

### **Chapitre 2 : Matériel et méthodes**

#### **Introduction**

Le suivi régulier de la qualité des eaux de baignade permet de connaître les impacts de divers rejets éventuels situés à l'amont du site et notamment de mettre en évidence les éventuels dysfonctionnements liés à l'assainissement des eaux usées, aux rejets des eaux pluviales souillées etc., qui influenceraient la qualité de l'eau du site de baignade.

L'évaluation de la qualité des eaux de baignade consiste en l'analyse de celles-ci au regard d'un certain nombre de paramètres physicochimiques et microbiologiques.

Le service épidémiologique de la médecine préventive (SEMEP) ainsi que la direction de l'environnement de la wilaya assurent le contrôle des eaux de baignade qui reste une préoccupation constante du ministère chargé de la santé et de la population. Ce ministère élabore la réglementation dans ce domaine sur la base de lois et de directives algériennes (Décret exécutif n°93-164, circulaire n° 445/MSP/DP/SDRSE juin 1998 établissant les valeurs guides et limites de qualité pour les eaux de baignade et donnant des indications générales sur les mesures à prendre pour en assurer la surveillance, loi 02-02 spécifique au littoral, la loi 03-10 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable).

La surveillance s'exerce notamment par la réalisation d'analyses régulières d'échantillons, d'eau de mer, prélevés au niveau des mêmes points dans chaque site.

La fréquence de prélèvements dépend de la saison. Avant la saison estivale, un prélèvement entre 10 et 20 jours avant l'ouverture de la saison, pendant la saison estivale (la saison balnéaire pour les baignades en mer est fixée du 15 mai au 15 septembre), au minimum deux prélèvements par mois espacés de quinze jours, et hors saison au moins un prélèvement par mois (Décret exécutif n°93-164).

Au cours de notre étude, nous avons effectué, lorsque cela était possible (conditions météorologiques), un prélèvement par mois au cours de la saison « chaude » (avril à septembre) pendant une durée de deux années consécutives.

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

Pendant le prélèvement, le préleveur doit noter l'état de la zone de baignade (appréciation visuelle ou olfactive) par rapport aux paramètres suivants : huiles minérales, substances tensioactives (mousses) et odeurs de phénols (respectivement, paramètres n° 8, 9, et 10 du décret exécutif n° 93-164). D'autres paramètres comme le pH (n° 13), la transparence (n° 11), les résidus goudronneux et matières flottantes (n° 12) sont mesurés in situ (voir annexe)

### 1. La zone d'échantillonnage :

Afin de déterminer la qualité des eaux de baignade dans le golfe de Skikda, nous avons procédé à l'analyse des eaux de dix sites.

#### 1.1. La commune de Skikda :

A l'Ouest de la ville, on trouve plusieurs plages, telles que dans, l'ordre Château-vert, Casino, Marquette, militaire 1 et 2, paradis plage, bikini, molo, miramar etc., proches les unes des autres et souvent délimitées par des rochers. Une route de trois kilomètres de plages qui se termine par le village Stora (figure 12).

Pour notre étude, nous nous concentrerons sur seulement quelques-unes (cinq), à savoir, château-vert, paradis, bikini, molo et une plage interdite à la baignade « la jetée » (tableau 4).

**Tableau 4 :** Situation de la zone d'étude et des points d'échantillonnage (Skikda Ouest).

Sites	Coordonnées géographiques
Plage « La jetée » (aussi appelée « les chevaux »)	36°53'15''N, 6°53'55''E
Plage « Château-vert »	36°53'16''N, 6°53'46''E
Plage « Paradis »	36°53'39''N, 6°53'01''E
Plage « Bikini »	36°53'53''N, 6°52'47''E
Plage « Molo »	36°54'16''N, 6°52'49''E



**Figure 12 :** La commune de Skikda, côté Ouest et localisation des sites étudiés (Google Earth, modifié 2018).

A l'Est de la ville, après la zone industrielle pétrochimique, soit environ à 6 Km du centre-ville, on trouve une autre immense plage d'une douzaine de kilomètre, c'est Larbi ben M'hidi, anciennement appelée Jeanne d'Arc (figure 13).

Sur cette plage de sable fin et clair on ne trouve pas de rocher jusqu'à sa limite sous les falaises de Oued Righa des Platanes, celle-ci est composée, elle aussi de plusieurs plages, poste 2, poste 3, poste 4 (militaire), et le poste 5 (Guigue) ; très fréquentées en été, pour la saison estivale 2016, nous avons dénombré plus de 742 000 estivants (Office de tourisme de la wilaya de Skikda, 2017) ; au cours de notre étude, nous nous intéresserons uniquement à certaines d'entre elles , trois (tableau 5).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

**Tableau 5 :** Situation de la zone d'étude et des points d'échantillonnage (Skikda Est).

Sites	Coordonnées géographiques
Poste 2	36°53'19''N, 6°59'15''E
Poste 3	36°53'23''N, 6°59'33''E
Poste 5	36°53'34''N, 7°00'21''E



**Figure 13 :** La commune de Skikda, côté Est et localisation des sites de prélèvements (Google Earth modifié, 2018).

### 1.2. La commune de Filfila :

Aussi dite « les platanes », se trouvant à environ 17 Km du centre-ville de Skikda, et à une douzaine de kilomètre de la cité ben M'Hidi (figure 14). Sa façade maritime est longue de 3 Km (Hadeff, 2008), on y trouve plusieurs plages (du poste 6 jusqu'au poste 11, regroupés en trois grandes plages : oued legsab, oued elgat et oued righa) ; très fréquentées en période estivale, on estime leur nombre à environ 1 190 325 estivants pour la saison 2016 (Office de tourisme de la wilaya de Skikda, 2017) ; mais nous en étudierons deux (tableau 6).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

**Tableau 6 :** Situation de la zone d'étude et des points d'échantillonnage (Filfila).

Sites	Coordonnées géographiques
Poste 6	36°53'51''N, 7°01'23''E
Poste 7	36°54'01''N, 7°01'49''E



**Figure 14 :** La commune de Filfila, et localisation des sites de prélèvements (Google Earth, modifié 2018).

Ces deux plages forment une grande plage dénommée « oued legsab », d'une superficie de 52 000 m<sup>2</sup>, ayant accueilli plus de 370 000 estivants en 2016 (Office de tourisme de la wilaya de Skikda, 2017)

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

### **2. Les analyses bactériologiques :**

Comme les autres éléments, l'eau contient de nombreux microorganismes autochtones ; qui jouent un rôle essentiel dans les différents cycles biogéochimiques des éléments constitutifs de la matière vivante (carbone, oxygène, azote, soufre), ou bien en transit, dit allochtones, rejetés par l'Homme, les animaux ou les végétaux, et qui sont apportés dans les milieux aquatiques qui ne constituent pas leur environnement naturel et habituel (Servais *et al.*, 1999 ; Bousseboua, 2002)

Les analyses microbiologiques de l'eau de mer n'ont pas pour but de recenser toutes les espèces présentes dans le milieu, mais uniquement celles qui sont soit susceptibles d'être pathogènes ; soit celles qui les accompagnent et qui par leur présence indiquent une contamination fécale, ce qui est beaucoup plus pratiqué car plus facile. (Rodier, 2009)

En effet, il est impossible de baser la surveillance de la qualité de l'eau sur la détection des germes pathogènes eux-mêmes pour de multiples raisons (tableau 7) :

- la très grande diversité des micro-organismes pathogènes qui peuvent être présents dans l'eau (virus, bactéries, protozoaires, tec.) (Prescott *et al.*, 2003)
- la faible abondance de chaque espèce de pathogène (nécessité de concentrer de grands volumes d'eau pour les détecter) (Servais *et al.*, 2009)
- et enfin, l'absence de méthodes standardisées et rapides pour la détection de tous ces micro-organismes pathogènes (Bousseboua, 2002).

L'évaluation de la qualité microbiologique des eaux de baignade, portent donc sur la recherche des germes indicateurs de pollution de l'eau, dont la présence dans l'eau correspond à une contamination d'origine fécale plus ou moins forte en fonction des concentrations relevées puisque ceux-ci sont normalement présents dans la flore intestinale des mammifères, et de l'homme en particulier. En effet, déjà Taylor (1939), avait constaté que chaque individu éliminait chaque jour plusieurs centaines de millions, voire milliards, de germes par grammes de matières fécales, dont 100 à 500 millions de coliformes (Voir tableau dans l'annexe 3) (Brisou, 1968).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

**Tableau 7 :** Principales caractéristiques d'un bon indicateur de contamination fécale (Prescott *et al.*, 2003 ; Garcia-Armisen, 2006)

Propriété	Caractéristique d'un indicateur
Pathogénicité	L'indicateur ne doit pas présenter de danger pour la santé des êtres humains.
Occurrence	La bactérie indicatrice doit être présente chaque fois que des agents pathogènes entériques sont présents.
	La concentration de l'indicateur doit refléter de façon directe le niveau de pollution fécale dans l'eau contaminée.
Survie	Elle doit survivre plus longtemps que le germe pathogène entérique le plus résistant.
Reproduction	Elle ne doit pas se multiplier dans l'eau contaminée et présenter ainsi une valeur exagérée.
Inactivation	Inactivé par les différents traitements de manière similaire aux pathogènes.
Source	La seule source est la contamination fécale.
Méthode d'analyse normalisée	La bactérie indicatrice doit pouvoir être utilisée pour les analyses de tous les types d'eau (fluviale, souterraine, estuarienne, marine, etc.).
Efficacité de la méthode de détection	La technique de détermination de l'indicateur doit être très spécifique (les autres bactéries ne devraient pas donner de résultats positifs), de plus, celle-ci doit avoir une grande sensibilité et détecter de faibles concentrations de l'indicateur.
Coût	La méthode de mesure doit être facile à mettre en œuvre, rapide et de faible coût.

Les résultats obtenus sont ensuite comparés aux valeurs guides et limites des critères microbiologiques (voir annexe 2), et permettent d'établir annuellement un classement de la qualité des eaux de baignade à l'issue de la saison estivale.

La qualité de l'eau étant appréciée selon les dispositions du code de la santé publique reprenant les critères de directives algériennes (Décret exécutif n°93-164). Elle est ainsi qualifiée comme étant :

- ❖ De bonne qualité lorsque les résultats sont inférieurs aux valeurs guides ;

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

- ❖ De qualité moyenne (ou acceptable) lorsque les résultats obtenus sont supérieurs aux valeurs guides mais inférieurs aux valeurs limites ;
- ❖ Et, elle est de mauvaise qualité lorsque les résultats sont supérieurs aux valeurs limites.

La qualité des analyses effectuées dépend du prélèvement, des conditions dans lequel il a lieu et du matériel utilisé.

En effet, un examen bactériologique n'a de valeur que :

- s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé, dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toute contamination accidentelle ;
- s'il est correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes.

### **2.1. Matériel et appareils de prélèvement :**

Des flacons, qui une fois fermés doivent protéger l'échantillon de toute contamination, en verre, de préférence borosilicaté, de 250 ml. Ceux-ci doivent être préalablement stérilisés.

Les flacons ainsi que leurs bouchons sont en effet stérilisés, soit à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes (stérilisation à la chaleur humide), soit au four Pasteur à 170 °C durant une heure (stérilisation à la chaleur sèche).

Ces flacons d'échantillonnage, ainsi stérilisés, ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement de l'échantillon. Une fois l'échantillon prélevé, ils doivent être fermés hermétiquement jusqu'au moment de l'analyse.

L'échantillon doit être clairement identifié à l'encre indélébile sur le récipient et sur le formulaire d'échantillonnage.

Il n'y a pas d'appareils particuliers pour le prélèvement, le flacon étant directement tenu par la main de la personne qui prélève (Rodier, 2009).

### **2.2. Enregistrement et étiquetage des échantillons :**

Comme indiqué précédemment, les échantillons doivent être clairement identifiés à l'encre indélébile sur le récipient et sur le formulaire d'échantillonnage. Sur ce formulaire, doivent être notés avec précision : la date, l'heure, les conditions météorologiques, l'état de la mer

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

(calme, peu agitée, agitée ou forte), etc., ainsi que, des observations relatives à l'eau (odeur, coloration, présence de mousse, d'algues, etc).

### **2.3. Mode de prélèvement :**

Les prélèvements sont réalisés aux points définis, chaque point étant considéré comme un site ou station, et qui doivent rester toujours identiques ; à deux mètres du rivage entre vingt et cinquante centimètres sous de la surface de l'eau (généralement 30 cm).

Le flacon ne doit pas être rempli entièrement. En effet, il convient de laisser un petit vide d'air, permettant de faciliter la remise en suspension des germes par une agitation vigoureuse avant d'effectuer l'ensemencement (Poggi, 1975, Rodier, 2009).

### **2.4. Transport et conservation des échantillons prélevés :**

Après le prélèvement, les échantillons d'eau doivent être protégés de l'exposition à la lumière, en particulier celle du soleil, à tous les stades du transport ; afin de prévenir toute modification de la composition chimique ou bactérienne de l'eau de mer, ils sont transportés dans une glacière où la température est maintenue constante entre 4-6°C, et les analyses sont effectuées le plus rapidement possible, dans un délai maximal de huit heures après le prélèvement (Rodier, 2009)

Donc, entre le prélèvement et le début de l'analyse (l'ensemencement), il ne doit pas s'écouler plus de vingt-quatre heures (Rodier, 2009).

### **2.5. Les germes recherchés :**

En matière d'hygiène, les analyses microbiologiques n'ont pas pour premier but de déterminer les microorganismes pathogènes mais ceux ayant le rôle d'indicateur, sans que leur présence ne représente un risque pour la santé publique. Parmi ces germes indicateurs, on en distingue deux principaux types :

- Ceux indiquant une contamination fécale, renseignent sur une contamination par des matières fécales pouvant véhiculer éventuellement des bactéries pathogènes,

- Ceux indiquant l'efficacité des traitements de désinfection de l'eau par rapport aux microorganismes pathogènes.

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

Cependant, en pratique, les mêmes germes sont utilisés que ce soit pour déterminer une contamination fécale ou bien pour évaluer l'efficacité d'un traitement (Rodier, 2009)

Ainsi, les germes recherchés sont les coliformes totaux (CT), les coliformes thermotolérants (CTT) notamment *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux (SF ou entérocoques intestinaux EI).

Ces germes microbiens ne représentent pas un réel danger pour les baigneurs, mais ils constituent à la fois un indicateur du niveau de pollution par des eaux usées et peuvent indiquer la présence de germes pathogènes. Plus le nombre de ces germes est important, plus le risque sanitaire augmente.

### 2.5.1. Les coliformes :

Ce terme englobe plusieurs espèces de bactéries appartenant à la famille Enterobacteriaceae, qui selon la définition de l'organisation internationale de standardisation (ISO), regroupe les bactéries gram négatif, aérobie anaérobie facultative, en bâtonnets, non sporogènes, oxydase négative, se développant en présence de sels biliaires, et ayant la capacité de fermenter le lactose avec libération d'acides, d'aldéhydes et avec production de gaz en quarante-huit heures à 37°C.

Cette réaction n'étant pas spécifique, les coliformes constituent un groupe assez hétéroclite du point de vue taxonomique, notamment les genres *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, etc (Prescott *et al*, 2003 ; Meyer *et al*, 2004 ; Rodier, 2009).

Du point de vue pratique, il existe trois types d'examens colimétriques :

- ⇒ La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes (dit coliformes totaux, CT) sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine (fécale : flore intestinale de l'Homme et des animaux ; tellurique : sol, végétation ; ou eaux des égouts). Ce type d'examen, capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement antiseptique, présente peu d'intérêt pour mettre en évidence une contamination fécale du fait de son manque de spécificité.
- ⇒ La recherche et le dénombrement des coliformes thermotolérants (CTT), ayant les mêmes caractéristiques que les précédents mais décelables après une incubation à 44°C. La très grande majorité des coliformes thermotolérants est constituée par *Escherichia coli*, mais on y trouve aussi les espèces : *Citrobacter diversus*, *C.freundii*,

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

*Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, etc. Il est pratiqué car il permet de mettre en évidence une contamination fécale quasi certaine.

⇒ La recherche et le dénombrement des *Escherichia coli*, coliformes thermo-tolérants produisant l'indole à 44°C, à partir du tryptophane. L'intérêt de cet examen étant le fait que parmi les coliformes thermo-tolérants, *Escherichia coli* est l'espèce la plus représentée dans la flore intestinale de l'Homme et des animaux.

Cependant, du fait de l'absence réelle de différence entre les informations fournies par le dénombrement des coliformes thermotolérants et celui des *Escherichia coli*, en pratique, on combine les deux examens (Rodier, 2009).

### 2.5.2. Les streptocoques fécaux ou entérocoques :

Ce terme regroupe les bactéries Gram positif, sphériques ou ovoïdes, formant des chainettes, non sporulées, catalase négative, c'est-à-dire tous les streptocoques possédant l'acide teichoïque (ou l'antigène D), caractéristique du groupe D de Lancefield, soit : *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *Streptococcus bovis*, *S. suis*, et *S. equinus*. Ceux-ci, sont utilisés comme indicateurs de pollution d'origine fécale (Rodier, 2009)

L'apport des entérocoques par rapport aux coliformes consiste en leur plus grande résistance dans les eaux naturelles, leur présence serait donc le signe d'une contamination fécale de l'eau plus ancienne.

De plus, leur résistance aux agents désinfectants est également plus importante, probablement du fait de leur mode de groupement en chainettes, et est comparable à celle des entérovirus. Cette propriété pourrait permettre aux entérocoques de mieux représenter la contamination virale d'une eau.

Cependant, une partie des espèces est peu spécifique des contaminations fécales. On les retrouve par exemple, dans l'environnement, sur les végétaux ou sur des sols non contaminés, c'est le cas de :

- *Streptococcus faecium* sous espèce *casseliflavus*, qui est plus fréquent chez les plantes et les insectes que dans les matières fécales, et est capable de se multiplier sur les plantes (Oger *et al.*, 1983).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

- *Streptococcus faecalis* sous espèce *liquefaciens* dont l'origine est aussi indéterminée, en trouve dans le sol et chez les insectes (Oger *et al.*, 1983).

Il existe deux principaux types de dénombrement en bactériologie :

- l'un en milieu solide, méthode dite directe par comptage de colonies isolées après ensemencement, soit direct soit après filtration d'un certain volume sur une membrane, sur ou dans un support nutritif solide,

- et l'autre en milieu liquide, méthode dite indirecte, par calcul statistique après répartition de l'inoculum dans un milieu de culture liquide (la fermentation en tubes multiples).

Au cours de notre étude, nous avons utilisé la deuxième méthode. On trouve, là aussi, plusieurs méthodes (milieux de culture et temps d'incubation différents), mais le principe général reste le même.

### 2.6. Matériels utilisés au laboratoire :

- pipettes graduées et pipettes pasteurs ;

- tubes de culture contenant les milieux de culture prêts à l'emploi :

❖ BCPL, simple et double concentration, munis de cloche de Durham, pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux, tube contenant 10 ml de réactif,

❖ Schubert, munis de cloche de Durham, pour la recherche et le dénombrement des coliformes thermotolérants, tube contenant 10 ml de réactif,

❖ Rothe, simple et double concentration pour le test de présomption de la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux, tube contenant 10 ml de réactif,

❖ Eva Litsky, pour le test de confirmation de la présence et le dénombrement des streptocoques fécaux, tube contenant 5 ml de réactif.

- Réactif de Kovacs, pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli*,

- portoirs pour les tubes,

- marqueur pour identifier les échantillons,

- tubes d'eau physiologique stérile, pour réaliser les dilutions,

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

- bec bunsen,
- étuves, pour les incubations,
- tables de Mac Crady, permettant de déterminer le NPP.

### **2.7. Méthode générale utilisée pour les dénombrements en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP) :**

L'analyse bactériologique ne doit pas seulement être une analyse qualitative mais aussi quantitative, c'est le cas de la plupart des examens pratiqués. C'est notamment le cas de cette méthode (NPP).

Celle-ci permet d'évaluer statistiquement le nombre de micro-organismes supposés présents dans un milieu, en l'occurrence l'eau de mer, en utilisant la loi de probabilité de Poisson.

La croissance des bactéries a lieu dans un milieu liquide qui en cas de résultats positifs, devient trouble ou change de couleur, c'est donc une réaction qualitative.

Elle est aussi quantitative puisqu'en fonction du nombre de tubes positifs, on peut déterminer statistiquement le nombre le plus probable (NPP) de microorganismes, mais non énumérative. En effet, elle nous permet de déterminer la présence ou l'absence de bactéries et non de faire une liste des différentes espèces de bactéries présentes (Meyer *et al.*, 2004 ; Rodier, 2009)

#### **Mode opératoire :**

Il peut être résumé pour chacun des tests réalisés comme ceci (annexe 5).

#### **Ensemencement des milieux présomptifs :**

- ❖ Ensemencer douze tubes contenant le milieu de culture liquide.
- ❖ Après avoir fini l'ensemencement, mettre les tubes dans l'étuve pour incubation à la température et pendant la durée imposée par les textes en vigueur.
- ❖ Noter le nombre de tubes inoculés qui sont positifs, donc présentant une culture visible qui indique la présence d'au moins un micro-organisme (dégagement de gaz, dépôt, etc.) et procéder au test de confirmation par repiquage de ceux-ci pour conclure à la présence réelle de micro-organismes.

#### **Ensemencement des milieux confirmatifs :**

- ❖ A partir de chaque tube de milieu présomptif ayant donné un résultat positif, ensemencer

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

avec une pipette pasteur les milieux confirmatifs.

❖ Faire incuber selon les germes recherchés et considérer comme positifs les tubes présentant un trouble visible et les caractéristiques des microorganismes recherchés.

❖ Se reporter aux tables qui indiquent, en fonction du nombre de tubes positifs pour chaque dilution (nombre caractéristique, NC), la valeur statistique la plus probable donc le nombre le plus probable (NPP) de micro-organisme. (Ainsi, en prenant l'exemple suivant 3/3, 1/3, 0/3 et 0/3 tubes positifs après repiquage, le NC est : 3, 1, 0 ; donc le NPP : 43 micro-organismes/100ml).

### Remarque :

- Chaque test comporte deux étapes successives : un test présomptif et un test de confirmation ; le dénombrement des coliformes totaux comporte bien deux étapes mais chacune d'elles nous indique une information : le test de présomption nous informe sur le nombre de coliformes totaux et le test de confirmation sur le nombre de coliformes thermotolérants et *Escherichia coli* en particulier.

- Il faut noter que l'absence de culture correspond à l'absence de micro-organisme, et que plus d'un micro-organisme peut être responsable d'une culture positive (Rodier, 2009).

- De même, dans le cas d'analyses d'eaux très polluées ou celles dont la qualité bactériologique est inconnue, le nombre de dilution est augmentée (Rodier, 2009).

- La lecture des résultats se faisant sur trois séries successives d'ensemencement, la série de base retenue est, parmi les séries où les trois tubes sont positifs, celle qui correspond à la plus petite quantité d'ensemencement ; les deux autres séries sont successives à cette première série, et leurs tubes ne sont pas tous positifs. C'est pour cela que dans l'exemple précédemment cité où le nombre de tubes positifs était 3/3, 1/3, 0/3 et 0/3 nous avons pour NC 3, 1, 0 (Rodier, 2009).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

### 3. Les analyses physicochimiques :

#### 3.1. Matériel et mode de prélèvement :

Le matériel de prélèvement est le même que celui des analyses microbiologiques, à la différence que les flacons ne sont pas obligatoirement en verre, ils peuvent être en plastique. Cependant, pour notre étude nous avons utilisé des flacons en verre borosilicatés, dont le volume est d'un litre.

Le mode de prélèvement est également identique à celui cité précédemment pour les analyses microbiologiques, la seule différence est que les flacons doivent être rincés deux ou trois fois avec l'eau à analyser avant d'effectuer le prélèvement (Rodier, 2009).

#### 3.2. Transport, conservation et enregistrements des échantillons prélevés :

Ils ne diffèrent pas de ceux cités précédemment dans la partie « analyses microbiologiques ».

Après le prélèvement, les échantillons d'eau doivent être protégés de l'exposition à la lumière, en particulier celle du soleil, à tous les stades du transport ; afin de prévenir toute modification de la composition chimique de l'eau de mer, ils sont transportés dans une glacière où la température doit être inférieure à 6°C (entre 4-6°C), et les analyses sont effectuées le plus rapidement possible (Rodier, 2009).

#### 3.3. Matériel et méthodes utilisés :

Il s'agit essentiellement d'appareils électroniques ainsi que leurs sondes : pH-mètre, conductimètre (tableau 8). Les différents paramètres sont mesurés in situ.

**Tableau 8 :** Paramètres physico-chimiques mesurés :

Paramètres	Méthodes de mesure	Valeurs guides
pH	pH-mètre de marque WTW série pH 197-S	6,5-8
Salinité	Conductimètre de marque WTW série LF 197-S	36-37
Température (T°C)	Multi-paramètre après immersion d'environ 10 minutes	/
Conductivité électrique (mS/cm)	Conductimètre de marque WTW série LF 197-S	54-55 mS/cm

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

Minéralisation globale ou total de sels dissous (TDS, mg/l)	Conductimètre de marque WTW série LF 197-S	« OFL »
Les paramètres organoleptiques : coloration, huiles minérales, substances tensio-actives, phénols, transparence, résidus goudronneux et matières flottantes (bois, plastique, bouteille et toute autre matière et débris ou éclats)	Observés à l'œil nu	Absence

### 4. Les méthodes d'analyse statistique :

Toute étude comporte tout d'abord la collecte des données, puis l'analyse statistique et l'interprétation de celles-ci.

L'analyse statistique regroupe l'analyse descriptive (ou déductive) permettant de présenter les données observées sous forme de tableaux ou de graphiques facilitant ainsi leur lecture et compréhension, et l'analyse inductive. Cette analyse a pour but de généraliser les conclusions obtenues à partir des tests statistiques en tenant compte des risques d'erreur mesurés à l'aide des théories de probabilités.

#### 4.1. Méthodes statistiques univariées :

##### 4.1.1. Description des données :

Elle comprend les paramètres de base, à savoir :

- l'effectif (n), correspondant au nombre total de données traitées par saison d'étude ;
- la moyenne arithmétique ( $\bar{x}$ ) pour chaque saison d'étude, paramètre de position et de tendance centrale ;
- l'écart-type (s) pour chaque saison d'étude, indiquant la dispersion des données autour de la moyenne ;
- les valeurs minimales ( $x_{\min}$ ) et maximales ( $x_{\max}$ ) pour chaque saison d'étude, qui renseignent sur l'étendue des données (Dagnélie, 2006).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

---

### 4.1.2. Détermination des percentiles 90 et 95 :

La directive européenne 2006/7/CE signée par l'Algérie, concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE, préconise de calculer les percentiles 90 et 95 afin d'établir des profils des eaux de baignades permettant de les classer en quatre catégories « insuffisante, suffisante, bonne ou excellente » qualité.

Les 90<sup>e</sup> et 95<sup>e</sup> percentiles pour les variables *E.coli* et streptocoques fécaux permettent d'évaluer la distribution des données, par exemple le 95<sup>e</sup> percentile correspond aux 95% des valeurs les plus faibles par rapport aux 5% les plus élevées (AFSSET, 2007).

Catégories Paramètres	A (excellente qualité)	B (bonne qualité)	C (qualité suffisante)	D (qualité insuffisante)
Entérocoques intestinaux	100 (*)	100-200 (*)	200 (**)	> 200 (**)
E.coli	250 (*)	250-500 (*)	500 (**)	> 500 (**)

(\*) Evaluation au 95<sup>e</sup> percentile.

(\*\*) Evaluation au 90<sup>e</sup> percentile.

#### Calcul du percentile :

- prendre la valeur log<sub>10</sub> de tous les dénombrements bactériens de la séquence de données à évaluer (si une valeur égale à zéro est obtenue, prendre la valeur log<sub>10</sub> du seuil minimal de détection de la méthode analytique utilisée),

- calculer la moyenne arithmétique des valeurs log<sub>10</sub> ( $\mu$ ),

- calculer l'écart-type des valeurs log<sub>10</sub> ( $\sigma$ ),

- la valeur au 90<sup>e</sup> percentile de la densité de probabilité des données est tirée de l'équation suivante :  $\text{antilog}_{10}(\mu + 1, 282 \sigma)$ ,

- la valeur au 95<sup>e</sup> percentile de la densité de probabilité des données est tirée de l'équation suivante :  $\text{antilog}_{10}(\mu + 1, 65 \sigma)$  (AFSSET, 2007).

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

### **4.1.3. Comparaison des caractéristiques moyennes entre les stations : test de l'analyse de la variance (ANOVA) :**

Afin de comparer les moyennes des différents paramètres physico-chimiques mesurés entre les dix sites, nous avons utilisé le test de l'analyse de la variance à un critère de classification, modèle fixe.

Ce test permet, en effet, de comparer ; pour des échantillons simples, aléatoires et indépendants ; les moyennes de plusieurs populations en utilisant la table de Fisher pour les niveaux de signification  $\alpha = 0,05$  ;  $\alpha = 0,01$  ou  $\alpha = 0,001$  et pour  $k_1$  et  $k_2$  degrés de liberté.

Selon que cette hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée au niveau  $\alpha = 0,05$  ;  $0,01$  ou  $0,001$ , on dit conventionnellement que l'écart observé entre les moyennes est significatif, hautement significatif ou très hautement significatif. On marque généralement ces écarts d'un, deux ou trois astérisques.

### **4.1.4. Test de Tukey :**

A la suite d'un test d'analyse de la variance pour des facteurs fixes, lorsqu'on rejette l'hypothèse d'égalité de plusieurs moyennes, il faut rechercher et localiser les inégalités, c'est-à-dire, de déterminer quels sont les groupes de stations homogènes, pour telle ou telle caractéristiques mesurée.

De nombreuses solutions ont été proposées pour répondre ou tenter de répondre à cette question (Dagnélie, 2006).

Ces solutions sont groupées sous l'appellation générale de méthodes de comparaisons particulières et multiples de moyennes. Le choix entre les différentes approches est très largement fonction de la nature quantitative ou qualitative, des facteurs considérés, et de l'objectif qui a été fixé, ou qui aurait dû être fixé, au moment où la collecte des données a été décidée. Parmi ces méthodes, on trouve le test de Tukey (Dagnélie, 2006).

### **4.2. Méthode statistique bivariée :**

Celle-ci permet de calculer le coefficient de corrélation linéaire de Bravais-Pearson entre les variables prises deux à deux. Ce coefficient, compris entre -1 et +1, donne des indices sur l'évolution simultanée des variables en question. S'il est positif, les deux variables augmentent ou diminuent alors en même temps ; s'il est négatif, celles-ci évoluent en sens

## *Chapitre 2 : Matériel et Méthodes*

---

inverse : quand une variable augmente, l'autre diminue et vice versa ; et enfin, s'il est nul, la corrélation est nulle.

Les coefficients de corrélation ont été calculés pour les 8 variables mesurées pour l'ensemble des 10 stations durant les 2 saisons d'études, soit sur la matrice de données de dimensions  $n \times p$  (avec  $n = 10$  stations et  $p = 8$  vecteurs moyennes des variables), à l'aide du logiciel Minitab qui donne la valeur du coefficient de corrélation ainsi que la probabilité  $p$  correspondante afin de tester la signification de la corrélation en question (Dagnélie, 2006).

### **4.3. Méthode statistique multivariée : recherche de groupes de stations homogènes, analyse hiérarchique :**

La détermination du degré de similitude (ou de divergence) entre les stations grâce à cette méthode, nous permet une répartition des stations en groupes homogènes.

Celle-ci est appliquée sur la matrice de données de dimensions  $10 \times 8$ , avec  $n = 10$  vecteurs lignes (stations) et  $p = 8$  vecteurs moyennes colonnes représentant les 8 variables mesurées au niveau des 10 stations durant la période d'étude (Dagnélie, 2006).