsi des résultats négatifs.

II.4.2 Résultats *Streptocoque fecaux* :

➤ Test présomptif :

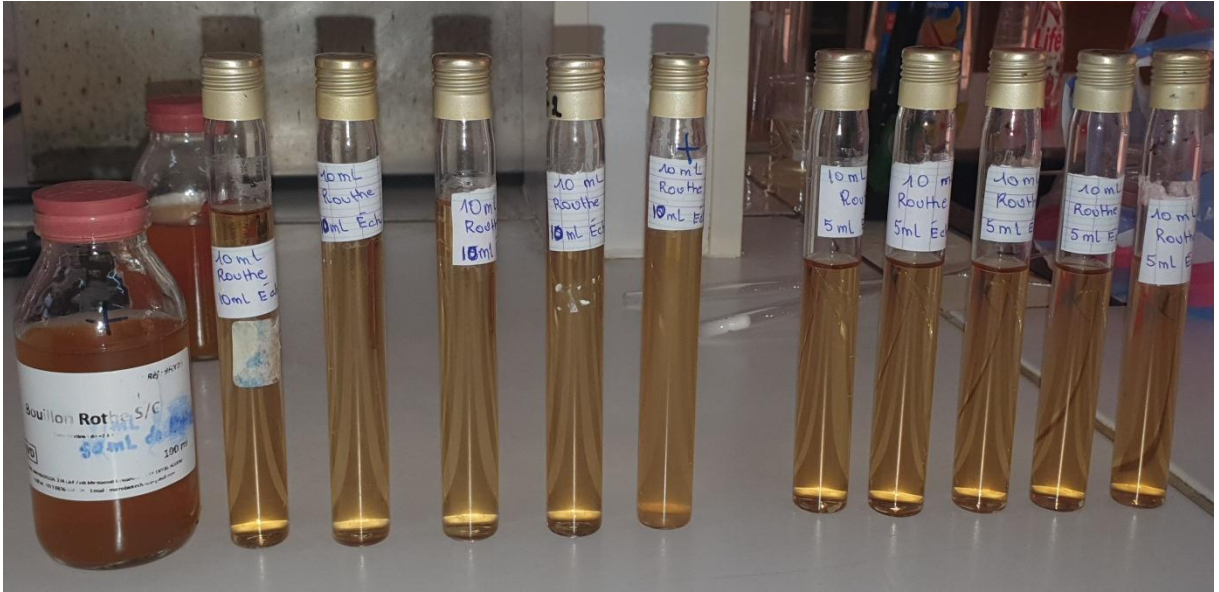


Figure 7 : Résultats de test de présomption pour la recherche et dénombrements de *Streptocoque fecaux*

Les résultats révèlent une turbidité dans le flacon de 50 ml ainsi que dans un tube de 20 ml, alors qu'aucune turbidité n'a été détectée dans les autres tubes de 11 ml.

NPP : 110 => 0.7

➤ Test confirmatif :

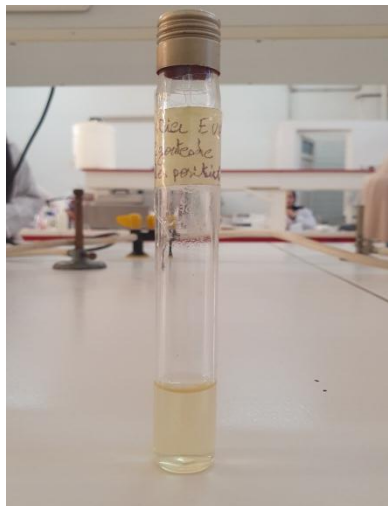


Figure 8 : Résultats de test confirmatif pour la recherche de *Streptocoque fecaux*

Le tube présente à la fois un trouble microbien et une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube.

II.4.3 Résultats *Clostridium sulfito-reductrice*:



Figure 9: Résultats de la recherche et dénombrement de *Clostridium sulfito-reductrice*.

Présence de différents micro-organismes dans tous les tubes sauf les colonies noires qui indiquent la présence de *Clostridium sulfito-reductrice*.

II.4.4 Résultats de recherche et dénombrement des *Salmonelles* :

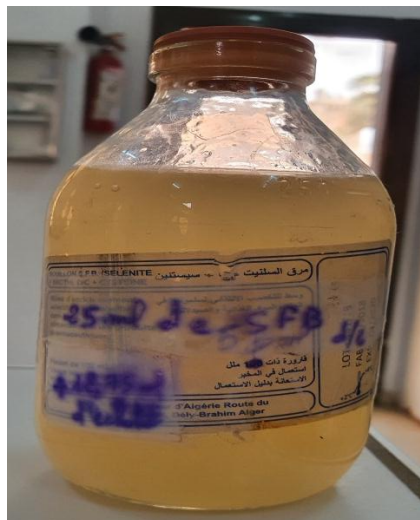


Figure 10: Résultats de recherche et dénombrement des *Salmonelles* de Pré enrichissement.

Pour les deux flacons il y a un trouble microbien mais pas de virage de couleur vers de briquet.

II.4.5 Résultats de recherche et dénombrement des *Vibrion cholériques* :

➤ Pré-enrichissement :

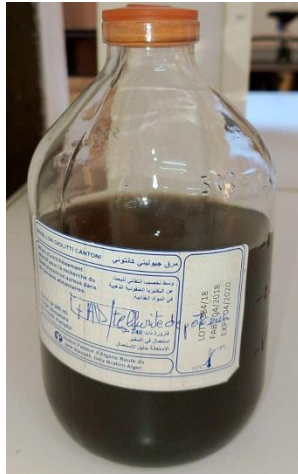


Figure 11: Résultats de Pré-enrichissement pour la recherche des *Vibrion cholériques*

Présence de trouble microbien donc on passe au test confirmatif sur gélose TCBS +additif

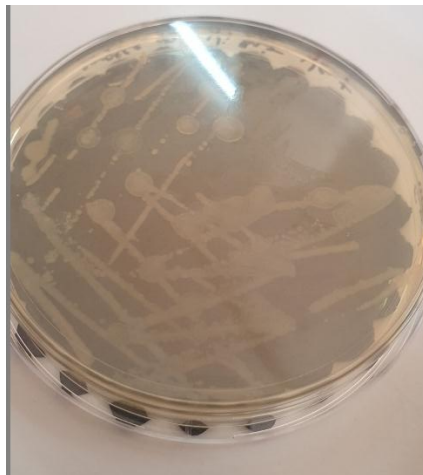


Figure 12: Résultats de confirmation pour la recherche des *Vibrion cholériques*.

II.4.6 Résultats de recherche des *Pseudomas sp* :

Après incubation on a eu ce résultat (figure 13)

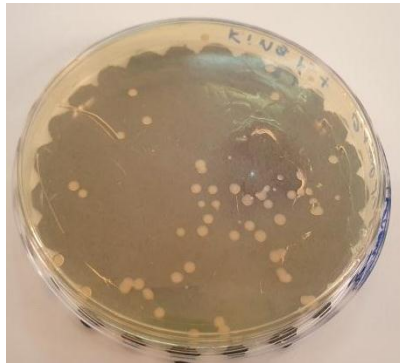


Figure 13 : Résultat de *Pseudomas sp* sur king A

II.5 Résultats de purification:

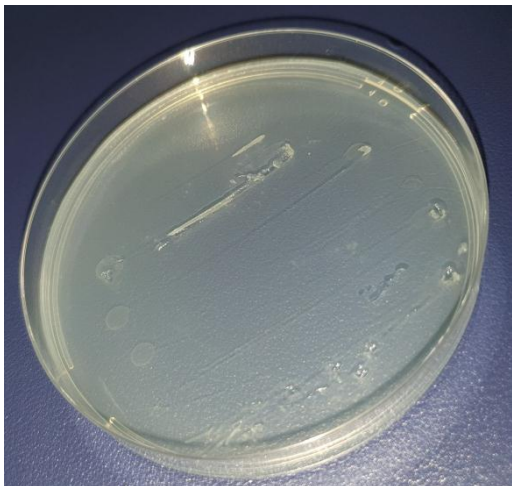


Figure 14 : *Pseudomonas* sur Milieu Cétrimide après purification

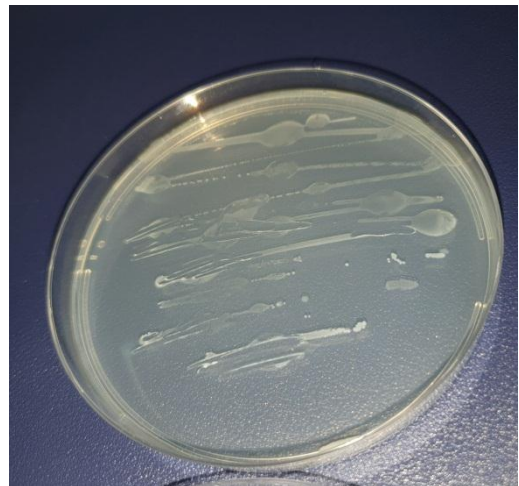


Figure 15 : *Staphylococcus* sur Gélose Nutritive après purification



Figure 16 : *Vibrion cholériques* sur Gélose Nutritive après purification

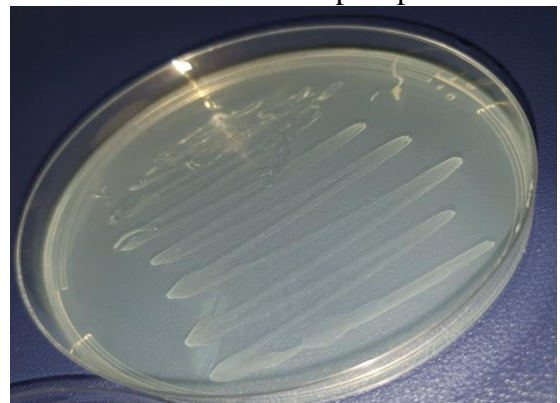


Figure 17 : *Streptocoque* sur Gélose Nutritive après purification

Une identification macroscopique a été réalisée pour les souches de *Vibrio cholerae* qui se caractérise macroscopiquement par des colonies lisses, rondes et légèrement convexes, souvent avec un aspect opaque et une teinte jaunâtre ou grise. En revanche, les colonies de *Pseudomonas* présentent une apparence brillante et mouillée, avec des couleurs variant du vert au bleu-vert. Les colonies de *Streptococcus* sont généralement petites à moyennes, parfois translucides, tandis que celles de *Staphylococcus* sont petites, rondes et convexe, souvent de couleur blanche ou crème. Ces caractéristiques macroscopiques offrent des indications précieuses pour l'identification et la différenciation des différentes souches bactériennes en laboratoire.

II.6 Résultats Microscopique :

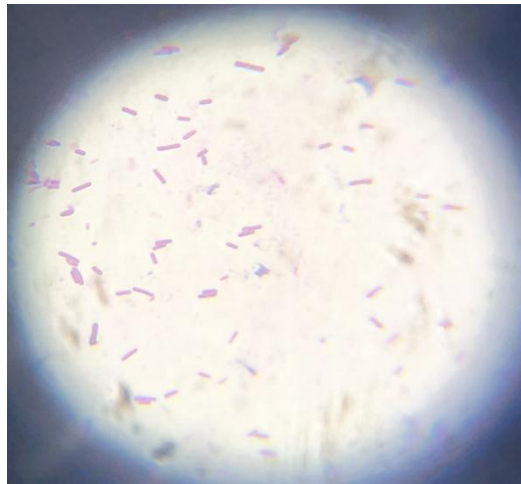


Figure 18: Aspect microscopique de *Pseudomonas* sp après la coloration de Gram

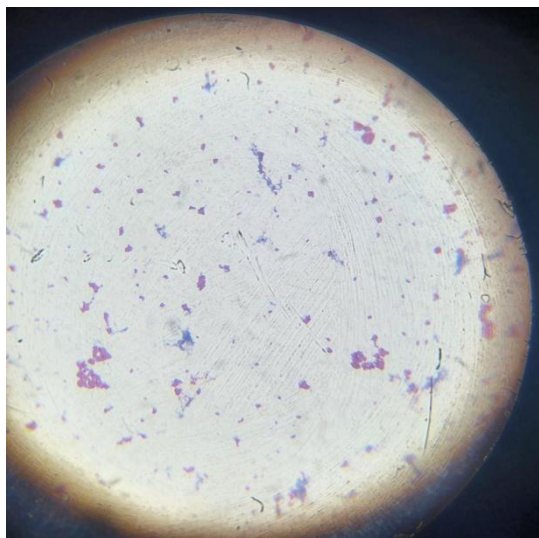


Figure 19: Aspect microscopique de *Staphylococcus* après la coloration de Gram

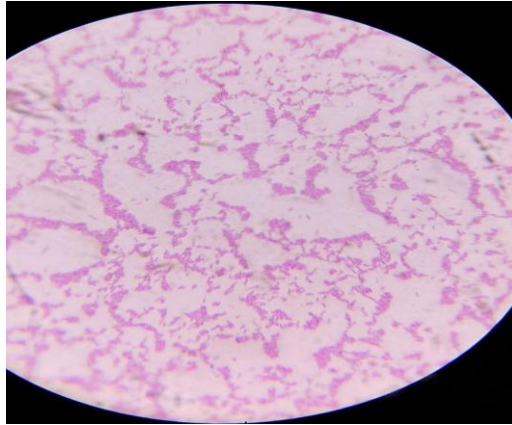


Figure 20: Aspect microscopique de *Vibrio cholériques* après la coloration de Gram

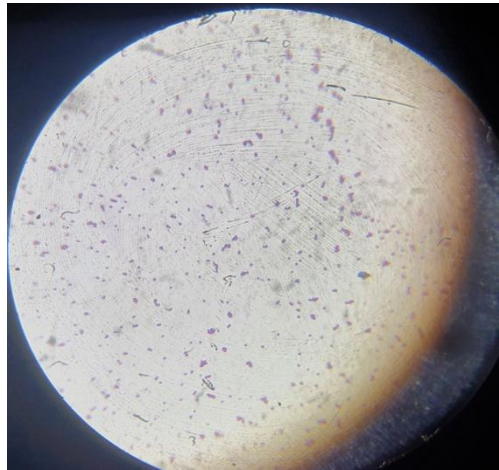


Figure 21: Aspect microscopique de *Streptocoque* après la coloration de Gram

Après la coloration de Gram, les observations microscopiques des différentes souches bactériennes révèlent des caractéristiques distinctes. *Vibrio cholerae* se présente sous forme de bacilles incurvés, classés Gram négatif, tandis que *Pseudomonas* apparaît comme des bacilles droits également Gram négatif. Les *Streptococcus*, arrangés en chaînes de cocci, sont Gram positif, tout comme les *Staphylococcus*, disposés en grappes irrégulières de cocci. Ces résultats microscopiques, combinés à d'autres tests, permettent une identification précise des espèces bactériennes et sont essentiels pour comprendre leur pathogénicité et leur comportement en laboratoire

II.7 Identification biochimique :

	Type respiratoire	Production de pyoverdine	Production de pyocyanine	Test de VP	Test de RM	Utilisation de citrate	Oxydas	Degradation de glucose	Production de H ₂ S et gaz	Fermentation de manitol	Mobilité	Croissance à 4 °C	Croissance à 42°C	Nitrate réductase	Amidon
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AS	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+

Tableau 10 : Caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats des tests biochimiques effectués pour l'identification des bactéries trouvées dans le (tableau 10) confirment que la souche présente des caractères assimilables à ceux du groupe *Pseudomonas aeruginosa*.

II.8 Résultats Test de biodégradabilité :

Les résultats du test de biodégradation DCPIP



Figure 22: Résultat de test de biodégradabilité de pétrole d'Arzew



Figure 23: Résultat de test de biodégradabilité de pétrole de Hassi Messaoud

Une variation de couleur dans le tube de *Pseudomonas* pour le pétrole d'Arzew, ainsi qu'une légère variation dans le tube de *Streptococcus* ont montré la biodégradabilité de nos souches étudiées. Pour les autres tubes, nous n'avons pas pu obtenir de résultats significatifs. Même pour les quatre autres bactéries présentes dans le pétrole de Hassi Messaoud. Les

résultats négatifs ont montrés que le pétrole de Hassi massaoud non biodégradable par nos souches étudiées.

II.8.1 Résultats de Test confirmatif :

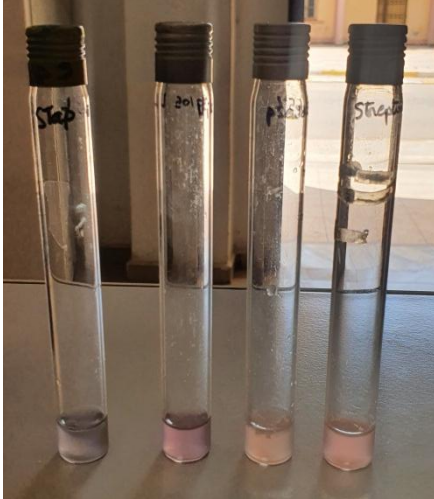


Figure 24: Résultat de test de confirmation de pétrole d'Arzew

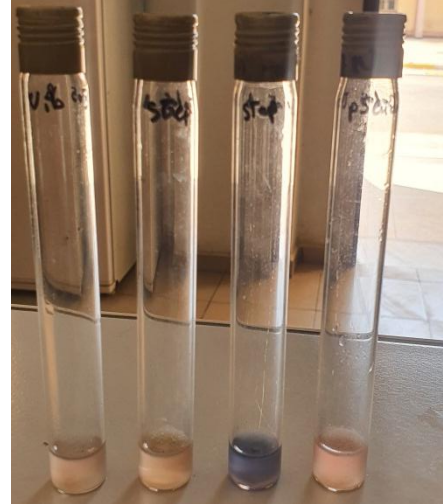


Figure 25: Résultat de test de confirmation de pétrole de Hassi Messaoud

Les résultats révèlent une transformation complète de la couleur pour toutes les bactéries dans les deux types de pétrole, à l'exception de la bactérie *staphylococcus*. Dans les deux types, il y a eu un léger changement de couleur vers la couleur claire.

L'enrichissement créé par le traitement permet de maintenir et d'augmenter le pool enzymatique des souches microbiennes alors que le pétrole brut entraîne lui, par sa présence unique, une chute des activités métaboliques (processus décrits par **Walker et al, 1975**). L'augmentation du pouvoir exoenzymatique des bactéries, dans les eaux polluées testées, confirme le caractère plus « tonique » de leur activité métabolique par rapport à celles des eaux polluées non testées. Ces potentialités enzymatiques sont aussi plus homogènes dans l'équipement des diverses souches testées.

II.9 Résultats Test des puis :



Figure 26: Résultat Test des puis pour *Staphylococcus* dans pétrole d'Arzew



Figure 27: Résultat Test des puis pour *vibrio cholérique* dans pétrole d'Arzew

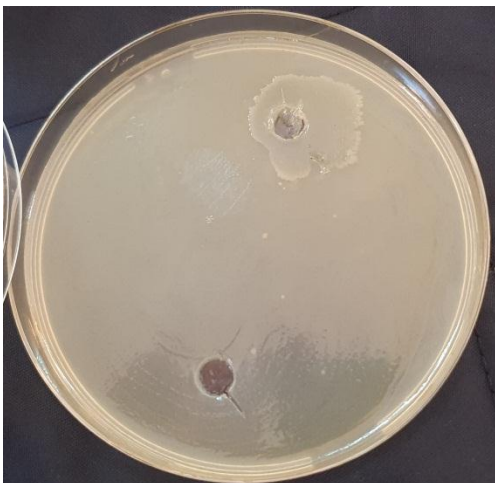


Figure 28: Résultat Test des puis pour *Streptococcus* dans pétrole d'Arzew



Figure 29: Résultat Test des puis pour *Pseudomonas* dans pétrole d'Arzew

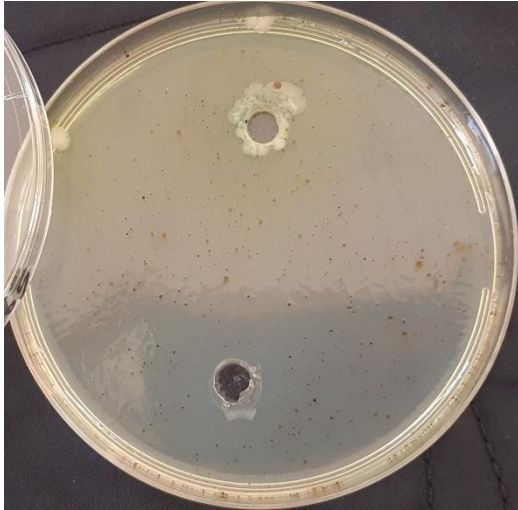


Figure 30: Résultat Test des puits pour *Pseudomonas* dans pétrole de Hassi Messaoud

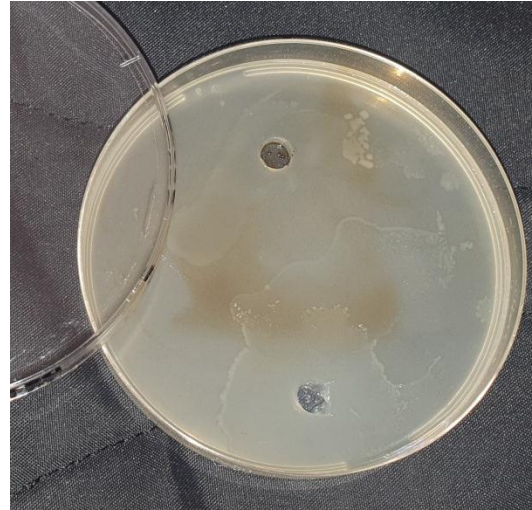


Figure 31: Résultat Test des puits pour *Staphylococcus* dans pétrole de Hassi Messaoud

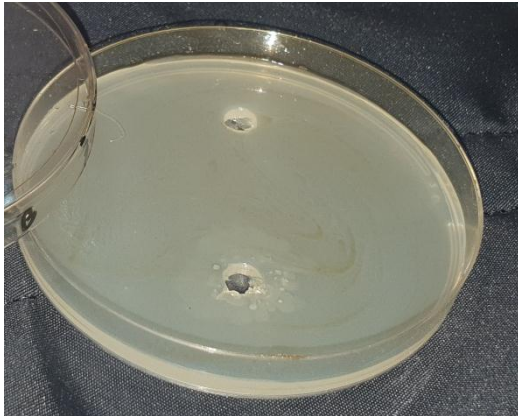


Figure 32: Résultat Test des puits pour *Streptocoque* dans pétrole de Hassi Messaoud

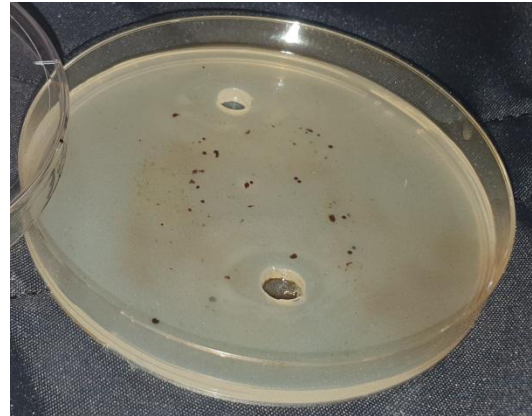


Figure 33: Résultat Test des puits pour *vibrion cholérique* dans pétrole de Hassi Messaoud

Après 72 heures, les résultats ont montrés que le pétrole de Hassi Messaoud et le pétrole d'Arzew sont positives dans le test des puits. Une croissance de nos bactéries autour des puits (*Streptocoque, vibrion cholérique, Staphylococcu, Pseudomona*) ce qui nous montrent que ces bactéries ont été principalement développées autour des puits et utilisés le pétrole dans le milieu comme source nutritif et une disparition de la couleur foncé du pétrole dans les boites de pétri autour des puits.

Conclusion

Conclusion :

Notre objectif consiste à évaluer la pollution du site étudié du port d'Arzew et de confirmer la présence du phénomène de la biodégradation du pétrole d'Arzew et pétrole de Hassi Massaoud par quelques microorganismes isolés dans le but de comprendre l'utilisation de ces bactéries pour lutter contre la pollution du milieu marin par les hydrocarbures. Nous avons choisi la zone d'Arzew comme modèle de la pollution aquatique et le pétrole est choisi à cause de sa large distribution et pollution en Algérie.

Dans la première partie de notre travail nous avons déterminés les paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux marines de port d'Arzew dont l'étude qualitative de la flore marine montre la présence des bactéries : les *Coliformes totaux*, les *Coliformes fécaux*, les *Streptocoques fécaux*, et *pseudomonas sp.*

L'augmentation de la densité microbienne trouvée dans un milieu naturel (eau de mer) dont la concentration de pétrole d'Arzew et pétrole de Hassi massaoud met en évidence de l'effet stimulateur des hydrocarbures sur la croissance microbienne.

Les changements dans la composition d'un mélange de contaminants d'hydrocarbures pétroliers sont collectivement appelés altération. La dégradation microbienne joue un rôle important dans le processus d'altération. La biodégradation du pétrole dans les écosystèmes naturels est complexe. L'évolution du mélange d'hydrocarbures dépend du type de pétrole, du type de communauté microbienne et de divers facteurs environnementaux qui influencent les activités microbiennes. L'attention se porte sur l'environnement marin, car les océans du monde sont les principaux et derniers récepteurs de polluants d'hydrocarbures.

La plupart des études antérieures sur la microbiologie des polluants pétroliers se sont concentrées sur le milieu marin, notre étude a élargi la recherche pour examiner le sort d'hydrocarbures pétroliers dans les écosystèmes de la côte de l'ouest algérien et l'impact de la pollution dans ces sites **Djelloul hammadi kheira 2015.**

De plus, plusieurs cas historiques pertinents au rôle de la dégradation microbienne dans la détermination du sort des contaminants pétroliers provenant de marées noires.

L'élimination de l'hydrocarbure déversé sur les côtes est longue et se fait de manière naturelle d'une part, et avec l'aide de l'homme d'autre part.

Plus la participation de l'activité humaine dans la côte de l'ouest d'Algérie comme le port d'Arzew wilaya d'Oran est importante et plus la disparition du pétrole se fera rapidement. Par contre, et il est très important de le signaler, l'élimination du polluant par l'homme doit se

faire de façon organisée et réfléchie pour ne pas causer encore plus de dommages aux écosystèmes côtiers.

Bibliographie

Akcha F., Burgeot T., Budzinski H., Pfohl-Leszkowicz A., Narbonne J., 2000a. Induction and elimination of bulky benzo[a]pyrene-related DNA adducts and 8-oxodGuo in mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed in vivo to B[a]P-contaminated feed. *Marine Ecology Progress Series* 205: 195-206.

Akcha F., Izuel C., Venier P., Budzinski H., Burgeot T., Narbonne J.F., 2000b. Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo[a]pyrene-contaminated mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology* 49: 269-287.

Aminot A et Kerouel R, 2004. *Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses.* Éd. Ifremer, p 44, p 336 .

Agence de l'Eau Seine-Normandie, 2008. *Substances Toxiques. Guide des substances toxiques*

Arkoosh M.R., Clemons E.R., Huffman P.A., Sanborn H.R., Casillas E., Stein J.E., 1996. Leukoproliferative response of splenic leukocytes from English sole (*Pleuronectes vetulus*) exposed to chemical contaminants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 1154-1162.

Bernard TISSOT, 2024, *Encyclopædia Universalis*, pétrole-le-pétrole-brut 38. Jean-Pierre Wauquier, 1994, *le raffinage de pétrole Produits pétroliers. Schémas de fabrication Editions TECHNIP.*

Buckley, M., coll., *Caractérisation de la distribution des micro-organismes dans un estuaire par rapport aux concentrations ambiantes d'hydrocarbures.*

Bouchet. P., Guignard L., Pouchus Y., Villard J., 2005. *Les champignons mycologie fondamentale et appliquée. 2eme édition.*

Bouchez M., Blanchet D., Heasler F., Vendecasteel J.P., 1996. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement : propriétés, origines, devenir. *Revue de l'institut français du pétrole* 51(3) :407-419

Chu W. S., Magee B. B. and Magee P.T.1993. Construction of an SfiI macro restriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol*, 175: 6637-6651

Claude E. ZoBell 1946. *Marine Microbiology: A Monograph on Hydrobacteriology*

CNR de la Mycologie et des Antifongiques 2003 Institut Pasteur/Centre National de Référence des Mycoses invasives et antifongiques (CNRMA)

Denning DW. 1998. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 26:781–803

Djelloul hammadi kheira Biodegradation of crude oil of hassi messaoud and the arabiiian oil by microorganisms isolated from fishing port of Mostaganem Algeria *International journal of Biological Sciences and Applications* feb 4, (2016)

Emeline Baudet. 2015. Micro-capteurs optiques fonctionnant dans l'infrarouge pour la détection de polluants émergents en eaux souterraines et marines. Matériaux. Université de Rennes.

Figarella J., Leyral G. et Terret M., 2007. Microbiologie générale et appliquée n° d'édition : 3328-r2 .paris cedex 05

Frédéric Élie.,2022 , Les hydrocarbures , ResearchGate.

Graser, Y., Volovsek, M., Arrington, J., Schonian, G., Presber, W., Mitchell, T. G. and Vilgalys, R. 1996. Molecular markers reveal that population structure of the human pathogen *Candida albicans* exhibits both clonality and recombination. Proc Natl AcadSci U S A. 93: 12473-12477

Haroun B .,2013 Evaluation des niveaux de pollution marine par les hydrocarbures et les métaux lourds dans l'eau de mer et du sédiment superficiels marins dans la baie d'Alger. Ecole Nationale Polytechnique algérien.

Houssem CHALGHMI. 2015. Etude de la pollution marine par les hydrocarbures et caractérisation de leurs effets biochimiques et moléculaires sur la palourde de *Ruditapes* sp. Géochimie. Université de Bordeaux; Université de Monastir.

Institut bruxélois de gestion et environnement 2005

Johnson L.L., Landahl J.T., Kubin L.A., Horness B.H., Myers M.S., Collier T.K., Stein J.E., 1998. Assessing the effects of anthropogenic stressors on Puget Sound flatfish populations . Journal of Sea Research 39: 125- 137.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGERIENNE N°26

J. Michel, N. Lemaire, L.M. Joly, 2021. Une bactériémie à *Vibrio cholerae* non cholérique, Heidelberg Vol. 11, N° 5.

Karine Lemarchand, Isabelle Desbiens, 2017 Rapport GENV32. Québec : gouvernement du québec, Institut des Sciences de la mer de Rimouski.

Katy jeannot. 2019 *Pseudomonas aeruginosa*, Société française de microbiologie.

Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W and Stalpers J.A. 2008. Ainsorth and bisby's Dictionary of the Fungi. (10th edn). CABI, Wallingford.

KORSAK N., CLINQUART A., DAUBE G., 2004 *Salmonella* spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique Ann. Méd. Vét., p : 174-193.

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

Léon Wenger ,1913 Le pétrole: production, transformations industrielles, commerce, université de paris.

Marie-Laure Le Mercier., 1998. Étude des bactéries d'origine entérique dans les sédiments marins, IFREMER Centre de Brest Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral.

Matías Miguel Salvarredy Aranguren .,2008 Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydro chimique. L'Université Paul Sabatier, Toulouse III.

M. GAFSI, A. KETTAB, S. BENMAMAR, S. BENZIADA , 2008 .Cas d'une pollution :L'eutrophisation dans les cours d'eau ; Université Ammar Telidji de Laghouat ; Laboratoire de recherches en Sciences de l'eau : LRS-EAU/ENP , 4 ème conférence internationale sur : les Ressources en Eau dans le Bassin Méditerranéen – WATMED4

M. MAKHOUKH , M. SBAA , A. BERRAHOU , M. VAN. CLOOSTER , 2011. Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (MAROC ORIENTAL), Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n° 09, pp. 149-169.

Michel P .,1972 Mesure de la demande chimique en oxygène dans l'eau de mer. Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes, 39(3), p : 361-365

Mouffok.F, 2001, Guide Technique d'analyses bactériologiques des eaux de la mer , Oceanis 11, 399-408.

OMS., 1977. Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles. Bureau régional de l'OMS pour l'Europe, Copenhague : 168p.

Pichard G. et Rolland B. ,2006. Les champignons, éléments essentiels dans l'écosystème forestier

Pierre C, Groupe scientifique sur l'eau. 2017, 2003,2002. Coliformes totaux. Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé publique du Québec.

Pfaller M.A. et Diekema D.J. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 20: 133-163

Rice C.A., Myers M. S., Willis M.L., French B.L., Casillas E., 2000. From sediment bioassay to fish biomarker connecting the dots using simple trophic relationships . Marine Environmental Research 50: 527-533.

Schmidt A., et M. H. Wolff. 1997. Morphological characteristics of *Aspergillus fumigatus* strains isolated from patient samples. Mycoses 40:347-51

Semal et al., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre P., Meulimans M., Seilleur P., Vendrevenen J et Viseur J ., 1993: traite de pathologie végétale .presse agronomique de gembloux belgique. Pp178, 181,185, 186,194

Sudip K Samanta, Om V Singh, Rakesh K Jain, 2002, polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation, VOLUME 20, ISSUE 6

VILLERS J, SQUILBIN M, YOURASSOWSKY C. Relecture **DUTRIEUX S, ONCLINX F, SQUILBIN M, THIRION A** ,2005 Qualité physico-chimique et chimique des eaux de surface ; Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement.

WALKER J.D., SEESMAN P.A., COLWELL R.R., 1975. Effect of South Louisiana crude oil and NO-2 fuel oil on growth of heterotrophic microorganisms including proteolytic, lipolytic, chitinolytic and cellulolytic bacteria. *Envir. Poll.* 9: 13-33)

ZoBell, C. E. 1969. Microbial modification of crude oil in the sea, p. 317-326. Proceedings of Joint Conference on Prevention and Control of Oil Spills. American Petroleum Institute, Washington, D.C.

Résumé

La mer a toujours été le lieu de pollution par les hydrocarbures, ce qui a un impact négatif sur l'équilibre naturel du milieu aquatique et peut poser de graves problèmes pour l'environnement. Notre recherche se concentre sur la biodégradation en tant que méthode naturelle pour éliminer ce polluant et en tant que moyen de lutter contre la pollution. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, de *vibrion cholérique*, de *staphylococcus* et de *Streptocoque*, isolées à partir de la station portuaire de Hyproc d'Arzew ; les résultats ont démontrés que ces bacteries ont la capacité de s'adapter et d'absorber une forte concentration d'hydrocarbures tels que le pétrole d'Arzew et le pétrole de Hassi Massaoud, ainsi que leur rôle dans la transformation et la dégradation du pétrole polluant.

Mots clé : Biodégradation, pétrole, *Pseudomonas aeruginosa*, *vibrion cholérique*, *staphylococcus sp*, *streptocoques sp*

Abstract:

The Sea has always been the site of pollution by hydrocarbons, which has a negative impact on the natural balance of the aquatic environment and can cause serious environmental problems.

Our research focuses on the study of biodegradation as a natural method to eliminate this pollutant and as a means to combat pollution.

The strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Choleric Vibrio*, *Staphylococcus sp* and *Streptococcus Sp* isolated from the Hyproc port station of Arzew , have demonstrated their abilities to adapt and absorb a high concentrations of hydrocarbons such as Arzew oil and Hassi Massaoud oil, as well as their role in oil processing and degradation of the pollutants.

Keywords: Biodegradation, oil, *Pseudomonas aeruginosa*, *choleric vibrio*, *staphylococcus*, *Streptococcus*.

ملخص:

يعتبر البحر مكانا للتلوث بالمواد النفطية، مما يؤثر سلباً على التوازن الطبيعي للبيئة البحرية وقد تنجر عن ذلك مشاكل خطيرة على البيئة. يهدف هذا البحث إلى التحلل البيولوجي كطريقة طبيعية للتخلص من هذا الملوث وكوسيلة لمكافحة التلوث البيئي البحري. وقد أظهرت الكائنات *Pseudomonas aeruginosa*، *Vibrion Choleric*، *Staphylococcus* و *Streptococcus*، التي تم عزلها من محطة ميناء Hyproc، قدرتها على التكيف وامتصاص الملوثات النفطية، مثل نפט أرزيو وحاسي مسعود، فضلاً عن دورها في تحويل النفط وتحليله.

الكلمات المفتاحية : التحلل البيولوجي ، النفط ، *staphylococcus*, *Pseudomonas*
aeroginosas, *vibrion* , *cholérique*, *streptococcus*,