

UNIVERSITE DE BLIDA-1

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

MEMOIRE DE MAGISTER

en Sciences Vétérinaires

Spécialité : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE
D'UN ÉLEVAGE PISCICOLE PAR LES GERMES PATHOGÈNES DANS LA
RÉGION DE CAP DJINET BOUMERDES.

Par

Sonia ARAB

Devant le jury composé de :

R. KAIDI	Professeur, Université. Blida1	Président
M.N. MENOUEI	M.C.A, Université. Blida 1	Examineur
K AIT OUDIA	M.C.A, ENSV. Alger	Examinatrice
M. OUMOUNA	Professeur, Université. Médéa	Promoteur

Blida, Octobre 2015

RESUME

Les contaminations alimentaires ne cessent d'occuper notre quotidien et les saisons chaudes sont particulièrement connues par leurs lots d'intoxication de toutes sortes. Parmi ces aliments figure les poissons pêchés ou élevés dans des conditions plus au moins artificielles. Contrairement à beaucoup de pays, de la cote Méditerranéenne, l'Algérie s'est lancé tardivement dans l'élevage des poissons et particulièrement les poissons marins. A cet effet, notre étude a été initiée pour répondre aux questions posées aussi bien par les aquaculteurs, les autorités de régulation ainsi que le consommateur. Parmi ces nombreuses questions, certaines sont liées à la qualité gustative de ces poissons élevés en mer, mais dans des conditions de confinement, qui augmenteraient les risques de contaminations horizontale et/ou la propagation rapide de maladies. C'est dans ce contexte, que nous avons entrepris ce travail afin de répondre au moins aux questions relatives à la contamination bactérienne chez deux espèces élevées dans une région centre de l'Algérie. Les résultats obtenus ne laissent aucun doute sur la présence d'une grande variété d'espèces bactériennes, dont certaines sont particulièrement pathogènes pour l'homme. Ces bactéries se trouvent au niveau de la flore de loup de mer, la daurade royale ainsi que l'eau de mer de la station piscicole à Cap Djinet (wilaya de Boumerdes) pendant deux périodes estivale (chaude) et hivernale (froide).

Au total 225 échantillons (120 loup de mer ,80 daurade royale et 25 eau de mer) ont été prélevés pour faire des analyses microbiologiques. Onze agents pathogènes ont été isolé, *Escherichia coli* était l'espèce la plus dominante, avec une prévalence de 97.5 % suivi de *Vibrio alginolyticus* (52.44%), *Aeromonas hydrophila* (47.5), *Pseudomonas aeruginosa* (41.33%), *Vibrio cholerae* (39.55), *Epasteurella multocida* (27.55%), *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* (27.55%), *Vibrio hollisae* (13.33%) et *Klebsiella pneumonia* (8.88%). En effet, la diversité des espèces bactériennes démontre de l'importance de ce genre

d'étude 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 ses produits cru ou mal cuit.

Mots clés : vibrio, bactéries, loup de mer, daurade royale, piscicole, Cap Djinet, Boumerdes, Algérie.

ABSTRAT

Food contamination continues to occupy our daily lives and hot seasons are particularly known for their food poisoning of all kinds. Among these contaminations, the fish, caught or raised in farms in conditions more or less artificial, constitutes one of the sources. Unlike many countries of the Mediterranean coast, Algeria has started late in the raising fish and marine fish especially. Our study was initiated to answer questions asked by farmers, authorities as well as consumers. Among the many questions, some are related to the quality of the fish reared at sea, but in confined conditions, which increases the risk of horizontal contamination and/or the rapid spread of diseases. In this context that we have undertaken this work in order to answer at least the issues of bacterial contamination in two species growing in an area central Algeria. The results leave no doubt about the presence of a wide variety of bacterial species, some of which are particularly pathogenic for humans. These bacteria are found in the flora of sea bass, seabream and sea water from the fish hatchery in Cap Djinet (wilaya of Boumerdes) for two summer periods (hot) and winter (cold).

In total 225 samples (120 sea bass, sea bream 80 and 25 seawater) were taken for microbiological analysis. Eleven pathogens have been isolated, *Escherichia coli* was the most dominant species, with a prevalence of 97.5% followed by *Vibrio alginolyticus* (52.44%), *Aeromonas hydrophila* (47.5), *Pseudomonas aeruginosa* (41.33%), *Vibrio cholerae* (39.55) , *Epasteurella multocida* (27.55%), *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis* (27.55%), *Vibrio hollisae* (13.33%) and *Klebsiella pneumonia* (8.88%). Indeed, the diversity of bacterial species demonstrates the importance of such studies in aquaculture environments both marine and freshwater, to assess the health risk associated with the handling or consumption of its products raw or undercooked.

Keywords: vibrio, bacteria, fish hatchery, sea bass, sea bream, Cap Djinet, Boumerdes, Algeria.

الملخص

تستمر تلوث الأغذية في حياتنا اليومية لا سيما في المواسم الحارة المعروفة بالعدد الهائل و المتنوع من التسممات الغذائية. ومن بين هذه الأطعمة الأسماك التي يتم صيدها أو تربيتها في ظروف أكثر أو أقل اصطناعية. وخلافا للعديد من بلدان ساحل البحر الأبيض المتوسط ، شرعت الجزائر في وقت متأخر في تربية الأسماك والأسماك البحرية على وجه الخصوص. تحقيقا لهذه الغاية، عملت هذه الدراسة للرد على الأسئلة التي طرحها كل من مربين الاسماك والمنظمين والمستهلكين. بين العديد من الأسئلة، ترتبط بعض لنوعية الأكل من الأسماك المرباة في البحر، ولكن في ظروف الاحتواء، مما يزيد من خطر التلوث الأفقي و / أو الانتشار السريع للأمراض. وفي هذا السياق قمنا بها هذا العمل من أجل تلبية ما لا يقل عن قضايا التلوث الجرثومي في اثنين من الأنواع نموا في منطقة وسط الجزائر. النتائج لا تترك مجالاً للشك في وجود مجموعة واسعة من الأنواع البكتيرية، وبعضها المسببة للأمراض وخاصة بالنسبة للبشر. تم العثور على هذه البكتيريا في باس البحر، أسماك الشبوط ومياه البحر من تفريخ الأسماك في راس جنات (ولاية بومرداس) لفترتين الصيف (الساخنة)والشتاء(الباردة).

225 عينة (120 عينة من باس البحر ، و 80 عينة من أسماك الشبوط و 25 عينة من مياه البحر) جمعت للتحليلات الميكروبيولوجية. وتم عزل إحدى عشر بكتيريا خطيرة لصحة الإنسان، كانت الإشريكية القولونية الأكثر تواجدا بنسبة 97.5% تليها الضمة الجنولتيكوس (52.44%)، الإيرومونات هايدروفيل (47.5)، الزانفة الزنجارية (41.33%)، الضمة كوليرية (39.55) ، الباستوريلة القتالة (27.55%)، المتقلبة الاعتيادية والمتقلبة الرائعة (27.55%)، الضمة هوليساي (13.33%) والكلبسيلا الرئوية (8.88%). و لذلك، فإن هذه الدراسة تقيم المخاطر الصحية المرتبطة باستهلاك الأسماك (النينة أو غير المطبوخة جيدا).

كلمات البحث: البكتيريا, باس البحر, الشبوط, تربية الاسماك, راس جنات, بومرداس, الجزائر.

REMERCIEMENTS

: Mes remerciements vont :

À tout le personnel du Laboratoire de l'intendance et surtout à SIHAM, Qui m'a permis de découvrir la disponibilité et la gentillesse. J'espère que ce travail sera la pièce angulaire d'une amitié durable.

À notre Président du jury ; Monsieur KAIDI R.

Professeur à l'institut de science vétérinaire à Blida.

« Vous nous faites L'insigne honneur de présider notre jury de mémoire ».

À mon Directeur de mémoire ; Professeur OUMOUNA M.

Vous nous avez séduit par la rigueur de votre raisonnement scientifique, mais surtout vous nous avez impressionné par votre amour du travail bien fait.

« Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements ».

À docteur MENOUEI MN.

Maitre de conférences A à l'institut de science vétérinaire à Blida.

« Pour l'insigne honneur que vous nous faites en acceptant d'être parmi nos juges. Sincères remerciements ».

À docteur MOKRANI DJAMEL pour tous ses bienfaits. Que Allah vous bénisse et vous le rende au centuple.

À Madame AIT OUDIA K.

Maitre de conférences A à l'école supérieure des sciences vétérinaire d'Alger, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Nous remercions vivement messieurs AOUSSEI Omar et Hakim, respectivement, propriétaire et gérant de la ferme, de nous avoir accepté pour réaliser notre mémoire.

Nous remercions également les membres du personnel de la ferme "ONDPA Cap Djinet", qui nous ont accompagnés durant notre mémoire.

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

L'éternel des armées :

Créateur du ciel et de la terre, celui qui fait sortir le pain de la terre et l'eau du rocher, par qui tout est possible, à qui je demande de me donner la sagesse de concevoir tout ce qui est juste et bon, la volonté de l'accomplir et la force de le défendre en tout lieu et en toute circonstance.

À mon père (*in memorium*):

Ce travail est le résultat des sacrifices que vous avez consentis pour moi. Homme de travail et de volonté, vous m'avez toujours inspiré la droiture, la franchise et le respect du prochain.

J'espère que, Allah l'accueille en son vaste paradis.

Papa Arab Ali.

À ma mère:

Je ne saurai traduire en termes réels l'émotion que Je ressens quand je tente de répertorier tout ce que vous avez fait pour nous.

Ce travail est l'expression de ma reconnaissance et du grand respect que j'ai pour vous.

À mon frère (Aghiles) et ma sœur (Lyna):

Votre compréhension, votre participation morale sont à la base de ce travail.

À toute ma famille paternelle (ARAB) et maternel (OULD AMAR), à mes deux chères tentes Wardia et Horia, mon oncle paternel (Ahcen), mes tentes et oncles paternel et maternel, mon grand père (Akli Ould Amar) et mon voisin (Mr Ait yala Hamiche).

À mes chers amis :

Dhia, Linda, Nadia, Asma, kahina, Salah, Anes, Bachir, Sofian, Laid, Madjid, Imen, shahrazed, Lyes, Amina, Hanane, Wissem, Hamza, Leila, Ferdaous, Horia, Samia.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
REMERCIEMENTS	7
TABLE DES MATIERES	11
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	16
INTRODUCTION	20
LA PARTIR BIBLIOGRAPHIQUE	22
CHAPITRE 1 : L'AQUACULTURE	22
1.1. L'aquaculture mondiale	22
1.1.1. Terminologie et Définitions	22
1.1.2. Histoire de l'aquaculture	23
1.1.3. Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture	25
1.1.4 Les types de pisciculture	26
1.1.4.1. Pisciculture extensive	26
1.1.4.2 Pisciculture semi – intensive	27
1.1.4.3 Pisciculture intensive	27
1.2. L'aquaculture en Algérie	28
1.2.1. Historique	28
1.2.2. Les différents types d'élevages en Algérie	31
1.2.3. Les activités d'aquaculture en Algérie	31
1.2.3.1. Pisciculture marine et conchyliculture	31
1.2.3.2. Aquaculture sub-littorale	32
1.2.3.3. Pisciculture continentale	33
1.2.3.4. Pisciculture saharienne	33
1.2.4. Distribution et caractéristiques des systèmes d'élevage	33
CHAPITRE 2 : PRESENTATION DE LA DAURADE ROYALE ROYALE ET	
LOUP DE MER	36
2.1. Présentation de la daurade royale (<i>sparus aurata</i>)	36

2.1.1. Production mondiale d'aquaculture de Daurade royale (<i>Sparus aurata</i>)	36
2.1.2. Systématique	36
2.1.3. Morphologie	38
2.1.4. Aspects écologiques	39
2.1.4.1. Distribution et répartition géographique	39
2.1.4.2. Limites écologiques et optimums	40
2.1.4.3. Habitat	41
2.1.4.4. Régime alimentaire	41
2.1.4.5. La croissance	42
2.1.4.6. Les différentes phases de production	42
2.1. Présentation de la daurade royale (<i>sparus aurata</i>)	47
2.1.1. La nomenclature	48
2.1.2. Systématique	47
2.1.3. Morphologie	48
2.1.4. L'aspect écologique	49
2.4.1. Répartition spatiale	49
2.4.2. Limites et optimums écologiques du bar	50
2.1.4.3. Habitat	50
2.1.4.4. Les stades biologiques de l'élevage du bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	50
CHAPITRE 03 : LA CONTAMINATION BACTERIOLOGIQUE DES	
PRODUITS DE LA MER	54
3.1. Introduction	54
3.2. La contamination primaire ou endogène	54
3.2.1. Les germes typiquement aquatiques	55
3.2.2. Les germes d'origine tellurique	56
3.2.3. Les germes d'origine humaine ou animale	56
3.3. La contamination secondaire ou exogène	56
3.3.1 Les vecteurs animés	57
3.3.2. Les vecteurs inanimés	57
3.4. Facteurs influant sur la teneur microbienne globale	57

3.4.1. <i>La dilution</i>	57
3.4.2. <i>L'adsorption</i>	57
3.2.3. <i>La sédimentation</i>	58
3.4.4. <i>La lumière</i>	58
3.4.5. <i>Variations de pH</i>	58
CHAPITRE 04 : LES PRINCIPAUX GERMES DE CONTAMINATION	
PATHOGENES A LA SANTE HUMAINE	59
4.1. Introduction	59
4.2. Les bactéries du genre <i>Vibrio</i> pathogènes a l'homme	60
4.2.1. Historique	60
4.2.2. Taxonomie	62
4.2.3. Les caractéristiques morphologiques	64
4.2.4. Les Caractéristiques biologiques	65
4.2.5. Variétés des espèces du genre <i>Vibrio</i> pathogènes a l'homme	66
4.2.6. Ecologie et facteurs de développement	68
4.2.7. Réservoirs	71
4.2.8. Facteurs de virulence et pathogénie	73
4.2.9. Caractéristiques cliniques et la voie de contamination des vibrions	76
4.2.10. Diagnostique des vibrio	79
4.2.11. Prophylaxie	80
4.3. Les staphylocoques aureus	81
4.3.1. Généralités sur les staphylocoques	81
4.3.2. Principaux caractères de <i>Staphylococcus aureus</i>	82
4.3.3. Physiologie de <i>Staphylococcus aureus</i>	84
4.3.4. Symptomatologie des intoxications causées par <i>Staphylococcus aureus</i>	86
4.3.5. Prévention des intoxications	87
4.4. Les salmonelles	88
4.4.1. Position systématique et principaux caractères	88
4.4.2. Physiologie	88

4.4.3. Toxicité	89
4.4.4. Symptomatologie	89
4.4.5. Prévention	90
4.5. Escherichia coli	90
4.6. Les Clostridium perfringens	94
4.6.1. Définition et Origines	94
4.6.2. Principales caractéristiques microbiologiques	94
4.6.3. Caractéristiques de croissance	95
4.6.4. Toxinogénèse	95
4.6.5. Maladie chez l'homme	96
4.6.6. Modalité de contamination	97
CHAPITRE 05 : L'ETUDE EXPERIMENTALE	101
5.1. Introduction	101
5.2. Matériel et méthode	103
5.2.1. Les échantillons	103
5.2.2. Matériel de Laboratoire	103
5.2.3. Site d'étude	105
5.2.4. L'Echantillonnage	107
5.2.5. Les prélèvements	107
5.2.6. Protocole d'analyse microbiologique	108
5.2.6.1. Recherche des salmonelles	109
5.2.6.2. Recherche des staphylocoques pathogènes	109
5.2.6.3. Recherche d'Escherichia coli (ISO 4831)	110
5.2.6.4. Recherche de clostridium perfringens	110
5.2.6.5. Recherche de la flore totale aerobie	110
5.2.6.6. Recherche des vibrio spp	114
5.2.6.7. Recherche des coliformes totaux et coliformes fécaux dans l'eau de Mer	114
5.2.6.8. Recherche des salmonelles dans l'eau de mer	114
5.2.6.9. Recherche des vibrio spp dans l'eau de mer	116

5.3. Les résultats	119
5.3.1. Caractères bactériologique et biochimiques des espèces bactériennes isolées	120
5.3.2. La prévalence d'isolement des germes chaque mois	125
5.3.3. Les résultats de prévalence de chaque germe	131
5.3.4. Etude comparative des résultats par espèce de poissons	141
5.3.4. L'étude comparative des résultats de poisson et d'eau de mer	141
5.3.5. L'étude comparative des résultats par période d'isolement	142
5.5. Discussion	143
5.5.1. L'étude des germes	143
5.5.2. Etude comparative des résultats d'eau de mer et de poissons	162
5.5.3. Etude comparative des résultats par espèce de poissons	162
CONCLUSION	164
RECOMMANDATION	166
REFERENCES	168
A. LISTE DES ABREVIATIONS	205
B. Présentation de l'infrastructure la ferme ONDPA	208
C. Méthode de prélèvement des poissons	219
D. Les loups de mer (prégrossissement) malades	220
E. Les boites de culture de chaque germe.	222
F. Les eaux usées (les égouts) qui se déversent directement dans l'eau de mer de Cap Djinet	227
G. Matériel de laboratoire	229

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

A. Liste des figures

Figure 1.1	Fresque égyptienne montrant des nobles en train de pêcher dans un étang artificiel	24
Figure1.2	Une exploitation d'étangs de carpes, en Chine, ou de tilapias en Egypte, était pratiquée dès 2000 avant J.C.	24
Figure1.3	Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture(1950-2010)	26
Figure 1.4	Bassins de grossissement d'un élevage intensif	28
Figure.1.5	Schéma national des sept pôles d'activités économiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie	35
Figure 2.1	Principaux pays producteurs de Daurade en 2006	37
Figure 2.2	Production mondiale de Daurade d'aquaculture	37
Figure 2.3	Photo d'une Daurade royale adulte dans son milieu naturel	39
Figure 2.4	Carte de répartition de la Daurade royale	40
Figure 2.5	Cycle de reproduction de la Daurade en milieu naturel	46
Figure 2.6	Cycle de reproduction de la Daurade en captivité	46
Figure 2.7	Schéma montrant la morphologie externe du bar commun <i>Dicentrarchus labrax</i>	48
Figure 2.8	Principaux pays producteurs de <i>Dicentrarchus labrax</i>	49
Figure 2.9	Œuf de 1180 μ m de diamètre et une larve éclosée de 3,5 mm de long	52
Figure 2.10	Une larve de 10 jours (quelques aliments sont visibles dans l'intestin)	52
Figure 2.11	Une larve de 45 jours de 15 mm de long	52
Figure 2.12	Une larve de 75 jours de 30 mm de long	53
Figure 2.13	Un loup de mer adulte de 350 g	53
Figure 5.1	Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane	105
Figure 5.2	Localisation géographique de la ferme de cap djinet	105

Figure 5.3	La ferme aquacole ONDPA Cap Djinet	105
Figure 5.4	les étapes d'isolement des salmonelles dans l'eau de mer	116
Figure 5.5	les étapes d'isolement des salmonelles dans l'eau de mer	117
Figure 5.6	les étapes d'isolement des autres germes dans l'eau de mer	118
Figure 5.7	La prévalence d'isolement des germes en mois de juillet	125
Figure 5.8	La prévalence d'isolement des germes en mois d'aout	126
Figure 5.9	La prévalence d'isolement des germes en mois de septembre	127
Figure 5.10	La prévalence d'isolement des germes en mois de février	128
Figure 5.11	La prévalence d'isolement des germes en mois de mars	128
Figure 5.12	la prévalence d'isolement de chaque germe par mois dans les poissons	130
Figure 5.13	Répartition de la fréquence d'E coli selon les périodes et les espèces de poisson	131
Figure 5.14	Répartition de la fréquence de Vibrio hollisae selon les périodes et les espèces de poisson	132
Figure 5.15	Répartition de la fréquence De vibrio alginolyticus selon les périodes et les espèces de poisson	133
Figure 5.16	Répartition de la fréquence de Vibrio cholerae selon les périodes et les espèces de poisson	134
Figure 5.17	Répartition de la fréquence d'Aeromonas hydrophila selon les périodes et les espèces de poisson	135
Figure 5.18	Répartition de la fréquence de Proteus mirabilis et Proteus vulgaris selon les périodes et les espèces de poisson	136

Figure 5.19	répartition de la fréquence de <i>Shewanella Putrefaciens</i> selon les périodes et les espèces de poisson	137
Figure 5.20	répartition de la fréquence de <i>Pasteurela multocida</i> selon les périodes et les espèces de poisson	138
Figure 5.21	répartition de la fréquence de <i>Shewanella Putrefaciens</i> selon les périodes et les espèces de poisson	139
Figure 5.22	répartition de la fréquence de <i>Pasteurela multocida</i> selon les périodes et les espèces de poisson	140

B. Liste des tableaux

Tableau 2.1	Limites et optimums écologiques de la Daurade	40
Tableau 4.1	Les 51 espèces du genre <i>Vibrio</i>	64
Tableau 4.2	Facteurs de développement de <i>Vibrio cholerae</i>	69
Tableau 4.3	Facteurs de développement de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	69
Tableau 4.4	Facteurs de développement de <i>Vibrio vulnificus</i>	70
Tableau 4.5	Pathologies associées à différentes espèces de <i>Vibrio</i>	76
Tableau 4.6	Les espèces de <i>Vibrio</i> pathogènes de poisson	79
Tableau 4.7	Principaux caractères permettant de distinguer <i>S. aureus</i> de <i>S. intermedius</i> et <i>S. hyicus</i>	83
Tableau 4.8	Quelques facteurs de croissance et de toxinogénèse chez <i>S. aureus</i>	85
Tableau 4.9	quelques caractères biochimiques d' <i>Escherichia</i>	93
Tableau 4.10	caractéristiques des principales maladies bactériennes transmises à l'homme par les poissons	98
Tableau 5.1	résume la méthode d'échantillonnage	106
Tableau 5.2	Les résultats de la recherche qualitative de certains germes pathogènes à la santé humaine dans la flore bactérienne des échantillons prélevés.	119
Tableau 5.3	Les caractères biochimiques des vibrions sur les galeries API 20 E	122
Tableau 5.4	Les caractères microbiologiques des bactéries autres que <i>vibrio</i> isolées sur TCBS	123
Tableau 5.5	Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que <i>vibrio</i> isolées sur TCBS	124
Tableau 5.6	Résumé de la prévalence d'isolement de chaque germe par mois dans les poissons	129

INTRODUCTION

La production mondiale des produits de la pêche et de l'aquaculture a augmenté de façon constante au cours des cinq dernières décennies (atteignant 154 millions de tonnes en 2011). L'offre de poisson de consommation augmente à un taux annuel moyen de 3,2 pour cent, dépassant la croissance de la population mondiale (1,6 pour cent). Les captures mondiales (production halieutique) plafonnent à environ 90 Mt et la ressource est globalement surexploitée. L'aquaculture représente, à cet effet, une part importante (environ 55 Mt) de la production mondiale de produits aquatiques, en croissance constante. La Chine est le principal pays producteur, avec environ 49 Mt, dont une majorité de produits issus de l'aquaculture. [1]

Dans de nombreuses régions du monde, les produits de la mer font partie du régime alimentaire des populations et constituent une importante source de protéine alimentaire. Cependant, dix à vingt pour cent des épidémies alimentaires sont attribuées à la consommation de produits de la mer. Ce chiffre varie évidemment avec la qualité du plan de surveillance mis en place dans chaque pays, le niveau de consommation et les habitudes alimentaires.[1]

En Algérie, les toxi-infections alimentaires sont nombreuses, de l'ordre de 300 000 à 500 000 cas par an (de 1 à 1,7 % de la population) [2]. En effet tout comme les autres aliments, les poissons peuvent être contaminés par des bactéries, telles que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* ou *Escherichia coli* entérohémorragique. Certains de ces micro-organismes, notamment les salmonelles peuvent aussi être présentes dans les eaux côtières et les estuaires souillés par les activités humaines ou dans les bassins d'aquaculture, si la qualité de l'aliment n'est pas contrôlée [3].

Il existe cependant des bactéries pathogènes naturellement présentes dans le milieu marin et qui sont responsables de maladies plus spécifiques dues à la consommation des poissons. C'est le cas des bactéries productrices d'histamine,

de certains *Vibrio*, de *Listeria monocytogenes*, de *Clostridium botulinum* et d'*Aeromonas hydrophila*. [3].

A l'instar de plusieurs pays Méditerranéen, l'Algérie a introduit deux espèces dans les élevages d'eau marine. En effet la daurade royale (*sparus aurata*) et loup de mer (*dicentrachus labrax*) sont considérés comme l'un des poissons de mer les plus importants dans la pêche et l'aquaculture [4], [5]. Selon FOURRIER, 2011 [6], l'Algérie est actuellement parmi les principaux pays producteurs de ces deux espèces.

Dans le but de mieux cerner la problématique de l'aquaculture dans le monde en général et en Algérie en particulier, nous nous proposons de présenter une revue bibliographique où nous donnons successivement quelques généralités sur l'aquaculture, description de la daurade royale et loup de mer et les contaminations bactériologiques des produits de la mer sur ainsi que leurs conséquences sur la santé de l'homme. Une partie de notre travail est réservée à l'ensemble des techniques et méthodes appliquées dans le souci de répondre aux multiples questions posées aussi bien par les éleveurs que les scientifiques quant à la sécurité des produits de l'aquaculture. A cet effet les résultats obtenus nous ont permis de répondre à certaine questions liées à la pratique de l'élevage marin en Algérie et de les confronter avec ceux des pays voisins de la côte Méditerranéenne.

CHAPITRE 1

L'AQUACULTURE

1.1. L'aquaculture mondiale

1.1.1. Terminologie et Définitions : [7]

- L'aquaculture est l'élevage et la culture des animaux et des plantes vivant en eaux marines et saumâtres.
- L'aquiculture est l'élevage et la culture des animaux et des plantes vivant en eaux douces.
- L'aquaculture au sens large reprend l'aquaculture au sens strict telle que définie plus haut, plus l'aquiculture. C'est au sens large que ce terme est le plus employé.

L'aquaculture se divise en plusieurs types d'élevage ou de culture :

- Pisciculture : élevage des poissons.
- Tilapiaculture : élevage de Tilapias (genres Tilapia, Sarotherodon et Oreochromis).
- Crevetticulture : élevage des crevettes.
- Pénéiculture : élevage des crevettes Pénéïdes.
- Ostréiculture : élevage des huîtres.
- Reptiliculture : élevage des reptiles (crocodiles et autres).
- Carcinoculture : élevage des crustacés (crevettes et autres).
- Astaciculture : élevage des écrevisses.
- Mytiliculture : élevage des moules.
- Carpiculture : élevage des carpes (Europe, Madagascar, Asie).
- Rizipisciculture : élevage de poissons et culture de riz sur la même parcelle.
- Azolaculture : culture de l'Azola (fougère aquatique).

1.1.2. Histoire de l'aquaculture :

L'aquaculture (culture ou élevage d'espèces aquatiques) est née du passage progressif d'une activité de prédation sur le milieu naturel qu'est la pêche, à une activité de gestion, comme le sont devenus l'agriculture et l'élevage. Cette activité est une pratique ancestrale. En effet, les premières cultures de poissons (pisciculture) sont identifiées en Chine (Carpe) et en Egypte (Tilapia) (figure 1,1 et 1,2), 2000 ans avant Jésus Christ [8], [9]. Au V^e siècle avant Jésus Christ, les grecs développent les premiers établissements de grossissement des huîtres. Quelques siècles plus tard, en 1235, en France, un naufragé irlandais, du nom de Patrick Walton, découvre par hasard les premières techniques de cultures de moules en plantant en mer des pieux entre lesquels il tend des filets afin de piéger des oiseaux pour se nourrir. Quelques semaines plus tard, il remarque que les pieux sont couverts de petites moules (naissains) et que ces dernières se développent rapidement [10]. Au XVI^e siècle, la pisciculture d'eau douce en étangs est en plein essor en Europe [11].

Au XVII^e siècle, le Japon réalise le premier élevage d'huîtres. Au XIX^e siècle, débute le développement de la conchyliculture en Europe. Au début du XX^e siècle, les principales espèces cultivées en France sont l'huître plate (*Ostrea edulis*), l'huître portugaise (*Crassostrea angulata* : à partir de 1920) et la moule (*Mytilus edulis*) [12].

Dès 1930, l'élevage contrôlé de poissons et de crustacés se développe grâce à la multiplication des connaissances scientifiques sur différents aspects clés des techniques d'élevage et de production (reproduction contrôlée, approvisionnement en juvéniles, nutrition adaptée, diagnostics et traitement sanitaires [11]. La production de truite arc en ciel est en expansion dans les années 60 en Europe et en Amérique du Nord [9].

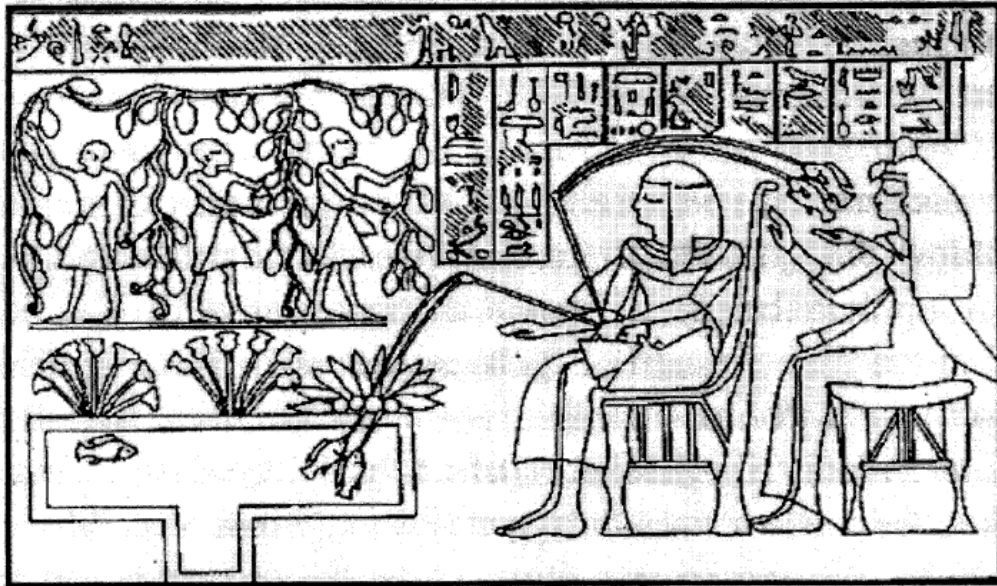


Figure 1.1 : Fresque égyptienne montrant des nobles en train de pêcher dans un étang artificiel [8].

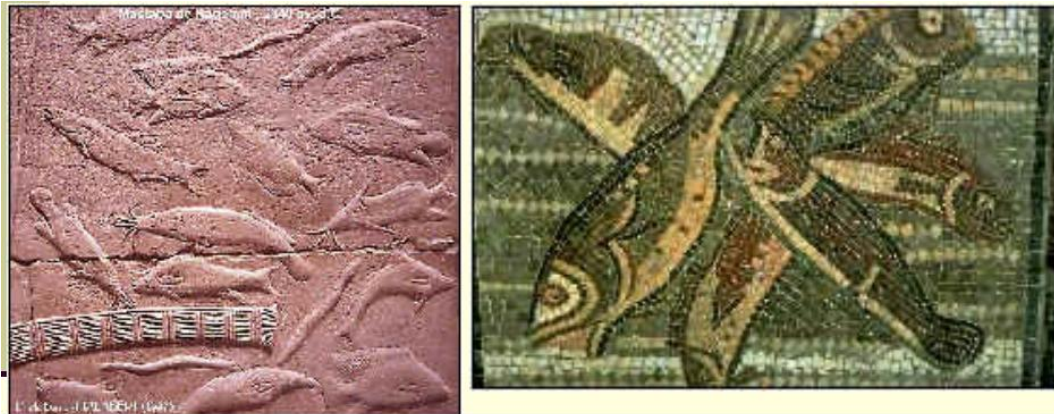


Figure1.2 : Une exploitation d'étangs de carpes, en Chine, ou de tilapias en Egypte, était pratiquée dès 2000 avant J.C. [13].

1.1.3. Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture :

Au contraire de l'aquaculture, la pêche, par l'exploitation exagérée des stocks, engendre, dans les années 70, une double faillite économique (coûts supérieurs aux revenus) et écologique (non renouvellement des générations conduisant à la disparition plus ou moins rapide d'espèces [14]). Ceci entraîne progressivement l'apparition de la notion d'aménagement des pêches tendant à une optimisation écologique et économique de l'exploitation. Parallèlement, la contribution de l'aquaculture aux approvisionnements mondiaux de poissons, de crustacés et de mollusques ne cesse d'augmenter (figure 1,3). A l'échelle mondiale, l'aquaculture s'est développée avec un taux de croissance moyen annuel de 8,9% par an depuis 1970, contre seulement 1,2% pour la pêche et 2,8% pour les systèmes de production de viande sur la terre ferme au cours de cette même période [14]. Aux vues de ces derniers résultats et de la continuelle croissance démographique mondiale (3 milliards en 1960; 6,5 milliards en 2005; 9,1 milliards en 2050 : Haub, 1998; United Nations, 2005), il est évident que l'aquaculture constitue aujourd'hui une activité majeure dans l'ensemble des activités de production alimentaire [13].

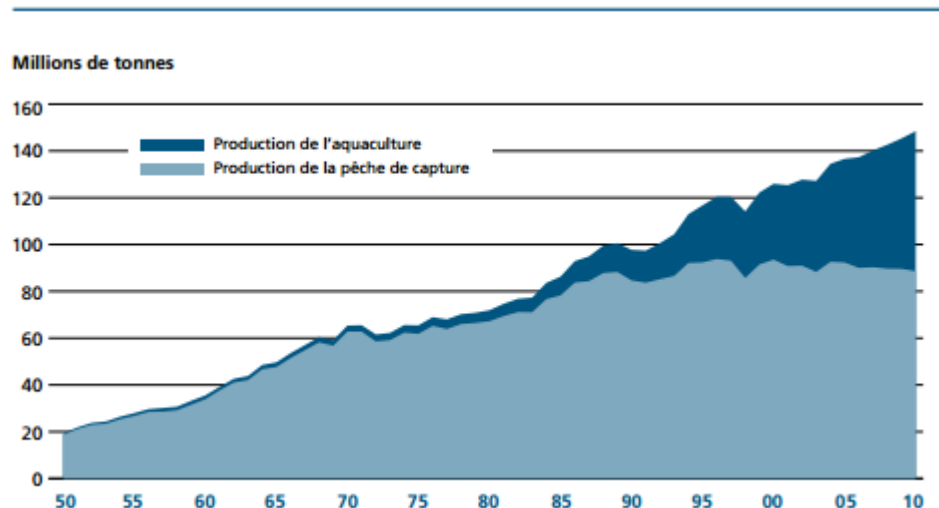


Figure 1.3 : Production mondiale de la pêche de capture et de l'aquaculture (1950-2010) [15].

1.1.4 Les types de pisciculture :

On distingue trois types de pisciculture :

- La pisciculture extensive.
- La pisciculture semi-intensive.
- La pisciculture intensive.

1.1.4.1. Pisciculture extensive :

Les élevages sont conduits sans fertilisants ni apports de nourriture et visent au maintien d'un équilibre écologique naturel et stable, mais dirigé au profit de l'homme.

L'un des principes est d'isoler des zones à haute productivité naturelle par des vannes, des claies ou des grilles permettant la pénétration des jeunes et empêchant la fuite des poissons plus gros.

Le rendement est de l'ordre de 100 à 150 kg/ ha/ an, parfois plus si la productivité naturelle des eaux est particulièrement élevée [16].

1.1.4.2 Pisciculture semi – intensive:

Les élevages de poissons se font en zones fermées. Pour intensifier la production de poissons dans ces eaux naturelles, on fournit à ces poissons un supplément de nourriture. On peut atteindre ainsi des rendements de 1,5 à 2,5 T/ ha/ an par fertilisation ou par nourrissage direct [16].

L'aquaculture semi-intensive est le type pour lequel un apport alimentaire supplémentaire faible en protéine est utilisé. Les produits donnés aux animaux de l'élevage peuvent être des plantes locales et /ou des sous-produits de l'agriculture [17].

1.1.4.3 Pisciculture intensive :

Est un élevage d'animaux aquatique qui se pratique dans des espaces entièrement ou partiellement clos (bassins en terre, béton (figure 1,4) ou en plastique, nasses ou cages géantes flottantes, etc) en eau douce ou en pleine mer suivant les espèces. L'aliment est presque entièrement apporté par l'éleveur. L'eau est constamment renouvelée par le courant (cages), une prise d'eau sur un cours d'eau (bassins) ou un recyclage (cas de l'élevage en circuit fermé); ce renouvellement vise à maintenir une eau riche en oxygène et pauvre en ammoniac. L'oxygène devient un facteur limitant, des aérateurs mécaniques ou des systèmes d'injection d'oxygène gazeux pur à base d'oxygène liquide sont souvent utilisés [17].

En pisciculture intensive, on obtient fréquemment 5 à 10 T/ ha/ an en étang, 50 à 100 kg/ m³ /an en cage, même parfois plus de 20 kg/ m³ /mois [16].



Figure 1.4 : Bassins de grossissement d'un élevage intensif [18].

1.2. L'aquaculture en Algérie :

1.2.1. Historique :

Les premiers essais d'aquaculture en Algérie remontent à plus d'un siècle.

Plusieurs centres spécialisés ont vu le jour pour encadrer scientifiquement et techniquement ces opérations. (Tirée de KARALI Amina et ECHIKH Fella, 2007) [19] :

- Station aquacole de Castiglione (Bou- Ismail).
- l'Aquarium de Beni-Saf.
- La station Océanographique du port d'Alger.
- la station Hydro-biologique du Mazafran.

Différentes opérations ont marquées l'histoire de l'aquaculture algérienne ; Selon le biologiste français « Novella » les premiers essais furent en 1880 au niveau de l'embouchure d'Arzew [19].

- ❖ 1921: Création de la station d'aquaculture et de pêche à Bousmail pour objectif : Détermination des meilleurs sites pour la conchyliculture et la pisciculture.
- ❖ 1937: Création de la station d'alevinage du Grib (empoissonnement en truites arc en ciel).
- ❖ 1940: Exploitation des lacs Oubeira et El Mellah et Tonga avec culture de coquillages.
- ❖ 1947: Création de la station Mazafran, dans l'optique de repeuplement en poissons d'eau douce et de recherches hydro biologiques.
- ❖ 1962-1980: L'après indépendance, la quasi totalité des actions ont été menées sur les lacs de l'est et sur la station de Mazafran.
- ❖ 1973: Mise en valeur du lac El mellah, pour l'installation des tables conchylicoles.

- ❖ 1974: Une étude de mise en valeur du lac Oubeira a conduit à un projet d'installation d'une unité de fumage d'anguilles.
- ❖ 1978: Un programme de coopération avec la Chine a été mis en place, centré sur 2 axes:
 - Initiation aux techniques de reproduction et d'alevinage pour le repeuplement.
 - Tentatives d'élevage larvaire de crevettes *Peneus kerathurus*.
- ❖ 1982 à 1990, exploitation de l'anguille aux lacs Tonga, Oubeira et Mellah par un privé. la production annuelle moyenne était de l'ordre de 80 tonnes exporté vers l'Italie.
- ❖ 1983/1984: Premiers travaux de réalisation d'une écloserie de loup au lac El mellah.
- ❖ 1985/1986: Des reervoirs d'eau furent peuplés ou repeuplés en poissons importés de Hongrie: carpes royales, carpes à grande bouches, carpes herbivores, carpes argentées, sandres.
- ❖ 1987: Filière sub-surface installée par l'ONDPA.
- ❖ 1989: Implantation d'une écloserie type mobile à Harreza pour la reproduction de carpes (10 millions de larves), une autre écloserie de carpes à double capacité que la première a été implantée à Mazafran.
- ❖ 1991: dans le cadre de repeuplement, 6 millions d'alevins de carpes ont été lâchés dans les plans d'eau des barrages Baraka, Gargar, Meurdjet-El amel, Benaouda, Oubeira.

- ❖ Durant les années de 1921 à 1993 aucune politique durable n'a permis de promouvoir le secteur de l'aquaculture.

- ❖ 1999: Inventaires des sites aquacoles à travers le pays.

- ❖ 2000: Création d'un comité national autour du sujet : Aquaculture en Algérie ; ce qui a aboutit à des résultats importants du point de vue perspectives, ainsi un établissement du plan national d'aquaculture en Algérie.

- ❖ 2001: Début de la première campagne d'élevage d'alevins, ainsi qu'une exploitation plus ample de sites aquatiques à travers le territoire national (côtière, intérieure, Saharienne).

1.2.2. Les différents types d'élevages en Algérie :

Il existe différents types d'élevages selon les espèces envisageables en Algérie [19] :

a- Les espèces pouvant être élevées en mode extensif :

En eau douce : carpe, tilapia, mullet, sandre, black-bass.

En eau saumâtre : mullet, bar, sole, daurade.

b- Les espèces pouvant être élevées en mode semi-intensif à intensif en cages flottantes :

En eau douce : Carpe.

En eau de mer : Bar, daurade.

c- L'élevage intensif en bassins construits en dures : Loup, daurade, turbot.

d- La conchyliculture : En filière : Huîtres, moules, palourdes...

1.2.3. Les activités d'aquaculture en Algérie :

Les conditions géographiques et climatiques favorables et un potentiel de production important et diversifié allant du littoral aux zones sahariennes, encouragent de se lancer dans la réalisation de plusieurs filières aquacoles notamment [20].

1.2.3.1. Pisciculture marine et conchyliculture

La frange côtière généralement d'altitude basse est propice à la pisciculture marine intensive utilisant des bassins construits pour les élevages de loup et dorade en eau de mer obtenue par pompage.

En raison des surfaces peu importantes que nécessitent ces élevages, il est tout à fait possible de les concevoir sur un littoral assez utilisé.

Bien que les sites de pleine eau abrités soient peu nombreux, il est envisageable :

-une pisciculture marine intensive en cages flottantes sur des fonds allant jusqu'à 35 m de profondeur.

-Une conchyliculture orientée sur les élevages de moules et d'huîtres en filières flottantes, et sub-flottantes entre 7 et 30 m de profondeur et en filières de sub-surface entre 10 et 35 m de profondeur. Ces élevages devant évoluer en véritables établissements de conchyliculture dotés de structures d'épuration de mollusques.

La mariculture littorale sera donc, du fait des technologies utilisables et de la concurrence des activités, une pisciculture à forme essentiellement intensive, basée beaucoup plus sur des exploitations de taille petite et moyenne que sur des complexes de productions importants [20].

1.2.3.2. Aquaculture sub-littorale :

Les zones de marais les embouchures d'oueds et les lacs par leur potentiel de production sont d'une importance considérable pour une aquaculture basée sur :

- Un aménagement qui consiste à collecter et relever les eaux de drainage dans des étangs artificiels faisant à la fois usage de réserve d'eaux et d'unités d'élevages extensifs.

- Une ou plusieurs prises d'eau sur les étangs artificiels assureront l'alimentation.

De bassins d'élevages semi intensifs de mullets et de bassins de terre à fond de sable pour l'élevage intensif de crevettes.

L'exploitation de ressources naturelles (anguille, mullet, palourde) et la collecte d'alevins d'espèces euryhalines susceptibles de participer aux élevages de types intensifs et semi intensifs [20].

1.2.3.3. Pisciculture continentale :

Les plans d'eau des barrages repartis sur l'ensemble du territoire représentent un potentiel piscicole important que l'on peut envisager grâce à quatre (04) types d'exploitation :

- Gestion par la pêche.
- pisciculture en cages flottantes.
- production intensive en bassin immédiatement en aval des retenues.
- production semi intensive en étang en amont des périmètres irrigués.

-Ces types d'exploitations s'adressent à des poissons d'eau douce, dont le cycle est parfaitement maîtrisé comme les carpes, certains mulets, le Tilapia ou le poisson chat.

-L'organisation de la pêche est possible sur chaque barrage par l'implantation de centres de pêche dotés de moyens, sur des plans d'eau capable de fournir annuellement une production de plus de 50 tonnes [20].

1.2.3.4. Pisciculture saharienne :

Les ressources aquifères du Sud algérien ne sont pas négligeables et les disponibilités en eau sont dans certaines régions très importantes.

Ces ressources sont bien évidemment destinées tout d'abord à l'alimentation en eau potable et à l'agriculture, mais la pisciculture à sa place dans un schéma d'utilisation rationnelle.

Il existe des nappes d'eau salée dans le sud algérien et certains forages de prospection pourraient même être facilement remis en service pour des exploitations piscicoles [20].

1.2.4. Distribution et caractéristiques des systèmes d'élevage :

Afin que le développement de l'aquaculture ne soit pas freiné par des conflits

d'usage, le Ministère de la pêche et des ressources halieutiques a élaboré le schéma national de développement des activités de la pêche et de l'aquaculture qui s'appuie en matière d'organisation administrative sur un découpage territorial et en matière d'organisation économique sur des pôles d'activités économiques, définis en fonction des variations biogéographiques. Sept pôles d'activité économique ont été identifiés (figure 1,5):

Pôle A : Aquaculture diversifiée.

Pôle B : Pisciculture continentale.

Pôle C : Aquaculture marine.

Pôle D : Pisciculture continentale.

Pôle E : Pisciculture intégrée à l'agriculture et pisciculture marine.

Pôle F : Pisciculture intégrée à l'agriculture.

Pôle G : Aquaculture de soutien.

(FAO publications related to aquaculture for Algeria).

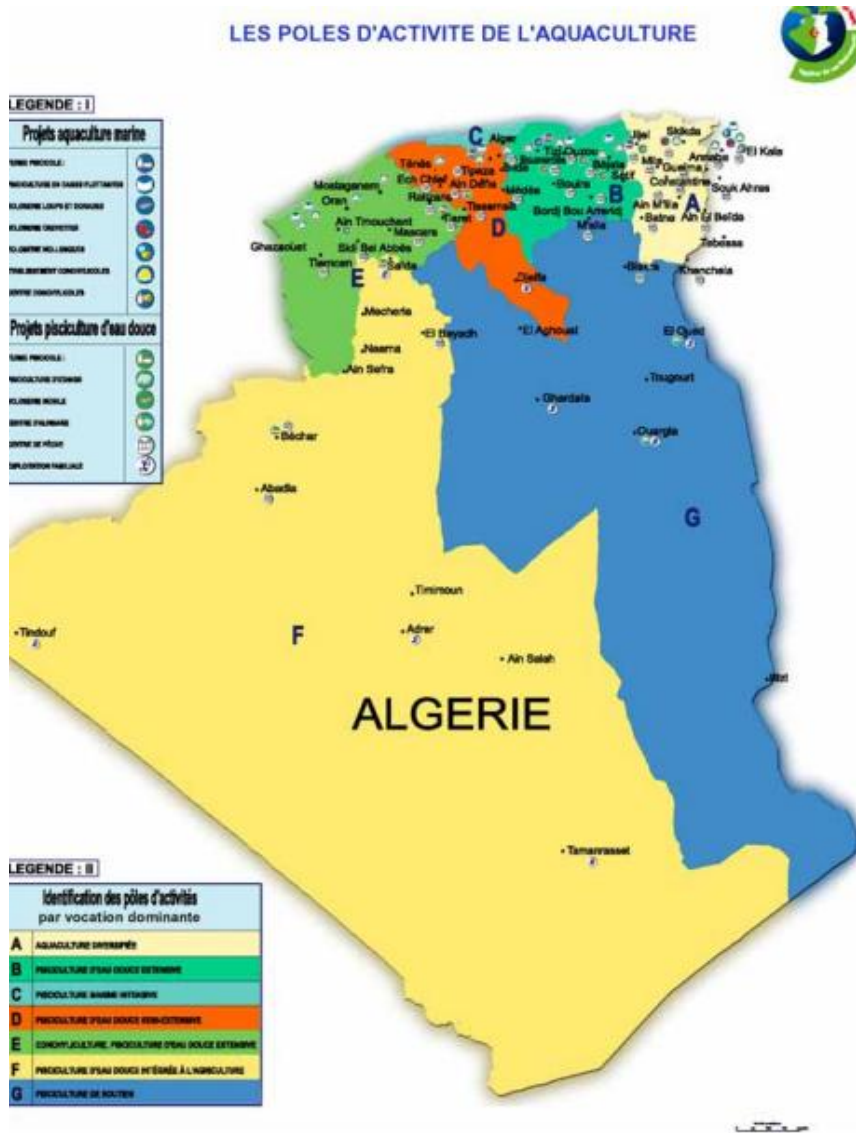


Figure.1.5 : Schéma national des sept pôles d'activités économiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie [21].

CHAPITRE 2

PRESENTATION DE LA DAURADE ROYALE ET LOUP DE MER

Dans la pisciculture marine algérienne, généralement, les espèces ciblées sont le loup de mer (*Dicentrarchus labrax*) et la daurade royale (*Sparus aurata*), se sont les principales espèces d'intérêt piscicole en Algérie [4], a cet effet, dans cette étude, nous nous somme intéressées à ces deux espèces.

2.1. Présentation de la daurade royale (*sparus aurata*)

La daurade royale *Sparus aurata* est un poisson marin Particulièrement apprécié. De haute valeur commerciale, la dorade présente une importance halieutique et aquacole, aussi bien en Algérie que sur tout le pourtour méditerranéen. Ainsi, de nombreuses études lui ont été consacrées [22].

2.1.1. Production mondiale d'aquaculture de Daurade royale (*Sparus aurata*) :

Le gros de la production provient de la Méditerranée, avec en tête, la Grèce (49%) qui en 2002 était de loin le producteur le plus important. La Turquie (15%), l'Espagne (14%) et l'Italie (6%) sont aussi des producteurs importants en Méditerranée. [22].

On note également, une production considérable en Croatie, Chypre, Egypte, France, Malte, Maroc, Portugal, Algérie et la Tunisie (figure 2,1) [22].

Il y a aussi des productions de daurade royale dans la Mer Rouge, le Golfe Perse, et la Mer Arabe, où le producteur principal est Israël (3% de la production totale en 2002); le Kuwait et Oman étant de petits producteurs [22].

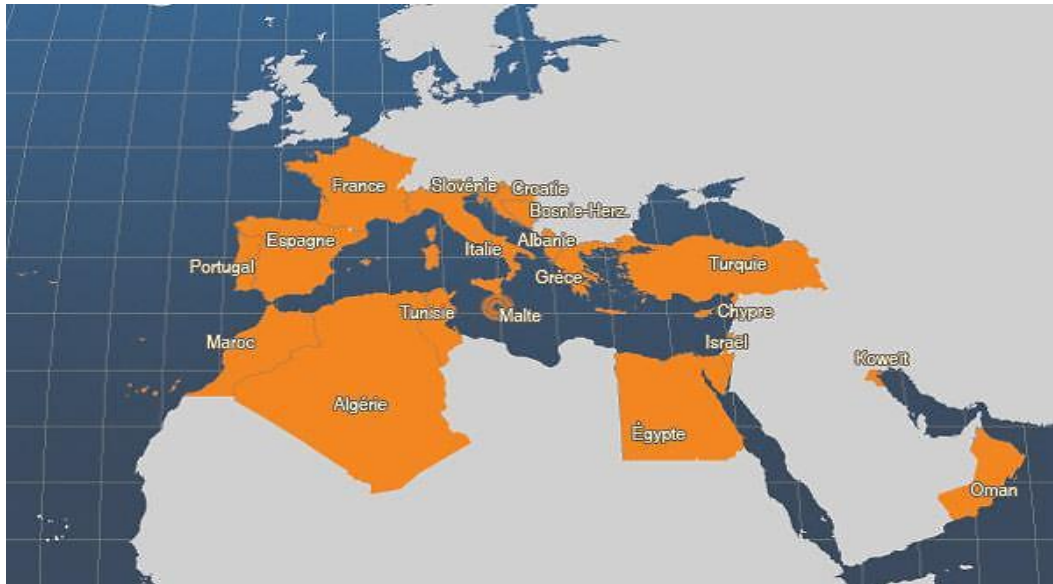


Figure 2.1 : Principaux pays producteurs de Daurade en 2006 [22].

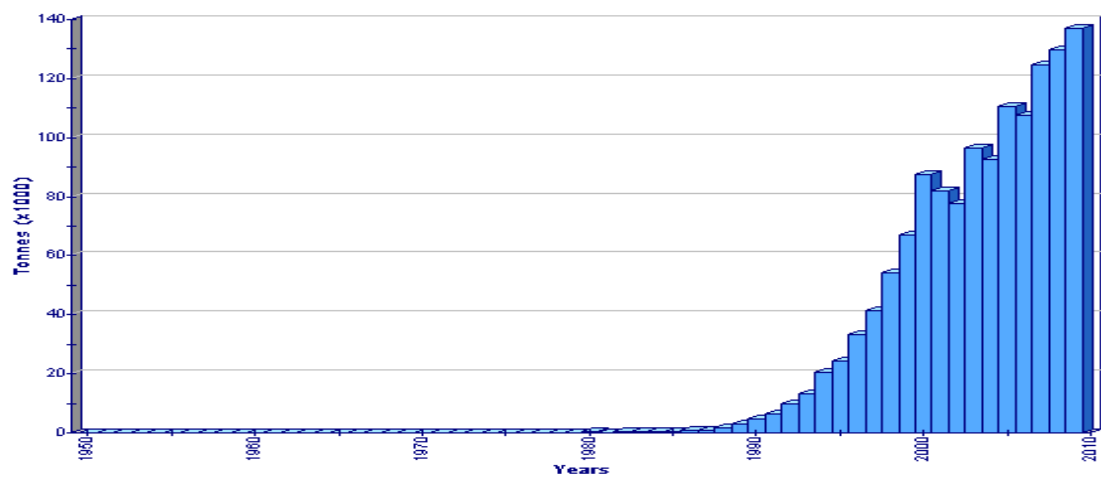


Figure 2.2 : Production mondiale de Daurade d'aquaculture [22].

2.1.2. Systematique :

- Embranchement : Chordés
- Sous-embranchement : Vertébrés
- Super-classe : Osthéichtyens

- Classe : Actinoptérygiens
 - Sous-classe : Neoptérygiens
 - Infra-classe : Téléostéens
 - Super-ordre : Acanthoptérygiens
 - Ordre : Perciformes
 - Sous-ordre : Percoïdés
 - Famille : Sparidés
 - Genre : Sparus
 - Espèce : *Sparus aurata*
- [23]

❖ Noms utilisés :

- France : Daurade royale
- Grande-Bretagne : Gilthead sea bream
- Italie : Orata
- Espagne : Dorada

Plusieurs espèces portent le nom vernaculaire de dorade (ou brèmes de mer) comme la dorade grise (appelée aussi Sar), la dorade rose et le pageot rose. Mais la daurade royale *Sparus aurata* est la seule dorade qu'on peut également appeler et écrire "daurade" [23].

2.1.3. Morphologie :

Corps ovale, assez élevé et comprimé. Profil de la tête régulièrement convexe. Œil petit. Bouche basse, très peu inclinée. Lèvres épaisses. Quatre à six dents caniniformes antérieures à chaque mâchoire, doublées et suivies sur les côtes de dents plus obtuses, devenant rapidement molariformes en 2 à 4 rangées, (dents dans les deux rangées externes beaucoup plus fortes). Branchiospines courtes, 11 à 13 avec 7 ou 8 inférieures et 5 (rarement 4) à 6 supérieures. Nageoire dorsale à 11 épines et 13 ou 14 rayons mous. Nageoire anale à 3 épines et 11 ou

12 rayons mous. Joes écailleuses, préopercule nu. Ecailles le long de la ligne latérale 73 à 85. Coloration: gris argenté; grosse tache noire à l'origine de la ligne latérale, débordant sur le sommet de l'opercule et soulignée sur l'opercule par une zone rougeâtre; bande dorée entre les yeux bordée de deux zones sombres (moins nette chez les jeunes); souvent des lignes longitudinales sombres sur le corps; une ligne noire sur la dorsale; fourche et pointes caudales bordées de noir (figure 2,3) [22].



Figure 2.3 : Photo d'une Daurade royale adulte dans son milieu naturel [23]

2.1.4. Aspects écologiques :

2.1.4.1. Distribution et répartition géographique :

La Dorade vit près des côtes, et s'adapte aux eaux saumâtres. On la retrouve jusqu'à 30m de profondeur en moyenne. On la rencontre en Atlantique Est, dans les îles Britanniques (très rare) jusqu'au Sénégal et sur toutes les côtes méditerranéennes, ainsi qu'en mer Noire (rare) (figure 2,4) [22].

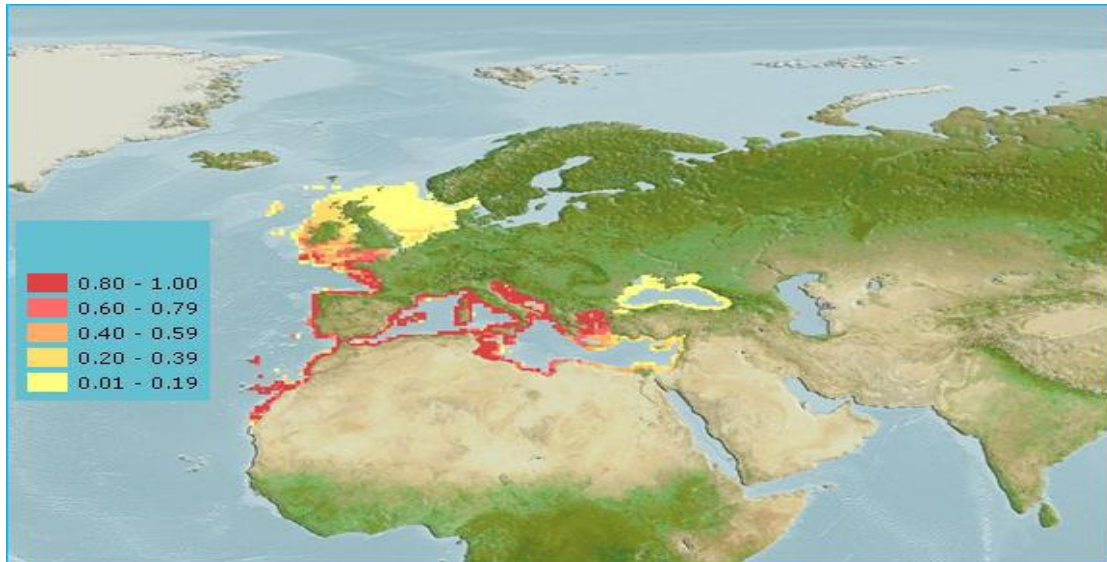


Figure 2.4. Carte de répartition de la Daurade royale [24].

2.1.4.2. Limites écologiques et optimums [25]

Tableau 2.1 : Limites et optimums écologiques de la Daurade.

	Température (°C)	Salinité (‰)	O ₂ dissous (mg/l)	N-NH ₃ (mg/l)
Limites	4 à 36	5 à 60	> 4	< 0.1
Optimums	17 à 20 : reproduction 25 à 27 : croissance	20 à 30	Saturation	

(Température (°C) Salinité (‰) O₂ dissous (mg/l) N-NH₃ (mg/l) Limites)

La consommation de routine de la Daurade est de 0.266 ± 0.053 mg O₂/g/h. Elle s'adapte également très mal au manque d'oxygène. Ce qui implique que la surveillance du paramètre oxygène, doit être très rigoureux en cas d'élevage à forte densité [26].

2.1.4.3. Habitat :

La Daurade vit seule ou en petits groupes, surtout en zone côtière. Ce poisson s'accommode de toutes sortes de fonds (sableux, rocheux...) [25].

En mer ouverte la daurade royale est normalement trouvée sur les rochers et les herbiers marins (*Posidonia oceanica*) mais elle est aussi fréquemment capturée sur des fonds sableux [22].

Comme elle est euryhaline et eurytherme, cette espèce est rencontrée dans des environnements aussi bien marins que saumâtre telle que les lagunes côtières et les zones estuaires, en particulier durant les stades initiaux de son cycle de vie. Nés en mer ouverte durant octobre-décembre, les juvéniles migrent au début du printemps vers des eaux côtières abritées, où ils peuvent trouver des ressources trophiques abondantes et des températures plus douces. A la fin de l'automne, ils retournent en mer ouverte, où les adultes se reproduisent [22].

2.1.4.4. Régime alimentaire :

La larve de Daurade est planctonophage [25]. Les juvéniles et les adultes sont des prédateurs benthiques. Ils consomment des mollusques (Bivalves), des crustacés (crabes, crevettes) ainsi que des versets des petits poissons [27].

L'aliment artificiel composé dont les particules ont un diamètre de 150–300 µm est distribué par un distributeur automatique à 2 heures d'intervalle à partir de 08:00h jusqu'à 20:00h pour les plus petits poissons (1–3 g), ou manuellement pour les poissons de plus grande taille. Le tri est nécessaire au moins deux ou trois fois par cycle, afin d'éviter de grandes différences de croissance. L'engraissement peut être fait dans des systèmes de bacs ou cages [22].

2.1.4.5. La croissance

La croissance de la Daurade diffère selon le milieu. Elle est plus rapide les premières années, dans les étangs saumâtres qu'en mer.

La taille correspondant à la première maturité sexuelle, est de 33-40 cm pour un poids de 1 à 3 kg.

- La taille commune est de 35 cm. Vers 9 ans, elle atteint 50 à 60 cm.
 - La taille maximale atteinte, est 70 cm.
 - Le poids maximal reporté, est de 17.2 kg.
 - Age maximal reporté : 11 ans.
- [25].

2.1.4.6. Les différentes phases de production :

a. Les géniteurs :

C'est une espèce hermaphrodite protandre : un individu sera d'abord mâle (maturité atteinte à 2 ans ; 20-30 cm) puis femelle (maturité atteinte vers 3-4 ans ; 33-40 cm) [22].

En fait, après la première maturité sexuelle, 80% des poissons (mâles) subissent une transformation pour devenir femelle. 20% des mâles restants, subiront une transformation pour devenir femelle, lors du prochain cycle ; et ainsi de suite, jusqu'au moment où tous les individus sont devenus femelles [26].

La période naturelle de reproduction s'étale d'octobre à mai, sur une gamme de température allant de 14 à 20 C°. Pendant cette période, la partie dorsale des femelles, vire au noir intense et la partie argentée est plus prononcée [25].

La saison de ponte varie suivant la latitude : de décembre dans la partie Sud de sa zone de répartition, à l'été dans sa zone Nord. La ponte a lieu sur des fonds de 30 à 50 m, mais les œufs sont pélagiques [25].

Les femelles peuvent pondre 20 000–80 000 œufs chaque jour pendant une période qui peut aller jusqu'à 4 mois. La fécondité totale étant de 1 000 000 à 3 000 000 œufs /kg de poids vif. Les œufs ont un petit diamètre allant de 0.85 à 1 mm, qui donnent des larves par la suite [22].

b. Le sevrage et La nurserie :

Cette phase correspondait à l'arrêt de la distribution de proies vivantes et à l'adaptation progressive des larves à un aliment inerte de type granulé [28].

Les juvéniles d'environ 45 jours sont généralement transférés dans une section de l'écloserie équipée avec de grands bacs ronds ou rectangulaires (10–25 m³), où le sevrage va avoir lieu. Le stade de sevrage est un vrai système d'élevage intensif [22].

A leur arrivée d'écloserie, les alevins de 1 à 5 g, sevrés sont trop fragiles et à un stade de croissance trop rapide pour être directement lâchés dans les structures finales de grossissement. Ils sont donc transférés dans une unité spécifique appelée nurserie [29]. Les alevins restent dans cette unité pendant une durée de 5 mois environ, jusqu'à atteindre le stade de juvéniles d'un poids moyen de 20 – 25 g environ (Cas d'un élevage en eau à température contrôlée) [29].

c. Le prégrossissement :

A leur sortie de nurserie, les juvéniles sont transférés dans des bassins de taille moyenne (60 – 100 m³). Après une durée de 5 mois (en eau réchauffée) à 10 mois environ (après hivernage) on obtient des juvéniles prégrossissement d'un

poids moyen unitaire voisin de 70 g. qui peuvent être transférés dans les bassins de grossissement final.

Les charges en fin de prégrossissement sont de 15 kg/m^3 et le poids moyen de 300 – 500 g [29].

d. Le grossissement :

La daurade royale peut être cultivée suivant plusieurs méthodes: dans des étangs et lagunes côtières, avec des méthodes extensive ou semi intensive; ou dans des installations à terre et cages en mer, avec des systèmes d'élevage intensif. Ces méthodes sont très différentes, spécialement quand il s'agit des densités d'élevage et de l'aliment utilisé [22].

❖ Système extensif

Ce système est basé sur la migration naturelle des poissons euryhalins, qui sont alors capturés, généralement par les pièges classiques en filets. Comme cette pratique constitue une source limitée et imprévisible de juvéniles naturels, plusieurs unités commerciales modernes de production extensive comptent aussi bien sur les juvéniles naturels pêchés que sur ceux d'élevage [22].

❖ Systèmes semi intensifs :

Dans ces systèmes le contrôle humain de l'environnement de la ferme est plus important que dans le système extensif. Il peut simplement impliquer le peuplement des lagunes avec des juvéniles qui ont été en pré-grossissement dans le système intensif, pour minimiser la mortalité et réduire le temps de l'élevage. Dans ce cas, il est aussi possible de fertiliser la zone d'élevage pour augmenter la disponibilité de nourriture naturelle. D'autres types d'élevage semi-intensif nécessitent plus de contrôle, avec un apport supplémentaire d'aliment artificiel et d'oxygène. Ce système d'élevage semi intensif est normalement réalisé dans des filets formant une clôture à l'intérieur d'une zone limitée de la lagune. La

production finale peut varier largement, selon la taille des juvéniles stockés et la quantité de nourriture donnée. La densité dans les systèmes semi intensifs n'excède pas normalement 1 kg/m³ et la production [22].

❖ Systèmes intensifs

Le grossissement intensif suit normalement les autres phases d'élevage intensif, à savoir la reproduction, l'élevage larvaire, et le pré-grossissement, comme décrit ci-dessus.

Les phases de pré-grossissement et grossissement intensives de la daurade royale peuvent être réalisées dans des installations à terre avec des bacs rectangulaires en béton qui varient en taille (200–3 000 m³) selon la taille des poissons et de la production demandée. Le grossissement peut aussi se faire dans des cages en mer, dans des sites abrités ou semi-exposés (cages flottantes) ou totalement exposés (cages semi-submersibles ou submersibles) [22].

Les systèmes intensifs peuvent être appliqués sur des juvéniles achetés à partir d'autres écloséries séparées, mais les grandes unités de production cultivent leurs propres juvéniles [22].

Quand les daurades royales sont élevées dans des bacs, elles le sont à des densités très élevées, allant de 15–45 kg/m³ et une injection massive d'oxygène est alors nécessaire pour assurer la survie des poissons. Sous d'excellentes conditions (18–26°C), des petites daurades royales pré-grossies (5 g) atteignent leur première taille commerciale (350–400 g) dans à peu près une année (figure 2,6) [22].

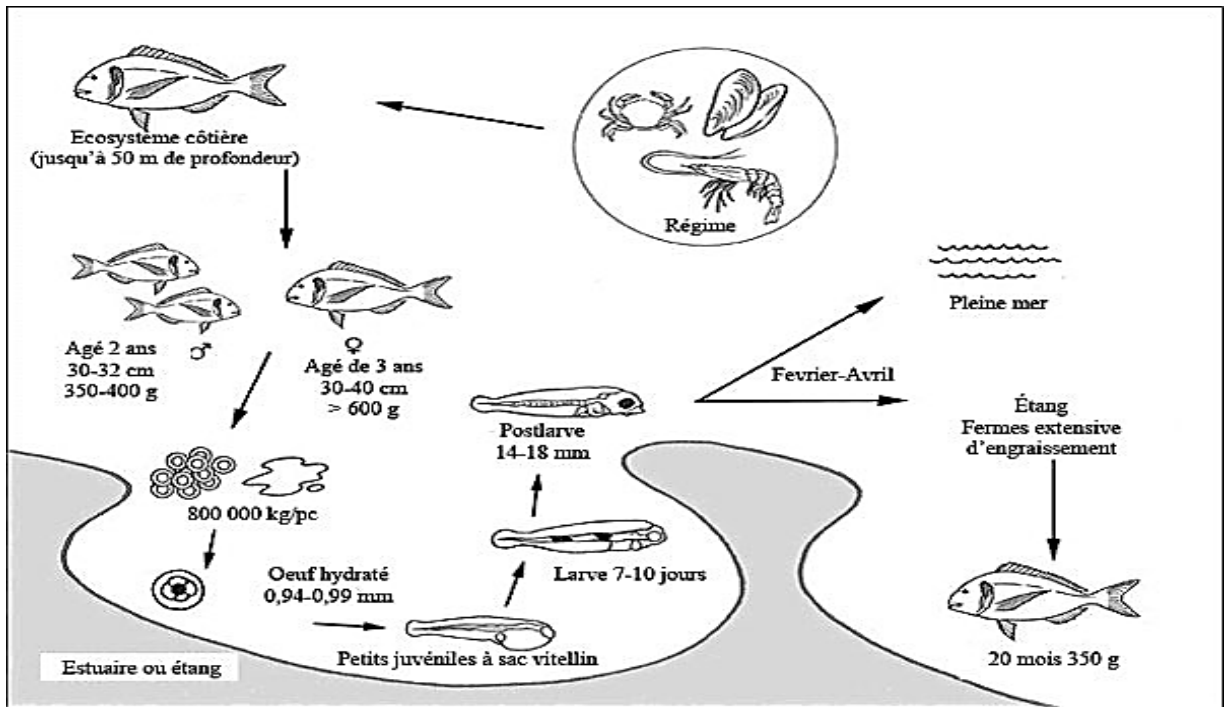


Figure 2.5 : Cycle de reproduction de la Daurade en milieu naturel [22].

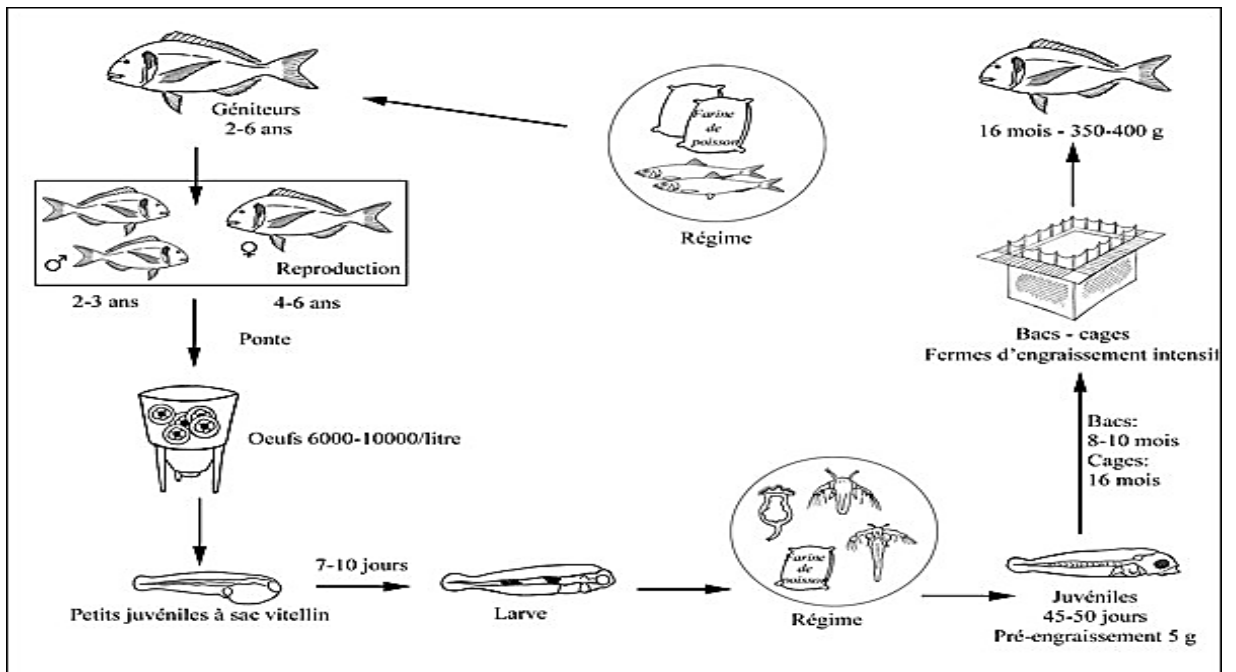


Figure 2.6 : Cycle de reproduction de la Daurade en captivité [22].

2.2. Présentation du bar (*dicentrarchus labrax*) :

2.2.1. La nomenclature :

- Nom scientifique : *Dicentrarchus labrax* [30].

Le mot *Dicentrarchus* vient du latin « *dicentrarchus* » qui signifiait « double épine » (sous réserve de vérification) ; *labrax* vient du grec ancien « *labrax* » signifiant « vorace », c'est le nom grec de ce poisson [31].

Synonyme courant du nom scientifique : *Morone labrax* [30].

- Origine des noms « bar » et « loup » :

Le mot « bar » vient du germanique *bar* (pointe), en référence aux grandes épines dorsales de ce poisson, qui lui donnent une posture de poisson roi.

L'espèce est appelée « loup » en Méditerranée en raison de sa voracité que les anciens ont rapproché de celle (supposée) du loup [31].

2.2.2. Systematique :

- Super-classe : Poissons
- Classe : Ostéichthyens
- Sous-classe : Actinoptérygiens
- Super-ordre : Téléostéens
- Ordre : Perciformes
- Sous-ordre : Percoidei
- Famille : Moronidae
- Genre : *Dicentrarchus*
- Espèce : *Dicentrarchus labrax*

Le nom spécifique du bar commun a beaucoup évolué depuis les premières descriptions connues, qui datent de l'Antiquité [32]. Actuellement, il est

communément désigné par *Dicentrarchus labrax*, mais sa position systématique n'est pas totalement fixée [33].

2.2.3. Morphologie :

Le corps du loup est allongé et doté de 2 nageoires dorsales séparées. Son dos est gris ou bleuâtre et ses flancs argentés. Sa première nageoire dorsale possède 8 à 10 épines, la seconde une seule épine plus une dizaine de rayons mous.

Taille maximale : 100 cm; commune : 20 à 55 cm (figure 2,7) [33].

Le dimorphisme sexuel est très peu prononcé chez le bar *D. labrax*. [32]. n'a identifié que quelques critères permettant à un œil averti de sexer un poisson, comme la longueur de la tête et la longueur pré-dorsale, qui sont légèrement supérieures chez la femelle. Leur tête serait ainsi plus longue et plus pointue que celle des mâles.

Cependant, l'identification du sexe d'après la morphologie n'est pas une méthode fiable, car elle entraîne un pourcentage d'erreur non négligeable de l'ordre de 20 % [32].

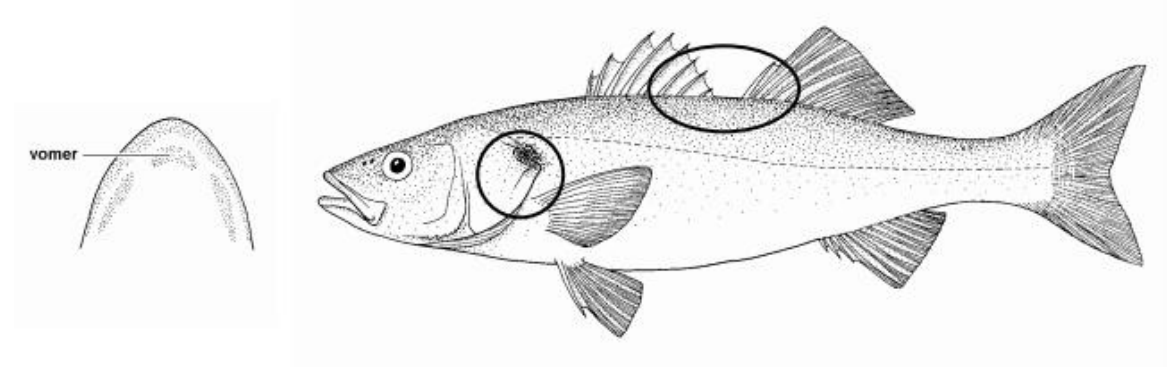


Figure.2.7 : Schéma montrant la morphologie externe du bar commun *Dicentrarchus labrax* [33].

Les principales caractéristiques de cette espèce sont soulignées dans figure (3.1): opercules épineux, double nageoire dorsale, dents vomériennes en forme de croissant [34].

2.2.4. L'aspect écologique :

2.2.4.1. Répartition spatiale :

L'aire totale de distribution de *Dicentrarchus labrax* s'étend, dans l'Atlantique Nord-est, de 30° N (côtes du Maroc) à 60° N (Sud de la Norvège). Il est présent en Mer d'Irlande, Mer du Nord et Mer Baltique, et il colonise toute la Mer Méditerranée ainsi que la Mer Noire. Il peut être trouvé jusqu'à une centaine de mètres de fond, et jusqu'à environ 80 km des côtes [32].



Figure 2.8 : Principaux pays producteurs de *Dicentrarchus labrax* [31].

2.2.4.2. Limites et optimums écologiques du bar :

➤ Les eaux

Le bar apprécie beaucoup les eaux agitées : vagues, houles, courants ; il se nourrit intensément en période de tempête [31].

➤ Température

Le bar survit dans des eaux allant de 2°C à 32°C, mais ne se nourrit pas en dessous de 7°. Sa croissance est stoppée en dessous de 10°, elle serait la meilleure aux alentours de 22°C [31].

➤ Salinité

Le bar supporte les eaux plus ou moins salées : de 0,5% à 40%, sachant que la salinité de la mer est de 35% [31].

2.2.4.3. Habitat

Espèce grégaire et côtière qui fréquente les eaux peu profondes recouvrant des fonds variés, le loup apprécie les lagunes saumâtres et l'embouchure des rivières. Eurytherme et euryhalin, le bar tolère des eaux dont les températures varient de 5 à 27°C et des salinités de 7 à 90 g/L [31].

2.2.4.4. Les stades biologiques de l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*)

3 phases distinctes caractérisent l'élevage du loup :

- l'obtention d'alevins sevrés en écloserie grâce à la maîtrise de la reproduction;
- le prégrossissement réalisé dans des bacs à terre (de 0,3 g à 5-10 g);
- le grossissement proprement dit des poissons jusqu'à la taille commercialisable

(300 g minimum) effectué dans des bacs à terre ou dans des cages immergées [33].

- L'élevage larvaire :

Les larves sont élevées dans des bacs cylindrocôniques de 5 m³ à une Densité de 100 larves par litre. Les bacs sont équipés de filtres biologiques et reçoivent un apport journalier de 10% d'eau de mer filtrée (50 µm) et stérilisée (UV) [35].

Pendant les dix premiers jours, la larve se nourrit sur ses propres réserves qui sont épuisées lorsque la vésicule vitelline est totalement résorbée (entre le 8ème et le 10ème jour). Au cours de cette période, le poids moyen des larves diminue progressivement de moitié et passe de 950 ng au premier jour (larves L1) à 553 ng au dixième jour (larves L10). L'augmentation de poids frais observée au 7ème jour d'élevage est consécutive à l'ouverture de la bouche et pourrait correspondre à une absorption active d'eau de mer par la larve. En effet le poids sec des larves reste relativement constant du 3ème au 10ème jour [35].

Bien que l'ouverture de la bouche soit effectuée dès le 7ème jour, les larves ne reçoivent aucune nourriture au cours des dix premiers jours d'élevage, et sont placées à l'obscurité. Au cours de cette phase de l'élevage, la température de l'eau de mer est progressivement remontée de 16 à 20 °C et la salinité est progressivement abaissée à 20 pour 1000 [35].

Un soin tout particulier est apporté au nettoyage de la surface de l'eau qui doit être dépourvue de toute pellicule huileuse afin de ne pas entraver la prise d'air par les larves lors de leur montée en surface. Cette prise d'air est indispensable au gonflement initial de la vessie natatoire des larves [36].

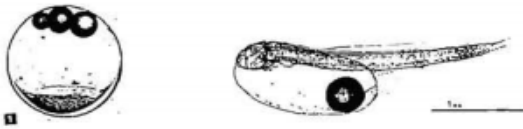


Figure 2.9 : Œuf de 1180 μm de diamètre et une larve éclosée de 3,5 mm de long [36].



Figure 2.10 : Une larve de 10 jours (quelques aliments sont visibles dans l'intestin) [36].

- Le sevrage :

Cette période débutait lorsque le poids moyen des larves atteignait 500 mg et s'achevait entre 1 et 2 grammes de poids moyen [30]. Les recherches concernant la nutrition des larves de poissons ont abouti à la mise au point d'aliments inertes dont la granulométrie est adaptée aux différents stades de développement de la larve, depuis les premiers stades (aliment micro-particulaire), jusqu'aux larves de 200 à 500 mg (aliment de sevrage) [36].



Figure 2.11 : Une larve de 45 jours de 15 mm de long [36].

- Prégrossissement : [36]

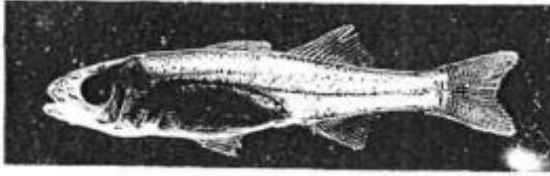


Figure 2.12 : Une larve de 75 jours de 30 mm de long.

- Grossissement : [36]

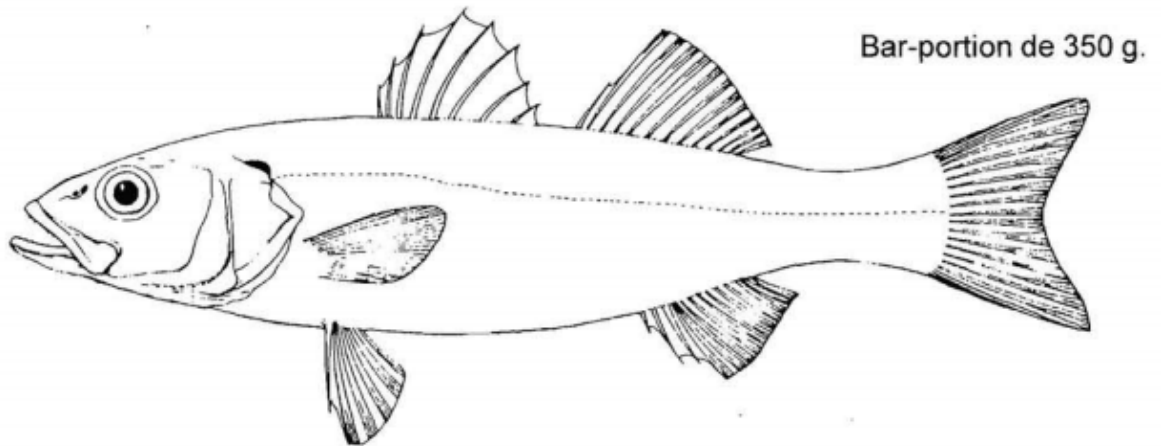


Figure 2.13 : Un loup de mer adulte de 350 g.

CHAPITRE 3.

LA CONTAMINATION BACTERIOLOGIQUE DES PRODUITS DE LA MER

3.1. Introduction :

Le milieu aquatique est susceptible à tout moment d'être pollué [37], en conséquence, la bactériologie des produits de la mer est d'abord le reflet de cette pollution. Elle est ensuite fonction des conditions d'entreposage et de conservation des produits depuis leur capture jusqu'à leur commercialisation [38].

Les produits de la mer (poissons et fruits de mer) sont protégés de leur vivant par leur épithélium cutané. Lorsqu'ils meurent, les bactéries envahissent le muscle et peuvent engendrer une détérioration de leur qualité. Cette contamination bactérienne résulte de la présence dans les voies branchiales, digestives et même cutanées de germes nuisibles capables de provoquer des maladies chez le consommateur et susceptibles d'altérer ces denrées [39].

Selon ROZIER J et al, 1985 [40] et BOURGEOIS C.M, LEVEAU J.Y, 1980 [41], cette contamination a deux origines:

- Une origine primaire ou endogène liée au milieu de vie des produits de la mer (milieu marin, eau douce ...).
- Une origine secondaire ou exogène qui a trait à la contamination des produits après leur capture.

3.2. La contamination primaire ou endogène

Elle a lieu du vivant de l'animal par le biais de la respiration et de l'alimentation (germes rencontrés dans les branchies et dans les viscères) et lors des déplacements des poissons dans les eaux contaminées, par dépôt des germes sur la peau. Il s'agit essentiellement de bactéries propres à l'environnement

naturel des poissons et autres fruits de mer [41]. Ces germes sont localisés dans le tube digestif, le mucus de la peau et dans le mucus des branchies [42].

Selon TOURE M. H, 1996 [43], les charges bactériennes moyennes pour le poisson venant d'être capturé varient de :

102 à 105 germes par cm² pour la peau.

103 à 107 germes par gramme pour les branchies.

103 à 108 germes par gramme pour le contenu intestinal.

Ces diverses espèces bactériennes prolifèrent après la mort du poisson vers les tissus les plus fragiles (sang, foie, rein) ; mais également vers tous les éléments proches des branchies et du tube digestif, et sont par conséquent à l'origine de l'altération des produits [43].

Les germes de contamination endogène peuvent être regroupés en 3 classes en fonction de leurs origines [44] :

- Les germes typiquement aquatiques.
- Les germes d'origine tellurique.
- Les germes provenant des animaux ou de l'homme.

3.2.1. Les germes typiquement aquatiques:

Selon RUSS cité par Azibe M, 1991 [45], la flore microbienne prédominante des produits marins en zone tropicale est composée de bactéries à Gram positif mésophiles. Cependant, d'après BRISOU J, 1955 [46] et BILON J, 1976 [47], un grand nombre de bactéries à Gram négatif psychrotrophes serait présent. On y dénombre *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* et *Vibrio*.

3.2 .2. Les germes d'origine tellurique :

Ce sont des bactéries vivant dans le milieu terrestre et dont la dissémination dans le milieu aquatique est assurée par les pluies et les eaux de ruissellement. Cette flore tellurique est essentiellement composée par des bactéries sporulées, en particulier les genres Clostridium et Bacillus [44].

3.2.3. Les germes d'origine humaine ou animale :

Il s'agit essentiellement des bactéries du tube digestif de l'homme et des animaux, ce qui traduit une pollution marine d'origine fécale. Par ailleurs, les effluents domestiques non traités rejetés par les grandes agglomérations sont une source importante de contamination du milieu marin. Cet impact est d'autant plus prononcé que le milieu concerné a un faible coefficient de renouvellement, une température élevée et une faible oxygénation limitant son pouvoir auto – épurateur [44].

Les germes rencontrés dans ce cas sont en général très pathogènes: il s'agit essentiellement des genres Salmonella, Staphylococcus, Clostridium et Streptococcus [48], [49].

3.3. La contamination secondaire ou exogène :

Elle regroupe toutes les possibilités de contamination des produits de la pêche depuis la capture jusqu'à la table du consommateur. La contamination exogène fait intervenir deux types de vecteurs [40] : les vecteurs animés et les vecteurs inanimés.

3.3.1 Les vecteurs animés:

Il s'agit de l'homme et des animaux. HOBBS cité par Seydi Mg, 1982 [50] affirme que l'homme est la source la plus fréquente de contamination des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (D.A.O.A).

Ainsi, l'homme chargé de la préparation, de la manipulation, de la récolte ou de la commercialisation des denrées alimentaires doit être fortement sensibilisé sur le respect des règles d'hygiène tant en ce qui concerne l'hygiène corporelle que les bonnes pratiques de transformation.

3.3.2. Les vecteurs inanimés :

Ce sont des éléments inertes pouvant être responsables du transfert de germes sur les aliments. On distingue principalement le sol, la terre, l'air (La poussière, la buée et la fumée véhiculées), l'eau (la glace fendante fabriquée avec une eau souillée), les locaux et le matériel [51].

3.4. Les facteurs influant sur la teneur microbienne globale :

3.4.1. La dilution : elle intervient immédiatement après le rejet. Elle est favorisée par le mélange des eaux : courants, turbulence et action des marées. On estime que 90 à 99% des bactéries d'égout sont détruites après 48 heures de suspension dans l'eau de mer et que leur nombre décroît avec la distance beaucoup plus rapidement que l'on pourrait s'y attendre du fait de la simple dilution [52].

3.4.2 L'adsorption : c'est la fixation des polluants sur toutes les particules organiques ou minérales en suspension dans le milieu aquatique. C'est un phénomène bien connu par lequel les microbes s'accrochent à des corpuscules dont ils suivent le sort ; l'adsorption contribue donc à un isolement des germes et à

une efficace dissociation de la charge polluante, car elle peut atteindre 90 à 95% des bactéries et des virus [53].

3.4.3. La sédimentation : directe ou indirecte (après adsorption), elle détermine la disparition momentanée des microbes. Cette disparition peut être provisoire, car il peut y avoir remise en suspension des sédiments et des bactéries. Très efficace en eaux calmes, elle se trouve amoindrie par la turbulence du milieu [52].

3.4.4. La lumière : elle intervient sur la dispersion (dilution, adsorption, sédimentation) dans le sens où elle conditionne les mouvements verticaux et horizontaux des masses planctoniques. Une action bactéricide directe de la lumière ultraviolette est en principe admise, mais est très modeste [53]; car son action ne dépasse pas une profondeur de 0.05m à 0.20m selon la turbidité [52].

3.4.5. Variations de pH : au plan microbiologique, les fluctuations naturelles de pH n'interviennent pratiquement pas. Par contre elles jouent un rôle dans les mouvements de masses planctoniques [53].

3.4.6. La salinité : les fortes variations de salinité d'un milieu à l'autre, ont tendance à empêcher l'accoutumance des bactéries allochtones à leur nouveau milieu, ce qui conduit à la décroissance de leur nombre [54].

CHAPITRE 4

LES PRINCIPAUX GERMES DE CONTAMINATION PATHOGENES À LA SANTÉ HUMAINE

4.1. Introduction :

Le niveau de contamination du poisson au moment de la capture dépendra de l'environnement et de la qualité bactériologique de l'eau dans laquelle le poisson est récolté. De nombreux facteurs influenceront sur la microflore du poisson, les plus importants étant la température de l'eau, la teneur en sel, la proximité des zones de récolte des habitations, la quantité et l'origine des aliments consommés par le poisson, et la méthode de récolte. Le tissu musculaire comestible du poisson est normalement stérile au moment de la capture et des bactéries sont habituellement présentes sur la peau, les branchies et le tractus intestinal [55].

Il y a deux grands groupes de bactéries dangereuses pour la santé publique qui peuvent contaminer les produits au moment de la capture [55]:

- Les bactéries indigènes qui sont normalement ou accidentellement présentes dans le milieu aquatique, c'est-à-dire les bactéries qui appartiennent à la microflore naturelle de poisson (*Aeromonas hydrophyla*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* et *Listeria monocytogenes*...).

- Les bactéries non indigènes qui sont introduites par la contamination de l'environnement par des déchets domestiques et/ou industriels (comprennent celles appartenant à l'espèce des Enterobacteriaceae, comme *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, et *Escherichia coli*. D'autres

espèces qui provoquent des intoxications alimentaires sont *Edwardsiella tarda*, *Pleisomonas shigelloides* et *Yersinia enterocolitica*.

On trouvera dans le tableau 4.10 un rappel des principales maladies rencontrées chez l'homme qui sont véhiculées par les poissons et les fruits de mer et qui sont causées par des agents biologiques.

Les espèces *Vibrio* sont communes dans les milieux marins et estuariens et les populations peuvent dépendre de la profondeur d'eau et des niveaux des marées. Elles prédominent en particulier dans les eaux tropicales chaudes et peuvent être présentes dans les zones tempérées durant les mois d'été. Ces espèces sont également des contaminants naturels des eaux saumâtres dans les zones tropicales et seront présentes dans les poissons d'élevage provenant de ces zones [55].

4.2. Les bactéries du genre *Vibrio* pathogènes à l'homme :

4.2.1. 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, atteint 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 vibrion 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 [56].

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 [57].

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 vibrion non-cholérique. Reconnu comme étant une nouvelle espèce par MAURIN C, 1976 [58], 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 [59].

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 [56].

D'autres espèces sont considérées comme pathogènes pour l'Homme : *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii* ont été isolés de cas de gastro-entérites ; *V. carchariae*, *V. cincinnatiensis* et *V. damsela* ont été mis en cause dans des cas d'infections extra-intestinales uniquement [60].

4.2.2. Taxonomie :

Les bactéries du genre *Vibrio* font partie de la famille des Vibrionaceae, de la classe des γ -proteobactéries [61].

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 4,1), 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 [56].

Tableau 4.1 : Les 51 espèces du genre *Vibrio* [56].

Espèces considérées comme pathogènes pour l'Homme	Autres espèces	
Espèces fréquemment isolées : <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio alginolyticus</i> Espèces rarement isolées : <i>Vibrio fluvialis</i> <i>Vibrio hollisae</i> <i>Vibrio mimicus</i> Espèces dont la pathogénicité est douteuse : <i>Vibrio carchariae</i> <i>Vibrio cincinnatiensis</i> <i>Vibrio damsela</i> <i>Vibrio furnissii</i> <i>Vibrio metschnikovii</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. cyclitrophicus</i> <i>V. diabolicus</i> <i>V. diazotrophicus</i> <i>V. fischeri</i> <i>V. gazogenes</i> <i>V. halioticoli</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. ichthyoenteri</i> <i>V. iliopiscarius</i> <i>V. logei</i> <i>V. marinus</i> <i>V. mediterranei</i> <i>V. mytili</i> <i>V. natriegens</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> <i>V. pelagius</i> <i>V. penaeocida</i> <i>V. proteolyticus</i> <i>V. rumoiensis</i> <i>V. salmonocida</i> <i>V. scophthalmi</i> <i>V. splendidus</i> <i>V. succinogenes</i> <i>V. tapetis</i> <i>V. trachuri</i> <i>V. tubiashii</i> <i>V. viscosus</i> <i>V. wodanis</i>

4.2.3. Les caractéristiques morphologiques :

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm . 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 [62].

4.2.4. 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* [63].

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* [63].

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 [64].

4.2.5. Variétés des espèces du genre *Vibrio* pathogènes a l'homme :

- *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 [65].

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 [66].

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 [66].

- *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 β) 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 [62].

GHOSH A.R. et SEHGAL S.C, 1998 [67] ont complété une étude réalisée par HONDA T et al, 1988 [68] 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 [68].

- *Vibrio vulnificus* :

Concernant *Vibrio vulnificus*, trois biogroupes 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 » [69].

Les souches appartenant au biotype 2 ont été impliqués en tant que pathogène opportuniste de façon sporadique dans des cas d'infections humaines [69].

En 1996, des cas d'infections chez l'Homme ont été attribués à de nouvelles souches de *V vulnificus*, regroupées au sein d'un nouveau biotype (biotype 3) [69].

Huit autres espèces de vibrions ont été isolées de cas cliniques humains. 11 s'agit de *V alginolyticus*, *V cincinnaliensis*, *V damsela*, *V fluvialis*, *V jùrnissii*, *V hollisae*, *V mimicus* et *V 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 [70], [71].

4.2.6. Ecologie et facteurs de développement :

- *Vibrio cholerae* :

La température minimale de croissance des *V. cholerae* a été estimée à 10°C, la température maximale à 43°C, le développement de *V.cholerae* est optimal à 37°C ; il survit bien à de faibles températures dans une variété d'aliments [59].

V. 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). [59].

Tableau 4.2 : Facteurs de développement de *Vibrio cholerae* [72].

	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

- *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 [56]. 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 [59]. *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 [62].

Tableau 4.3 : Facteurs de développement de *Vibrio parahaemolyticus* [62] :

	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

- *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 [73]; cet organisme est sensible aux basses températures et à la chaleur. BRYAN P.J et al [74] 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 [73].

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% [75].

Tableau 4.4 : Facteurs de développement de *Vibrio vulnificus* [75] :

	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

- *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 [76].

4.2.7. Réservoirs :

a) 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 [56].

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 [62]. 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 [62].

b) 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 [77].

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 [78].

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 [75].

Vibrio alginolyticus est l'espèce la plus fréquemment isolée des écosystèmes marins tempérés ou tropicaux [79].

c) Les animaux :

Les espèces du genre *Vibrio* sont très courantes à la surface et dans le contenu intestinal des animaux marins [80].

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 10³ par gramme) excepté dans les eaux habituellement chaudes dans lesquelles la densité de cette bactérie peut alors atteindre 10⁶ par gramme [59].

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 [60].

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 [69]. Alors que *Vibrio alginolyticus* était la plus souvent présente dans les sédiments et les crevettes [81].

4.2.8. Facteurs de virulence et pathogénie :

- *Vibrio cholerae* :

Les vibrions cholériques produisent, comme principaux facteurs de pathogénicité, la toxine cholérique (CT) et le facteur d'adhésion TCP (Toxin-Coregulated Pilus) [82].

La toxine CT est composée de deux sous-unités, A ou H, 28 KDa 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) transférase. L'exotoxine se fixe par ses sous-unités L aux gangliosides GM1 de la membrane des entérocytes. Le fragment A1, libéré dans le cytoplasme active 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 [83].

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 [83].

LEVINE et al, (1983) ont démontré que l'administration orale de 5µg de la toxine peut causer une diarrhée chez des volontaires humains [72].

- *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 %) [85].

- *Vibrio vulnificus* :

En 1981, Kreger et Lockwood ont été les premiers à décrire la production d'une toxine extracellulaire et thermolabile par *Vibrio Vulnificus* [69]. Elle possède une activité cytolytique sur des érythrocytes de mammifères, une activité cytotoxique sur des cellules d'ovaires de Hamster chinois (CHO) 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 *V. 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 [75].

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 [75]

- *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 [86]. GONZALEZ-ESCALONA N et al, 2006 [87] 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* [88].

4.2.9. Caractéristiques cliniques et la voie de contamination des vibrions :

a-Chez l'homme :

Le tableau 4,5 synthétise les syndromes cliniques associés aux espèces de vibrions les plus souvent rencontrées en pathologie humaine.

Tableau 4.5 : Pathologies associées à différentes espèces de *Vibrio* [89].

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)

-*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 [90].

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 [90]. Depuis les années 60, les produits marins ont été largement associés à ces épidémies [91].

- *Vibrio cholerae non 01* : 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 [91].

- *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 vibron peut être également responsable d'infections cutanées et de septicémies.

Le vecteur des infections à *V. parahaemolyticus* est alimentaire, principalement dû aux produits de la mer [92].

- *Vibrio vulnificus* : Trois types de symptômes cliniques peuvent être associés à cette espèce de vibrions [93] :

- 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 mortalités peut atteindre 24 %. Ces infections sont observées en été et au début d'automne [93].

-*Vibrio alginolyticus* : est l'espèce la plus fréquemment isolée des écosystèmes marins tempérés ou tropicaux [79]. Les cas de gastroentérites liés à *V.alginolyticus* sont exceptionnels [56]. Les infections à *V.alginolyticus* sont principalement des otites, des conjonctivites, des pyodermites superficielles et consécutives à un contact direct avec le milieu marin [94]. Ces infections sont observées lorsque la température de l'eau de mer est élevée [95].

b-Chez poissons :

Le tableau 4,6 synthétise les syndromes cliniques associés aux espèces de vibrions pathogènes de poissons.

Tableau 4.6 : Les espèces de *Vibrio* pathogènes de poissons [96].

Agent pathogène	Référence	Espèces hôtes	Pathologies associées
<i>V. alginolyticus</i>	Colorni <i>et al.</i> , 1981	<i>Sparus aurata</i> , <i>Epinephelus malabaricus</i>	Septicémie hémorragique
<i>V. anguillarum</i>	Bergman, 1909	Majorité des poissons marins	Septicémie hémorragique
<i>V. cholerae</i> non O1	Kiiyuka <i>et al.</i> , 1992	<i>Plecoglossus altivelis</i> , <i>Carassius aurata</i>	Septicémie, lésions de la peau
<i>V. damsela</i>	Love <i>et al.</i> , 1981	<i>Chromis punctipinnis</i>	Lésions de la peau
<i>V. fischeri</i>	Austin & Austin, 1999	<i>Sparus aurata</i> , <i>Scophthalmus maximus</i>	Tumeurs viscérales
<i>V. furnissii</i>	Esteve <i>et al.</i> , 1995	<i>Anguilla anguilla</i>	Hémorragies internes, hypersécrétion de mucus
<i>V. harveyi</i>	Austin & Austin, 1999	Majorité des poissons marins	Infections localisées, lésions hémorragiques
<i>V. ichthyoenteri</i>	Kim <i>et al.</i> , 2004	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Nécroses du tractus digestif

4.2.10. Diagnostic 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 [97].

4.2.11. Prophylaxie :

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

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) [98].

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 oeuvre, 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 [98].

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 conchylicoles 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 [98].

4.3. Staphylocoques aureus :

4.3.1. Généralités sur les staphylocoques:

Les staphylocoques constituent avec les microcoques les deux principaux genres de la famille des MICROCOCCACEAE. Ce sont des cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, se divisant en plusieurs plans en formant des amas irréguliers. Ils produisent une catalase. Leur paroi est principalement constituée de peptidoglycane [99].

Les staphylocoques se différencient des microcoques par plusieurs caractères :

- Ils sont aéro-anaérobies facultatifs alors que les microcoques sont aérobies stricts.
- ils sont sensibles à la lysostaphine et résistants au lysozyme alors que les microcoques sont résistants à la lysostaphine et sensibles au lysozyme.
- leur paroi contient de l'acide teichoïque qui est absent chez les microcoques.

La classification des staphylocoques évolue constamment grâce aux informations obtenues par les méthodes telles que l'hybridation ADN - ADN ou l'analyse des composantes de la paroi. Vingt trois espèces ont été individualisées jusqu'à présent. Le critère de base de leur classification est la production de coagulase. Il y a trois espèces productrices de coagulase (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*) et vingt espèces non productrices dont la plus importante est *Staphylococcus epidermidis* [99].

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires. Ce sont essentiellement des parasites saprophytes de l'homme et des animaux (peau, muqueuses). Certaines espèces sont pathogènes opportunistes. *Staphylococcus aureus* est la plus virulente. Les deux autres espèces coagulase positive sont surtout responsables de maladies animales [99].

En bactériologie alimentaire, seules les espèces capables de produire des entérotoxines sont considérées comme pathogènes. En effet, c'est l'ingestion d'entérotoxines qui est responsable des troubles observés [99].

Ainsi, dans le cas d'accidents alimentaires liés aux staphylocoques, le terme d' " intoxication" serait plus judicieux.

Parmi les staphylocoques, *Staphylococcus aureus* est la principale espèce entérotoxigène. D'autres espèces sont capables de produire des entérotoxines soit régulièrement (*S. intermedius*) soit irrégulièrement (*S. hyicus*, *Staphylococcus* à coagulase négative) [99].

Cependant la responsabilité des staphylocoques autres que *Staphylococcus aureus* dans les TIA (Toxi-Infections Alimentaires) est difficile à définir car:

- ils ne sont pas habituellement rencontrés dans les aliments.
- ils semblent produire des entérotoxines en quantité plus faible que *Staphylococcus aureus* et ce sont parfois des entérotoxines non identifiables par les méthodes habituelles [100].

4.3.2. Principaux caractères de *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus peut produire de nombreuses enzymes, protéase lipase, coagulase liée ou « clumping factor », coagulase libre, nucléase thermostable ou thermonucléase [99].

Elle produit un pigment caroténoïde qui donne à ses colonies une coloration jaune ou orange d'intensité variable selon les souches. Ce caractère peut ne pas s'exprimer ou être perdu au cours des repiquages. Cependant, la présence de pigment chez un staphylocoque à coagulase positive permet d'identifier à coup sûr *Staphylococcus aureus*. En effet, les deux autres espèces coagulase positive sont invariablement non pigmentées. L'utilisation du mannitol en anaérobiose et également un caractère distinctif [99].

La paroi de *Staphylococcus aureus* renferme de l'acide teichoïque responsable de la fixation de bactériophages spécifiques. Une série 23 phages est utilisée pour classer l'espèce en différents lysotypes. Un autre composé de la paroi, la protéine A, s'exprime chez la plupart des souches de *S aureus*, mais a été retrouvé chez quelques souches de *Staphylococcus hyicus*. De même, la coagulase liée peut se retrouver chez quelques souches de *Staphylococcus intermedius* [99].

-Les principaux caractères distinctifs des 3 espèces sont consignés dans le Tableau suivant :

Tableau 4.7: Principaux caractères permettant de distinguer *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus* [99].

	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hyicus</i>
Pigment	+(1)	-(2)	-
Coagulase libre	+	+	v(3)
Coagulase liée	+	v	-
Termonucléase	+	+	+
Protéine A	+	-	v
Mannitol (anaérobiose)	+	-	-
Hémolyse	+	+	-
Acétoïne	+	-	-

- (1) + = plus de 90% des souches sont positives
- (2) - = plus de 90% des souches sont négatives
- (3) v = variable

Staphylococcus aureus se rencontre aussi bien chez l'animal que chez l'homme. On distingue des porteurs sains occasionnels, intermittents ou permanents. Les fosses nasales constituent le réservoir principal du germe. Chez l'homme, le portage nasal concerne 20 à 50 % des individus. Le germe est disséminé à partir du nez sur la peau, les mains, le visage et dans l'environnement [101].

L'espèce *Staphylococcus aureus* est homogène sur le plan taxonomique, mais elle peut être séparée en biotypes spécifiques ou non d'hôte [99].

L'aptitude à produire les entérotoxines semble varier selon les biotypes: elle concerne 30 à 60% des souches de biotype humain, 100% des souches de biotype bovin, 80% des souches de biotype ovin. Le biotype humain semble le plus incriminé dans les TIA. Cependant aucun caractère ne permet de distinguer les souches productrices d'entérotoxine, des souches non productrices [99].

4.3.3. Physiologie de *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus se multiplie plus facilement en aérobiose qu'en anaérobiose. Il exige des acides aminés et des vitamines. Il est mésophile. Il est généralement inhibé en présence d'une flore compétitive importante. Il est sensible à l'acidité du milieu. Il tolère des concentrations élevées de NaCl et des niveaux d'*A_w* réduits. Il survit longtemps dans les aliments déshydratés ou congelés.

C'est un germe thermosensible: des populations de 10^6 *S. aureus* / ml peuvent être complètement inactivées en 4 - 24 mn à 54 - 60°C. Cependant certains constituants du milieu (lipides, protéines, sucre, sel) peuvent le protéger de la chaleur [101].

Elle a lieu dans des conditions un peu plus restrictives que celles requises pour la croissance bactérienne. Il peut donc y avoir une croissance sans toxinogénèse. Une revue de la littérature se rapportant à ce sujet a été réalisée par SMITH J.L., et al, 1983 [102].

Tableau 4.8 : Quelques facteurs de croissance et de toxinogénèse chez *Staphylococcus aureus* [102].

FACTEUR	CROISSANCE	PRODUCTION D'ENTEROTOXINES
Température	6 – 46°C	10 – 45°C
Température optimale	37°	40°C
pH	4 – 9,8	5 – 8
pH optimal	6 – 7	6,5 – 7 (stable)
[NaCl]	0 – 20%	0 – 10%
[NaCl] optimale	0%	0%
Aw	0,83 - > 0,99	0,86 - > 0,99
Aw optimale	> 0,99	> 0,99

Les conditions de toxinogénèse sont différentes selon les sérotypes étudiés, la production d'entérotoxine A étant moins dépendante du pH initial, des modifications de l'Aw et de la teneur en oxygène que celle des entérotoxines B et C. De nombreuses études sont encore nécessaires pour mieux connaître l'influence de la flore compétitive, des atmosphères modifiées, des sources de carbone, des ions minéraux, des additifs autres que le NaCl [102].

De plus, beaucoup de travaux sont réalisés à l'aide d'un modèle simplifié où toutes les conditions autres que celle qui est testée sont optimales. Les études multifactorielles sont rares et très peu d'entre elles concernent les aliments. En fait, le risque de toxinogénèse devrait être étudié pour chaque type d'aliment parce que chacun d'eux constitue un écosystème particulier [102].

Toute modification d'un paramètre nécessite une nouvelle évaluation du risque encouru.

Les toxines produites restent stables dans une large gamme de pH. Elles sont plus stables à pH élevé (jusqu'à 10- 11) qu'à pH bas (2 - 4). Elles résistent à l'action des enzymes protéolytiques: trypsine, chymotrypsine, papaine, pepsine.

Les entérotoxines présentent une grande stabilité à la chaleur. Cette stabilité varie en fonction de plusieurs paramètres (sérotypes, concentration, degré de pureté, nature du milieu). En particulier, plus la quantité de toxine présente dans un aliment est grande, plus les conditions d'inactivation sont sévères. Pratiquement, les entérotoxines ne sont pas complètement inactivées dans les conditions normales de cuisson ou de pasteurisation, procédés habituels d'assainissement culinaire [102].

4.3.4. Symptomatologie des intoxications causées par *Staphylococcus aureus* [103] :

Une toxi-infection Alimentaire (TIA) à staphylocoques est un syndrome gastro-intestinal survenant 8 heures (2 à 4 heures en moyenne) après ingestion d'une denrée contenant des entérotoxines staphylococciques. Les denrées incriminées sont les produits riches en protéines, surtout les plats ayant subi des manipulations importantes, comme les salades composées. En fait la majorité des produits alimentaires tels que le lait et produits laitiers, les produits carnés, la charcuterie, les pâtisseries et les poissons, peut contenir des entérotoxines staphylococciques.

Les signes apparaissent brutalement: nausées, céphalées, douleurs abdominales et surtout, vomissements violents incoercibles et répétés souvent accompagnés de diarrhée. Il n'y a généralement pas de fièvre, quelques fois une légère hyperthermie (jusqu'à 38°C) ou bien, au contraire, une hypothermie. Des

complications peuvent survenir en fonction de la dose de toxine ingérée et de la sensibilité individuelle: déshydratation, crampes musculaires, prostration, hypotension; état de choc, collapsus. La mortalité est toutefois exceptionnelle.

En résumé, il s'agit d'une maladie courte mais éprouvante et spectaculaire. Elle peut prendre une tournure dramatique lorsqu'elle atteint toute une collectivité. En raison de la précocité d'apparition des symptômes, très souvent les malades sont encore sur leur lieu de repas (banquet, mariage) ou de travail (atelier, école). Des TIA se sont également produites au cours de déplacements en train, en avion ou en bateau [95]. Le malade ne doit recevoir aucun traitement spécifique mais un traitement symptomatique si nécessaire (réhydratation).

4.3.5. Prévention des intoxications :

La contamination des aliments par les staphylocoques d'origine humaine peut être minimisée par l'éloignement des personnes infectées de la préparation des denrées, par la réduction des manipulations, par la propreté et la bonne pratique des manipulateurs. Ceux ci doivent être convenablement informés de l'existence des microbes afin d'être sensibilisés aux problèmes d'hygiène [103].

Les staphylocoques présents dans l'environnement et sur les ustensiles de cuisine peuvent être éliminés par nettoyage et désinfection [103].

Ces mesures ne suffisent cependant pas à supprimer la contamination des aliments par les staphylocoques, d'où nécessité en matière de produits de la pêche, d'arrêter leur multiplication en maintenant les produits à une température inférieure à 6°C. Le respect de la chaîne du froid est très important. Ces contrôles bactériologiques effectués régulièrement permettront de surveiller le niveau de contamination et de prévenir les accidents [103].

4.4. Les salmonelles :

4.4.1. Position systématique et principaux caractères :

Bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, les salmonelles appartiennent à la famille des ENTEROBACTERIACEAE dont les principaux caractères sont: «Bacilles de 0,3 - 1,0 μm mobiles grâce à des cils péritriches ou immobiles, ne formant pas d'endospore. Chimio-organotrophes, ces bactéries possèdent un métabolisme oxydatif et fermentaire. Elles produisent de l'acide et souvent des gaz au cours de la fermentation du D-glucose ou d'autres hydrates de carbone; elles sont catalase positive (sauf rares exceptions), oxydase négative» [99].

La famille des ENTEROBACTERIACEAE, répartie antérieurement en trois tribus est actuellement divisée en genres (20 genres, une centaine d'espèces) [99].

4.4.2. Physiologie :

➤ Température:

La température optimale de croissance est de 35 à 37°C. Cependant, les salmonelles peuvent se multiplier de 5°C à 45-47°C avec une croissance nettement retardée pour les températures inférieures à 10°C.

Les salmonelles, comme la plupart des bactéries à Gram négatif, présentent une sensibilité à la chaleur [99].

➤ PH :

Les salmonelles supportent une gamme de pH allant de 4,5 à 9 avec un optimum de 6,5 à 7,5. Aw : (Activité de l'eau).

Les salmonelles se développent bien pour les valeurs d'Aw comprises entre 0,945 et 0,999. Pour des valeurs très faibles correspondant à des produits déshydratés (de l'ordre de 0,200), elles survivent quand même, bien que ne pouvant se multiplier. Dans les aliments, les salmonelles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d'Aw égales à 0,930 [99].

➤ Autres facteurs:

Les salmonelles sont assez sensibles au NaCl, bien que leur présence ait été signalée dans des saumures à 3,2%. La concentration maximale tolérée serait de 5, 8%. Il convient de retenir l'influence conjuguée d'autres facteurs tels le pH, la température.

Elles sont peu sensibles aux nitrites et peuvent survivre fort longtemps dans les salaisons. Les variations du potentiel d'oxydoréduction ne les affectent pas. Ce ne sont pas de bons compétiteurs et en particulier, elles sont fortement inhibées par la flore lactique. Toutefois, les salmonelles résistent bien et Longtemps dans le milieu extérieur (terre, matières fécales, matériel, locaux ...) [99].

4.4.3. Toxicité :

Les salmonelles ne sont pas toxigènes mais entéro - invasives (la possibilité de production d'entérotoxine a cependant été évoquée par certains auteurs) [104].

4.4.4. Symptomatologie :

Les gastro - entérites à salmonelles font généralement suite à l'absorption d'un nombre élevé de bactéries vivantes (de l'ordre de 10⁶ bactéries). Il est difficile de donner une liste exhaustive des aliments responsables de gastro – entérites salmonelliques; en matière de produits de la pêche, les coquillages sont les plus

incriminés (surtout les moules). Aux Etats Unis on signale également la salade de crabe [104].

La phase d'incubation dure de 12 à 14 heures et les principaux signes sont ceux d'une gastro-entérite fébrile avec vomissement, diarrhée parfois sanglante et douleurs abdominales [105].

La phase aiguë dure de 24 à 48 heures.

Les symptômes régressent spontanément et une thérapeutique symptomatologique est généralement suffisante. La mort survient rarement sauf chez les sujets immunodéprimés, les enfants et les vieillards.

Certains sérovars dont typhi et enteritidis sont plus fréquemment responsables de toxi-infections alimentaires que d'autres, toutefois, il convient de considérer tous les sérovars comme capables de provoquer ce type d'infection.

Des variations notables de virulence existent entre les souches en relation peut être, avec l'absence ou la présence de plasmides qui serait d'ailleurs caractéristique de certains sérovars [106] et [107].

4.4.5. Prévention:

Il faut: Un respect rigoureux des principes d'hygiène au stade final de la préparation des aliments.

BRYAN [108] a bien répertorié les principales erreurs et donc défini les remèdes:

- respect de la chaîne du froid.
- cuisson convenable.
- séparation des produits crus et des produits cuits.
- hygiène corporelle permanente (lavage des mains).
- nettoyage et désinfection efficace et contrôlés (matériels, locaux).

L'éducation, l'information et la motivation de tous ceux qui manipulent les aliments, soit dans l'industrie, soit dans le commerce ou la restauration, constituent des volets indispensables à une bonne politique de prévention.

En matière de produits de la pêche, il faut exercer un contrôle sanitaire sévère sur les captures ou récoltes de poissons et fruits de mer dans les aires polluées et employer des techniques modernes de manutention.

Il faut surtout veiller à ce que les produits ne soient pas lavés dans de l'eau polluée [109].

4.5. Escherichia coli :

Découvertes en 1885 par ESCHERICH, les bactéries de ce genre se rencontrent au niveau de la flore du tube digestif, plus précisément dans le colon de l'homme et des animaux d'où leur dénomination; on parle plus simplement de "colibacilles". Elles sont cependant largement réparties dans le milieu extérieur par les excréta et leur présence y témoigne d'une contamination fécale.

Escherichia coli peut se multiplier dans certains endroits pollués qui deviennent alors des sources de contamination pour les produits alimentaires.

Retrouvé dans les aliments, ce germe indique généralement un risque de contamination par certaines bactéries pathogènes de la famille des germes entériques (*Salmonella spp*, *Shigella spp*) [110].

Le plus souvent, les souches d'*Escherichia Coli* qui colonisent l'appareil gastro-intestinal sont des commensaux inoffensifs lorsqu'elles ne jouent pas un rôle important dans le maintien de la physiologie intestinale. Toutefois, à l'intérieur de l'espèce on trouve au moins quatre types de souches pathogènes:

- 1-*E. coli* entérotoxigène (EPEC)
- 2- *E. coli* entérotoxigène (ETEC)
- 3-*E. coli* entéroinvasif (EIEC), *E. coli* de type dysenterie à bacille de shiga
- 4-*E. coli* entérohémorragique (EHEC)/

E. coli producteur de vérocytoxine (VTEC) ou *E. coli* 0157:H7

[111].

Certaines souches d'*Escherichia. Coli* peuvent être responsables de maladies graves chez l'homme :

- infections génito - urinaires (cystites, pyélonéphrites, métrites, orchite).
- syndromes digestifs (appendicites, lithiases biliaires d'origine infectieuse. péritonites).
- syndromes circulatoires (septicémie, endocardites).
- syndromes pulmonaires (broncho-pneumonie, pleurésies purulentes) des gastro-entérites graves chez le nourrisson.

[110].

- Les caractères biochimiques d'*Escherichia* :

Tableau 4.9 : quelques caractères biochimiques d'*Escherichia coli* [112].

Caractères Biochimiques	<i>Escherichia coli</i>
Mobilité	+ ou - (rare)
glucose	Fermente avec gaz
lactose	Fermente rapidement ou lentement rapidement (paracolobactrum coliforme)
mannitol	+
ONPG (ORTHONITROPHENYL GALACTOPYRANOSIDE) -	+
saccharose	+ ou-
rouge de méthyle	+
indole	+ ou - (rare)
Acétone	-
citrate (Simmons)	-
urée (Christensen à 30°C)	-
H ₂ S sur milieu Kligler TSI)	-

4.6. *Clostridium perfringens* :

4.6.1. Définition et Origines

Les *Clostridium perfringens* sont des Anaérobies Sulfite Réducteurs (ASR) :

- germes telluriques (présents dans le milieu extérieur : sol, eau, air, etc...et capables d'y résister très longtemps sous forme de spore).
- présents également dans la flore intestinale de l'homme et des animaux. Ils se développent dans des conditions d'anaérobiose (absence d'oxygène). Les spores de ces germes sont très résistantes à la chaleur.

[113].

4.6.2. Principales caractéristiques microbiologiques [114] :

Bâtonnets larges (1 à 1.5 μm de diamètre), immobiles, extrémités carrées, sporulés, à Gram positif, et anaérobies strict mais aérotolestants. *C. perfringens* sporule rarement dans les milieux usuels de culture, uniquement dans des milieux spéciaux de sporulation.

Sur milieu gélosé contenant du sang de mouton, les colonies sont rondes, lisses, 3-5 mm de diamètre, et entourées de deux halos caractéristiques d'hémolyse : un premier halo d'hémolyse totale (toxine θ ou perfringolysine) débordant peu la colonie et un second halo de grand diamètre d'hémolyse partielle (toxine α). Opalescence sur milieu avec du jaune d'œuf due à l'activité phospholipase C de la toxine α .

Les cultures sont très gazogènes, et les sulfites sont réduits (colonies noires en présence de sulfite de sodium et d'alun de fer). *C. perfringens* est glucidolytique (acidification notamment du glucose, lactose, et maltose) et protéolytique.

4.6.3. Caractéristiques de croissance : [114]

-Température: 10-50°C, optimum 40-45°C.

-Thermorésistance des spores : variable selon les souches et le milieu de suspension des spores. En pratique, une réduction décimale pour des températures de 90 à 100 °C et des temps de 1 à 60 min.

- aw: limite inférieure pour la croissance 0,97.

- pH optimum pour la croissance 6-7, extrême 5-8.

- NaCl croissance jusqu'à des concentrations inférieures ou égales à 2%, inhibition à 6,5% et plus.

4.6.4. Toxinogénèse : [114]

C. perfringens produit et secrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques :

- Toxine α (phospholipase C) principale responsable des lésions de myonécrose.
- Toxine θ (perfringolysine) hémolytique et nécrosante.
- Entérotoxine, responsable de l'intoxication alimentaire. Contrairement aux autres toxines de *C. perfringens*, l'entérotoxine n'est synthétisée qu'au cours de la sporulation.
- Toxine β_1 responsable d'entérite nécrosante chez l'homme et l'animal.
- Toxine β_2 responsable d'entérite nécrosante chez l'animal, pouvoir pathogène chez l'homme non confirmé.
- Toxine ϵ responsable des entérotoxémies du bétail.
- Toxine ι responsable d'entérotoxémie chez certains animaux (veaux).

Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en 5 toxinotypes, mais le typage génétique montre une plus grande diversité des souches.

- Type A: souches produisant toxine α , et parfois entérotoxine et/ou β_2
- Type B: souches produisant toxines α , β_1 , ϵ
- Type C: souches produisant toxines α , β_1 , et/ou β_2
- Type D: souches produisant toxines α , ϵ
- Type E: souches produisant toxines α , ϵ . L'entérotoxine peut être produite par des souches de type A, mais aussi par des souches des autres types. Environ 6-8% des souches de toute origine possèdent le gène de l'entérotoxine. Contrairement aux spores, l'entérotoxine est thermolabile. Elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 min à 60°C.

4.6.5. Maladie chez l'homme : [114]

❖ intoxication alimentaire :

Clostridium perfringens est la 3ème cause d'intoxications alimentaires.

Les symptômes apparaissent entre 6 et 24 h, généralement 10-12 h, après l'ingestion du repas contaminé. Ils se traduisent surtout par de la diarrhée et de violents maux de ventre, parfois de nausées. Les vomissements et la fièvre ne sont pas habituels. Le plus souvent, cette affection guérit spontanément en 2-3 jours. Toutefois, des mortalités ont été observées chez des personnes âgées et des jeunes enfants.

❖ entérite nécrotique [114]

Cette affection qui se traduit par de la diarrhée souvent hémorragique et une nécrose de la paroi intestinale, sévit dans des populations habituellement végétariennes qui consomment occasionnellement des préparations de viande, principalement de porc, contaminées par des souches de type C.

Il faut rappeler que *C. perfringens* est aussi un agent de gangrène sévère chez l'homme. Par ailleurs, l'homme et les animaux sains peuvent être porteurs de *C.*

perfringens dans leur tube digestif. Mais, le nombre de *C. perfringens* dans le contenu digestif est faible, 10^2 à 10^3 /g.

4.6.6. Modalités de contamination [114] :

L'intoxication alimentaire à *C. perfringens* survient uniquement après consommation d'aliments lourdement contaminés par une souche entérotoxigène de cette bactérie.

L'ingestion d'un grand nombre de *C. perfringens* permet son implantation dans l'intestin grêle. Une partie des bactéries ingérées est tuée au niveau de l'estomac (pH très acide, milieu riche en protéases) et la flore digestive résidente de l'intestin s'oppose à leur développement. Mais, ingéré en surnombre, *C. perfringens* se multiplie dans le contenu de l'intestin grêle (10^8 - 10^9 bact/g), sporule, synthétise l'entérotoxine, qui libérée après lyse de la paroi bactérienne, interagit avec les entérocytes provoquant une fuite d'eau et d'électrolytes.

De ce fait, *C. perfringens* est retrouvé en nombre élevé (supérieur à 10^6 /g) dans les selles des malades. L'entérotoxine est également présente dans les selles au cours de la phase symptomatique de la maladie.

Tableau 4.10 : caractéristiques des principales maladies bactériennes transmises à l'homme par les poissons [109] :

	Agents étiologique	Principaux animaux aquatiques comestibles pouvant constituer	Sources d'infection pour les animaux aquatiques comestibles	Pathogénicité pour les animaux aquatiques comestibles
Infections bactériennes	<i>Salmonella spp.</i> a) <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi</i> b) autres espèces (p.ex. <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i>)	poissons ou fruits de mer ayant subi une contamination secondaire sous l'effet d'eaux polluées ou d'une mauvaise manutention	a) fèces humaines et eaux souillées par des fèces humaines b) fèces humaines et animales, eaux polluées	Non Pathogènes
Infections bactériennes	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	poissons de mer et autres animaux marins	Le micro-organisme se trouve naturellement dans le milieu marin	peut être létal pour les crevettes et les crabes ; expérimentalement pathogène pour le poisson

Intoxications bactériennes	<i>Clostridium botulinum</i>	poisson fermenté, salé et fumé	sédiments, eaux, fèces animales	la toxine peut être létale pour le poisson
Intoxications bactériennes	<i>Staphylococcus aureus</i>	poissons ou fruits de mer ayant subi une contamination secondaire sous l'effet d'une mauvaise manutention	origine humaine — excréctions rhinopharyngées, lésions cutanées	Non Pathogène
Toxi-infections alimentaires	<i>Clostridium Perfringens</i>	poissons ou fruits de mer ayant subi une contamination secondaire sous l'effet d'eaux polluées ou d'une mauvaise manutention	eaux polluées, fèces humaines ou animales, sédiments	Non Pathogène
Infections cutanées d'origine	bactérienne <i>Erysipelothrix insidiosa</i>	poissons, particulièrement		Non Pathogène

bactérienne		poissons à arêtes (p.ex. grondius, rougets) - le micro- organisme est présent dans le mucus et la chair du poisson		
-------------	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

Les produits marins offerts aux consommateurs sont toujours plus nombreux et plus variés. Toutefois, d'une manière générale, leur qualité et leur salubrité ne se sont pas améliorées au même rythme que celles d'autres produits protéinés tels que la viande et le lait. Cela tient sans doute en partie à l'incidence relativement faible des maladies transmises par les produits en question et aux habitudes locales en matière de consommation du poisson. Par ailleurs, malgré l'intérêt considérable qui s'attache à l'inspection des produits de la pêche, de nombreux pays n'ont pas encore institué de programme spécifique dans ce domaine. Il en résulte que les consommateurs de poisson et de produits halieutiques sont souvent moins bien protégés que les consommateurs d'autres aliments protéinés [109].

CHAPITRE 5

L'ETUDE EXPERIMENTALE

5.1. INTRODUCTION

Selon HUSS H et al, (2000) [115], les poissons sont impliqués dans 20% des maladies alimentaires. KABRE A et al, (2003) [116] rapportent que la flore microbienne du poisson constitue une menace pour la santé des consommateurs car ces germes sont responsables des maladies gastriques.

A la mort ou après capture, lorsque le poisson est exposé à une température supérieure à 8°C, les bactéries de la flore envahissent la chair du poisson à travers des fibres de collagène.

Il existe cependant des bactéries pathogènes naturellement présentes dans la flore des poissons et le milieu marin qui sont responsables de maladies plus spécifiques dues à la consommation de poisson cru ou insuffisamment cuits, mais aussi s'ils se trouvent à proximité d'une salade verte sur la table de la cuisine. Ce qui fait que, les produits de pêche peuvent transmettre des bactéries pathogènes dont certaines sont d'origine intestinale (*Salmonella sp*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*,...) et principalement des bactéries du genre *Vibrion* [06] qui constituent un sujet de préoccupation, compte tenu du fait de certaines espèces bactériennes de ce genre, considérées aujourd'hui comme des pathogènes émergents [117].

Malgré ces risques potentiels, la recherche et l'importance des germes pathogènes a la santé publique, plus particulièrement les *vibrio spp*, *Clostridium perfringens*, *Aeromonas hydrophila*, *salmonelle sp* et *staphylocoque aureus* comme contaminants potentiel des poissons d'élevage en Algérie reste inconnue.

C'est pour répondre à cette préoccupation que nous avons entrepris cette étude dont l'objectif général est : la recherche qualitative de la présence de certains germes pathogènes à la santé humaine dans les poissons d'élevage et l'eau de mer de la pisciculture de Cap Djinet (Boumerdes).

Les objectifs spécifiques sont:

- détermination qualitative de la flore de contamination de poisson d'élevage que sont la flore mésophile aérobie totale (FMAT), *Escherichia coli*, les salmonelles, les *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* et *vibrio spp* (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*...).
- déterminer l'origine de la contamination en recherchant la flore de contamination d'eau de mer (du bassin d'élevage) : la flore mésophile aérobie totale (FMAT), *Escherichia coli*, les salmonelles, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *vibrio spp*, *streptocoques fécaux*, *pseudomonas aeruginosa*, levure et moisissure.
- Déterminer l'Influence de la saisonnalité sur le développement de ces germes.

5.2. Matériel et méthode :

5.2.1. Les échantillons :

Les produits utilisés pour la recherche des germes pathogènes à la santé humaine sont constitués d'une part, de poissons frais d'une station d'élevage intensif de loup de mer (*dicentrachus labrax*) et de la daurade royale (*sparus aurata*) à cap djinet et d'autre part d'eau de mer.

➤ Remarque :

- les juvéniles de ces deux espèces ont été achetés à partir d'une écloserie française « aquastream » sauf la daurade de prégrossissement de 01 /03/2015, a été achetés d'une écloserie espagnole « andromeda ».

Le Matériel de prélèvement comprend des sachets, une glacière et des carboglaces.

5.2.3. Site d'étude :

La ferme d'élevage de poissons marins ONDPA se trouve à 3km au sud-ouest de la ville de cap Djinet ; Située à 77km d'Alger et à 30km à l'Est de la wilaya de Boumerdes. Elle est implantée à environ 500 m de la route nationale N24, entre la centrale thermique de Cap Djinet, et une station de dessalement d'eau de mer.

L'ONDPA cap Djinet Spa est une société algérienne créée par décision du conseil de participation de l'état (CPE) pour la réalisation d'une ferme aquacole pour la production de la daurade royale et le loup de mer.

La raison principale du choix de ce site, est la proximité de la centrale thermique. En effet, l'utilisation de l'eau chaude rejetée par la centrale implique

qu'à une période de l'été, l'eau devient trop chaude et commence à avoir un impact positif sur la croissance des germes.



Figure 5.2 : Localisation géographique de la ferme de cap djinet.



Figure 5.3 : La ferme aquacole ONDPA Cap Djinet.

5.2.4. L'Echantillonnage :

Un échantillonnage aléatoire de poisson d'élevage (loup de mer, dorade royale) et d'eau de mer a été réalisé à la même période pendant 3 mois en été (du 20/07/2014 au 20/09/2014) et 2 mois en hiver (01/02/2015 au 01/03/2015), à raison de 45 échantillons (40 poissons et 5 échantillons d'eau de mer) chaque mois.

Nous avons choisis deux périodes d'échantillonnage l'été et l'hiver Parce que les poissons sont des poïkilothermes, la température de l'eau est considérée comme un des facteurs principaux qui influencent sur leur activité, à cet effet, ce sont les périodes les plus critique dans la production de poissons marins (la température de l'eau de mer peut attendre son maximum en été et son minimum en hiver).

Tableau 5.1 : résume la méthode d'échantillonnage.

La date d'échantillonnage	La race	Le poids	Le nombre d'échantillons	La période de prélèvement	La température de l'eau de mer	Etat sanitaire des poissons
07-2014	Loup de mer	10 g (poissons de prégrossissement)	40 (220 pièces)	Chaude	32°C	Malade
08-2014	Daurade royale	300 g (poissons de grossissement)	40	Chaude	30°C	Bon
09-2014	Loup de mer	250 g (poissons de grossissement)	40	Chaude	30°C	Bon
02-2015	Loup de mer	100g (poissons de grossissement)	40	Froide	18°C	Bon
03-2015	Daurade royale	40g (poissons de prégrossissement)	40	Froide	18°C	Bon

5.2.5. Les prélèvements :

Les prélèvements de poissons ont été effectués de façon aseptique. Au total 225 échantillons ont été prélevés et acheminés dans les plus brefs délais dans une glacière munie d'outre de carboglace congelés au laboratoire pour des analyses microbiologiques ou ils sont traités immédiatement.

L'eau de mer a été prélevée à une profondeur de 15 à 20 cm sous la surface d'eau du bassin dans des flacons en verre préalablement stérilisés de 500 ml. Tous les échantillons sont ensuite conservés dans une glacière transportable pour des analyses microbiologiques.

5.2.6. Protocole d'analyse microbiologique :

L'étude est réalisée au niveau du laboratoire central de l'intendance de l'armée nationale populaire (ANP) situé à EL HARRACH (Alger).

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.

a-Analyse des poissons:

➤ La préparation de la solution mère :

La préparation de la solution mère consiste à prélever aseptiquement 25 grammes de produit (viscères et branchies) et à les introduire dans un sachet stérile de stomacher. 225 ml d'eau péptonée tamponnée (EPT) sont ensuite ajoutés au contenu du sachet pour obtenir une solution mère (SM).

5.2.6.1. Recherche des salmonelles :(ISO 6579)

Selon la norme en vigueur, la recherche des salmonelles se fait dans 25 g de produits. La recherche s'effectue (viscères et branchies) en 4 étapes :

➤ le pré-enrichissement

La solution mère est incubée à 37°C pendant 24 h. Cette incubation est d'autant plus nécessaire qu'elle permet la culture des salmonelles stressées.

➤ l'enrichissement

Pour augmenter les chances finales, l'enrichissement se fait simultanément sur 2 milieux: 0,1 ml de la solution mère pré-enrichie sont mélangées à 10ml de Rappaport et 1ml de solution mère pré-enrichie sont mélangées à 10 ml de sélénite au vert brillant, tous en tubes. L'incubation se fait à 37°C.

➤ l'isolement

Les milieux d'isolement (XLD, Hektoën) sont coulés en boîte de pétri. Après solidification, ils sontensemencés en surface. L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de platine trempée dans les milieux enrichis précédemment.

Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24h à 37°C. A l'issue de ce délai, les colonies suspectes apparaissent bleuâtres avec ou sans centre noir (production ou non de H₂S, lactose négatif) sur le milieu Hektoën, et incolore ou blanchâtre sur le milieu XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate).

➤ Identification et Purification

Les colonies caractéristiques sont isolées sur gélose nutritive puis mises en cultures à 37°C pendant 24 heures.

➤ Confirmation biochimique

par la galerie API 20 E. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la galerie est lue.

5.2.6.2. Recherche des staphylocoques pathogènes (ISO 6888-1)

Le mélange de 200 ml de gélose de Baird-Parker et 10 ml du jaune d'œuf au téllurite de potassium est coulé en boîte de pétri. Après solidification, il estensemencé en surface avec 0,2 ml de la solution mère. L'inoculum est ensuite étalé à l'aide d'un râteau en plastique. L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.

➤ Lecture

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent sur le milieu, noires, bombées, rondes et entourées d'un halo d'éclaircissement.

*Test de la coagulase :

Prélever un nombre représentatif de chaque type morphologique de colonies caractéristiques et en inoculer des tubes de bouillon coeur-cervelle (BCC).il s'agit d'un milieu de culture riche qui sert également à la recherche de la thermonucléase. Incuber à 35°C pendant 12 à 24h. Mélanger ensuite dans un tube à hémolyse stérile 0.2 ml de la culture obtenue avec 0,3 ml de plasma de lapin. Incuber à 37°C.

La réaction est positive lorsque le plasma est coagulé et lorsqu'on peut retourner le tube même si cela s'accompagne d'un léger écoulement. Des réactions faiblement positives peuvent être obtenues.

5.2.6.3. Recherche d'*Escherichia coli* (ISO 4831) :

Le milieu de culture utilisé est TBX (triptone-bile-glucuroside). 1 ml de la solution mer est prélevé puis introduit dans des boîtes de pétri stériles. Puis dans chacune des boîtes, on coule de TBX préalablement fondu et ramené à une température de 45 à 50°C: Le tout est homogénéisé par des mouvements circulaires à la main dans un sens puis dans l'autre. Après solidification, l'incubation se fait à 44°C pendant 24 à 48 heures.

Les colonies sont bleues.

5.2.6.4. Recherche de *Clostridium perfringens* :

Le milieu de culture utilisé est la gélose trypticase sulfite cycloserine (TSC).
1 ml de la solution mer est prélevé puis introduit dans des boîtes de pétri stériles.
Puis dans chacune des boîtes, on coule la gélose TSC préalablement fondu,
Après homogénéisation et solidification du mélange, on incube les boites dans des
jarses d'anaérobiose 24 heures à 37°C.

Les colonies sont noires volumineuses et la coloration ne diffuse pas dans la
gélose. Selon Norme XP 08-061 1996.

5.2.6.5. Recherche de la flore totale aérobie (ISO 4833)

Le milieu de culture utilisé est P.C.A (Plate Count Agar).
1 ml de la solution mer est prélevé puis introduit dans des boîtes de pétri stériles.
Puis dans chacune des boîtes, on coule la 10 à 15 ml de P.C.A préalablement
fondu, Après homogénéisation et solidification du mélange, l'incubation se fait à
l'étuve à 30°C pendant 48 à 72 heures.
Seules les colonies blanchâtres ayant poussé en profondeur sont prises en
compte.

5.2.6.6. Recherche des *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 Boulognesur- 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'étude 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.* Présumés pathogènes par voie digestive.

➤ Enrichissement et isolement :

L'essai est réalisé à partir 25 g d'échantillons prélevés aseptiquement et dilués dans 225 ml d'eau péptonée alcaline à 2 % de NaCl, puis incubés 24 h à 41°C (Produits frais) ou à 37°C (Produits congelés).

A partir du bouillon d'enrichissement, un isolement sur milieu Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS) est effectué.

Après 24 h d'incubation à 37 °C :

- les colonies jaunes et plates de 2 à 3 mm de diamètre présumptives de *Vibrio cholerae*.
- les colonies jaunes de grande taille présumptives de *V. alginolyticus*.
- les colonies jaunes ou translucides présumptives de *V. fluvialis* et de *V. vulnificus*.
- les colonies incolores à centre vert présumptives de *V. parahaemolyticus*.

Cinq colonies caractéristiques pour chaque espèce présumptive de *Vibrio* isolée sur chacune des boîtes de Pétri vont être repiquées sur la gélose nutritive alcaline (GNA) à 2 % de NaCl (Biorad, puis incubées 24 h à 37°C pour l'obtention de souches pures.

➤ Identification bactérienne par l'étude des caractères phénotypiques :

Une identification présomptive est réalisée sur les colonies isolées par la recherche de l'oxydase, de l'arginine dihydrolase (ADH) et de la Lysine décarboxylase (LDC).

L'identification est poursuivie sur les souches oxydase positives, ADH négatives et LDC positives avec l'ensemencement d'une galerie Enterobacteriaceae API 20 E, kit commercial (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et d'une galerie de croissance en sel constituée d'une série de tubes d'eau péptonée alcaline contenant 0, 3, 6, 8 et 10 % de NaCl.

- Identification du sérotype de *vibrio cholerae* isolé par la réaction d'agglutination sur lame en utilisant les sérums anti-O1 et anti-O139 (au niveau de l'institut pasteur) :

Les tests d'agglutination pour les antigènes somatiques O de *V. cholerae* peuvent être réalisés dans une boîte de Pétri ou sur une lame propre. On utilise une anse d'inoculation pour retirer une partie de la culture de la surface. Émulsionner la culture dans deux petites gouttes de sérum physiologique et bien mélanger. Ajouter une petite goutte d'antisérum à l'une des suspensions. Bien mélanger la suspension avec l'antisérum et incliner la lame alternativement d'un côté et de l'autre pour observer l'agglutination. Si la réaction est positive, des agglutinats vont apparaître dans un délai compris entre 30 secondes et une minute. Examiner attentivement la suspension saline pour vérifier qu'elle ne contient pas de grumeaux dus à un phénomène d'auto-agglutination. Si des grumeaux se forment, la culture est appelée rugueuse et il est impossible de la sérotypifier.

- Remarque :

Tous les isolats suspectés de *vibrio* spp ont été confirmés par l'institut pasteur.

b-Analyse de l'eau de mer :

L'eau de mer peut contenir des micro-organismes pathogènes dont le potentiel de danger sur la santé humaine varie pour chaque genre, et limite donc les usages que l'on peut faire de l'eau (baignade, élevage).

Dans notre étude nous avons opté pour la méthode de filtration sur membrane pour estimer la charge bactérienne dans la zone d'étude. C'est la méthode de concentration la plus utilisée au laboratoire, pour sa facilité et sa reproductibilité. Elle consiste en une filtration de l'eau sur des membranes de porosité 0,45 µm susceptibles de retenir les bactéries avec un quadrillage en surface facilitant les dénombrements.

➤ Mode opératoire de l'appareil de filtration sur membrane :

Devant un bec-bunsen et sur une paillasse javellisée :

1. Lavage et stérilisation de l'équipement de filtration pour flambage et mise en place de la pompe à vide.
2. Prendre une membrane filtrante stérile près du bord à l'aide d'une pince stérilisée par flambage à la flamme et la déposer sur le support du filtre.
3. Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement verser dans chaque entonnoir un volume 100ml de l'échantillon bien homogénéisé.
4. Faire le vide jusqu'à filtration totale de l'échantillon.
5. Retirer l'entonnoir et déposer la membrane filtrante à l'aide d'une pince stérile sur un milieu adapté à la bactérie recherchée.
6. Déposer la membrane en la déroulant pour tenir un contact étroit avec la gélose (la présence de bulles d'air est signalée par des taches blanches).

7. Inscrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon et la date de filtration.
8. Placer les boîtes de Petrie en position inverse une durée spécifique pour chaque germe.
9. Flambage du dispositif par le bec-benzène après chaque échantillon filtré, afin d'éviter toute contamination possible.

5.2.6.7. Recherche des coliformes totaux et coliformes fécaux dans l'eau de mer : (ISO 9308-1) :

Après filtration de 100 litres d'eau de mer, la membrane est déposée sur un milieu gélosé sélectif Tergitol. L'opération est répétée deux fois. L'une des boîtes est incubée à 37°C pendant 24-48h pour la recherche des coliformes totaux, et l'autre à 44°C pour la recherche des coliformes fécaux.

-pour les coliformes totaux : les colonies rouges et jaunes.

-pour les coliformes fécaux : les colonies jaunes typiques.

5.2.6.8. Recherche des salmonelles dans l'eau de mer :

La recherche des salmonelles dans l'eau de mer se fait en 5 étapes : le pré-enrichissement, après quoi viennent successivement les étapes d'enrichissement sélectif, d'isolement sélectif, d'identification et de confirmation. La figure 6.2 donne une description de ces différentes étapes.

Jour 1

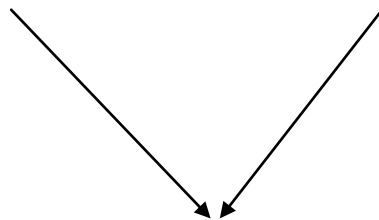
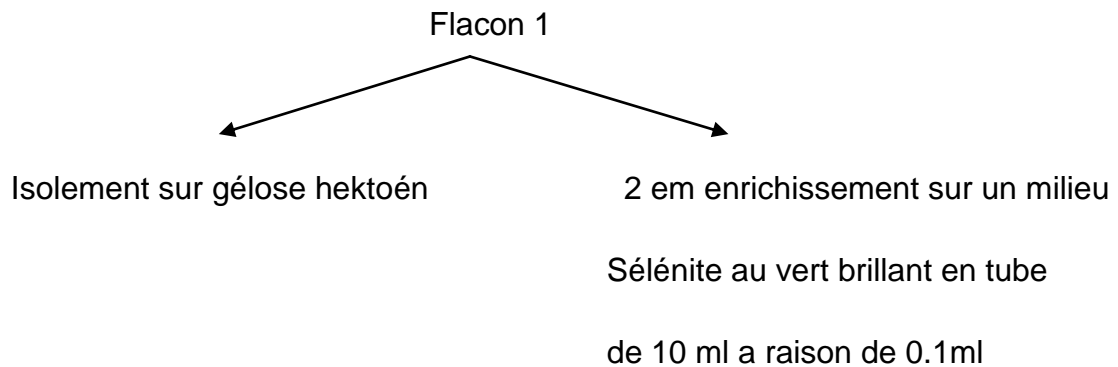
1^{er} enrichissement :

100 ml d'eau de mer + 100 ml de sélénite au vert brillant
(double concentré) = flacon 1



Incubation à 37°C (24h)

Jour 2 : 2 em enrichissement et isolement :



Incubation à 37°C pendant 24 h

Jour 3 : isolement sur hektoen le tube de sélénite au vert brillant (de
10 ml) → incubation 24 h à 37°C

-lecture des résultats du 1 er isolement

Jour 4 : lecture des résultats du 2^{eme} isolement

➤ Identification et Purification

Les colonies caractéristiques sont isolées sur gélose nutritive puis mises en cultures à 37°C pendant 24 heures.

➤ Confirmation biochimique

Une colonie de la gélose nutritive est ensemencée sur la galerie API 20 E. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la galerie est lue.

Figure 5.4 : les étapes d'isolement des salmonelles dans l'eau de mer.

5.2.6.9. Recherche des *vibrio spp* dans l'eau de mer:

Jour 1 = enrichissement :

50 ml d'eau péptoné alcaline (2%) + 450 ml d'eau de mer à analysée

10 fois concentrée

Flacon 1

Incubation a 37°C pendant 24h

Jour 2 = 2em enrichissement et 1^{er} isolement :

Flacon 1

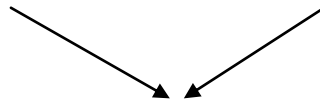
1^{er} isolement par l'anse

2 em enrichissement d'un tube d'eau

Sur la gélose TCBS

péptonée alcaline simple Concentrée

(10ml) avec 1ml du 1^{er} enrichissement



Incubation à 37°C pendant 24h

Jour 3 :

- 2^{em} isolement du tube de 10ml EPASC sur gélose TCBS
- lecture des résultats du 1^{er} isolement

Jour 4 :

- Lecture finale des résultats.

-Identification et Purification

-Confirmation biochimique par les galeries API 20 E et d'une galerie de croissance en sel constituée d'une série de tubes d'eau péptonée alcaline contenant 0, 3, 6, 8 et 10 % de NaCl.

Figure 5.5 : les étapes d'isolement des vibrions dans l'eau de mer

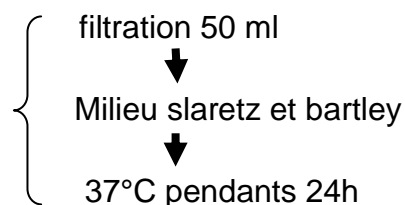
- La recherche des autres germes :

A – la flore totale aérobie à 30°C : gélose PCA → 72h à 30°C

(NA 763 : ISO 6222)

B- les *streptocoques fécaux* :

(NA 765 : ISO 7899-1)



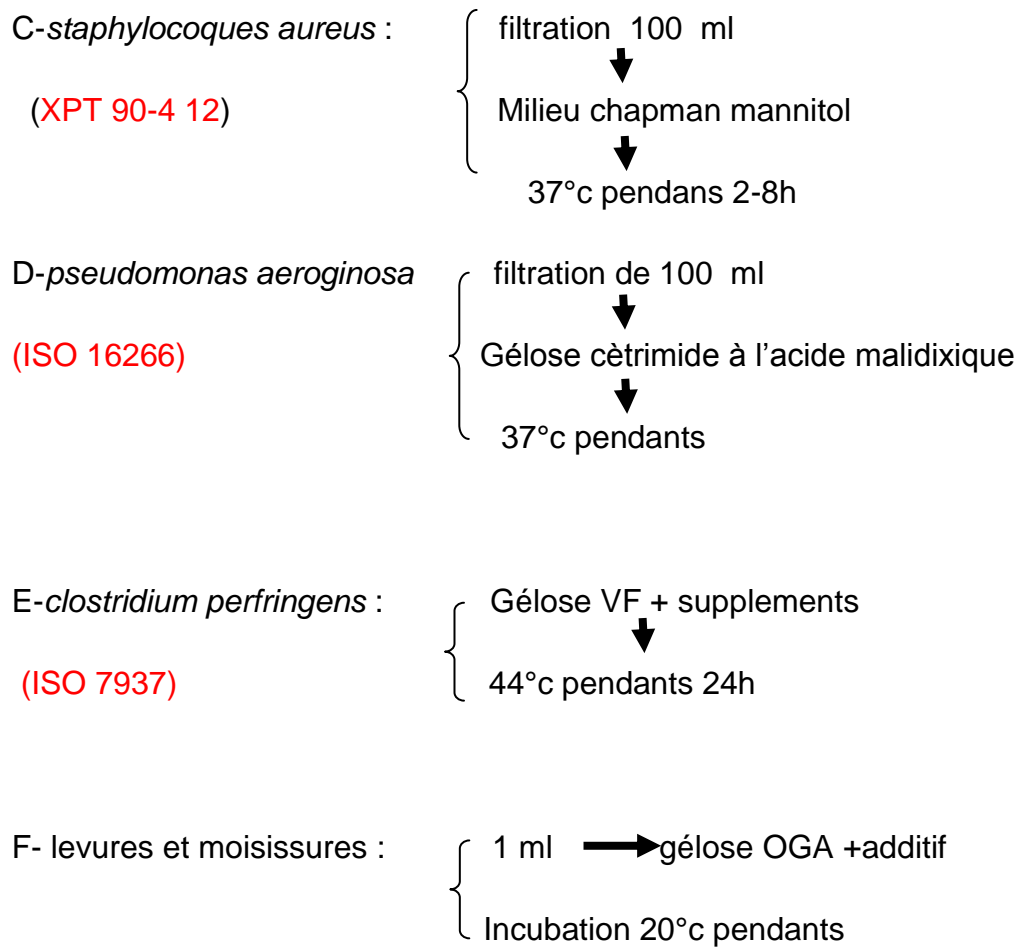


Figure 5.6 : les étapes d'isolement des autres germes dans l'eau de mer.

5.3. Les résultats :

Tableau 5.2 : Les résultats de la recherche qualitative de certains germes pathogènes à la santé humaine dans la flore bactérienne des échantillons prélevés :

La date	Le prélèvement	Les espèces bactériennes isolées
07-2014	Loup de mer de prégrossissement (Malade)	- <i>Escherichia coli</i> , <i>vibrio holisae</i> (90% de probabilité par teste API 20 E) <i>vibrio alginolyticus</i> (99,1%). -Les bacteries autre que vibrio isolée sur TCBS : <i>aeromonas hydrophila</i> (92%), <i>pasteurella multocida</i> (96%), <i>Proteus mirabilis</i> (99%), <i>Proteus vulgaris</i> (99.5%) et <i>Shewanella Putrefaciens</i> (99%).
08-2014	Daurade royale de grossissement	- <i>Escherichia coli</i> , <i>vibrio holisae</i> (90%), <i>vibrio alginolyticus</i> (99,1%). - <i>aeromonas hydrophila</i> (92%), <i>pasteurella multocida</i> (96%), <i>Proteus mirabilis</i> (99%), <i>Proteus vulgaris</i> (99.5%), <i>Shewanella Putrefaciens</i> (99%)
09-2014	Loup de mer de grossissement	- <i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> (90%). - <i>aeromonas hydrophila</i> (98%), <i>pasteurella multocida</i> (90%), <i>Proteus mirabilis</i> (99%), <i>proteus vulgaris</i> (100%).
02-2015	Loup de mer de grossissement	<i>Escherichia coli</i> , <i>vibrio alginolyticus</i> (99%) et <i>vibrio cholerae</i> (99.5%)

03-2015	Daurade royale de grossissement	<i>Escherichia coli</i> , <i>vibrio alginolyticus</i> (99.2%) et <i>vibrio cholerae</i> (99,8%)
---------	---------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------

Les résultats de cette étude ont révélé que nous avons pu isoler plusieurs germes pathogènes à la santé humaine à partir de la flore viscérale et branchiale des poissons d'élevage de la ferme aquacole de Cap Djinet avec une indication de diversité bactérienne plus élevée en été qu' en hiver, à savoir *Escherichia coli* et *aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *vibrio hollisae* *vibrio alginolyticus*, *pasteurella multocida*, *vibrio cholerae*, *klebsiella pneumoniae*, *Shewanella Putrefaciens*, *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*. Alors que, *staphylococcus aureus*, *clostridium* et *salmonelles* n'ont pas été détectés dans les échantillons analysés (Tableau 5.2).

5.3.1. Caractères bactériologique et biochimiques des espèces bactériennes isolées :

- Caractères microbiologiques de *V. alginolyticus* :

La bactérie est de couleur jaune sur TCBS (saccharose +), gram-, oxydase+, mobile à l'état frais, présente un développement dans l'eau peptonée alcaline à 3%, 6% et 8% de NaCl mais plus au moins à 0%.

- Caractères microbiologiques de *V. hollisae* :

Elle est gram-, oxydase+, mobile à l'état frais, et de couleur jaune sur TCBS alors que selon (Alsina & Blanch, 1994) [118], *vibrio hollisae* se développe mal sur le milieu TCBS.

- Caractères microbiologiques de *V. cholerae* isolé :

Après 24 heures d'incubation, des colonies typiques jaunes brillants (2-3 mm) est apparu sur TCBS ont été initialement considérés comme *V. cholerae* ; Elle est oxydase +, Gram négatif, en forme de virgule, mobile à l'état frais et tolère jusqu'à 3% de NaCl.

D'après les résultats de l'institut pasteur les souches de *vibrio cholerae* isolés sont non-O1 et non-O139 (non agglutinant aux antisérums O1 et O139).

Tableau 5.3 : Les caractères biochimiques des vibrions sur les galeries API 20 E:

Caractères biochimiques	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio hollisae</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
ONPG	-	-	+
ADH	-	-	-
LDC	+	-	+
ODC	+	-	+
CIT	-	-	+
H ₂ S	-	-	-
URE	-	-	-
TDA	-	+	-
INDOLE	+	+	+
VP	-	-	+
Gélatine	+	-	+
Glucose	+	+	+
Mannitol	+	-	+
Inositol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
RHA	-	-	-
Saccharose	+	-	+
MEL	-	-	-

- Caractérisations biochimiques et microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur TCBS :

Tableau 5.4: Les caractères microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur TCBS :

	<i>Shewanella. Putrefaciens</i>	<i>aeromonas hydrophila</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>pasteurella multocida</i>
Coloration de Gram	bacilles à Gram-	Bacilles à gram négatif, droits à extrémités arrondies	bacilles à Gram négatif.	Bacilles à gram-, droits	bacilles à Gram-
Etat frais	Mobiles	Mobiles	Mobiles	Mobiles	Immobile
Couleur des colonies sur TCBS	Vert	Jaune	Vert foncé	Jaune orangé	Jaune
Oxydase	Positive	Positive	Positive	Négative	Positive

Tableau 5.5 : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que vibrio isolées sur TCBS :

Caractères biochimiques	<i>Shewanella. Putrefaciens</i>	<i>aeromonas hydrophila</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>pasteurella multocida</i>
ONPG	-	+	-	-	-
ADH	-	+	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	-	-
CIT	+	-	+	+	+
H ₂ S	+	-	+	+	-
URE	-	-	+	+	-
TDA	-	-	+	+	-
INDOLE	-	-	-	+	+
VP	-	-	-	-	-
Gélatine	+	-	+	+	-
Glucose	-	+	+	+/-	+
Mannitol	-	+	-	-	+/-
Inositol	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	+
RHA	+/-	-	-	-	-
Saccharose	-	+	-	+	+
MEL	+/-	-	-	+	-
AMY	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-

- Les échantillons de poissons

5.3.2. La prévalence d'isolement des germes chaque mois :

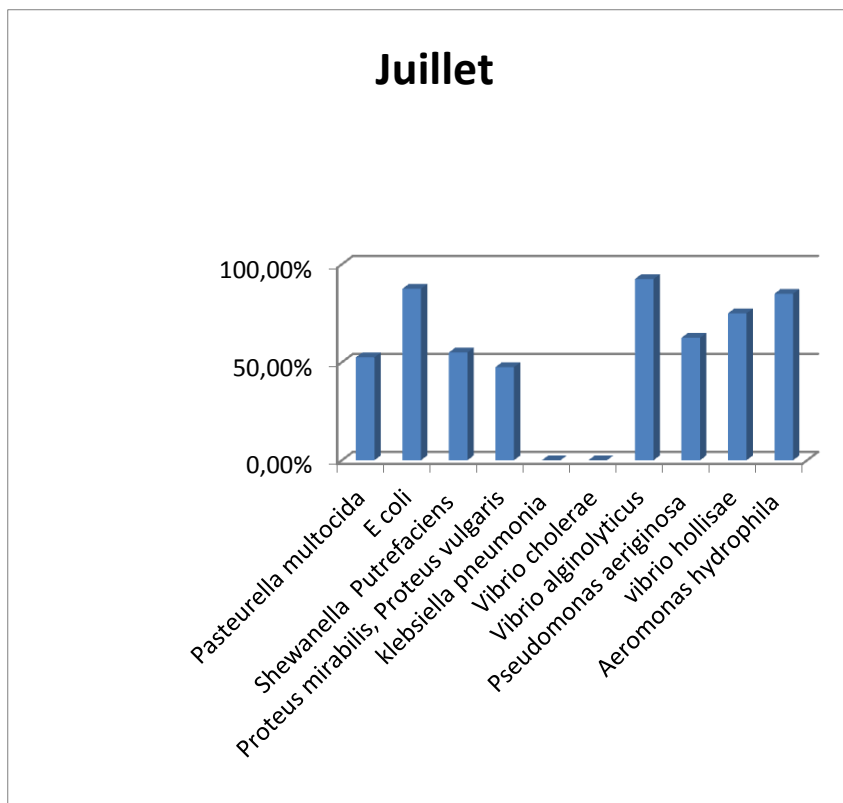


Figure 5.7 : La prévalence d'isolement des germes en mois de juillet.

En mois de juillet *Vibrio alginolyticus* était la bactérie la plus dominante dans la flore de Loup de mer de prègrossissement malade avec une prévalence de 92.5 % suivi d' *escherichia coli* (87.5%), *aeromonas hydrophila* (85%), *vibrio hollisae* (75%) , *Pseudomonas aeruginosa* (62.5 %), *Shewanella Putrefaciens* (55%), *pasteurella multocida* (52.5%), *proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* (47.5%) .(Tableau 5.6 et figure 5.7).

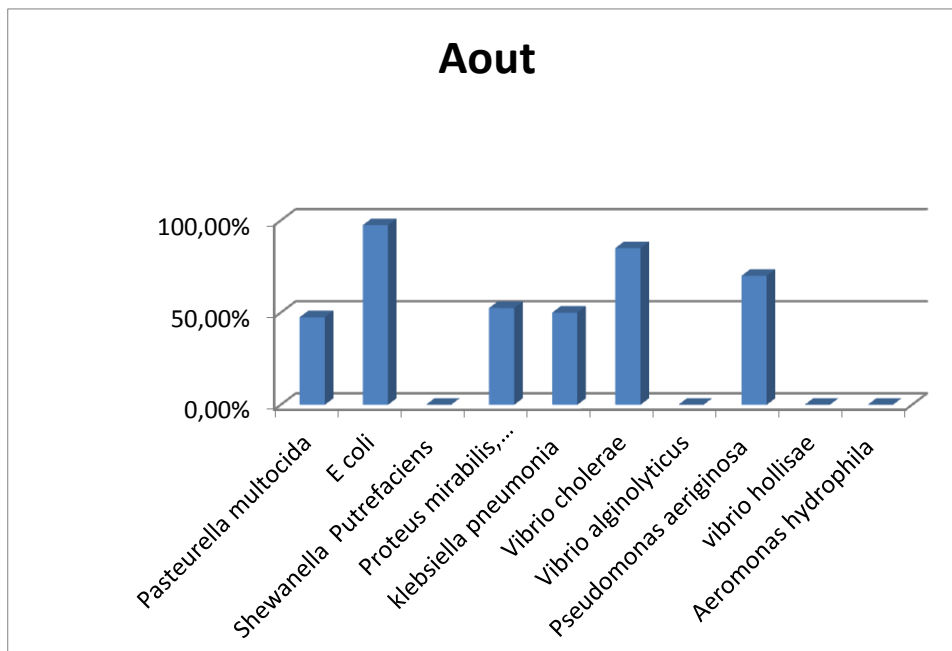


Figure 5.8 : La prévalence d'isolement des germes en mois d'aout.

Cependant, en mois d'aout, *escherichia coli* était la bactérie la plus dominante dans la flore de daurade royale de grossissement, avec une prévalence de 97.5 % suivi de *vibrio cholerae* (85%), *aeromonas hydrophila* (80%), *Pseudomonas aeruginosa* (70 %), *proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*(52.5%) et *pasteurella multocida* (47.5%) .(Tableau 5.6 et figure 5.8).

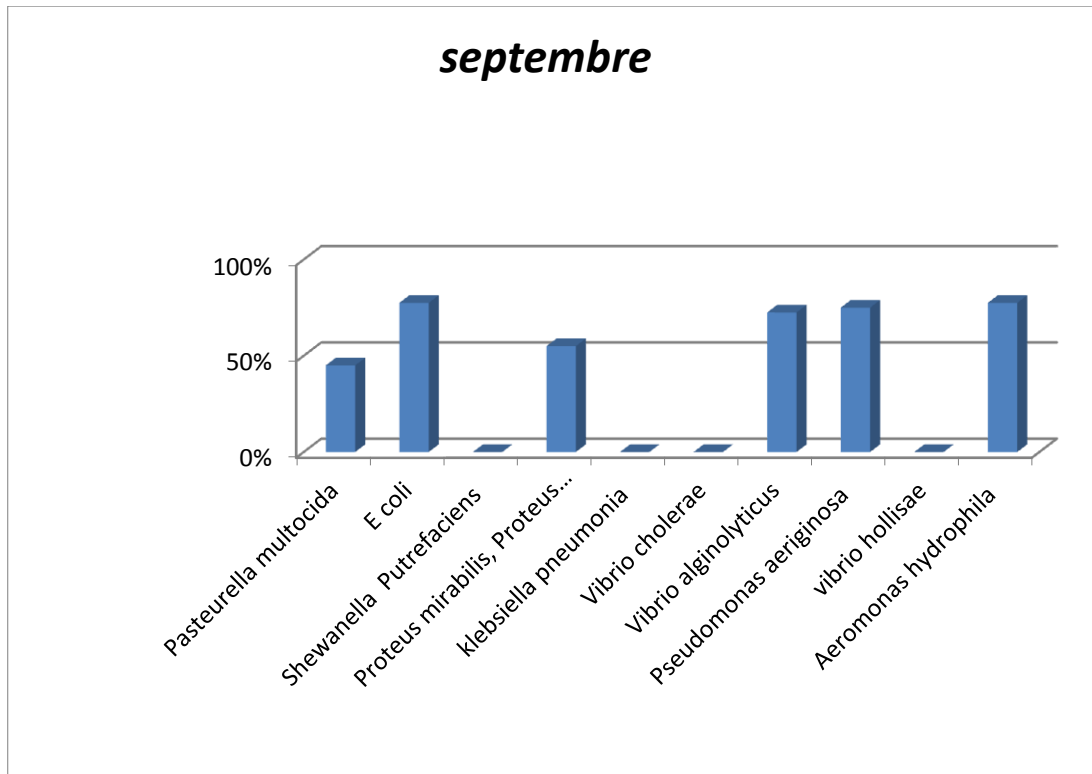


Figure 5.9 : La prévalence d'isolement des germes en mois de septembre.

Six bactéries pathogènes à la santé humaine ont été isolées en mois de septembre : *escherichia coli* et *aeromonas hydrophila* avec une prévalence de 77.5% suivi par *Pseudomonas aeruginosa* (75%), *Vibrio alginolyticus* (72%), *proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (55%) et *pasteurella multocida* (45%). (Tableau 5.6 et figure 5.9).

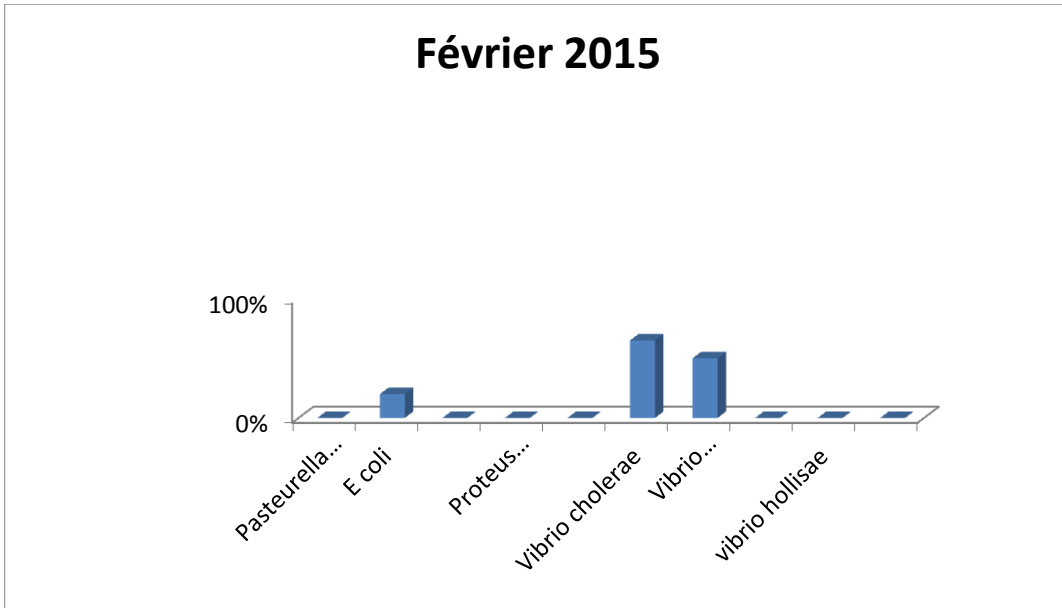


Figure 5.10 : La prévalence d'isolement des germes en mois de février.

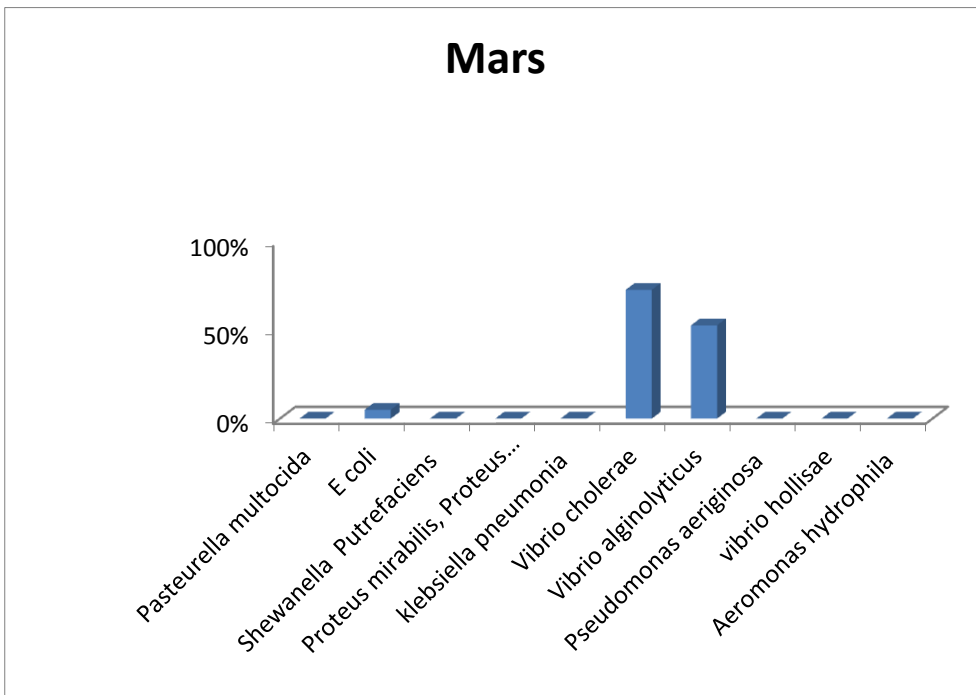


Figure 5.11 : La prévalence d'isolement des germes en mois de mars.

Mais en hiver, nous avons isolé seulement trois bactéries pathogènes à la santé humaine à partir de la flore de loup de mer et daurade royale, à savoir *Escherichia coli*, *vibrio alginolyticus* et *vibrio cholerae*. La fréquence d'isolement de ces derniers est résumée dans le tableau 5.6 et figure 5.10 et 5.11.

Tableau 5.6 : Résumé de la prévalence d'isolement de chaque germe par mois dans les poissons:

mois	<i>Pasteurella Multocida</i>	<i>E coli</i>	<i>Shewanella Putrefaciens</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>	<i>klebsiella pneumonia</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>vibriohollis</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
Juillet	52.5	87.5	55	47.5	0	0%	92.5	62.5	75	85
Aout	47.5	97.5	0	52.5	50	85%	0%	70	0	80
septembre	45	77.5	0	55	0	0%	72.5	75	0	77.5
Février	0	20	0	0	0	65%	50	0	0	0

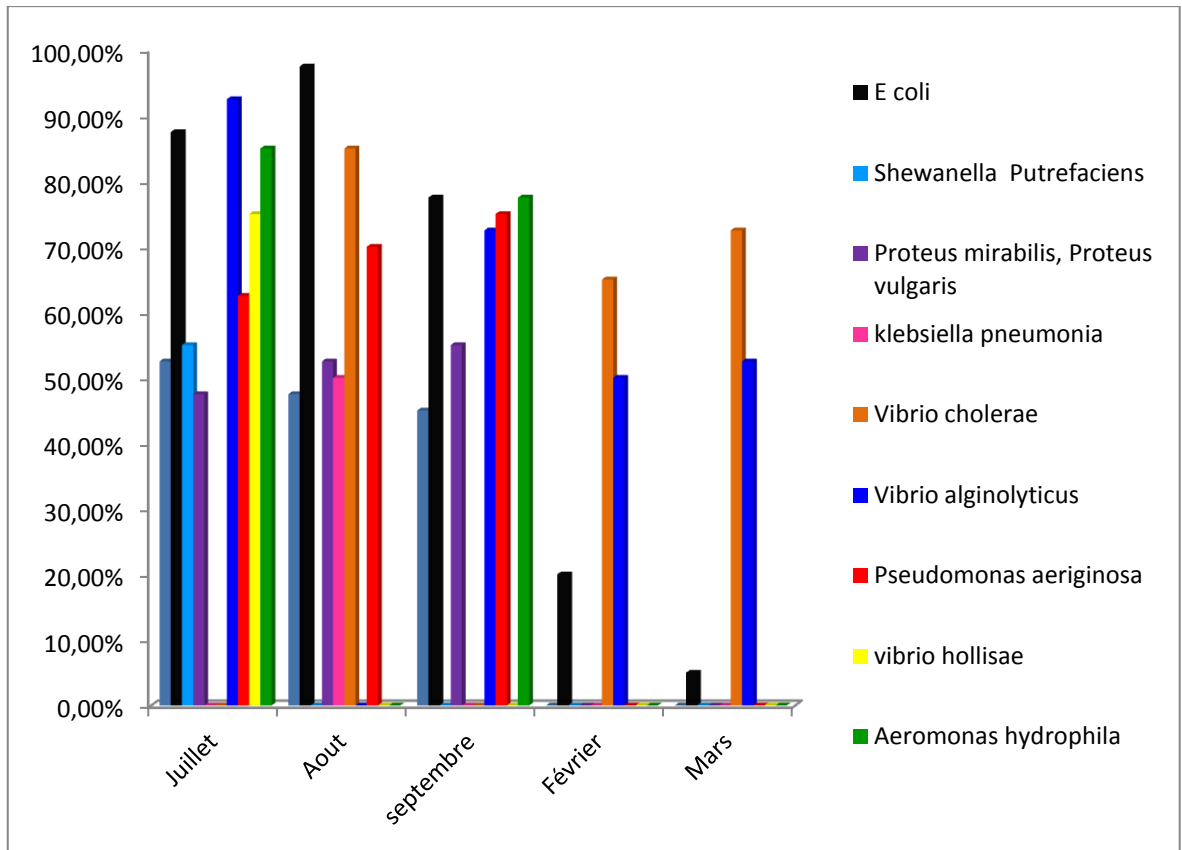


Figure 5.12 : la prévalence d'isolement de chaque germe par mois dans les poissons.

- Les échantillons d'eau de mer :

Quatre bactéries pathogènes à la santé humaine, à savoir *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *aeromonas hydrophila* et *vibrio alginolyticus*, ont été isolés à partir des eaux de bassin d'élevage de *dicentrachus labrax* malade (prégrossissement) en mois juillet, de *sparus aurata* en mois d'aout et de *dicentrachus labrax* (grossissement) en mois septembre. Cependant en hiver deux bactéries seulement ont été isolées (*vibrio alginolyticus* et *escherichia coli*).

Cette étude microbiologique montre qu'on a isolé les mêmes espèces de bactéries dans chaque prélèvement.

5.3.3. Les résultats de prévalence de chaque germe :

Les graphes suivants résument la répartition de la fréquence d'isolement de chaque germe selon les périodes et les espèces de poissons.

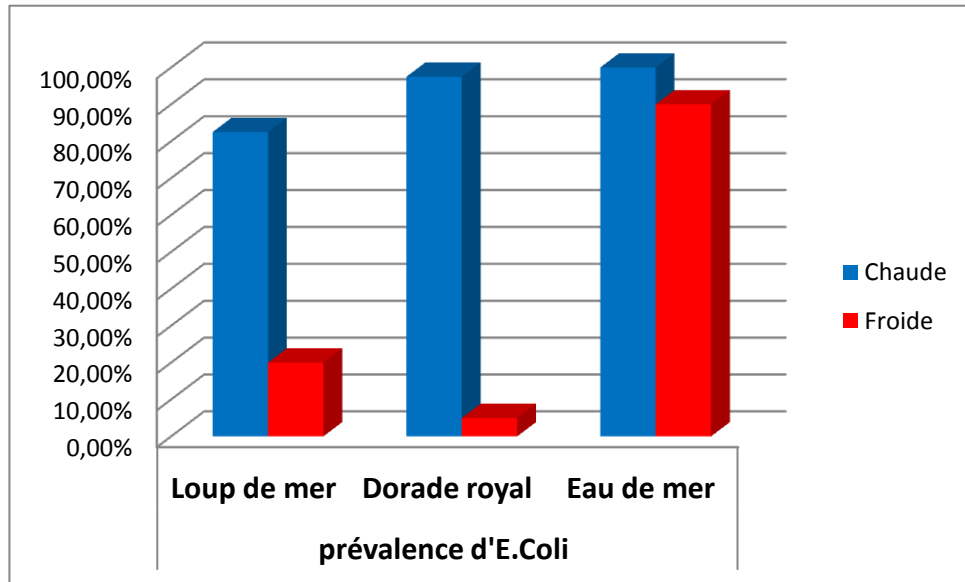


Figure 5.13 : Répartition de la fréquence d'*Escherichia coli* selon les périodes et les espèces de poisson :

La prévalence d'isolement d'*Escherichia coli* à partir de la flore de loup de mer était de 61.66% et de 51.25% chez la daurade royale ; Alors que la prévalence d'isolement de cette bactérie selon la période d'étude était de 88.88 % en été et 21.11% en hiver.

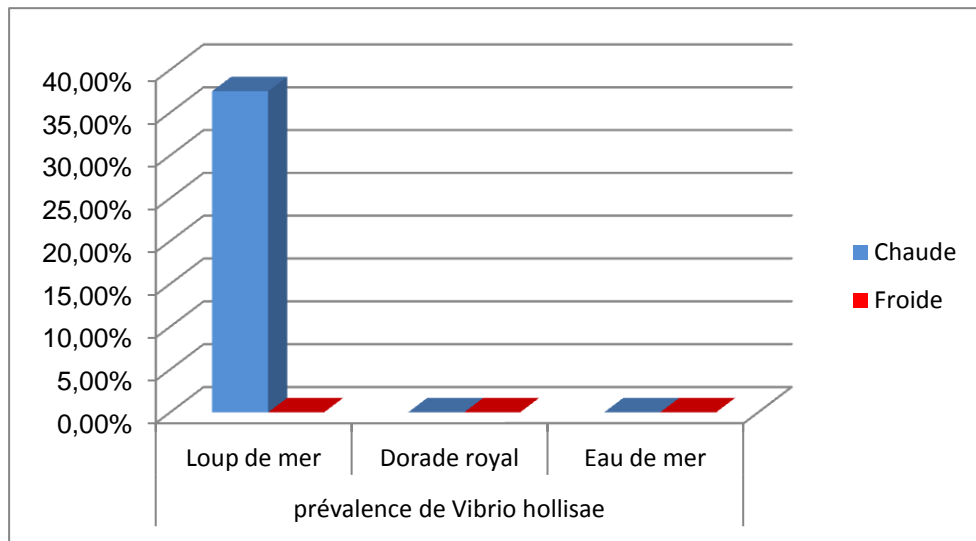


Figure 5.14 : Répartition de la fréquence de *Vibrio hollisae* selon les périodes et les espèces de poisson.

Vibrio hollisae a été isolé seulement à partir de la flore de loup de mer à une prévalence 25 % et seulement en été avec une prévalence de 22%.

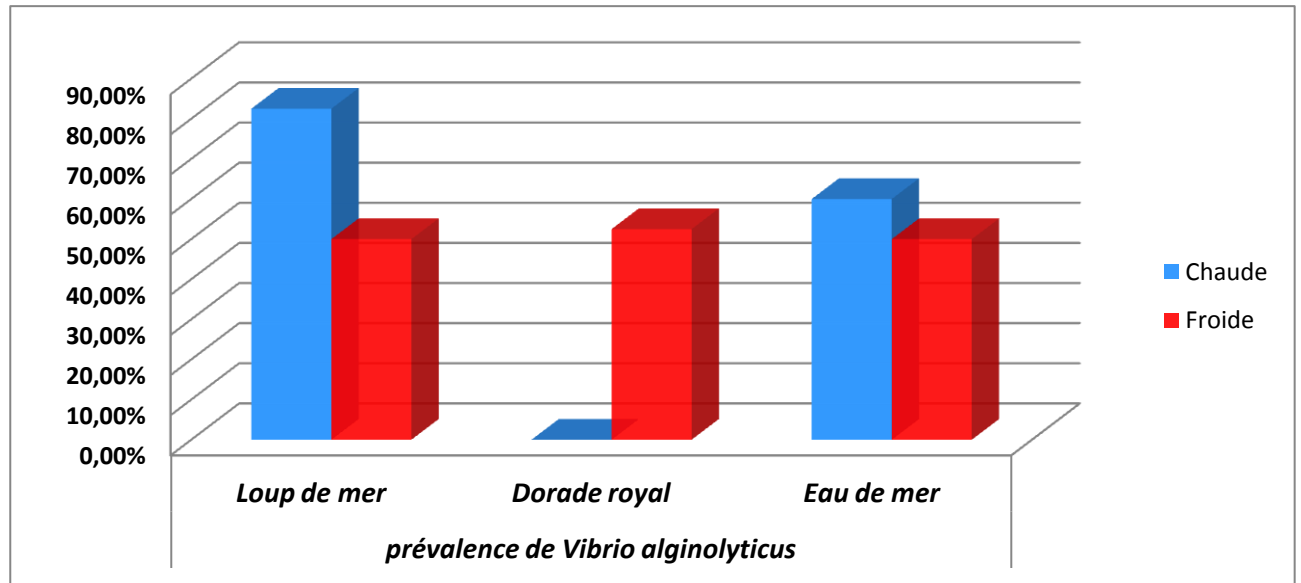


Figure 5.15 : Répartition de la fréquence De *vibrio alginolyticus* selon les périodes et les espèces de poisson.

La prévalence d'isolement de *Vibrio alginolyticus* à partir de la flore de loup de mer était de 71.66 % et de 26.2 % chez la daurade royale ; Alors que la prévalence d'isolement de cette bactérie selon la période d'étude était de 55.55 % en été et 51.11% en hiver.

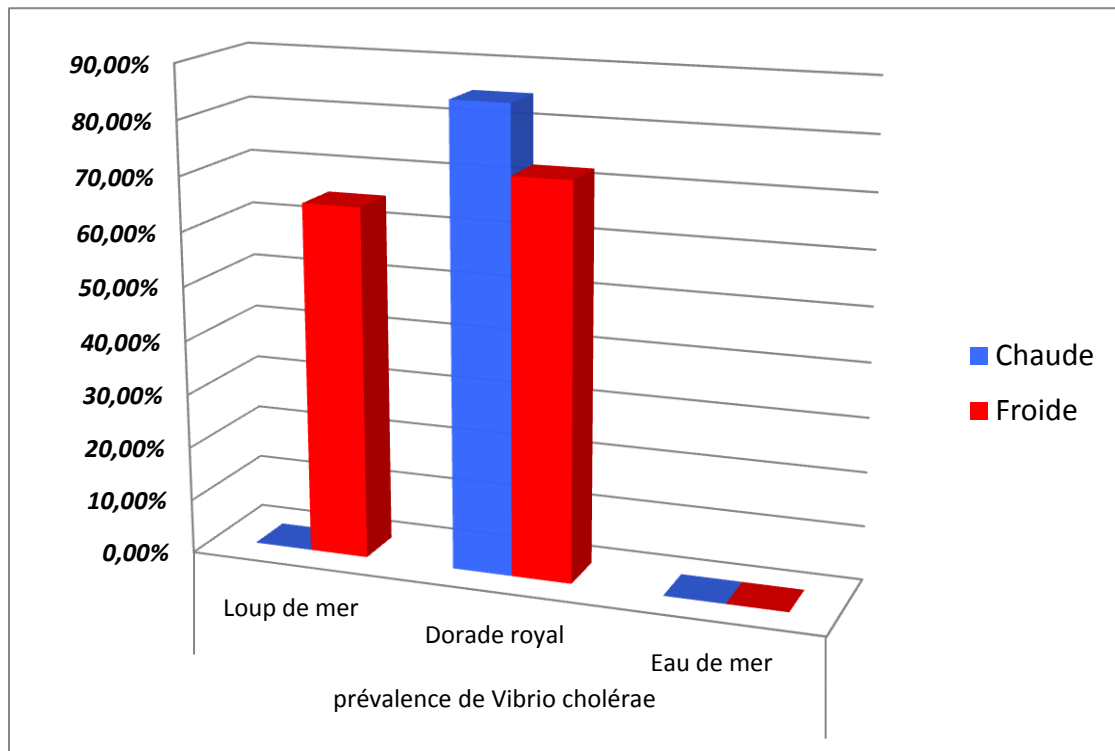


Figure 5.16 : Répartition de la fréquence de *Vibrio cholerae* selon les périodes et les espèces de poisson.

La prévalence d'isolement de *Vibrio cholerae* était de 25.18 % en été et 78.75 % en hiver. La répartition de la fréquence d'isolement de cette dernière selon l'espèce de poissons analysés était de 21.66 % chez le loup de mer et 78.75% chez la dorade royale.

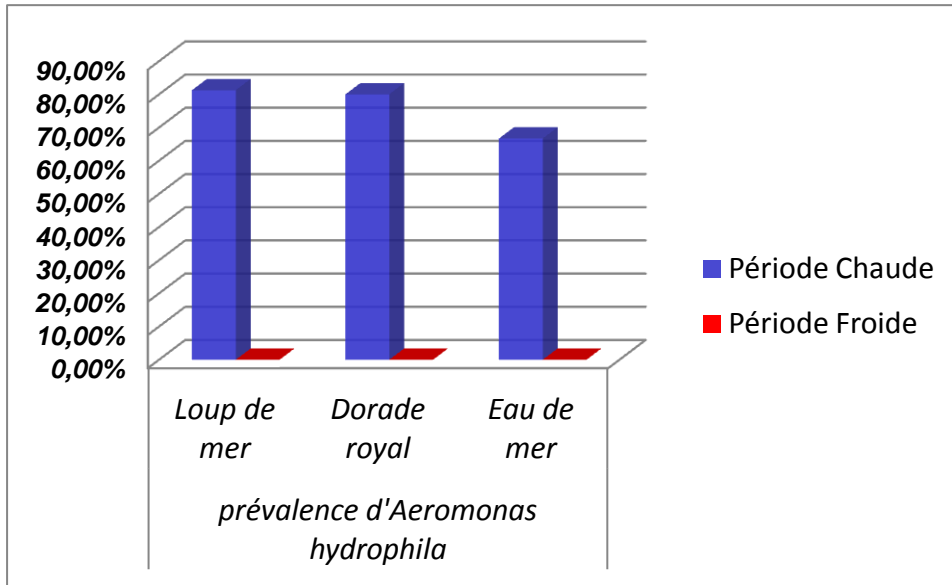


Figure 5.17: Répartition de la fréquence d'*Aeromonas hydrophila* selon les périodes et les espèces de poisson.

Aeromonas hydrophila a été isolé seulement en été à une prévalence de 78.51% ; Nous avons pu l'isoler à partir de la flore des deux espèces de poissons à une prévalence de 54.16% chez le loup de mer et 40% chez la daurade royale.

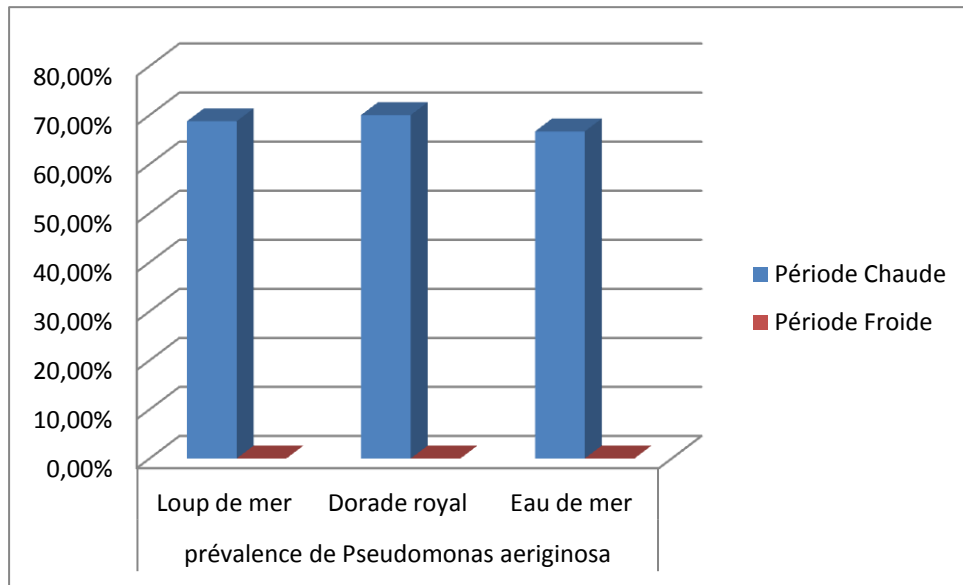


Figure 5.18 : Répartition de la fréquence de *Pseudomonas aeruginosa* selon les périodes et les espèces de poisson.

Pseudomonas aeruginosa a été isolé seulement en été à une prévalence de 68.88 % ; Nous avons pu l'isoler à partir de la flore des deux espèces de poissons à une prévalence de 45.83% chez le loup de mer et 35% chez la daurade royale.

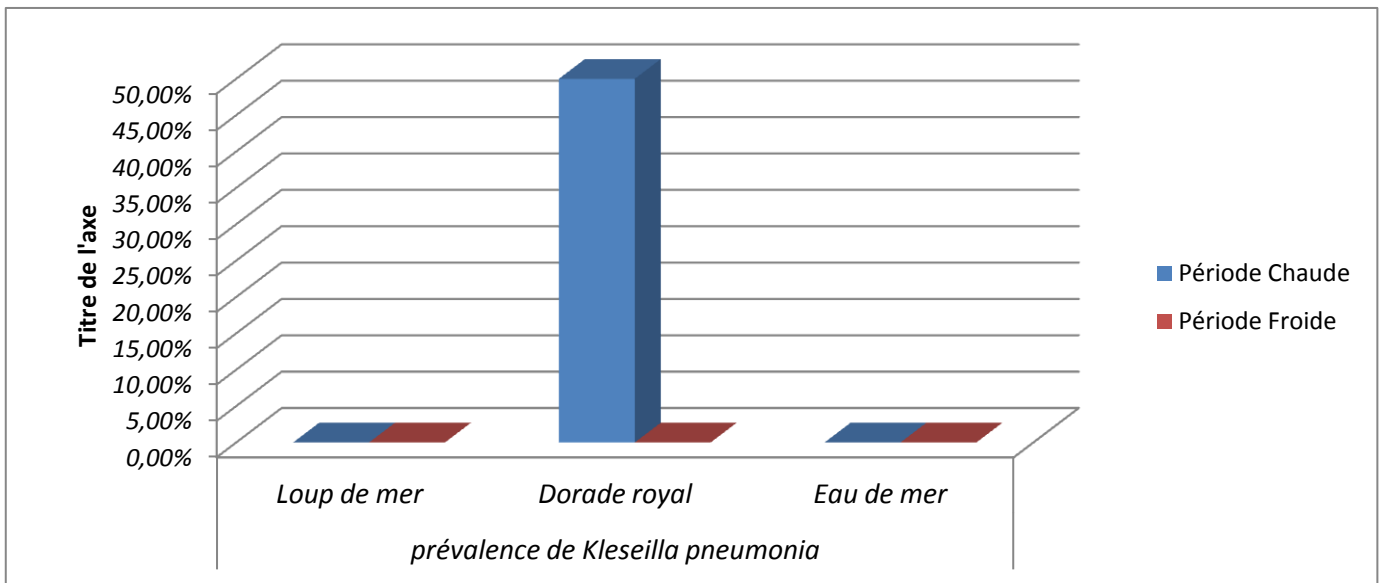


Figure 5.19 : Répartition de la fréquence *klebsiella pneumoniae* selon les périodes et les espèces de poisson.

Nous avons isolé *Klebsiella pneumoniae* uniquement à partir de la flore de la dorade royale à une prévalence de 25% et seulement en été à une prévalence de 14.81%.

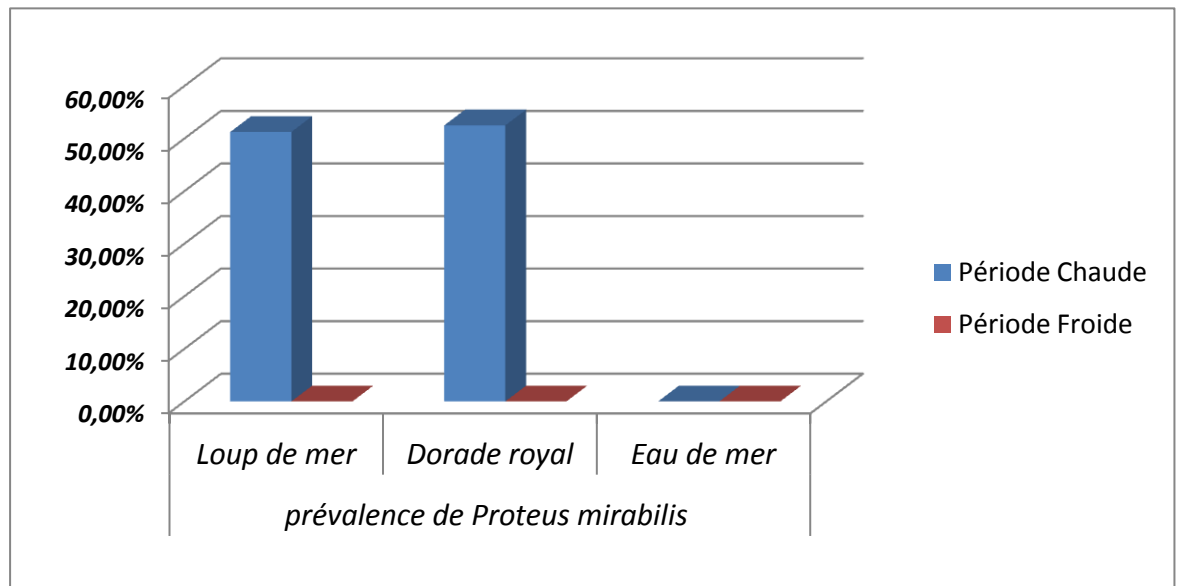


Figure 5.20 : Répartition de la fréquence de *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* selon les périodes et les espèces de poisson.

Proteus mirabilis et *Proteus vulgaris* ont été isolé seulement en été à une prévalence de 46%. Nous avons pu les isoler à partir de la flore des deux espèces de poissons à une prévalence de 34.16 % chez le loup de mer et 26.25% chez la daurade royale.

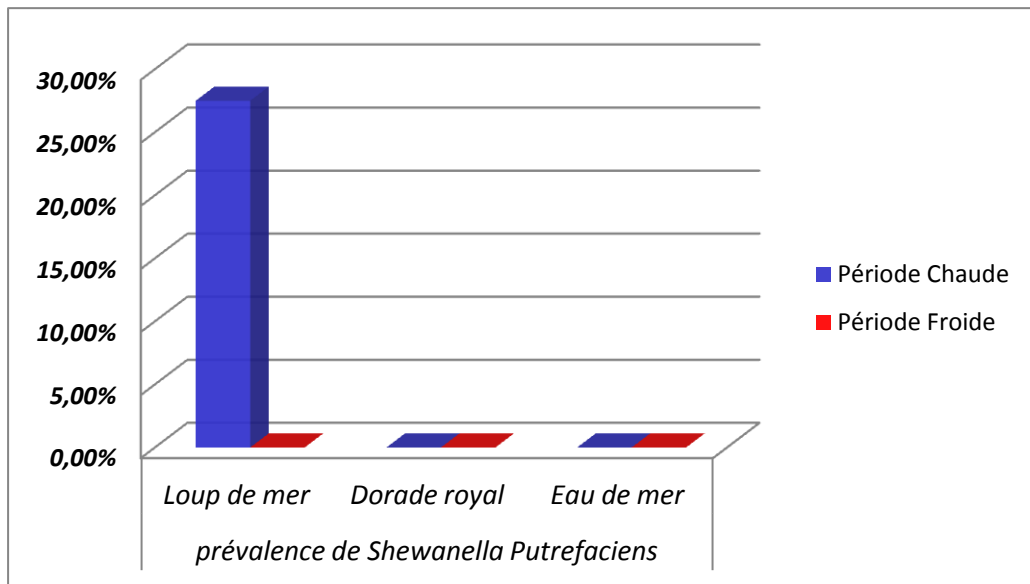


Figure 5.21 : répartition de la fréquence de *Shewanella Putrefaciens* selon les périodes et les espèces de poisson.

Nous avons isolé *Shewanella Putrefaciens* uniquement à partir de la flore de loup de mer à une prévalence de 18.33% et seulement en été à une prévalence de 16.3%.

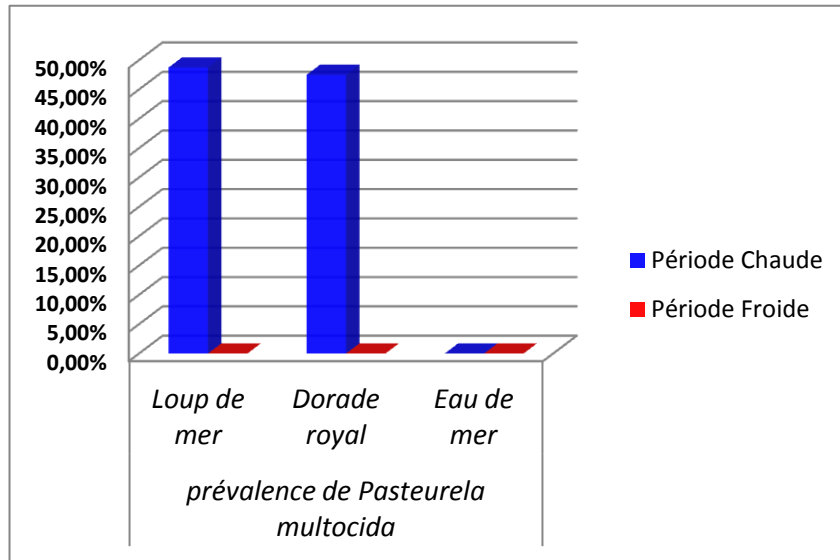


Figure 5.22 : répartition de la fréquence de *Pasteurela multocida* selon les périodes et les espèces de poisson.

Pasteurela multocida a été isolé seulement en été à une prévalence de 46% ; Nous avons pu l'isoler à partir de la flore des deux espèces de poissons à une prévalence de 34.16% chez le loup de mer et 26.25% chez la daurade royale.

5.3.4. L'étude comparative des résultats par espèce de poissons :

Toutes les espèces bactériennes pathogènes à la santé humaines qui ont été isolées en été à partir de la flore de *dicentrachus labrax* malade de prégrossissement, étaient également présents dans la flore de *dicentrachus labrax* apparemment sain de grossissement (à savoir *Escherichia coli*, *Vibrio alginolyticus*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*), sauf *vibrio hollisae* et *Shewanella putrefaciens*, elles étaient présente dans la flore de *dicentrachus labrax* malade de prégrossissement et absente dans l'autre flore.

Vibrio cholera et *klebsiella pneumonia* ont été isolés a partir de la flore de *sparus aurata* apparemment saine mais aucune contamination bactérienne de ces deux espèces n'a été mise en évidence dans les échantillons de *dicentrachus labrax* en été, cependant en hiver *Vibrio cholera* était présente dans les deux espèces de poissons.

En été, *Vibrio alginolyticus* a été isolé seulement a partir de la flore de loup de mer mais en hiver, elle était présente dans les deux espèces de poissons.

5.3.5. L'étude comparative des résultats de poisson et d'eau de mer :

En été et en hiver, la plus part des espèces bactériennes qui ont été isolées à partir des échantillons d'eau de mer de bassin étaient également présentes dans les échantillons du poisson.

5.3.6. L'étude comparative des résultats par période d'isolement:

Nos résultats montrent que la plus part des germes isolés en été était absente en hiver chez les deux espèces de poissons, à savoir *escherichia coli*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pneumonia*, *vibrio hollisae* et *Shewanella Putrefaciens*.

Escherichia coli a été isolé en hiver chez les deux espèces de poissons et l'eau de mer mais à une prévalence très faible par rapport à la prévalence d'isolement de cette dernière en été. Cependant *vibrio alginolyticus* et *vibrio cholerae* étaient présentes pendant les mois chaudes et froides.

5.4. Discussion :

5.4.1. L'étude des germes :

L'intestin des larves de poissons indigènes est pratiquement stérile, les bactéries présente dans l'environnement et dans l'alimentation en direct sont les premiers colonisateurs. Ce qui fait que, la composition de la microflore des poissons est influencée par la microflore de la nourriture et de l'environnement. [119], [120] et [121].

La flore microbienne du poisson constitue une menace pour la santé des consommateurs car Il existe des bactéries pathogènes naturellement présentes dans la flore des poissons et le milieu marin telle que : *Salmonella spp*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *staphylocoque aureus*, *L. monocytogenes* et *Aeromonas hydrophila* [122] et principalement des bactéries du genre *Vibrio* [123]. Il est rare que des agents pathogènes pénètrent dans la chair comestible des poissons (muscles). Cependant, si les poissons sont stressés (par exemple en raison du surpeuplement, de la mauvaise qualité de l'eau ou d'autres conditions) ou à la mort ou après capture, lorsque le poisson est exposé à une température supérieure à 8C, ces germes sont parfois en mesure de pénétrer dans la chair comestible [124], [125], [126], [127], [128].

les résultats de cette étude ont révélé que onze agents pathogènes à la santé humaine à savoir *Escherichia coli*, *vibrio alginolyticus*, *vibrio hollisae*, *le vibrio cholérae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Shewanella Putrefaciens* et *klebsiella pneumonia* ont été isolés à partir des deux espèces de poissons *sparus aurata* et *dicentrachus labrax* ; ce qui fait que , la qualité microbiologique des poissons examinés constitue un risque potentiel pour la santé publique suite

à la manipulation ou à la consommation de poisson cru ou insuffisamment cuits, mais aussi s'ils se trouvent à proximité d'une salade verte sur la table.

- *Salmonella spp, Staphylococcus aureus, clostridium perfringens*

Les résultats d'analyse des échantillons n'ont pas révélé la présence de ces germes ni dans les deux espèces de poissons (*sparus aurata et dicentrachus labrax*), ni dans l'eau de mer et pendant les deux périodes ; malgré qu' ils ont été détectée le long de la côte méditerranéenne [129], [130], [131], ceci pourrait s'expliquer par la non pollution de la mer de cap djinet par ces germes et par le fait que Clostridia sont strictement anaerobie, ce qui fait que elles sont incapables de survivre dans l'eau oxygénée des bassins de poissons.

Ces résultats sont identiques à ceux de MOKRANI D [132], qui n'a détecté ni salmonelle, ni Staphylococcus aureus ni clostridium perfringens dans un élevage extensif de loup de mer et de daurade royale à Zemmouri (Boumerdes).

Nos résultats sont par contre différents de ceux d' ALEXOPOULOS A , S. PLESSAS et al, 2010 [133] , qui ont trouvé ces germes dans des échantillons de loup de mer et de daurade royale d'élevage en Grèce (*Staphylococcus aureus* 4,1% de la *Salmonella spp* dans 1,3%, *C. perfringens* étaient détecté dans 22,6%,) , et ceux de SUJATHA et al [134], ont isolé *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi* à partir des branchies, les intestins, les muscles et la peau de *Megalaspis cordyla* et des muscles de *Priacanthus hamrur* et d' eau de mer en Inde.

Autre étude de SHAWKY Z. SABAC, 2005 [135], a révélé que les spores de Clostridium n'ont pas été détectées au cours de Décembre et Janvier, alors qu'en mois d'Août elle était présente dans des fermes piscicoles en Egypte.

JOSEPH ADDO AMPOFO, 2010 [136] ont trouvé des salmonelles dans les intestins et les branchies et le muscle de tilapia dans une aquaculture à ghana.

La Contamination des produits de la mer par les Salmonelles a également été signalée dans d'autres pays comme le maroc BOUHRIF, B et al, 2009 [137], la Thaïlande, Hong Kong, l'Espagne et la Turquie [138], [139]. L'incidence des Salmonelles le plus élevé dans les produits de mer était déterminée dans le Pacifique central et les pays africains alors qu'il était plus faible en Europe et y compris la Russie, et en Amérique du Nord [140].

- Coliformes et *E coli* :

Les coliformes fécaux et *Escherichia coli* (*E. coli*) sont des bactéries d'origine fécale qu'on retrouve exclusivement dans le tube digestif des humains et des animaux, Leur présence dans l'eau de mer ou les poissons indique non seulement une contamination par des matières fécales, mais aussi la présence possible de bactéries, virus et protozoaires potentiellement pathogènes [141] et [142].

En été, tous les échantillons, les deux espèces de poissons et l'eau de mer des bassins ont été contaminés par ces germes à une prévalence élevée de 89 %, qui sont reconnus comme un 'indicateur fiable d'une contamination fécale ; Ceci pourrait s'expliquer par :

-la pollution fécale de l'eau de mer (cap djinet) qui alimente les bassins d'élevage de *dicentrachus labrax* et *sparus aurata* par les eaux usées (les égouts) qui se déversent directement dans l'eau de mer (voir appendice F) et par la présence de oued de Isser qui débouche dans l'eau de mer de cap djinet (environ 500 m) (figure 5.2).

- l'utilisation de l'eau chaude rejetée par la centrale thermique qui se trouve à proximité de la ferme implique qu'en été, l'eau devient trop chaude (30°C) et commence à avoir un impact positif sur la croissance et la multiplication des germes pathogènes, ce qui explique la forte contamination des échantillons par les coliformes fécaux.

Pendant la saison hivernale, la diminution de la température a engendré une décroissance des taux de *E coli* (prévalence de 21%), dans l'eau de mer et les poissons. Ces résultats sont en accord avec celle d'IMEN BOUKEF, 2010 [143], MELANIE BOUCHARD, 2008 [144] et DUFFY G, 1999 [145], qui ont signalés que la croissance d'*E. coli* est influencée par la température et le pH.

Ces bactéries présentes dans les viscères peuvent contaminer les parties comestibles de ses deux espèces de poissons, ce qui fait que, ces poissons peuvent constituer un danger potentiel non seulement dans la maladie (*E. coli* est signalé comme l'une des causes les plus fréquentes d'intoxication alimentaire dans l'Europe [146], États-Unis [147], Amérique de sud [148] et l'Extrême-Orient [148]), mais aussi en raison de l'éventuel transfert de la résistance aux antibiotiques des bactéries aquatiques à des bactéries qui infectent les humains de sources non aquatiques.

La santé publique doit donc être une préoccupation majeure lorsqu'il s'agit de la pisciculture et de ses produits dans les pays avec moins de restriction sur le rejet de déchets dans les cours d'eau, et de l'utilisation des eaux usées non traitées pour l'aquaculture.

Dans des études similaires, les coliformes fécaux et *Escherichia coli* ont été isolés des intestin et de muscle de *sparus aurata* et *dicentrachus labrax* dans un élevage piscicole à Zemmouri , et à partir des branchies, les intestins, les muscles et la peau de *Megalaspis cordyla* et les muscles de *Priacanthus hamrur* et de l'eau de mer Royapuram en Inde par SUJATHA, K et al [134] et d'après ALEXOPOULOS A, S. PLESSAS, 2011 [133], ces germes étaient prédominants dans les échantillons de daurade (*Sparus aurata*), le bar (*Dicentrarchus labrax*) et d'eau de mer d'une ferme piscicole en Grèce, d'après NADEGE KOUADIO et al, 2011 [150], *Escherichia coli* a été isolé à la fois dans l'eau et dans quatre espèces

de poissons (Tylochromis, Sardinella, Chrysichthys et Sarotherodon) pêchées dans La lagune de Fresco au cote d'ivoire à une prévalence de 60,4% dont 42% pour l'eau et 18,4% pour les poissons, plusieurs épidémies de maladie diarrhéique provoquée par l'ingestion de poisson contaminé par *E. coli* a été décrite au Japon [151] et en Belgique [152] et au Brésil [153].

Tout Cela a été attribué à la lourde charge d'élimination des eaux usées dans les mers qui pourrait agir comme un milieu approprié pour la croissance et la survie de plusieurs agents pathogènes à la santé humaine.

Par contre, Dans une autre étude [154], les sédiments et les viscères de filets de poisson-chat frais cultivés dans les étangs ont montré qu'en été les coliformes fécaux et *Escherichia coli* n'été pas présent dans aucun échantillons, cela est du à la non contamination fécale de ses étangs.

- 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, ou contaminés après cuisson, en plus, les humains peuvent demeurer porteurs sains pendant une ou deux semaines [155].

Dans cette étude trois espèces de vibrions ont été isolés : *vibrio alginolyticus*, *vibrio holisae* et *vibrio cholerae*.

Vibrio alginolyticus :

Pendant ces dernières années, plusieurs épizooties causées par *V. alginolyticus* ont été déclarées chez la daurade royale et loup de mer d'élevage [156], [157].

LE BRETON, 1999 [158], le considère comme le principal pathogène bactérien décrit dans l'élevage du loup et de la daurade dans la région méditerranéenne. Cette espèce est pathogène opportuniste aussi bien pour l'homme en engendrant des intoxications alimentaires importantes, que pour les poissons.

Dans ce travail, la plus grande fréquence d'isolement de *Vibrio* a été en juillet, à partir des loups de mer malades (prégrossissement) et d'eau de mer. Il était la cause principale de l'épizootie enregistrée chez le loup de mer en été.

Il a été isolé aussi à partir de loup de mer de grossissement apparemment sain en mois septembre et cela pourrait être expliqué par le fait que ces dernières étaient malade au stade de prégrossissement, ils ont guéri après un traitement d'antibiotique (l'oxytétracycline) et formole et aussi par le fait que ce germe est présent dans l'eau de mer.

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) [159], [160], [161], [162], [163], [164]. Dans notre étude on a pu isoler *Vibrio alginolyticus* pendant la saison hivernale à une prévalence de 51.11% chez les deux espèces de poisson, Cette situation a été associée à la mise en place de cette ferme aquacole au niveau du canal de rejet, bénéficiant des eaux chaudes rejetées par la centrale pour favoriser la croissance des poissons, mais elle a favorisé aussi la croissance des vibrions en hiver. Nos résultats sont en accord avec les résultats d'un suivi qualitatif des eaux littorales françaises Sur une période 1989 – 1999 : *V. alginolyticus* a été régulièrement observé dans l'eau de mer en hiver et en été suite aux rejets d'eaux de refroidissement de la centrale nucléaire de Gravelines dans le littoral français [163].

L'apparition de foyers de maladies des poissons pourrait être attribuée à l'affaiblissement du système immunitaire des poissons, qui est liée à un processus multi-factoriel dans lequel :

- L'augmentation de la salinité et la température en mois de juillet qui atteint 32°C (rejets d'eau chaude par les centrales thermique), favorisent la multiplication et la transmission de ce germe.

- La contamination de l'eau de mer par *vibrio alginolyticus*.

- la densité des poissons élevés dans les bassins de prégrossissement (suite à l'importation de grande quantité d'alevins au même temps (cela est un facteur de stress) et les manipulations de tri sont stressantes pour les poissons, ce qui affaiblit leur système immunitaire et les sensibilise aux agents bactériens, en particulier aux vibrions en survie dans l'eau.

- L'âge de ces poissons (Le stade de prégrossissement) : est l'étape la plus critique dans la production de poissons marins [165], selon GRISEZ L et al, 1997 [166], l'incidence clinique de la plupart des maladies causées par des bioagresseurs chez les poissons diminue avec l'âge.

La présence de *vibrio alginolyticus* a été signalée par différents auteurs dans des climats chauds ou tempérés. AUBERT et al, 1966 [164], les ont signalés dans les eaux du littoral Nord de la Tunisie. MILOTORIS et al, 1958 [168] ont montré que les lagunes des cotes ouest-africaines représentent des réservoirs à *vibrio alginolyticus*. PHELEPP C et al, 1985 [169], signalent que *vibrio alginolyticus* est le germe le plus fréquent dans la microflore associée à l'élevage du loup de mer et de la dorade royale. Selon les résultats de la recherche et l'identification des bactéries pathogènes du loup de mer dans une station de pisciculture du littoral méditerranéen en Tunisie, *vibrio alginolyticus* et *V. parahemolyticus* sont les plus fréquemment isolés dans différents prélèvements d'eau et poissons (adultes ou larves) au cours des épizooties de vibriose [170]. *Vibrio alginolyticus* a été isolé comme l'organisme primaire à partir des larves de palourde au cours de deux

épisodes de mortalité (*Ruditapes decussatus*) en 2001 et 2002 dans une écloserie commerciale située en Espagne [165] ; Par contre Dans d'autres études liée aux flambées de mortalités survenues chez la dorade, loup de mer et les larves de turbot, la mortalité ont été associés à la présence de *V. anguillarum*, mais pas avec *V. alginolyticus* [167], en outre, Grisez et al, 2005 [167] a signalé que lorsque ces foyers sont apparus, *V. alginolyticus* était absent dans la microflore intestinale des larves de loup de mer et daurade.

Dans cette étude la prévalence d'isolement de *V. alginolyticus* à partir de loup de mer malade était 92.5 %, elle est relativement plus élevés que ceux rapportés par M.A. ZORRILLA et al, 2003 [156]; Cependant, dans un élevage de loup de mer et daurade royale en Egypte, *V. alginolyticus* a été isolé à une prévalence de 87.28% et 82.19% a partir de poisson malade [171].

vibrio alginolyticus a été isolée aussi dans plusieurs pays ; En Algérie DIB A, 2008 [172], 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* [173] ; Dans une étude réalisée de mai à septembre 2001, *V. alginolyticus* constituait l'espèce prédominante, aussi bien dans l'eau que dans les produits de la mer (35,4% et 37,5% respectivement) [174]. 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 [173].

Des études sur la prévalence des vibrions dans les produits de la mer, le Maroc a montré une prévalence de *V. alginolyticus* dépasse 50% [175]. Alors que d'autres études ont signalé une prévalence de *V. alginolyticus* 72% dans le secteur des produits de la pêche commercialisés à Casablanca [176] et 71% dans le domaine de l'environnement marin de la zone de la baie Tamouda avec une

plus forte concentration au cours des saisons les plus chaudes. Ce qui montre que la température est le principal facteur influant sur la concentration de *V. alginolyticus* [177].

En Europe, l'émergence de pathologies associées à *Vibrio* a été également corrélée à des températures exceptionnelles au cours des étés 1991 et 1994 ([178]; [179], [180], [181]).

Diverses analyses récentes soulignent l'impact des changements climatiques sur les pathologies infectieuses dans la population humaine et sur les dysfonctionnements des écosystèmes littoraux [182], [183]. Ce phénomène ne semble qu'amorcer et pourrait avoir des répercussions fortes dans un avenir proche, notamment dans des secteurs déjà soumis à des réchauffements spécifiques des eaux littorales (rejets d'eau chaude par les centrales thermiques).

Selon Grouhel, 1994 [184], Suivi qualitatif dans le bassin de Marennes-Oléron, le golfe de Ste Marie de la Mer, le golfe de Fos, la rade de Toulon et la Côte d'Azur pendant dix ans a permis de mettre en évidence la présence de *V. alginolyticus* toute l'année sur l'ensemble de la zone dans presque tous les échantillons testés, surtout entre août et novembre .

Par contre, selon AMEL BEN KAHLA-NAKBI et al, 2006 [157], *Vibrio alginolyticus* a été isolé chez la dorade (*Sparus aurata*) et le loup de mer (*Dicentrarchus labrax*) malade cultivées dans deux exploitations piscicoles situées sur la côte méditerranéenne tunisienne, de 2003 à 2005, avec une plus forte concentration au cours des saisons froide (hiver, printemps), Ces résultats étaient identiques aussi à celles obtenu par BALEBONA M.C., I. ZORRILLA et al, 1998 [185], qui ont détecté le plus faible nombre de foyers en été suite au changements climatiques.

La présence de *vibrio alginolyticus* dans le loup de mer et la daurade royale qui sont destinés à la commercialisation et l'eau de mer, présente un danger pour la santé humaine car les infections à *vibrio alginolyticus* principalement rapportées sont des otites, des conjonctivites, des pyodermites superficielles et des gastro-entérites. Chez les sujets immunodéprimés, elles peuvent devenir graves et potentiellement mortelles. Elle peut infecter les tissus cutanés à partir d'une lésion cutanée. A ce titre, *vibrio alginolyticus* doit faire partie de liste des agents pathogènes en cas d'infection cutanées, en particulier chez les malades ayant été en contact avec de l'eau de mer de régions chaudes ou des animaux marins [186].

La tétracycline est l'agent thérapeutique le plus utilisé dans cette élevage mais par la suite, les poissons ne répond pas à ce traitement (antiboiorésistance), dans se cas, ces poissons d'élevage peuvent servir de véhicule pour la transmission de la résistance aux antibiotiques de bactéries qui sont commensale ou pathogène pour les humains.

Vibrio hollisae (*Grimontia hollisae*):

Vibrio hollisae a été décrit pour la première fois par HICKMAN et al, il a été isolé à partir d'un patient présentant une diarrhée aiguë et nommé à l'époque comme une nouvelle espèce, *Vibrio hollisae* [69] et récemment reclassé comme *Grimontia hollisae* par THOMPSON et al [187], il est principalement connu pour causer des cas modérés à sévères de gastro-entérite chez les personnes saines [188], il est considéré aussi comme pathogènes des poissons à faible risque, cependant, il ya peu d'informations indiquant le rôle de *G. hollisae* dans la pathologie des poissons [189].

Dans ce travail, on a isolé *Vibrio hollisae* à une prévalence de 13%, mais seulement chez le loup de mer jeune malade en mois juillet, elle était absente dans l'eau de mer, la daurade royale et même chez le loup de mer de grossissement en été et en hiver, cela pourrait être expliqué par le fait que ce germe était déjà présent au niveau de la flore des poissons avant son importation (ces poissons importés étaient déjà contaminés par ce germe au niveau de la pisciculture ou ils étaient).

Cette espèce est rarement isolée dans le monde, cela pourrait être du à la faible croissance de cette bactérie sur les milieux sélectifs des vibrions (TCBS ou gélose Mac Conkey) ([190], [191], [192], [69]). Dans cette étude un résultat inhabituel était que cette souche de *V. hollisae* a pu croître sur TCBS, cela pourrait être expliqué par le fait qu'elle coexiste avec d'autre souche de vibrio, En outre, les conditions de culture optimales pour l'isolement et l'identification de cette souche peuvent ne pas être la même pour les souches isolé déjà par d'autre auteur.

Selon un suivi qualitatif dans le golfe de Ste Marie de la Mer, le golfe de Fos, la rade de Toulon et la Côte d'Azur (période indéterminée, Sur 690 échantillons

testés, les vibrions suivants ont été identifiés : *V. parahaemolyticus* (31), *V. metschnikovii* (6), *V. hollisae* (1) et *V. damsela* (1) [163].

Selon une étude faite sur un total de 370 poissons vivants malades (présente certains signes et symptômes similaires à ceux de la vibriose), y compris, le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*), le tilapia marine (*Oreochromis spilurus*), le mullet (*Mugil cephalus*), loup de mer (*Dicentrarchus labrax*), poissons de lapin (*Siganus rivulatus*) et le poisson-chat (*Carus gariepinus*), ont été recueillies auprès de 17 fermes piscicoles situés dans différentes régions de l'Arabie saoudite , l'analyse bactériologique de ces derniers a révélé la présence de *Grimontia (Vibrio) hollisae* à une fréquence de 54,5% [163]. En outre, cet organisme a été isolé aussi chez la sérieole (*Seriola dumerilli*) malade de vibriose, (c'est à dire la septicémie hémorragique) [193].

Dans une étude réalisée de mai à septembre 2001 en mer ionienne en Italie, *G. hollisae* a été isolé dans les moules mais elle était absente dans l'eau de mer [174]. Il a été isolé aussi dans l'eau de mer et les poissons en provenance du Japon [194], le Nord-Ouest du Pacifique [195], la mer Méditerranée [192], et des rivières australiennes [196].

Ce micro-organisme produit des toxines et a été décrit comme un agent de gastro-entérite chez les humains, associée ou non à une bactériémie. Moins de 40 cas de gastro-entérite causée par *G. hollisae* ont été décrits dans la littérature. La majorité des cas ont été signalés aux Etats-Unis, la plupart du temps sur les côtes de l'Atlantique [197] et le golfe du Mexique [198], et moins fréquemment sur les côtes du Pacifique [199] et à Hawaï [200]. Des cas sporadiques ont également été documentés en Indonésie [201] et en France [192]. Parmi ceux-ci, six cas ont été compliquée par une bactériémie [197], [192], [202].

La consommation des produits de la mer cru ou mal cuit apparaît comme la source la plus probable de l'infection, Cependant, le faible nombre de cas signalés pourrait S'expliquer par l'absence de croissance de *G. hollisae* Sur les milieux

utilisés pour l'analyse de routine des selles, comme thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose (TCBS) agar.

Vibrio cholerae :

Parmi l'espèce *Vibrio cholerae*, on a 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 le plus souvent dans des cas de gastro-entérites [55].

Vibrio cholerae a été isolé seulement chez la daurade royale en été, mais il était absent chez *dicentracus labrax* et l'eau de mer, cela pourrait être due à la contamination préalable de ces poissons dans l'écloserie ou ils étaient avant leurs importations en Algérie. Cependant en hiver, il était présent dans les deux espèces de poisson mais toujours absent dans l'eau de mer, ce qui fait que ces poissons sont susceptibles de poser un risque pour les humains qui les consomment.

Les variations saisonnières des paramètres hydroclimatiques n'ont pas influé significativement sur les abondances de *V. cholerae*. Cette absence de corrélation avec la température est un fait original, car ce paramètre est considéré comme l'un des facteurs déterminants de l'évolution saisonnière des *V. cholerae* en milieu estuarien et côtier, un optimum thermique situé entre 21 et 28°C étant généralement déterminé en milieu naturel [203]. Cette indépendance vis à vis des conditions thermiques observées pourrait résulter: de réchauffement spécifique d'eaux de mer de cap djinet (rejets d'eau chaude par la centrale thermique). Nos résultats sont en accord avec LAURENCE MIOSSEC, 2002 [163] et celle d'ADINGRA A. et al, 1997 [204].

SENDEROVICH et al [205], ont constaté que divers espèces de poissons contiennent *V. cholerae* non-O1 / non-O139 dans leur tube digestif, Cependant,

Vibrio Cholerae était la bactérie la plus dominante dans les branchies et l'intestin du carpe et poisson-chat [206], il était aussi récupéré de la flore des requins en bonne santé [207]. Plusieurs auteurs ont signalé la présence de *Vibrio cholerae* non O1, non O139 dans le milieu marin et dans les eaux estuariennes côtières [208], [209] au Côte d'Ivoire [210]. Dans les étangs du centre piscicole de Layo (Côte d'Ivoire), des *V. cholerae* non O1; non O139 ont été isolés du tube digestif d'un alevin de silure appartenant à l'espèce *Heteobranchus longifilis* [204] ; Alors que, *Vibrio cholerae* était la bactérie la plus dominante chez les larves de *dicentrachus labrax*, dans une écloserie en Turquie. Dans une étude au Maroc sur la Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca, *vibrio cholerae* non-O1 / non-O139 a été isolé à partir des moules à une prévalence de 4% [211].

Selon les résultats d'un suivi qualitatif des eaux littorales française sur une période 1989 – 1999, *V. cholerae* non-O1 a été régulièrement observées dans l'eau de mer en hiver et en été [163], dans une recherche d'espèces de vibrions potentiellement pathogènes sur des échantillons de moules et d'eau de mer sur les cotes et dans les estuaires français, *V. cholerae* non-O1 / non-O139 a été isolé à une prévalence de 1,5% [212], donc le littorale français est contaminé par ce germe et cela pourrait expliquer la contamination de ces deux espèces importés d'une écloserie française.

Les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 sont responsables d'infections cutanées et d'infections par voie digestive, lors de toxi-infections alimentaires isolées ou collectives [213]. En effet, chez des sujets immunodéprimés, elle peut provoquer des septicémies dans 5 % des cas, avec un taux de mortalité de 1 à 4 %, principalement chez les patients développant une septicémie [214]. Les facteurs de risque sont principalement l'exposition au milieu marin ou la consommation de produits de la mer cru ou mal cuit [55].

En 1997 et 1998 au USA, 937 infections ont été recensées; 858 cas de gastro-entérites ont été enregistrés, dont 75 % impliquant principalement *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* non-O 1 /non-O 139), Ces infections étaient saisonnières : 65 % des gastro-entérites étaient apparues entre juin et août [115]. En France, Un total de 32 cas d'infections à vibrions non cholériques a été signalé entre 2001-2003, pendant la période de juin à octobre avec un pic en août et *V. cholerae* (sérogroupes non-O1/non-O-139) est l'espèce la plus fréquemment isolée (19 cas sur 32). Parmi ces cas, 6 infections étaient consécutives à la consommation de produits de la mer, 3 infections étaient consécutives à une exposition à l'eau de mer et 6 cas étaient consécutives à un voyage récent à l'étranger (Algérie, Inde, Malte, Maroc, Sénégal, Tunisie). Ces résultats étaient proches de celle observée par GENESTE C, et al, 1998 [216] entre 1995-1998 et QUILICI ML et al, 2001 [217] entre 1999-2001. EN inde, cette bactérie a été associée principalement à des cas sporadiques de diarrhées et d'infections extra-intestinales [218].

- Les bactéries autres que vibrio spp isolés sur TCBS :

Dans cette étude, Certains agents pathogènes humains tels que, *Pseudomonas aeruginosa*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis*, *klebsiella pneumonia* ont été trouvés pour survivre et se multiplier dans les viscères et les branchies de poissons et de rendre ainsi le poisson un vecteur potentiel de maladies humaines sur de longues périodes.

En été, tous les échantillons de poissons et d'eau de mer ont été contaminés par *A. hydrophila* avec une prévalence de 79%, cela pourrait être attribue aux conditions favorables du milieu notamment l'augmentation de la température et de la salinité. cependant pendant les mois froids, la prévalence d'isolement d' *A. hydrophila* était de 0% , 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 rentre dans un état viable mais non

cultivable) [219], l'état VBNC a été décrit pour *A. hydrophila* par WAI SN et al, 2000 [220]. Les bactéries VBNC présentent une préoccupation majeure en santé public, car ils ne peuvent pas être détectés par des techniques bactériologique standards, elle est souvent décrite comme un état réversible [221].

A. hydrophila appartient au vibrionnaceae, ce germe fait parti de la flore intestinal des poissons d'eau de mer et d'eau douce [222], [223] et [224]. Selon G. VIVEKANANDHAN, 2005 [225], *A. hydrophila* a été isolé chez plusieurs espèces de poisson, comme *Sardinella longiceps*, *Rastrelliger kanagurta*, *Mugil cephalus* et *Caranx sexfasciatus* en inde.

L'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, ou le contact avec le micro-organisme par une rupture de la peau, constituent les voies courantes d'infection avancées dans le cas d' *A. hydrophila* [226]. On n'a signalé aucune transmission interhumaine. Depuis quelques années, le secteur de la santé publique reconnaît *A. hydrophila* comme un agent pathogène opportuniste ; on l'a incriminé comme agent pathogène possible de la gastro-entérite, de la septicémie, de la cellulite, de la colite et de la méningite et on l'isole souvent dans des infections de plaies subies en milieu aquatique [227]. On l'a aussi incriminé récemment dans des infections respiratoires [228].

Toutefois, ils provoquent souvent des problèmes dans les poissons sauvages et d'élevage [229], il est responsable de lourdes pertes économiques causées à la fois par une forte mortalité et la détérioration de la qualité du produit [230], [231]. Au Philippines, il a causé une mortalité élevée chez *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus* et *Tilapia zillii*, d'élevage [232], en Egypte, il était la cause prédominante de maladie surtout dans les élevages du tilapia [233] et [234].

Pseudomonas aeruginosa a été isolé à une prévalence de 41 %, il était présent dans tous les échantillons de poissons et d'eau de mer prélevés en été

(prévalence de 69%), mais en hiver aucun échantillon n'a été contaminé par ce germe, cette inactivation pourrait dépendre de la sévérité des conditions hydroclimatiques, tel que la basse température, pH et salinité [235].

Ce germe est un agent pathogène opportuniste humain [236], il colonise particulièrement les personnes immunodéprimées [237], [238]. Il provoque des bactériémies, des infections intestinales, urinaires, des dermatites, des otites externes, des kératites ulcéreuses, des infections de la peau, des endocardites), [237], [239], [240], elle est également capable de causer des méningites et des ostéomyélites [241].

SIVAKAMI et al, 1996 [242] ont trouvé *P. aeruginosa* et *Escherichia coli*, comme les bactéries dominantes dans le tractus intestinal de carpe indienne (*Catla de catla*), Rohu (*Labeo rohita*), Mrigal (*Cirrhinus mrigala*) et la carpe commune (*Cyprinus carpio*). *P. aeruginosa* est capable de croître dans un environnement très pollué par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les huiles brutes [243] et [244].

Proteus vulgaris et *proteus mirabilis* ont été isolés chez les deux espèces seulement en été, avec une prévalence de 28 %, *proteus vulgaris* peut être considéré comme un pathogène opportuniste et est responsable d'infections divers : surinfection des plaies, infections cutanées et autres infections et plus rarement, de septicémies et de méningites particulièrement graves chez les nourrissons. Leur rôle dans des gastro-entérites infantiles et dans des gastro-entérites succédant à l'ingestion de produits de mer contaminés a été évoqué par J.P. EUZEBY, 2000 [245], alors que *Proteus mirabilis* peut être responsable d'infections essentiellement urinaires et cutanées [246].

Klebsiella pneumoniae a été isolé seulement chez la daurade royale en été, avec une prévalence de 9 %, est une entérobactérie commensale de l'homme;

elle est responsable d'infections communautaires (urinaires et respiratoires) et d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (infections urinaires, broncho-pulmonaires, septicémies avec choc, ...), elle est résistante à toutes les bêta-lactamines y compris les céphalosporine de 3 génération [247] ,ce qui fait que , cette bactérie peut servir de véhicule pour la transmission de la résistance aux autre bactéries. Dans des études similaires, elle a été identifié dans les intestins de plusieurs poissons [248], [86], [249].

Pasteurella multocida a été isolée chez les deux espèces de poissons seulement en été, avec une prévalence de 34 %, est une Bactérie commensale des muqueuses des animaux domestiques et sauvages, mais elle existe aussi chez les poissons et les fruits de mer [250] ; il peut entraîner le décès chez un patient immunodéprimé. Les infections pulmonaires sont la deuxième localisation des pasteurelloses après les infections cutanées ou articulaires [251]. Parfois elle est capable de provoquer des maladies chez les poissons, elle a été incriminée comme agent causal de maladies dans un élevage de tilapia en Israël [252] et dans de nombreuses fermes de tilapia en Jordanie. *Pasteurella multocida* a été isolé chez plusieurs espèces de poisson, comme le bar rayé (*Morone saxatilis*), la perche blanche (*M. americanus*) et le mulot aux Etats-Unis [253], [254], et dans un élevage de daurade royale au Japon [255], [256], et dans un élevage de (*Dicentrarchus labrax*) en Europe [257].

Shewanella putrefaciens a été isolé seulement chez le loup de mer malade en été à une prévalence de 10 %, qui est un agent pathogène opportuniste humain. Elle est responsables d'infections cutanéomuqueuses, de suppurations profondes et de bactériémies [258].

Les infections humaines à *Shewanella putrefaciens* ont été signalées principalement dans les zones géographiques à climats chauds, par exemple, USA [259], [260], l'Australie [261],[262] , l'Asie [263], [264], Sud Afrique [265] et en

Europe du sud [266] , [267]. Cependant, au cours des dernières années, des infections humaines ont été rapportés dans les pays à climats tempérés [268], [269].

Shewanella putrefaciens a été initialement isolées dans un élevage de poisson lapin (*Siganus rivulatus*) malade en 1985 [270], Cependant, il ya quelques rapports d'infections de poissons attribués à cette espèce [271]. Dans une étude similaire en Turquie, cette espèce a été isolée dans un élevage de loup de mer (*dicentrachus labrax*) malade comme l'agent causal de la mortalité dans cette ferme aquacole en Turquie.

Dans cette étude on a remarqué l'absence de ; *Shewanella putrefaciens*: *pasteurella multocida*, *proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* et *klebsiella pneumonia*, Pendant la saison hivernal, cela pourrait s'expliquer sois par :

Les paramètres hydroclimatiques qui ont influé sur la croissance de ces germes ou par la non contamination de la daurade royale qui est importé d'une autre pisciculture.

Nos résultats sont en accord avec celle de AYBERK AYZAZ et al, 2008 [272], qui ont montré que la flore bactérienne des larves de loup de mer dans une écloserie en Turquie contient une grande variété d'espèces bactériennes espèces : *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *V. alginolyticus*, *Vibrio sp* et *P. aeruginosa* dans une pisciculture de *sparus aurata* en Espagne les *Vibrio spp* *Pseudomonas spp*, *Photobacterium damsela* ssp, *Piscicida* et *Aeromonas spp*. Ont été isolés à partir de la flore de daurade malade [156], et celle de NAIM UDDIN and AHMED H AL-HARBI [206], qui a isolé *Aeromonas hydrophila*, *Shewanella putrefaciens*, *Vibrio cholerae*, à partir des branchies et d'intestin de carpe (*Cyprinus carpio*) apparemment sain et poisson-chat (*Clarias gariepinus*) dans une ferme aquacole en Arabie Saoudi et *A. hydrophila* était les bactéries les plus dominante dans cette élevage.

Dans cette étude, le passage dans l'ensemble « centrale thermique et ferme aquacole », a semblé générer une augmentation de la diversité des espèces (*V. alginolyticus*, *V cholerae*, *vibrio hollisae*), présence des vibrio en hiver et l'augmentation de la densité bactérienne en été.

5.5.2. Etude comparative des résultats d'eau de mer et de poissons :

L'étude de la qualité microbiologique de l'eau de bassin et les poissons d'élevages a révélé que la plus part des germes pathogènes isolés dans l'eau de mer sont également présents chez les deux espèces de poissons, et cela est expliquer par, le fait que, Les poissons accumulent passivement à leur surface et au niveau des viscères des contaminants microbiens présents dans l'eau de mer [124], [125], [126], [127], [128], et La flore microbienne des poissons semble refléter la qualité microbiologique de l'eau dans laquelle ils ont été prélevés [126].; Ce qui fait que, dans le cadre de l'aquaculture alimentée par l'eau de mer, ils peuvent concentrer des microbes pathogènes pour l'homme car certains d'entre eux sont également présents dans l'eau.

5.5.3. Etude comparative des résultats par espèce de poissons :

La caractéristique importante de cette étude est que la flore bactérienne de *dicentrachus labrax* malade de prégrossissement et celle de *dicentrachus labrax* apparemment sain de grossissement est remarquablement Similaire et certains espèces bactériennes pathogènes à la santé humaines qui ont été isolées en été et en hiver à partir de la flore de *dicentrachus labrax* étaient également présents dans la flore de *sparus aurata* à savoir (*Escherichia coli*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *pseudomonas aeroginosa*, *Proteus vulgaris* et *mirabilis*), donc, les bactéries de l'eau du bassin avaient la réflexion sur la composition

bactérienne des branchies et des viscères de ses deux espèces. Cependant, *vibrio hollisae* a été présente seulement dans la flore de *dicentrachus labrax* malade de prégrossissement et absente dans l'autre flore et *Vibrio cholerea* et *klebsiella pneumonia* ont été isolés à partir de la flore de *sparus aurata* apparemment saine en été mais aucune contamination bactérienne de ces deux espèces n'a été mise en évidence dans les échantillons de *dicentrachus labrax*. Cela pourrait être expliqué par le fait que, ces poissons étaient déjà contaminés par ces germes au niveau de la pisciculture ou ils étaient (écloserie aquastream en France) avant leur importation en Algérie.

En été, *Vibrio alginolyticus* a été isolé seulement à partir de la flore de loup de mer mais en hiver, il était présent chez les deux espèces de poisson, cela pourrait être expliqué par la contamination de l'eau de mer par cette dernière ou par le fait que les juvéniles de la daurade analysés en hiver a été achetés à partir d'une écloserie espagnole, alors que les premiers ont été achetés d'une écloserie française « aquastream ».

vibrio cholerae a été présente seulement dans daurade royale mais en hiver, elle a été isolé à partir des deux espèces, cela pourrait être expliqué par le fait que les juvéniles de la daurade analysés sont des juvéniles d'une autre génération.

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, il est alors important d'évaluer le risque associé à l'ingestion des ressources aquatiques, en l'occurrence les ressources piscicoles, ayant été mis en contact avec de l'eau contaminée JENSEN ET GREENLEES (1997).

Le présent travail nous a permis à documenter les risques qu'encourent les citoyens lors de la consommation ou à la manipulation de loup de mer et la daurade royale, poisson élevé au niveau de la station piscicole de cap Djinet (wilaya de Boumerdes).

Les résultats obtenus de l'analyse microbiologique montrent que cette ferme aquacole est contaminée par onze germes pathogènes à la santé humaine à savoir *Escherichia coli*, *vibrio alginolyticus*, *vibrio hollisae*, *le vibrio cholérirae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *aeromonas hydrophila*, *pasteurella multocida*, *proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Shewanella Putrefaciens* et *klebsiella pneumonia*. La présence de ces germes aussi bien dans les poissons que l'eau de mer nous interpelle sur le danger de ces contaminations pour le consommateur et le manipulateur.

Par ailleurs, la présence d'une centrale thermique à proximité de la ferme a contribué à l'augmentation de la diversité des espèces (*V. alginolyticus*, *v cholerae*, *vibrio hollisae*), ainsi qu'à l'augmentation de la densité bactérienne en été et la présence des *vibrio* toute l'année, en été come en hiver.

Ainsi, La connaissance de ces germes qui sont parfois pathogènes pour l'homme et les poissons (*vibrio alginolyticus*, *vibrio hollisa*), permettrait de prévoir

l'écllosion d'une épizootie en pisciculture et de l'enrayer en s'attaquant directement à la cause. Ces bactéries présentes dans les viscères et les branchies peuvent contaminer les parties comestibles de ses deux espèces de poissons et constituer un danger potentiel non seulement dans la maladie mais aussi en raison de l'éventuel transfert de la résistance aux antibiotiques des bactéries aquatiques à des bactéries qui infectent les humains de sources non aquatiques, 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 ces contaminants biologiques.

RECOMMANDATION

L'étude a permis de montrer l'existence de potentiels facteurs de risque d'infections liés à la consommation de loup de mer et la daurade royale de la station aquacole de cap Djinet. La consommation de ces produits crus ou insuffisamment cuits, nous interpelle plus que jamais, à émettre des recommandations à l'adresse des pisciculteurs, des vétérinaires, des médecins, des vendeurs et des consommateurs de ces aliments.

Pour le pisciculteur on préconise l'utilisation des conduites à double paroi ce qui permet de maintenir la température stable de l'eau apportée. Cette double paroi joue un rôle important lors de la prise d'eau non réchauffée (au large), ce qui va permettre de régler le problème de température très élevée de l'eau en été, de la turbidité et de la contamination fécale.

Les autorités doivent sensibiliser les commerçants aux bonnes pratiques d'hygiène afin de réduire la multiplication de ces germes. En effet les commerçants doivent vendre les poissons dans des récipients propres et désinfectés avant et après chaque vente, ainsi que mettre les poissons dans la glace pour maintenir leur température de vente.

Les consommateurs doivent faire correctement cuire les poissons pour éviter une multiplication éventuelle des germes pathogènes à la santé humaine. Il faudra qu'ils évitent de mélanger les poissons 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 entre les poissons contaminés par d'autres germes et les autres aliments.

La prévention passe également par la surveillance continue des zones aquacoles et conchylicoles et formation et sensibilisation des médecins afin qu'ils informent leurs patients présentant une pathologie prédisposante (sida, cirrhose

de foie) du risque auquel ceux-ci s'exposent lors d'un contact avec la mer, la manipulation ou la consommation de produits de mer.

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 (PCR).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. FAO., « Situation mondiale des pêches et de l'aquaculture », (2012), 3-10.
<http://www.fao.org/3/a-i2727f/i2727f01.pdf>.
2. Rastoin J.L., « Risques et sûreté alimentaire dans un contexte de mondialisation vers une approche politique et stratégique », in CIHEAM Mediterra Presses de Sciences Po, Annuels, Bretagne, (2007) , 29-71.
3. ICMSF (International Commission on Microbial Specifications for Foods)., "Microorganisms in Foods. 4. Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality", Blackwell Scientific Publications, (1988).
4. Roncarati A., Melotti P., "State of the art of Italian aquaculture", Italian Journal of Animal Science Proceedings of the ASPA 17th Congress, Alghero, Italia, V.1, n° 33, (May 2007), 783-787.
5. Federation of European Aquaculture Producers (FEAP), Production and price reports for the FEAP, (2008):
<http://www.aquamedia.org/FileLibrary/11/productionreport2008.pdf>.
6. Guillaume fourrier., « biologie du bar/loup ». ACTU-PECHE .Fiche poisson (avril 2011) :
<http://actu-peche.blogspot.com/2011/04/fiche-poisson-biologie-du-bar-loup.html>
 (consultée le 02/11/2014).

7. Pasquelin B., « Cours de Pisciculture », Coopération technique Suisse, V. 2, Edition à l'EATEF à Ziguinchor, Sénégal, (1976) ,100.

8. Costa-pierce, B.A., “The ahuapua’a aquaculture ecosystems in Hawaii.dans: Ecological aquaculture; the evolution of the bleu revoltion”, blackwell science ltd, united kingdom, (2002), 30-43.

9. Harache., « Historique de l’aquaculture », IFREMER, (2003) : [http://www.ifremer.fr/aquaculture/aquaculture/historique.\(10,09,2014\).](http://www.ifremer.fr/aquaculture/aquaculture/historique.(10,09,2014).)

10. Anonyme 1., « Histoire », (2006) : <http://www.mytiliculture.com/spip.php?article7> (20 /09/2014).

11. Ferlin., « L’aquaculture. Que sais-je ? », les Universitaires de France, Paris, (1994), 127.

12. Ifremer., « Conchyliculture en France »2008 : [http://www.ifremer.fr/aquaculture/conchyliculture/huitres_plates.htm,ou huitres_creuses.htm, ou moules.htm.](http://www.ifremer.fr/aquaculture/conchyliculture/huitres_plates.htm,ou_huitres_creuses.htm,ou_moules.htm) (20/09/2014).

13. Anonyme 2., « Aquaculture Généralités », Cours Aquaculture Générale (2008-2009) 3è année Aquaculture-Halieuutique : http://www.enssmal.dz/cariboost_files/1.2.Aquaculture.pdf.

14. FAO., « Situation mondiale des pêches et de l’aquaculture », SOFIA, (2004), 164.

15. Anonyme 3., « situation mondiale des pêches et de l’aquaculture », FAO, p4. <http://www.fao.org/docrep/016/i2727f/i2727f01.pdf>. (21/10/2014).

16. Eric Lacroix., « Pisciculture En Zone Tropicale »,CFA terra système, cote d'ivoire, (2004), 12-13.
17. Coche., "Biology and culture of tilapias". Editions R.S.V Pullin and RR.H lowe-Mcconnell, ICLARM, Manila, Philippines, (1982), 205-246.
18. Anonyme 4 ; VetoFish, cabinet vétérinaire dédié au monde aquacole ; <http://www.vetofish.com/definition/pisciculture-intensive> ;(25.09.2014).
19. Karali Amina et Echikh Fella., « L'Aquaculture en Algérie », Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, (2007), 3-7. ;http://www.uicnmed.org/web2007/cd_aquaculture/docs/art_sc/aquaculture_algerie.pdf.
20. Anonyme 5., « plan national de développement de la pêche et de l'aquaculture », (2003-2007), 10-12. :http://www.mpeche.gov.dz/IMG/pdf/PNDPA_francais.pdf).
21. Anonyme 6., " FAO publications related to aquaculture for Algeria", FishStatJ, Universal software for fishery statistical time series, pdf Vue générale du secteur aquacole national Algérie : [file:///C:/Users/TOHIBA/Downloads/FAO%20FAO%20P%C3%A4ches%20et%20aquaculture%20Vue%20g%C3%A9n%C3%A9rale%20du%20secteur%20aquacole%20national%20\(NASO\)%20\(1\).\(22/09/2014\)](file:///C:/Users/TOHIBA/Downloads/FAO%20FAO%20P%C3%A4ches%20et%20aquaculture%20Vue%20g%C3%A9n%C3%A9rale%20du%20secteur%20aquacole%20national%20(NASO)%20(1).(22/09/2014)).
22. Anonyme 7 ; « Programme d'Information sur les espèces aquatiques cultivées (Sparus aurata) » ; Département des pêches et de l'aquaculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Sparus aurata, (2014) : http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/fr (03/10/2014).

23. Anonyme 8., "Gilt-head bream", publication Wikipedia:
http://en.wikipedia.org/wiki/Gilt-head_bream (15/10/2014).
24. Anonyme 9., « Répartition de la Daurade ». Publication aquamaps.
<<http://www.aquamaps.org>>. (15/10/2014).
25. Ferra, C., « Aquaculture ». Edition VUIBERT, Paris, (2008), 1264 p.
26. Barnabé, G ; Billard, R., « L'aquaculture du Bar et des Sparidés » Edition INRA , Paris, (1984), 542 p.
27. Kharchouche, A, Mazouzi, S., «Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux de la ferme d'élevage de poissons marins ONDPA Cap Djinet (Wilaya de Boumerdes) ».Mémoire d'ingénieur, option : environnement marin. ENSSMAL, (2010), 62 p.
28. Barnabe, G., « Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture » Lavoisier TEC & DOC, France, (1991), 495 pp.
29. Mr. H. Hellin., « Techniques d'élevage intensif et d'alimentation de poissons et de crustacés », Archives de documents de
FAO, Département des pêches, V. 01, (Mai 1986) :
(<http://www.fao.org/docrep/field/007/af014f/AF014F10.htm>).(08/09/2014).
30. Linnaeus., « Dicentrarchus labrax », cultured aquatic species fact sheets, FAO pêche et aquaculture, (1958):
http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/fr (18/09/2014).
31. Guillaume fourrier., « biologie du bar/loup ». ACTU-PECHE .Fiche poisson, (avril 2011) :

<http://actu-peche.blogspot.com/2011/04/fiche-poisson-biologie-du-bar-loup.html>. (18/09/2014).

32. Barnabé, G., « Contribution à la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson Serranidae) de la région de Sète ». Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier. Thèse de Doctorat d'Etat, (1976), 426.
33. Linnaeus C., « Systema Naturae, per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis », Editio decima, reformata, Holmiae : Laurentii Salvii, sweden,(1958), 824.
34. Quero, J.-C., Porche, P. & Vayne, J.-J., « Guide des poissons de l'Atlantique européen, identifier 955 espèces ». Les guides du naturaliste, Delachaux & Niestlé, Paris, (2003), 465.
35. Coves, D., Dewavrin, G., Breuil, G. & Devauchelle, N., « Culture of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In Handbook of Mariculture, volume II "Finfish Aquaculture. McVey (ed.) CRC Press, Boca Raton, (1992), 3-20.
36. Shewan, J.M., "The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes", In: J. Hawthorn & J. Muil Leitch (eds.), Recent advances in food science, V. 1, (1962). , 167-193.
37. Gache G., « Etude de la dispersion des eaux résiduaires aux débouchés des émissaires en mer ». Thèse Méd., Paris, (1966), 20.
38. Chauvin J.A.B; « L'altération du poisson: données actuelles sur la conservation du poisson par le froid et l'auréomycine ». Thèse Méd.Vét, Toulouse, (1960),14.

39. De Kinkelin P, Michel Ch, Ghittino P ; « Précis de pathologie de poissons », INRA, OIE , Paris, (1985), 240p.
40. Rozier J, Carlier F, Bolnot F; « Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments », Ed. SEPAIC, Paris, (1985), 230p.
41. Bourgeois C.M, Leveau J.Y ; « Technique d'analyse et de contrôle dans les industries alimentaires ». Vol. 3 : le contrôle microbiologique, Lavoisier-Tech et Doc., APRIA, Paris, (1980), 331.
42. Dhaoui S; « Aspects sanitaires particuliers des produits de la pêche, in (Recherche des germes pathogènes dans les aliments) »; Microb. Hyg. Ali., n° hors série, (1994), 168.
43. Toure M. H ; « Contribution à l'étude de l'évolution de la contamination par les coliformes fécaux des filets de poisson sénégalais destinés à l'exportation ». Th. Méd. Vét., Dakar, (1996), 17.
44. Ouattara B., « Etude de la qualité bactériologique des filets de poisson congelés ». Th. Méd. Vét., Dakar, (1986) ,20.
45. Azibe, M., « Contribution à l'étude de la qualité parasitologique, bactériologique et chimique des filets de poissons congelés produits au Senegal » Th. Méd. Vét. : Dakar, (1991), 19.
46. Brisou J., « Microbiologie en milieu marin Paris »: éd. Flammarion, Paris, (1955), 272.

47. BILON J., « Intérêt du froid la conservation du poisson et des crustacés: aspect micro biologique ». Bull. Acad. Vétérinaire de France, V. 49, (1976), 333 - 334.
48. Renault G. M. L., « Contribution à l'étude de l'analyse bactériologique de quelques coquillages comestibles ». Th. Méd. Vét., Toulouse, (1977), 111.
49. Gillraud J., Galzy P ; « L'analyse micro biologique dans les industries alimentaires Paris »: éd. Usine Nouvelle, Paris, (1988), 130.
50. Seydi Mg ; « Stratégie de santé en situation de développement, Point de vue du Vétérinaire: contamination des DAOA – Incidence sanitaire et économique; Médecine d'Afrique Noire », Médecine d'Afrique Noire, V. 6, (1982), 307 - 409.
51. Niang P. N., « Etude de la qualité hygiénique et commerciale des fruits de mer sénégalais destinés à l'exploitation. » Th. Méd. Vét., Dakar, (1992), 29.
52. Maurin C., « La conchyliculture française : le milieu naturel et ses variations (première partie) ». Institut scientifique et technique des pêches maritimes. Nantes, V. 38, n°3, (1974), 112 – 117./
53. Brisou J F et Denis F., « Hygiène de l'environnement maritime ».Edit, Masson, France, (1978), 248p.
54. Mancini J.L., "Numerical estimates of coliform mortality rates under various conditions". Water pollution control board journal, V. 50, n° 11,(1978), 2477 - 2484.
55. Anonyme 10 ; « Rapport du Comité du Codex sur les poissons et les produits de la pêche », Produit par: Département de l'agriculture, archive, FAO: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/x7603f/x7603f0s.htm>.(11/10/2014).

56. 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.
57. 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.
58. 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.
59. ICMSF., “Characteristics of Microbial Pathogens.London”. ICMS (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Microorganisms in Foods Vol. 5 : Blackie Academic and Professional, (1996).
60. 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.
61. 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.
62. Twedt R.M., “*Vibrio parahaemolyticus*”, Doyle, M.P. (ed.) Foodborne, Food Bacterial Pathogens, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.
63. 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.

64. Anonyme 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).
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. 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". Infect Immun, V. 56, n° 5, (1988), 961-965.
69. 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.
70. 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.

71. 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.
72. 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.
73. 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.
74. 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.
75. Oliver J.D., "Vibrio vulnificus ,in Foodborne Food Bacterial Pathogens " , Doyle, M.P. (ed.), New York : Marcel Dekker, (1989), 569- 596.
76. Zanetti, S., A. Deriu, L. Volterra, M. P. Falci, P. Molicotti, G. Fadda, and I. Senchi., « Virulence factors in *Vibrio alginolyticus* strains isolated from aquatic environments". Ann. Ig, V 12, n° 6, (2000), 487-491.
77. OMS ,(2000). Choléra, Fact Sheet N107.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/fr/>, (7/10/2014).
78. 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.

79. 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.
80. 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).
81. 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.
82. 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.
83. Aonyme 12 ; « Le choléra. Santé et bien être » ; <http://sefrou.forumactif.com/t891-le-cholera: 20/10/2014>.
84. Herrington D.A., Hall R.H., Losonsky G., Mekalanos J.J., Taylor R.K., Levine M.M., "Toxin, toxin-coregulated pili and the *toxR* regulation are essential for *Vibrio cholerae* pathogenesis in humans". *J. Exp. Med*, V.168, n° 4, (1988), 1487-92.
85. M. P. Malle , (2009); » *Vibrio parahaemolyticus*. », afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), Rédaction : M. P. Malle, septembre 2009, Coordination scientifique : R. Lailier ; <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-Vibrio.pdf>. (20/11/2014).

86. 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.
87. 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.
88. 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.
89. 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.
90. West P.A., "The human pathogenic vibrios-a public health update with environmental perspectives". *Epidemiol. Infect*, V. 103, n° 1, (1989), 1-34.
91. DePaola, A., "Vibrio cholerae in marine foods and environmental waters: a litterature review". *J. Food. Science*, V.46, n° 1, (1981), 66-70.
92. Wong H. C., Liu S. H., Ku L. W., Lee 1. Y., Wang T. K., Lee Y. S., Lee C.L., Kuo L. P., Shih D. Y., "Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates obtained from foodbome illness outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan". *J. Food Prot* , V.63, n°7, (2000), 900-906.

93. Lee C. C., Tong K. L., Howe H. S., Lam M. S., "Vibrio vulnific infections": case reports and literature review. *Ann. Acad. Med. Singapore*, V. 26, n° 5, (1997), 705-712.
94. 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.
95. 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.
96. Austin, B. and Austin, D.A; "Bacterial fish pathogens: disease farmed and wild fish", Vol Praxis publishing, springer, London, (1999), 457.
97. 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).
98. 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)
99. Bourgeois C.M, Mescle J. F., Zucca J ; « Microbiologie alimentaire. Tome 1 : Aspect micro biologique de la sécurité et de la qualité alimentaire » Tech et Doc., APRIA, Paris: Lavoisier, (1988) ,419.
100. Hoover D.G., Tatini S. R, Maltais J.B; "Characterisation of staphylococci". *Applied and Environmental Microbiology*, V.46, n° 6, (1983), 649 – 660.
101. Minor T. E., Math E. H; "Staphylococci and their significance in Foods. Amsterdam": Elsevier Scientific Publishing Company , Amsterdam, (1976), 297.

102. Smith J.L., Buchanan R. L., Palumbo S.A; "Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis", a review; *Journal of Food Protect*, V.46, n° 6, (1983), 545 – 555.
103. Lapeyre - Lcha C. « Les entérotoxines des staphylocoques: symptômes, épidémiologie, caractères, détection in « recherche des germes pathogènes dans les aliments » *Microb ; Hyg. Ali*, N° hors série, (1994), 168.
104. Sadruddin F.H., Manson I; "Hemagglutinating and hydrophobic surface properties of Salmonella producing enterotoxin neutralized by cholera-antitoxin"; *Veterinary Microbio.*,V. 8, n° 5, (1983) , 443 - 458.
105. Gledel J; « Données épidémiologiques relatives aux toxi-infections alimentaires à Salmonella », in *médecine et maladies infectieuses*, (1978), 250 - 261.
106. Helmuth R., Stephan R., Bunge C, Hoog B., Steinbech.a and Bulling E; "Epidemiology of virulence-associated plasmides and outer membrane Protein patterns within seven common Salmonella serotypes". *Infection and Immunity*, V. 48, n° 1, (1985), 175 – 182.
107. Popoff M. Y., Miras 1., Coycault C., Lasselin C.Pardon P.(1984); "Molecular relationship between virulence plasmids of Typhimurium and Dublin serotypes and large plasmids of other Salmonella serotypes". *Ann. Microbiol. Inst. Pasteur*, V. 135, n° 3, (1984), 135-389 -398.
108. Bryan F. L ; "Impact of Food borne Diseases and Methods of Evaluation Control Program". *J. Environ. Health* ,V. 40, (1978), 59 - 64.
109. Rome ; HYGIÈNE DU POISSON ET DES FRUITS DE MER :Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS réuni en coopération avec la FAO; Organisation des

Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture; Publié par la FAO et l'OMS, (1974).

110. Ababouch L ; « Assurance de la qualité en industrie halieutique », éd. ACTES, Rabat, (1995), 214.

111. Anonyme 13, « Rapport du Comité du Codex sur les poissons et les produits de la pêche. » ; Produit par: Département de l'agriculture.
<http://www.fao.org/docrep/003/t1768f/T1768F03.htm>, (12/12/2014).

112. Toure M. H ; « Contribution à l'étude de l'évolution de la contamination par les colifonnes fécaux des filets de poisson sénégalais destinés à l'exportation ». Th. Méd. Vét., Dakar, N° 17,(1996), 17.

113. Anonyme 13 ; « clostridium perfringens »,A. Bio .C ; http://www.labo-abioc.fr/abioc/base_documents/pdfs/germes/Clostridium%20perfringens.pdf. (11/01/2015).

114. Aonyme 14 ; « Clostridium perfringens Agent de toxi-infection alimentaire ;Agence française de sécurité sanitaire des aliments (afssa) », Mai 2006.
http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/officiels/afssa/Cperf090207.pdf.

115. Huss H.H., Reilly A., Ben Embarek P.K ; “Prevention and control of hazards in seafood”. Food Control,V. 11,n° 2, (2000), 149-156.

116. Kabre A., Diarra D. et Traore A ; « Le fumage du poisson au Burkina Faso.: comparaison des caractéristiques et de la rentabilité de 3 types de fumoir amélioré », Cahiers Agricultures, V. 12, n° 6, (2003), 409-17.

117. Cohen N., Karib H., « *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche: Risques et prévention ». *Les Technologies de Laboratoire*, V. 2, n° 4, (2007), 4-10.
118. Alsina, M. & Blanch, A. R., "A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species". *J Appl Bacteriol*, V. 76, n° 1, (1994), 79–85.
119. Campbell, A.C. and buswell, J.A., "the intestinal microflora of farmed dover sole (*solea solea*) at different stages of fish development", *Journal of applied bacteriology*, V. 55, n° 2, (1983), 215-223.
120. Muroga, K.; Higashi, M. and Keetoku, H., "the isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*pagrus major*) and black seabream (*acanthopagrus schlegeli*) at larval and juvenile stages", *aquaculture*, V. 65, n° 1, (1987), 79-88.
121. Sera H, Ishida Y., "Bacterial flora in the digestive tracts of marine fish. in Changes of bacterial flora with time lapse after ingestion of diet". *Fish*, V. 38, n° 6, (1972), 633.
122. Gaëtan PODEUR., « Quantification des bactéries histaminogènes et maîtrise de la formation d'histamine dans les produits marins par biopréservation », THÈSE DE DOCTORAT, Ecole doctorale N°495 Végétal, (2014), 19.
123. China B., De Schaetzen M.A., Daube G ; « Les mollusques bivalves, des aliments dangereux » ; *Ann. Méd. Vét*, V. 147, (2003), 413-422.
124. Edwards P., "Aquaculture: A component of low cost sanitation technology". Washington, DC, United Nations Development Programme/World Bank Integrated Resource Recovery Project, V. 1, n° 36, (1984), 45.

125. Buras N, Duek L, Niv S., "Reactions of fish to microorganisms in wastewater". *Applied Environmental Microbiology*, V. 50, n° 4, (1985), 989–995.
126. Buras N et al., "Microbiological aspects of fish grown in treated wastewater". *Water Research*, V. 2, n° 1, (1987), 1–10.
127. Buras N., "Bacteriological guidelines for sewage-fed fish culture. In: Edwards P, Pullin RSV, eds. *Wastewater-fed aquaculture, proceedings of the international seminar on wastewater reclamation and reuse for aquaculture, Calcutta*". Bangkok, Asian Institute of Technology, Environmental Sanitation Information Center, (1990), 223–226.
128. Fattal B, Doan A, Tchorsh Y., "Rates of experimental microbiological contamination of fish exposed to polluted water", *Water Research*, V. 26, n° 12, (1992), 1621–1627.
129. Baudart, J., Lemarchand, K., Brisabois, A., Lebaron, P., "Diversity of *Salmonella* strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions". *Appl. Environ. Microbiol.*, V. 66, n° 4, (2000), 1544–1552.
130. Martinez-Urtaza, J., Saco, M., de Novoa, J., Perez-Pieiro, P., Peiteado, J., Lozano-Leon, A., Garcia-Martin, O.; "Influence of environmental factors and human activity on the presence of *Salmonella* serovars in a marine environment". *J. Appl. Environ. Microbiol.*, V. 70, n° 4, (2004), 2089–2097.
131. Tournon, A., Berthe, T., Pawlak, B., Petit, F., "Detection of *Salmonella* in environmental water and sediment by a nested multiplex polymerase chain reaction assay". *Res. Microbiol.*, V. 156, n° 4, (2005), 541–553.

132. Mokrani Djamel., « Effet de l'environnement sur la contamination des poissons issus de différents types d'élevage aquacole », thèse de doctorat, Institut des sciences vétérinaires de Blida, (2015).
133. Alexopoulos A, S. Plessas., "Pathogenesis and Toxins Microbial ecology of fish species on growing in Greek sea farms and their watery environment"; Elsevier , (2011), V. 17, n° 6, (2011), 263-506.
134. Sujatha, K., Senthilkumar, P., Sangeeta, S. and Gopalakrishnan, M.D., "Isolation of human pathogenic bacteria in two edible fishes, *Priacanthus hamrur* and *Megalaspis cordyla* at Royapuram waters of Chennai, India". Indian Journal of Science and Technology.V. 4, n° 5, 539-541.
135. Shawky Z. Sabac ; " Quantitative and qualitative studies on the bacterial microflora of some fish farms in el-fayoum governorate, Egypt "; National Institute of Oceanography and Fisheries, Inland Water Branch. El-Qanater Research Station; Egypt J. Aquat. Bioi & Fish, V. 9, n° 1, (2005), ISSN 1110-6131.
136. Joseph Addo Ampofo and George C. Clerk., "Diversity of Bacteria Contaminants in Tissues of Fish Cultured in Organic Waste-Fertilized Ponds :Health Implications" ; Open Access ; The Open Fish Science Journal, 2010, V. 3, 142-146.
137. Bouchrif, B., Paglietti, B., Murgia, M., Piana, A., Cohen, N., Ennaji, M., Rubino, S. & Timinouni, M., "Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco". Journal of Infection in Developing Countries. V. 28, n° 3, (2009), 35-40, ISSN 1972-2680.
138. Herrera, F. C.; Santos, J.A.; Oteroand, A. & Lopez M. L. G., "Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in

Spain “. The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology. V. 100, n° 3, (2006), 527–536.

139. Kumar, R.; Surendran P. K. & Thampuran N., « Detection and characterization of virulence factors in lactose positive and lactose negative *Salmonella* serovars isolated from seafood “. *Food Control*, V. 20, n° 4, (2009), 376-380.

140. Heinitz, M. L.; Ruble, R. D.; Wagner, D. E. & Tatini, S.R., “Incidence of *Salmonella* in fish and seafood “. *Journal of Food Protection*, V. 63, n° 5, (2000), 579–592.

141. Elmund, GK, MJ Allen et EW Rice., “Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency”. *Water Environ. Research*, V. 71, n° 3, (1999), 332-339.

142. Santé Canada ; « La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ». (1991), Accessible à : www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm. (07/03/2014).

143. Imen Boukef , Selma Mejri , Radhia Mraoua , Béchir Bejaoui , Melika Belhassan, Ali Harzallah, Abdellatif Boudabous, Monia Elbour ; « Distribution spatiale des populations de *Vibrionaceae* thermotolérants dans une lagune côtière (lagune de Bizerte : Nord-Tunisie) »; *Mar. Life*, V .17, (2010), 13-23.

144. Mélanie Bouchard., «Evolution temporelle et modélisation des coliformes dans une source d'eau potable »; Département de Genie civil faculté des sciences et de génie Université laval. Québec, (2008).

145. Duffy, G., Whiting, R.C., Sheridan, J.J., "The effect of a competitive microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7". *Food Microbiology*, V.16, n°3, (1999), 299–307.
146. Pennings CM, Seitz R.C, Karch H. & Lenard H.G "Hemolytic-anemia in association with *Escherichia coli* O157 infection in two sisters". *European Journal of Pediatrics*.V.153, n° 9, (1994), 656-658.
147. Beuchat L.R., "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce", *Journal of Food Protection*.V. 59, (1996), 206-216.
148. Utsunomiya A., Elio D., Reyes A., Castro E., Rodriguez E., Tress C, I ,Corzo J., Hannover E., Kai A., Tamura K. & Higa N., "Major enteropathogenic bacteria isolated from diarrheal patients in Bolivia: a hospital base study. *Microbiology and Immunology*,V. 39, n° 2, (1995), 845-851.
149. Haque M.A., Ohki K., Kikuchi M. & Kohashi O., "Contact hemolysin production by strains of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from children with diarrhea ". *Journal of Clinical Microbiology*. V. 32, n° 4, (1994), 1109 -1111.
150. Nadège Kouadio, Adjehi dadie, Ama Adingra, Yolande Ake, Koffi Dje., « Biotypes de *Escherichia coli* isolés des poissons et de l'eau de la lagune de Fresco, Côte d'Ivoire » ; *Journal of Applied Biosciences*, V. 38, (2011), 2523 – 2530 .ISSN 1997–5902. Original submitted in 15th November 2010. Published online at www.biosciences.elewa.org on February 7, 2011.
151. Mitsuda T., Muto T., Yamada M., Kobayashi N., Toba M., Aihara Y., Ito A., Yokota S., "Epidemiological study of a food-borne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* O25 ": NM by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J. Clin. Microbiol.*,V. 36,n° 3, (1998), 652–656.

152. Pierard D., Crowcroft N., de Bock S., Potters D., Crabbe G., Van Loock F., Lauwers S., “A case-control study of sporadic infection with O157 and non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*”. *Epidemiol.Infect.*, V. 122,n° 3, (1999), 359–365.
153. Vieira R.H.S.F., Rodrigues D.P., Gocalves F.A., Menezes F.G.R.,Aragao J.S., Sousa O.V., “Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children”. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*,V. 43, n° 3, (2001), 145–148.
154. Fernandes, C.F., G.J. Flick, J.L. Silva, T.A. McCaskey and A.F. Hood., “Evaluating the quality of aquacultured fresh catfish filets II: Pathogens *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella*, *Plesiomonas* and *Vibrio*”. *J. Food Prot.* V. 60, (1995), 1182-88.
155. 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.
156. M.A. Zorrilla, A.S. Chabrillon, P.D. Rosales, E.M. Manzanares, M.C. Balebona, M.A. Morinigo , “Bacteria recovered from diseased cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) in southwestern Spain Aquaculture”,V. 218, n° 1-4, (2003), 11–20.
157. Amel Ben Kahla-Nakbi, Hédia Lachkar-Kacem, Noura Elmnasse , Jihène Cheriaa , Amina Bakhrouf ., « Aspects histopathologiques associés à l’infection du loup et de la daurade par *Vibrio alginolyticus* » ; *Mar. Life*, V.16, n° 1-2, (2006) ,31-36 : Reçu en décembre 2004 ; accepté en février 2007.

158. Le Breton A.D., "Mediterranean finfish pathologies: present status and new developments in prophylactic methods". Bull. eur. Assoc. Fish Pathol., V. 19, (1999), 250-253.
159. 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.
160. 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.
161. 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.
162. 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.
163. Laurence Miossec ; « Les vibrions pathogènes pour l'homme : le risque associé au milieu marin en France »; Ifremer, (septembre 2002), 21-22.
164. 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.
165. J. Gómez-León, L. Villamil, M. L. Lemos , B. Novoa et A. Figueras., "Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from Aquacultured Carpet Shell Clam (*Ruditapes decussatus*) Larvae Associated with Mass Mortalities

,American society of Microbiologie; applied and environmental microbiology”.
 Environ. Microbiol, V. 71, n° 1, (2005), 98-104.

166. Kinkelin P., Christian M., Pietro G., « Précis de pathologie des poissons »,
 INRA-OIE, Paris, (1985), 348.

167. Grisez L., Reyniers J., Verdonck L., Swings J., Ollevier F., "Dominant
 intestinal microflora of sea bream and sea bass larvae, from two hatcheries, during
 larval development". Aquaculture, V. 155, n° 1-4, (1997), 387–399.

168. Milotoris E, S.W. Joseph, M.I . Krichenskey, W. Sindhuhardja, R.R. Colwell.,
 "characterization and distribution of vibrio alginolyticus and vibrio
 paraheamolyticus isolated in Indonisia", Appl. Microbio, V. 50, n° 6, (1958), 1388-
 1394.

169. Phelepp C., C. Delort, Y. Martin., « Bactéries associées aux différents
 niveaux d'une éclosion de poissons marins (*Sparus aurata* ; *Dicentrarchus labrax*)
 (étude quantitative, caractéristiques et sensibilité à différents antibiotiques de
 quelques Vibrionaceae. Colloque Franco-Japonais d'Océanographie) ».Marseille
 16-21 Septembre 1985. Fascicule 4 : Microbiologie des eaux côtières, (1985), 33-
 47.

170. Bakhrouf A., H. Ben Ouada, R. Oueslati., « Essai de traitement des
 vibrioses du loup *Dicentrarchus labrax* dans une zone de pisciculture, à Monastir,
 Tunisie ». Mar. Life,V. 5, n° 2, (1995), 47-54.

171. Mohammed Abdel-Aziz, Alaa Eldin Eissa, Magdy Hanna, Mahmoud
 A Abou Okada., "Identifying some pathogenic *Vibrio/Photobacterium* species
 during mass mortalities of cultured Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and
 European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from some Egyptian coastal provinces”;

science direct ;international journal of veterinary science and medicine; V. 1, n° 2, (2013), 87-95.

172. 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).

173. 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 direcion general . Adopted on 19-20 septembre 2001.

174. Bonhomme, Amélie, Jeannine, Charlotte., « Les bactéries du genre vibrio et la santé publique vétérinaire » ; Thèse pour le doctorat vétérinaire, (2003) ,100.

175. 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.

176. Cohen N., Karib H., Ait Saïd J., Lemee L., Guenole A., Quilici M.L., « Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc) ». *Revue Méd. Vét*, V.158, n° 11, (2007), 562-568.

177. Sabir M., Cohen N., Boukhanjer A., Ennaji M.M., "Occurrence and survival of *Vibrio alginolyticus* in Tamouda Bay (Morocco)", *Cellular & Molecular Biology*,V. 57, (2011), 1592-1599.

178. Homstrup M.K., Gahm-Hansen B., "Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vihrio alginolyticus* in a Danish County", *Scand. Infect. Dis*, V. 25, n° 6, (1993), 735-740.

179. Dalsgaard A., Frimodt-Moller N., Bruun B., Hoi L., Larsen J. L., “ Clinical manifestations and molecular epidemiology of *Vibrio vulnificus* infections in Denmark”. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, V. 15, n° 3, (1996), 227-232.
180. Gras-Rouzet S., Donnio P. Y., Juguet F., Plessis P., Minet J., Avril J.L., « First european case of gastroenteritis and bacteremia due to *Vibrio hollisae*”. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, V. 15, (1996), 864-866.
181. Dalsgaard A., Forslund A., Hesselbjerg A., Bruun B., “Clinical manifestations and characterization of extra-intestinal *Vibrio cholerae* non O1, non-0139 infections in Denmark”. *Clin. Microbiol. Infect*, V. 6, n°11, (2000), 625-627.
182. Patz J.A., Lindsay S.W., “New challenges, new tools: the impact of climate change on infectious diseases”. *Curr. Opin. Microbiol*. V. 2, n° 4, (1999), 445-451.
183. Hayes M.L., Bonaventura J., Mitchell T.P., Propsero J.M., Shinn E.A., Van Dolah F., Barber R.T., “How are climate and marine biological outbreaks functionally linked?” ; *Hydrobiol*, V. 460, (2001), 213-220.
184. Grouhel A., « Compte rendu Réunion du Réseau Microbiologique, 30 Juin et 1er juillet 1994 », rapport interne Ifremer, Brest, (1994), 42 p.
185. Balebona M.C., I. Zorrilla, M.A. Mori igo, J. J. Borrego., ”Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996 ”. *Aquaculture*,V. 166, (1998),19-35.
186. Campanelli A., Sanchez-Politta S., Saurat J. H., « Ulcération cutanée après morsure de poulpe : infection à *Vibrio alginolyticus*, un pathogène émergent ». *Annales de dermatologie et de vénéréologie*,V. 135, n° 3, (2008), 225-227.

187. Morris, J. G., Jr., H. G. Miller, R. Wilson, et al, "Illness caused by *Vibrio damsela* and *Vibrio hollisae*". *Lancet* i, V. 1, (1982), 1294-1297.
188. Hoge, C. W., D. Watsky, R. N. Peeler, J. P. Libonati, E. Israel, and J.G. Morris, Jr., "Epidemiology and spectrum of vibrio infections in a Chesapeake Bay community". *J. Infect. Dis.*V.160, (1989)., 985-993.
189. Anwar E. Al-Sunaiher, Abdelnasser S.S Ibrahim and Ali A. Al-Salamah., " Association of *Vibrio* Species with Disease Incidence in Some Cultured Fishes in the Kingdom of Saudi Arabia", © IDOSI Publications, (2010), *World Applied Sciences Journal*, V. 8, n° 5, 653-660, ISSN 1818-4952.
190. Abbott S. L., Janda J. M., "Severe gastroenteritis associated with *Vibrio hollisae* infection", report of two cases and review. *Clin. Infect. Dis*, V.18, (1994), 310–312.
191. Carnahan A.M., Harding J., Watsky D., Hansman S., "Identification of *Vibrio hollisae* associated with severe gastroenteritis after consumption of raw oysters". *J. Clin. Microbiol*, V. 32, (1994), 1805–1806.
192. Gras-Rouzet S, Donnio PY, Juguet F, Plessis P, Minet J, Avril JL., " First European case of gastroenteritis and bacteremia due to *Vibrio hollisae*". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, V. 15, (1996), 864–866. Doi: 10.1007/BF01691217.
193. Austin, B., "Vibrios as causal agents of zoonoses". *Veterin. Microbiol.* (In Press), V. 140, (2010), 3010-317.
194. Nishibuchi M, Doke S, Toizumi S, Umeda T, Yoh M, Miwatani T., "Isolation from a coastal fish of *Vibrio hollisae* capable of producing a hemolysin similar to the thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*". *Appl Environ Microbiol*, V. 54, n° 8, (1988), 2144–2146.

195. Kelly MT, Stroh EM., "Occurrence of Vibrionaceae in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest". *Diagn Microbiol Infect*, V. 9, n° 1, (1988), 1-5.
196. Myatt DC, Davis GH ., "Isolation of medically significant *Vibrio* species from riverine sources in south east Queensland", *Microbios*, V. 60, n° 243, (1989), 111–123.
197. Bachère, E., E. Mialhe, D. Noël, V. Boul, A. Morvan and J. Rodrigues., "Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology". *Aquaculture*, V.132, n° 1-2, (1995), 17-32.
198. Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos and W. Verstraete., "Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture". *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, V. 64, n° 4, (2000), 655-671.
199. Schulze, A.D., A.O. Alabi, A.R. Sheldrake and K.M Miller., "Bacterial diversity in a marine hatchery: Balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains". *Aquaculture*, V. 256,n° 1-4, (2006), 50-73.
200. Hansen, G.H. and J.A Olafsen., "Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish". *Microbial Ecol*, V.38, n° 1, (1999), 1-26.
201. Sandaa, R.A., T. Magnesen, L. Torkildsen and O. Bergh., " Characterization of the bacterial community associated with early stages of great scallop (*Pecten maximus*), using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)". *Syst. Appl. Microbiol*, V. 26, n° 2, (2003), 302-311.
202. Lowry PW, McFarland LM, Threefoot HK ., "*Vibrio hollisae* septicemia after consumption of catfish". *J Infect*, V.154, n° 4, (1986), 730–1.

203. Seidler R.J. et Evans M. T., "Computer assisted analysis of Vibrio field data: four coastal areas", In R.R. Colwell (Ed.). *Vibrios in the environment*. John Wiley and Sons. Inc. New York, (1984), 411-425.
204. Adingra AA., Guiral D., Arfi R., "Impact of lagoonal bacterial pollution on an aquacultural bacterial site (Ebrie lagoon, Côte d'Ivoire)", *African inland fisheries aquaculture and environment*, romane K. (ed), Cote D'ivoire, (1997), 207-220.
205. Senderovich Y, Izhaki I, Halpern M., "Fish as reservoirs and vectors of *Vibrio cholera*". *PLoS One*, V. 5, n° 1, (2010), e8607.
206. Naim Uddin and Ahmed H Al-Harbi., "Bacterial flora of polycultured common carp (*Cyprinus carpio*) and African catfish (*Clarias gariepinus*)"; *International Aquatic Research* 2012,V. 4, n° 10, (2012), in springer open journal :<http://www.intaquares.com/content/4/1/10>.
207. Grimes, D.J, Jacobs, D., Swartz, D.G., Brayton, P.R., and Colwell, R.R., "Numerical taxonomy of Gramnegative, oxidase-positive rods from carcharhinid sharks". *Int. J. Syst. Bacteriol.*V. 43,n° 1, (1993), 88–98.
208. Kouassi A.M., Guiral D., Dosso M., "Ecology of hallophilic *Vibrio* in an eutrophic tropical estuary". *Rev. Int. Océanogr. Méd.* 107-108, (1992), 24-39.
209. Tiekoura K.B., Guessennd K.A.N., Anne B.J.C., Oussou K.R., Ekaza E., Adingra A.A., Ouattara G.D., Gbonon V.C., Houenou P., Dosso M., "Caractérisation moléculaire des souches de *Vibrio cholerae* non O1, non O139 isolées des eaux lagunaires de Grand-Lahou (Côte d'Ivoire)". *Eur. J. Sci. Res.*V. 45,n° 3, (2010), 333-345.

210. Traore Sylvain Gnamien., « Risques de contraction des affections a vibrio sp. et paragonimus sp. lies à la consommation des crabes et des crevettes vendus sur les marches d'abidjan et de dabou »; Université Nangui Abrogoua UFR des Sciences et Technologies des Aliments ; (2012-2013).
211. N. Cohen, H. Karib, J. AIT Saïd, L. Lemee, A. Guenole & M.L. Quilici., « Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc) » ; Revue Méd. Vét., 2007,V. 158,n° 11, (2007), 562-568.
212. Robert-pillot ;A., « Développement de méthodes moléculaires pour l'identification et le dénombrement de souches de vibrio cholerae et de vibrio parahaemolyticus dans l'environnement hydrique et les produits de la mer » ; école pratique des hautes études sciences de la vie et de la terre ;Diplôme post-doctoral, (2006), 22p.
213. Feldhusen F., "The role of seafood in bacterial foodborne diseases". Microbes Infect.V. 2, n° 13, (2000), 1651-1660.
214. Butt A.A., Aldridge K.E., Sanders C.V., "Infections related to the ingestion of seafood". Part I: viral and bacterial infections. Lancet Infec Dis.V. 4, n° 4, (2004), 201-212.
215. Evans M.C., Griffin P.M., Tauxe R.V., "Vibrio surveillance system, summary data", CDC report October,V. 4, (1999),7.
216. Geneste C, Dab W, Cabanes PA, Vaillant V, Quilici ML, Fournier JM., « Les vibrioses non cholériques en France : cas identifiés de 1995 à 1998 par le Centre national de référence ». Bull épidemiol hebd,V. 44, n° 9, (1998), 38-40.

217. Quilici MI, Guenole A, Fournier Jm., « Les infections à vibrions non cholériques en France. Cas identifiés de 1999 à 2001 par le Centre national de référence des Vibrions et du Choléra ». Surveillance nationale des maladies infectieuses, 1998-2000. Editeur : InVS, (2001), 193-196.
218. Bhanumathi R., Sabeena F., Isac S.R., Shukla B.N., Singh D.V., “ Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O139 Bengal isolated from water and the aquatic plant *Eichhornia crassipes* In the river Ganga, Varanasi, Indiae”. Appl Environ Microbiol.V. 69,n° 4, (2003), 2389-2394.
219. Roszak DB, Colwell RR., “Survival strategies of bacteria in the natural environment”. Microbiol Rev, V. 51, n° 3, (1987), 365–79.
220. 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.
221. Oliver JD., “The public health significance of viable but nonculturable bacteria. In: Colwell RR, Grimes DJ, editors. Non culturable microorganisms in the environment”. American Society for Microbiology, Washington, (2000), 277–300.
222. Newman, S. G., “*Aeromonas hydrophila* : A review with emphasis on its role in fish diseases (in Antigens of fish pathogens)”. Development and production for vaccine and serodiagnostics”, ed. DP. Anderson, M. Dorson and Ph-Dubouret, lyon, (1982), 87 -117.
223. Austin, B. and Austin, D. A., “Bacterial Fish Pathogens (in Disease in Farmed and wild fish)”, Ellis Horwood Ltd, Publisher, Chichester, England, (1993), 15-46.

224. Plumb, J. A., "Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes". Iowa state Press, U.S. A, (1999), 400.
225. G. Vivekanandhana, A.A.M. Hathab , P. Lakshmanaperumalsamyc., "Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish and prawns from the seafood market of Coimbatore, South India" ; Science direct; Food Microbiology, V. 22, n° 1, (2005), 133–137.
226. Schubert, R.H.W., "Aeromonads and their significance as potential pathogens in water". Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement, V. 70, (1991), 131–135.
- 227 Krovacek, K., Faris, A., Baloda, S.B., Peterz, M., Lindberg, T., Mansson, I., " Prevalence and characterization or *Aeromonas* spp isolated from foods in Uppsala, Sweden". Food Microbiol. V.9, n° 1, (1992), 29 – 36.
228. Janda, J.M., Abbott, S.L.," Evolving concepts regarding the Genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions". Clin. Infect. Dis, V. 27, n° 2, (1998), 332 – 344.
229. Cipriano, C. Rocco., "*Aeromonas hydrophila* and Motile *Aeromonas* Septicemias of fish". Fish disease leaflet, (2001),68.
230. Groff, J. M. and S. R. Lapatra., " Infectious diseases impacting the commercial salmonids". J. Applied Aquaculture, V. 10, n° 4, (2000), 17- 90.
231. Karunasagar, I., I. Karunasagar and S. K. Otta., "Disease problems affecting fish in tropical environments". J. Applied Aquaculture. V. 13, n° 3-4, (2003), 231-249.

232. Lio-Po, G. D., J. P. Pascual and J. G. Santos., "Fish Quarantine and fish diseases in Southeast Asia, report of a workshop held in Jakarta, Indonesia", Ottawa Ont.publ. No. IDRC 210e, (1983), 79.
233. Abd El-Rahman, A. M., "Studies on bacterial diseases among cultured tilapia". M. V. Sc. ; Fish Dis. Dept. ; Suez Canal Univ, (1996).
234. Sakr, S. F., "Prevalence of Pathological changes associated with the fin-rot inducing bacterial diseases in fresh water fish". M.V. Sc, Pathology Dept, Fac. Vet. Med., Zag. Univ, (1996).
235. Entani E;asai M; tsujihata S ; tsu-kamoto Y;Ohta M., "antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157 : H7 (part 1) (examination of bacteriostatic and bactericidal activities)". jpn. J. Ass. Inf . DIS ;V. 61, n° 8 , (1997), 443- 450.
236. Z.Song,K.F.Kong,H.Wu,N.Maricic,B.Ramalingam,H.Priestap, L.Schneper, J.M.E. Quirke,N.Hiby,K.Mathee., "Panax ginsenghas anti infective activity against opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting quorum sensing, a bacterial communication process critical for establishing infection, *Phytomedicine*", Pub Med, V. 17, n° 3, (2010), 1040–1046.
237. Bielecki P, Glik J, Kawecki M, Martins dos Santos VAP., "Towards understanding *Pseudomonas aeruginosa* wound infections by profiling gene expression", *Biotechnology Letters*, V. 30, n° 5, (2008), 777–790.
238. Lyczak, J. B., Cannon, C. L. & Pier, G. B., "Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist". *Microbes Infect*, V. 2, n° 9, (2000), 1051-1060.

239. Bodey, G. P., Bolivar, R., Fainstein, V. & Jadeja, L., "Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*". *Rev Infect Dis*, V. 5, n° 2, (1983), 279- 313.
240. Branski, L. K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, M. G., Sanford, A. P. & Herndon, D. N., "Emerging Infections in Burns". *Surg Infect (Larchmt)*, V. 10, n° 5, (2009), 389-397.
241. Carek, P.J., Dickerson, L.M. & Sack, J.L., "Diagnosis and management of osteomyelitis". *Am Fam Physician*, V. 63, n° 12,(2001), 2413-20.
242. R. Sivakami, G. Premkishore, M.R. Chandran., "Occurrence and distribution of potentially pathogenic Enterobacteriaceae in carps and pond water in Tamil Nadu, India" , *Aquacult. Res.* V. 27, n° 5, (1996), 375–378.
243. M.C.Romero,M.C.Cazau,S.Giorgieri,A.M.Arambarri., "Phenanthrene degradation by microorganisms isolated from a contaminated stream"; *Environ. Pollut.* V. 101, n° 3, (1998), 355–359.
244. M.M.A.El-Naggar, T.O.Said, A.M.Helal, K.M.Barakat., "Integrated system for rearing Mugil species in a crude oil treated seawater using a marine *Pseudomonas aeruginosa* strain elnaggar" ,*African J. Microbiol. Res.* V. 3, n° 12 , (2009), 930–938.
245. J.P. Euzéby, (2000) "Dictionnaire de bacteriologie veterinaire ,2000b » : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/proteus.mht>. ;(consulter le 13/03/2015).
246. Anonyme15 ; « proteus mirabilis » : http://fr.wikipedia.org/wiki/Proteus_mirabilis ;(consulter le 07/01/2015).

247. Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A., "Transferable resistance to third generation cephalosporins in clinical of klebsiella pneumoniae: identification of CTX-1, a novel bêta-lactamase". J Antimicrob chemother (1987), V. 20, n° 3, (1987), 323- 33.
248. Sugita H., Shibuya K., Shimooka H., Deguchi Y., "Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. Aquaculture", V. 145, n° 1-4, (1996b), 195-203.
249. Al-Harbi A.H., Uddin M.N., "Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia". Aquaculture, V. 229, n° 1-4, (2004), 37-44.
250. Danielle Clavé., « *Pasteurella Multocida* » ; Laboratoire de Bactériologie-Hygiène CHU Toulouse, (2008), 3.
251. V. Hofman, O. Oreggiani, S. Lassalle, N. Venissac, J. Mouroux, P.* Hofman., « L'infection à *Pasteurella multocida* : une étiologie rare d'abcès pulmonaire chez l'homme » ; Communications affichées elsevier, V. 24, n° 1, (2004), 152.
252. Nizan, S. & Hammerschlag E., "First report of pasteurellosis in freshwater hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* x *O.niloticus*) in Israel". Bull. Eur. Ass. Fish Pathol, V. 13, (1993), 179–180.
253. Lewis, D., Grumble, L.C., McConnel, S. & Flowers, A., "Pastorella-like bacteria from a epizootic in menhaden and grey mullet ", Galveston Bay. J. Wildl. Dis., V. 6, (1970), 160–162.
254. Paperna, I. & Zwerner, D.E., "Parasites and diseases of striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum) from the lower Chesapeake bay". J. Fish Biol, V. 9, n° 3, (1976), 267–287.

255. Kusuda, R., Kawai, K. & Masui, T., “ Etiological studies on bacterial pseudotuberculos in cultured yellowtail with *Pasteurella piscicida* as a causative agent -II (on the serological properties)”, *Fish Pathol*, V.13,n° 2, (1978), 79–83.
256. Yasunaga, N., Hatai, K. & Tsukahara, J., “ *Pasteurella piscicida* from an epizootic of cultured red sea bream”. *Fish Pathol*, V. 18, n° 2, (1983), 107–110.
257. Bredy J.P. & Botzler, R.G., “The effect of six environmental variables on *Pasteurella multocida* population in water”. *J. Wildl. Dis*, V. 25, n° 2,(1989), 232–239.
258. H. Pagniez, P. Berche., « Les infections à *Shewanella*, un pathogène opportuniste émergent Opportunistic infections caused by *Shewanella*, new emergent bacteria » ; *elsevier,Médecine et maladies infectieuses*, V. 35, n° 4, (2005), 186–191.
259. Butt AA, Figueroa J, Martin DH., “Ocular infection caused by three unusual marine organisms”. *Clin Infect Dis*, V. 24, n° 4, (1997); 740.
260. Rosenthal SL, Zuger JH, Apollo E., “Respiratory colonization with *Pseudomonas putrefaciens* after near-drowning in salt water”. *Am J Clin Pathol*, V. 64, n° 3, (1975), 382–384.
261. Bhandari S, Pan TL, Horvath J, Tiller D. CAPD., “swimming in *Shewanella*”. *Nephrol Dial Transplant*, V. 15, n° 3, (2000), 1484–1485.
262. Roger SD, Chen SC, Lawrence S, Sorrell TC., “*Pseudomonas putrefaciens* bacteraemia in a peritoneal dialysis patient”. *Nephrol Dial Transplant*, V. 6, n° 1, (1991), 73.

263. Suzuk S, Yetener V, Ergungor F, Balaban N., "Cerebellar abscess caused by *Shewanella putrefaciens*". *Scand J Infect Dis*, V.36, n° 1, (2004), 621–622.
264. Thong ML., "Pseudomonas putrefaciens from clinical material". *SE Asian J Trop Med Pub Health*, V.7, (1976), 363–366.
265. Appelbaum PC, Bowen AJ., "Opportunistic infection of chronic skin ulcers with *Pseudomonas putrefaciens*". *Br J Dermatol*, V. 98, n° 2, (1978), 229–231.
266. Krsnik I, Arribalzaga K, Romanyk J., "Shewanella alga bacteremia and associated cellulitis in a patient with multiple myeloma". *Haematologia (Budap)*, V. 32, n° 1, (2002), 79–80.
267. Pagani L, Lang A, Vedovelli C et al., "Soft tissue infection and bacteremia caused by *Shewanella putrefaciens*". *J Clin Microbiol*, V. 41, n° 5, (2003), 2240–2241.
268. Dominguez H, Vogel BF, Gram L, Hoffmann S, Schaebel S., " Shewanella alga bacteremia in two patients with lower leg ulcers". *Clin Infect Dis.*, V. 22, n° 6, (1996), 1036–1039.
269. Jorens PG, Goovaerts K, Ieven M., "Shewanella putrefaciens isolated in a case of ventilator-associated pneumonia". *Respiration*, V. 71, n° 2, (2004), 199–201.
270. Saeed MO., Alamoudi MM., AL-harbi AH., "A Pseudomonad associated with disease in cultured rabbit fish *Siganus rivulatus* in the Red Sea". *Dis Aquatic Org*,V. 3, (1987), 177-180.
271. Butprom M. DS H, Noordin MM., Zunita Z., "A preliminary study of

ulcerative disease in koi carps (*Cyprinus carpio*, Linaneus)", 11th International Conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Association Malaysia Congress, (2004), 316-317.

272. Ayberk AYZ, Suheyla KARATAŞ., "Dominant aerobic bacterial community of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.1758) larvae during weaning from *Artemia* to dry feed in culture conditions" ; Turk. J. Vet. Anim. Sci, (2008).

273. Jensen, G.L. et Greenlees, K.J; "Public health issues in aquaculture" Rev.Sci. Tech. Off. Int. Epiz.,V. 16, n° 2, 1997. 641-651.

APPENDICE A**LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

Aw	: Activité de l'eau
°C	: Degré Celsius
BCC	: bouillon cœur-cervelle
C	: Clostridium
CHO	: Cellule d'ovaire de Hamster chinois
Cm	: Centimètre
cm ²	: Centimètre carré
CNRVC	: Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra
CT	: La toxine cholérique (CT)
CTT	: Coliformes Thermotolérants
ENSP	: Ecole Nationale de la Santé Publique
EPT	: Eau péptonée tamponnée
F	: Flore
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FMAT	: Flore Mésophile Aérobie Totale
G	: Grimontia
G	: Gramme
H	: Heure
HACCP	: Hazard Analysis Critical Control Point
ISO	: International Standardisation Organisation
Kg	: Kilogramme
KW	: Kilowatt
L	: Litre
L	: Larve
L&M	: Levures et Moisissures
L.	: <i>Listeria</i>
LDC	: Lysine DéCarboxylase

M	: Mètre
Mg	: Milligramme
mg/l	: milligramme par litre
ml	: Millilitre
NAG	: Non Agglutinating Vibrio
NCV	: Non Cholerea Vibrio
Ng	: Nano-gramme
ODC	: Ornithine DéCarboxylase
OIE	: Office International des Epizooties (Organisation Mondiale de la Santé Animale)
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ONDPA	: Office National de Développement et de Protection Aquacole
ONPG	: OrthoNitroPhénylGalactopyranoside
P	: Pseudomonas
PCA	: Plate Count Agar
PH	: Potentiel hydrogène
RM	: Rouge de Méthyle
RV	: Rappaport Vassiliadis
SFP	: Strengthening Fishery Products
SM	: Solution mère
T	: Tonne
TBX	: Triptone-bile-glucuroside
TCBS	: Thiosulfate-Citrate-Bile Salt-sucrose agar
TCP	: Toxin-Coregulated Pilus
TIAC	: Toxi-Infection Alimentaire Collective
TRH	: TDH-apparentée
TS	: Tryptone Sel
TSC	: trypticase sulfite cycloserine
TSN	: Trypticase-Sulfite Néomycine
UV	: Ultra-violet

V	: Vibrio
VBNC	: Etat viable non cultivable
VP	: Voges Proskauer
XLD	: Xylose-Lysine-Désoxycholate
Mm	: Micromètre

APPENDICE B

PRESENTATION DE L'INFRASTRUCTURE LA FERME ONDPA

Le projet a bénéficié pour sa réalisation d'une concession maritime de 6 Ha en terre ferme et 5 Ha en mer, à proximité directe de la centrale électrique de cap Djinet.

-Bassins d'élevage de Loup et Daurade :

- **Bassins de pré-grossissements de Loup de mer et Daurade royale :**

Ils sont composés d'une série de 26 bassins (photo 1) dont les dimensions sont les suivantes :

- Longueur de 20 m
- Largeur de 2m
- Hauteur de 1.2 m
- Volume de 48 m³ (le volume utile est de 40 m³)
- Une ouverture d'alimentation en eau de (45 cm) (photo 2)
- Un trop plein pour l'évacuation de l'eau (PVC de Ø =110 mm) (photo 3)



Photo 1 : Bassins de pré-grossissement de Loup et Daurade.



Photo 2 : Entrée d'eau d'un bassin de pré-grossissement de Loup et Daurade



Photo 3 : Distributeur à la demande pour bassin de pré-grossissement de Loup et Daurade.

- **Bassins de grossissement de Loup et Daurade :**

Ces bassins seront constitués de trois séries de 12 bassins (actuellement 1 série seulement), chaque bassin est équipé de :

- Deux(02) ouvertures d'alimentation en eau de 75 cm
- Deux (02) ouvertures d'évacuation d'eau de 75cm
- Un trop plein de $\square = 200$ mm

Les caractéristiques dimensionnelles de chaque bassin sont les suivants :

- Longueur : 70m
- Largeur : 7 m
- Hauteur 1.20m

Volume : 588 m³ (le volume utile est de 490 m³).



Photo 4 : Bassins de grossissement de Loup et Daurade.

- Bassins d'oxygénation :

Le rôle du bassin d'oxygénation est d'assurer l'oxygénation de l'eau d'élevage.

Dans la ferme, il existe deux (02) grands bassins d'oxygénation. Toute l'eau pompée doit passer dans le bassin d'oxygénation pour être enrichie en oxygène, et cela avant son passage au niveau des bassins d'élevage.

-Le premier bassin d'un volume de 400 m³ (photo 5) destiné à l'alimentation des deux séries de bassins de pré-grossissement (Loup de mer et Daurade). Ce bassin est équipé de trois(03) pompes à oxygène immergées. La capacité de chaque pompe est de 7.5 KW.

Le rôle de ses pompes est de pousser l'oxygène et l'eau sous une certaine pression, pour faciliter la pénétration de l'oxygène dans l'eau.



Photo 5 : Bassin d'oxygénation pour pré-grossissement de Loup et Daurade.

-le deuxième bassin d'oxygène est d'un volume de 500 m³ (photo 6) destiné à l'alimentation des bassins de grossissement, des deux espèces Loup et Daurade. Ce bassin est équipé de trois(03) pompes d'oxygénation immergées avec une capacité de 16 KW chacune (photo 7).



Photo 6 : Bassin d'oxygénation pour grossissement de Loup et Daurade.



Photo 7 : Pompe immergeable pour la diffusion d'oxygène.

La quantité d'oxygène est réglable dans les bassins d'oxygénation, selon le besoin des espèces élevées, à l'aide d'une vanne de réglage de débit située entre la machine d'oxygénation et les pompes d'oxygène immergées.



Photo 8 : Vanne de réglage de débit d'oxygène.

-Station de pompage :

L'eau de la ferme est apportée par 3 prises, à savoir :

- Une 1ère prise d'eau, directement du canal des rejets de la centrale électrique. Cette eau a une température qui avoisine les 23°C (en février) et 35 °C (en août).
- Une 2^{ème} prise d'eau, juste à côté de la première, dont la température est inférieure à cette dernière.
- Une 3ème prise d'eau (pas encore construite) à partir du large, caractérisée par des valeurs saisonnières, elle a donc des températures plus basses que celle des premières prises.

La température de l'eau d'élevage devrait être maintenue selon le besoin, par la combinaison des températures d'eaux, issues des trois prises. Le débit entrant est réglé par des trappes (photo 9), elles-mêmes commandées par des vannes (photo 10).



Photo 09 : Trappe permettant le réglage du débit d'eau.



Photo 10 : Les trois vannes de réglage du débit des prises d'eau.

L'eau de la ferme est apportée par gravitation depuis la mer. Elle est ensuite récoltée dans le puits de pompage (photo 11). Ce puits contient des pompes immergées qui se chargent de faire remonter l'eau à un niveau supérieur (photo 12).

- Actuellement, la ferme utilise 3 pompes, qui fonctionnent une à une, par alternance. La capacité de chaque pompe est de 720 L/S.
- Les techniciens de la ferme ont adopté pour chacune des trois pompes fonctionnelles, une durée de fonctionnement de 4heure/12h.



Photo 11 : Puits de récolte d'eau



Photo 12 : Remontée d'eau grâce à l'une des pompes installées.

-Le canal des rejets :

Les volumes d'eau sont évacués directement à la fin de chaque série de bassins grâce à une installation sous terrainne qui déverse directement dans un long canal (canal des rejets).



Photo 13 : Le canal de rejet

APPENDICE C :
METHODE DE PRELEVEMENT DES POISSONS



APPENDICE D
LES LOUPS DE MER (PREGROSSISSEMENT) MALADES

1-L'apparition de tache blanche entre les deux yeux.

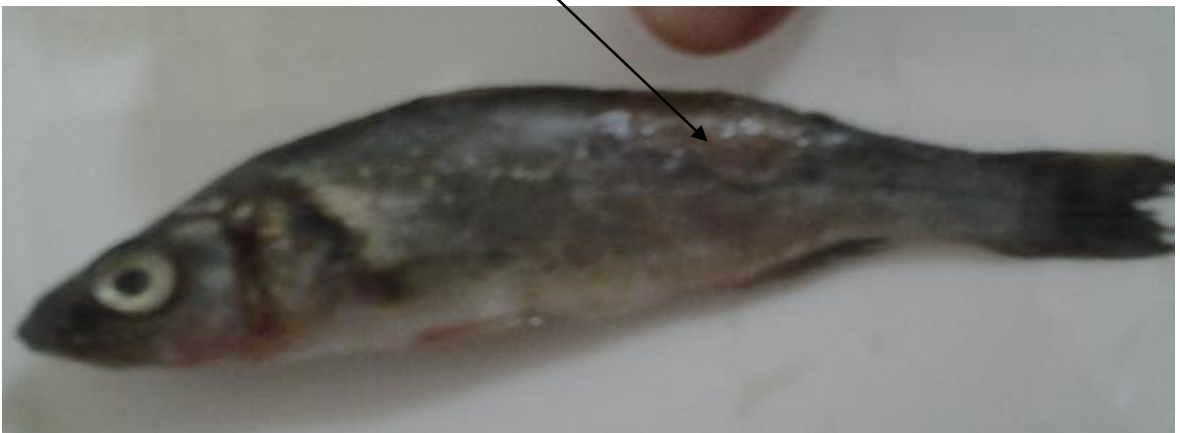




2-exophtalmie



3-la nécrose congestive sur le flanc.



APPENDICE E
LES BOITES DE CULTURE DE CHAQUE GERME.



Photo1 : les colonies d'*Escherichia coli* sur TBX.

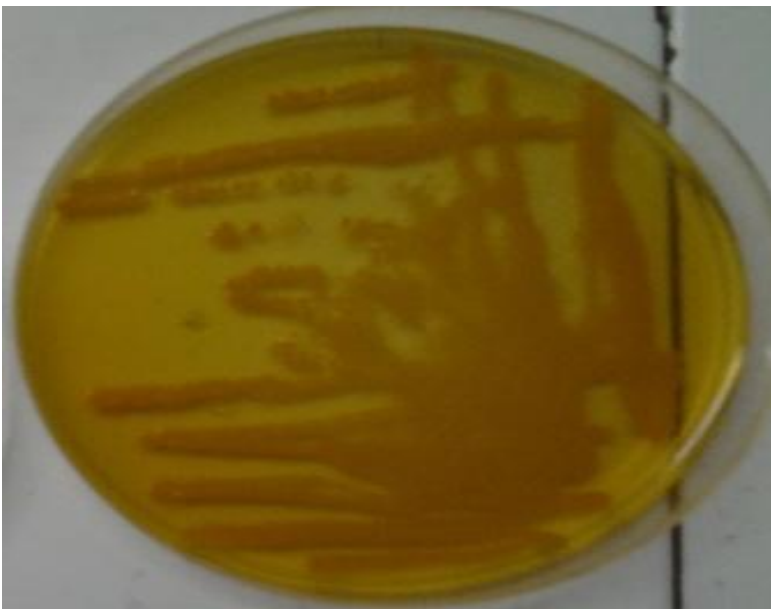


Photo2 : les colonies de *Proteus vulgaris* sur TCBS.

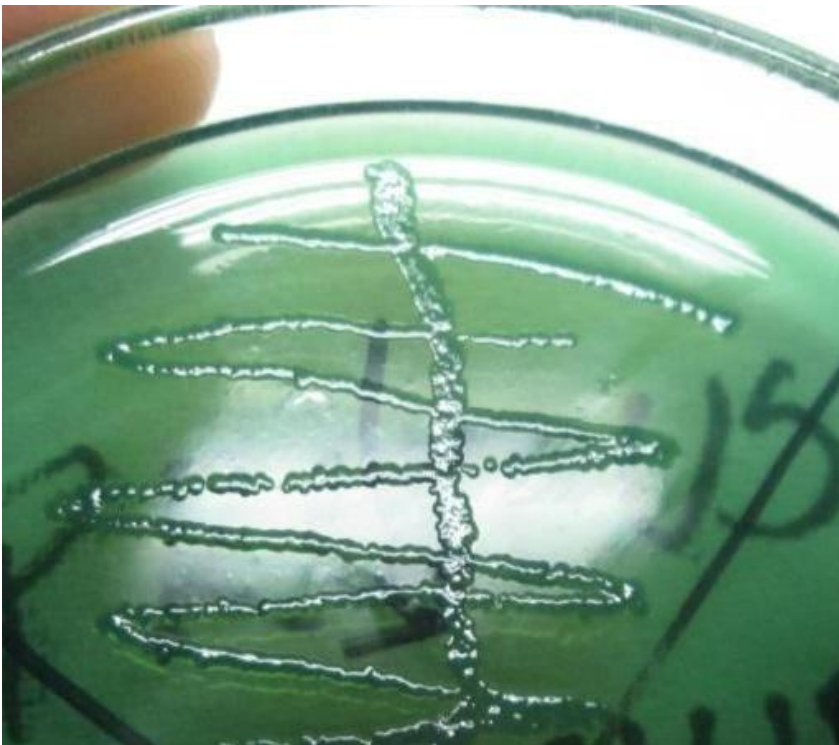
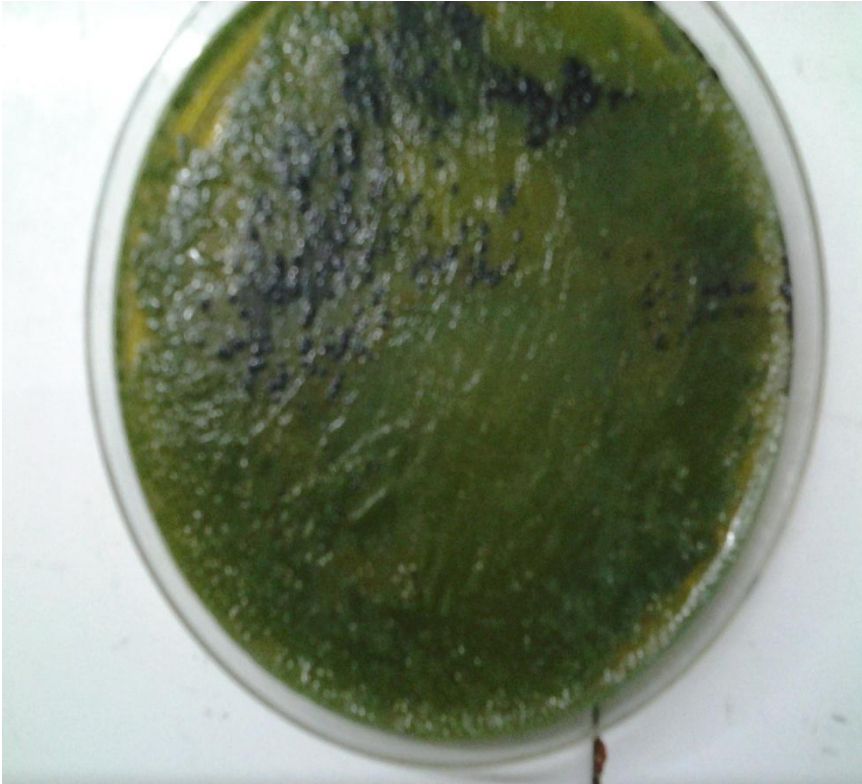


Photo 3 : les colonies de proteus mirabilis sur TCBS.

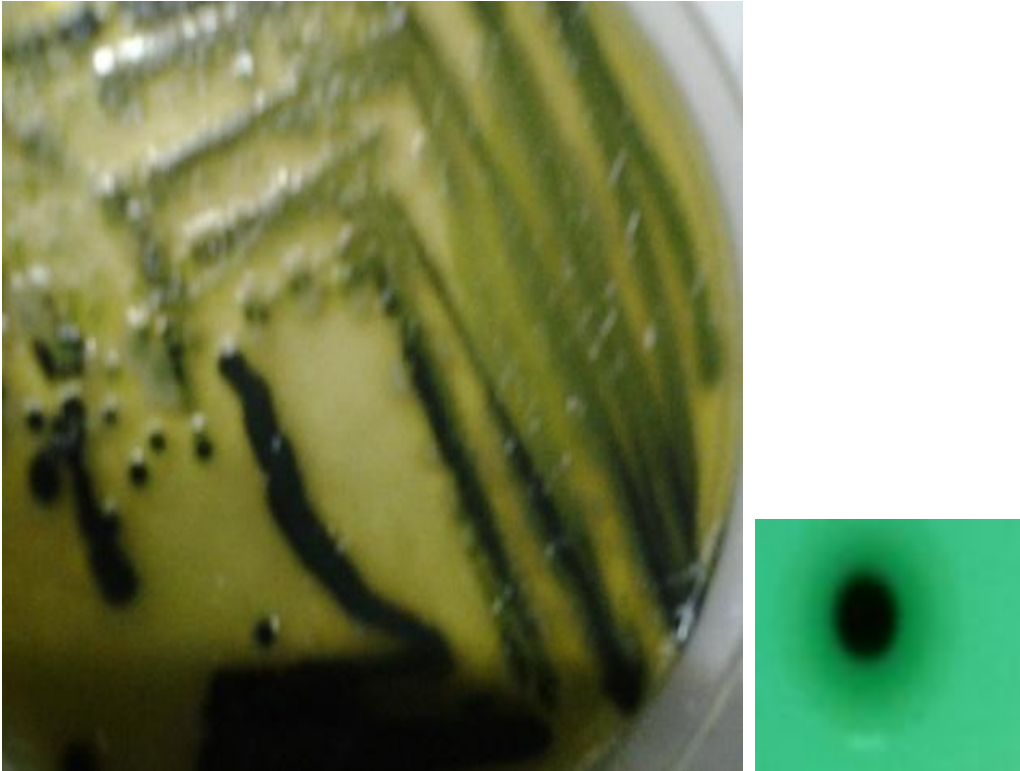


Photo 4 : les colonies de *Shewanella Putrefaciens* sur TCBS.

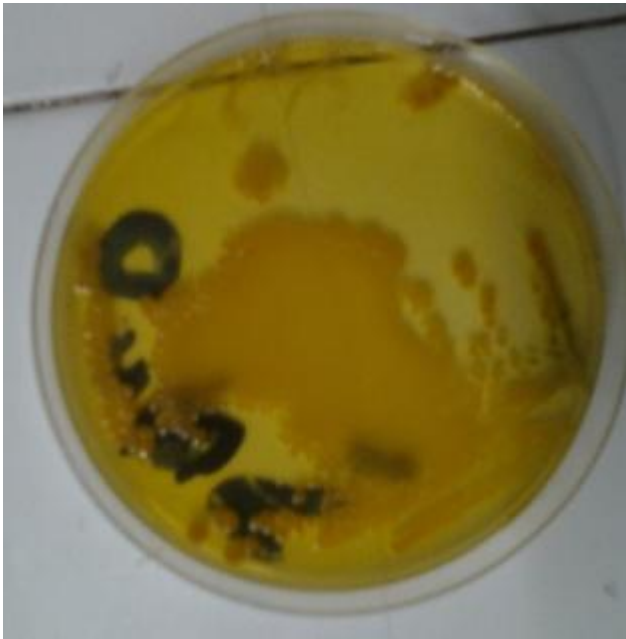


Photo 5 : les colonies d'*aeromonas hydrophila* sur TCBS.



Photo 6 : les colonies de *Grimontia hollisae* (*Vibrio hollisae*) sur TCBS.

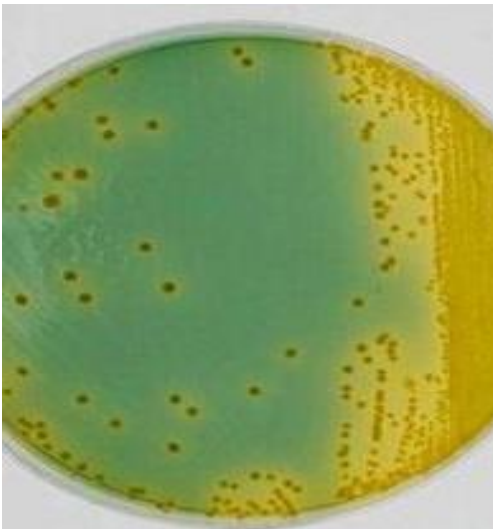


Photo 7: les colonies de *Vibrio cholerae* sur TCBS.



Photo 8: les colonies de *Vibrio alginolyticus* sur TCBS.

APPENDICE F**LES EAUX USEES (LES EGOUTS) QUI SE DEVERSENT DIRECTEMENT
DANS L'EAU DE MER DE CAP DJINET**



APPENDICE G

MATERIEL DE LABORATOIRE

Ce sont les éléments utilisés, dans tous les laboratoires d'analyse bactériologiques de produits alimentaires :

➤ *Appareils :*

-Bec Benzun : pour assurer une stérilisation instantanée.

-Bain marie : pour la transfusion des milieux de culture.

-Autoclave : stérilisation à la vapeur.

-Incubateur : pour la culture des bactéries.

-Réfrigérateur : conservation des souches et des réactifs

-Microscope optique : permet l'observation (état frais, coloration de Gram).

➤ *Verrerie :*

-Tout genre de pipettes (20cc, 10cc, 5cc, 2cc, 1cc) utilisées pour l'inoculation.

-Pipettes Pasteur pour l'inoculation et l'ensemencement.

-Micropipettes pour une prise très précise.

-Becher à différents volumes.

-Verre à pied (200cc, 60cc).

-Lames et lamelles utilisées pour l'observation microscopique.

-Tubes à essai.

➤ Autres matériels :

-Boites de Pétri pour les cultures bactériennes.

-Anse de platine utilisée en ensemencement.

-Portoirs.

-Milieux de culture.

-l'appareil de filtration d'eau sur membrane. :

L'appareil est un simple système de filtration fonctionnant sous pression réduite (pompe à vide), il contient un support à filtre qui reçoit la membrane de filtration et un flacon pour récupérer l'eau filtrée.



Figure 5.1 : Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane.