



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



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

**La prévalence des vibrios potentiellement pathogènes dans les
produits de mer**

Présenté par

Hammou-menach Somia

Harfouf Djaouhar Djalila

Devant le jury :

Président(e) : Razzali.K

MAB U.BLIDA 1

Examinatrice : Ouakli.N

MCB U.BLIDA 1

Promoteur : Arab.S

MAB U.BLIDA 1

Co-promoteur : Letlout.H

Année universitaire

2018/2019

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné le

Courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à notre

Promotrice Mme Arab Sonia Pour son aide, ses orientations, sa patience et sa

Disponibilité et sa gentillesse.

Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à notre co-

promoteur Mr LETLOUT HAMZA , pour son aide, ses orientations.

Aux membres de jury, qui ont accepté d'examiner et juger ce travail ;

Melle Razzali Kahina

Melle Ouakli Nadia

Ce travail a été rendu possible grâce aux équipements mis à notre disposition
au laboratoire d'hygiène de Tipaza .

Mes sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à Monsieur

ARIB Samir pour son aide

Et surtout, je saisis cette occasion pour remercier MONSIEUR DAHEL
KAMEL et ZUITENE RAOUF, qui ont mis à notre disposition beaucoup de moyens
pour l'élaboration de cette étude.

DEDICACES

Louange à Allah, maître de l'univers.

Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

A mes très chers

Parents HAMMOU-MENACH DJILALI et MEZIANE KHEIRA qui ont consenti

d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'initiation de la

vie qu'ils m'ont donnée, tous les conseils et encouragements

Qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

Je leur dois reconnaissance et gratitude.

A mes frères MOHAMED ET AYOUB

A mes sœurs NAIMA et son fils AFEM, FULLA, MAHJOUBA ses fils MOHAMED

ET ISHAK et notre ange MANISSA

A MON BINOME HARFOUF DJAWHER DJALILA

A mon très cher ami ABDELHAK

A MONSIEUR: AICHOUNI AHMED

A tous mes amis :SANA BESMA MOUNIRA KATIA YOUSRA ANIA MARWA

KAWTHER CHAIMA NADIA SALIMA

A mes camarades de promotion 2014 que j'apprécie beaucoup.

Que Dieu me les garde tous.

SOMIA.

DEDICACES

Louange à Allah, maître de l'univers.

Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

A mes très chers

Parents et mes grand-parents qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'initiation de la

vie qu'ils m'ont donnée, tous les conseils et encouragements

Qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

Je leur dois reconnaissance et gratitude.

A mes cher ancles : Harfouf Merouene et Dahel Kamel

A mes frères : Noufel et Rostoum

A mes sœurs : Liela , Samaher et Anfel

A MON BINOME HAMMOU-MENNACH SOMIA

A tous mes amis : MOUNIRA KATIA BESMA YOUSRA ANIA MARWA KAWTHAR NADIA SALIMA et NESRINE .

A mes camarades de promotion 2014 que j'apprécie beaucoup.

Que Dieu me les garde tous.

DJALILA.

Sommaire

Introduction.....	01
I_ La partie bibliographique	
I_1 Historique.....	03
I_2 Taxonomie.....	04
I_3 Les caractères morphologiques.....	06
I_4 Les caractères biologiques	06
I_5 Les variétés des espèces de genre vibrio pathogènes à l'homme	07
5-1- V.Cholere	07
5-2- V. Parahaemolyticus.....	07
5-3- V. Vulnificus.....	08
5-4- Autres espèces	08
I_6 Ecologie et facteur de développement	09
6-1-V. cholerea.....	09
6-2- V. Parahaemolyticus.....	09
6- 3- V. Vulnificus.....	10
6- 4- V. Alginolyticus.....	11
I_7 Les réservoirs	11
7-1-L'homme	11
7- 2-L'environnement.....	11
7-3-L'animal.....	12
I_8 Facteurs de virulence et pathogenie	12
8- 1-V.cholera.....	12
8-2-V.fluvialis.....	15
8- 3-V.paraahaemolyticus	16
8-4-V.vulnificus	16

I_9 la voie de contamination des VIBRIOS et leur caracteres cliniques	17
9-1-V.cholerea.....	17
9-2-V.fluvialis.....	18
9- 3-V.parahaemolyticus	18
9- 4- V.vulnificus	19
I_10 Diagnostic des Vibrios	20
I_11 Prophylaxie	20
II_ La partie expérimentale	
Matériel et méthodes	22
1_ Matériel.....	22
1) matériel biologique.....	22
2) matériel de laboratoire.....	22
2-a - Equipements.....	23
2-b- Milieu de culture.....	23
2-c –Réactifs	24
2_ Méthode	24
1-L'échantillonnage	24
2-Les prélèvements	25
3-Protocole d'analyse microbiologique.....	25
4-Protocole de détection des vibrio. Spp	25
4-1 -Les moules	26
4-2-Les poissons	26
4-3-L'eau de mer	28
Résultats.....	30
Discussion.....	38
Conclusion	40

Recommandations.....41

Références.....42

Resumé

Vibrio est un genre bactérien autochtone de l'environnement aquatique. Certaines espèces bactériennes de ce genre *sont* considérées aujourd'hui comme des pathogènes émergents, sont impliquées dans les infections d'origine alimentaire chez l'homme après ingestion des produits de mer contaminés, causant ainsi un problème de santé publique.

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

Au total 93 échantillons (80 moules, 10 poissons et 3 échantillons d'eau de mer) ont été prélevés pour la recherche des *vibrios* pathogènes. Les résultats obtenus montrent que trois espèces de *vibrio* pathogènes ont été isolées, à savoir *vibrio cholerae* qui a été isolé à partir d'une vingtaine d'échantillons de moules avec une prévalence de 21.5% dans la région tonique à Bousmail, en mois de septembre, *vibrio fluvialis* qui a été isolée à partir de l'eau de mer dans la même région avec une prévalence de 1.07% et *vibrio alginolyticus* qui a été isolée dans les moules récoltées de la pêcherie de Tipaza durant la saison hivernale.

Nous avons pu isolés d'autre bactéries tel que : les Enterobacters ,*Shewanella Putrefaciens* , *Aeromonas Salmonidicea* , *Pseudomonas Aerogenosa* .

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

Les mots clés : contamination, moule, eau de mer, *vibrio*, Tonique, Algérie.

Abstract

Vibrio bacteria are autochthonous and natural inhabitants of marine, estuarine environments.

Bacterial species of *Vibrio* groups are considered as emerging pathogens, and can cause human infections. Infections are generally acquired through consumption of contaminated seafood's, and cause an important public health problem.

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

93 samples (80 mussels 10 fish and 3 seawater) we recollected for microbiological analyzes. The result obtained show that three species of pathogenic *vibrio* have been isolated, namely *vibrio cholerae* which has been isolated from about twenty mussel samples with a prevalence of 21.5 % in the tonic region of Bousmail, in September . *vibrio fluvialis* was isolated from seawater in the same area with a prevalence of 1.07 %. *Vibrio alginolyticus* that was isolated from mussels brought back from the Tipaza fishery during the winter season.

No bacterial contamination was detected in fish samples by species of the genus *vibrio*.

We were able to isolate other bacteria such as: *Enterobacter*, *SChewanella Putrefaciens*

,*Aeromonas Salmonicidea* , *Pseudomonas Aerogenosa*.

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

Key-words : contamination , mussels , seawater,vibrio, Tonique, Algeria

الملخص

الضممة هي نوع بكتيري أصلي للبيئة المائية . بعض الأنواع من جنس تعتبر اليوم من مسببات الأمراض الناشئة و تشارك في العديد من الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية عند الإنسان بعد تناول المأكولات البحرية الملوثة . مما يشكل مشكلة صحية عامة.

الإصابة الفعلية للأمراض الناجمة عن استهلاك هذه المنتجات غير معروفة في الجزائر. و بالتالي، فإن عدم وجود نظام للمراقبة و التحكم يمكن أن يفضي إلى ظهور العديد من الأمراض البشرية ، مما يؤدي إلى مشكلة حقيقية في الصحة العامة ، وجود هذه الجوانب المختلفة هو الذي أدى إلى إجراء هذه الدراسة من اجل تقييم انتشار تلوث المأكولات البحرية بواسطة مختلف أنواع الضممة .

تمت دراسة 93 عينة من بلح البحر (ع=80) و الأسماك (ع=10) و مياه البحر (ع=3) لتقييم مدى انتشار تلوث المأكولات البحرية من قبل هذا النوع من البكتيرية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها إن مدى الإصابة بنسبة 21.5 بالمئة من الضممة الكوليرية تم عزلها من

حوالي 20 عينة من بلح البحر و سلالة الضممة الوعائية المعزولة من مياه البحر بنسبة 1.07 بالمئة خلال

موسم الخريف في منطقة تونيك (بوسماعيل) . و كذلك تم عزل سلالة أخرى من الضممة الغينية بنسبة 21.5 بالمئة في منطقة تيبازة (المسمكة).

بالنسبة للأسماك لم يتم العثور على أي نوع من الضممة البكتيرية .

تمكنا من عزل أنواع أخرى من البكتيريا مثل :الشوانيلامتعفة ، البكتيريا المتعفة ، ايروموناسسالمونيلية ، الزائفة الزنجارية

في الواقع يدل تنوع هذه الأنواع البكتيرية على أهمية هذا النوع من الدراسة في كل من بيانات

الاستزراع المائي في المياه العذبة و المالحة من اجل تقييم المخاطر الصحية المرتبطة بمناولة او

استهلاك المنتجات النيئة أو الغير مطهوه جيدا .

الكلمات المفتاحية : التلوث ، بلح البحر ، مياه البحر ، الجزائر ، تونيك

Liste des abréviations :

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

°C	: Degré Celsius
CC	: centimètre cube
CHO	: Cellule d'ovaire de Hamster chinois
Cm	: Centimètre
CNRVC	: Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra
ENSP	: Ecole Nationale de la Santé Publique
EPA	: Eau péptonée alcaline
E.coli	: Escherichia coli
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FMAT	: Flore Mésophile Aérobie Totale
G	: Gramme
H	: Heure
INO	: Inositol
ISO	: International Standardisation Organisation
Kg	: Kilogramme
L	: Litre
LDC	: Lysine DéCarboxylase
M	: Mètre
Mg	: Milligramme
mg/l	: milligramme par litre
ml	: Millilitre
NAG	: Non Agglutinating Vibrio
NCV	: Non Cholerea Vibrio
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

PCR	: Polymerase chaine reaction
PH	: Potentiel hydrogène
SOR	: Sorbitol
TCBS	: Thiosulfate-Citrate-Bile Salt-sucrose agar
TCP	: Toxin-Coregulated Pilus
TDH	: Thermostable Direct Hemolysin
TIAC	: Toxi-Infection Alimentaire Collective
TRH	: TDH-apparentée
TSI	: Triple sugar iron
TSC	: trypticase sulfite cycloserine
V	: Vibrio
VP	: VogesProskauer
µm	: Micromètre

Liste des tableaux

Tableau 1 : les 51 espèces du genre <i>vibrio</i>	05
Tableau 2 : facteurs de développement de <i>vibrio cholerae</i>	09
Tableau 3 : facteurs de développement de <i>vibrio parahaemolyticus</i>	10
Tableau 4 : facteurs de développement de <i>vibrio vulnificus</i>	10
Tableau 5 : pathologies associées à différentes espèces de <i>vibrio</i>	17
Tableau 6 : Pathologies associées à différentes espèces de <i>Vibrio</i>	20
Tableau 7 : les espèces de <i>vibrio</i> pathogènes de poissons	24
Tableau 8 : une mini galerie comparative	29
Tableau 9 : tableau présente un échantillonnage	30
Tableau 10 :caractères microbiologiques des <i>Vibrio</i> isolés sur milieu GNAB	31
Tableau 11 :caractères biochimiques de <i>Vibrio Alginolyticus</i>	31
Tableau 12 : caractères biochimiques de <i>Vibrio Fluvialis</i>	32
Tableau 13 : caractères biochimiques de <i>Vibrio Cholerea</i>	33
Tableau 14 : les résultats de la mini galerie des vibrions	34
Tableau 15 : Caractères biochimiques et microbiologiques des bactéries autres que <i>vibrio</i> isolées sur milieu GNAB	34
Tableau 16 : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que <i>vibrio</i> isolées sur milieu GNAB	35
Tableau 17 : Les caractères biochimiques sur les acides aminés (mini galerie) des bactéries autres que <i>vibrio</i> isolées sur milieu GNAB	36

Liste des figures et des photos

Figure 01 : étapes de la pathogénèse de la <i>vibrio cholerae</i>	14
Photo01 : photo prise sur Google maps de la région Tonique Bousmail	22
Photo 02 : les prélèvements de moules, de poissons et de l'eau de mer dans une glacière.....	25
Photo 03 : nettoyage et flambage des moules.....	26
Photo 04 : ensemencement à partir d'un 2 ^{ème} enrichissement.....	27
Photo 05 : premier ensemencement d'un échantillon de l'eau de mer.....	28
Photo 06 : une boîte positive de <i>vibrio cholerae</i>	36
Photo 07 : une galerie API20E de la bactérie <i>vibrio.Fluvialis</i>	36
Photo 08 : une galerie API20E d'une souche de <i>vibrio.cholerae</i>	37

Introduction

Les bactéries appartenant au genre *Vibrio* sont considérées comme natives des écosystèmes aquatiques marins et estuariens. Comme conséquence, la contamination naturelle des produits de la mer est communément admise. Avant la commercialisation, cette contamination initiale peut être amplifiée pendant le stockage, si les bonnes conditions de conservation et les bonnes pratiques hygiéniques ne sont pas respectées.

Plus de 10 espèces de *Vibrio* connues provoquent des maladies humaines (West, 1989; Lesne et Fournier, 1998). Selon les espèces de *Vibrio* impliquées, les manifestations cliniques sont différentes. Elles s'étendent des gastroentérites aux septicémies consécutives à l'infection de plaies occasionnées par des blessures (FAO/WHO, 2002; Gopal et al., 2005). Les *Vibrio* sont également des bio-agresseurs majeurs des stades larvaires et juvéniles des produits de la mer. L'incidence des infections aux vibrions pathogènes est en constante et régulière progression dans le monde (FAO/WHO, 2002; Hara-Kudo et al., 2003; Gonzales et al., 2004). Cette progression pourrait être directement liée à l'augmentation de la concentration de ces bactéries dans les eaux côtières et estuariennes et qui est consécutive à l'anthropisation du littoral et au réchauffement planétaire (McLaughlin et al., 2005).

La consommation des produits de la mer et notamment des produits crus ou sommairement cuits, ainsi que la mondialisation des échanges commerciaux des produits alimentaires pourraient contribuer, de façon substantielle, à la recrudescence des infections dues à ces germes pathogènes (Tantillo et al., 2004; Gerner-Smidt, 2001; FAO/WHO, 2011).

Malgré ces risques potentiels, peu d'études ont été réalisées dans notre pays afin de mieux estimer la prévalence des vibrions pathogènes dans les produits de la pêche ; C'est pour répondre à cette préoccupation que nous avons entrepris cette étude qui comporte deux parties distinctes :

Une partie bibliographique qui synthétise des données relatives aux espèces de *vibrio* et une partie pratique qui a pour objectifs :

- La recherche de la présence des *vibrio* dans les produits de la mer à Tipaza (la pêche).
- Identification et caractérisation des souches isolées
- Identification et caractérisation d'autres bactéries isolées sur milieu GNAB.

I 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 vibron cholérique par Robert Koch en 1883 et 1884. La sixième pandémie envahit l'Asie, le Moyen-Orient, et l'est de l'Europe en 1899 et 1923. Elle n'atteint pas les pays d'Europe de l'Ouest et d'Amérique qui avaient commencé à élever leur niveau d'hygiène. Nous sommes actuellement dans la huitième pandémie cholérique. *Vibrio cholerae* a été la première espèce du genre *Vibrio* à être décrite par PACINI en 1854, mais c'est Koch qui démontre en 1884 que ce germe est bien à l'origine du choléra (Fournier et Quilici, 2002).

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

L'espèce *Vibrio alginolyticus* a été décrite en 1968, elle est très abondante dans le milieu marin mais rarement isolée chez l'Homme. A partir du début des années 70, des cas d'infections extra-intestinales associant des nécroses et œdèmes tissulaires, des formes septicémiques d'infection avec parfois mortalité brutale sont apparues aux Etats-Unis. L'agent isolé a été dans un premier temps confondu avec *Vibrio parahaemolyticus* ou appelé

vibron non-cholérique. Reconnu comme étant une nouvelle espèce par **MAURINC, 1976**(Reichelt J.L et all, 1976), ils ont proposé de placer cet organisme dans le Genre *Beneckea* et de lui donner le nom d'espèce *vulnificus* pour « blessure » en latin. En 1979, FARMER a suggéré que cette bactérie soit placée dans le genre *Vibrio*, beaucoup de microbiologistes ayant contesté cette précédente classification, et en 1980, l'organisme a pris pour nom officiel *Vibrio vulnificus*.

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

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

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

I_2 Taxonomie :

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

Il est impossible de présenter une classification claire des Vibrionaceae car ils subissent régulièrement des modifications importantes. Les quatre principaux genres considérés

comme proches sont les genres *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* (classé depuis 1986 dans la famille des *Enterobacteriaceae*), ces deux derniers comptent des

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

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

spèces considérées comme pathogènes pour l'Homme	Autres espèces	
Espèces fréquemment isolées :	<i>V. aerogenes</i>	<i>V. navarrensis</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>V. aestuarianus</i>	<i>V. nereis</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>V. albensis</i>	<i>V. nigripulchritudo</i>
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. ordalii</i>
<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>V. campbellii</i>	<i>V. orientalis</i>
Espèces rarement isolées :	<i>V. costicola</i>	<i>V. pectenocida</i>
<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>V. cyclitrophicus</i>	<i>V. pelagius</i>
<i>Vibrio hollisae</i>	<i>V. diabolicus</i>	<i>V. penaeicida</i>
<i>Vibrio mimicus</i>	<i>V. diazotrophicus</i>	<i>V. proteolyticus</i>
Espèces dont la pathogénicité est douteuse :	<i>V. fischeri</i>	<i>V. rumoiensis</i>
<i>Vibrio carchariae</i>	<i>V. gazogenes</i>	<i>V. salmonocida</i>
<i>Vibrio cincinnatiensis</i>	<i>V. haliotocoli</i>	<i>V. scophthalmi</i>
<i>Vibrio damsela</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. splendidus</i>
<i>Vibrio furnissii</i>	<i>V. ichthyenteri</i>	<i>V. succinogenes</i>
<i>Vibrio metschnikovii</i>	<i>V. iliopiscarius</i>	<i>V. tapetis</i>
	<i>V. logei</i>	<i>V. trachuri</i>
	<i>V. marinus</i>	<i>V. tubiashii</i>
	<i>V. mediterranei</i>	<i>V. viscosus</i>
	<i>V. mytili</i>	<i>V. wodanis</i>

	<i>V. natriegens</i>	
--	----------------------	--

I 3 Les caractères 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 (Twedt R.M., 1989).

I 4 Les caractères biologiques:

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

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

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

I_5 Les variétés des espèces de genre *Vibrio* pathogènes à l'homme :

5-1- *Vibrio cholerae*:

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

V. cholerae appartenant aux sérogroupes O1 et O139 sont les deux seuls considérés comme étant les agents du choléra d'après la définition donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ces sérogroupes sont détectés grâce à des antisérums O1 et O139. La prévalence de ces sérogroupes dans les environnements aquatiques semble inférieure à celle des autres sérogroupes de *V. cholerae*. Le nombre de sérogroupes O recensés continue d'augmenter et actuellement plus de 206 sérogroupes O sont reconnus (Shimada *et al.*, 1994).

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

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 .

5-2-*Vibrio parahaemolyticus* :

En 1965, une remarque importante concernant la distinction des souches pathogènes de *Vibrio parahaemolyticus* a été faite. En effet, il a été observé que les isolats provenant des cas cliniques de gastro-entérites étaient hémolytiques (hémolyse de type 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 (Twedt R.M 1989).

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

5-3-Vibrio vulnificus :

Concernant *Vibriovulnificus*, 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 ». (Oliver J.D 1997)

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

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). (Oliver J.D 1997)

5-4-Autres espèces :

Huit autres espèces de vibrions ont été isolées de cas cliniques humains. 11 s'agit de *V alginolyticus*, *V cincinnatiensis*, *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 (Janda, J.M 1988) , (Tantillo, G.M. 2004).

I_6 Ecologie et facteurs de développement :

Ceux-ci ont surtout été étudiés pour les pathogènes majeurs pour l'Homme, à savoir

Vibrio cholerae, *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio fluvialis*.

De manière générale, les espèces du genre *Vibrio* sont anaérobies facultatives, mésophiles, très sensibles à la chaleur et à l'ionisation, certaines sont moyennement halotolérantes (*V. cholerae*, *V. mimicus*) et d'autres sont halophiles.

6-1-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. (ICMSF 1996)

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).(ICMSF 1996)

Tableau2 :Facteurs de développement de *Vibrio cholerae* (Madden J.M. et Mc Cardell B.A 1989).

	Optimum	Extrêmes
Température (°C)	37	10-43
PH	7,6	5,0-9,6
Activité de l'eau a_w	0,984	0,970-0,998
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie
NaCl p.100)	0,5	0,1-4,0
Sensibilité à la chaleur	D _{60°C} 2,65min	>48°C
Sensibilité à l'ionisation	0,5 KGy	>0.1kGy

6-2-Vibrio parahaemolyticus :

Vibrio parahaemolyticus peut se multiplier sur une large gamme de températures, la température optimale est de 37°C. La température minimale est de 5°C mais elle peut être modifiée selon les valeurs du pH et la concentration en NaCl (Fournier et Quilici2002). Il est assez sensible au froid : le taux de mortalité est maximal entre 0 et 5°C. Le micro-organisme est modérément sensible à la congélation et peut ainsi persister dans des produits de la mer congelés pendant de longues périodes.(ICMSF.1996)

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

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

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

6-3-Vibrio vulnificus :

La température optimale de croissance de *Vibrio vulnificus* est également de 37°C mais il se développe bien à 30°C et 35°C également (Bang W2002); 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 (Bang W 2002).

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

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

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

6-4-Vibrio alginolyticus :

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

I_7 Les réservoirs :

7-1 L'Homme :

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

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

7-2 L'environnement :

Vibrio spp sont, dans la plupart des cas trouvés comme bactéries planctoniques libres dans l'environnement mais dans des structures complexes de biofilms multi-espèces attachées à divers surfaces biotiques et abiotiques. (Igbinosa, E.O 2009 ; - Donlan, R.M 2002 ;Schembri, M.A 2002). On les trouve aussi souvent attachées à l'exosquelette chitine du zooplancton(Costerton, J.W 1995 ; Schembri, M.A 2002) .les biofilm contribuent à la survie des communautés bactériennes en favorisant la coopération métabolique et génétique entre les espèces ainsi que la protection contre divers stress environnementaux , tels que la famine et la prédation. (Costerton, J.W 1995 ;Watnick, P 2000).

Il a été constaté que les *vibrio spp* peuvent survivre longtemps pendant la famine par les changements séquentiels dans la physiologie cellulaire et des changements graduels dans la morphologie. (Albertson, N.H 1990 ; Östling, J 1993)

7-3 L'animal :

Les espèces du genre *Vibrio* sont très courantes à la surface et dans le contenu Intestinal des animaux marins (Holt J.G 1994)., *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus* sont souvent associés aux organismes présentant un exosquelette constitué de chitine tels que les crevettes, les crabes. *Vibrio parahaemolyticus* est très fréquemment isolé des mollusques marins et de poissons. Les niveaux de prévalence naturelle dans les poissons et fruits de mer est généralement faible (en dessous de 10³ par gramme) excepté dans les eaux habituellement chaudes dans lesquelles la densité de cette bactérie peut alors atteindre 10⁶ par gramme. (ICMSF1996).

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

Vibrio vulnificus est surtout isolé dans les huîtres dont le mode de nutrition par filtration contribue à concentrer la bactérie mais La bactérie a également été isolée de crabes, palourdes, poissons et plancton. (Oliver J.D1997). Alors que *Vibrio alginolyticus* était la plus souvent présente dans les sédiments et les crevettes (Bhaskar N 1998).

I_8 Facteurs de virulence et pathogénie :

8-1 *Vibrio cholerae* :

Il existe 2 formes :

8-1-1 *Le cas du choléra* :

Les vibrions cholériques, responsable du choléra, population constituée de souches appartenant à 2 sérogroupes – O1 et O139 – de l'espèce *V. cholerae*. Ces souches se sont adaptées à l'homme. Le pouvoir pathogène de la bactérie s'explique par la libération de la toxine cholérique analogue à celle de la toxine LT d'*E. coli* et des pili de la bactérie. La bactérie contamine les personnes saines par le biais des aliments contaminés (les poissons, les fruits de la mer, les fruits et légumes). Le choléra peut aussi résulter d'une contamination de personne à personne. La dose infectieuse déterminée expérimentalement est de l'ordre de 10⁸ à 10¹¹ bactéries. Elle est très sensible à l'acidité stomacale. Il a été démontré que lorsqu'on neutralise l'acidité stomacale par du bicarbonate de soude, la dose infectante est de l'ordre de 10⁴ à 10⁶ bactéries seulement. Les germes qui y échappent, arrivent au niveau du l'intestin grêle et se fixent à la partie proximale. Ils colonisent ainsi l'intestin grêle grâce à différents facteurs de pathogénicité comme la TCP (Toxin coregulated pilu), les différents hémagglutinine, les facteurs accessoires de colonisation. La toxine cholérique est produite lorsque la bactérie adhère à l'épithélium intestinal par des pili . La conséquence est le passage de l'eau et des électrolytes, des cellules vers la lumière intestinale, pouvant atteindre jusqu'à 15 litres par jour qui entraîne une déshydratation sévère et mortelle. Les selles ne sont jamais sanglantes sauf en cas d'association avec une autre pathologie comme une shigellose ce qui sous entendra que les agents responsables ne sont pas invasifs. Le choléra se manifeste ainsi par deS fortes diarrhées, des vomissements, des crampes, des yeux enfoncés dans les orbites donnant l'aspect au visage une allure cyanosée. On ne remarque toutes fois pas d'élévation de température. A côté de ces formes cliniques typiques, il existe de rares cas <<sec>> entraînant la mort par collapsus sans aucune manifestation de diarrhée.(Don J. Brenner2005 ;Quilici Marie-Laure.2011 ; Nair G.B. et Bartram J2001 ;Guegan Jean François . (2003-2006)).

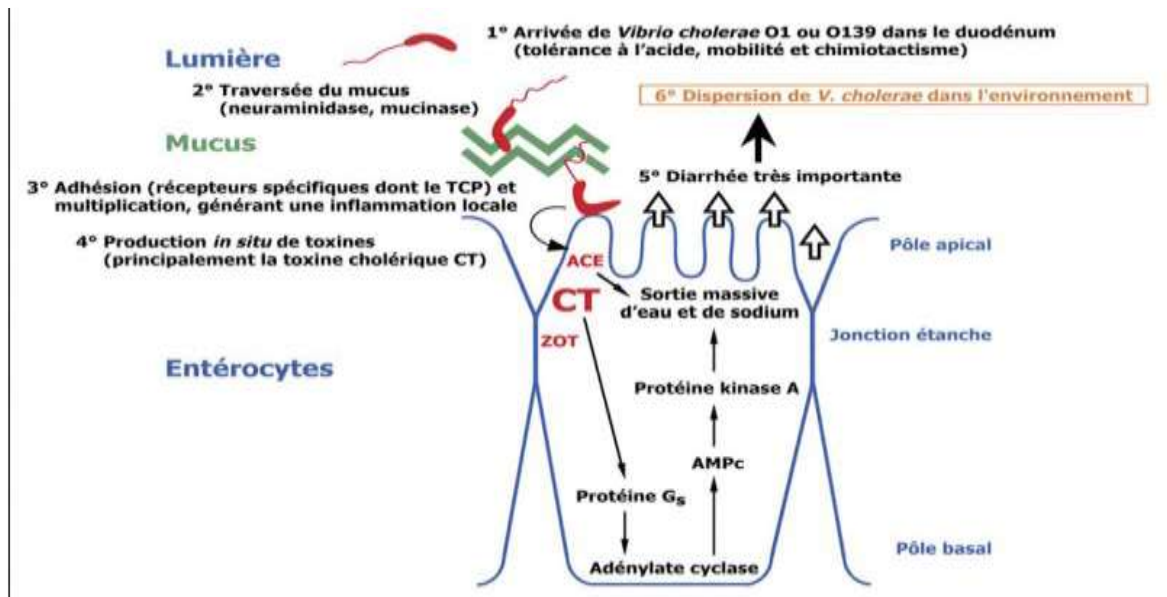


Figure 01 : etapes de la pathogenese de la vibrio cholerae.

8-1-2 Autres pathologies non cholérique :

D'autres souches de l'espèce *V. cholerae* appelées Non-O1 et Non-O139, interviennent dans certaines pathologies humaines. Des souches Non-O1, Non-O139 ont été isolées dans des cas de diarrhées, de septicémie (présence du pathogène dans le sang), des infections auriculaires et aussi dans certaines plaies. Les personnes saines sont contaminées par l'eau et les aliments contaminés. (-Dalsgaard A 2000)

Les facteurs de pathogénicité pour les souches Non-O1, Non-O139 sont actuellement mal définis mais il s'est avéré que ces souches ne possèdent pas le gène de la toxine cholérique ainsi que l'îlot de pathogénicité **CTXΦ**. Les souches Non-O1, Non-O139 ont une forte activité protéolytique, cytotoxique, entérotoxique non cholérique. L'activité entérotoxique intervient dans le cas des diarrhées non cholérique qui se caractérisent contrairement au choléra par une forte invasion et une lésion de l'épithélium intestinal. La diarrhée serait due à une forte sécrétion de facteur de colonisation qui induit une forte accumulation de fluide par un mécanisme actuellement mal connu. Ainsi les personnes atteintes de ce type de diarrhée ont des crampes ainsi qu'occasionnellement de la fièvre. Quant à la cytotoxicité et la protéolyse, elles interviennent principalement dans le cas de septicémie et les infections auriculaires. (Don J. Brenner 2005 ; Dalsgaard A 2000 ; Dibinost C 2004 ; Nicholas A. Daniels 2000). Ainsi les souches les plus retrouvées sont : *V. cholerae* O-10 ; O-19 ; O-15 ; O-152 ; O-26. (Dalsgaard A 2000)

8-2 *Vibrio.fluvialis* :

***Pathogénie :**

Les symptômes de la maladie entérique attribué à *v.fluvialis* sont similaire à ceux causés par *v.cholera*. (Huq, M.I 1980). Les patients souffrent généralement de diarrhée aqueuse avec des vomissements douleur abdominales déshydrations modère à sévère et souvent une fièvre une différence notable par rapport au cholera est la présence fréquente des selles sanglantes dans les infections à *v.fluvialis* . à partir de test d'immunosorbant lié à une enzyme, Chikahira et Hamada.(Chikahira, M1988; Wall, V.W 1984) ont rapporté que plusieurs souches de *v.fluvialis* isolés de sources environnementales et humaines produisaient une enterotoxine impossible à distinguer immunologiquement de la toxine cholérique. *V.fluvialis* produits plusieurs toxines pouvant jouer le rôle important dans la pathogénie notamment une substance de type enterotoxine lipase protéase cytotoxine et hémolysine.(Kothary, M.H 2003 ; Rahim, Z 1996 ; Wong, H.C 1992). Contrairement aux autres vibriospp qui causent couramment des infections extra-intestinales , *v.fluvialis* est uniquement associée à la gastro-entérite , de rares cas d'infection extra-intestinale tels que la cellulite hémorragique. (Huang, K.C 2005; Lee, J.Y 2008)

***Facteurs de virulence :**

Malgré de nombreuses recherches publiées pour élucider les facteurs de virulence de *V.fluvialis* qui sont responsables du processus inflammatoire de la maladie , très peu d'informations définitives ont été obtenues. Plusieurs facteurs de virulence ont été identifiés chez *v. fluvialis* mais la majorité d'entre eux ne sont que partiellement caractérisés et leurs rôles précis dans la virulence restent à connaître .

L'activité des endotoxines de *v.fluvialis* a été démontrée in vitro à l'aide de cellules CHO(ChineseHamsterOvary) . Lockwood et al (Lockwood, D.E 1982) ont signalé la présence d'au moins 4 substances biologiquement actives dans les surnageants de culture de la souche 5489 de *v.fluvialis* . le facteur d'élongation cellulaire CHO , le facteur de destruction cellulaire CHO (CKF)et la cytolyse active contre les érythrocytes de lapin ont été identifiés lors de la croissance de la bactérie . sanslincomycine

Enfin , la toxine de contournement des cellules CHO, connue pour être une protéase , a été découverte . la CKF était intériorisée et le mort cellulaire induite par une perturbation de la fonction cellulaire. (Wall, V.W 1984).

Parmi les nombreux facteurs de virulence produits à partir de *v.fluvialis* , l'hémolysine était considérée comme la plus haute importante .

8-3 *Vibrio. parahaemolyticus* :

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

8-4-*Vibrio.vulnificus* :

En 1981, Kreger et Lockwood ont été les premiers à décrire la production d'une toxine extracellulaire et thermolabile par *Vibrio Vulnificus*. (Oliver J.D 1997) . 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. (Oliver J.D 1989).

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

I_9 La voie de contamination des VIBRIOS et leur caractères cliniques :

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

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

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

9-1 *Vibrio.cholerae* :

a) Cas de cholera :

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

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

b) Cas de non cholera :

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

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

9-2 Vibrio. fluvialis :

les manifestations liées au *v. fluvialis* se caractérisent par une gastro-entérite, des nausées, une perte d'appétit, des vomissements, diarrhée sanguinolente, des crampes abdominales et une fièvre importante, déshydratation modérée à sévère, une hypokaliémie, une acidose métabolique occasionnellement un choc hypovolémique peuvent survenir en 4 à 12 heures si les pertes liquidiennes ne sont pas remplacées. Les selles sont incolores avec petites taches de mucus et contiennent de forte concentration de sodium, potassium chlorure et bicarbonate.

Et dans les infections de la plaie (cellulite) causée par inoculation directe de la bactérie dans la peau ou l'exposition d'une plaie à l'eau contaminée (Huang, K.C 2005). La bactérie et ses toxines associées provoquent rapidement une nécrose tissulaire locale associée à des bulles et des érosions hémorragiques. (Huang, K.C 2005).

9-3-Vibrio.parahaemolyticus :

il provoque des gastro-entérites, caractérisées par des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, des maux de tête et une fièvre modérée. Les symptômes persistent de trois à quatre jours. Ce 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. (Wong H. C 2000).

9-4- Vibrio.vulnificus :

: Trois types de symptômes cliniques peuvent être associés à cette espèce de vibrions(Lee C. C 1997) :

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

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

Chez poissons :

Tableau 6 : Les espèces de *Vibrio* pathogènes de poissons (Austin, B. and Austin, D.A 1999)

Agent pathogène	Référence	Espèces hôtes	Pathologies associées
<i>V. alginolyticus</i>	Colomi <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. ichthyenteri</i>	Kim <i>et al.</i> , 2004	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Nécroses du tractus digestif

I_10 Diagnostic :

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

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

I_11 Prophylaxie :

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

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

Dans le cas des produits de mer consommés crus ou insuffisamment cuits, le fait d'empêcher une multiplication des Vibrions entre le site de récolte et l'assiette du consommateur est un moyen efficace de prévention, facile à mettre en œuvre, notamment par le respect de la chaîne du froid. Nous proposons l'entreposage à basse température comme moyen de maîtrise des vibrions pathogènes dans les aliments. Toutefois, cette méthode n'est pas suffisamment fiable pour pouvoir être appliquée dans la pratique commerciale (N. Cohen, H. Karib, 2007)

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

La prévention passe également par la surveillance continue des zones aquacoles et 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 (N. Cohen, H. Karib, 2007).

La partie expérimentale

Matériel et Méthodes :

Matériel

1)- Matériel biologique :

Les produits utilisés pour la recherche des vibrions sont :

- Les moules (élevage et moulières naturelles), prélevées au niveau de différentes régions :
 - Ain tagourait ;
 - région ‘’tonique’’Bousmail ;



Photo01 : photo prise sur googlemaps de le region Tonique Bousmail

- la pêcherie de Tipaza.
- Un échantillon d'eau de mer a été prélevé également au niveau des mêmes sites.
- Les poissons (*Sparusaurata*) qui sont prélevés au niveau de la région de Ain tagourait.

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

2)-Matériel de laboratoire :

2-1- Equipements :

Etuves à 37°C

Portoirs

Bec Bensen

Anse de Platine

Pince

Bain Marie

Tubes à essais stériles

Flacons stériles

Lames et Lamelles

Pipettes pasteur

Microscope optique

Microscope numérique

Matériels et Méthodes

2-2- MILIEUX DE CULTURE

*Eau Péptonée Hyperalcaline

*Gélose Nutritive

*Gélose Nutritive Alcalinebillier –GNAB

*Bouillon nutritif

*Milieu Kligler-Hajna (KIA)

*Milieu Mannitol-Mobilité

*Milieu Citrate de Simmons

*Milieux moëler (Témoin, ODC, LDC, ADH)

*Eaux distillée stérile

*Milieu Urée –indole

*Huile de Vaseline

*Huile de paraffine

2-3- Réactifs

Réactif de Kovacs

Réactif VP I Alpha naphthol à 6%

Réactif VP II KOH à 40%

Nitrate réductase I acide sulfamilique (en solution à 8 o/ooen acide acétique 5N)

Nitrate réductase II Naphtylamine (en solution à 6 o/ooen acide acétique 5N)

Réactif TDA solution de per chlorure de fer

Méthode

1 -L'Echantillonnage

Tableau 7 : Un échantillonnage aléatoire de moules, poissons et d'eau de mer a été réalisé pendant un mois par saison du 12 août 2018 au 19 mai 2019.

Date d'échantillonnage	Site de prélèvement	Type de prélèvement	Nombre d'échantillon
12-08-2018	Fermed'élevageAintagourait	Les poissons (la dorade (Sparusaurata)) L'eau de mer	5 1
26-08-2018	Fermed'élevage Ain tagourait	Les moules Les poissons(Sparusaurata) L'eau de mer	20 5 1
23-09-2018	Région toniqueBousmail	Les moules L'eau de mer	20 1
09-12-2018	La pêcherie de Tipaza	Les moules	20
19-05-2019	La pêcherie deTipaza	Les moules	20

1- Les prélèvements :

Les prélèvements sont placés dans des sachets stériles et transportés dans une glacière le plus rapidement possible au laboratoire et analysés sans délai.



Photo 02 : les prélèvements de moules, de poissons et de l'eau de mer dans une glacière.

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

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

2- Protocole d'analyse microbiologique

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène wilaya de Tipaza.

L'analyse microbiologique est basée sur les techniques d'isolement et d'identification (aspect qualitatif).

3- Protocole pour la détection de *Vibrio.spp*

Nous avons adopté comme protocole d'analyse un protocole provisoire, rédigé en collaboration entre l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) de Boulogne sur- mer, l'Ecole Nationale de la Santé Publique (ENSP) à Rennes et le Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra (CNRVC) à l'Institut Pasteur à Paris. Ce protocole avait été rédigé à la demande de la Direction Générale de l'Alimentation, en

France, dans le but de normaliser les protocoles d'études et de recherche de *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* dans les produits de la mer entre les différents laboratoires vétérinaires de contrôle, dans l'attente de la publication d'une norme ISO pour la recherche des *Vibriosp.* Présumés pathogènes par voie digestive.

4-1- Les moules

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



Photo 03 : nettoyage et flamage des moules .

4-2- Les poissons

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

1^{er} jour :

Enrichissement :

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

- Incubation 24 h à 37°C.

2^{ème} jour :

2^{ème} enrichissement

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



Photo 04:ensemencement à partir d'un 2^{ème} enrichissement.

3^{ème} jour :

Lecture et isolement

- Isolement et observation des colonies bactériennes du milieu GNAB 1
- un autre ensemencement du 2^{ème} enrichissement est effectué sur un milieu GNAB 2

4^{ème} jour :

Identification bactérienne par :

- a) l'étude des caractères phénotypiques :
 - test d'oxydase
 - test de catalase
 - test de mobilité : observation à l'état frais par un microscope optique.

- Coloration de gram
- b) un repiquage des colonies dans les tubes suivants :
 - Tube ODC
 - Tube ADH
 - Tube LDC
 - TSI

Incubation à 37°C pendant 24h.

5^{ème} jour :

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

4-3- L'eau de mer :

1-Premier Enrichissement :

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

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



Photo 05 : premier ensemencement d'un échantillon de l'eau de mer.

2- Deuxième enrichissement et Isolement :

Ce flacon fera l'objet :

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

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

3- Lecture des boîtes et Identification :

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

4-Identification morphologique et biochimique :

- Etat frais (bacilles, mobilité),
- Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs),
- Oxydase (positive),
- Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C, 24 h
(Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S),
- Faire une mini galerie basée sur l'étude des acides aminés en vue de différencier entre les Vibrions, les Pleisiomonas et les Aéromonas selon le tableau suivant :

- **Tableau 8** :une mini galerie comparative

	LDC	ODC	ADH
Vibrions	+	+	-
Pleisiomonas	-	-	+
Aéromonas	+	+	+

- Confirmation biochimique Par la galerie API 20E

Les résultats

Les tests microbiologiques réalisés sur les 93 échantillons ont montré que 41 échantillons(40 échantillons de moules et un échantillon d'eau de mer) ont été contaminés par les bactéries du genre *vibrio*, soit une prévalence total de 44.08 %.

2 souches de *vibrio cholerea* ont été isolés à partir d'une vingtaine d'échantillons de moules pendant la saison automnale avec une prévalence de 21.5 % ,prélevés au niveau de la région tonique à Bousmail, et une souche de *vibrio Fluvialis* a été isolée à partir d'un échantillon d'eau de mer ramené de la même région avec une prévalence de 1.07%. Alors que pendant la saison hivernale nous avons isolé 3 souches de *vibrio Alginolyticus* avec une prévalence de 21.5 % à partir de 20 échantillons de moules qui ont été ramenés de la pêcherie de Tipaza.

Aucune contamination bactérienne par les *vibrio* n'a été détectée dans les échantillons de poissons.

Dans cette étude, nous avons pu isolés d'autres bactéries que *vibrio.spp* sur GNAB tel que : *les Enterobacter, Shwenella Putrefaciens , AeromonasSalmonicidae et les Pseudomonas Aerogenosa.*

Tableau 9 : un tableau d'echontillonnage

Saison	Echantillonnage	Bactéries isolées	Prévalence	Site de Prélèvements
Eté	10 poissons	Les enterobacter	20%	La ferme Ain tagourait
	20 les moules	Shwenella .putrefaciens	22.5%	
	2 flacons de l'eau de mer	/	/	
Automne	20 moules	- <i>v. cholerea</i> - <i>Aeromonas.</i> <i>Salmonicidae.</i>	21.5% 12.5 %	Tonic bousmail
	1 flacon de l'eau de mer	V. fluvialis	1.07%	
Hiver	20 moules	V. alginolyticus	21.5%	lapêcherie de Tipaza

Printemps	20 moules	Pseudomonas. aerogenosa	11.82%	lapêcherie de Tipaza
-----------	-----------	----------------------------	--------	----------------------

Tableau 10 : Caractères biochimiques des bactéries isolées sur milieu GNAB :

Les vibrions ont un aspect transparent sur milieu GNAB .

<i>Bacteries</i>	<i>Test d'oxydase</i>	<i>Coloration de gram</i>	<i>Test de catalase</i>	<i>Etat frais(mobilité)</i>
<i>v. cholerea</i>	+	-	+	+
<i>v.fluvialis</i>	+	-	+/-	+
<i>v.algenolyticus</i>	+	-	-	+

Tableau 11 :caractères biochimiques de *Vibrio Alginolyticus*

Résultats de la Galerie API 20 E		
Caractères biochimiques	Observation	Résultats
ONPG	Pas de changement de couleur (transparente)	-
ADH	Changement de couleur vers le jaune	-
LDC	Changement de couleur vers le rouge	+
ODC	Changement de couleur vers le jaune	-
CIT	Changement de couleur vers le jaune	-
H2S	Pas de Changement de couleur	-
URE	Changement de couleur vers le jaune	-
TDA	Pas de changement de couleur après l'ajout d'une goutte de réactif chlorure de fer II	-
IND	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif Kovacs	+
VP	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif VP1 et VP2	+
GEL	Pas de Changement de couleur	-
GLU	Changement de couleur vers le jaune	+

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

Tableau 12 :caractères biochimiques de *Vibrio Fluvialis*

Résultats de la Galerie API 20 E		
Caractères biochimiques	Observation	Résultats
ONPG	changement de couleur vers le jaune	+
ADH	Changement de couleur vers le rouge	+
LDC	Changement de couleur vers le jaune	+
ODC	Changement de couleur vers le jaune	-
CIT	Changement de couleur vers le vert	+
H2S	Pas de Changement de couleur	-
URE	Changement de couleur vers le jaune	-
TDA	Pas de changement de couleur après l'ajout d'une goutte de réactif chlorure de fer II	-
IND	Pas changement de couleur	-
VP	Pas changement de couleur	-
GEL	Changement de couleur vers le noir	+
GLU	Changement de couleur vers le jaune	+
MAN	Changement de couleur vers le jaune	+
INO	Changement de couleur vers le bleu	-
SOR	Changement de couleur vers le bleu	-
RHA	Changement de couleur vers le bleu	-

SAC	Changement de couleur vers le jaune	+
MEL	Changement de couleur vers le bleu	-
AMY	Changement de couleur vers le bleu	-
ARA	Changement de couleur vers le jaune	+

Tableau 13 : caractères biochimiques de *Vibrio Cholerea*

Résultats de la Galerie API 20 E		
Caractères biochimiques	Observation	Résultat s
ONPG	Changement de couleur vers le jaune	+
ADH	Pas Changement de couleur	-
LDC	Changement de couleur vers le rouge	+
ODC	Changement de couleur vers le jaune	+
CIT	Changement de couleur vers le jaune	+
H ₂ S	Pas de Changement de couleur	-
URE	Pas changement de couleur	-
TDA	Pas de changement de couleur après l'ajout d'une goutte de réactif chlorure de fer II	-
IND	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif Kovacs	+
VP	changement de couleur vers le rose après l'ajout d'une goutte de réactif VP1 et VP2	+
GEL	Changement de couleur vers le jaune	+
GLU	Changement de couleur vers le jaune	+
MAN	Changement de couleur vers le jaune	+
INO	changement de couleur vers le bleu	-
SOR	Changement de couleur vers le bleu	-
RHA	Changement de couleur vers le bleu	-
SAC	Changement de couleur vers le jaune	+
MEL	Changement de couleur vers le bleu	-

AMY	Changement de couleur vers le bleu	+/-
ARA	Changement de couleur vers le bleu	-

Tableau 14 : Les résultats de la mini galerie des vibriions

Bacterie	Temoin	ADH	LDC	ODC
V.Alginolyticus	Changement de couleur vers le jaune : témoin de bon déroulement de l'incubation	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat negatif -> Couleurjaune : pas de dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Ornithine Décarboxylase
V.Fluvialis	Changement de couleur vers le jaune : témoin de bon déroulement de l'incubation	Resultatpositif – couleur rouge:degradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat negatif-> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Ornithine Décarboxylase
V. cholerea	Changement de couleur vers le jaune : témoin de bon déroulement de l'incubation	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat positif-> Couleur rouge : dégradation de l'Arginine Di-hydrolase	Résultat négatif -> Couleur jaune : pas de dégradation de l'Ornithine Décarboxylase

Tableau 15 : Caractères biochimiques et microbiologiques des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB :

	Enterobacter	Shwenella. Putrefaciens	Aeromonas	Pseudomonas. aerogenosa
Oxydase	-	+	+	+
Coloration de Gram	-	-	-	-
Catalase	+/-	+/-	+	+
Etatfrais	+/-	+	+	+

Tableau 16 : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB

	Enterobacters	<i>Shwenella .putrefaciens</i>	<i>AeromonasSalmonid ae.</i>	<i>Pseudomonas. Aerogenosa</i>
ONPG	+	-	+	-
ADH	+	-	+	+
LDC	-	-	-	-
ODC	+	+	-	-
CIT	+	+	-	-
H2S	-	+	-	-
URE	+/-	-	-	+
TDA	-	-	-	-
IND	-	-	-	+
VP	-	-	-	-
GEL	-	+	-	+
GLU		-	+	+
MAN	+	-	+	+
INO	-	-	-	-
SOR	-	+	-	-
RHA	-	+/-	-	-
SAC	+	-	+	+
MEL	-	+/-	-	-
AMY	+	-	-	-
ARA	-	-	-	-

Tableau 17 : Les caractères biochimiques sur les acides aminés (mini galerie) des bactéries autres que vibrio isolées sur milieu GNAB

	Enertobacter	<i>Shwenella. putrefaciens</i>	<i>Aeromonas Salmonicidae.</i>	<i>Pseudomonas Aerogenosa</i>
ADH	+	-	+	+
LDC	-	-	-	-
ODC	+	+	-	-



Photo 06 : une boîte positive de vibriocholera .



Photo 07 : une galerie API20E de la bacterie V.Fluvialis



Photo 08 : une galegrie API20E d'une souche de vibrio.cholerae.

Discussion

Dans notre étude, trois espèces de vibrio pathogènes ont été isolées, à savoir *Vibrio cholerae*, *vibrio Fluvialis* et *vibrio Alginolyticus* avec une prévalence totale de 44.08%.

Deux souches de *Vibrio cholerae* et une souche de *vibrio Fluvialis* ont été isolées pendant la saison automnale en mois de septembre, cela pourrait être attribué à la pollution de la région de Bousmail par les déchets du groupe tonique ainsi qu'aux conditions favorables du milieu notamment l'augmentation de la température et de la salinité qui favorisent la multiplication et la transmission de ces germes.

Vibrio cholerae a été isolé juste après l'apparition de l'épidémie du choléra en Algérie, avec une prévalence de 1.07 %, en mois d'août, cela pourrait être expliqué par la contamination d'oued de Mazafron qui se verse directement dans l'eau de mer de Bousmail par les déchets et les selles des personnes malades.

Nos résultats sont en accord avec une étude antérieure menée au Maroc sur la Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca, *vibrio cholerae* a été isolé à partir des moules à une prévalence de 4% (N. Cohen 2007) et Plusieurs auteurs ont signalé la présence de *Vibrio cholerae* dans le milieu marin et estuarienne côtière au Côte d'Ivoire. (Traore Sylvain Gnamien 2012-2013)

Selon de nombreuses études, l'isolement de formes cultivables des vibrions paraît difficile pendant la saison hivernale, attribué aux conditions défavorables du milieu notamment la baisse de la température et de la salinité (la diminution de la salinité, suite aux fortes pluies) . (Janda J.M. 1987 ; Oliver J.D 1995; Thompson J.R 2004; Lhafi S.K 2007 ; Laurence Miossec 2002 ; Aubert M1966). Alors que, dans notre étude on a pu isolé *vibrio alginolyticus* pendant la saison hivernale à une prévalence de 21.5% chez les moules prélevées à Tipaza (la pêcherie); Cette situation pourrait être expliquée par une légère augmentation de la température en mois de décembre, ce qui a favorisé la croissance des vibrions en hiver.

Vibrio alginolyticus a été isolée aussi dans plusieurs pays ; En Algérie DIB A, 2008 (Dib Amira 2008), en France, durant 1999, et dans des produits de la mer importés de 9 pays (chine, équateur, inde, Iran, Madagascar, Sénégal, Tanzanie, Thaïlande et Viêt-Nam). (European commission 2001)

En ce qui concerne les autres bactéries isolées sur la gélose TCBS, la présence de ces bactéries dans les produits de la mer pourrait être expliquée par les rejets des eaux usées et les rivières qui se déversent directement dans l'eau de mer, mais n'exclut pas la contamination par les manipulateurs, les pêcheurs et les vendeurs des produits de mers.

CONCLUSION

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

Cette étude a montré la présence de vibrion dans les moules avec une prévalence de 43.01 % et 1.07 dans l'eau de mer. Ces résultats sont difficilement interprétables du fait du peu d'études consacrées à la problématique des *vibrio* dans les moules et l'eau de mer ainsi les autres espèces mais aussi de la méthode de détection sur milieu GNAB. Nos résultats justifient pleinement la nécessité d'utiliser un milieu chromogénique préconisé dans les normes actuelles.

RECOMMANDATIONS

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

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

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

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

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

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

Les references bibliographiques:

- 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.
 - 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.
 - Twedt R.M., "Vibrioparahaemolyticus", Doyle, M.P. (ed.) *Foodborne, Food Bacterial Pathogens*, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.
 - 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.
 - 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>.
 - 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.
 - 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.
- v.parahemo
- Twedt R.M., "Vibrio parahaemolyticus", Doyle, M.P. (ed.) *Foodborne, Food Bacterial Pathogens*, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.
 - 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.
 - 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.
 - 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.

-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.

-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.

- ICMSF., "Characteristics of Microbial Pathogens.London". ICMS (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Microorganisms in Foods Vol. 5 : Blackie Academic and Professional, (1996).

- 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.

- 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.

- ICMSF., "Characteristics of Microbial Pathogens.London". ICMS (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Microorganisms in Foods Vol. 5 : Blackie Academic and Professional, (1996).

-Twedt R.M., "Vibrio parahaemolyticus", Doyle, M.P. (ed.) Foodborne, Food Bacterial Pathogens, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.

- 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.

- 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.

- Oliver J.D., "Vibrio vulnificus, in Foodborne Food Bacterial Pathogens " , Doyle, M.P. (ed.), New York : Marcel Dekker, (1989), 569- 596.

- Zanetti, S., A. Deriu, L. Volterra, M. P. Falci, P. Mollicotti, G. Fadda, and I.Senchi., « Virulence factors in *Vibrio alginolyticus* strains isolated from aquatic environments". Ann. Ig, V 12, n° 6, (2000), 487-491.

- 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

-Twedt R.M., "Vibrioparahaemolyticus", Doyle, M.P. (ed.) Foodborne,

Food Bacterial Pathogens, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.

-HAOUCHINE M ; 1995. Ecologie et biologie de la reproduction de la moule *Mytilusgalloprovincialis* LMK au sein d'un écosystème lagunaire saumâtre le lac EL –MELLAH, thèse de magister. I.S.N. U.S.T.H.B, Alger; 56p.

-Igbinosa, E.O.; Obi, C.L.; Okoh, A.I. Occurrence of potentially pathogenic vibrios in the final effluents of a wastewater treatment facility in a rural community of the Eastern Cape Province of South Africa. *Res. Microbiol.* **2009**, *160*, 531-537.

- Donlan, R.M. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.* **2002**, *8*, 881-890.

- Schembri, M.A.; Givskov, M.; Klemm, P. An attractive surface: gram-negative bacterial biofilms. *Sci. STKE* **2002**, RE6.

- Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D.E.; Korber, D.R.; Lappin-Scott, H.M. Microbial biofilms. *Ann. Rev. Microbiol.* **1995**, *49*, 711-745.

- Watnick, P.; Kolter, R. Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 2675-2679.

- Albertson, N.H.; Nyström, T.; Kjelleberg, S. Macromolecular synthesis during recovery of the marine *Vibrio* sp. S14 from starvation. *J. Gen. Microbiol.* **1990**, *136*, 2201-2207.

- Östling, J.; Holmquist, L.; Flärdh, K.B.; Svenblad, A.; Jouper-Jaan, A.; Kjelleberg, S. Starvation and recovery of *Vibrio*. In *Starvation in Bacteria*; Kjelleberg, S., Ed.; Plenum Press: New York, NY, USA, 1993; pp. 103-127.

- 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).

- ICMSF., "Characteristics of Microbial Pathogens.London". ICMS (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). *Microorganisms in Foods Vol. 5* : Blackie Academic and Professional, (1996).

- 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).

- 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.

- 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.

- Don J. Brenner ,James T. Staley , David R. Boone , Garrity George , Vos De Paul.(2005 .Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology,) , The Protéobacterie, 2 eme Ed, Volume 2, New YORK: SPRINGER-VERLAG ,p. 491-510.
- Quilici Marie-Laure.(2011).Le Diagnostic Bactériologique su cholera , Revue Francophone des Laboratoires , Institut Pasteur, Paris-France, N°431..
- Nair G.B. et Bartram J..(2001 . *Vibrio cholerae* .).National Institute of cholera and Enteric Diseases, Calcuta –India ,p. 119-122
- Guegan Jean François. (2003-2006) .Quantification des risques d'émergence d'épidémies à choléra dans le bassin méditerranéen en relation avec le changement climatique.Centre National De la Recherche Scientifique , Rapport du Ministère Français de l'écologie et du développement durable, Montpellier-France,p. 2-13
- Dalsgaard A. ,Forslund A. , Hesselberg A. , Bruun B. .(200), .Clinical manifestation and Characterization of extra-intestinal *Vibrio cholerae* non O-1 ,non O-139 infections in DANMARK ,European Society of clinical Microbiology and Infectious Diseases, Vol 6, N°11
- DibinostC. ,Saka H.A , Aliendro O. , Sola C. , Panzetta-Duttari G. , Carranzap. , EcheniqueJ. ,Patrito E. , Bocco J.L..(2004).Virulence factors of non-O1 non O-139 *Vibrio cholerae* in Córdoba, Revista Argentina de Microbiologia,Argentina ,p. 162-163
- Nicholas A. Daniels ,Alireza Shafaie. (2000).A Review of Pathogenic *Vibrio* Infections for Clinicians, Cliggott, San-Francisco-USA,p.2-3
- Huq, M.I.; Alam, A.K.M.J.; Brenner, D.J.; Morris, G.K. Isolation of vibrio-like group EF-6, from patients with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 1980,11, 621-624.
- Wall, V.W.; Kreger, A.S.; Richardson, S.H. Production and partial characterization of a *Vibrio fluvialis* cytotoxin. *Infect. Immun.* 1984, 46, 773-777.
- Chikahira, M.; Hamada, K. Enterotoxigenic substance and other toxins produced by *Vibrio fluvialis* and *Vibrio furnissii*. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1988, 50, 865- 873.
- Kothary, M.H.; Lowman, H.; McCardell, B.A.; Tall, B.D. Purification and characterization of enterotoxigenic El Tor-like hemolysin produced by *Vibrio Fluvialis*. *Infect. Immun.* **2003**, 71, 3213-3220.
- Rahim, Z.; Aziz, K.M.S. Factors affecting production of haemolysin by strains of *Vibrio fluvialis*. *J. Diarrhoeal Dis. Res.* **1996**, 14, 113-116.
- Wong, H.C.; Ting, S.H.; Shieh, W.R. Incidence of toxigenic vibrios in foods available in Taiwan. *J. Appl. Bacteriol.* **1992**, 73, 197-202.
- Huang, K.C.; Hsu, R.W. *Vibrio fluvialis* hemorrhagic cellulitis and cerebritis. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, 40, e75-e77.
- Lee, J.Y.; Park, J.S.; Oh, S.H.; Kim, H.R.; Lee, J.N.; Shin, J.H. Acute infectious peritonitis caused by *Vibrio fluvialis*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2008**, 62, 216-218.

- Lockwood, D.E.; Kreger, A.S.; Richardson, S.H. Detection of toxins produced by *Vibrio fluvialis*. *Infect. Immun.* **1982**, *35*, 702-708.
- M. P. Malle , (2009); » *Vibrio parahaemolyticus*. », afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), Rédaction : M. P. Malle, septembre 2009, Coordination scientifique : R. Lailler
- Oliver J.D., "*Vibrio vulnificus* ,in Foodborne Food Bacterial Pathogens " , Doyle, M.P. (ed.), New York : Marcel Dekker, (1989), 569- 596.
- West P.A., "The human pathogenic vibrios-a public health update with environmental perspectives". *Epidemiol. Infect.*, V. 103, n° 1, (1989), 1-34.
- DePaola, A., "Vibrio cholerae in marine foods and environmental waters: a literature review". *J. Food. Science*, V.46, n° 1, (1981), 66-70.
- Huang, K.C.; Hsu, R.W. *Vibrio fluvialis* hemorrhagic cellulitis and cerebritis. *Clin. Infect. Dis.* 2005,*40*, e75-e77.
- Wong H. C., Liu S. H., Ku L. W., Lee I. Y., Wang T. K., Lee Y. S., Lee C.L., Kuo L. P., Shih D. Y., "Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates obtained from foodborne illness outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan". *J. Food Prot* , V.63, n°7, (2000), 900-906.
- 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.
- Austin, B. and Austin, D.A; "Bacterial fish pathogens: disease farmed and wild fish", Vol Praxis publishing, springer, London, (1999), 457.
- 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).
- 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)
- Traore Sylvain Gnamien., « Risques de contraction des affections a vibriosp. et paragonimussp. lies à la consommation des crabes et des crevettes vendus sur les marchés d'abidjan et de dabou »; Université Nangui Abrogoua UFR des Sciences et Technologies des Aliments ; (2012-2013).
- 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.
- 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.

- 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.
- 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 *Vibriocommunity*". *Appl. environ. Microbiol.*, V.70, n° 7, (2004), 4103-4110.
- 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.
- Laurence Miossec ; « Les vibrions pathogènes pour l'homme : le risque associé au milieu marin en France »; *Ifremer*, (septembre 2002), 21-22.
- 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.
- 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).
- 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.