



**Université Sidi Mohamed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques de Fès**



**Projet de Fin d'Etudes**

**Licence Sciences & Techniques**  
**«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»**

**Étude de la Qualité Microbiologique des Mollusques  
Bivalves de la zone côtière Al Hoceima-Cala Iris du  
Littoral Méditerranéen Oriental du Maroc.**

**Présentée par :**

**Karima BOUGARROUA**

**Encadrée par :**

**Pr. Samira SEFRIOUI (FST)**

**Dr. Mostafa LAYACHI (INRH)**

**Soutenu le 12/06/2019 devant le jury composé de :**

**Pr. Samira SEFRIOUI**

**Pr. Samir ANANOU**

**Année Universitaire : 2018 - 2019**

# *Dédicaces*

*A mes Parents ;*

*Pour leur soutien dévoué et leur sacrifices illimités.*

*A ma Sœur et mes Frères ;*

*Pour leurs encouragements qui me donnent toujours la force  
de continuer à rêver et à réaliser mes rêves.*

*A mon oncle Ali KAOUCI ;*

*Pour son grand aide et son sincère soutien. Merci d'être  
toujours à mes côtés.*

*A la mémoire de mon Grand-père ;*

*Un Homme de foi, de dignité et d'humanité profonde, qui  
m'a appris et m'a donné le grand amour.*

*A ma Famille et mes Amies.*

*Que ce travail vous témoigne de sincère affection.*

# Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la Licence « BioProcédés, Hygiène et Sécurité Alimentaire ».

Au terme de ce travail, je tiens à remercier :

Mr. M. Jaali, Doyen de Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Mr. N. Elouamari, Chef du Centre Régional de l'Institut National de Recherche Halieutique de Nador.

Pr. L. Aarab, Chef filière « Bioprocédés, Hygiène et Sécurité Alimentaire »

Je tiens à remercier et à témoigner toute ma reconnaissance à mon encadrante Samira Sefrioui; Professeur de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour l'orientation, l'aide et les précieux conseils qui ont constitué un apport considérable sans lesquels ce travail n'aurait pas pu être mené à bien.

J'adresse mes vifs remerciements et mes profondes reconnaissances à mon co-encadrement Dr. Mostafa Layachi ; Chef du Laboratoire de Surveillance et Suivi du Milieu Marin de l'INRH de Nador, pour m'avoir intégré rapidement au sein du LSSMM, pour m'avoir accordé toute sa confiance et pour le temps qu'il m'a consacré malgré ses exigences professionnelles.

J'exprime également ma gratitude à l'égard de l'ensemble du personnel du Centre Régional de l'INRH de Nador, particulièrement, M. Yahya Azzaoui, M. Lahsen Chafiq et M. Faid El Madani pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'ils m'ont fait vivre durant toute cette période. Qu'ils trouvent dans ce travail un hommage vivant à leurs hautes personnalités.

Mes remerciements s'étendent aussi au Professeur Samir Ananou d'avoir accepté de juger ce travail.

Enfin, j'exprime toute ma reconnaissance à mes chers professeurs et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## ▪ Listes de figures

<b>Figure 1</b> : Structures de recherche centrale de l'INRH.....	03
<b>Figure 2</b> : Structures de recherche régionales de l'INRH.....	03
<b>Figure 3</b> : Centre Régional de l'Institut de Recherche National de Nador.....	04
<b>Figure 4</b> : Organigramme de Centre Régional de l'INRH de Nador.....	04
<b>Figure 5</b> : La composition de la faune marine au Maroc.....	06
<b>Figure 6</b> : Principales régions aquacoles au Maroc d'après l'ANDA.....	08
<b>Figure 7</b> : Evolution de la production aquacole par espèce en volume durant la période 2006-2014.....	08
<b>Figure 8</b> : l'espèce <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	10
<b>Figure 9</b> : Anatomie interne de l'espèce <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	10
<b>Figure 10</b> : Mode de vie des moules.....	11
<b>Figure 11</b> : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique a G X 1000.....	13
<b>Figure 12</b> : TIAC liées à des coquillages entre 1998-2009 : agents responsables ou suspectés.....	14
<b>Figure 13</b> : la situation géographique de la région d'Al Hoceima.....	16
<b>Figure 14</b> : la zone conchylicole Cala Iris.....	16
<b>Figure 15</b> : lavage et égouttage des échantillons.....	17
<b>Figure 16</b> : Décorticage et broyage des échantillons.....	18
<b>Figure 17</b> : Ensemencement de 3 séries du Bouillon au glutamate.....	19
<b>Figure 18</b> : incubation des tubesensemencés dans l'étuve 37°C ±1 pendant 24 ±2h.....	19
<b>Figure 19</b> : Ensemencement en surface de gélose TBX à partir d'un tube positif.....	20
<b>Figure 20</b> : Incubation des boîtesensemencées dans l'étuve 44°C ±1 pendant 24 ±2h.....	20
<b>Figure 21</b> : Colonies d' <i>Escherichia Coli</i> β-Glucuronidase sur Gélose TBX après 24h d'incubation.....	20

▪ **Listes des tableaux**

**Tableau 1** : La production halieutique nationale entre les années 2005 et 2010 d'après le Centre du Commerce International.....06

**Tableau 2** : Evaluation du niveau moyen de contamination chimique des zones de production des mollusques bivalves selon la circulaire n°1508/12 du 15 aout 2012.....15

**Tableau 3** : Estimation de la qualité microbiologique des zones de production des mollusques bivalves en fonction des seuils de contamination selon la circulaire n°1508/12 du 15 aout 2012.....15

**Tableau 4** : les Résultats du suivi microbiologique de *Mytilus galloprovincialis* dans la zone Cala Iris de la région d'Al Hoceima pour le mois Mai/2019.....21

▪ **Listes des abréviations :**

**INRH** : Institut National de Recherche Halieutique.

**IPM** : Institut des Pêches Maritimes.

**ISPM** : Institut Scientifiques des Pêches Maritimes.

**PNUD** : Programme des Nations Unies pour le Développement.

**ONP** : Office National des Pêches.

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.

**ZEE** : Zone Economique Exclusive.

**LSSMM** : Laboratoire de Surveillance et de Suivi du Milieu Marin.

**LSP** : Lipophilic Shellfish Poisoning.

**PSP** : Paralytic Shellfish Poisoning.

**ASP** : Amnesic Shellfish Poisoning.

**CPG**: Chromatographie en Phase Gazeuse.

**ANDA** : Agence Nationale pour le Développement de l'Aquaculture.

**MAROST** :Sté Marocaine d'Ostréiculture et de Pisciculture.

**SAM** : Société Aquacole de Moulouya.

**CT** : Coliformes Totaux.

**CF** : Coliformes Fécaux.

**TIAC** : Toxi-Infections Alimentaires Collectives.

**ISO** : International Organization for standardization

**CLI** : Chair et liquide inter valvaire.

**TS** : Tryptone-Sel.

**SM** : Suspension mère.

**TBX** : Tryptone Bile X-Glucuronidase.

**UFC** : Unité Formatrice de Colonies

▪ **Sommaire :**

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>01</b>
<b>PRESENTATION Du LIEU DE STAGE.....</b>	<b>02</b>
I.    Historique.....	02
II.   Missions de l'INRH .....	03
III.  Structures de recherche centrales.....	03
IV.  Structures de recherche régionales.....	03
V.    Le centre régional de l'INRH au Nador.....	04
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>06</b>
I.    Portrait du secteur maritime et halieutique au Maroc.....	06
II.   Le secteur aquacole au Maroc.....	07
III.  Les mollusques bivalves.....	09
IV.  Processus de contamination des mollusques bivalves.....	11
V.    Evaluation de la qualité microbiologique par des bactéries indicatrices de contamination fécale.....	12
VI.  Toxi-infections alimentaires collectives.....	13
VII.  Contrôle sanitaire des mollusques bivalves.....	14
<b>MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>16</b>
I.    Présentation de site d'étude.....	16
II.   Examen bactériologique des mollusques bivalves.....	17
III.  Préparation des échantillons.....	17
IV.  Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> $\beta$ -Glucuronidase positive.....	18
<b>RESULTAT ET DISSCUSSION.....</b>	<b>21</b>
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>23</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>24-25</b>
<b>ANNEXES</b>	

# Introduction

La situation géographique privilégié du Maroc entre l'Europe et l'Afrique, et entre la Méditerranée et l'Atlantique, ainsi que son histoire paléontologique (mélange et brassage entre la faune éthiopienne et européenne) ont en fait une région singulière, à plus d'un titre, et plus particulièrement sur le plan biodiversité (<http://ma.chm-cbd.net/biodiversity>).

Le statut de la biodiversité biologique dans le milieu marin est le produit de milliards d'années d'évolution. Les ressources maritimes et halieutiques marocaines représentent un patrimoine d'une importance vitale tant pour l'économie du Maroc que pour la vie sociale et culturelle de sa population.

Le secteur marocain de la pêche et l'aquaculture connaît actuellement un véritable développement, d'autant plus que l'économie bleue est un plan d'avenir pour le Maroc. Au cours du premier semestre de l'année 2016, les produits commercialisés de la pêche côtière et artisanale par port au Maroc, ont atteint 660704 tonnes (Office Nationale des pêches, 2016).

Comme la consommation de poissons est une des habitudes alimentaires marocaines et que les produits de pêche sont responsables de 22% des toxi-infections alimentaires collectives (Belomaria et coll. 2010) ; un contrôle sanitaire des produits de mer est nécessaire, d'autant plus que ces dernières sont susceptibles d'être contaminées soit au niveau de la mer elle-même, soit au niveau du stockage ou de la transformation.

Parmi les produits de mer les plus consommés et commercialisés au Maroc et en particulier au littoral Méditerranéen, on trouve les mollusques bivalves (les moules, les petites praires, les huîtres, les haricots de mer...). Ces organismes présentent un potentiel toxique dangereux surtout que ces aliments sont souvent consommés crus. Ils sont exploités dans les analyses sanitaires grâce à leur capacité d'accumuler des substances toxiques et des microorganismes en filtrant l'eau de mer ; il s'agit de bio-indicateurs de contamination.

Dans ce travail, on vise à déterminer le niveau de contamination des mollusques bivalves de la zone côtière d'AL Hoceima-Cala Iris du littoral Méditerranéen Maroc-EST, en étudiant leur qualité microbiologique par la méthodologie de surveillance sanitaire des zones conchylicoles.

# Présentation du lieu de stage

L'Institut National de Recherche Halieutique (INRH) est un établissement public marocain chargé de la recherche scientifique et technique dans les domaines halieutique, marin et de pêche ([www.inrh.ma](http://www.inrh.ma)).

## I. Historique

La création de l'**Institut National de Recherche Halieutique** est le résultat d'une série des transformations et développements à plusieurs niveaux que le Maroc a connus depuis les années **1940** ; notamment dans les domaines de la pêche maritime et la recherche halieutique.

En **1946**, sous le Protectorat de la République Française au Maroc, l'Institut des Pêches Maritimes du Maroc (IPM) a été créé sous la tutelle du secrétariat d'Etat au Commerce à l'Industrie à l'Artisanat et à la Marine Marchande. Il a été rattaché à l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes (ISTPM) français et à l'Office Français de la Recherche Scientifique et Technique Outre – Mer (ORSTOM) de France. Cet institut n'a fonctionné qu'à partir de **1951** ([www.inrh.ma/fr/historique](http://www.inrh.ma/fr/historique)).

A partir de **1969**, l'IPM a été intégré à l'Office National des Pêches (ONP) et a été renommé : l'Institut Scientifiques des Pêches Maritimes (ISPM).

Afin de servir le secteur, le nouvel établissement est renforcé par des cadres et des chercheurs exclusivement marocains et sa nouvelle mission devient la recherche scientifique appliquée dans divers domaines ; la biologie et la technologie des pêches.

En **1972**, dans le cadre d'un projet destiné pour le développement des pêches maritimes, un accord a été signé entre le Maroc et le Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD).

L'Office National des Pêches (ONP), l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) à l'aide de l'ISPM ont participé à la mise en œuvre de cet accord.

En **1981**, le Maroc a bénéficié d'une Zone Economique Exclusive (ZEE) de 200 milles, ce qui lui a donné des droits souverains aux fins d'exploration et d'exploitation, de gestion des ressources maritimes et naturelles, cette étape coïncide avec la création d'un ministère chargé des pêches maritimes dont sa mission est de valoriser les ressources halieutiques.

La nécessité d'un centre spécialisé dans la recherche scientifique, capable d'atteindre les objectifs que s'est engagé le Maroc et donc de suivre le développement du secteur a conduit en **1996** à la création de l'Institut National de Recherche Halieutique, en remplaçant, l'ISPM.

Officiellement, L'INRH ; un établissement public à caractère scientifique et technique, doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière nécessaires à la réalisation des programmes de Recherche est créé par Dahir n° 96-98 du **29**

Juillet 1996 et en 1998 du Conseil Supérieur pour la Sauvegarde et l'Exploitation du Patrimoine Halieutique ([www.inrh.ma/fr/historique](http://www.inrh.ma/fr/historique)) .

## II. Missions de l'Institut National de Recherche Halieutique

L'INRH a 6 missions ([www.inrh.ma/fr/missions-de-linrh](http://www.inrh.ma/fr/missions-de-linrh)) :

1. Etude du fonctionnement des écosystèmes marins et littoraux.
2. Surveillance de la qualité et de la salubrité du milieu marin.
3. Evaluation des ressources halieutique et suivi de leur exploitation.
4. Essais des techniques de pêche.
5. Evaluation des potentialités aquacoles et contribution au développement de l'aquaculture.
6. Valorisation des produits de la mer.

## III. Structures de recherche centrales

Afin d'atteindre ces missions, le domaine de l'action de l'INRH couvre, dans une première structure, 4 départements (figure 1) :

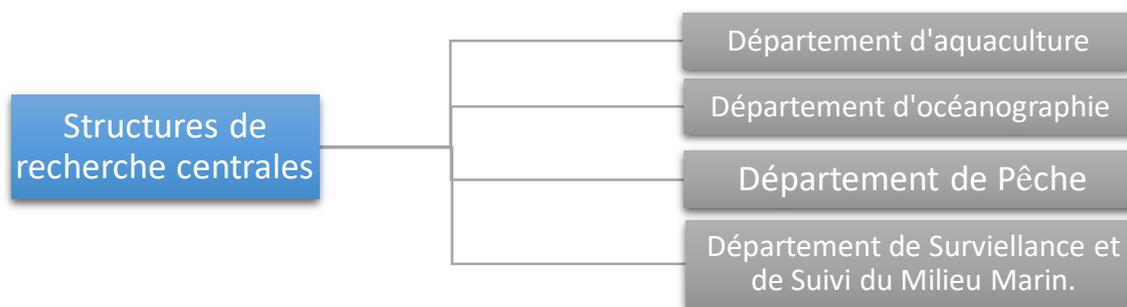


Figure 1 : Structures de recherche centrales de l'INRH

## IV. Structures de recherche régionales

L'INRH s'appuie pour la réalisation de ces travaux de recherche sur un réseau de pôles régionaux constitué de Centre Régionaux (<http://www.inrh.ma/fr/structures-de-recherche>) (Figure 2) :

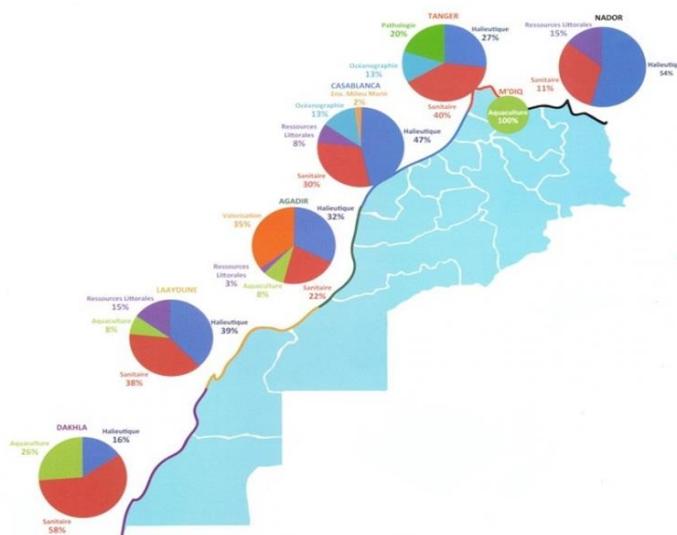


Figure 2 : Structures de recherche régionales de l'INRH

([www.inrh.ma/fr/structure-de-recherche/structures-de-recherche-regionales](http://www.inrh.ma/fr/structure-de-recherche/structures-de-recherche-regionales))

## V. Le Centre régional de l'INRH de Nador

Ce centrale régional (Figure 3) a été mis en activité en Octobre 1998, sa zone compétitive couvre la région maritime de la Méditerranée Orientale de Saïda à Jebha sur une côte de 250 Km ([www.inrh.ma/fr/centre-regional-nador](http://www.inrh.ma/fr/centre-regional-nador)).



Figure 3 : Centre Régional de l'Institut de Recherche National de Nador

([www.inrh.ma/fr/centre-regional-nador](http://www.inrh.ma/fr/centre-regional-nador))

### 1. Organigramme

L'organigramme de l'institut est représenté dans la figure 4 :

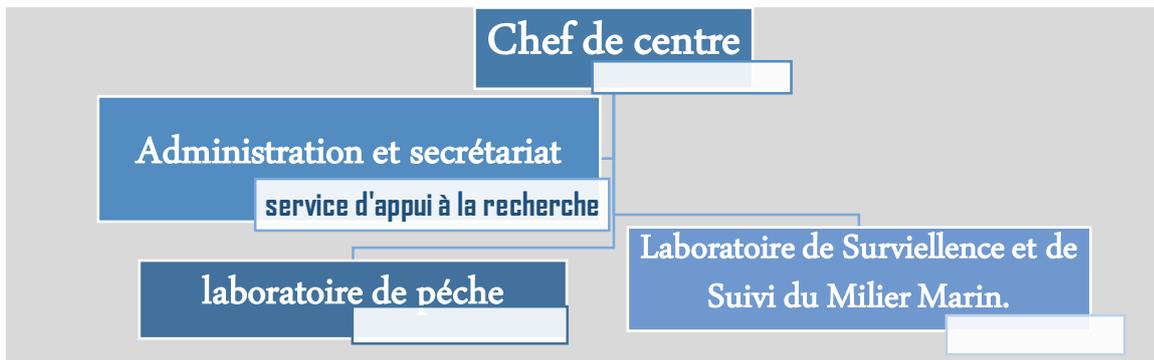


Figure 4 : Organigramme de Centre Régional de l'INRH de Nador

### 2. Organisation :

L'INRH de Nador est constitué, essentiellement, de deux laboratoires spécialisés :

#### ○ Laboratoire de Pêche :

Ces missions sont :

- Evaluation des ressources halieutiques.
- Etablissement des diagnostics sur l'état des stocks.
- Détermination de leurs niveaux d'exploitation biologique.
- L'étude des facteurs qui régissent leur évaluation.

## ○ Laboratoire de Surveillance et de Suivi du Milieu Marin (LSSMM)

Il a principalement 3 missions :

- Etude de zone pour classement sanitaire des zones conchylicoles.
- Surveillance régulière des zones classées.
- Suivi environnemental de la lagune Marchica, des embaucheurs, et du Littoral Méditerranéen Marocain EST.

Le laboratoire est composé, également, de 3 unités de recherche :

### ➤ Recherche des biotoxines marines :

Il s'agit des phycotoxines secrétées par des micro-algues toxigènes, et accumulées par des espèces marines tel que : les moules, les petites praires, les huîtres, les palourdes...

Selon les normes internationales, 3 toxines sont recherchées dans le milieu marin :

- ✓ Toxines lipophiles ou LSP.
- ✓ Toxines paralysantes ou PSP.
- ✓ Toxines amnésiantes ou ASP.

Les analyses prises en charges pour la recherche des phycotoxines marines sont des analyses biologiques (Test-Souris) et physico-chimiques (Chromatographie en Phase Gazeuse CPG).

Au centre régional du LSSMM de Nador, seul le prétraitement initial est effectué. Les échantillons préparés sont ensuite envoyés au laboratoire central de Casablanca pour les analyser.

### ➤ Recherche de phytoplancton nuisible :

Le phytoplancton nuisible est constitué par des algues microscopiques qui vivent en suspension dans l'eau. Ils sont capables de produire des substances toxiques dites, toxines marines. Son prolifération est à l'origine du phénomène, souvent, naturel : L'efflorescence algale nuisible.

Au niveau du LSSMM, la recherche de phytoplancton toxiconogène se fait hebdomadairement à partir des échantillons d'eau prélevés des zones conchylicoles classées. Cette recherche se base sur l'identification des espèces toxiques et le déclenchement des pré-alertes en cas de dépassement des valeurs seuils.

Il faut noter qu'il existe une relation dialectique entre ces deux unités de recherche. En effet, chaque type du phytoplancton marin nocif a un homologue dans la famille des phycotoxines marines, donc la détection du premier facteur prouve l'existence du deuxième et vis versa. Ce qui rend leurs travaux de recherche complémentaires.

### ➤ Recherche bactériologique :

Il s'agit des analyses microbiologiques pour évaluer les niveaux de contaminations des mollusques bivalves, ensuite du milieu marin et l'environnement, en se basant sur le dénombrement d'*Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive.

# Synthèse Bibliographique

## I. Portrait du secteur maritime et halieutique au Maroc

### 1. Les produits de Mer au Maroc : Une production immense et diversifié

Le Maroc est l'un des pays les plus riches et les plus diversifiés en termes de ressources naturelles, maritimes et poissonneuses.

Avec ces deux façades marines de 3500 Km ; la Méditerranée et l'atlantique qui s'étendent, respectivement, sur environ 512 Km de Saïda à Tanger, et 2934 Km allant de Tanger à Lagouira, le Maroc dispose d'un patrimoine halieutique important.

Le tableau 1 donne un aperçu sur la production halieutique nationale et son évolution ces dernières années. A noter que cette production ne prend pas en compte les prises réalisées par la flotte des bateaux opérant dans le cadre des accords avec l'union européenne :

Tableau 1 : La production halieutique nationale entre les années 2005 et 2010 d'après le Centre du Commerce International.

TYPE DE PECHE	ANNEES					
	2005	2006*	2007*	2008*	2009*	2010*
<b>PECHE COTIERE ET ARTISANALE</b>	<b>3 403 747</b>	<b>3 546 094</b>	<b>3 493 759</b>	<b>4 273 213</b>	<b>4 033 805</b>	<b>3 967 269</b>
Poisson pélagique*	1 256 898	1 347 242	1 309 112	1 481 859	1 538 805	1 704 017
Céphalopodes	913 244	884 987	888 132	1 445 394	1 104 457	912 169
Poisson blanc	1 044 452	1 121 971	1 075 622	1 132 269	1 182 604	1 127 916
Crustacés	182 399	186 188	217 596	211 571	204 397	216 444
Coquillages	6 754	5 706	3 297	2 120	3 542	6 723
<b>PECHE HAUTURIERE</b>	<b>3 037 148</b>	<b>2 721 594</b>	<b>2 515 741</b>	<b>3 674 503</b>	<b>2 718 263</b>	<b>2 396 290</b>
Céphalopodes	2 398 588	2 066 010	1 625 894	2 689 255	1 796 063	1 352 176
Poisson blanc	134 121	155 026	286 247	205 246	337 916	311 877
Crevettes	438 082	460 361	530 809	694 603	501 832	606 792
Poisson pélagique	66 357	40 197	72 791	85 399	82 452	125 445
<b>AFFRETEMENT</b>	<b>48 036</b>	<b>77 368</b>	<b>97 647</b>	<b>141 506</b>	<b>151 104</b>	<b>88 922</b>
<b>AUTRES ACTIVITES</b>	<b>267 322</b>	<b>235 861</b>	<b>347 177</b>	<b>328 782</b>	<b>260 949</b>	<b>203 023</b>
Algues	96 094	104 089	122 942	88 113	102 348	88 538
Aquaculture	60 631	8 477	11 730	7 603	9 224	7 090
Corail	4 040	1 309	1 451	3 996	3 857	5 035
Madragues	106 557	121 986	211 054	229 070	145 298	101 807
Oursins					222	553
<b>TOTAL</b>	<b>6 756 253</b>	<b>6 580 917</b>	<b>6 454 324</b>	<b>8 418 004</b>	<b>7 164 121</b>	<b>6 655 504</b>

## 2. Les produits de mer au Maroc : richesse et biodiversité

Le Maroc est riche en faune marine. Il compte plus de 7000 espèces connues. Son organisation est analogue à celle de la faune marine mondiale, avec prédominance d'Arthropodes (27%) qui sont surtout présentés par les Crustacés (figure 5), de Mollusques (22%) par les Gastéropodes et les Lamellibranches, et de vertébrés (16%) par les poissons, Le reste de cette faune (35%) est réparti sur 15 embranchements d'importance variable (FRANCHIMONT et coll. 1998).

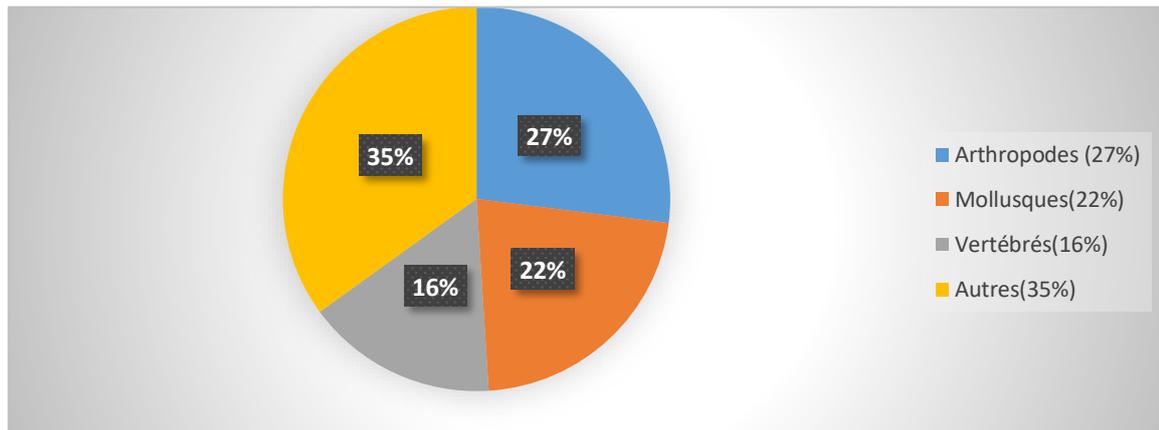


Figure 5 : Composition de la faune marine au Maroc.

## II. Le secteur aquacole au maroc

### 1. Le statut de l'aquaculture marocaine

L'aquaculture marocain a été implantée pour la première fois en 1950 dans la lagune de l'Oualidia.

Bien que le secteur marocain de l'aquaculture n'ait pas beaucoup évolué au cours des dernières décennies, le Maroc travaille d'arrache-pied pour le développer.

En 2009, le plan Halieutis a été adopté ; le plan visant à assurer la durabilité des ressources halieutiques, à augmenter la productivité maritime et à protéger le patrimoine halieutique et maritime.

En 2012, l'Agence Nationale pour le Développement de l'Aquaculture (ANDA) récemment créée, a identifié 19 zones d'élevage (Figure 6), production des poissons et des coquillages :

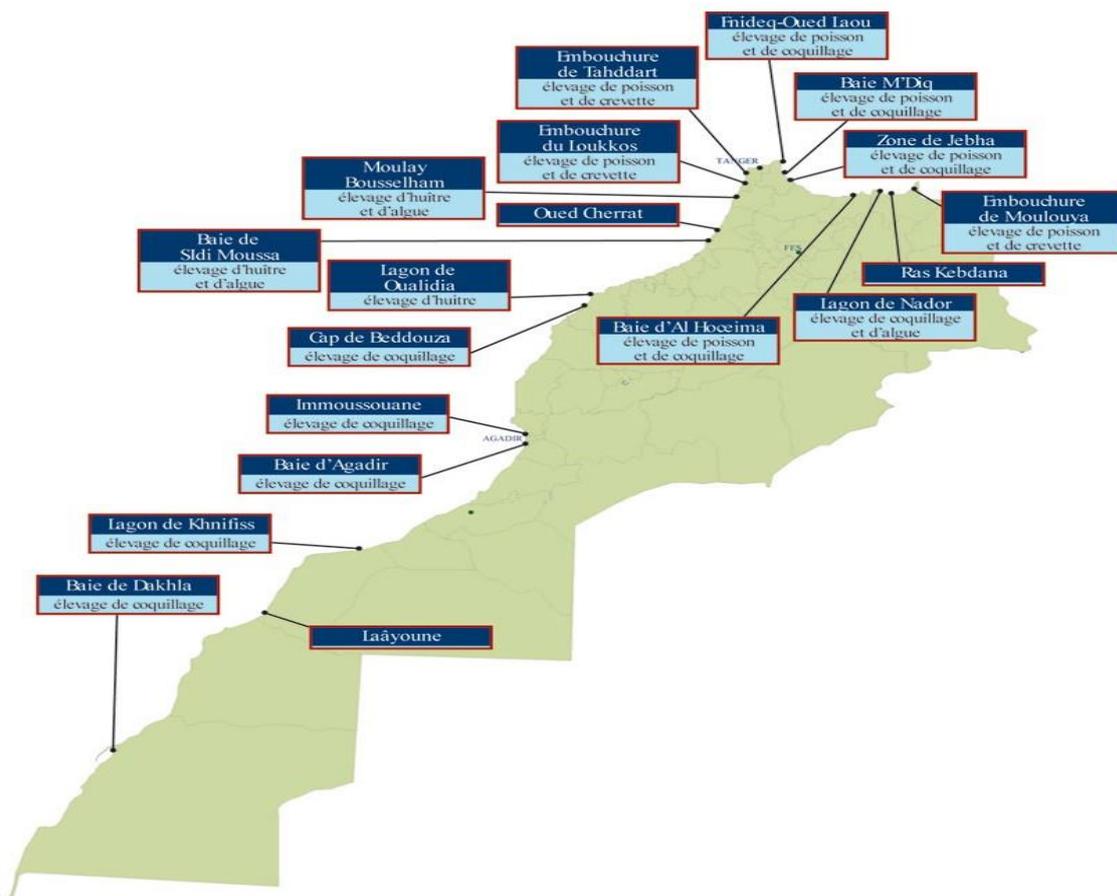


Figure 6 : Principales régions aquacoles au Maroc d'après l'ANDA

## 2. La production aquacole marine au Maroc

La production aquacole marine au Maroc s'est établie en moyenne à 400 tonnes/an entre 2011-2014 pour une valeur d'environ 20 millions de dirhams. A fin 2015, la production aquacole a été estimée à 600 tonnes ([www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0](http://www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0)).

Parmi les espèces produites, on trouve les moules, les huîtres, le loupe et la daurade (figure 7) :

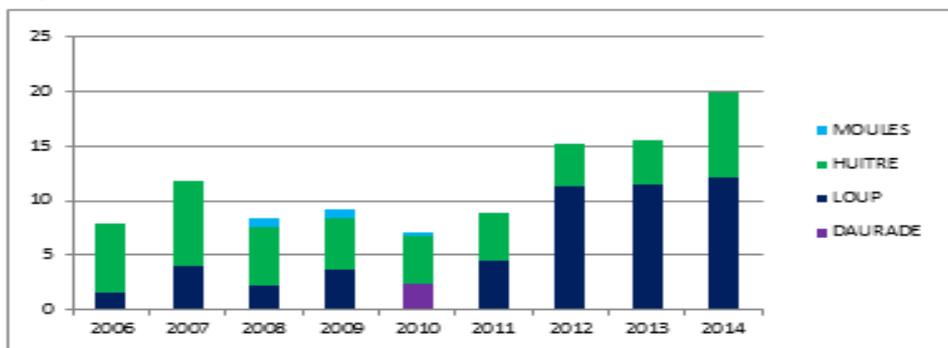


Figure 7 : Evolution de la production aquacole par espèce durant la période 2006-2014 ([www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0](http://www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0))

### 3. L'aquaculture marocaine en Méditerranée

Sur la côte méditerranéenne, une ferme de pisciculture, une d'algoculture et deux grandes fermes modernes conchylicoles ont vu le jour : La première ferme (Marost) a été créée en 1985 dans la lagune de Nador. La deuxième (SAM) s'est installée, en 1992, dans les bassins de terre au niveau de l'embouchure de la Moulouya. (Étude aquaculture FENIP- 2010)

En terme de production conchylicole en méditerranée, la mytiliculture (élevage de moules) correspond en 2010 à 3% de la production aquacole nationale (Étude aquaculture FENIP- 2010).

## III. Les mollusques bivalves

### 1. Définition de l'embranchement

L'ensemble des coquillages comprend environ 95000 espèces, appartient à l'embranchement des mollusques ou *Mollusca* qui désigne des espèces caractérisées par un corps mou, massif, non métamérisé.

### 2. Classe des bivalves

Les bivalves (*Bivalvia*) ou lamellibranches (*Lamellibranchia*), sont une classe des mollusques comprenant environ 20 000 espèces.

Ce groupe comprend les huîtres, les moules, les palourdes, les coquilles de Saint Jacques ...

Il s'agit d'animaux acéphales, à symétrie bilatérale selon le plan de jonction des valves. Le corps est enveloppé dans un manteau composé de deux lobes et protégé par une coquille calcaire formée de deux valves.

### 3. Famille des mytilidés

Les mytilidés ou *Mytilidae* connus sous le nom des moules, sont des mollusques bivalves de l'ordre des *Mytiloida*.

Ces espèces sont protégées par une coquille équivalve, dépourvue de dents de charnière. Les crochets se trouvent à l'extrémité antérieure. Le ligament est développé mais les muscles adducteurs sont vestigiaux.

Cette famille comprend plusieurs espèces. Au niveau du Maroc, une espèce est principalement exploitée en mytiliculture et consommée ; *Mytilus galloprovincialis*.

### 4. L'espèce *Mytilus galloprovincialis*

Une espèce de la Méditerranée, son nom le plus commun est la moule méditerranéenne.

### a. Description :

La moule méditerranéenne (Figure 8) a une coquille allongée, de couleur violacée à brun fauve, ornée de fines stries d'accroissement.

Le crochet terminal est légèrement incurvé vers l'avant et pointu. La surface ventrale des valves est légèrement aplatie au niveau et juste en arrière du plateau cardinal. L'intérieur des valves est lisse, gris bleuâtre avec une zone périphérique noirâtre et une région umbonale d'un blanc opaque. Le ligament interne est peu épais (Seed,1972).



Figure 8: L'espèce *Mytilus galloprovincialis* (FAO 2009)

La moule possède un manteau permettant de sécréter la coquille, et d'enserrer les branchies dans une cavité où circule l'eau. Grâce à ses branchies, la moule filtre pour respirer et pour retenir le plancton dont elle se nourrit. Un byssus associé à son pied sert à la fixation (figure 9).

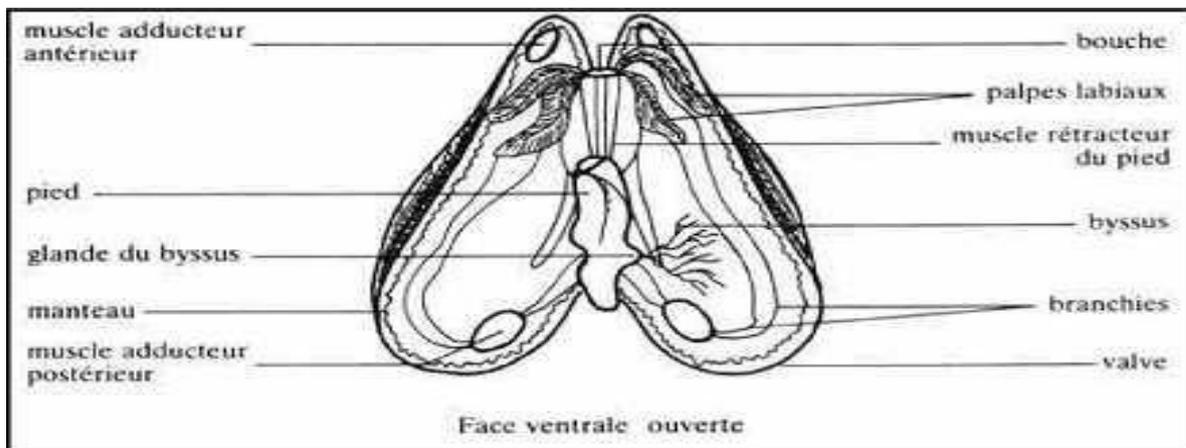


Figure 9 : Anatomie interne de l'espèce *Mytilus galloprovincialis* (Benzaoui,2010)

### b. Mode de vie :

La respiration chez les moules (figure 10) se fait en filtrant activement l'oxygène dans l'eau à l'aide des branchies, les mollusques filtreurs se nourrissent principalement de phytoplancton et d'autres matières organiques, la croissance des moules est optimale dans un milieu où la nourriture est riche et abondante.

Les moules vivent partout dans le monde, dans les eaux polaires, tempérées, peu profondes et légèrement saumâtres, elles se trouvent également dans des milieux très profonds à forte salinité en haute mer (Boumharas, 2008).

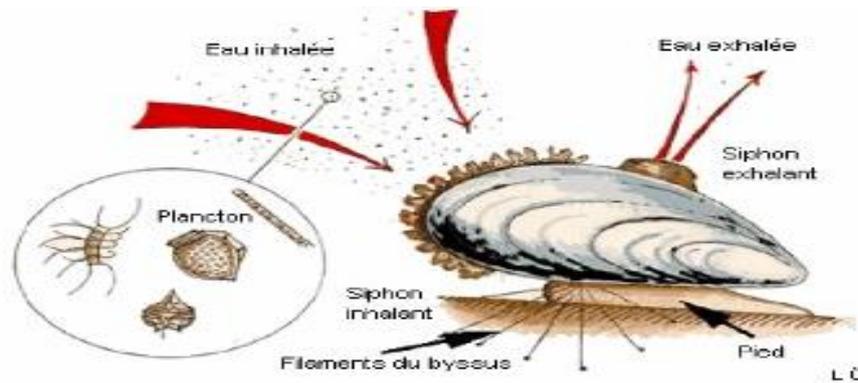


Figure 10 : mode de vies des moules. (Mohamed BOUMHARAS, DESA 2008)

### c. Les moules en régime alimentaire marocain :

Les moules marocaines sont charnues et fondantes grâce à leurs séjours dans des eaux marocaines riches en plancton ; un mode de culture et de traitement unique et les pratiques de ramassage traditionnelles et authentiques leur ont valu un grand succès. Les moules marocaines sont une excellente source de vitamines (B1, B2, B12), d'oméga 3 et de minéraux (calcium, sélénium, fer, zinc) ce qui leur confèrent une valeur nutritionnelle intéressante.

La mer marocaine dotée d'un paysage particulier propice à la croissance, l'élevage et à l'affinage des moules de caractère. (<http://www.houtbladi.ma/index.php/fr/sante-et-nutrition/a-votre-sante-consommer-marocain/les-coquillages-marocains-au-menu/la-moule-marocaine>)

## IV. Processus de contamination des mollusques bivalves

Les mollusques bivalves sont des organismes filtreurs vivant à l'interface eau-sédiment ou enfouis dans les sédiments. Ils peuvent ainsi être exposés à de nombreux contaminants et bio-accumuler des polluants chimiques et bactériologiques.

Ils sont utilisés dans les programmes de biosurveillance comme des indicateurs de pollution du milieu aquatique.

Le bio-indicateur ou bio-accumulateur peut se définir comme : « un organisme ou un ensemble d'organisme qui- par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques- permet de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modification, naturelles ou provoquées » (Blandin, 1986)

Différents critères sont pris en compte pour le choix des mollusques bivalves en tant qu'espèces sentinelles :

- leur large distribution géographique, qui permet les comparaisons entre différents sites ;
- leur abondance, qui permet de réduire l'impact des prélèvements sur la structure et la densité de la population mais également de faciliter les prélèvements ;

- leur sédentarité, afin que l'état des individus puisse être directement corrélé avec le niveau de pollution du site (Bigot, 2009).

## V. Evaluation de la qualité microbiologique par les bactéries indicatrices de contamination fécale

L'évaluation pratique de la qualité microbiologique des coquillages se fait sur la base du concept d'organismes dits « indicateurs de contamination ». (Servais et coll, 2005).

Les indicateurs de contamination fécale sont des micro-organismes dont la présence dans une eau ou un aliment est le signe d'une contamination par des matières fécales (Bornert, 1998).

L'estimation de la contamination se fait par le biais de bactéries indicatrices de pollution fécale : les coliformes fécaux notamment *Escherichia coli*.

### a. Les coliformes Totaux (CT)

Les coliformes totaux correspondent à des bacilles Gram négatif, non sporulés, oxydase négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs. Ils sont capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35-37°C.

Parmi les coliformes totaux (à 30 °C), on distingue les coliformes fécaux ou thermotolérants qui fermentent le lactose à 44 °C (Gourmelon et coll. 2002).

### b. Les coliformes fécaux (CF)

Les coliformes thermotolérants (fécaux) renferme toutes les espèces bactériennes faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae* qui sont aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à 44,5°C sur une gélose contenant du lactose. Les coliformes thermotolérants (fécaux) doivent également produire une réaction positive à l'épreuve de l'ONPG (enzyme  $\beta$ -galactosidase) et une réaction négative à l'épreuve de la cytochrome-oxydase (Gourmelon et coll. 2002).

L'espèce caractéristique et principale des coliformes thermotolérants est *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive

### c. *Escherichia coli* $\beta$ -Glucuronidase positive

- Historique

En 1885, Theodor Escherich (1857-1911) découvre un bacille qu'il dénomma *Bacterium coli* commun dans les selles de nourrissons (LE MINOR et coll. 1954). En 1919, en hommage aux travaux d'Escherich Castellani et Chalmers donne le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie (LE MINOR et coll. 1956).

- Identification de la bactérie

*Escherichia coli* ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0.4 à 0.6 µm de large (Figure 11).

C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril et coll. 1987).

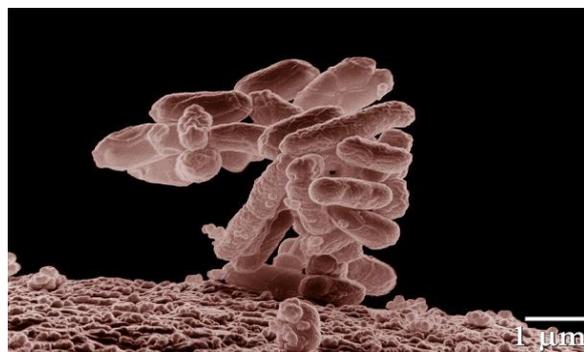


Figure 11 : *Escherichia coli* sous microscope électronique a G X 1000 (ARIL et coll. 1987)

- L'activité β-Glucuronidase

En 1949, Buehler *et al*, furent les premiers à relever la présence d'une β-D-Glucuronidase chez *Escherichia coli*. Depuis cette époque, la plupart des études ont montré que 94 à 97% des *Escherichia coli* d'origine humaine ou issues de l'environnement possèdent cette activité enzymatique. La β-D-Glucuronidase peut donc être considérée comme un indicateur valable pour la détection d'*Escherichia coli* dans les produits alimentaires et dans les eaux.

([http://www.solabia.com/Divisao\\_9/BIOKAR-Diagnostics.html](http://www.solabia.com/Divisao_9/BIOKAR-Diagnostics.html))

## VI. Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

Les TIAC regroupent les toxi-infections et les intoxications alimentaires

Les toxi- infections sont des infections causées par l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou par leurs toxines. Dans certains cas, la pathologie n'est pas due à la prolifération d'un microorganisme dans l'aliment mais à l'ingestion d'une toxine sécrétée par la bactérie et préformée dans l'aliment avant son ingestion ; on parle alors d'intoxication. ([http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item73\\_MRY/indexI1.htm](http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item73_MRY/indexI1.htm))

Un foyer de TIAC est défini par « l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire » (Pignault et coll. 1991)

Les risques microbiologiques et les maladies d'origine alimentaire auxquelles ils donnent lieu constituent un problème croissant pour la santé publique comme le montre la figure 12 concernant les TIAC enregistrées entre 1998 et 2009 .

(Programme Salubrité des aliments - 2002 Organisation mondiale de la Santé <http://www.who.int/fsf>).

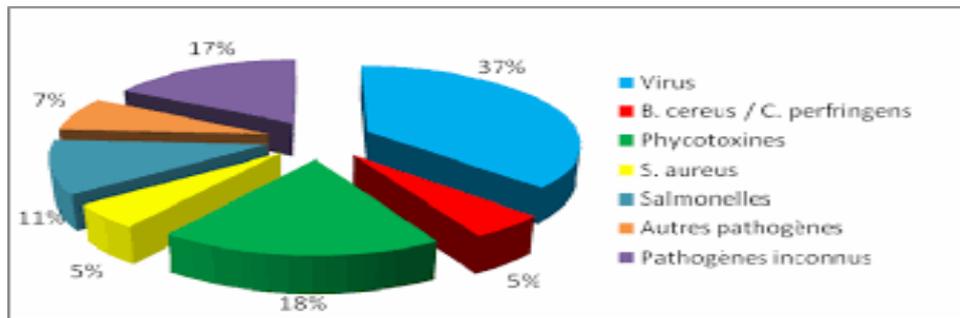


Figure 12 : TIAC liées à des coquillages entre 1998-2009 : agents responsables ou suspectés (Le saux 2010a)

## VII. Contrôle sanitaire des mollusques bivalves

### 1. Contexte réglementaire

Le contrôle sanitaire des denrées alimentaires au Maroc est régi par la loi n° 1-75- 291 du 8 octobre 1997, ainsi que plusieurs textes sectoriels concernant les produits d'origine animale, notamment les produits de la pêche. Concernant les mollusques bivalves, une circulaire du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime n° 1508/12 du 15 Août 2012, fixe les conditions de commercialisation et de mise sur le marché de ces produits de la pêche, conformément aux exigences sanitaires requises (Bulletin de Surveillance Sanitaire des Zones de production Conchylicoles Année (2015)).

### 2. Stratégie de surveillance et de suivi du milieu marin effectué par l'INRH

Cette surveillance a pour but d'assurer la protection du milieu marin et la préservation de la santé du consommateur des produits de mer.

- [Etude des zones conchylicoles :](#)

L'étude de la région dépend, en premier lieu, d'un contrôle chimique en cherchant trois métaux lourds tous les 3 mois : le Mercure, le Cadmium et le Plomb.

L'étude microbiologique en ce stade est bimensuelle, alors que la recherche des biotoxines et des phytoplanctons ne se déroule qu'après le classement de la zone.

- [Classement de la zone :](#)

Les sites utilisés pour l'élevage ainsi que les bancs naturels de coquillages sont classés par ordre décroissant de salubrité en 4 catégories A, B, C et D et selon l'estimation de la qualité microbiologique et évaluation de la contamination chimique (circulaire 15.08.12 d'Aout 2012).

Tableau 2 : Evaluation du niveau moyen de contamination chimique des zones de production des mollusques bivalves selon la circulaire n°1508/12 du 15 aout 2012.

Contamination chimique mg. (kg chair humide) <sup>-1</sup>						
Catégorie	Mercure		Cadmium		Plomb	
	0,5		1		1,5	
A, B, C	≤		≤		≤	
D		>		>		>

Les analyses chimiques sont des tests « noir ou blanc ».

Les zones ayant des niveaux de contamination inférieur au égal a les valeurs seuils, sont classées « blanc ».

Les zones où la contamination détectée est supérieure à la valeur seuil, sont classées malgré la classification microbiologique ; D « noir ».

Tableau 3 : Estimation de la qualité microbiologique des zones de production des mollusques bivalves en fonction des seuils de contamination selon la circulaire n°1508/12 du 15 aout 2012.

Catégorie	Nombre d' <i>Escherichia coli</i> -β-glucuronidase positive /100 g de CLI		
	230	4600	46000
A		0 %	
B		10%	0%
C			0%
D			>

**Zones A :** Zones dans lesquelles les coquillages peuvent être récoltés et mis directement sur le marché pour la consommation humaine directe.

**Zones B :** Zones dans lesquelles les coquillages peuvent être récoltés mais ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine qu'après avoir installé un centre de purification ou après reparaçage dans une zone autorisée.

**Zones C :** Zones dans lesquelles les coquillages peuvent être récoltés mais ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine qu'après un reparaçage au moins deux mois dans une zone autorisée.

**Zones D :** Zones où la vente ou la consommation des mollusques est interdite.

Après classement des zones, la recherche chimique devient biannuelle, la recherche microbiologique mensuelle et la recherche des biotoxines et phytoplancton hebdomadaire.

## Matériel et Méthodes

Ce travail a pour but d'étudier la qualité microbiologique des mollusques bivalves en particulier la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis*) de la zone côtière Al Hoceima-Cala Iris du littoral méditerranéen Maroc-EST.

### I. Présentation de site d'étude

#### Al Hoceima-Cala Iris

**La région d'Al Hoceima** est située au nord du Maroc sur la façade méditerranéenne, bordée à l'Ouest par Chefchaouen et Taounate, à l'Est par Nador, au Sud par Taza et au Nord par 120km de littoral méditerranéen. Ce littoral renferme des ressources halieutiques et des potentialités importantes pour le développement de la conchyliculture. Actuellement un projet d'élevage de moule est mis en place au niveau de la zone de Cala Iris (Figure 13).



Figure 13: la situation géographique de la région d'Al Hoceima ( INRH/DQSMM-Bulletin de surveillance sanitaire des zones de production conchylicole, année 2015.75p)

**Cala Iris** est un village à caractère marin, situé au bord de la mer méditerranéenne marocaine et bordé par la chaîne de montagne du Rif. Il est situé à environ 55 km à l'ouest de la ville d'Al Hoceima et relève de la commune rurale de Bni Boufrah. Il a aussi une vocation touristique, notamment en période estivale, dont la demande en produits de la mer connaît une importance élevée. Ce village est connu pour saplage, ses deux petites îles et son petit port de pêche qui représentaient des attraits phares de la région (Figure 14).



Figure 14 : la zone conchylicole Cala Iris ( INRH/DQSMM-Bulletin de surveillance sanitaire des zones de production conchylicole, année 2015.75p)

## II. Examen bactériologique des mollusques bivalves

### 1. Matériel biologique

Le modèle biologique utilisé est la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis*).

### 2. Stratégie d'échantillonnage

Au niveau de la zone Cala Iris, l'échantillonnage se fait d'une façon mensuelle car c'est une zone de surveillance régulière.

Les tests microbiologiques nécessitent un minimum d'échantillons prélevés au moins de deux points différents à partir de la zone d'étude.

Les prélèvements de cette étude sont réalisés au début du mois Mai 2019, au niveau de trois points : **I**, **F** et **B**.

## III. Préparation des échantillons

L'échantillon est acheminé immédiatement vers le laboratoire dans un sachet en plastique. Le sachet est conservé dans une glacière bien nettoyée et désinfectée, menée d'accumulateurs de froid et de thermomètre. Selon la norme ISO 17025, la température de glacière doit être comprise entre 1°C et 8°C.

Au niveau de la réception, l'échantillon fait l'objet d'un contrôle d'acceptabilité des échantillons ; les prélèvements doivent être identifiés par une étiquette (date, heure, lieu, espèce de coquillages, numéro d'enregistrement...), les échantillons doivent être vivants (le coquillage contient une chair attachée dessus), en bon état (carcasses non abimés) avec un nombre suffisant pour les analyses.

Les échantillons sont bien lavés avec l'eau potable et une brosse pour enlever tout ce qui est saleté présente sur la coquille, ensuite 25 à 30 d'individu de taille moyenne, pourvus encore d'étiquette, sont placés sur une assiette inoxydable supportée avec du papier absorbant puis acheminés à la salle d'ensemencement et repiquage pour les analyses bactériologiques (Figure 15 a et b).



Figure 15: lavage et égouttage des échantillons.

#### IV. Dénombrement d'*Escherichia coli* $\beta$ -Glucuronidase positive

La norme **ISO 16649-3** spécifie une méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positives par la technique de mise en culture en milieu liquide et par le calcul du nombre le plus probable (NPP) après incubation à  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ , puis à  $(44 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

La présente partie de l'ISO 16649 est applicable :

- Aux produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux.
- Aux échantillons environnementaux dans la zone de production et de manutention des produits alimentaires.

Cette méthode convient également pour le dénombrement des cellules d'*Escherichia coli* qui ont pu souffrir de déshydratation, de congélation, d'exposition à un environnement salin (marin par exemple). (<https://www.iso.org/fr/standard/56824.html>)

##### 1. Préparation de la suspension mère

L'ouverture et le décortilage des échantillons se fait d'une façon aseptique.

Le contenu entier ; Chair et liquide inter valvaire (CLI) est recueilli stérilement.

Le nombre minimal d'individu est 10, pour arriver à une masse de 75 g de CLI pour les espèces de taille moyenne (*Mytilus galloprovincialis*).

La dilution est ensuite réalisée par l'addition d'un volume de Tryptone-sel (TS) équivalant à deux fois la masse de la CLI récupérée.

L'ensemble est soumis au broyage dans un mixeur, la durée du broyage ne doit pas dépasser 30 secondes (Figure 16).



Figure 16 : Décortilage et broyage des échantillons.

Le broyat est laissé reposer pendant 15 min au maximum.

A partir de la phase liquide (PL), une prise de 30 ml est ajoutée à 70 ml de Tryptone-Sel.

La solution obtenue au final est d'un volume total de 100 ml. Elle constitue la suspension mère.

## 2. Les tests bactériologiques :

Les analyses bactériologiques notamment la recherche des *Escherichia coli* présumé se fait en deux étapes : un **Test présomptif** suivie d'un **Test confirmatif**.

Les résultats sont exprimés pour 100 g de chair et liquide inter valvaire de coquillages.

### ➤ Test présomptif :

Ce test consiste à ensemencer 3 séries de 5 tubes à essai. La première série contient du Glutamate à double concentration (40,8 g/L) et les deux autres séries du Glutamate à simple concentration (20,4 g/L) (Figure 17).

- **Série 1 :** A l'aide d'une pipette graduée, on ajoute 10 ml de solution mère dans 10 mL de Bouillon au Glutamate Double Concentration.
- **Série 2 :** A l'aide d'une pipette graduée, on ajoute 1ml de solution mère dans 10mL de Bouillon au Glutamate Simple Concentration.
- **Série 3 :** A l'aide d'une pipette graduée, on ajoute 1ml de solution mère diluée dans 9 ml de Tryptone Sel, puis on Prend 1mL de cette dilution est ensemencé dans 10mL de Bouillon au Glutamate Simple Concentration.

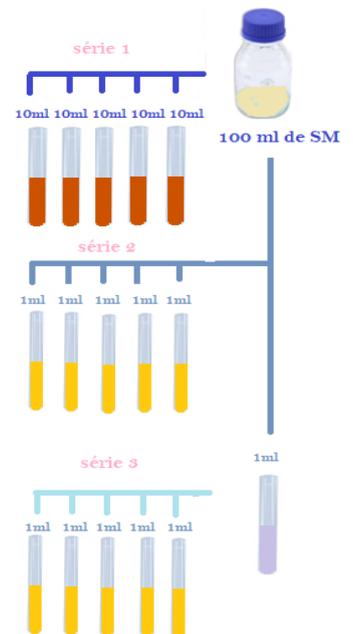


Figure 17 : Ensemencement de 3 séries du Bouillon au glutamate.

Les tubes ensemencés sont incubés dans une étuve à  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  pendant  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  (Figure 18).



Figure 18 : Incubation des tubes ensemencés dans l'étuve  $37^\circ\text{C} \pm 1$  pendant  $24 \pm 2\text{h}$ .

### ➤ Test confirmatif :

Les tubes positifs présentant un aspect différent par rapport aux tubes de départ, sont repiqués, aseptiquement, sur la gélose TBX en pratiquant des stries par l'anse pour obtenir des colonies isolées (Figure 19).

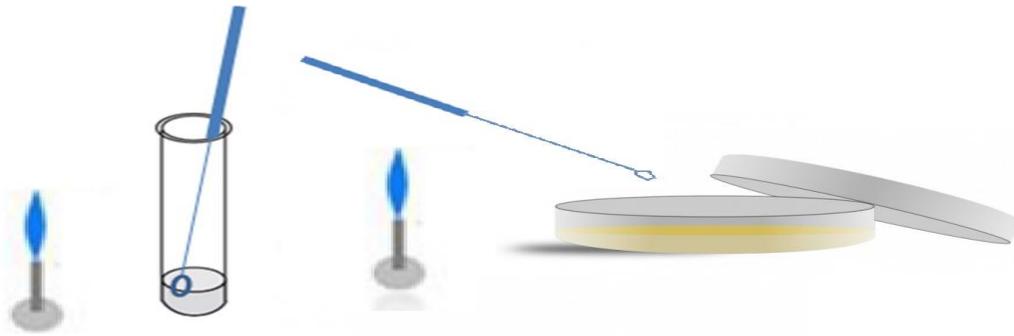


Figure 19 : Ensemencement en surface de gélose TBX à partir d'un tube positif.

Les boîtes de Petri sont incubées à  $(44 \pm 1) ^\circ\text{C}$  pendant  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  (Figure 20).



Figure 20 : incubation des boitesensemencées dans l'étuve  $44^\circ\text{C} \pm 1$  pendant  $24 \pm 2\text{h}$ .

Le milieu TBX est un milieu sélectif destiné au dénombrement des *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive dans les produits alimentaires. Le résultat est obtenu directement par comptage des colonies caractéristiques après seulement 24 d'incubation, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer une étape de confirmation (Figure 21)



***Escherichia Coli*  $\beta$ -  
Glucuronidase  
positive**

Colonies caractéristiques

Couleur bleue verte



Figure 21 : Colonies d'*Escherichia Coli*  $\beta$ -Glucuronidase sur Gélose TBX après 24h d'incubation.

## Résultats et discussion

### Dénombrement d'*Escherichia coli* $\beta$ - Glucuronidase positive

Le tableau 4 présente le niveau de contamination de la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis*) de la zone Cala Iris par *Escherichia Coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive en UFC par 100g de chair et liquide inter valvaire de moule pendant le mois Mai 2019.

Tableau 4 : les Résultats du suivi microbiologique de *Mytilus galloprovincialis* dans la zone Cala Iris de la région d'Al Hoceima pour le mois Mai/2019 au niveau de trois points d'étude

Date de prélèvement	Nombre <i>Escherichia coli</i> $\beta$ -Glucuronidase positive en UFC/ 100g de CLI		
	Point B	Point F	Point I
02/05/2019	00	00	40

Les résultats sont exprimés pour les trois ponts d'étude B, F et I de la zone de surveillance Cala Iris. Ils indiquent :

- L'absence absolue des *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive dans les deux points B et F de contrôle sanitaire de la zone Cala Iris.
- Une contamination de la moule prélevée à partir du point I de la zone Cala Iris par *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive de 40 UFC/100g de CLI.

Les résultats obtenus, au total, montrent une très faible contamination de la moule : *Mytilus galloprovincialis* de la zone côtière Cala iris de la région d'Al Hoceima du littoral méditerranéen Maroc-EST. Cette contamination atteint une valeur maximale de 40 UFC/100g de CLI de coquillages durant le mois Mai ; une valeur qui reste inférieure au Seuil fixé par le règlement : <230 UFC/100g CLI de coquillages.

Ce travail est une initiation à la méthodologie de la surveillance sanitaire des zones conchylicoles par le dénombrement des indicateurs bactériologiques de contamination fécale, notamment *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive, des mollusques bivalves du littoral méditerranéen oriental du Maroc.

La recherche des indicateurs bactériologiques de contamination fécale montre une très faible présence d'*Escherichia coli* dans la région étudiée.

En générale, le taux maximal de contamination fécale de la moule méditerranéen est observé dans le point I de la zone Cala Iris, mais qui reste toujours inférieur au seuil déclaré par le règlement.

Les analyses de surveillance sanitaire de cette zone au cours de l'année 2015 ont montré que le zone est classée catégorie B avec une contamination par *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive entre 230 et 4600 UFC/100 g de CLI avec 18% de la totalité des échantillons des moules analysés. (INRH/DQSMM-Bulletin de surveillance sanitaire des zones de production conchylicole, année 2015.75p)

Comparé aux autres types d'espèces étudiés de la méditerranée, par exemple la petite praire : *Chamelea gallina* de la zone conchylicole Saïda-Ras El Ma. L'étude montre des valeurs d'E. Coli élevées pendant le mois d'octobre 2011, avec 700 UFC/100g CLI au niveau du point 3 (Foum el Oued) et 460 UFC/100g CLI au niveau du point 2 (Bouyahyaten) (LAYACHI M. et al, 2014). Ces taux de contamination sont le résultat de la proximité de l'embouchure d'oued Moulouya qui draine la totalité des contaminants issus de l'activité agricole pratiquée le long du bassin versant (aviculture, élevage bovin et ovin...) et des rejets urbains des villes intérieures Berkane et Zaïo.

Dans notre étude, Les niveaux de contaminations enregistrés dans la zone Cala Iris seraient dus principalement aux déchets des animaux élevés résultant des activités de pâturage et de volaille, ainsi qu'aux déchets résultant des activités portuaires et des navires dans la région. Actuellement, une station d'épuration est en train de voir le jour au niveau de cette zone d'étude, ce qui peut améliorer la qualité microbiologique des moules.

## Conclusion Générale

Le Maroc, pays de la rive méditerranéenne, représente une des régions du littoral les plus poissonneuses, dont les ressources halieutiques constituent un potentiel économique et social important.

La collecte de mollusques bivalves est une des activités les plus appréciées par la population de ces côtes.

Les mollusques sont par excellence des organismes filtreurs. Ils sont de ce fait sensibles à toute forme de pollution et peuvent concentrer des germes et des microorganismes susceptibles de provoquer des toxi-infections chez le consommateur.

Ainsi, la protection de la santé du consommateur et l'assurance de la salubrité des zones de production conchylicoles sont parmi les objectifs de la surveillance des zones d'élevage des coquillages.

Dans ce travail, on a eu l'occasion d'examiner la qualité microbiologique des mollusques bivalves, notamment, la moule méditerranéenne : *Mytilus galloprovincialis* de la zone côtière d'Al Hoceima Cala Iris pendant le mois de Mai 2019.

Cet examen bactériologiques porte sur le dénombrement des microorganismes indicateurs de contamination fécale, particulièrement, *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive, dans trois échantillons de moule méditerranéenne au niveau de trois points différents de la zone conchylicole Cala Iris.

Les moules méditerranéennes étudiées montrent une valeur de contamination par *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidase positive de 40 UFC par 100 g de chair et liquide inter valvaire de coquillages. Cette valeur qui reste inférieure à la valeur seuil fixée par le règlement et donc les résultats de notre étude sont conformes aux normes.

### Perspectives

Les résultats obtenus dans notre étude donnent une idée globale sur la qualité microbiologique des mollusques bivalves analysées pendant la période de mois Mai/2019. Ces résultats restent ponctuels et ne permettent pas de juger l'état de salubrité générale de la zone. Pour pouvoir faire une étude approfondie et complète d'une zone conchylicole, il faut prolonger la durée d'étude et augmenter le nombre d'échantillons.

## Références

### ▪ Références Bibliographiques :

#### A

- Avril JL, Dabrenat H , Denis F , Montreal H 1987. La bactériologie clinique. 2ème édition section IV.
- Avril JL, Montreal H, Dobrant H, Denis F 2006. Bacteriologie clinique. Edition ELLIPSE.

#### B

- Belomaria M, Aboussaleh Y, Ahami, A.O.T, Bouazza O, Mahly M, Khayati Y 2010, Evolution des toxiinfections alimentaires collectives dans la région du Gharb-Chrarda-Bni Hsein au Nord Ouest du Maroc. Antropo, 21, 79-84.
- Benzaoui Mohamed Yacine 2010. Mésure du stress sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1918). Mémoire de Master en Sciences de l'Environnement.
- Bigot Aurélie, 2009. Identification et étude de l'expression de gènes de détoxification chez les bivalves d'eau douce *Unio tumidus* et *Corbicula fluminea* : Approches en laboratoire et en milieu naturel. Mémoire de doctorat.
- Blandin P, 1986. Bi-indicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. Bulletin d'Ecologie, 17(4) : 215-307.
- Bornert G, 1998. Les micro-organismes indicateurs de contamination fécale de l'eau et des aliments. La Revue de Médecine Vétérinaire, 149(7) :727-738.
- Boumaras Mouhamed 2008, évaluation de la toxicité des moules (*Mytilus galloprovincialis*) issues de Jorf Lasfar (JL) et Oualidia (OL) sur la moelle osseuse chez le rat. Mémoire de DESA.

#### C

#### D

#### E

- Etude aquaculture FENIP-9 juillet 2010- MAROC AQUACULTURE SERVICES, un département de COFREPECHE MAROC.

#### F

- Franchimont J et Saadaoui M 1998. Etude nationale de la biodiversité. Rapport de synthèse.(Programmes des Nations Unies pour l'Environnement PNUE )

#### G

- Gourmelon M, Derrien A, Crenn I, Loaec S 2002. Dénombrement des coliformes thermotolérants ou des *Escherichia coli* dans des sédiments côtiers vaseux. Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral Département Microbiologie et Phycotoxines (DELIMP).

#### H

#### I

- INRH/DQSMM-Bulletin de surveillance sanitaire des zones de production conchylicole, année 2015.75p

#### J

#### K

## L

- Layachi.M , Bouthir FZ , Benbrahim S , Chiaar A , Chfiri R , El Madani F , Azzaoui Y 2014. Etude de l'état de salubrité bactériologique et chimique du littoral Ras Kebdana-Saïdia (côte méditerranéenne Est marocaine). Mater. Environ. Sci. 5 (S1) (2014) 2176-2183.
- Le Minor L, Buttiaux R, Gaudier B, Le Minor S, Nicolle P,1956. Epidemiologic research on gastroenteritis due to Escherichia coli in a Hospital in Northern France. Arch Mal Appar Dig Mal Nutr. 45(10):225-47.
- Le Minor L, Nicolle P, Buttiaux R , R Chabbert Y , Le Minor S.1954 .Studies on Escherichia coli isolated in infantile gastroenteritis. Ann inst Pasteur.

## N

## O

## P

- Pignault A, Cluzan S, Dehaumont P, Hubert B 1991. Les toxi-infections alimentaires collectives en 1990. Bul. Epidemiol. Hebd. 25,99-106

## Q

## R

## S

- Seed R 1972. Morphological variations in *Mytilus* from the French coasts in relation to the occurrence and distribution of *M. galloprovincialis* Lamarck 1819. Cah. Biol. Mar. 13(3): 357-384
- Servais P, Garcia-Armisen T, Lepeuple A.S. and Lebaron P. An early warning method to detect fecal contamination of river waters. Annals of Microbiology 2005;55(2):67-72.

## T

## U

## V

## W

## Z

### ▪ **Références webographies:**

[www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0](http://www.anda.gov.ma/fr/secteur-aquacole-marocain-0)

<http://ma.chm-cbd.net/biodiversity>

<http://www.onp.ma/>

<http://www.fao.org>

[www.inrh.ma](http://www.inrh.ma)

<http://www.houtbladi.ma/index.php/fr/sante-et-nutrition/a-votre-sante-consommer-marocain/les-coquillages-marocains-au-menu/la-moule-marocaine>

[http://www.solabia.com/Divisao\\_9/BIOKAR-Diagnostics.html](http://www.solabia.com/Divisao_9/BIOKAR-Diagnostics.html)

[http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item73\\_MRY/indexI1.htm](http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item73_MRY/indexI1.htm)

<http://www.who.int/fsf>

<https://www.iso.org/fr/standard/56824.html>

## Annexe 1 :

### **Tryptone-Sel :**

Diluant destiné à la préparation des suspensions-mères de lait en poudre et concentrés, de produits laitiers et d'autres produits alimentaires en vue de leur analyse microbiologique.

Egalement utilisé pour effectuer les dilutions décimales.

Composition (g) pouvant être modifiée pour un litre de milieu :

Tryptone : 1,0.

Chlorure de sodium : 8,5.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

## Annexe 2 :

### **Bouillon au Glutamate :**

C'est un milieu de culture utilisé pour la recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux dans la gélatine alimentaire. Il convient également pour la recherche présomptive et le dénombrement des coliformes totaux, des coliformes thermotolérants ainsi que des *Escherichia coli* présumés par la méthode du nombre le plus probable dans les eaux.

Enfin, il est aussi adapté à la numération des *E. coli* β-Glucuronidase positive dans les produits alimentaires par la technique NPP décrite dans la spécification technique XP ISO/TS 16649-3 (V 08-031-3) (en particulier lorsque leurs cellules se trouvent dans un état physiologique précaire du fait de leur exposition à des stress de type congélation, déshydratation, désinfection ou salinité marine).

## Annexe 3 :

### **La gélose TBX :**

C'est un milieu sélectif destiné au dénombrement des *Escherichia coli* β-Glucuronidase positive dans les produits alimentaires. Le résultat est obtenu directement par comptage des colonies caractéristiques après seulement 24 heures d'incubation, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer une étape de confirmation.

➤ PRINCIPES

Les sels biliaires inhibent la croissance des microorganismes à Gram positif et favorisent la récupération des *Escherichia coli*.

Le BCIG (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronique) est un substrat chromogène. La plupart des souches d'*Escherichia coli* possédant une  $\beta$ -Glucuronidase agissent par clivage du BCIG, entraînant la coloration des colonies en bleu.

Il est important de noter que tous les *Escherichia coli* ne possèdent pas de  $\beta$ -D-Glucuronidase et en particulier le sérotype entérohémorragique O 157:H7 qui présente des colonies blanches.

L'incubation réalisée à 44°C et impérativement limitée à 24 heures permet d'inhiber la croissance de la majorité des microorganismes contaminants.