



Institut des  
Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Contribution à la contamination des moules par les bactéries du  
genre *Vibrio***

Présenté par  
**Meriouma Nour El Houda**  
Et  
**Taleb Abdeldjalil**

**Devant le jury :**

<b>Président(e) :</b>	Razali Kahina	MAB	ISV BLIDA
<b>Examinatrice :</b>	Aiza Asma	MAB	ISV BLIDA
<b>Promotrice :</b>	Arab Sonia	MAB	ISV BLIDA
<b>Co-promoteur :</b>	Meziane Noureddine	Chercheur	CNRDPA

**Année universitaire : 2016/2017**

## **Remerciements**

*Nous tenons d'abord à remercier « **ALLAH** » le tout puissant de nous avoir accordé la santé, le courage, la patience et la volonté d'arriver au terme de ce travail ;*

*Nos vifs remerciements et notre très grande reconnaissance s'adressent tout particulièrement à :*

*Aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer et de juger le présent travail, Mme Razali Kahina, maître assistant à l'ISV de Blida, en qualité de présidente et Aiza Asma, maître assistant à l'ISV de Blida en qualité d'examinatrice ;*

*Notre promotrice **Mme ARAB Sonia** pour sa disponibilité, ses orientations, ses encouragements, ses critiques constructives et ses conseils judicieux qu'elle n'a cessé de nous prodiguer pour diriger avec succès ce présent travail ;*

*Notre Co promoteur **Mr MEZIANE Noureddine** chercheur du CNRDPA, pour son aide et son soutien précieux, pour avoir mis à notre disposition les prélèvements de moules, tout au long de notre travail ;*

*Et*

***Mr MERIOUMA Salah** chercheur retraité du CNRDPA (Centre National de la Recherche et Développement de la Pêche et l'Aquaculture), pour son aide précieuse, ses conseils judicieux, ses encouragements et son soutien moral et surtout pour nous avoir fourni les prélèvements de moules et le matériel nécessaire, sans qui ce travail n'aurait jamais été possible ;*

***Mr BOUDJENAH Mustapha** directeur du centre conchylicole de Bouïsmail pour son aide et ses encouragements et aussi pour avoir mis à notre disposition les prélèvements de moules et le matériel nécessaire*

*à la réalisation de ce présent mémoire ; qui nous a été réservé lors de nos travaux ;*

*A ces deux êtres si agréables, si généreux et si aimables, nous disons :  
MERCİ INFINIMENT !*

*Nous ne saurions être complets sans remercier tout le personnel du laboratoire du CNRDPA de Bou Ismail, pour leur sympathie, leur accueil chaleureux, les bons moments que nous avons passés avec eux nous ont procuré de la stabilité qui nous a permis d'avancer dans notre travail. C'est grâce à ce petit laboratoire où nous avons trouvé des conditions de travail optimales que nous avons pu finaliser ce mémoire;*

*Comment passer plus loin sans remercier **Mr TEFARI Djamel** du laboratoire d'hygiène de Blida, d'avoir mis à notre disposition le matériel adéquat et pour ses encouragements tout au long de la réalisation de ce présent travail, qu'il trouve ici nos grands et vifs remerciements ;*

*Notre gratitude va également à **Mme TALEB Norcadre** au parc national du Djurdjura, pour nous avoir fourni de la documentation nécessaire à la réalisation de ce présent travail ;*

*Nous remercions tout le personnel du département des sciences vétérinaires en particulier les enseignants pour leur remarquable contribution à notre formation depuis notre première année ;*

*En fin, nous voudrions exprimer nos remerciements les plus profonds et toute notre reconnaissance la plus sincère à toutes les personnes ayant à des titres divers contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce mémoire.*

## **DEDICACE**

*Nous dédions ce travail à :  
Nos chers parents, frères et sœurs pour leurs  
encouragements incessants, leur confiance et leur patience, lors des  
moments les plus difficiles, nous leur exprimons notre sincère  
gratitude ;*

*Et*

*A nos chers amis.*

## Résumé

Les fruits de mer et leur environnement (eau de mer) constituent un risque majeur de toxico-infections alimentaires et de maladies liées aux espèces de vibrio dont les répercussions peuvent parfois devenir graves et mortelles pour le consommateur.

L'incidence réelle des maladies provoquées par la consommation des produits de la mer est inconnue en Algérie. Ainsi l'absence de système de surveillance et de contrôle peut favoriser l'apparition de nombreuses pathologies chez l'homme, engendrant un réel problème de santé publique. Ces différents aspects ont suscité l'intérêt de réaliser cette étude en vue d'évaluer l'incidence de la contamination des mollusques bivalves par *Vibrio* spp.

Au total 105 échantillons (100 moules et 5 eau de mer) ont été prélevés pour faire des analyses microbiologiques. Les résultats obtenus montrent que *vibrio alginolyticus* a été isolé à partir de 2 échantillons de moules, un prélevé en mois de Avril et l'autre en mois de mai dans la région de Bou Ismail (le vivier), à une prévalence de 1.90%.

Aucune contamination bactérienne n'a été détectée dans les échantillons d'eau de mer par les espèces du genre vibrio. Nous avons pu isolés des bactéries autres que vibrio spp sur GNAB tels que : *Pseudomonas Aerogenosa* (1.90%), *Pseudomonas Fluorescens/Putida* (0.95%), *Citrobacter Braakii* (2.85%), *Citrobacter Frundii* (1.90%), *Proteus Mirabilis* (0.95%), *Proteus Vulgaris* (2.85%), *Aeromonas Hydrophila* (2.85%), *Pasteurella Pneumotropica* (0.95%), *Pasteurella Multocida 2* (0.95%).

En effet, la diversité de ces espèces bactériennes démontre l'importance de ce genre d'études dans les milieux aquacoles aussi bien marin que d'eau douce, afin d'évaluer le risque sanitaire lié à la manipulation ou à la consommation de ces produits crus ou mal cuits.

**Mots clés** : vibrio, moules, contamination ; Algérie.

## Abstract

Seafood and their environment (sea water) constitute a major risk of food poisoning and diseases related to vibrio species. The impact can be severe and fatal to the consumer.

The actual incidence of diseases caused by the consumption of sea food is unknown in Algeria. The absence of a surveillance and control system can favor the emergence of much pathology in humans, creating a real public health problem. We carried out this study in order to evaluate the incidence of contamination of bivalve shell fish by *Vibrio* spp.

105 samples (100 mussels and 5 seawater) we recollected for microbiological analyzes. The results obtained show that *Vibrio alginolyticus* was isolated from two samples of mussels, one taken in April and the other in May in the Bou Ismail area (the Vivier), with a prevalence of 1.90%.

No bacterial contamination was detected in seawater samples by species of the genus vibrio. We were able to isolate bacteria other than vibrio spp on GNAB such as: *Pseudomonas Aerogenosa* (1.90%), *Pseudomonas Fluorescens/Putida* (0.95%), *Citrobacter Braakii* (2.85%), *Citrobacter Frundii* (1.90%), *Proteus Mirabilis* (0.95%), *Proteus Vulgaris* (2.85%), *Aeromonas Hydrophila* (2.85%), *Pasteurella Pneumotropica* (0.95%), *Pasteurella Multocida 2* (0.95%).

The diversity of these bacterial species shows the importance of this type of study in aquaculture environments (marine and freshwater), in order to assess the health risk associated with the handling or consumption of raw or uncooked products.

Key words: vibrio, mussels, contamination; Algeria.

## ملخص

تمثل المأكولات البحرية وبيئتها (مياه البحر) خطرا كبيرا من حيث التسمم الغذائي والأمراض المتعلقة بأنواع "الضمة" فتداعياتها يمكن أن تكون خطيرة وتهدد الحياة المستهلك.

الأثر الفعلي من الأمراض الناجمة عن استهلاك المأكولات البحرية غير معروف في الجزائر. كما ان غياب نظام للرصد والمراقبة يمكن أن يعزز ظهور العديد من الأمراض لدى الانسان ، مما يؤدي إلى مشكلة حقيقية في الصحة العمومية. كل هذا دفعا للقيام بإجراء هذه الدراسة المتعلقة بتقييم تأثير التلوث على الرخويات.

إجمالا اتخذت عينة تتكون من 105 مفردة (100 بلح البحر و 5 من مياه البحر) للتحليل الجرثومي. وأظهرت النتائج أن الضمة ألبينوليتيكوس تم عزلها ابتداء من عينتين من بلح البحر و التي تم جمعها خلال شهر أبريل و ماي في منطقة بواسماعيل بنسبة 1.90 % و تم الكشف عن عدم وجود تلوث بكتيري في عينات مياه البحر من الأنواع "الضمة" و قد تمكنا من عزل نوع اخر من البكتيريا على GNAB مثل :

الزائفة الزنجارية (1.90%) , الزائفة المتألقة/الكريهة(0.95%) , الليمونية البراكية (2.85%) , الليمونية الفروندية (1.90%) , المتقلبة الرائحة (0.95%) , المتقلبة العادية (2.85%) , الايرومونات الهيدروفيلية (2.85%) , الباستوريلا الرئوية (0.95%) و الباستوريلا القاتلة (0.95%).

و بالتالي فإن هذا التنوع في الأنواع البكتيرية يدل على أهمية مثل هذه الدراسات في بيئات تربية الأحياء المائية (البحرية والمياه العذبة)، لتقييم المخاطر الصحية المرتبطة بمناولة أو باستهلاك منتجاتها النيئة أو غير المطبوخة جيدا

كلمات البحث : الضمة ، تلوث بلح البحر , الجزائر.

## Sommaire

Résumé.....	
Abstract .....	
ملخص.....	
Liste d'abréviations .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures .....	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur les mollusques.....</b>	<b>2</b>
I-1 Caractéristiques des mollusques.....	2
I-2 Les bivalves.....	3
I.3- Phylogénie de la moule .....	3
I-3-1 <i>Mytilus edulis</i> (moule commune) .....	3
I-3-2 <i>Mytilus galloprovincialis</i> (moule de Méditerranée) .....	4
I-3-3 <i>Mytilus californianus</i> (moule de Californie) .....	4
I-4 Généralités sur la moule ( <i>Mytilus galloprovincialis</i> ) .....	4
I-4-1 Morphologie et anatomie .....	4
I-4-1-1 Morphologie .....	4
I-4-1-1-1 Aspect extérieur .....	5
I-4-1-1-2 Aspect intérieur .....	5
I-4-1-2 Anatomie .....	6
I-4-2 Ecologie .....	8
I-4-2-1 Répartition géographique .....	8
I-4-2-2 Répartition bathymétrique .....	9
I-4-3 Alimentation .....	9
I-4-3-1 Régime alimentaire .....	9



I-4-3-2 Filtration .....	10
I-4-4 Reproduction .....	10
I-4-4-1 Anatomie de l'appareil reproducteur .....	10
I-4-4-2 Reconnaissance des sexes .....	11
I-4-4-3 Vie larvaire et croissance .....	12
<b>Chapitre II : La bactérie Vibrio.....</b>	<b>14</b>
II-1 Historique .....	14
II-2 Taxonomie .....	16
II-3 Les caractéristiques morphologiques .....	17
II-4 Les Caractéristiques biologiques .....	17
II-5 Variétés des espèces du genre <i>Vibrio</i> pathogènes a l'homme .....	18
II-5-1 <i>Vibrio cholerae</i> .....	18
II-5-2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	19
II-5-3 <i>Vibrio vulnificus</i> .....	19
II-6 Ecologie et facteurs de développement .....	20
II-6-1 <i>Vibrio cholerae</i> .....	20
II-6-2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	21
II-6-3 <i>Vibrio vulnificus</i> .....	22
II-6-4 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	22
II-7 Réservoirs .....	23
II-7-1 L'Homme .....	23
II-7-2 L'environnement .....	23
II-7-3 Les animaux .....	24
II-8 Facteurs de virulence et pathogénie .....	24
II-8-1 <i>Vibrio cholerae</i> .....	24
II-8-2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	25

II-8-3 <i>Vibrio vulnificus</i> .....	26
II-8-4 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	26
II-9 Caractéristiques cliniques et la voie de contamination des vibrions .....	26
II-9-1 <i>Vibrio cholerae</i> 01 .....	27
II-9-2 <i>Vibrio cholerae</i> non 01 .....	27
II-9-3 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	28
II-9-4 <i>Vibrio vulnificus</i> .....	28
II-9-5 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	29
II-10 Diagnostique des vibrio .....	29
II-11 Prophylaxie .....	29
<b>Chapitre III : Partie expérimentale.....</b>	<b>31</b>
III-1 Matériels et méthodes .....	31
III-1-1 Matériel biologique .....	31
III-1-2 Matériel de laboratoire .....	31
III-1-3 Site d'étude .....	32
III-1-3-1 ORCA MARINE (ainTaya) .....	32
III-1-3-2 Bateau cassé (Bordj El Kiffan) .....	33
III-1-3-3 Bou Ismail (le vivier) .....	33
III-1-3-4 Damous (Sidi El Djillali) .....	34
III-1-4-L'Echantillonnage .....	35
III-1-5 Les prélèvements .....	35
III-1-6 Protocole d'analyse microbiologique .....	36
III-1-7 Protocole pour la détection de <i>Vibrio</i> spp .....	36
III-1-7-1 moules .....	36
III-1-7-2 Eau de mer .....	38
III-2 Résultats .....	39

<b>III-2-1 Caractères bactériologique et biochimiques des bactéries isolées sur milieu GNAB .....</b>	<b>40</b>
<b>III-2-1-1 Caractères biochimiques et microbiologiques de Vibrio</b>	
<b>Alginoalyticus isolées sur milieu GNAB .....</b>	<b>40</b>
<b>III-2-1-2 Caractères biochimiques et microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB .....</b>	<b>42</b>
<b>III-2-1-3 Caractères biochimiques des bactéries sur milieu TSI .....</b>	<b>46</b>
<b>III-3 Discussion .....</b>	<b>47</b>
<b>III-3-1 Vibrion .....</b>	<b>47</b>
<b>III-3-1-1 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....</b>	<b>47</b>
<b>III-3-2 Les bactéries autres que vibrio spp isolés .....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>50</b>
<b>Recommandations .....</b>	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>52</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>59</b>

## Liste des abréviations

NAG : Non Agglutinating Vibrio

NCV : Non Cholera Vibrio

NaCl : Chlorure de sodium

TCBS: Thiosulfate-Citrate-Bile Salt-sucrose agar

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

TDH: Thermostable Direct Hemolysin

TRH: TDH-Related Hemolysin

CT : Toxine cholérique

ADP : Adénosine Di-phosphate

TCP : Toxin-Coregulated Pilus

ADN : acide désoxyribonucléique

EPA : Eau Péptonée Alcaline

GNAB : Gélose Nutritive Alcaline Biliée

TSI : Triple Sugar Iron

LDC : lysine décarboxylase

ODC : ornithine décarboxylase

ADH : arginine dihydrolase

CNRDPA : Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

ENSP : Ecole Nationale de la Santé Publique

CNRVC : Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra

ONPG : Orthonitrophényl- $\beta$ -galactoside

H<sub>2</sub>S : hydrogène sulfuré

VBNC : Viable But Non Culturable

## Liste des tableaux

**Tableau II-1** : Les 51 espèces du genre *Vibrio* (Fournier et Quilici, 2002).

**Tableau II-2** : Facteurs de développement de *Vibrio cholerae* (Madden J.M. et Mc Cardell B.A, 1989).

**Tableau II-3**: Facteurs de développement de *Vibrio parahaemolyticus* (Twedt R.M, 1989)

**Tableau II-4** : Facteurs de développement de *Vibrio vulnificus* (Oliver J.D, 1989).

**Tableau II-5**: Pathologies associées à différentes espèces de *Vibrio* (Pavia AT., 1989).

**Tableau III-1** : résumé de la méthode d'échantillonnage.

**Tableau III-2** : comparaison des résultats de la mini galerie entre les Vibrions, les Pleisiomonas et les Aéromonas

**Tableau III-3** : Les résultats de la recherche qualitative des vibrions chez les moules et l'eau de mer.

**Tableau III-4** : caractères microbiologiques de *Vibrio Alginolyticus*

**Tableau III-5** : caractères biochimiques de *Vibrio Alginolyticus*

**Tableau III-6** : Résultats de La mini galerie de la bactérie *Vibrio Alginoliticus*

**Tableau III-7**: Les caractères microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB.

**Tableau III-8** : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB.

**Tableau III-9** : Les caractères biochimiques sur les acides aminés (mini galerie) des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB.

**Tableau III-10** : caractères microbiologiques des bactéries autres que vibrio sur milieu TSI

## Liste des figures

**Figure I-1** : les classes de mollusques descendraient toutes d'un ancêtre commun hypothétique (Purchon, R. D. 1968)

**Figure I-2** : Morphologie de *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*

**Figure I-3** : Morphologie de *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

**Figure I-4**: aspect intérieur d'une moule

**Figure I-5** : coupe de la coquille

**Figure I-6** : face interne des valves (de W.Deconinck, 1971).

**Figure I-7** : Aire de répartition géographique de *Mytilus galloprovincialis* selon (Hosmi, 1978).

**Figure I-8** : Anatomie de l'appareil reproducteur de *Mytilus galloprovincialis*

**Figure I-9** : Morphologie simplifiée des grandes étapes de développement larvaire de *Mytilus* sp. (Seed, 1987).

**Figure III-1** : Image satellitaire montrant le positionnement de la commune d'Ain Taya.

**Figure III-2** : Localisation géographique du site viviers (Centre Conchylicole baie de Bou-Ismaïl).

**Figure III-3** : Carte des moulières naturelles du littoral algérois.

**Figure III-4** : Image satellitaire montrant le positionnement de la commune de Damous

## INTRODUCTION

Les produits de la pêche entrent de manière significative dans la diète alimentaire et constituent, pour certains pays, la source majeure de protéines d'origine animale. Le secteur de la pêche est également une source d'emplois et d'échanges extérieurs. Malgré cette importance socio-économique, les produits de la pêche sont les vecteurs d'une multitude de maladies d'étiologie bactérienne, virale, parasitaire et toxique (Agro Vet Magazine, 1997).

Au sein des produits de la pêche, les mollusques bivalves et plus précisément les moules sont très appréciées chez les consommateurs en Algérie. Ce sont des filtreurs qui accumulent de manière biologique des micro-organismes pathogènes et des substances toxiques. Il en résulte de nombreuses toxi-infections alimentaires dues à l'ingestion de ce type d'aliments. Parmi les agents responsables de maladies et de toxi-infections alimentaires, les vibrios constituent dans de nombreux pays un réel problème de santé publique en raison de la consommation accrue de produits de la mer (China, B et al ; 2003).

Malgré ces risques potentiels, la recherche et l'importance de vibrios comme contaminants potentiels des produits de la mer reste inconnue en Algérie ; C'est pour répondre à cette préoccupation que nous avons entrepris cette étude qui comporte deux parties distinctes :

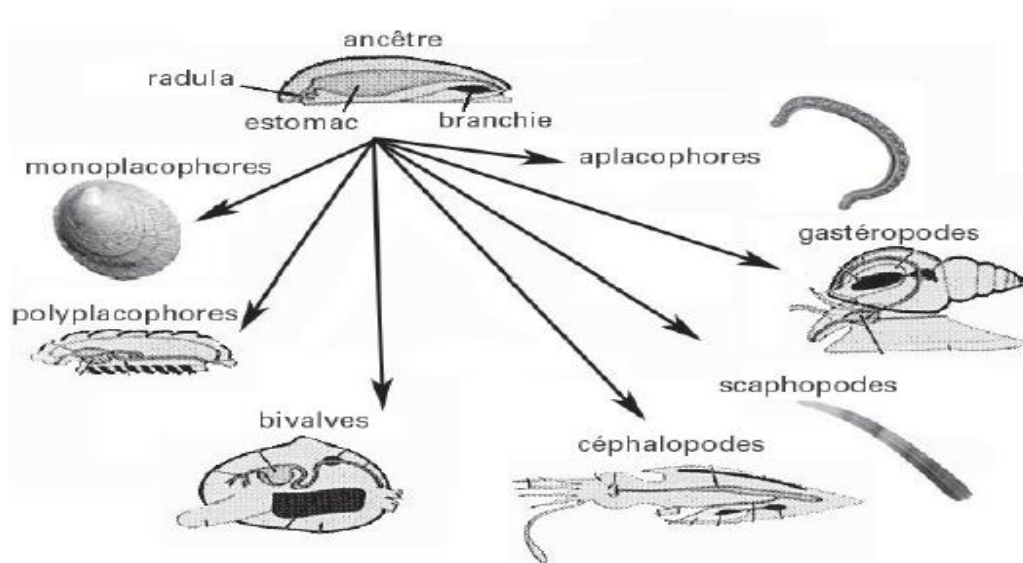
Une partie bibliographique qui synthétise des généralités sur les mollusques bivalves et les données relatives aux espèces de vibrios et une partie pratique qui a pour objectifs dans un premier temps de rechercher la présence des vibrios dans les moules et l'eau de mer dans une ferme d'élevage de moule à ORCA Marine à Ain Taya et deux moulières naturelles situées l'une à Damous et l'autre au vivier de Bou Ismail, et d'identifier les souches isolées et de les caractériser et dans un deuxième temps d'identifier et de caractériser d'autres bactéries isolées sur milieu GNAB.

## Chapitre I : Généralités sur les mollusques

**I-1 Caractéristiques des mollusques :** (Purchon, R. D. 1968) Les mollusques possèdent un corps mou qui, la plupart du temps, est protégé et renforcé par une coquille. Ils sont caractérisés par une symétrie bilatérale. Leur corps peut être divisé en trois parties principales : un pied musculueux qui sert habituellement aux déplacements, une masse viscérale qui contient la plupart des organes internes, un manteau qui recouvre la masse viscérale et peut sécréter une coquille. Chez de nombreux mollusques, le manteau se prolonge et forme un compartiment rempli d'eau, appelé cavité palléale, dans lequel baignent les branchies, l'anus et les pores excréteurs.

Un grand nombre de mollusques utilisent une radula, langue rugueuse en forme de râpe, pour ramasser leur nourriture. La plupart des mollusques sont marins mais certains vivent aussi en eau douce et sur la terre ferme.

On a décrit plus de 180 000 espèces de mollusques dont 130 000 vivantes. Actuellement, ce groupe présente une énorme variété d'espèces. On distingue les classes suivantes (figure I-1) : Aplacophores, mono-placophores, polyplacophores, scaphopodes, bivalves (lamellibranches), gastéropodes et céphalopodes.



**Figure I-1 :** les classes de mollusques descendraient toutes d'un ancêtre commun hypothétique. (Purchon, R. D. 1968)



## **I-2 Les bivalves :** (Purchon, R. D. 1968)

La caractéristique principale de cette classe est une coquille faite de deux valves reliées par une charnière. Le corps est comprimé latéralement et enveloppé dans le manteau. Les bivalves ne possèdent ni tête, ni radula. Les sexes sont différenciés. La plupart sont des organismes filtreurs et mènent donc une vie plutôt sédentaire. La classe des bivalves (huître, moule, palourde...) comprend 31 000 espèces décrites dont 20 000 vivantes. L'espèce la plus grande est le bénitier, *Tridacta gigas*, qui peut mesurer jusqu'à 135cm. La moule est incontestablement le représentant le plus connu de ce groupe.

## **I.3- Phylogénie de la moule :**

Position systématique : On se base sur les caractères définis par (Lubet, 1959).

**Embranchement** : *Mollusques*.

**Classe** : *Lamellibranches*.

**Ordre** : *Filibranches*.

**Sous ordre** : *Anisomyaria*.

**Super famille** : *Mytiloidea*.

**Famille** : *Mytilidea*.

**Sous famille** : *Mytilinae*.

**Genre** : *Mytilus*.

**Espèces** : *Mytilus edulis*

*Mytilus galloprovincialis*

*Mytilus californianus*

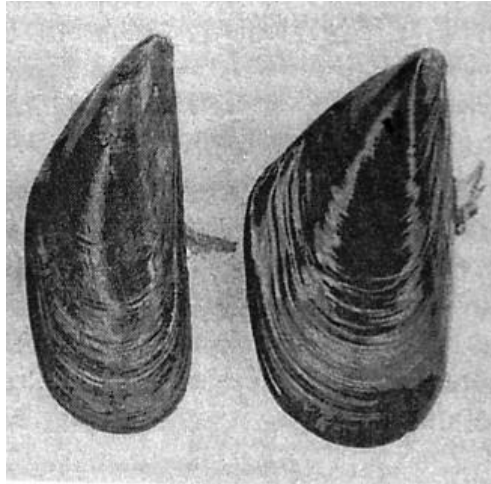
### **I-3-1 *Mytilus edulis* (moule commune) :**

La moule commune se rencontre dans les zones des marées des mers tempérées des hémisphères nord et sud.

La taille adulte varie de 5 à 12cm et peut atteindre exceptionnellement 22cm.

### **I-3-2 *Mytilus galloprovincialis* (moule de Méditerranée) :**

L'aire de répartition de la moule de Méditerranée s'étend de la Norvège à la mer Méditerranée. Son habitat est identique à celui de la moule commune, toute fois elle affectionne les zones rocheuses.



**Figure I-2 :** Morphologie de *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*

L'*edulis* se distingue par une coquille plus allongée sur laquelle courent de fines bandes violacées, le bord du manteau est jaune-brun, alors qu'il est violacé pour la *galloprovincialis*. (BOMTIS & XAVIER ,1991).

### **I-3-3 *Mytilus californianus* (moule de Californie) :**

La moule de Californie est présentée de l'Alaska jusqu'au sud de la Californie jusqu'à une profondeur de 24m. Le plus grand spécimen peut atteindre 25cm de long.

## **I-4 Généralités sur la moule (*Mytilus galloprovincialis*) :**

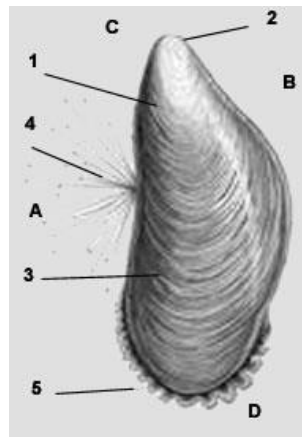
### **I-4-1 Morphologie et anatomie :**

#### **I-4-1-1 Morphologie :**

#### I-4-1-1-1 Aspect extérieur :

La coquille est plus ou moins renflée, et possède une extrémité pointue et une arrondie, elle comprend aussi deux valves, droite et gauche égales. La couleur est généralement bleue noir, peut toutefois être brune voir jaune (Quero et al, 1998).

Les deux valves sont unies par un ligament situé le long de la charnière dorsale. La partie antérieure du mollusque correspond à l'extrémité rétrécie (le crochet) de la coquille. On peut observer à partir du crochet de fines stries concentriques qui sont des stries d'accroissement représentant les étapes de croissance de l'animal (Marteil, 1976). La taille commune de la moule varie entre 5 et 8 cm; avec un maximum de 15cm.



**Figure I-3 :** Morphologie de *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

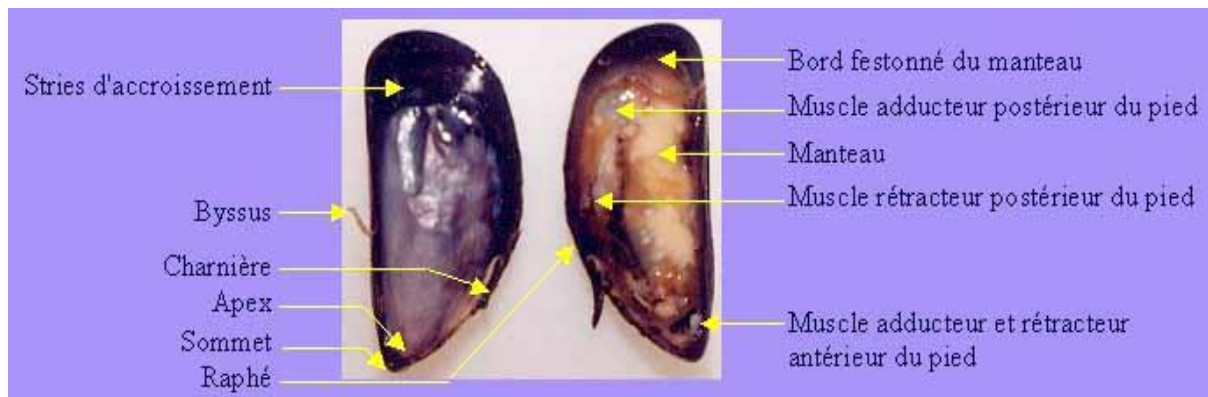
- |                      |                            |
|----------------------|----------------------------|
|                      | 1 = valve gauche           |
| A = face ventrale.   | 2 = crochet                |
| B = face dorsale.    | 3 = strie d'accroissement. |
| C = côté antérieur.  | 4 = byssus.                |
| D = côté postérieur. | 5 = bord manteau.          |

#### I-4-1-1-2 Aspect intérieur :

La coloration de l'intérieur de la valve est bleu ardoisée très foncée ; presque noire vers les bords postérieurs, et presque blanche sous les crochets (Djediat, 1993).

On peut distinguer les points d'insertion des différents muscles : muscles adducteurs qui relient le corps de l'animal à sa coquille, muscles réacteurs du pied,...etc. L'insertion des

fibres musculaires qui relèvent les bords libres du manteau se traduit par une ligne ou impression parallèle qui joint les impressions des adducteurs (Marteil, 1976).



**Figure I-4:** aspect intérieur d'une moule.

#### I-4-1-2 Anatomie : (Purchon, R. D. 1968)

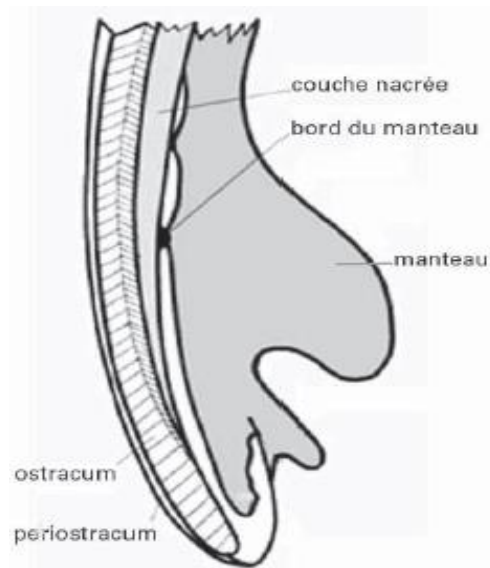
La coquille est formée de deux valves ovales et convexes reliées par une charnière. Celles-ci présentent des stries concentriques, témoins de leur croissance. Le côté postérieur est la partie la plus ancienne de la coquille.

La coquille est constituée de trois couches :

Une couche extérieure sombre et fine (péri-ostracum) protège la coquille contre les acides dissous dans l'eau. Elle est formée d'une protéine, la conchyoline, proche de la chitine présente dans la cuticule des insectes. C'est la même substance qui constitue la charnière.

-Une couche plus épaisse (ostracum), sous la couche extérieure, faite de cristaux prismatiques de carbonate de calcium (calcite) imbriqués dans un réseau protéinique.

-Une couche intérieure de nacre est également constituée de cristaux de carbonate de calcium superposés en plusieurs couches fines et imbriqués dans une trame de conchyoline (aragonite).



**Figure I-5** : coupe de la coquille.

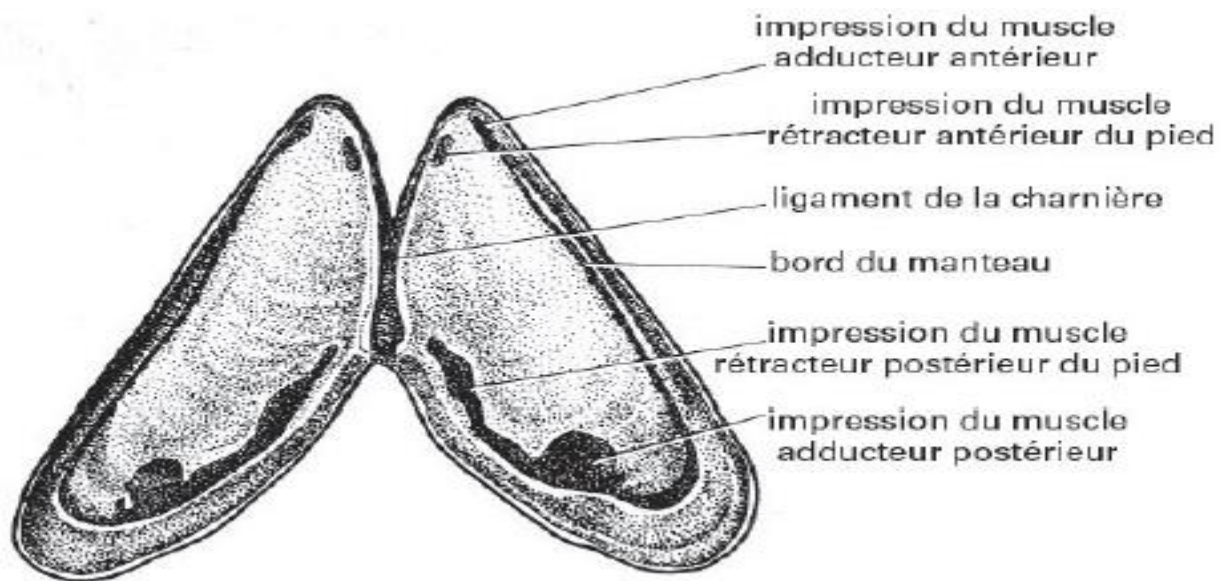
Le bord du manteau sécrète les deux premières couches et assure la croissance en largeur de la coquille, tandis que l'ensemble du manteau produit la couche de nacre et assure la croissance en épaisseur.

Les valves de la coquille sont maintenues fermées par la contraction des muscles : le muscle adducteur antérieur et le muscle adducteur postérieur. Le muscle postérieur est le plus développé. Là où les muscles du manteau se fixent sur la coquille apparaissent des empreintes. L'ensemble de celles-ci est appelé « impression palléale » (Figure I-6).

Quand un corps étranger (grain de sable, parasite...) se niche entre la coquille et le manteau, celui-ci recouvre l'impureté de couches de nacre, ce qui provoque un grossissement local de la coquille et éventuellement la formation d'une perle. La perle proprement dite apparaît quand le corps étranger est entièrement entouré de nacre.

La face externe de la coquille est recouverte d'une mince pellicule brune foncée, de nature protéique que l'on peut aisément gratter avec un couteau : le péri-ostracum (Marteil, 1976).

La nature de la coquille est calcaire, composée de 95% de carbonates de potassium (Marteil, 1976).



**Figure I-6** : face interne des valves (de W.Deconinck, 1971).

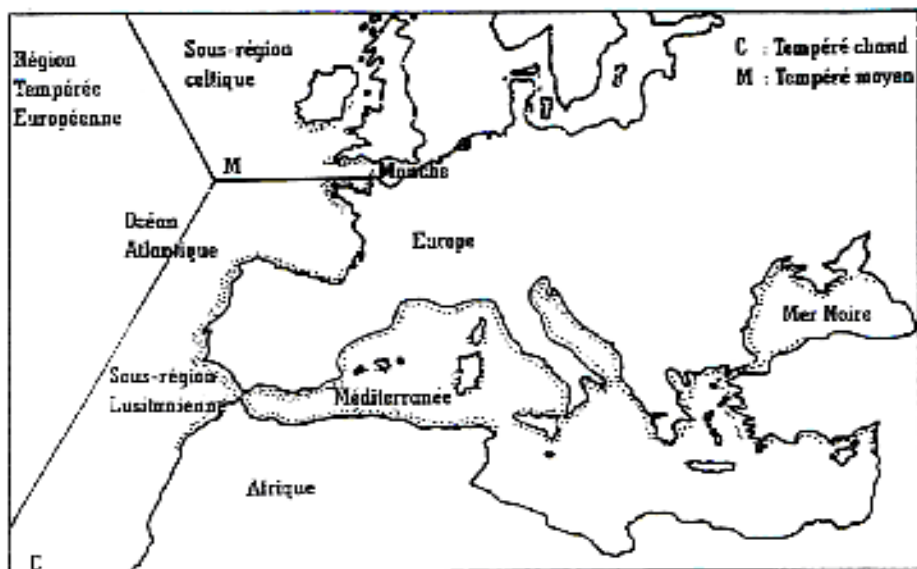
#### **I-4-2 Ecologie :**

##### **I-4-2-1 Répartition géographique :**

La *Mytilus galloprovincialis* possède une aire de répartition géographique très étendue. (Lubet, 1959) a signalé sa présence sur les côtes de la mer noire, l'Adriatique, la méditerranée septentrionale, sur les côtes atlantiques de la France, de l'Espagne, du Portugal et du Maroc et jusqu'à la manche occidentale où semble se terminer son aire d'extension.

Cette espèce est donc Lusitano-méditerranéenne bien qu'elle ait été récoltée en Angleterre, en Allemagne (Lubet, 1973) et au Japon (Hosmi, 1978).

Sur les côtes algériennes, elle cohabite avec l'espèce *Perna perna* et forme des bancs naturels dans des zones assez agitées (Abada-boudjema et al, 1981 ; Boukhroufa, 1987).



**Figure I-7 :** Aire de répartition géographique de *Mytilus galloprovincialis* selon (Hosmi, 1978).

#### **I-4-2-2 Répartition bathymétrique :**

Fixée par son byssus sur des fonds très variés durs (rocheux, graveleux) ou même meubles (sableux, vaseux), dans la zone littorale et à faible profondeur. Forme souvent des communautés denses (Poutiers, 1993) ; donc elle subit les changements extrêmes des conditions environnementales (température, salinité, nourriture, exposition à l'air,.....). La limite supérieure de la distribution de la moule dans la zone intertidale serait principalement déterminée par la durée d'exposition à l'air et l'importance de la dessiccation auxquelles, elle est soumise. On la retrouve exceptionnellement jusqu'à des profondeurs atteignant 20m et plus (Seed, 1976) in (Benchaira et al, 1999) et même 30 à 40m (mer baltique) (Quero et al,1998).

#### **I-4-3 Alimentation :**

##### **I-4-3-1 Régime alimentaire :**

Comme tous les filtreurs, la moule vit aux dépend des particules en suspension dans l'eau (Dardignac-corbeil, 1989). Elle ingère la plupart des particules présentes dans le milieu qui l'entoure : diatomées, dinoflagellés, débris organiques, flagellés et protozoaires divers, spores, fragments d'algues, débris inorganiques...etc. En effet (Desgouille 1969) a remarqué

dans les contenus stomacaux de moules de la rade de Toulon, une prépondérance de diatomées.

#### **I-4-3-2 Filtration :**

Les moules se nourrissent essentiellement de petits éléments en suspension dans l'eau. Ces éléments qu'elles tamisent avec leurs branchies sont des cellules du phytoplancton ou du zooplancton, des bactéries, des fragments d'algues, des détritiques divers. Ce sont aussi des particules qui n'ont aucune valeur nutritive comme la vase, constituée d'éléments très fins que les moules peuvent aisément absorber.

La quantité d'eau filtrée par une moule est très difficile à préciser. Elle varie en effet avec la saison et certains facteurs comme la température et la turbidité de l'eau. Elle dépend également de la taille de la moule et de son état physiologique, en particulier si c'est la période de reproduction. Chez un même individu, elle varie aussi constamment. A cet effet, on peut considérer que la vitesse de filtration d'une moule se situe entre 0,5 et 5 litres par heure, même si des valeurs plus fortes peuvent être observées.

Il serait faux de penser que plus il y a d'éléments en suspension dans l'eau, plus la moule mange et profite. Car, au-delà d'une certaine concentration, elle ne peut pas tout ingérer. Une partie des éléments est écartée de la bouche et rejetée à l'extérieur.

Par ailleurs, la qualité de ces éléments en suspension joue un rôle important. Si l'eau contient une grande proportion d'éléments sans valeur nutritive, comme des grains de sable ou des particules de vase, la moule est obligée de filtrer des quantités très importantes pour récupérer des particules nutritives dont elle a besoin. Celles-ci se retrouvent en quelque sorte « diluées ». Dans ces conditions la moule peut avoir bien du mal à assurer sa ration journalière. Sa croissance est alors ralentie, voire stoppée, et bien souvent, elle maigrit car elle puise son énergie dans ses propres réserves.

#### **I-4-4 Reproduction :**

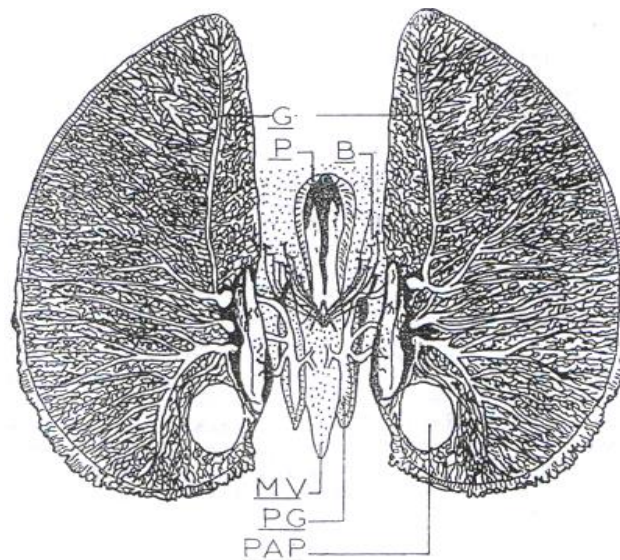
##### **I-4-4-1 Anatomie de l'appareil reproducteur :**

Chez la moule, la glande génitale ou gonade se situe de façon diffuse dans le manteau (Marteil, 1976).



La gonade de *Mytilus galloprovincialis*, (Lamarck, 1819), est constituée de tubules qui débouchent dans des canaux ciliés ramifiés. Elle peut être observée au niveau de la masse viscérale dans la région immédiatement postérieure au pied (Djediat, 1993), (figure I-20).

Ces tubules « gonoductes », forment dans le manteau trois troncs principaux qui confluent dans la région dorsale du corps pour aboutir au gonoducte principal qui s'ouvre dans le processus génital, sous le pied. Ce dernier possède une musculature qui permettrait des mouvements péristaltiques lors de l'évacuation des produits génitaux. Les formations musculaires, dans le manteau autour des tubules spermatiques se limiteraient à quelques myocytes (Haouchine, 1995).



**Figure I-8 :** Anatomie de l'appareil reproducteur de *Mytilus galloprovincialis*.

B : Byssus.

P : Pied.

G : Gonoductes.

PAP : Passage de l'adducteur postérieur.

MV : Masse viscérale.

#### **I-4-4-2 Reconnaissance des sexes :**

Les moules sont des animaux gonochoriques. Cependant quelques rares cas d'hermaphrodisme ont été signalés par (Lubet, 1959) chez *Mytilus edulis*.

Les moules sont dépourvues de caractères sexuels secondaires. Toutefois, en période de maturité, la couleur de la gonade nous permet de déterminer le sexe. Ainsi, la gonade femelle aura des teintes allant du jaune- orangée au rose saumon, tandis que la gonade male sera blanc-jaunâtre (Haouchine, 1995).

Ces critères de coloration se retrouvent chez beaucoup de bivalves, *Mytilus edulis* (Lubet, 1959), *Perna perna* (Boukroufa, 1987). Cette coloration n'est pas suffisante pour pouvoir discerner avec certitude le sexe (Djediat, 1993). Cet examen de couleur de la gonade doit être donc suivi d'un examen microscopique (histologique) pour confirmer que la gonade rose-saumon est femelle et que la gonade blanc-jaunâtre est male. En dehors de la période de maturité, le sexe n'est pas reconnaissable à l'œil nu. In (Atmani et al, 2000).

#### **I-4-4-3 Vie larvaire et croissance :** (figure I-9).

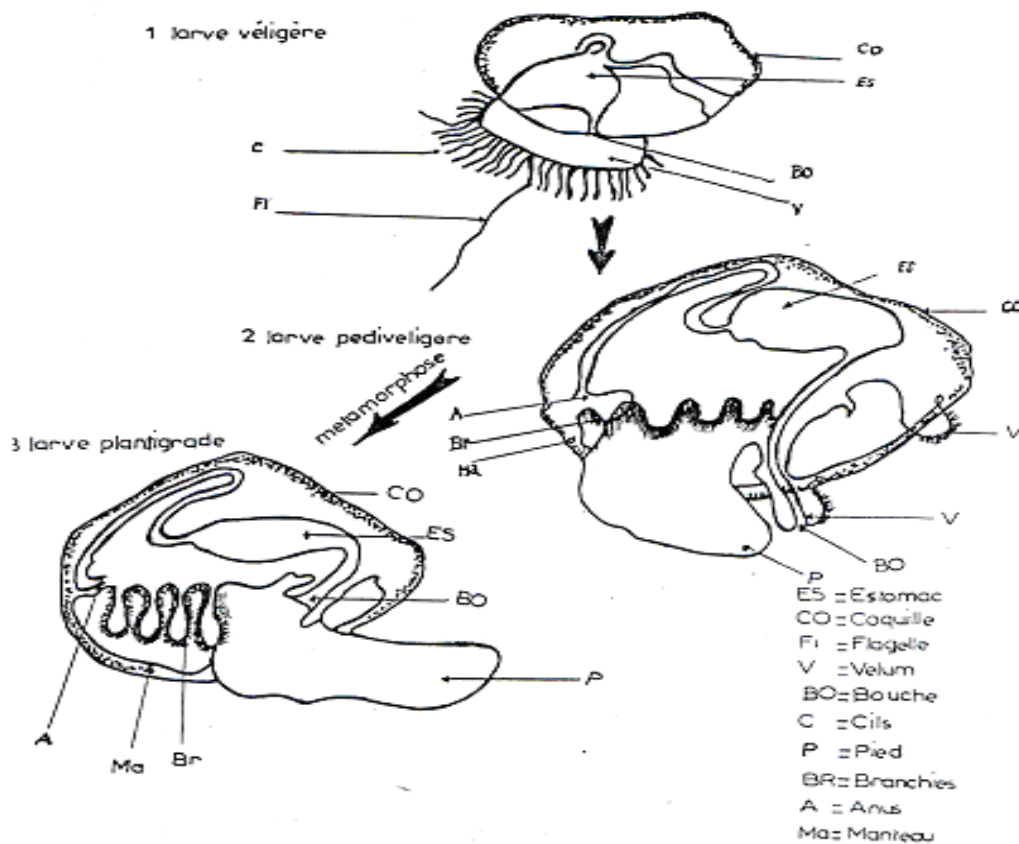
La croissance des mollusques dépend principalement de la richesse en éléments nutritifs du milieu dans lequel ils vivent et des possibilités qu'ils ont d'utiliser cette richesse. Or, divers facteurs, tels la température, la salinité, le PH, la turbidité et le temps d'émersion agissent sur le rythme de la filtration ou sa durée. (Marteil, 1976).

Selon (Bayne, 1976), le développement larvaire est complètement arrêté à 5C°, tandis qu'il faut compter 34 à 38 jours à 11C° et seulement 16 à 20 jours à 16C° avec des conditions optimales de nourriture.

Deux jours après la fécondation les larves véligères ont une morphologie très bien connue ; elles présentent une coquille très fragile et un velum qui leurs permet de nager activement (nage caractéristique en spirale), (Jorgenson ,1946 ; Sullivan, 1948 et Rees, 1950) in (Charlon, 1975). Lorsque la larve atteint 210 µm environ : on voit apparaître successivement le pied, puis deux taches pigmentaires : les « yeux ». Le pied croit rapidement et permet bientôt à la larve de ramper et d'explorer les supports qu'elle rencontre. (Marteil, 1976).

En effet, la métamorphose de la larve prédévilgère en larve plantigrade est caractérisée par des changements importants ; le pied se développe est commence à sécréter des filaments adhésifs du byssus; le vélum et les yeux disparaissent. Il y a aussi apparition de nouvelles structures et réorganisation des organes existants dans la cavité du manteau. A partir de ce moment la jeune moule est désignée par le terme de « naissain ».

Jusqu'à ce qu'elle atteint 400 $\mu$ , la jeune moule vit une période de « fixation primaire » où elle s'attache brièvement aux substrats filamenteux que constituent certaines algues et cordes fibreuses (Seed, 1976). Puis, le jeune naissain traverse une phase migratoire, et à un mois plus tard, à une taille qui dépasse rarement 1,5 mm, une fixation définitive est enfin réalisée (Bayne, 1964) in (Marteil, 1976).



**Figure I-9 :** Morphologie simplifiée des grandes étapes de développement larvaire de *Mytilus* sp. (Seed, 1987).

## Chapitre II : La bactérie Vibrio

### II-1 Historique :

Historiquement, le rôle des vibrions en pathologie humaine a été reconnu en raison du fait que l'un d'entre eux, *Vibrio cholerae*, est à l'origine d'un des fléaux de l'Humanité depuis les temps anciens, le choléra, qui reste une maladie d'importance mondiale. Elle a été reconnue en 1817 lorsqu'elle s'est étendue depuis le sub-continent indien au Moyen-Orient et à l'est de l'Afrique jusqu'en 1823. La deuxième pandémie envahit, de 1829 à 1851, l'Asie, le Moyen-Orient, l'Europe, l'Afrique et l'Amérique du Nord. La troisième pandémie qui s'est déroulée de 1852 à 1859, outre les régions déjà touchées, atteignit aussi l'Amérique Latine. La progression plus rapide de cette troisième pandémie est liée à l'apparition de la propulsion à vapeur utilisée pour les trains et les bateaux. La quatrième pandémie, de 1863 à 1879, bénéficia de l'ouverture du canal de Suez pour faciliter sa progression. La cinquième pandémie qui se déroula de 1881 à 1896 et envahit tous les continents sauf l'Australie, fut marquée par la découverte de l'agent responsable du choléra, le vibron cholérique par Robert Koch en 1883 et 1884. La sixième pandémie envahit l'Asie, le Moyen-Orient, et l'est de l'Europe en 1899 et 1923. Elle n'atteignit pas les pays d'Europe de l'Ouest et d'Amérique qui avaient commencé à élever leur niveau d'hygiène. Nous sommes actuellement dans la huitième pandémie cholérique. *Vibrio cholerae* a été la première espèce du genre *Vibrio* à être décrite par PACINI en 1854, mais c'est Koch qui démontre en 1884 que ce germe est bien à l'origine du choléra (Fournier et Quilici, 2002).

Ce n'est qu'en 1951 qu'une nouvelle espèce de *Vibrio* pathogène pour l'Homme est identifiée. Cet organisme a été isolé des selles de patients victimes d'une intoxication alimentaire à Osaka au Japon ainsi que de l'aliment suspect : une sardine partiellement séchée appelée « Shirasu ». A l'origine, il a été placé dans le genre *Pasteurella* ; son nom actuel : *Vibrio parahaemolyticus* a été établi par (SAKAZAKI R et al, 1963).

L'espèce *Vibrio alginolyticus* a été décrite en 1968, elle est très abondante dans le milieu marin mais rarement isolée chez l'Homme.

A partir du début des années 70, des cas d'infections extra-intestinales associant des nécroses et œdèmes tissulaires, des formes septicémiques d'infection avec parfois mortalité brutale sont apparues aux Etats-Unis. L'agent isolé a été dans un premier temps confondu avec *Vibrio parahaemolyticus* ou appelé vibriion non-cholérique. Reconnu comme étant une nouvelle espèce par **MAURINC, 1976** (Reichelt J.L et all, 1976), ils ont proposé de placer cet organisme dans le Genre *Beneckea* et de lui donner le nom d'espèce *vulnificus* pour « blessure » en latin. En 1979, FARMER a suggéré que cette bactérie soit placée dans le genre *Vibrio*, beaucoup de microbiologistes ayant contesté cette précédente classification, et en 1980, l'organisme a pris pour nom officiel *Vibrio vulnificus*.

Plus tard, des formes moins graves de choléra associées à des vibrions très similaires à la bactérie cholérique ont été reconnues. Ces organismes ne possédant pas l'antigène O1 caractéristique de *V. cholerae* sont aujourd'hui identifiés comme *V. cholerae* non O1 ou NAG pour Non Agglutinating *Vibrio* ou encore NCV pour Non Cholera *Vibrio* (ICMSF, 1996).

En 1992, une nouvelle souche de choléra, incapable de provoquer l'agglutination avec l'antisérum O1, mais produisant une toxine cholérique, a été découverte au Bangladesh et en Inde et reconnue comme étant l'agent en cause dans un cas typique de choléra. Le sérotype a été décrit comme appartenant au nouveau séro groupe O139 en 1993. Aussi distingue-t-on aujourd'hui parmi l'espèce *Vibrio cholerae*, d'une part les souches appelées « vibrions cholériques » à savoir les sérogroupes O1 et O139 responsables du choléra, et d'autre part, les souches *Vibrio cholerae* non O1 et non O139, isolées dans des cas de gastro-entérites mais aussi d'infections de tissus mous et de septicémies chez des sujets immunodéprimés (Fournier et Quilici, 2002).

D'autres espèces sont considérées comme pathogènes pour l'Homme : *V. fluvialis*, *V.furnissii*, *V. hollisae*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* ont été isolées de cas de gastro-entérites ; *V. carchariae*, *V. cincinnatiensis* et *V. damsela* ont été mises en cause dans des cas d'infections extra-intestinales uniquement (FAO/WHO, 2002).

## II-2 Taxonomie :

Les bactéries du genre *Vibrio* font partie de la famille des Vibrionaceae, de la classe des  $\gamma$ -proteobactéries (Giovannoni & Rappé, 2000).

Il est impossible de présenter une classification claire des Vibrionaceae car ils subissent régulièrement des modifications importantes. Les quatre principaux genres considérés comme proches sont les genres *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* (classé depuis 1986 dans la famille des Enterobacteriaceae), ces deux derniers comptent des espèces connues pour être la cause de diarrhées et d'infections septicémiques chez l'Homme.

Le genre *Vibrio* compte aujourd'hui 51 espèces (tableau II-1), ceux qui sont pathogènes pour l'homme et d'autre qui ne sont pas, mais peuvent l'être pour les poissons (*Vibrio anguillarum*) ou les crevettes (*Vibrio penaeicida*). Seuls les vibrions cholériques sont adaptés à l'Homme. Les autres espèces sont des bactéries ayant pour habitat principal le milieu marin et plus particulièrement les eaux côtières et estuariennes, elles sont retrouvées également à la surface et dans le contenu intestinal des animaux marins (Fournier et Quilici, 2002).

**Tableau II-1** : Les 51 espèces du genre *Vibrio* (Fournier et Quilici, 2002).

Espèces considérées comme pathogènes pour l'Homme	Autres espèces	
<b>Espèces fréquemment isolées :</b> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>V. aerogenes</i> <i>V. aestuarianus</i> <i>V. albensis</i> <i>V. anguillarum</i> <i>V. campbellii</i> <i>V. costicola</i>	<i>V. navarrensis</i> <i>V. nereis</i> <i>V. nigripulchritudo</i> <i>V. ordalii</i> <i>V. orientalis</i> <i>V. pectenocida</i>
<b>Espèces rarement isolées :</b> <i>Vibrio fluvialis</i> <i>Vibrio hollisae</i>	<i>V. cyclitrophicus</i> <i>V. diabolicus</i> <i>V. diazotrophicus</i>	<i>V. pelagius</i> <i>V. penaeicida</i> <i>V. proteolyticus</i>

<i>Vibrio mimicus</i>	V. fischeri	V. rumoiensis
<b>Espèces dont la</b>	V. gazogenes	V. salmonicida
<b>pathogénicité est</b>	V. halioticoli	V. scophthalmi
<b>douteuse :</b>	V. harveyi	V. splendidus
<i>Vibrio carchariae</i>	V. ichthyoenteri	V. succinogenes
<i>Vibrio cincinnatiensis</i>	V. iliopiscarius	V. tapetis
<i>Vibrio damsela</i>	V. logei	V. trachuri
<i>Vibrio furnissii</i>	V. marinus	V. tubiashii
<i>Vibrio metschnikovii</i>	V. mediterranei	V. viscosus
	V. mytili	V. wodanis
	V. natriegens	

### II-3 Les caractéristiques morphologiques :

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8  $\mu\text{m}$  et d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6  $\mu\text{m}$ . Ils présentent habituellement une mobilité polaire due à un seul flagelle, mais certaines souches possèdent plusieurs flagelles latéraux lorsqu'elles poussent sur un milieu solide en particulier pour l'espèce *Vibrio parahaemolyticus*. *Vibrio cholerae* présente un flagelle « engainé » dans la paroi caractéristique (Twedt R.M, 1989).

### II-4 Les Caractéristiques biologiques :

Le genre *Vibrio* est un genre typiquement aquatique et principalement marin ; Les membres de ce genre sont anaérobies facultatifs, chimio-organotrophes et peuvent utiliser le métabolisme respiratoire ou fermentatif. Ils produisent une oxydase (excepté *V. metschnikovi* et *V. gazogènes*) et une catalase, ils fermentent le glucose sans production de gaz, sauf *V. fluvialis* (Holt et al, 1994).

Les solutions ioniques stimulent la croissance de toutes les espèces et sont absolument indispensables pour la plupart des espèces. Ainsi les dix espèces de *Vibrio* connues pour causer des gastro-entérites peuvent être classées en cinq sous-groupes sur la base de sept tests et l'absence de croissance dans un milieu contenant 0% de NaCl permet de différencier les huit espèces halophiles du groupe comprenant *Vibrio cholerae* et *Vibrio mimicus* (Holt et al, 1994).

Les vibrions sont généralement cultivables sur milieu "marine agar" ou sur milieu TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile Salt-sucrose agar), sont fréquemment oxydase positifs et les températures optimales de croissance des *Vibrio* se situent entre 15°C et 30°C (Anonyme 11, 29/10/2014).

## **II-5 Variétés des espèces du genre *Vibrio* pathogènes a l'homme :**

### **II-5-1 *Vibrio cholerae* :**

Des différences de composition des glucides présents dans l'antigène somatique thermorésistant de surface (antigène O) sont à la base de la classification sérologique de *Vibrio cholerae*.

*V. cholerae* appartenant aux sérogroupes O1 et O139 sont les deux seuls considérés comme étant les agents du choléra d'après la définition donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ces sérogroupes sont détectés grâce à des antisérums O1 et O139. La prévalence de ces sérogroupes dans les environnements aquatiques semble inférieure à celle des autres sérogroupes de *V. cholerae*. Le nombre de sérogroupes O recensés continue d'augmenter et actuellement plus de 206 sérogroupes O sont reconnus (Shimada T et al, 1994).

Depuis la reconnaissance du séro groupe O139, la désignation *Vibrio cholerae* non-O1 et non-O139 a été utilisée pour inclure tous les autres sérogroupes de *V. cholerae* exceptés O1 et O139. Ces souches non-O1 et non-O139 sont occasionnellement isolées de cas de diarrhée bénigne et d'infections extra-intestinales (Rudra S et al, 1996).



Parmi l'espèce *V. cholerae* O1, deux biovars sont distingués : « classique » et « El Tor », ce dernier étant capable de provoquer l'hémolyse d'érythrocytes de mouton. L'étude de la génétique du lipopolysaccharide de *Vibrio cholerae* O1, qui est le support moléculaire du sérotype, a montré qu'une souche pouvait passer facilement d'un sérotype à l'autre et donc qu'un changement de sérotype au cours d'une épidémie ne signifiait pas obligatoirement l'arrivée d'une nouvelle souche (Rudra S et al, 1996).

#### **II-5-2 *Vibrio parahaemolyticus* :**

En 1965, une remarque importante concernant la distinction des souches pathogènes de *Vibrio parahaemolyticus* a été faite. En effet, il a été observé que les isolats provenant des cas cliniques de gastro-entérites étaient hémolytiques (hémolyse de type  $\beta$ ) sur un milieu spécial contenant des érythrocytes humains (gélose Wagatsuma), tandis que ceux provenant de l'eau de mer et des poissons ne l'étaient pas. L'hémolysine extracellulaire thermostable (TDH) responsable de cette différence est désignée comme « phénomène Kanagawa » afin de le distinguer des autres phénomènes hémolytiques présents chez les espèces du genre *Vibrio*. Plusieurs études ont montré que 96 % des souches isolées chez les patients atteints de diarrhée sont positives au test Kanagawa, tandis que seulement 1% environ des souches issues des produits et de l'eau de mer sont positives (Twedt R.M, 1989).

GHOSH A.R. et SEHGAL S.C, 1998 ont complété une étude réalisée par HONDA T et al, 1988 qui avait mis en évidence une autre hémolysine thermostable, appelée TDH-apparentée (TRH) décrite pour des souches de *Vibrio parahaemolyticus* négatives au phénomène Kanagawa. Elle est connue pour jouer un rôle important dans l'origine des diarrhées. Les gènes TDH et TRH de ces deux hémolysines sont aujourd'hui connus et considérés comme d'importants gènes de virulence (HONDA T et al, 1988).

#### **II-5-3 *Vibrio vulnificus***

Concernant *Vibrio vulnificus*, trois bio-groupes sont distingués. Le biotype 1 a été décrit à l'origine comme étant un *Vibrio* « lactose-positif » ; Une étude récente a mis en évidence

qu'environ 85% des souches cliniques associées à des cas de maladies humaines étaient « lactose-positives » (Oliver J.D., Kaper J.B 1997).

Les souches appartenant au biotype 2 ont été impliquées en tant que pathogène opportuniste de façon sporadique dans des cas d'infections humaines (Oliver J.D., Kaper J.B 1997).

En 1996, des cas d'infections chez l'Homme ont été attribués à de nouvelles souches de *Vibrio vulnificus*, regroupées au sein d'un nouveau biotype (biotype 3) (Oliver J.D., Kaper J.B 1997).

Huit autres espèces de vibrions ont été isolées de cas cliniques humains. 11 s'agit de *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio jūrnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio mimicus* et *Vibrio melschnikovii*. Toutefois, leur implication dans les différentes pathologies observées apparaît beaucoup moins claire, et le nombre établi de cas cliniques en relation à ces vibrions reste limité (Janda, J.M, et al, 1988), (Tantillo, et al, 2004).

## **II-6 Ecologie et facteurs de développement :**

### **II-6-1 *Vibrio cholerae* :**

La température minimale de croissance des *Vibrio cholerae* a été estimée à 10°C, la température maximale à 43°C, le développement de *Vibrio cholerae* est optimal à 37°C ; il survit bien à de faibles températures dans une variété d'aliments (ICMSF, 1996).

*Vibrio cholerae* est sensible à l'acidité : sa survie dans un aliment dont le pH est inférieur à 4,5 est généralement inférieure à 12 heures à 25-30°C ; ils sont sensibles à la sécheresse ( $a_w$  minimale = 0,970). (ICMSF, 1996).

**Tableau II-2 :** Facteurs de développement de *Vibrio cholerae* (Madden J.M. et Mc Cardell B.A, 1989).

	Optimum	Extrêmes
Température (°C)	37	10-43
PH	7,6	5,0-9,6
Activité de l'eau $a_w$	0,984	0,970-0,998
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie
NaCl (p.100)	0,5	0,1-4,0
Sensibilité à la chaleur	$D_{60^\circ C}$ 2 ,65min	>48°C
Sensibilité à l'ionisation	0,5 KGy	>0,1kGy

### II-6-2 *Vibrio parahaemolyticus* :

*Vibrio parahaemolyticus* peut se multiplier sur une large gamme de températures, la température optimale est de 37°C. La température minimale est de 5°C mais elle peut être modifiée selon les valeurs du pH et la concentration en NaCl (Fournier et Quilici, 2002). il est assez sensible au froid : le taux de mortalité est maximal entre 0 et 5°C. Le micro-organisme est modérément sensible à la congélation et peut ainsi persister dans des produits de la mer congelés pendant de longues périodes (ICMSF, 1996).

*Vibrio parahaemolyticus* est capable de croître sur une large gamme de pH (4,8 à 11), le pH optimal étant situé entre 7,5 et 8,5 (Twedt R.M, 1989).

**Tableau II-3:** Facteurs de développement de *Vibrio parahaemolyticus* (Twedt R.M, 1989) :

	Optimum	Extrêmes
Température (°C)	37	5-43
pH	7,8-8,6	4,8-11
$a_w$	0,981	0,940-0,996
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie
NaCl (p.100)	3	0,5-10

### II-6-3 *Vibrio vulnificus* :

La température optimale de croissance de *Vibrio vulnificus* est également de 37°C mais il se développe bien à 30°C et 35°C également (Bang W., Drake M.A., 2002) , cet organisme est sensible aux basses températures et à la chaleur. (BRYAN P.J et al, 1999) ont montré que *V. vulnificus* est plus résistant à une congélation à -78°C s'il a subi auparavant une adaptation à 15°C avant d'être conservé à 6°C. La mort cellulaire ou la perte de cultivabilité de *V. vulnificus* à 5°C a été étudiée pour des cellules stressées par le froid auparavant et non stressées (Bang W., Drake M.A., 2002).

*Vibrio vulnificus* est halophile obligatoire, la concentration optimale en NaCl se situe entre 1 et 3 p.100 (aw de 0,980) ; il ne peut croître pour une concentration inférieure à 0,1% ou supérieure à 5% (Oliver J.D, 1989).

**Tableau II-4** : Facteurs de développement de *Vibrio vulnificus* (Oliver J.D, 1989). :

	Optimum	Extrêmes
Température (°C)	37	13-43
PH	7,8	5-10
Aw	0,98	0,96-0,997
Atmosphère	Aérobie	Facultatif
NaCl (p.100)	2,5	0,5-5,0

### II-6-4 *Vibrio alginolyticus* :

*Vibrio alginolyticus* de ce groupe est le plus halophile tout comme il est capable de croître dans des concentrations de 3, 6, 8 et jusqu'à 10% de NaCl. Sont fréquemment isolés dans les eaux côtières tempérées et tropicales, en particulier lorsque la température de l'eau est supérieure à 17 ° C. Le réservoir de cet organisme est constitué d'eau (principalement sel) et des fruits de mer ou contaminés par l'eau de mer (Zanetti, S., 2000).

### II-7 Réservoirs :

### **II-7-1 L'Homme :**

*Vibrio cholerae* est sans doute, depuis son origine, un habitant des eaux douces et saumâtres. Grâce à l'acquisition des gènes de la toxine cholérique et d'autres facteurs de pathogénicité, des isolats appartenant au sérotype O1 de cette espèce ont pu coloniser l'intestin humain. L'Homme colonisé sert donc à la fois de milieu de culture et de moyen de transport pour le *Vibrio cholerae*, permettant ainsi à ce dernier de disséminer dans le monde entier, même dans les régions où il n'existe vraisemblablement pas de réservoir environnemental (Fournier et Quilici, 2002).

Au Japon, où la plupart des cas d'intoxications à *Vibrio parahaemolyticus* a lieu entre juin et octobre, la bactérie peut être isolée des selles d'individus asymptomatiques (0,3% des individus en été et 2,5% des cuisiniers japonais ou « Sushi cooks »). La durée de ce portage n'est jamais longue, l'organisme persiste de 3 à 7 jours dans les selles de sujets sains et de 10 à 16 jours chez les individus ayant souffert de gastro-entérite (Twedt R.M., 1989). Concernant *Vibrio vulnificus*, l'homme n'est pas porteur sain de la bactérie, elle n'est d'ailleurs que très rarement isolée des selles des patients et le plus souvent, elle est détectée dans le sang (Twedt R.M., 1989).

### **II-7-2 L'environnement :**

Dans les années 70, *Vibrio cholerae* était considéré comme un organisme dont l'habitat normal était l'intestin des humains et qu'il était incapable de survivre plus de quelques jours dans le milieu extérieur. Aujourd'hui, il est établi que *Vibrio cholerae* est souvent trouvé dans l'environnement aquatique de plusieurs régions du monde (marin, côtier et estuarien) mais aussi de l'eau douce dans les estuaires où cet organisme peut être introduit notamment par contamination fécale. Il fait partie de la flore normale des eaux saumâtres et des estuaires (OMS, 2000).

Etant donnée la nature halophile de *Vibrio parahaemolyticus*, il n'est pas étonnant que cet organisme soit rencontré dans les environnements marins du monde entier et plus particulièrement dans les eaux présentant une salinité intermédiaire entre l'eau douce et l'eau de mer (Dumontet S, 1996).

Tandis que l'isolement de *Vibrio vulnificus* dans l'environnement aquatique est plus problématique, il est présent dans tous les estuaires et les milieux marins. Cette bactérie a été isolée dans l'eau de mer, les sédiments, le sable, le plancton, les poissons et coquillages de régions tempérées et tropicales à travers le monde (Oliver J.D., 1989).

*Vibrio alginolyticus* est l'espèce la plus fréquemment isolée des écosystèmes marins tempérés ou tropicaux (Hervio-Heath D., 2002).

### **II-7-3 Les animaux :**

Les espèces du genre *Vibrio* sont très courantes à la surface et dans le contenu intestinal des animaux marins (Holt J.G., al, 1994).

*Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus* sont souvent associés aux organismes présentant un exosquelette constitué de chitine tels que les crevettes, les crabes. *Vibrio parahaemolyticus* est très fréquemment isolé des mollusques marins et de poissons. Les niveaux de prévalence naturelle dans les poissons et fruits de mer est généralement faible (en dessous de 10<sup>3</sup> par gramme) excepté dans les eaux habituellement chaudes dans lesquelles la densité de cette bactérie peut alors atteindre 10<sup>6</sup> par gramme (ICMSF, 1996).

La prévalence de *Vibrio parahaemolyticus* dans différentes sortes de poissons et coquillages a été étudiée et il s'avère que les coquillages sont davantage contaminés que les poissons, et les poissons ayant des écailles le sont plus que ceux n'en ayant pas (FAO/WHO, 2002).

*Vibrio vulnificus* est surtout isolé dans les huîtres dont le mode de nutrition par filtration contribue à concentrer la bactérie mais la bactérie a également été isolée de crabes, palourdes, poissons et plancton (Oliver J.D., Kaper J.B., 1997). Alors que *Vibrio alginolyticus* était la plus souvent présente dans les sédiments et les crevettes (Bhaskar N., 1998).

## **II-8 Facteurs de virulence et pathogénie :**

### **II-8-1 *Vibrio cholerae* :**

Les vibrions cholériques produisent, comme principaux facteurs de pathogénicité, la toxine cholérique (CT) et le facteur d'adhésion TCP (Toxin-Coregulated Pilus) (Levine M.M., et al, 1981).

La toxine CT est composée de deux sous-unités, A ou H, 28 KD a et de cinq sous-unités L ou B, 8 KDa. La sous-unité A1 est une pro-enzyme avec une activité ADP ribosylase mono (ADP-ribose) transferase. L'exotoxine se fixe par ses sous-unités L aux gangliosides GM1 de la membrane des entérocytes. Le fragment A1, libéré dans le cytoplasme actif l'adénylcyclase des entérocytes en bloquant la sous-unité des protéines Gs et la production d'AMP cyclique intracellulaire. Ce qui provoque l'excrétion anormale d'électrolytes (sodium) et une fuite hydrique vers la cavité intestinale (Anonyme 12, 20/10/2014).

Le TCP est un facteur de virulence clé dans le processus infectieux de *V. cholerae*. Le TCP est un pilus de type IV, indispensable à la colonisation du tractus intestinal de l'homme (Aonyme 12, 20/10/2014).

LEVINE et al, (1983) ont démontré que l'administration orale de 5µg de la toxine peut causer une diarrhée chez des volontaires humains (Madden J.M. et Mc Cardell B.A., 1989).

#### **II-8-2 *Vibrio parahaemolyticus*:**

Depuis les années 50, le lien a été établi entre la virulence pour l'Homme d'un isolat de *Vibrio parahaemolyticus* et sa capacité à produire une hémolyse sur gélose au sang (phénomène de Kanagawa). Depuis 1981, il a été établi un lien entre les souches Kanagawa-positives et la production d'une hémolysine TDH pour Thermostable Direct Hemolysin. À partir du milieu des années 1980, des souches Kanagawa-négatives ont été isolées de cas de gastro-entérites. En 1988, Honda et al montrent qu'une souche Kanagawa-négative synthétise une toxine apparentée à la toxine TDH, la TRH pour Tdh-Related Hemolysin. Il a été confirmé que le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à la présence des deux hémolysines, la TDH et la TRH, produites dans le tube digestif. Elles ont des activités lytiques, cytotoxiques et entérotoxiques proches. Ces facteurs de pathogénicité sont rarement mis en évidence chez les souches isolées de l'environnement marin ou des produits de la mer (moins de 5%) des isolats, environ 1% le plus souvent), alors qu'elles sont majoritairement isolées des selles de patients atteints de gastro-entérites (jusqu'à 95 %) (M. P. Malle, 2009)

### **II-8-3 *Vibrio vulnificus* :**

En 1981, Kreger et Lockwood ont été les premiers à décrire la production d'une toxine extracellulaire et thermolabile par *Vibrio Vulnificus* (Oliver J.D., Kaper J.B., 1997). Elle possède une activité cytolytique sur des érythrocytes de mammifères, une activité cytotoxique sur des cellules d'ovaires de Hamster chinois et elle est létale pour la souris. Cette hémolysine est produite par toutes les souches de *V. vulnificus*, qu'elles soient d'origine humaine, alimentaire ou environnementale, ce qui constitue une différence avec *vibrio parahaemolyticus*. D'autres substances produites par *V. vulnificus* et pouvant jouer un rôle dans la virulence de cette bactérie incluent des protéases, des élastases, collagénases, ADNases, lipase... Toutes possèdent une activité hémagglutinante et peuvent adhérer aux cellules épithélio-buccales humaines (Oliver J.D., 1989).

La virulence de *V. vulnificus* a été associée aussi à sa résistance à la phagocytose. Celle-ci a été attribuée à la possession d'un composant de surface antiphagocytaire qui a été identifié comme un acide polysaccharidique formant une capsule (Oliver J.D., 1989).

### **II-8-4 *Vibrio alginolyticus* :**

Les facteurs de virulence tels que des protéases, une collagénase et des protéines de la membrane externe responsable de l'adhésion de *Vibrio alginolyticus* aux cellules contribuent à sa pathogénicité (Quian R, et al, 2008). (GONZALEZ-ESCALONA N et al, 2006) ont isolé des huîtres, une souche de *Vibrio alginolyticus* porteuse d'un gène TRH codant pour une hémolysine présentant 98% d'homologie avec le gène TRH de *Vibrio parahaemolyticus*.

*Vibrio alginolyticus* serait un réservoir de gènes de virulence dans l'environnement aquatique pour d'autres espèces de *Vibrio*, particulièrement *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* (Xie Z.Y., 2005).

## **II-9 Caractéristiques cliniques et la voie de contamination des vibrions :**

Le tableau II-5 synthétise les syndromes cliniques associés aux espèces de vibrions les plus souvent rencontrées en pathologie humaine.



**Tableau II-5:** Pathologies associées à différentes espèces de *Vibrio* (Pavia AT., 1989).

Espèces	Syndromes cliniques				
	Gastro-entérite	Infection de blessure	Infection de l'oreille	Septicémie primaire	Septicémie secondaire
<i>V. cholerae O1</i>	+++	+			
<i>V. cholerae non O1</i>	+++	++	+	+	+
<i>V. mimicus</i>	++		+		
<i>V. fluvialis</i>	++				
<i>V. parahaemolyticus</i>	+++	+	+		+
<i>V. alginolyticus</i>	(+)	++	++	+	
<i>V. hollisae</i>	++			+	
<i>V. vulnificus</i>	+	++		++	++
<i>V. furnissi</i>	(+)				
<i>V. damsela</i>		++			
<i>V. metschnikovii</i>	(+)			(+)	
<i>V. carchariae</i>		+			

(+++ : Fréquemment rapportées ; ++ occasionnelles ; + rares ; (+) association peu claire)

**II-9-1 *Vibrio cholerae O1*** : C'est l'agent étiologique du choléra. Il est caractérisé par une toxi-infection brutale avec diarrhées profuses accompagnées de vomissements qui entraînent une déshydratation importante. Les selles sont riziformes. La maladie présente tous les degrés de gravité de la forme sérieuse qui conduit à la mort du malade jusqu'à la simple diarrhée ou la forme asymptomatique chez les porteurs sains. Le taux de mortalité peut atteindre 9% en Afrique (West P.A., 1989).

Dans les pays où l'hygiène est réduite, le principal facteur de transmission du choléra est l'eau et le contact de personne à personne. Les cas sporadiques observés dans les pays développés sont majoritairement des cas importés. Cependant, l'apparition de foyers épidémiques dans ces pays, sans relation avec un voyage en zone d'endémie, suggère la présence de l'espèce dans des réservoirs estuariens ou marins (West P.A., 1989). Depuis les années 60, les produits marins ont été largement associés à ces épidémies (DePaola, A., 1981).

**II-9-2 *Vbrio cholerae non O1*** : Il est responsable de gastro-entérites. Les symptômes les plus fréquents sont des diarrhées, parfois sanglantes, accompagnées occasionnellement de vomissements et de crampes abdominales. La durée des symptômes est de un à deux jours. Des cas d'otites ou d'infections de blessures sont également signalés. Des septicémies ont été observées mais surtout chez des individus immunodéprimés, atteints de cirrhoses par exemple.

Les facteurs de risque sont principalement l'exposition au milieu marin ou la consommation de produits de la mer (DePaola, A., 1981).

**II-9-3 *Vibrio parahaemolyticus*** : il provoque des gastro-entérites, caractérisées par des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, des maux de tête et une fièvre modérée. Les symptômes persistent de trois à quatre jours. Ce vibrion peut être également responsable d'infections cutanées et de septicémies.

Le vecteur des infections à *vibrio parahaemolyticus* est alimentaire, principalement dû aux produits de la mer (Wong H. C., al, 2000).

**II-9-4 *Vibrio vulnificus*** : Trois types de symptômes cliniques peuvent être associés à cette espèce de vibrions (Lee C. C., 1997)

- Des septicémies primaires, presque exclusivement enregistrées chez les immunodéprimés. La pathologie commence brutalement par des fièvres et des frissons. Des lésions typiques de la peau se développent, alors, chez les 3/4 des patients. Elles apparaissent 24 heures après le début de l'infection. La durée d'incubation (valeur médiane) est de 16 h.
- Des infections de blessures qui peuvent être bénignes et limitées comme progressant rapidement et développant des formes nécrotiques voire gangreneuses. Ces infections interviennent à la fois chez les immunodéprimés et chez ceux qui ne le sont pas.
- Des gastro-entérites considérées comme rares, et de ce fait probablement sous-répertoriées. Elles ne sont jamais associées à des mortalités. Il s'agit de diarrhées aqueuses et sanglantes, accompagnées de vomissement et de crampes abdominales ; les symptômes peuvent persister plus d'une semaine.

La consommation des produits de la mer (huîtres, crabes, anguilles) est la source de contamination la plus courante. Les personnes à risque sont celles souffrant de désordres hépatiques (alcoolisme ou surcharge en fer), le taux de mortalité peut atteindre 24 %. Ces infections sont observées en été et au début d'automne (Lee C. C., 1997).

**II-9-5 *Vibrio alginolyticus*** : est l'espèce la plus fréquemment isolée des écosystèmes marins tempérés ou tropicaux (Hervio-Heath D et al, 2002). Les cas de gastroentérites liés à *Vibrio alginolyticus* sont exceptionnels Fournier et (Quilici, 2002). Les infections à *Vibrio alginolyticus* sont principalement des otites, des conjonctivites, des pyodermites superficielles et consécutives à un contact direct avec le milieu marin (Sganga G et al, 2009). Ces infections sont observées lorsque la température de l'eau de mer est élevée (Blake P et al, 1980)

#### **II-10 Diagnostique des vibrio :**

La recherche des vibrions potentiellement pathogènes pour l'homme dans les produits de la pêche est abordée dans les laboratoires d'hygiène alimentaire, en raison de l'évolution actuelle de la réglementation sanitaire concernant ces produits.

Une surveillance bactériologique des produits de la pêche est nécessaire pour prévenir les infections à *Vibrio* d'origine alimentaire, et nécessite l'emploi de méthodes d'analyses fiables et standardisées. Or il n'existe pas aujourd'hui de méthode de référence réellement efficace pour la recherche et le dénombrement des vibrions dans les aliments. Par ailleurs, l'utilisation des tests biochimiques ne permet pas toujours l'identification au niveau de l'espèce et il est souvent nécessaire de recourir aux techniques moléculaires (Hirsch M, 2002).

#### **II-11 Prophylaxie :**

Malgré la complexité accrue liée à l'écologie particulière des *Vibrio*, plusieurs moyens de prévention sont à mettre en œuvre :

En zones contaminées, seule une prophylaxie sanitaire peut prévenir les infections humaines: éviter la consommation des coquillages crus et des poissons crus, éviter la contamination croisée d'autres denrées alimentaires (lavage des mains après la manipulation de produits de la mer, séparation entre les denrées alimentaires et les coquillages ou les poissons crus) (N. Cohen, H. Karib, 2007).

Dans le cas des produits de mer consommés crus ou insuffisamment cuits, le fait d'empêcher une multiplication des *Vibrions* entre le site de récolte et l'assiette du consommateur est un moyen efficace de prévention, facile à mettre en œuvre, notamment par le respect de la

chaîne du froid. Nous proposons l'entreposage à basse température comme moyen de maîtrise des vibrions pathogènes dans les aliments. Toutefois, cette méthode n'est pas suffisamment fiable pour pouvoir être appliquée dans la pratique commerciale (N. Cohen, H. Karib, 2007)

Les vibrions étant facilement détruits par la chaleur ; une cuisson suffisamment prolongée suffit par conséquent à éliminer la plupart des vibrions. Toutefois la pratique commerciale qui consiste à passer les huîtres à l'eau bouillante pour en faciliter l'ouverture ne suffit pas à en garantir la salubrité. Le pH optimal de croissance des vibrions est 7.6 avec des valeurs de survie allant de 5,0-9,6. Le jus de citron fraîchement serré s'est avéré efficace pour inactiver le Vibrio.

La prévention passe également par la surveillance continue des zones aquacoles et conchylocoles et pour garantir la sécurité des produits de la pêche, il faut réaliser des tests bactériologiques spécifiques dans le cadre d'un système de contrôle (N. Cohen, H. Karib, 2007).

## Chapitre III : Partie expérimental

### III-1 Matériels et méthodes :

#### III-1-1 Matériel biologique :

Les produits utilisés pour la recherche des germes pathogènes sont :

- Les moules (élevage et moulières naturelles), prélevées au niveau de différentes régions :
  - Ferme d'élevage ORCA MARINE (ainTaya) ;
  - Bou Ismail (le vivier) ;
  - Damous .
  
- Un échantillon d'eau de mer a été prélevé également au niveau des mêmes sites ainsi qu'au niveau de Bateau cassé (Bordj El Kiffen).

Le matériel de prélèvement comprend des flacons de 500c/c avec réactif (50ml EPA) et une glacière.

#### III-1-2 Matériel de laboratoire :

Dans le cadre de notre travail, les équipements et réactifs suivants ont été utilisés.

- **Equipements:**
  - Bec benzène
  - Etuve
  - Stomacher
  - Sac stéril stomacher avec filtre
  - Lames et lamelles
  - Pipettes graduées et pipettes Pasteur
  - Microscope
  - Balance électronique
  - Boites de Pétri

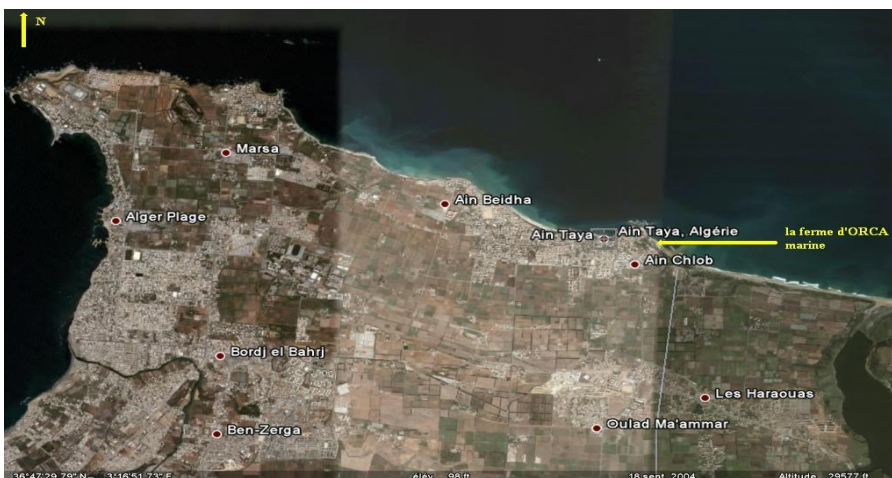
➤ **Réactifs :**

- L'eau péptonée alcaline (EPA) à simple concentration et EPA 10 fois plus concentrée
- Gélose nutritive alcaline biliée (GNAB)
- Gélose TSI (Triple Sugar Iron)
- L'eau physiologique
- Galerie api 20 E
- Disques d'oxydases
- L'alcool
- Violet de gentiane
- Fuchsine
- Lugol
- Huile à immersion
- Test LDC, ODC, ADH

**III-1-3 Site d'étude :**

**III-1-3-1 ORCA MARINE (ainTaya) :** Le site aquacole « ORCA marine » se situe à Ain chrob. (Ex. Surcouf), en dehors de la baie d'Alger à environ 1000 m de la plage de Aintaya.

La ferme d'ORCA marine a été créée en Octobre 1987 par Mr Boualem Khodja pour l'élevage des moules et des huîtres. Elle est rentrée en phase d'expérimentation en 1990 et en phase d'exploitation en 2003 (**Figure III-1**).



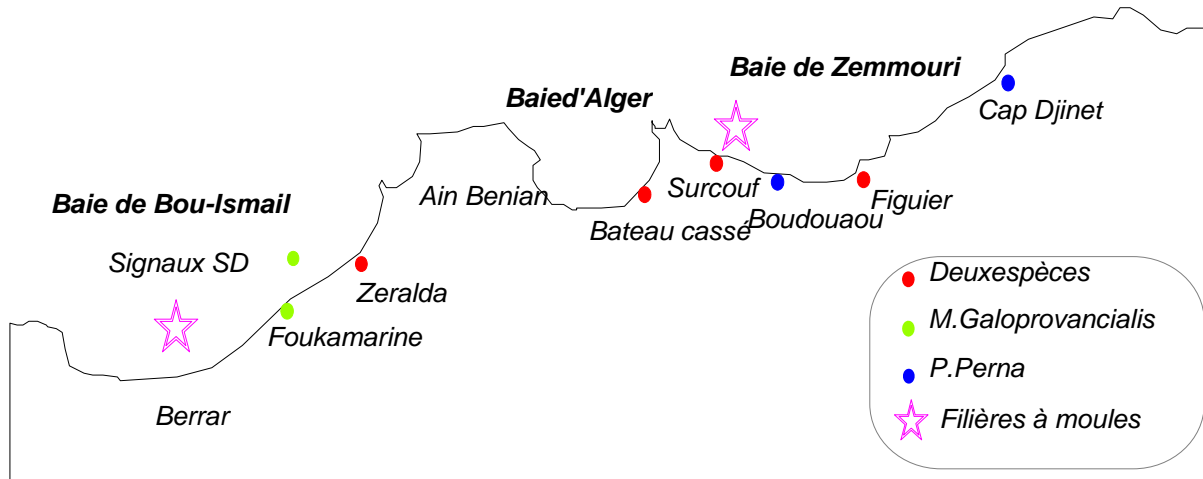
**Figure III-1 :** Image satellitaire montrant le positionnement de la commune d'Ain Taya.

**III-1-3-2 Bateau cassé (Bordj El Kiffan) :** L'unique moulière répertoriée dans la baie d'Alger est celle se trouvant au Bateau cassé (Bordj el kiffan), les moules sont fixées sur les rochers naturels ainsi que les épis (rochers artificiels). Un gisement relativement important formé par les espèces *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*.

**III-1-3-3 Bou Ismail (le vivier) :** Il existe sur un certains nombres de rochers de la côte de la baie de Bou-Ismaïl des moulières dont l'importance ne constitue pas un grand intérêt, il s'agit des moulières du Vivier (rivage du centre conchylicole) constituées par l'espèce *Mytilus galloprovincialis*, à proximité du Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et l'Aquaculture (CNRDPA) (Figure III-2).

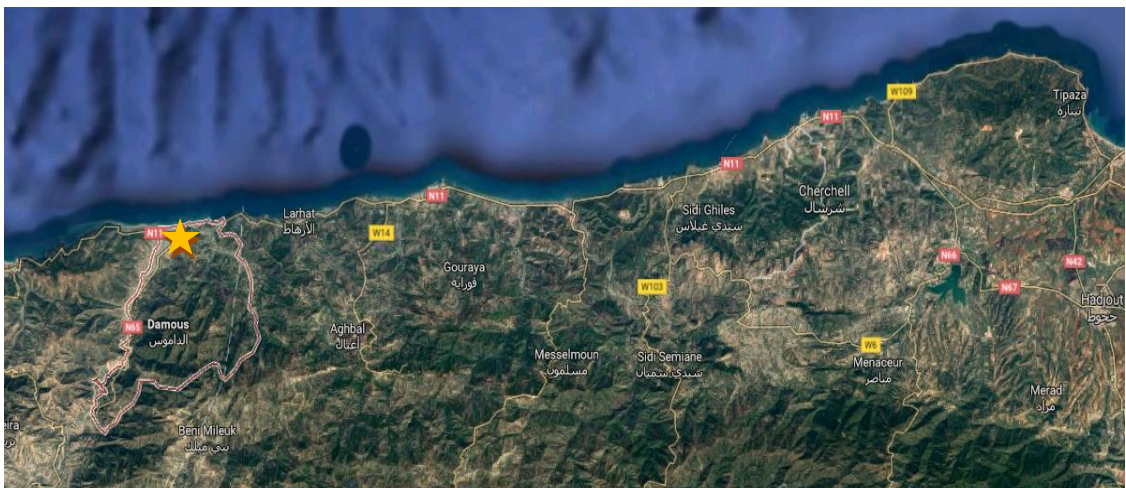


**Figure III-2 :** Localisation géographique du site vivier (Centre Conchylicole baie de Bou-Ismaïl).



**Figure III-3 :** Carte des moulières naturelles du le littoral algérois.

**III-1-3-4 Damous (Sidi El Djillali) :** Le territoire de la commune de Damous est situé au nord-ouest de la wilaya de Tipaza, à environ 70 km à l'ouest de Tipaza, 50 km à l'ouest de Cherchell et 55 km à l'est de Ténès, La plage de Sidi el Djillali est située à 2 Km à l'ouest de la ville de Damous.



**Figure III-4 :** Image satellitaire montrant le positionnement de la commune de Damous



### III-1-4-L'Echantillonnage

Un échantillonnage aléatoire de moules et d'eau de mer a été réalisé à la même période pendant 5 mois (du 04/12/2016 au 04/05/2017), à raison de 21 échantillons (20 échantillons de moules et 1 échantillon d'eau de mer) chaque mois. (**Tableau III-1**)

**Tableau III-1** : Résumé de la méthode d'échantillonnage.

La date d'échantillonnage	Le site de prélèvement	Le type de prélèvement	Le nombre d'échantillons
12-2016	Ferme d'élevage ORCA MARINE (ainTaya)	Moules	20
01-2017	Bateau cassé (Bordj el Kiffan)	Eau de mer	1
02-2017	Damous	Eau de mer	1
03-2017	Bou Ismail (le vivier)	Moules Eau de mer	21
04-2017	Damous	Moules Eau de mer	21
04-2017	Bou Ismail (le vivier)	Moules Eau de mer	21
05-2017	Bou Ismail (le vivier)	Moules	20

### III-1-5 Les prélèvements :

Chaque prélèvement a été constitué d'une vingtaine de moules. Les prélèvements sont placés dans des sachets stériles et transportés dans une glacière le plus rapidement possible au laboratoire et analysés sans délai.

L'eau de mer a été prélevée à une profondeur de 15 à 20 cm sous la surface d'eau de mer dans des flacons en verre préalablement stérilisés de 500 ml.

Tous les échantillons sont ensuite conservés dans une glacière transportable pour des analyses microbiologiques.

### **III-1-6 Protocole d'analyse microbiologique**

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie de CNRDPA.

L'analyse microbiologique est basée sur les techniques d'isolement et d'identification (aspect qualitatif). C'est le protocole défini par les méthodes normalisées **ISO**.

### **III-1-7 Protocole pour la détection de *Vibrio* spp**

Nous avons adopté comme protocole d'analyse un protocole provisoire, rédigé en collaboration entre l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) de Boulogne sur-mer, l'Ecole Nationale de la Santé Publique (ENSP) à Rennes et le Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra (CNRVC) à l'Institut Pasteur à Paris. Ce protocole avait été rédigé à la demande de la Direction Générale de l'Alimentation, en France, dans le but de normaliser les protocoles d'études et de recherche de *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* dans les produits de la mer entre les différents laboratoires vétérinaires de contrôle, dans l'attente de la publication d'une norme ISO pour la recherche des *Vibrio* spp. Prémés pathogènes par voie digestive.

#### **III-1-7-1 moules :**

Les moules ont été soigneusement lavés de manière à éliminer les souillures externes. Après égouttage et un léger flambage, ils ont été ouverts à l'aide d'un couteau stérile conformément à la norme Internationale (Pasquelin B., 1976). Après ouverture aseptique le contenu entier : chair plus liquide inter-valvaire, est soumis au broyage par un broyeur type stomacher.

La recherche de *Vibrio* spp est faite en trois phases :

1<sup>er</sup> jour :

**Enrichissement :**

- 25g de l'échantillon ont été prélevés aseptiquement et dilués dans 50ml d'eau péptonée alcaline (EPA) à 2 % de NaCl et homogénéisés à l'aide d'un stomacher.
- Incubation 24 h à 37°C.

### 2<sup>ème</sup> jour :

#### **2<sup>ème</sup> enrichissement**

- Un 2<sup>ème</sup> enrichissement a été effectué à partir d'un repiquage d'un (01) ml du 1<sup>er</sup> enrichissement dans un autre tube de 10 ml d'eau péptonée alcaline (EPA) à simple concentration, incubé à 37°C pendant 24h.
- D'autre part un ensemencement du 1<sup>er</sup> enrichissement a été effectué dans un milieu de culture GNAB 1, incubé à 37°C pendant 24h.

### 3<sup>ème</sup> jour :

#### **Lecture et isolement**

- Isolement et observation des colonies bactériennes du milieu GNAB 1
- un autre ensemencement du 2<sup>ème</sup> enrichissement est effectué sur un milieu GNAB 2

### 4<sup>ème</sup> jour :

Identification bactérienne par :

- a- l'étude des caractères phénotypiques :
  - test d'oxydase
  - test de catalase
  - test de mobilité : observation à l'état frais par un microscope optique.
  - Coloration de gram
- b- un repiquage des colonies dans les tubes suivants :
  - Tube ODC
  - Tube ADH

- Tube LDC
- TSI

Incubation à 37°C pendant 24h.

#### 5<sup>ème</sup> jour :

Lecture des résultats et identification de la bactérie par les galeries API 20 E, kit commercial (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

### **III-1-7-2 Eau de mer**

#### 1-Premier Enrichissement :

Le premier enrichissement s'effectue sur le milieu Eau Peptonée Alcaline 10 fois concentré réparti à raison de 50 ml par flacon auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau à analyser au moment du prélèvement.

Ce dernier sera par la suite incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### 2- Deuxième enrichissement et Isolement :

Ce flacon fera l'objet :

- d'une part, un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1 ml
- d'autre part, un isolement sur gélose GNAB 1.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

#### 3- Lecture des boîtes et Identification :

- D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2,
- D'autre part, la boîte de gélose GNAB 1 subira une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques.

#### 4-Identification morphologique et biochimique :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (positive),
- Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h  
(Saccharose, Glucose, Gaz et H<sub>2</sub>S),
- Faire une mini galerie basée sur l'étude des acides aminés en vue de différencier entre les Vibrions, les Pleisiomonas et les Aéromonas selon le tableau suivant :

**Tableau III-2** : comparaison des résultats de la mini galerie entre les Vibrions, les Pleisiomonas et les Aéromonas

	LDC	ODC	ADH
<i>Vibrions</i>	+	+	-
<i>Pleisiomonas</i>	-	-	+
<i>Aéromonas</i>	+	+	+

- Confirmation biochimique

Par la galerie API 20E

### III-2 Résultats:

Les tests microbiologiques réalisés sur les 105 échantillons ont montré que 2 échantillons sont contaminés par la bactérie du genre vibrio, soit une prévalence de 1.90%.

Cette bactérie a été isolée à partir de deux échantillons de moules, une prélevé en mois de Avril et l'autre en mois de mai dans la région de Bouismail (le vivier).

Aucune contamination bactérienne n'a été détectée dans les échantillons d'eau de mer.

Dans cette étude, nous avons pu isolés des bactéries autres que vibrio.spp sur GNAB tel que : *Pseudomonas Aerogenosa* (1.90%), *Pseudomonas Fluorescens/Putida* (0.95%),

*Citrobacter Braakii* (2.85%), *Citrobacter Frundii* (1.90%), *Proteus Mirabilis* (0.95%), *Proteus Vulgaris* (2.85%), *Aeromonas Hydrophila* (2.85%), *Pasteurella Pneumotropica* (0.95%), *Pasteurella Multocida 2* (0.95%).

**Tableau III-3** : Les résultats de la recherche qualitative des vibrions chez les moules et l'eau de mer.

Date du prélèvement	Lieu du prélèvement	Nature du prélèvement	La ou les Bactéries isolées
12-2016	Ferme d'élevage ORCA MARINE (ainTaya)	Moule	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>
01-2017	Bateau cassé (Bordj el kiffan)	Eau de mer	<i>Citrobacter Braakii</i> , <i>Pseudomonas Aerogenosa</i> , <i>Pseudomonas Fluorescens/ Putida</i>
02-2017	Damous	Eau de mer	<i>Aero.hydrophila</i> , <i>Citrobacter Frundii</i> , <i>Citrobacter Braakii</i>
03-2017	Bouismail (le vivier)	Moule	<i>Citrobacter Braakii</i>
		Eau de mer	<i>Proteus Mirabilis</i>
04-2017	Bouismail (le vivier)	Moule	<i>Proteus Vulgaris</i> , <i>Vibrio Alginoliticus</i>
		Eau de mer	<i>Aeromonas Hydrophila</i>
	Damous	Moule	<i>Proteus Vulgaris</i> , <i>Citrobacter Frundii</i>
		Eau de mer	<i>Proteus Vulgaris</i> , <i>Pasteurella Multocida 2</i>
05-2017	Bouismail (le vivier)	Moule	<i>Aeromonas Hydrophila</i> , <i>Vibrio alginoliticus</i> , <i>Pasteurella Pneumotropica/Mann.haem</i>

### III-2-1 Caractères biochimiques et biochimiques des bactéries isolées sur milieu GNAB :

#### III-2-1-1 Caractères biochimiques et microbiologiques de *Vibrio Alginolyticus* isolées sur milieu GNAB:

La bactérie est de couleur jaune sur TSI (saccharose +), gram-, oxydase+, catalase + et mobile à l'état frais

**Tableau III-4 :** caractères microbiologiques de *Vibrio Alginolyticus*

Les tests	Coloration de gram	Test d'oxydase	Test de catalase	Mobilité
Les résultats	-	+	+	+

**Tableau III-5 :** caractères biochimiques de *Vibrio Alginolyticus*

Résultats de la Galerie API 20 E		
Caractère biochimique	Observation	Résultat
ONPG	Pas de changement de couleur (transparente)	-
ADH	Changement de couleur vers le jaune	-
LDC	Changement de couleur vers le rouge	+
ODC	Changement de couleur vers le jaune	-
CIT	Changement de couleur vers le jaune	-
H <sub>2</sub> S	Pas de Changement de couleur	-
URE	Changement de couleur vers le jaune	-
TDA	Pas de changement de couleur après l'ajout d'une goutte de réactif chlorure de fer II	-
IND	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif Kovacs	+
VP	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif VP1 et VP2	+
GEL	Pas de Changement de couleur	-

GLU	Changement de couleur vers le jaune	+
MAN	Changement de couleur vers le jaune	+
INO	Changement de couleur vers le bleu	-
SOR	Changement de couleur vers le bleu	-
RHA	Changement de couleur vers le bleu	-
SAC	Changement de couleur vers le jaune	+
MEL	Changement de couleur vers le bleu	-
AMY	Changement de couleur vers le bleu	-
ARA	Changement de couleur vers le bleu	-

**Tableau III-6 : Résultats de La mini galerie de la bactérie Vibrio Alginoliticus**

<b>Résultats de La mini galerie</b>			
<b>Témoin</b>	<b>ADH</b>	<b>LDC</b>	<b>ODC</b>
Changement de couleur vers le jaune : témoin de bon déroulement de l'incubation	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat positif -> Couleur jaune : dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Ornithine Décarboxylase

- **Dans les tubes à gélose TSI on observe :**

- Un culot et une pente de couleur jaune (acide) indique la de fermentation de D-glucose et le lactose ou le saccharose.
- absence de couleur noir autour de la piqûre centrale (H2S négatif).
- Absence de bulles d'air dans le milieu



**III-2-1-2 Caractères biochimiques et microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB :**

**Tableau III-7:** Les caractères microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB

	<i>aeromonas Hydrophila</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Proteus Vulgaris</i>	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>	<i>Pseudomonas Fluorescens/Putida</i>
Coloration gram	Gram -	Gram -	Gram -	Gram -	Gram +
Oxydase	-	-	-	+	+
Catalase	+	+	+	+	+
Etat frai	Mobile	mobile	Mobile	Mobile	Mobile

	<i>Citrobacter Braakii</i>	<i>Citrobacter Frundii</i>	<i>Pasteurella Multocida 2</i>	<i>Pasteurella Pneumotropica</i>
Coloration gram	Gram -	Gram -	Gram -	Gram -
Oxydase	-	-	+	+
Catalase	+	+	+	+
Etat frai	Mobile	Mobile	Immobile	Immobile

**Tableau III-8 :** Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB

	<i>Citrobacter Braakii</i>	<i>Citrobacter Frundii</i>	<i>Pasteurella Multocida 2</i>	<i>Pasteurella Pneumotropica</i>
ONPG	-	+	-	-
ADH	-	+	-	-
LDC	-	-	-	-
ODC	+	-	-	-
CIT	+	+	-	-
H2S	+	+	-	-
URE	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-

IND	-	-	+	-
VP	-	-	+	-
GEL	+	+	-	+
GLU	-	+	+	-
MAN	-	+	+	-
INO	-	-	-	-
SOR	-	+	-	-
RHA	-	+	-	-
SAC	-	+	+	+
MEL	-	+	-	-
AMY	-	-	-	-
ARA	-	+	-	-

	<i>Aeromonas Hydrophila</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Proteus Vulgaris</i>	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>	<i>Pseudomonas Fluorescens/Putida</i>
ONPG	-	-	-	-	-
ADH	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-
ODC	-	+	-	-	-
CIT	+	+	-	-	+
H2S	+	+	+	-	+
URE	-	+	-	+	-
TDA	-	+	+	-	-
IND	-	+	+	+	-
VP	-	-	+	-	-
GEL	+	+	-	+	+
GLU	-	+	+	+	-

MAN	-	+	+	+	-
INO	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-
SAC	-	+	+	+	-
MEL	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-

**Tableau III-9 :** Les caractères biochimiques sur les acides aminés (mini galerie) des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB

	<i>Aeromonas Hydrophila</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Proteus Vulgaris</i>	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>	<i>Pseudomonas Fluorescens/Putida</i>
ADH	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-
ODC	-	+	-	-	-

	<i>Citrobacter Braakii</i>	<i>Citrobacter Frundii</i>	<i>Pasteurella Multocida 2</i>	<i>Pasteurella Pneumotropica</i>
ADH	-	+	-	-
LDC	-	-	-	-
ODC	+	-	-	-

### III-2-1-3 Caractères biochimiques des bactéries sur milieu TSI :

**Tableau III-10** : caractères microbiologiques des bactéries autres que vibrio sur milieu TSI

	<i>Citrobacter Braakii</i>	<i>Citrobacter Frundii</i>	<i>Pasteurella Multocida 2</i>	<i>Pasteurella Pneumotropica</i>
Pente	Rouge : pas de fermentation du saccharose	Jaune : fermentation du saccharose	Jaune : fermentation du saccharose	Jaune : fermentation du saccharose
Culot	Rouge : pas de fermentation du D-glucose	Rouge : pas de fermentation du D-glucose	Jaune : fermentation du D-glucose	Jaune : fermentation du D-glucose
H2S	+	+	-	-
Gaz	-	+	-	-

	<i>Aeromonas Hydrophila</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Proteus Vulgaris</i>	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>	<i>Pseudomonas Fluorescens/Putida</i>
Pente	Jaune : fermentation du saccharose	Rouge : pas de fermentation du saccharose	Jaune : fermentation du saccharose	Jaune : fermentation du saccharose	Rouge : pas de fermentation du saccharose
Culot	Jaune : fermentation du D-glucose	Rouge : pas de fermentation du D-glucose	Jaune : fermentation du D-glucose	Jaune : fermentation du D-glucose	Rouge : pas de fermentation du D-glucose
H2S	-	+	+	-	+
Gaz	+	-	+	+	-

### III-3 Discussion

#### III-3-1 Vibrion :

Parmi les agents responsables de maladies et de toxi-infections alimentaires, les vibrions constituent dans de nombreux pays et particulièrement au Japon et en Amérique du Nord,

un réel problème de santé publique en raison de la consommation accrue de produits de la mer, en particulier des produits crus, en général les gastro-entérites ou les septicémies font suite à la consommation de produits de la mer cru ou peu cuits (fruits de mer principalement), ou contaminés après cuisson, en plus, les humains peuvent demeurer porteurs sains pendant une ou deux semaines (Desenclos JC 1996).

Dans cette étude une seule espèce de vibrion a été isolée : *vibrio alginolyticus*.

### **III-3-1-1 *Vibrio alginolyticus* :**

*Vibrio alginolyticus* est l'une des espèces les plus communes et fréquentes des vibrions, vivant librement dans l'eau et les sédiments, même dans des conditions défavorables ces dernières gardent leur virulence. Ce sont des pathogènes opportunistes dont la pathogénicité est considérée comme similaire à celle de *V. parahaemolyticus* (Adebayo-Tayo et al. 2011).

Selon de nombreuses études, l'isolement de formes cultivables des vibrions paraît difficile pendant la saison hivernale, attribué aux conditions défavorables du milieu notamment la baisse de la température et de la salinité (la diminution de la salinité, suite aux fortes pluies) (Janda J.M. et R.G. Bryant 1987), (Oliver J.D 1995), (Thompson J.R,et al 2004), (Lhafi S.K. et M. Kühne 2007),( Laurence Miossec 2002), (Aubert M et al 1966).

Dans notre étude une souche de *Vibrio alginolyticus* a été isolée pendant la saison printanière (avril –mai) à une prévalence de 1.90% chez les moules prélevées à Bou Ismail, cela pourrait être attribué aux conditions favorables du milieu notamment l'augmentation de la température et de la salinité qui favorisent la multiplication et la transmission de ce germe, cependant pendant les mois froids, nous avons pas pu l'isoler, cela est probablement pas dû à la mort cellulaire de ces bactéries, mais à leur perte de cultivabilité ( la perte de cultivabilité d'un organisme veut pas dire sa mort mais, ces bactéries rentrent dans un état viable mais non cultivable).

Nos résultats sont en accord avec une étude réalisée en Algérie par DIB A, (2008), qui a pu isoler une souche de *Vibrio Alginolyticus* dans un échantillon de moule à une prévalence de 0.6%, Alors que, des études sur la prévalence des vibrions dans les fruits de mer, le Maroc a

montré une prévalence de *V. alginolyticus* dépasse 50 % (Bouchriti N et al 2001) et à Agadir, Sur 104 échantillons dont 23 de moules vivantes et 81 de moules transformées dont la moule séchée (n=35), la moule congelée (n= 23) et la moule marinée (n= 23) prélevés respectivement au niveau de deux principales zones de production conchylicoles et dans les marchés et les grandes surfaces d'Agadir, 25 sont positifs pour *Vibriosp.* Soit 24%.

*V.alginolyticus* et *V.parahaemolyticus* sont les deux principales espèces identifiées dans des proportions relatives de 20,2% et 3,8%. (N.BOU M'HANDI<sup>1\*</sup>, M. LAACHIR, 2014)

Cette bactérie a été isolée aussi dans plusieurs pays ; aux Pays-Bas, un total de 91 échantillons de coquillages a été examiné d'aout à octobre 1999, *Vibrio Alginolyticus* était l'espèce prédominante avec une prévalence de 44% suivie par *V.parahemolyticus* (27.4%) ; En France, durant 1999, un total de 193 souches de *vibrio* isolées dans des produits de la mer importés de 9 pays (chine, équateur, inde, Iran, Madagascar, Sénégal, Tanzanie, Thaïlande et Viêt-Nam) ont été envoyées au centre national de référence des vibrions et de cholera. parmi ces souches, 94 sont des *V. parahemolyticus*, 53 *V.alginolyticus*, 26 *V.cholerae*, 3 *V.metschnikovii*, 2 *V. mimicus* et 15 souches d'autre espèces de *vibrio* (European commission 2001); Dans une étude réalisée de mai à septembre 2001, *V.alginolyticus* constituait l'espèce prédominante, aussi bien dans l'eau que dans les moules (35,4% et 37,5% respectivement) (Bonhomme, Amélie, Jeannine, Charlotte. 2003). Par contre, en 1998, en Belgique, un total de 1299 échantillons de produits de la mer aucun *vibrio* n'a été isolé dans ces prélèvements (European commission 2001).

### III-3-2 Les bactéries autres que *vibrio spp* isolés :

Dans cette étude, Certains agents pathogènes tels que, *Pseudomonas Aeroginosa*, *Pseudomonas Fluorescens*, *Aeromonas Hydrophila*, *Pasteurella Multocida 2*, *ProteusVulgaris*, *Proteus Mirabilis*, *Citrobacter Braakii* et *Citrobacter Frundii*, ont été isolés.

En hiver, la plus part des échantillons de moules ou d'eau de mer on été contaminés par les mêmes bactéries à savoir : *Pseudomonas Fluorescens/Putida*, *Pseudomonas Aeroginosa* et *Citrobacter Frundii*, avec une prévalence respectivement de 0.95%, 1.90%, 1.90%, et une

dominance de *Citrobacter Braakii* avec une prévalence nettement élevée de 2.85%, cela pourrait s'expliquer par leur pouvoir de survie dans des températures basses.

Tandis qu'au printemps les échantillons de moules et d'eau de mer ont été contaminés par *Proteus Mirabilis*, *Pasteurella Pneumotropica* et *Pasteurella Multocida* avec une même prévalence de 0.95% et une dominance de *Proteus Vulgaris* avec une prévalence de 2.85% cela pourrait être attribué aux conditions favorables du milieu notamment l'augmentation de la température et de la salinité.

*Aeromonas Hydrophila* a été isolée vers fin de la saison hivernale (mois de février) ainsi que tout au long de la saison printanière avec une prévalence de 2.85%, cela pourrait s'expliquer par le fait que ces bactéries rentrent en hiver dans un état viable mais non cultivable (Roszak DB, Colwell RR. 1987), l'état VBNC a été décrit pour *Aeromonas Hydrophila* par WAI SN et al, (2000).

## CONCLUSION

Les maladies transmises par les aliments sont fréquemment associées à la consommation d'aliments crus ou insuffisamment cuits provenant de lieux contaminés, ou irrigués par de l'eau contaminée, plutôt que la présence d'un aliment lui même contaminé. Dans ce contexte, et à cet effet, il est important d'évaluer le risque associé à l'ingestion des ressources aquatiques.

Cette étude a montré la présence de vibrio dans les moules à une prévalence de 1.90 %. Ces résultats sont difficilement interprétables du fait du peu d'études consacrées à la problématique des vibrio dans les moules mais aussi de la méthode de détection sur milieu GNAB. Nos résultats justifient pleinement la nécessité d'utiliser un milieu chromogénique préconisé dans les normes actuelles.

La présence d'autres bactéries pathogènes dans les moules et l'eau de mer nous interpelle sur le danger de ces contaminations pour le consommateur et le manipulateur d'où l'importance et la nécessité d'établir des mesures et des recommandations afin de prévenir tout risque lié à ces produits de la mer par des contaminants biologiques y compris ceux appartenant à l'espèce vibrio.

En effet, pour une meilleure prévention des infections alimentaires à Vibrio, Il est nécessaire d'améliorer les méthodes de détection et de caractérisation des espèces de Vibrio pathogènes pour l'homme. L'utilisation des réactions d'amplification génique (PCR) assure, non seulement une meilleure spécificité que les techniques bactériologiques classiques pour la détermination de l'espèce, mais permet également la mise en évidence des différents gènes de pathogénicité associées au risque Vibrio dans les produits de la mer.



## RECOMMANDATIONS

L'étude a permis de montrer qu'il existe de potentiels facteurs de risque d'infections liés à la consommation des moules. Eu égard à ces potentiels facteurs de risque que peut constituer la consommation de moules crus ou insuffisamment cuits, il nous apparaît important de faire à l'endroit des autorités, des vendeurs et des consommateurs de ces aliments, quelques recommandations :

Les autorités doivent sensibiliser les commerçants aux bonnes pratiques d'hygiène afin de réduire la multiplication des *Vibrio* en particulier et celle des autres bactéries dans les moules.

Les commerçants doivent vendre les crustacés dans des récipients propres et désinfectés à chaque vente.

Les vendeurs de moules doivent veiller à ce que les moules soient vendues toute la journée avec de la glace pour maintenir leur température de vente.

Les consommateurs doivent faire correctement cuire les moules avant de les consommer et surtout les consommer juste après leurs cuissons pour éviter une multiplication éventuelle des vibrions. Il faudra qu'ils évitent de mélanger les moules avec les autres aliments dans le panier de la ménagère ou de les conserver au réfrigérateur au contact des autres aliments à cause de la contamination croisée des moules contaminés par *Vibrio* spp et par d'autres germes et les autres aliments.

La prévention passe également par la surveillance continue des zones conchylicoles et formation et sensibilisation des médecins afin qu'ils informent leurs patients présentant une pathologie prédisposant (sida, cirrhose de foie, ...) du risque auquel ceux-ci s'exposent lors de la consommation des produits de mer contaminés par *Vibrio* spp.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABADA-BOUDJEMA Y.M&MOUËZA M ; 1981.Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger. Acta Oecologica Ecologia Generalis 1, 2 ; p : 183-194.
- Adebayo-Tayo B.C., Okonko I.O., Esen C.U., Odu N.N., Onoh C.C., and Igwiloh N.J.P., 2011, Incidence of potentially pathogenic *Vibrio* sp in fresh seafood from Itu Creek in Uyo, Akwa Ibom State, Nigeria, World Applied Sciences J., 15(7): 985-991
- AgroVet Magazine 18 & 19 : 7 Boujenane I. 1997. Le logiciel HALIB.
- Anonym 11; "Isolation of vibrio cholerae from fecal specimens"; Laboratory Methods for the Diagnosis of *Vibrio cholerae*; Centers for Disease Control and Prevention; <http://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-4.pdf>. (29/10/2014).
- Aonyme 12 ; « Le choléra. Santé et bien être » ; <http://sefrou.forumactif.com/t891-le-cholera>: 20/10/2014.
- Aubert M, J. Aubert, M Gauthier, S Daniel., « Origine et nature des substances antibiotiques présentes dans le milieu marin -1ère partie : étude bibliographique et analyse des travaux .revue int. Oséanogr méd, V.4,n° 1, (1966), 9-26.
- Bang W., Drake M.A., "Resistance of cold- and starvation-stressed *Vibrio vulnificus* to heat and freeze-thaw exposure", Journal of Food Protection, V. 65, n° 6, (2002), 975-980.
- Bayne, B. L. (1964). Primary and secondary settlement in *Mytilus edulis* L. J. Anim. Ecol 33: 513-523
- Bayne, B. L. (1976). Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Wiley, M. (ed.) Estuarine processes, Vol. I. Academic Press, New York, pp 432-448
- BENCHAIRA M & MENAI A ; 1999.Analyse de la situation aquacole du lac EL -MELLAH et proposition d'un projet de création d'une ferme piscicole marine. Mémoire Ingénieur en Halieutique, option aquaculture, ISMAL, Alger ; 77p
- Bhaskar N., Setty T.M.R., Mondal S., Joseph M.A., Raju C.V., Raghunath B.S. et Anantha C.S., "Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*)". Food Microbiology, V.15, n° 5, (1998), 511- 519.
- Blake P. A., Weaver R. E., Hollis D. G., "Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios". Annu Rev Microbiol, V. 34, (1980), 341-367.

- BOMTIS & XAVIER; 1991. Les filières pour l'élevage des moules, guide pratique IFREMER ; 249p.
- Bonhomme, Amélie, Jeannine, Charlotte., « Les bactéries du genre vibrio et la santé publique vétérinaire » ; Thèse pour le doctorat vétérinaire, (2003) ,100.
- Bouchriti N., Hamouda A., Karib H., Oumokhtar B., Yaakoubi I., « Appréciation de la qualité bactériologique des huîtres *Crassostrea gigas* commercialisées à Rabat ». *Animalis*, V. 2, (2001), 26-35.
- BOUKHROUFA F ; 1987.Reproduction et structure des populations de la moule *PernaPerna* sur la cote Algéroise. Thèse de Magister, USTHB, Alger; 123p.
- Bryan P.J., Steffan R.J., DePaola A., Foster J.W., Bej A.K., "Adaptative response to cold temperatures in *Vibrio vulnificus* ". *Curr. Microbiol*, V 38, n° 3, (1999), 168-175.
- CHINA B., DE SCHAETZEN M.-A., DAUBE G. Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Laboratoire de microbiologie des denrées alimentaires. Sart Tilman B43b 4000 Liège, Belgique, 2003
- DARDIGNAC- CORBEIL M, J ; 1989. La mytiliculture traditionnelle in BARNABE, *Aquaculture*. Volume 1. Partie 2-la culture des mollusques, Lavoisier Tec& Doc ; p : 285-345.
- DePaola, A., "Vibrio cholerae in marine foods and environmental waters: a litterature review". *J. Food. Science*, V.46, n° 1, (1981), 66-70.
- Desenclos JC. « Épidémiologie des risques toxiques et infectieux liés à la consommation de coquillages ». *Rev Épidémiol Santé Publique*,V. 44,n° 5, (1996), 437-454.
- DESGOUILLE Arlette et Xavier CATY *Science et Pêche*, Bull. Inf. Pêches marit., no 184, septembre 1969.
- Dib Amira., « evaluation de la contamination des produits de la mer par les vibrio dans la region de l'Est Algerien » ; mémoire de magistère 2007/2008 école nationale vétérinaire d'EL Harach, (2008).
- DJEDIAT C; 1993.Etude histo-physiologique et ultra structurale de la gonade femelle de *Mytilus galloprovincialis* LMK, Mollusque bivalve lamellibranche. Estimation de la maturité sexuelle et de la structure des populations. Thèse de magister histo-cytologie ; option Biologie marine ; ISN, USTHB, Alger ; 90p.
- Dumontet S., Krovacek K., Baloda S.B., Grottoli R., Pasquale V., Vanucci S., "Ecological relationship between *Aeromonas* and *Vibrio* spp. And planktonic copepods in the coastal

- marine environment in Southern Italy". *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis*, V 19, n° 3, (1996), 245- 254.
- European commission," option of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on vibrio vulnificus and vibrio parahemolyticus (in raw and undercooker seafood)" . Health and Consumer protection direction general . Adopted on 19-20 septembre 2001.
  - FAO/WHO., "Food Safety Consultation, Risk assessment of Campylobacter spp in broiler chickens and Vibrio spp. in seafood."; Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok-Thailand, (2002), 59p.
  - Fournier et Quilici., « Infections à Vibrions non cholériques ». *Encycl Méd Chir*, Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Maladies infectieuses, 8-026-F-15, Paris, (2002), 7p.
  - Ghosh A.R. et Sehgal S.C., "Detection of tdh and trh Genes in a Ureahydrolysing Environmental Isolate of Vibrio parahaemolyticus from the Andamans", *ICDDR,B : Center for Health and Population Research*, V. 16, n° 2, (1998), 87-90.
  - Giovannoni & Rappé., "Evolution, diversity and molecular ecology of marine prokaryote", *Microbial Ecology of the Oceans* D L Kirchman ed G,V. 69, n° 09, (2000), 47-88.
  - Gonzalez-Escalona N., Blackstone G.M., Depaola A., "Characterization of a Vibrio alginolyticus strains, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (trh) of Vibrio parahaemolyticus" .*Appl Environ Microbiol*,V. 72, n° 9, (2006), 7925-9.
  - HAOUCHINE M ; 1995. *Ecologie et biologie de la reproduction de la moule Mytilus galloprovincialis LMK au sein d'un écosystème lagunaire saumâtre le lac EL –MELLAH*, thèse de magister. I.S.N. U.S.T.H.B, Alger; 56p.
  - Hervio-Heath D., Colwell R.R., Derrien A., Robert-Pillot A., Fournier J.M., Pommepuy M., (2002); "Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France". *J Appl Microbiol*. V 92, n° 6, (2002), 1123-35.
  - Hirsch M; » *Evaluation des risques liés à la consommation de produits de la pêche importés* ». AFSSA, DERNS/Enr.22/Ind.D, Maisons-Alfort, France. (2002).
  - Holt et al., Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., "Bergey's Manual of Determinate Bacteriology", Ninth Edition.Williams&Wilkins, MBLWHOI Library, (1994),1134.

- Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., in Bergey's Manual of Determinate Bacteriology, Ninth Edition, Baltimore, MD: Williams&Wilkins, (1994).
- Honda T., Ni Y.X., Miwatani T.,(1988); "Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermostable direct hemolysin". *InfectImm*, V. 56, n° 5, (1988), 961-965.
- HOSMI A; 1978.Anote on the vertical distribution on mussels MG LMK "Venus", the japenèse journal of malacology 37 (4); p: 30-45.
- ICMSF., "Characteristics of Microbial Pathogens.London". ICMS (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). *Microorganisms in Foods Vol. 5* : Blackie Academic and Professional, (1996).
- Janda J.M., R.G. Bryant., "Pathogenic *Vibrio* sp: an organism group of increasing medical significance". *Clin. Microbiol. Newslet.*,V. 9, n° 7, (1987), 49-56.
- Janda, J.M ., Powers, c., Bryant, R.G. and L., A.S., " Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp."; *Clinical Microbiology Reviews*,V 1, n° 3, (1988), 245-267.
- JORGENSEN (C.-B.), 1946. — Lamellibranchia. In: *Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates. 9. Lamellibranchia. — Meddr Kommn Danm. Fisk. — og Havunders.*, Ser. Plankton, 4, p. 277-311.
- Lamarck J B P A de M 1819. *Histoire naturelle des Animaux sans vertèbres* 6. Paris. 612pp.
- Laurence Miossec ; « Les vibrions pathogènes pour l'homme : le risque associé au milieu marin en France »; *Ifremer*, (septembre 2002), 21-22.
- Lee C. C., Tong K. L., Howe H. S., Lam M. S., "Vibrio vulnific infections": case reports and litterature review. *Ann. Acad. Med. Singapore*, V. 26, n° 5, (1997), 705-712.
- Levine M.M., Balck R.E., Clements M.L., Nalin D.R., Cisneros L., Finkelstein R.A., "Volunteer studies in development of vaccines against cholera and enterotoxigenic *Escherichia coli* " a review.In : Holme J., Holmgren M.H., Muson and Molby R. (ed). Acute enteric infections in children. New prospects for treatment and prevention. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam. (1981), 443-459.
- Lhafi S.K., M. Kühne, (2007) ; "Occurrence of *Vibrio* sp in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea". *Food Microbiol*, V. 116, n° 2, 297-300.

- LUBET P ; 1959.Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (mollusques bivalves). Rev.Trov. Inst.Peche mar. , Paris, 23(4) ; pp : 387-548.
- LUBET P ; 1973.Exposé synoptique des données biologiques sur la moule Mytilus galloprovincialis LMK. Synop ; FAO ; (88) ; pp : 1-125.
- M. P. Malle , (2009); « Vibrio parahaemolyticus. », afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), Rédaction : M. P. Malle, septembre 2009, Coordination scientifique : R. Lailler ; <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-Vibrio.pdf>. (20/11/2014).
- Madden J.M. et Mc Cardell B.A., "Vibrio cholera, in Foodborne Food Bacterial Pathogens", Doyle, M.P. (ed.), New York : Marcel Dekker, (1989), 525-542.
- MARTIEL L ; 1976. La conchyliculture française. 2<sup>ème</sup> partie. Biologie de l'huitre et de la moule. Institut scientifique et technique des pêches maritimes. Nantes Cedex ; 319p.
- N. Bou m'handi, m. Laachir, Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. (2015) 3(1):5-11
- N. Cohen, H. Karib; « Vibrio spp. dans les produits de la pêche: Risques et prévention » ; Les technologies de laboratoire, thèse Département H.I.D.A.O.A., Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II maroc, V. 2, n° 4, (2007)
- Oliver J.D., "Entry into, and resuscitation from, the viable but non cultivable state by Vibrio vulnificus in an estuarine environment". Appl. environ. Microbiol., V. 61, n° 7, (1995), 2624-2630.
- Oliver J.D., "Vibrio vulnificus, in Foodborne Food Bacterial Pathogens ", Doyle, M.P. (ed.), New York : Marcel Dekker, (1989), 569- 596.
- Oliver J.D., Kaper J.B., "Vibrio species", In : Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (Eds.) Food microbiology – Fundamentals and Frontiers. ASM Press. Washington D.C, (1997), 228-264.
- OMS ,(2000). Choléra, Fact Sheet N107. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/fr/>, (7/10/2014).
- Pasquelin B., « Cours de Pisciculture », Coopération technique Suisse, V. 2, Edition à l'EATEF à Ziguinchor, Sénégal, (1976) ,100
- Pavia AT., Bryan J.A., Maher K.L., Hester Jr T.R, Farmer III J.J., "Vibrio carchariae infection after a shark bite". Ann. Intem. Med., V. 111, N° 1, (1989), 85- 86.

- POUTIERS J.M ; 1993. Les coquillages comestibles en France : Principaux bivalves comestibles in PAYANNI E ; coquillages : Identification, physiologie, pathologie, technique d'élevage, mentation, surveillance sanitaire ; p : 17-72.
- Purchon, R. D. (1968) *The Biology of the Mollusca*. Pergamon Press.  
<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Bivalvia.html>.
- QUERO J.C & VAYNE J.J ; 1998. Les fruits de la mer et plantes marines des pêches françaises ; p : 97-101.
- Quian R., Xiao Z., Zhang C., Chu W., Mao Z., Yu L., "Expression of two major outer membranes proteins from *Vibrio alginolyticus*", *World J Microb Biotechno*, V 24, n° 2, ( 2008), 245-251.
- REES (C.-R.), 1950. — The identification and classification of Lamellibranch larvae. — *Hull. Bull. mar. Ecol.*, 3,
- Reichelt J.L, Baumann P, Baumann L., "*Study of genetic Relationships among marine species of the genera Beneckea and Photobacterium by means of in vitro DNA/DNA hybridization*", *Arch. Microbiol*, V. 110, (1976), 101-120.
- Roszak DB, Colwell RR., "Survival strategies of bacteria in the natural environment". *Microbiol Rev*, V. 51, n° 3, (1987), 365–79.
- Rudra S et al., "Cluster of cases of clinical cholera due to *Vibrio cholerae* O10 in east Delhi". *Indian Journal of Medical Research*, V. 103, (1996), 71-73.
- Sakazaki R, Iwanami S, Fukumi H., "Studies on the enteropathogenic facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*, (Morphological, cultured and biochemical properties and its taxonomical position", *Japan Journal of Medical Science and Biology*, V. 16, (1963), 161-188.
- Seed, 1976
- Seed, R. (1976). Ecology. In: Bayne, B. L. (ed.) *Marine mussels: their ecology and physiology*. IBP 10, Cambridge Univ. Press, London, p. 13-65
- Sganga G., Cozza V., Spanu T., Spada P.L., Fadda G., "Global climate change and wound care : case study of an off-season *Vibrio alginolyticus* infection in a healthy man". *Ostomy Wound Manage*, V. 55, n° 4, (2009), 60-2.
- Shimada T., E. Arakawa, K. Itoh, T. Okitsu, A. Matsushima, Y. Asai, S. Yamai, T. Nakazato, G.B. Nair, M.J. Albert, and Y. Takeda.; " Extended serotyping scheme for *Vibrio cholera*". *Curr. Microbiol.*, V. 28, n° 3, (1994), 175-178.

- SULLIVAN (C.-B.), 1948. — Bivalve larvae of Malpeque Bay, P.E.I. — Bull. Fish. Res. Bd Canada, 77, p. 1-36.
- Tantillo, G.M., Fontanarosa, M., Di Pinto, A. and Musti, M., "Updated perspectives on emerging vibrios associated with human infections Letters in Applied Microbiology, V 39, n° 2, (2004), 117-126.
- Thompson J.R., M.A. Randa, L.A. Marcelino, A. Tomita-Mitchell, E. Lim, M.F. Polz,; "Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal Vibrio community". Appl. environ. Microbiol, V. 70, n° 7, (2004), 4103- 4110.
- Twedt R.M., "Vibrio parahaemolyticus", Doyle, M.P. (ed.) Foodborne, Food Bacterial Pathogens, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.
- W.Deconinck, 1971: [https://www.naturalsciences.be/sites/default/files/dossier\\_didactique\\_Moules.pdf](https://www.naturalsciences.be/sites/default/files/dossier_didactique_Moules.pdf).
- Wai SN, Mizunoe Y, Takade A., "A comparison of solid and liquid media for resuscitation of starvation- and lowtemperature-induced non culturable cells of Aeromonas hydrophila". Arch Microbiol 2000, V. 173, n° 3, (2000), 307–10.
- West P.A., "The human pathogenic vibrios-a public health update with environmental perspectives". Epidemiol. Infect, V. 103, n° 1, (1989), 1-34.
- Wong H. C., Liu S. H., Ku L. W., Lee I. Y., Wang T. K., Lee Y. S., Lee C.L., Kuo L. P., Shih D. Y., "Characterization of Vibrio parahaemolyticus isolates obtained from foodborne illness outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan". J. Food Prot , V.63, n°7, (2000), 900-906.
- Xie Z.Y., Hu C.Q., Chen C., Zhang L.P., Ren C.H., "Investigation of seven Vibrio virulence genes among Vibrio alginolyticus and Vibrio parahaemolyticus strains from the coastal mariculture systems in Guangdong, China". Letters in Applied Microbiology, V. 41, n° 2, (2005), 202-207.
- Zanetti, S., A. Deriu, L. Volterra, M. P. Falci, P. Mollicotti, G. Fadda, and I. Senchi., « Virulence factors in Vibrio alginolyticus strains isolated from aquatic environments". Ann. Ig, V 12, n° 6, (2000), 487-491.



## Annexes



**Figure A :** microscope optique



**Figure B :** incubateurs



**Figure C :** Balance électronique



**Figure D :** Paillasse avec les différents équipements du travail



**Figure E :** Bain marie



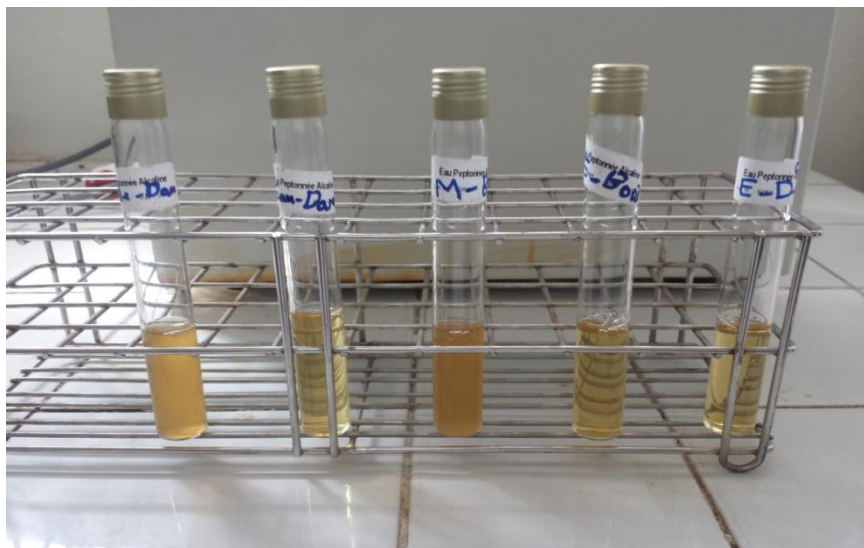
**Figure F** : Stomacher (Bag Mixer)



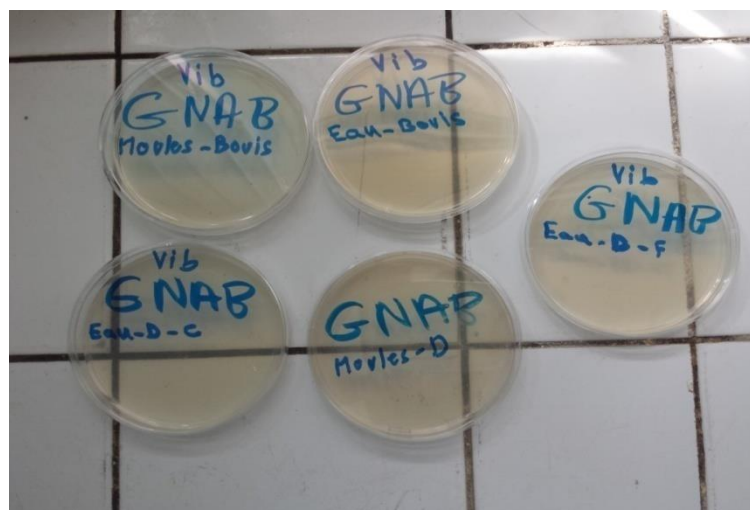
**Figure G** : Les échantillons de moules



**Figure H :** Echantillons d'eau de mer dans des bouteilles d'eau peptonée alcaline 10 fois plus concentrée



**Figure I :** Tubes d'eau peptonée alcaline a simple concentration



**Figure J :** Ensemencement dans le milieu GNAB





**Figure K :** Ensemencement dans le milieu TSI



**Figure L :** résultats de la galerie Api 20<sup>E</sup> de la bactérie *Vibrio Alginolyticus*



**Figure M** : Laboratoire du CNRDPA