

République Algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche

Scientifique



UNIVERSITE SAAD DAHLEB-BLIDA I

Institut des sciences vétérinaire

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Contribution à l'étude de la contamination des produits de mer par les vibrio pathogène

Présenté par:

EssidNour el houda

Devant le jury :

Président(e) : LaadjelThinhinane MAB ISV BLIDA

Examineur : RazaliKahina MAB ISV BLIDA

Promotrice : Arab Sonia MAB ISV BLIDA

Année universitaire:2017/2018

Remerciements

-Je remercie tout d'abord DIEU le tout puissant de m'avoir donné la volonté, le

Courage et la patience pour réaliser ce travail.

-Mes chers parents et mon frère pour leurs encouragements et leurs

Sacrifices durant incessants, leur confiance et leur patience, lors des

-Moments les plus difficiles, nous leur exprimons notre sincère gratitude.

- Mes vifs remerciements s'adressent à ma promotrice Mme ARABE SONIA pour son

Aide et ces orientations

-Mon Co promoteur Mr MEZIANE Nouredine Dr Vétérinaire au CNRDPA,

Pour son aide, pour avoir mis à notre disposition les prélèvements, tout au

Long de notre travail

-Je tiens à remercier Mme Shegrani Aicha, Mme Djida Fatima Zohra et Mme

Rabhi Amina ainsi tout le travailleurs de laboratoire de CNRDPA

(Meriem, Amina, Hamida) pour leur aide et leur soutien.

-Mes remerciements Mr TEFAHI Djamel du laboratoire d'hygiène de Blida,

D'avoir mis à notre disposition le matériel adéquat et pour ses encouragements

out au long de la réalisation de ce présent travail.

Je dédie ce travail à:

- *Mon cher et compréhensif père pour son assistance et encouragements, et son aide*

durant toutes mes études.

- *La chandelle de ma vie et source de l'amour, ma chère mère.*

- *À mon frère Aymen.*

- *À Mon grand père (Essid Mustapha) et ma grande mère (Djilali Zohra) J'espère*

Que Dieu les accueillera dans son grand paradis

- *À ma grande mère (Houtzineb), Je lui souhaite une longue vie*

- *À toute ma famille paternelle (Essid) et maternel (Bousbici).*

- *À mes chers amis :*

Yousra, Lila, Hafsa, Thelili, Zhor, Abir, Zineb, Ihcen, Ikram, Chaima, Imen,

Ahmed, Mourad, Islem, Fethi, Djemel, Mohamed.

Résumé

Les produits de la pêches constituent un risque majeur de toxi-infection alimentaires et de maladies liées aux espèces de vibrio dont les répercussions peuvent parfois devenir graves et mortelles pour le consommateur.

L'incidence réelle des maladies provoquées par la consommation des produits de la mer est inconnue en Algérie. Ainsi l'absence de système de surveillance et de contrôle peut favoriser l'apparition de nombreuses pathologies chez l'homme, engendrant un réel problème de santé publique.

Au total 45 échantillons (30 poissons et 15 moules) ont été prélevés pour faire des analyses microbiologiques. Les résultats obtenus ne montrent aucune contamination par les *vibrio*.

Nous avons pu isolés des bactéries autres que vibriospp sur TCBS tels que : *Proteus Vulgaris*, *AeromonasHydrophila*,*CitrobacterBraakii*, *Pseudomonas Aerogenosa*, *CitrobacterFrundii*, *Pseudomonas Fluorescens/Putida*, *Proteus Mirabilis*, *PasteurellaPneumotropica*, *Pasteurella Multocida* 2,*BurkholderiaCapacia*, *Escherichia Coli*, *MyroidesChryseobacte*, *EnterobacterAsburiae*

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

Abstract

Fish products constitute a major risk of food poisoning and diseases related to vibrio Species, the repercussions of which can sometimes become serious and lethal to the Consumer.

The actual incidence of diseases caused by the consumption of seafood is unknown in Algeria. Thus, the absence of a surveillance and control system can favor the appearance of numerous pathologies in humans, causing a real public health problem.

A total of 45 samples (30 fish and 15 mussels) were collected for microbiological analysis. The results obtained show no contamination by vibrio.

We isolated bacteria other than TCBS vibrio such as: *Proteus Vulgaris*, *Aeromonas Hydrophila*, *Citrobacter Braakii*, *Pseudomonas Aerogenosa*, *Citrobacter Frundii*, *Pseudomonas Fluorescens / Putida*, *Proteus Mirabilis*, *Pasteurella Pneumotropica*, *Pasteurella Multocida 2*, *Burkholderia Capacia*, *Escherichia Coli* In fact, the diversity Of these bacterial species demonstrates the importance of this type of study in Aquaculture environments, in order to evaluate the health risk related to the handling Or consumption of these raw or frozen products poorly cooked.

ملخص

تشكلت لمنتجات السمكية خطر رئيسي للتسمم الغذائي الأمر اضالمر تبطة بأنواع الضمة التي يمكن أن تصبحوا قبيها خطير ة مميتة في بعض الأحيان . انبالنسبة للمستهلك .

وبالتالي فإن نظام المراقبة يمكن أن يؤدي إلى ظهور العديد من الأمراض في الإنسان مما يولد مشكلة صحية عامة حقيقية . وقد بلغ مجموع العينات 45 عينة (30 سمكة و 15 بلحجر) . تظهر النتائج التي تم الحصول عليها عدم وجود تلوث من قبل الضمة .

وقد تمكنا من عزل نوع آخر من البكتيريا غير الضمة على TCBS:

الزائفة الزنجارية , الزائفة المتألقة الكريهة , الليمونية البراكية , الليمونية الفروندية , المتقلبة الرائعة , المتقلبة العادية , الايرومونات الهيدرو فيلية , الباستوريل الرئوية والباستوريل القاتلة .

في الواقع يبدو ضحتنوا عهدا لأنواع البكتيرية أهمية هذا النوع من الدر اسات في بيئات تربية الأحياء المائية، من أجل تقييم المخاطر الصحية المتعلقة بتعاملمعاً واستهلاكها لمنتجات الخما النيئة او الغير مطبوخة جيداً .

Sommaire

Résumé.....	
Abstract	
ملخص.....	
Liste d'abréviation.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des figures	
Introduction.....	01
Chapitre I :L'aquaculture en Algérie	02
I-1 Historique.....	02
I-2Les déferents types d'élevages en Algérie.....	04
I-3Les activités d'aquaculture en Algérie.....	04
I-3-1 Pisciculture marine et conchyliculture.....	05
I-3-2Aquaculture sub-littorale.....	05
I-3-3 Pisciculture continentale	06
I-3-4 Pisciculture saharienne.....	06
I-4 Distribution et caractéristiques des systèmes d'élevage.....	06
Chapitre II : La bactérie Vibrio.....	08
II-1 Historique	08
II-2 Taxonomie	10
II-3 Les caractéristiques morphologiques.....	11
II-4 Les Caractéristiques biologiques	11
II-5 Variétés des espèces du genre Vibrio pathogènes a l'homme	12
II-5-1 <i>Vibrio cholerae</i>	12
II-5-3 <i>Vibriovulnificus</i>	13
II-6 Ecologie et facteurs de développement	14
II-6-1 <i>Vibrio cholerae</i>	14

II-6-2 <i>Vibrioparahaemolyticus</i>	15
II-6-3 <i>Vibriovulnificus</i>	15
II-6-4 <i>Vibrioalginolyticus</i>	16
II-7 Réservoirs	16
II-7-1 L'Homme	16
II-7-2 L'environnement	17
II-7-3 Les animaux	17
II-8 Facteurs de virulence et pathogénie	18
II-8-1 <i>Vibrio cholerae</i>	18
II-8-2 <i>Vibrioparahaemolyticus</i>	19
II-8-3 <i>Vibriovulnificus</i>	19
II-8-4 <i>Vibrioalginolyticus</i>	20
II-9 Caractéristiques cliniques et la voie de contamination des vibrions	20
II-9-1 <i>Vibrio cholerae</i> 01	21
II-9-2 <i>Vibrio cholerae</i> non 01	21
II-9-3 <i>Vibrioparahaemolyticus</i>	22
II-9-4 <i>Vibriovulnificus</i>	22
II-9-5 <i>Vibrioalginolyticus</i>	23
II-10 Diagnostique des vibrio	23
II-11 Prophylaxie	23
Chapitre III : Partie expérimentale.....	25
III-1 Matériels et méthodes	25
III-1-1 Matériel biologique	25
III-1-2 Matériel de laboratoire	25
III-1-3 Site d'étude	26
III-1-3-1 Bous Imail.....	26
III-1-3-2 Gouraya.....	27

III-1-3-3 Benihawa.....	28
III-1-3-4 Cap Djnet.....	29
III-1-4-L'Echantillonnage	30
III-1-5 Les prélèvements	31
III-1-6 Protocole d'analyse microbiologique	32
III-1-7 Protocole pour la détection de Vibriospp	32
III-1-7-1 moules	32
III-1-7-2 poissons.....	32
III-2 Résultats	34
III-2-1 Caractères bactériologique et biochimiques des bactéries isolées sur milieuTCBS.....	34
III-3 Discussion	37
Conclusion	39
Recommandations	40
Références bibliographiques	41
Annexes	46

Liste des abréviations

NAG : Non Agglutinating Vibrio

NCV : Non Cholera Vibrio

NaCl : Chlorure de sodium

TCBS: Thiosulfate-Citrate-Bile Salt-sucrose agar

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

TDH: Thermostable Direct Hemolysin

TRH: TDH-Related Hemolysin

CT : Toxine cholérique

EPA : Eau Péptonée Alcaline

GNAB : Gélose Nutritive Alcaline Biliée

LDC : lysine décarboxylase

ADH : arginine dihydrolase

Aw : Activité de l'eau

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

ONDPA : Office National de Développement et de protection Aquacole

CNRVC : Centre National de Référence des vibrions et du Choléra

Liste des tableaux

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

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

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

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

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

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

Tableau III-2 Les caractères microbiologiques des bactéries autres que *vibrio* isolées sur milieu TCBS.

Tableau III-3 : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que *vibrio* isolées sur milieu TCBS.

Tableau III-4 : Les caractères biochimiques sur les acides aminés (mini galerie) des bactéries autres que *vibrio* isolées sur milieu TCBS.

Liste des figures

Figure I-5 : Schéma national des sept pôles d'activités économiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie.

Figure III-1: Image satellitaire montrant le positionnement de la ferme (SARL E .A.M) a Ain taghoureitBousmail.

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

Figure III-3 : Image satellitaire montrant le positionnement de commune de Gouraya.

Figure III-4: Image satellitaire montrant le positionnement de commune d'oued Goussine).

Figure III-5 :Image satellitaire montrant le positionnement de commune de Cap Djinet.

INTRODUCTION

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

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

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

Une partie bibliographique qui synthétise des généralités sur l'aquaculture en Algérie et les données relatives aux espèces de vibrios et une partie pratique qui a pour objectifs dans un premier temps de rechercher la présence des vibrios chez les poissons (Daurade, loup de mer, pajot et bacora) et les moules (*Mytilus galloprovincialis*), prélevées au niveau des régions de Bousmail, Cap Djinet, Beni Hawa et Gouraya, et d'identifier les souches isolées et dans un deuxième temps d'identifier et de caractériser d'autres bactéries isolées sur milieu TCBS.

Chapitre I: L'aquaculture en Algérie

I.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):

- 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 (Karali Amine et Chikh F elle 2007).

- ❖ 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 conchyliques.
- ❖ 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 réservoirs 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).

I.2.1. Les différents types d'élevages en Algérie :

Il existe différents types d'élevages selon les espèces envisageables en Algérie (Karali Amine et Chikh F elle 2007) :

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...

I.2.2. 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 (Anonyme 5. 2003-2007).

I.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 (Anonyme 5. 2003-2007).

I.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 type intensifs et semi intensifs (Anonyme 5. 2003-2007).

I.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 mullets, 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 (Anonyme 5. 2003-2007).

I.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. (Anonyme 5. 2003-2007).

I.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).

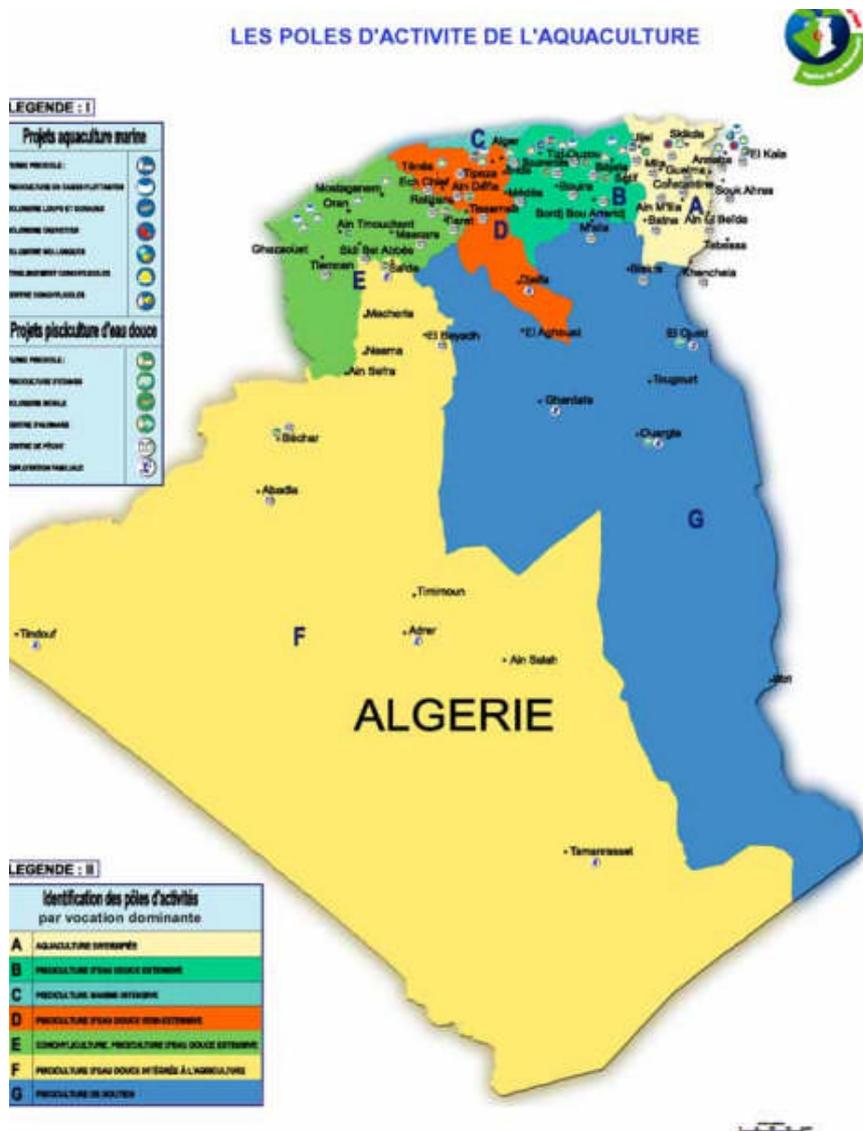


Figure.1.5 : Schéma national des sept pôles d'activités économiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie [21].

Chapitre II : La bactérie Vibrio

II-1 Historique :

Historiquement, le rôle des vibrions en pathologie humaine a été reconnu en raison du fait que l'un d'entre eux, *Vibrio cholerae*, est à l'origine d'un des fléaux de l'Humanité depuis les temps anciens, le choléra, qui reste une maladie d'importance mondiale. Elle a été reconnue en 1817 lorsqu'elle s'est étendue depuis le sub-continent indien au Moyen-Orient et à l'est de l'Afrique jusqu'en 1823. La deuxième pandémie envahit, de 1829 à 1851, l'Asie, le Moyen-Orient, l'Europe, l'Afrique et l'Amérique du Nord. La troisième pandémie qui s'est déroulée de 1852 à 1859, outre les régions déjà touchées, 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 : *Vibrioparahaemolyticus* 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 *Vibrioparahaemolyticus* ou appelé vibrion 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 *Beneckeia* 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 *Vibriovulnificus*.

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

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

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

II-2 Taxonomie :

Les bactéries du genre *Vibrio* font partie de la famille des Vibrionaceae, de la classe des 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'autres qui ne sont pas, mais peuvent l'être pour les poissons (*Vibrio anguillarum*) ou les crevettes (*Vibriopenaeicida*). Seuls les vibrions cholériques sont adaptés à l'Homme. Les autres espèces sont des bactéries ayant pour habitat principal le milieu marin et plus particulièrement les eaux côtières et estuariennes, elles sont retrouvées également à la surface et dans le contenu intestinal des animaux marins (Fournier et Quilici, 2002).

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

Espèces considérées comme pathogènes pour l'Homme	Autres espèces	
Espèces fréquemment isolées : <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrioparahaemolyticus</i> <i>Vibriovulnificus</i> <i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>V. aerogenes</i> <i>V. aestuarianus</i> <i>V. albensis</i> <i>V. anguillarum</i> <i>V. campbellii</i> <i>V. costicola</i>	<i>V. navarrensis</i> <i>V. nereis</i> <i>V. nigripulchritudo</i> <i>V. ordalii</i> <i>V. orientalis</i> <i>V. pectenecida</i>
Espèces rarement isolées :	<i>V. cyclitrophicus</i> <i>V. diabolicus</i>	<i>V. pelagius</i> <i>V. penaeicida</i>

Vibrio fluvialis	V. diazotrophicus	V. proteolyticus
Vibrio hollisae	V. fischeri	V. rumoiensis
Vibrio mimicus	V. gazogenes	V. salmonicida
Espèces dont la pathogénicité est douteuse :	V. halioticoli	V. scophthalmi
Vibriocarchariae	V. harveyi	V. splendidus
Vibriocincinnatiensis	V. ichthyoenteri	V. succinogenes
Vibriodamselae	V. iliopiscarius	V. tapetis
Vibriofurnissii	V. logei	V. trachuri
Vibriometschnikovii	V. marinus	V. tubiashii
	V. mediterranei	V. viscosus
	V. mytili	V. wodanis
	V. natriegens	

II-3 Les caractéristiques morphologiques :

Les Vibrio sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 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 *Vibrioparahaemolyticus*. *Vibrio cholerae* présente un flagelle « engainé » dans la paroi caractéristique (Twedt R.M, 1989).

II-4 Les Caractéristiques biologiques :

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

Les solutions ioniques stimulent la croissance de toutes les espèces et sont absolument indispensables pour la plupart des espèces. Ainsi les dix espèces de *Vibrio* connues pour causer des gastro-entérites peuvent être classées en cinq sous-groupes sur la base de sept tests et l'absence de croissance dans un milieu

contenant 0% de NaCl permet de différencier les huit espèces halophiles du groupe comprenant *Vibrio cholerae* et *Vibriomimicus* (Holt et al, 1994).

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

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

II-5-1 *Vibrio cholerae* :

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

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

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

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

épidémie ne signifiait pas obligatoirement l'arrivée d'une nouvelle souche (Rudra S et al, 1996).

II-5-2 *Vibrioparahaemolyticus* :

En 1965, une remarque importante concernant la distinction des souches pathogènes de *Vibrioparahaemolyticus* 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 ont complété une étude réalisée par HONDA T et al, 1988 qui avait mis en évidence une autre hémolysine thermostable, appelée TDH-apparentée (TRH) décrite pour des souches de *Vibrioparahaemolyticus* négatives au phénomène Kanagawa. Elle est connue pour jouer un rôle important dans l'origine des diarrhées. Les gènes TDH et TRH de ces deux hémolysines sont aujourd'hui connus et considérés comme d'importants gènes de virulence (HONDA T et al, 1988).

II-5-3 *Vibriovulnificus*

Concernant *Vibriovulnificus*, trois bio-groupes sont distingués. Le biotype 1 a été décrit à l'origine comme étant un *Vibrio* « lactose-positif » ; Une étude récente a mis en évidence qu'environ 85% des souches cliniques associées à des cas de maladies humaines étaient « lactose-positives » (Oliver J.D., Kaper J.B 1997).

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

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

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

II-6 Ecologie et facteurs de développement :

II-6-1 *Vibrio cholerae* :

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

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

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

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

II-6-2 *Vibrioparahaemolyticus* :

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

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

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

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

II-6-3 *Vibriovulnificus* :

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

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

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

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

II-6-4 *Vibrioalginolyticus* :

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

II-7 Réservoirs :

II-7-1 L'Homme :

Vibrio cholerae est sans doute, depuis son origine, un habitant des eaux douces et saumâtres. Grâce à l'acquisition des gènes de la toxine cholérique et d'autres facteurs de pathogénicité, des isolats appartenant au séro groupe 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 *Vibrioparahaemolyticus* 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 *Vibriovulnificus*, l'homme n'est pas porteur sain de la bactérie, elle n'est d'ailleurs que très rarement isolée des selles des patients et le plus souvent, elle est détectée dans le sang (Twedt R.M., 1989).

II-7-2 L'environnement :

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

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

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

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

II-7-3 Les animaux :

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

Vibrio cholerae et *Vibrioparahaemolyticus* sont souvent associés aux organismes présentant un exosquelette constitué de chitine tels que les crevettes, les crabes. *Vibrioparahaemolyticus* 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 (ICMSF, 1996).

La prévalence de *Vibrioparahaemolyticus* 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).

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

II-8 Facteurs de virulence et pathogénie :

II-8-1 *Vibrio cholerae* :

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

La toxine CT est composée de deux sous-unités, A ou H, 28 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 (Anonyme 12, 20/10/2014).

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

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

II-8-2 *Vibrioparahaemolyticus*:

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

II-8-3 *Vibriovulnificus* :

En 1981, Kreger et Lockwood ont été les premiers à décrire la production d'une toxine extracellulaire et thermolabile par *VibrioVulnificus* (Oliver J.D., Kaper J.B., 1997). Elle possède une activité cytolytique sur des érythrocytes de mammifères, une activité cytotoxique sur des cellules d'ovaires de Hamster chinois et elle est létale pour la souris. Cette hémolysine est produite par toutes les souches de *V. vulnificus*, qu'elles soient d'origine humaine, alimentaire ou environnementale, ce qui constitue une différence avec *vibrioparahaemolyticus*. D'autres substances produites

par *V. vulnificus* et pouvant jouer un rôle dans la virulence de cette bactérie incluent des protéases, des élastases, collagénases, ADNases, lipase... Toutes possèdent une activité hémagglutinante et peuvent adhérer aux cellules épithélio-buccales humaines (Oliver J.D., 1989).

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

II-8-4 *Vibrioalginolyticus* :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

II-9-2 *Vibrio cholerae* non O1 : Il est responsable de gastro-entérites. Les symptômes les plus fréquents sont des diarrhées, parfois sanglantes, accompagnées

occasionnellement de vomissements et de crampes abdominales. La durée des symptômes est de un à deux jours. Des cas d'otites ou d'infections de blessures sont également signalés. Des septicémies ont été observées mais surtout chez des individus immunodéprimés, atteints de cirrhoses par exemple.

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

II-9-3 *Vibrioparahaemolyticus* : 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 *vibrioparahaemolyticus* est alimentaire, principalement dû aux produits de la mer (Wong H. C., al, 2000).

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

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

La consommation des produits de la mer (huîtres, crabes, anguilles) est la source de contamination la plus courante. Les personnes à risque sont celles souffrant de

désordres hépatiques (alcoolisme ou surcharge en fer), le taux de mortalité peut atteindre 24 %. Ces infections sont observées en été et au début d'automne (Lee C. C., 1997).

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

II-10 Diagnostique des vibrio :

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

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

II-11 Prophylaxie :

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

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

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

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

La prévention passe également par la surveillance continue des zones aquacoles et 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).

Chapitre III : Partie expérimental

III-1 Matériels et méthodes :

III-1-1 Matériel biologique :

Les produits utilisés pour la recherche des germes pathogènes sont :

- -les poissons : Daurade, loup de mer, pajot et bacora (d'élevage et sauvage), prélevées au niveau deux régions :
 - Bousmail(La SARL E.A.M, le vivier)
 - Cap Djinet.
- - les moules (d'élevage et sauvage), prélevées au niveau de trois régions :
 - Bousmail(La SARL E.A.M, Sauvage)
 - Beni Hawa(LA SARL EL MOKRETARE)
 - Gouraya.

III-1-2 Matériel de laboratoire :

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

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

- **Réactifs :**
 - L'eau péptonée alcaline (EPA) à 2% Na cl
 - la gélose nutritive alcaline (GNA) à 2 % de Na Cl
 - milieu TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose)

- L'eau physiologique
- Galerie api 20 E
- Disques d'oxydases
- Test LDC, ADH

III-1-3 Site d'étude :

III-1-3-1 Bou Ismail :

-La **SARL E.A.M** : est un site aquacole de poissons (le loup de mer (*Discentrarcus labrax*) et la daurade royale (*Sparus aurata*)) et de fruits de mer (moules et huîtres), qui se situe à Ain Tagourait au Nord-est de la wilaya de Tipaza, environ 15 Km à l'Est de Tipaza à proximité de la RN n°11.

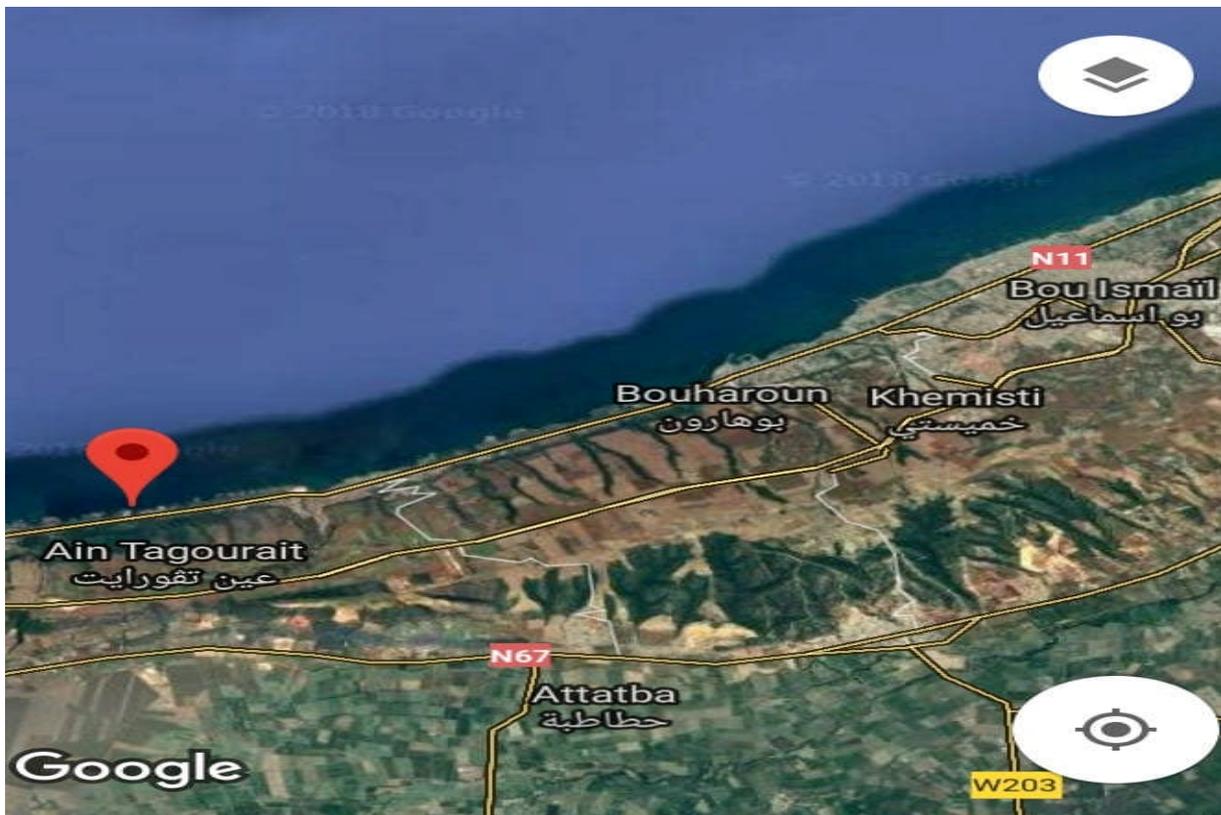


Figure III-1 : Image satellitaire montrant le positionnement de la ferme (SARL

E .A.M) a Ain taghoureitBousmail

-**Le vivier** : Il existe sur un certains nombres de rochers de la côte de la baie de Bou-Ismaïl des moulières dont l'importance ne constitue pas un grand intérêt, il s'agit des moulières du Vivier (rivage du centre conchylicole) constituées par l'espèce

Mytilus galloprovincialis, à proximité du Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et l'Aquaculture (CNRDPA).



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

III-1-3-2 Gouraya : est une petite ville côtière qui se situe à l'ouest de la wilaya de Tipaza, à 28 km de Cherchell, environ 60 km du chef-lieu de wilaya sur la route nationale11.

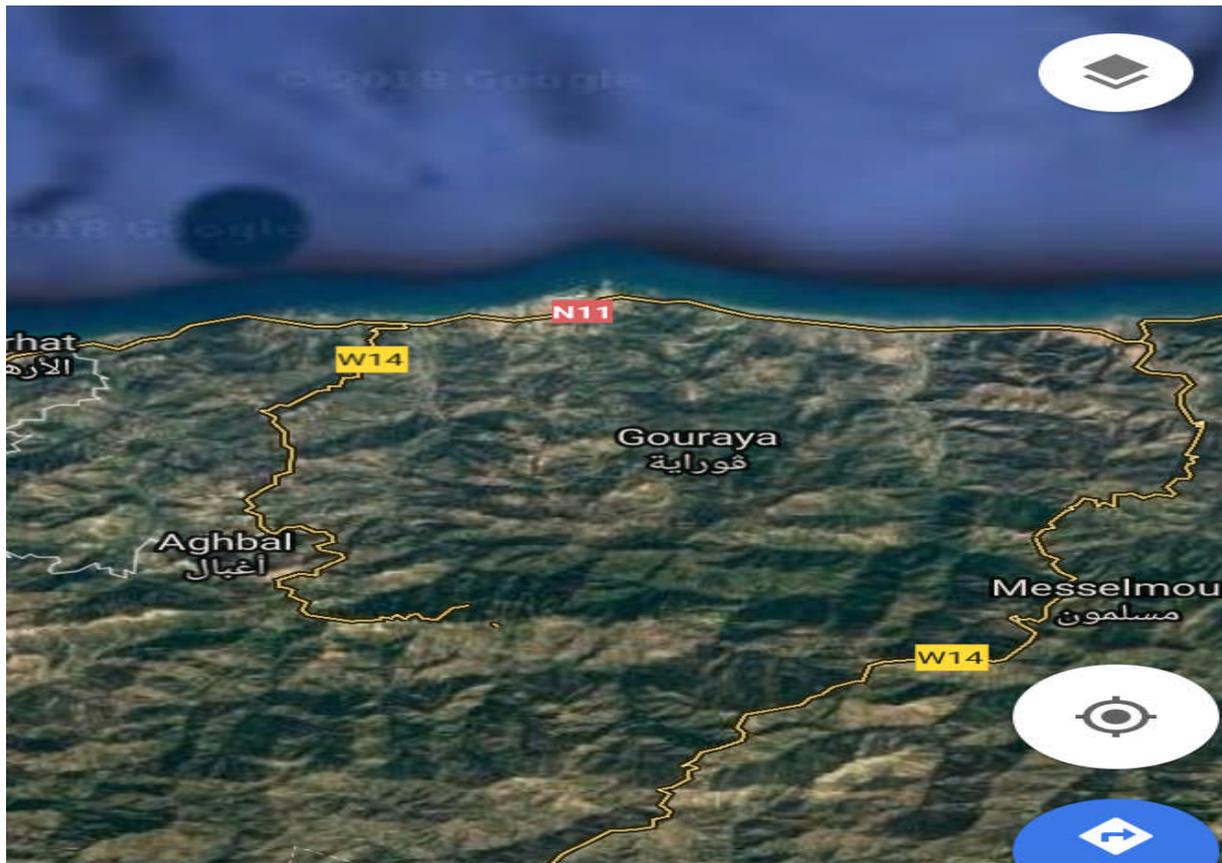


Figure III-3 : Image satellitaire montrant le positionnement de commune de

Gouraya

III-1-3-3 Beni Hawa :

-SARL EL MOKRETARE : est une ferme conchylicole et piscicole (élevage de Sparusaurata), située à l'ouest de benihawa au niveau de la ville d'Oued Goussinewilaya de chelf.

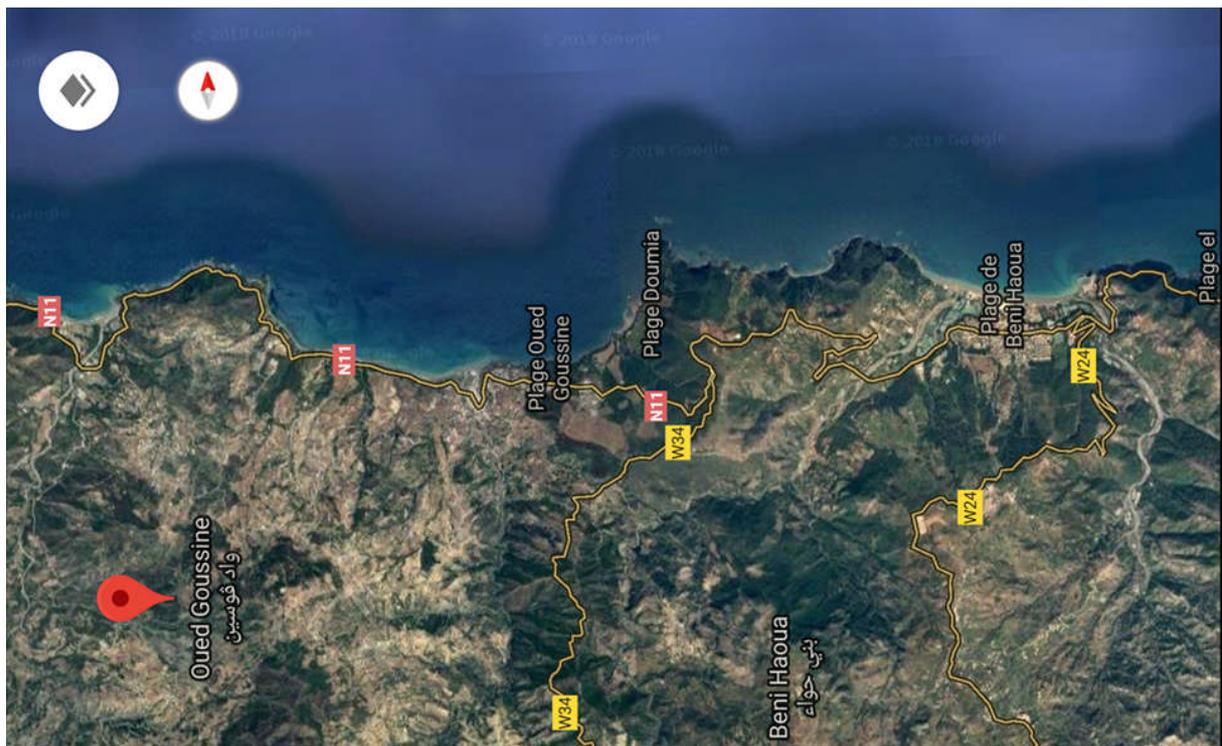


Figure III-4: Image satellitaire montrant le positionnement de commune d'oued Goussine.

.III-1-3-4 Cap Djnet :est une petite ville côtière algérienne, située dans le littoral de Bordj Menaiel, à 77km d'Alger et à 30km à l'est de la wilaya de Boumerdes.



Figure III-5 :Image satellitaire montrant le positionnement de commune de Cap Djinet.

III-1-4-L'Echantillonnage

Un échantillonnage aléatoire de moules et de poissons a été réalisé à la même période pendant 06 mois (du 15/12/2017 au 20/06/2018), à raison de 08 échantillons (5 échantillons de poissons et 3 échantillon de moules) chaque mois. (**Tableau III-1**)

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

La date d'échantillonnage	Le site de prélèvement	Le type de prélèvement	Le nombre d'échantillons
12-2017	Gouraya	Moule	03
01-2018	Ferme d'élevage SARL EL - MOKRATARE – Beni hwa-	Moule	03
01-2018	Ferme d'élevage SAR E.A.M -Ain tagoureit-	poissons	05
02-2018	Bou Ismail (le vivier et la mer)	Moule poissons	03 05
03-2018	Bou Ismail	poissons	05
04-2018	Bou Ismail	Moule	03
05-2018	Cap Djinet	Poissons	05
05-2018	Cap Djinet	poissons	05
06-2018	Bou Ismail	poissons	05
06-2018	Bou Ismail	Moule	03

III-1-5 Les prélèvements :

Chaque prélèvement a été constitué de 03 moules et 05 poissons. Les prélèvements sont placés dans des sachets stériles et transportés dans une glacière le plus rapidement possible au laboratoire et analysés sans délai.

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

III-1-6 Protocole d'analyse microbiologique

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

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

III-1-7 Protocole pour la détection de Vibriospp

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 Vibriospp. Présumés pathogènes par voie digestive.

III-1-7-1 moules :

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

III-1-7-2 poissons :

Les poissons ont été ouverts à l'aide d'un couteau stérile, les viscères et les branchies ont été prélevés et introduite dans un sachet stérile de stomacher

La recherche de Vibriospp est faite en trois phases :

1^{er} jour :

Enrichissement :

- 25g de l'échantillon ont été prélevés aseptiquement et dilués dans 225ml 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 :

Isolement :

- Sur milieu TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose, Bio-Rad, Marnes, la coquette) : 2 ou 3 boîtes, par épuisement (ne pas agiter l'enrichissement et prélever en surface).
- Incubation 24 h à 37°C.

3^{ème} jour :

2^{ème} Isolement :

Les colonies caractéristiques pour chaque espèce présomptive 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.

4^{ème} jour :

- Identification bactérienne par :

- a-** l'étude des caractères phénotypiques :
 - test d'oxydase
- b-** un repiquage des colonies dans les tubes suivants :
 - Tube ADH
 - Tube LDC.

Incubation à 37°C pendant 24h.

- Ensemencer une galerie **API 20 E** (suspension en eau physiologique).

5^{ème} jour :

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

III-2 Résultats:

Dans cette étude, nous n'avons pas pu isolés des vibrio, mais nous avons pu isolés d'autres bacteries sur TCBS tel que Pseudomonas Aeroginosa, Pseudomonas Fluorescens, AeromonasHydrophila, Pasteurella Multocida 2, ProteusVulgaris, Proteus Mirabilis, CitrobacterBraakii et CitrobacterFrundii, Burkholderiacapacia, Escherichia Coli, MyroideChryseobacte, EnterobacterAsburiae ont été isolés.

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

Tableau III-2-1 : Les caractères biochimiques sur galeries API 20 E des bactéries autres que Vibrio isolées sur milieu TCBS.

	CitrobacterBraakii	CitrobacterFrundii	PasteurellaMultocida 2	PasteurellaPneumotropic a
ONPG	-	+	-	-
ADH	-	+	-	-
LDC	-	-	-	-
ODC	+	-	-	-
CIT	+	+	-	-
H2S	+	+	-	-
URE	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-
IND	-	-	+	-
VP	-	-	+	-
GEL	+	+	-	+
GLU	-	+	+	-
MAN	-	+	+	-

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

	Aeromonas Hydrophila	Proteus Mirabilis	Proteus Vulgaris	Pseudomonas Aerogenosa	Pseudomonas Fluorescens/Putida
ONPG	-	-	-	-	-
ADH	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-
ODC	-	+	-	-	-
CIT	+	+	-	-	+
H2S	+	+	+	-	+
URE	-	+	-	+	-
TDA	-	+	+	-	-
IND	-	+	+	+	-
VP	-	-	+	-	-
GEL	+	+	-	+	+
GLU	-	+	+	+	-
MAN	-	+	+	+	-
INO	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-
SAC	-	+	+	+	-

MEL	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-
Ox	-	-	-	+	+

	Burkholderia Cepacia	Escherichia Coli	MyroidesChr yseoate	EnterobacterA sburiae
ONPG	-	+	-	+
ADH	-	-	-	-
LDC	-	+	-	-
ODC	-	+	-	+
CIT	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-
URE	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-
IND	-	+	-	-
VP	-	-	-	-
GEL	+	-	+	-
GLU	-	+	-	+
MAN	-	+	-	+
INO	-	-	-	+
SOR	-	+	-	+
RHA	-	+	-	-
SAC	-	+	-	+
MEL	-	+	-	-
AMY	-	-	-	+
ARA	+	+	-	+
Ox	+	-	+	-

Tableau III-2-2 : Les caractères biochimiques des bactéries autres que vibriosur la mini galerie des acides aminés :

	Aeromonas Hydrophila	Proteus Mirabilis	Proteus Vulgaris	Pseudomonas Aerogenosa	Pseudomonas Fluorescens/Putida
ADH	-	-	-	+	-
LDC	-	-	-	-	-

	CitrobacterBraakii	CitrobacterFrundii	Pasteurella Multocida 2	Pasteurella Pneumotropica
ADH	-	+	-	-
LDC	-	-	-	-

	Burkholderia Capacia	Escherichia Coli	MyroidesChry seobacte	Enterobacter Asburiae
ADH	-	-	-	-
LDC	-	+	-	-

III-3 Discussion :

Les résultats d'analyse des échantillons n'ont pas révélé la présence des vibrios ni chez les poissons, ni chez les fruits de mer, malgré qu'ils ont été détectés l'année dernière chez les moules par Nour el houda en Algérie (Meriouma Nour el houda, Taleb Abdeldjalil 2017), cela est probablement pas dû à la mort cellulaire de ces bactéries, mais à leur perte de cultivabilité (la perte de cultivabilité d'un organisme veut pas dire sa mort mais, ces bactéries rentrent dans un état viable mais non cultivable. Les bactéries VBNC présentent une préoccupation majeure en santé publique, car ils ne peuvent pas être détectés par des techniques bactériologiques standards, elle est souvent décrite comme un état réversible (Oliver JD 2000).

III-3-1 Les bactéries autres que vibriospp isolés :

Dans cette étude, nous avons pu isoler certains agents pathogènes tels que, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Pseudomonas Fluorescens*, *Aeromonas Hydrophila*, *Pasteurella Multocida* 2, *Proteus Vulgaris*, *Proteus Mirabilis*, *Citrobacter Braakii* et *Citrobacter Frundii*, *Burkholderia Capaci*, *Escherichia Coli*, *Myroides Chryseobacter*, *Enterobacter Asburiae* ont été trouvés pour survivre et se multiplier dans les viscères et les branchies de poissons et des moules, et de rendre ainsi ces produits un vecteur potentiel de maladies humaines sur de longue période.

En hiver, la plus part des échantillons de poissons ou de moule ont été contaminés par les mêmes bactéries à savoir : *Pseudomonas Fluorescens/Putida*, *Citrobacter Frundii* *Citrobacter Braakii*, avec une prévalence respectivement de 0.95%, 1.90%, 1.90%, et une dominance de *Escherichia Coli* avec une prévalence nettement élevée de 2.85%, cela pourrait s'expliquer par leur pouvoir de survie dans des températures basses.

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

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

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, à cet effet, il est important d'évaluer le risque associé à l'ingestion des ressources aquatiques.

Les résultats obtenus de l'analyse microbiologique montrent que les poissons et les moules contaminée par 13 germes pathogènes à la santé humaine à savoir *Escherichia coli*, *Pseudomonas Fluorescens /putida*, *Pseudomonas Aerogenosa*, *AeromonasHydrophila*, *pasteurella Multocida*², *proteusvulgaris*, *Proteus mirabilis*, *BurkholderiaCapacia*, *MyroideChryseobacte*, *EnterobacteAsburiae*, *CitrobacterBraakii*, *CitrobacterFrundi*, *PasteurellePneumootropica*. 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.

RECOMMANDATIONS

L'étude a permis de montrer qu'il existe de potentiels facteurs de risque d'infections liés à la consommation des produits de pêche. Eu égard à ces potentiels facteurs de risque que peut constituer la consommation des poissons et moule 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 bactéries dans les produits de pêche.

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

Les consommateurs doivent faire correctement cuire les poissons et les moules avant de les consommer et surtout les consommer juste après leurs cuissons pour éviter une multiplication éventuelle des bactéries.

Une surveillance bactériologique des produits de la pêche est nécessaire pour prévenir les infections d'origine alimentaire, et nécessite l'emploi de méthodes d'analyses fiables et standardisées.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AgroVet Magazine 18 & 19 : 7 Boujenane I. 1997. Le logiciel HALIB.
- 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).
- Anonyme 6., " FAO publications related to aquaculture for Algeria", FishStatJ, Universal software for fishery statistical time series, pdf Vuegénérale du secteuraquacole 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))
- Anonym 11; "Isolation of vibrio cholerae from fecal specimens"; Laboratory Methods for the Diagnosis of Vibrio cholerae; Centers for Disease Control and Prevention; <http://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-4.pdf>. (29/10/2014).
- Aonyme 12; « Le choléra. Santé et bien être »; <http://sefrou.forumactif.com/t891-le-cholera>: 20/10/2014.
- Bhaskar N., Setty T.M.R., Mondal S., Joseph M.A., Raju C.V., Raghunath B.S. et Anantha C.S., "Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*)". Food Microbiology, V.15, n° 5, (1998), 511- 519.
- Blake P. A., Weaver R. E., Hollis D. G., "Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios". Annu Rev Microbiol, V. 34, (1980), 341-367.
- 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.
- 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.
- CHINA B., DE SCHAETZEN M.-A., DAUBE G. Université de Liège, Faculté de MédecineVétérinaire, Laboratoire de microbiologie des denréesalimentaires.

Sart Tilman B43b 4000 Liège, Belgique, 2003.

- DePaola, A., "Vibrio cholerae in marine foods and environmental waters: a literature review". J. Food. Science, V.46, n° 1, (1981), 66-70.
- 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.
- Fundamentals and Frontiers. ASM Press. Washington D.C, (1997), 228-264.
- FAO/WHO., "Food Safety Consultation, Risk assessment of Campylobacter spp in broiler chickens and Vibrio spp. in seafood."; Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok-Thailand, (2002), 59p.
- Fournier et Quilici., « Infections à Vibrions non cholériques ». EncyclMédChir, Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Maladies infectieuses, 8-026-F-15, Paris, (2002), 7p.
- Giovannoni&Rappé., "Evolution, diversity and molecular ecology of marine prokaryote", Microbial Ecology of the Oceans D L Kirchman end G, V. 69, n° 09, (2000), 47-88.
- Gonzalez-Escalona N., Blackstone G.M., Depaola A., "Characterization of a Vibrio alginolyticus strains, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (trh) of Vibrio parahaemolyticus" .Appl Environ Microbiol,V. 72, n° 9, (2006), 7925-9
- Honda T., Ni Y.X., Miwatani T.,(1988); "Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative Vibrio parahaemolyticus and related to the thermostable direct hemolysin". InfectImm, V. 56, n° 5, (1988), 961-965.
- 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).
- 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.

- Hervio-Heath D., Colwell R.R., Derrien A., Robert-Pillot A., Fournier J.M., Pommepuy M., (2002); "Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France". J Appl Microbiol. V 92, n° 6, (2002), 1123-35.

- Hirsch M; » Evaluation des risques liés à la consommation de produits de la pêche importés ». AFSSA, DERNS/Enr.22/Ind.D, Maisons-Alfort, France. (2002).

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

- Janda, J.M., 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.

- 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.df

- 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.

- 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.

- 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.

-MerioumaNour el houda et Taleb Abdeldjalil. Contribution 0 la contamination des moules par les vibrio ;2017 mémoire licence.

- M. P. Malle, (2009); » Vibrioparaahaemolyticus. », Afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), Rédaction : M. P. Malle, septembre 2009, Coordination scientifique : R. Lailler ; <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi->

[Vibrio.pdf](#). (20/11/2014).

- N. Cohen, H. Karib; « Vibriospp. dans les produits de la pêche: Risques et prévention » ; Les technologies de laboratoire, thèse Département H.I.D.A.O.A., Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II maroc, V. 2, n° 4, (2007)

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

- Oliver J.D., Kaper J.B., "Vibrio species", In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (Eds.) Food microbiology

- 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.

- OMS, (2000). Cholera, Fact Sheet N107.

- 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.

- 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.

- Reichelt J.L, Baumann P, Baumann L., "Study of genetic Relationships among marine species of the genera Beneckea and Photobacterium by means of in vitro DNA/DNA hybridization", Arch. Microbiol, V. 110, (1976), 101-120.

- Roszak DB, Colwell RR., "Survival strategies of bacteria in the natural environment". Microbiol Rev, V. 51, n° 3, (1987), 365–79.

- Rudra S et al., "Cluster of cases of clinical cholera due to Vibrio cholerae O10 in east Delhi". Indian Journal of Medical Research, V. 103, (1996), 71-73.

- Sakazaki R, Iwanami S, Fukumi H., "Studies on the enteropathogenic facultatively halophilic bacteria, Vibrio parahaemolyticus, (Morphological, cultured and

biochemical properties and its taxonomical position”, Japan Journal of Medical Science and Biology, V. 16, (1963), 161-188.

- 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.

- 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.

- Twedt R.M., “*Vibrioparahaemolyticus*”, Doyle, M.P. (ed.) Foodborne, Food Bacterial Pathogens, New York : Marcel Dekker, (1989), p 543- 568.

- 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.

West P.A., “The human pathogenic vibrios-a public health update with environmental perspectives”. Epidemiol. Infect, V. 103, n° 1, (1989), 1-34.

- Xie Z.Y., Hu C.Q., Chen C., Zhang L.P., Ren C.H., “Investigation of seven *Vibrio* virulence genes among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains from the coastal mariculture systems in Guangdong, China”. Letters in Applied Microbiology, V. 41, n° 2, (2005), 202-207.

- Zanetti, S., A. Deriu, L. Volterra, M. P. Falci, P. 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.

Annexe :



Figure A : Laboratoire du CNRDPA



Figure B : incubateurs électronique



Figure C : Balance



Figure D : Paillasse avec les différents équipements du travail



Figure E : Bain marie



Figure F: Stomacher (Bag Mixer)





Figure G : Les échantillons

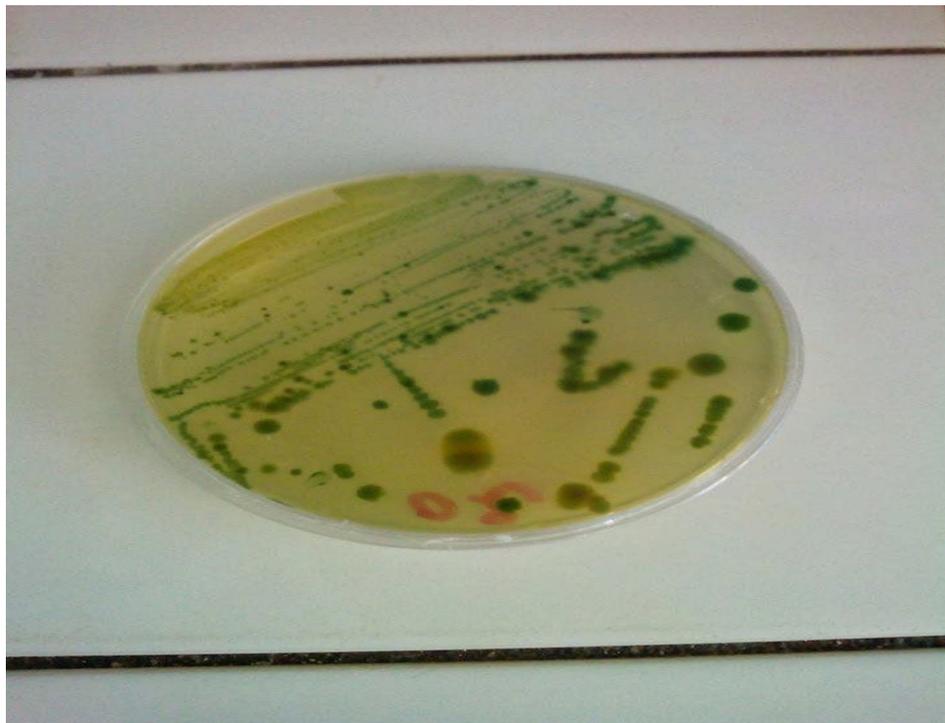


Figure J : isolement dans le milieu TCBS

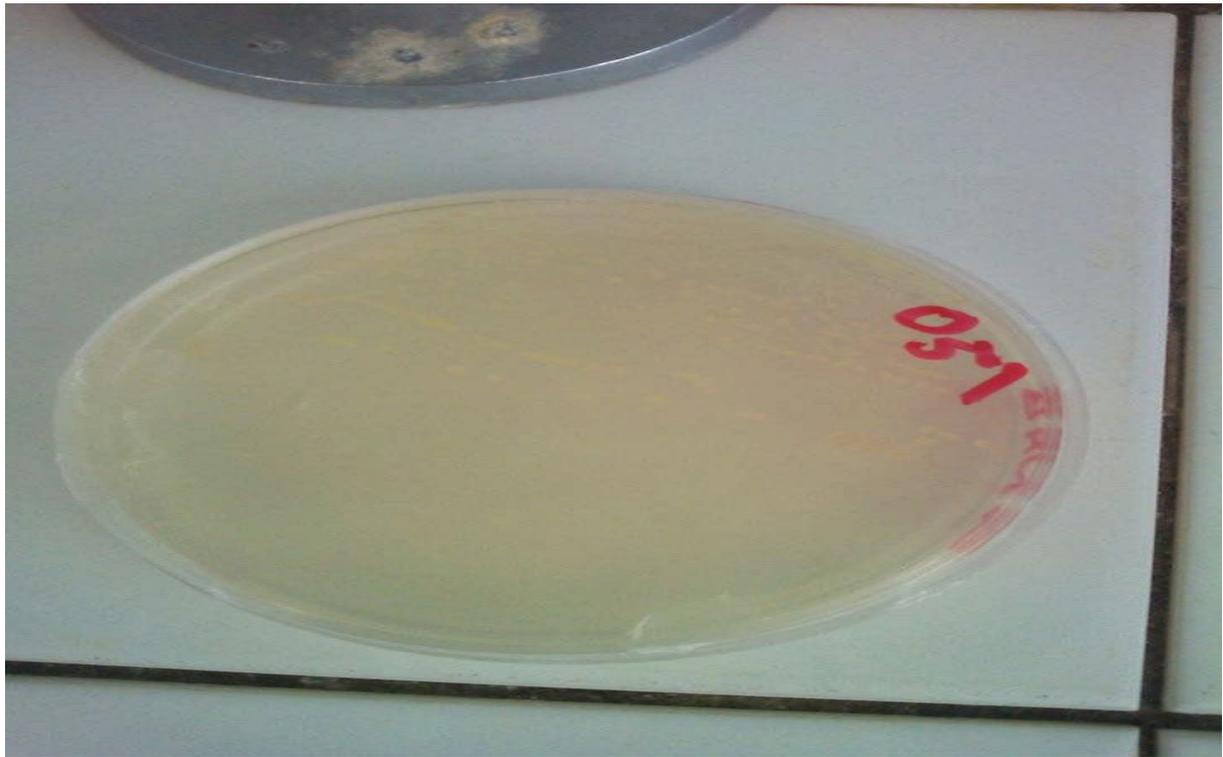


Figure H : Isolement dans le milieu GNAB



Figure I : résultats de la galerie Api 20^E