

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR  
ÉCOLE INTER-ÉTATS DES SCIENCES ET MÉDECINE VÉTÉRINAIRES DE  
DAKAR (E.I.S.M.V.)



Année 2003  
N°22

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTAMINATION INITIALE  
DU POISSON DES MERS TROPICALES :CAS DE LA SOLE TIGREE  
(SYNAPTURA CADENATI)**

**THÈSE**

Présentée et soutenue publiquement le **29 JUILLET 2003** devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le grade de **DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Par

**Mlle Nadège DJOUPA MAMFOUMBY**

**Née 31 DECEMBRE 1974 à MOANDA (GABON)**

---

**JURY**

---

<b>Président :</b>	<b>M. Abibou SAMB</b>
<b>Pharmacie</b>	<b>Professeur à la faculté de Médecine, de</b>
	<b>et d'Odonto-Stomatologie de Dakar</b>
<b>Directeur de Thèse</b>	<b>M. Malang SEYDI</b>
<b>et Rapporteur :</b>	<b>Professeur à l'EISMV de Dakar</b>
<b>Membres :</b>	<b>M. Louis Joseph PANGUI</b>
	<b>Professeur à l'EISMV de Dakar</b>
	<b>M. Justin Ayayi AKAKPO</b>
	<b>Professeur à l'EISMV de DAKAR</b>

# Introduction

Au Sénégal, la pêche constitue le premier sous secteur de l'économie nationale. Les produits halieutiques exploités dont le poisson présente une importance considérable dans les régimes alimentaires des populations .Le Sénégal se situe dans une zone classée parmi les plus poissonneuses du monde car le plancton y est renouvelé de façon permanente par les courants marins. De ce fait, la pêche représente une entrée non négligeable des devises et connaît un essor considérable qui lui permet d'exporter une partie des prises, sous forme de produits élaborés, vers l'Union européenne, le Japon et le Canada. Or sur le plan sanitaire, la qualité de ces produits s'avère de temps en temps non conforme aux critères microbiologiques définis à partir de la connaissance de la contamination des poissons des mers tempérées et imposées par les importateurs.

Le niveau élevé de contamination des poissons exportés, responsable de leur non conformité est- elle due à une contamination initiale et /ou secondaire ? C'est dans cette optique que nous avons choisi de travailler sur le thème suivant : **Contamination initiale des poissons des mers tropicales : Cas de la sole (*Synaptura cadenati*).**

Notre travail comprend 2 parties : La première est consacrée à une synthèse bibliographique, la seconde traite l'étude expérimentale.

## **CHAPITRE I: CARACTERISTIQUES DES MERS TROPICALES**

### **I.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MERS TROPICALES (24)**

#### **I.1.1. Température**

Les différences de température jouent un rôle important dans la circulation océanique et la vie des organismes marins.

Les eaux tropicales ont une température moyenne annuelle supérieure à +20°C, contre des températures comprises entre +6°C et 20°C pour les eaux tempérées. Ces températures varient avec la saison, avec des écarts annuels faibles de l'ordre de 4.5°C pour les mers tropicales, alors qu'en zone tempérée ils peuvent atteindre 8 à 10°C.

Ces écarts sont de très faibles amplitudes environ +0.5°C au cours de la journée (variation de l'ensoleillement).

#### **I.1.2. Salinité**

Les eaux tropicales sont caractérisées par une forte salinité : de 35.5 à 36.5% avec un abaissement allant jusqu'à 34.5% au niveau de certaines zones en dessous de l'équateur.

Dans les mers tropicales, on a en surface des eaux salées mais à température élevée donc légères.

### **I.1.3. pH et CO<sub>2</sub> dissout**

La mesure du pH traduit la concentration en ions hydrogène (H<sup>+</sup>). Le pH donne une bonne estimation de la quantité de gaz carbonique dissout présent, le pH est d'autant plus acide que la teneur en CO<sub>2</sub> est élevée.

Normalement, l'eau de mer est alcaline. Cependant, dans les zones océaniques, les eaux de surface ne présentent que des variations très faibles : pH 8 à 8.5.

Toute fois, du fait de l'activité biologique très intense (augmentation du CO<sub>2</sub> provenant de la respiration), le pH nocturne est plus acide que le pH diurne.

### **I.1.4. O<sub>2</sub> dissout**

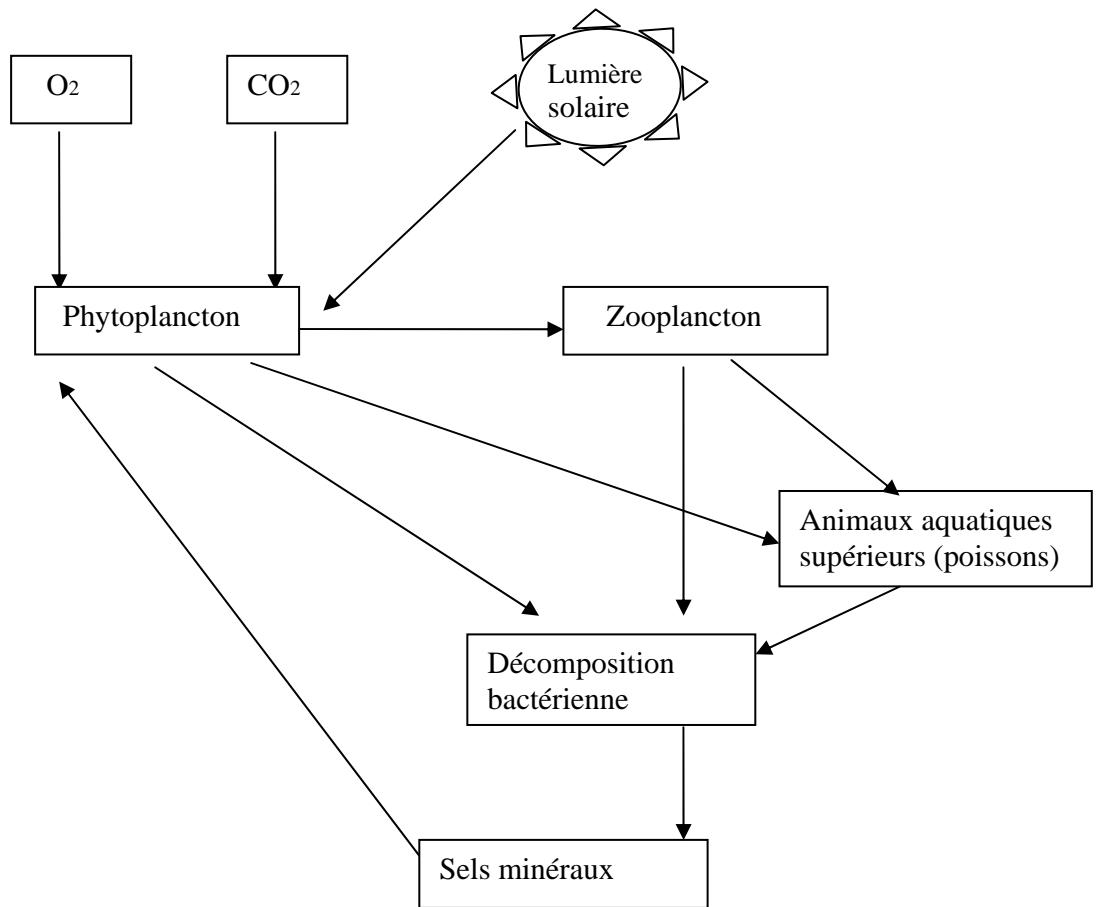
La teneur de l'eau de mer en oxygène est en général de l'ordre de 10 CC avec un échange permanent d'oxygène entre l'eau de surface et l'atmosphère.

Dans les régions côtières tropicales, on observe des phénomènes localisés importants : la mangrove est une zone à faible teneur en O<sub>2</sub> dissout ; au contraire le faciès corallien se développe toujours dans les zones à forte oxygénation.

## **I.2 CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES DES MERS TROPICALES**

### **I.2.1. Rôle des bactéries dans la production primaire**

Le milieu aquatique présente une flore bactérienne variée. Parmi celle-ci, certaines bactéries jouent un rôle indispensable dans l'écosystème marin. En effet, ces bactéries dites autochtones ou indigènes du milieu marin jouent un rôle essentiel dans le cycle des sels nutritifs ; elles assurent la minéralisation des matières organiques en décomposition, d'où les composés azotés (nitrates, nitrites, sels ammoniacaux) et phosphorés s'y trouvent grâce à elles, et sont remis à la disposition des végétaux chlorophylliens. (21,25)



**Figure 1 : cycle de vie du milieu**

**Source :**(21)

## I.2.2. Nature de la flore bactérienne

La flore bactérienne du milieu aquatique peut être regroupée en 3 classes en fonction de sa nature (20)

### I.2.2.1 Germes typiquement aquatiques

Ce sont des germes qui sont habituellement hébergés par l'eau, ils sont indépendants de toute pollution. Ces bactéries marines encore appelées bactéries autochtones ou indigènes présentent un métabolisme adapté aux conditions de ce milieu.

Parmi ces bactéries deux présentent une importance en santé publique : il s'agit des genres *Vibrio* et *Pseudomonas*

#### I.2.2.1.1.Bactéries du genre *Vibrio*

Il s'agit essentiellement des vibrions halophiles tels que : *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio alginolyticus*. Ils sont retrouvés dans l'eau de mer, aussi bien dans les régions tempérées que tropicales.

*V. parahaemolyticus* a été isolé de l'eau de mer, dans les sédiments marins, et dans les poissons et fruits de mer en plusieurs régions du monde. Il a été démontré que le nombre de micro-organismes présents dans le milieu marin était plus élevé dans les eaux chaudes que dans les eaux tempérées (14,23).

Selon PILET et coll. (36), *V. parahaemolyticus* est une bactérie saprophyte des eaux de mer côtière.

Quant à *V. cholerae*, plusieurs publications américaines traitent de sa recherche et de sa découverte dans les estuaires, les lagunes, les eaux saumâtres ou douces, même dans les pays où le cholera ne sévit pas car il s'agit le plus souvent des souches agglutinables (14).

### I.2.2.1.2 Bactéries du genre *Pseudomonas* (37)

Les bactéries du genre *pseudomonas* sont essentiellement saprophytes ou commensales. Certaines espèces peuvent acquérir un pouvoir pathogène, généralement favorisé par un terrain débilité (*Ps. Aeruginosa*), d'autres sont constamment pathogènes (*Ps.mallei*).

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est une bactérie saprophyte de l'air, l'eau et du sol. Commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, elle possède un pouvoir pathogène étendu ; le bacille pyocyanique est essentiellement une bactérie pyogène qui provoque chez l'homme et l'animal des suppurations diverses. Ces infections se développent généralement sur des terrains débilités. Des septicémies, primitives ou secondaires ne sont souvent observées.

### I.2.2.2. Germes telluriques

Ce sont des bactéries qui vivent dans le milieu terrestre et dont la dissémination dans le milieu aquatique est assurée par le biais des eaux de ruissellement et de pluie pendant la saison pluvieuse. Cette flore tellurique est composée surtout des bactéries sporulées, en particulier du genre *Clostridium*

- Bactéries du genre *clostridium*

Selon SEYDI (44) *Clostridium botulinum* de type E est un hôte normal du tube digestif des poissons, du fait de la fréquence de cette bactérie dans les sables et boues marines. En effet, sur sept types de *clostridium* recensés (types A à G) c'est le type E que l'on rencontre le plus souvent dans le poisson et les produits de la pêche. C'est le seul type isolé des poissons de mer pêchés au large des côtes Scandinaves, de l'Alaska, et du Japon ; 100% des poissons peuvent y être contaminés.

Les types A, B, C, D, E et F se rencontrent également de façon sporadique dans d'autres parties du monde.

Ainsi dans les mers chaudes d'Amérique latine et d'Indonésie, le type E est absent alors que le type C prédomine (9, 21, 24)

#### **I.2.2.3. Germes de contamination humaine et animale**

Ce sont des germes commensaux de l'intestin de l'Homme ou des animaux (16). Cette flore est composée généralement de germes saprophytes et des germes pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires (salmonelles, clostridies).

En effet, selon OGER et coll. (34), RENAUT (38) et GUIRAUD (20), le milieu aquatique est surtout composé des espèces bactériennes pathogènes provenant de la pollution des eaux, en raison du nombre suffisamment élevé de malades, des porteurs sains, des convalescents ou guéris.

Ainsi les travaux réalisés en 1963 par AUBER et LEBOUT cité par GACHE (34) ont permis de mettre en évidence, dans l'eau de mer, le niveau de contamination par les eaux résiduaires (tableau I).

Les bactéries, témoins de la contamination fécale, les plus rencontrées sont :

- Les coliformes fécaux
- Les streptocoques fécaux
- Escherichia Coli*

#### **I.2.2.4. Flore**

L'eau de mer contient une flore voisine de celle des eaux douces mais cette flore est adaptée aux conditions de salinité (tableau II), elle comprend la flore, halophile, mésophile et psychrotrophe.

Les principaux micro-organismes rencontrés appartiennent généralement aux genres *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligènes* (20).

En effet, ces constatations rejoignent les travaux réalisés par BRISOU (10), BILLON (5) et HUSS (21) qui ont montré que le milieu aquatique est surtout composé de bacilles psychrotrophe à Gram (-) aérobies ou anaérobies facultatifs. Ceux-ci représentent 95% de la flore totale du milieu aquatique.

**Tableau I : composition bactérienne du milieu aquatique**

	Groupe de bactéries		Taux
	Gram + (2 à 3%)	Gram- (95%)	
Contamination primaire= bactéries propres aux poissons	<b>Gram + (2 à 3%)</b> - <i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i> - <i>Clostridium botulinum</i> de type E - <i>Listeria</i> <b>Gram- (rares)</b> - <i>Coliformes</i> et autres - <i>Enterobactéries</i> - <i>Plesiomonas</i>	<b>Gram- (95%)</b> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Aeromonas</i> - <i>Flavobacterium</i> - <i>Moraxella</i> - <i>Alcaligènes</i> - <i>Acinetobacter</i> <i>Cytophaga</i> - <i>Phytobacterium</i> - <i>Vibrio</i>	Tube digestif $10^6 - 10^8$ bactéries/ml  Branchies $10^3 - 10^6$ bactéries/g

**Source :** (33)

### I.2.3. Répartition et distribution de la flore aquatique

#### I.2.3.1. Répartition de la flore aquatique

La flore bactérienne du milieu aquatique est essentiellement constituée de bacilles à Gram négatif. Ils représentent 95% de la flore totale du milieu aquatique (5, 10, 12)

**Tableau II : pourcentage des types bactériens dans le sol et dans l'eau de mer**

Groupes morphologiques	Sol	Eau de mer
Bacilles à Gram négatif	36,1	94,6
Bacilles à Gram positif	46,5	1,2
Bacilles à Gram douteux	9,4	0,9
Cocci	3,8	2,8
Autres germes	4,2	0,5

**Source :**(10)

En 1976, BILLON (5) confirme ces données et mentionne la nette prédominance du genre *Pseudomonas* suivi par *Acinetobacter*, *Alcaligènes*, et *Vibrio*. Il signale par ailleurs la présence en nombre réduit des germes Gram positifs, ces bactéries sont représentées surtout par *Micrococcus* pour les coques, *Bacillus* et *Corynèbacterium* pour les bacilles.

### **I.2.3.2.Distribution des bactéries marines**

Dans le milieu marin, les bactéries se trouvent aussi bien dans les eaux, que sur les sédiments du fond. La couche superficielle du sédiment, très riche en détritus de toutes sortes, recèle le maximum des bactéries. Ces bactéries sont rencontrées dans les boues marines à l'état végétatif ou sous forme sporulée (16).

## **CHAPITRE II : ETUDE DE LA SOLE DES MERS TROPICALES**

### **II.1.SYSTEMATIQUE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE (14)**

#### **II.1.1. Systématique**

Sur le plan taxonomique, la sole tigrée appartient à :

- la super classe des poissons ;
- la classe des téléostéens ;
- l'ordre des pleuronectiformes ;
- sous-ordre des Soleoïdes ;
- la famille des Soleidae ;
- la sous-famille des Synapturinae.

La famille des soleidae comprend plusieurs genres dont 8 sont présents dans les eaux sénégalaises.

Le genre *Synaptura* ou sole tigrée comporte 3 espèces à savoir :

- *Synaptura cadenati*,
- *Synaptura lusitanica*,
- *Synaptura punctatissima*.

Parmi ces trois espèces, c'est *Synaptura cadenati* qui fait l'objet de notre étude.

#### **II.1.2. Répartition géographique**

##### **II.1.2.1.Répartition dans le monde**

L'aire de répartition de *Synaptura cadenati* est très vaste, cette espèce semble être littorale et couvre la quasi-totalité des mers de l'Afrique intertropicale : de Gibraltar jusqu'au golfe de Gascogne.

### **II.1.2.2.Répartition au Sénégal**

Au Sénégal, on trouve *Synaptura cadenati* sur toute la côte, depuis le sud jusqu'au nord. Cette espèce est capturée depuis la côte jusqu'à 65 m de profondeur. Elle fréquente les fond sableux et sablo vaseux.

## **II.2. CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES DE LA SOLE**

### **II.2.1.caractéristiques générales de la Famille des soleidae**

Les poissons de la famille des Soleidae se caractérisent par un corps oval allongé, très comprimé. Ecailles ctenoïdes, souvent rudes au toucher. Côté aveugle de la tête plus ou moins couvert de villosités. Museau arrondi, en lobe charnu. Bouche arquée, sans dents sur le coté oculé (petites dents en velours sur le côté aveugle). Œil supérieur plus avancé. Ligne latérale sensiblement rectiligne, avec une ramification supra temporaire souvent peu visible, quelque fois absente (4).

### **II.2.2.2. Caractéristiques spécifiques de *Synaptura cadenati***

Le corps de *Synaptura cadenati* est relativement allongé, effilé vers l'arrière. La tête présente 15 à 19% de la longueur du corps.(sans la nageoire caudale ) ;le diamètre de l'œil représente 15% de la tête .la nageoire dorsale comprend 75 à 79 rayons ;la nageoire anale compte 59 à 62 rayons ;la caudale confluente avec la dorsale et l'analy,la papille urinaire proche de l'anus .la ligne latérale avec de nombreuses taches plus sombres de tailles inégales et disposées sans ordre et de nombreuses macules blanches .les nageoires impaires sont bordées de blanc.

### **II.2.2.3 Caractéristiques distinctives entre *Synaptura cadenati* et les autres espèces du genre.**

*Synaptura cadenati* se distingue des autres espèces par plusieurs caractéristiques (FAO....) (Tableau III)

- La largeur des taches,
- les rayons des nageoires dorsale et anale,
- le nombre des écailles situées sur la ligne latérale,
- La taille de la tête par rapport au reste du corps.

**Tableau III** : caractères distinctifs des espèces de *Synaptura*

Caractères	<i>S.cadenati</i>	<i>S. punctatissima</i>	<i>S. lusitanica</i>
Couleur du flanc oculifère	Brun gris à brun violet	Brun verdâtre	Brun gris
Taille et disposition des taches sombres	Taille inégale et disposées sans ordre	Petite taille et disposées sur toute la surface (moucheté)	Taches noirâtres et disposées selon des séries longitudinales les taches les plus développées sont alignées sur la ligne médiane
Macules blanches	Présente	Absente	Absente

**Source :**(14)

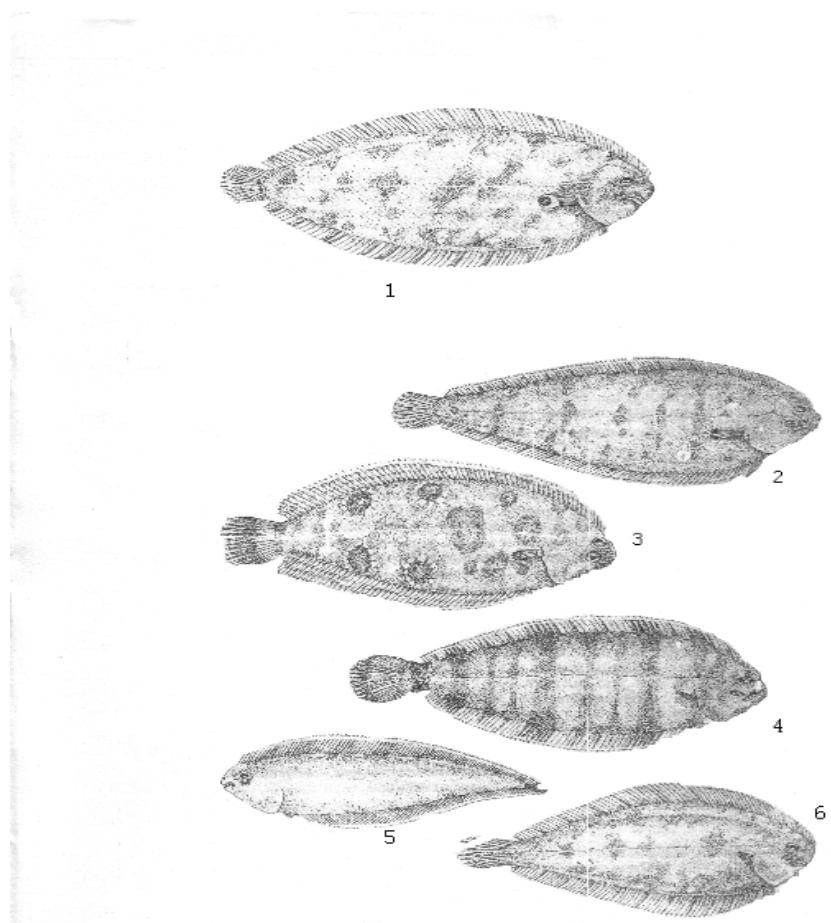


schéma 2: forme du corps des soles (source:15)

## II.3. CARACTERISTIQUES ANATOMIQUES DE LA SOLE

### II.3.1. peau (16)

La peau des poissons comprend un derme et un épiderme. Elle est développée en raison inverse des formations qu'elle fait naître (écailles et denticules). Intacte, elle constitue une bonne défense contre le milieu extérieur et en particulier contre l'invasion microbienne extérieure. L'isolement vis-à-vis du milieu ambiant, est renforcé par une sécrétion abondante du mucus, par des glandes dermiques spéciales.

Le mucus joue un rôle important en inspection sanitaire. La peau est le siège d'organes sensitifs très variés et, chez certaines espèces, joue un rôle important dans la respiration.

### **II.3.2. Muscle**

L'anatomie des muscles est très simple chez la sole. Fondamentalement, il existe deux faisceaux de muscles, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Chaque faisceau est lui-même divisé en une masse supérieure située au dessus du septum axial horizontal, et en une masse ventrale située en dessous de ce septum.

Les cellules musculaires sont disposées longitudinalement et séparées perpendiculairement par des feuillets de tissu conjonctif (myocommata).

Les segments musculaires qui s'étendent entre les feuillets du tissu conjonctif sont appelés myotomes (21).

**Schéma 3** : Coupe médiane d'un téléostéen

### **II.3.3. Branchies**

Les branchies sont situées dans la cavité branchiale du côté du pharynx. Elle permet à la sole de respirer dans l'eau. Elles sont symétriques, sur ces branchies sont insérés, comme les dents d'un peigne, des filaments branchiaux richement vascularisés. Les branchies sont les lieux des échanges gazeux.

Elle est ouverte en avant dans la bouche, en arrière à l'extérieur (16).

**Schéma 3** : Structure des branchies

Source : (16)

#### **II.3.4. Intestin**

L'appareil digestif comprend un intestin antérieur (œsophage et estomac, inconstants ou transformés) et un intestin postérieur qui s'ouvre à l'extérieur par l'anus situé plus ou moins en arrière. Il est plus ou moins long et replié en fonction du régime (15).

Comme chez les mammifères, l'intestin abrite une abondante flore digestive dont la multiplication post-mortem est à l'origine de l'altération du poisson.

Sur l'intestin débouche des annexes comme le foie, le pancréas et la vessie natatoire (16).

#### **Schéma 4 : Tube digestif des poissons**

Source : (16)

#### **II.4. MICROBIOLOGIE DES POISSONS (20)**

## **II.4.1. Flore microbienne**

La microbiologie du milieu aquatique va conditionner de façon importante celle des poissons.

La flore de surface des poissons est constituée par les bactéries appartenants aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, [...], *Corynébactérium*.

La flore est plus ou moins psychrophile selon la température habituelle de l'eau.

La flore de la chair du poisson est très fortement influencée par celle du milieu aquatique. On trouvera en outre une flore propre, normalement la chair des poissons est stérile. Les régions contaminées sont les branchies, le mucus qui recouvre la peau et le tube digestif.

La flore intestinale est constituée dans tous les cas de bactéries appartenant aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, ..., *Escherichia*. Les poissons possèdent parfois une flore pathogène propre tel que : *Vibrio alginolyticus*.

## **II.4.2. Origine de la contamination endogène**

La contamination initiale du poisson se fait au cours de deux étapes :

- une contamination antérieure à la pêche, qui se produit du vivant du poisson.

Celle-ci résulte :

\*soit d'une contamination des eaux de pêche par des polluants biologiques.

\*soit de la présence dans le poisson, des bactéries marines ou autochtones.

- une contamination postérieure à la pêche, celle-ci à lieu dans la pirogue ou dans le bateau, avant la mise à terre.

### **II.4.2.1. Contamination antérieure à la pêche**

#### **II.4.2.1.1. Contamination des eaux de pêche**

Les zones du littoral sont soumises à une pollution biologique qui peut être importante, car elles reçoivent les effluents provenant des diverses activités de

l'homme. Cette pollution concerne surtout la famille des Entérobactériaceae qui renferme des germes commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Ainsi, les travaux réalisés en 1963 par AUBER et par LEBOURG, cités par GACHE (34), ont permis de mettre en évidence dans l'eau de mer, le niveau de contamination par les eaux résiduaires (Tableau I). Les bactéries témoins de la contamination fécale, le plus fréquemment rencontrées sont :

- Escherichia coli*,
- Coliformes fécaux*,
- Streptocoques fécaux*, ou *Entérocoques*

Cependant, les divers produits de la pêche montrent des sensibilités différentes à la pollution du milieu environnant. Ceci est lié à leur physiologie (36).

**Tableau IV** : Niveau de contamination de l'eau de mer par les eaux résiduaires

Bactéries de contamination fécale	Nombre de germes/ml
Coliformes fécaux	500 000 à 1 000 000
Escherichia coli	100 000 à 500 000
Streptocoques fécaux ou Entérocoques	10 000 à 100 000

Source : (34)

#### **II.4.2.1.2. Contamination par des bactéries autochtones**

Elle est à l'origine de la présence dans le poisson des bactéries marines en dehors de toute contamination fécale. De nombreux auteurs (21, 23, 36) ont montré que les bactéries marines sont constituées par différentes flores contaminantes du poisson de mer (halophiles, mésophiles et psychrotrophes).

#### **II.4.2.2. Contamination postérieure à la pêche**

Un produit non contaminé à l'origine peut avoir été souillé aux divers stades qui précèdent sa mise sur le marché.

La contamination peut avoir déjà eu lieu à bord du bateau ou des pirogues de pêche, par contact avec du matériel souillé (caisse, glace de mauvaise qualité bactériologique).

Le lavage avec de l'eau contaminée peut parfois expliquer l'apport de micro-organismes pathogènes

#### **II.4.3. Nature des bactéries des poissons**

L'étude de la nature des bactéries des poissons selon BOURGEOIS et LEVEAU (1) vise deux aspects importants pour le consommateur et le produit lui-même. C'est l'aspect sanitaire et économique. Ainsi, en fonction du rôle des bactéries sur la qualité hygiénique et marchande des produits, ROZIER et coll. (44) les classent en deux catégories :

- la flore saprophyte
- la flore la flore pathogène

##### **II.4.3.1. Flore saprophyte**

Ce sont des bactéries en général sans incidence sur la santé humaine. Cette flore est influencée par un certain nombre de facteurs tels que la température, la salinité et la teneur en oxygène.

###### **II.4.3.1.1. Température**

Elle constitue le facteur important qui détermine la composition de la microflore du poisson. Ainsi, de nombreux auteurs ont montré que la population bactérienne du poisson des pays tempérés est à dominante psychrotrophe.

Par contre, au niveau des mers tropicales, la microflore du poisson est plutôt mésophile (20, 21, 23).

SHEWAN (46) cité par HUSS (21), a isolé une proportion bien plus élevée de bactéries psychrotrophes dans les poissons d'eaux froides ou tempérées et a observé que seuls 5% de la flore de la mer du nord pouvait se développer à 37°C, contre environ 55% pour celle des poissons capturés au large des côtes mauritanienes.

#### **II.4.3.1.2. Salinité**

La microflore des poissons marins est à dominante halophile. Actuellement, dans la plupart des cas, on pourrait admettre que cette flore est à prédominance euryhaline avec des concentrations optimales de croissance situées entre 2 et 3% de NaCl.

Ainsi, lorsqu'on conserve le poisson en utilisant de la glace, on expose la population bactérienne à une discrimination en fonction de la concentration saline. Durant le stockage, ce sont les euryhalines qui survivent et croissent (23).

#### **II.4.3.1.3. exigence en oxygène**

La nature de la microflore du poisson est variable selon sa localisation (peau, branchies ou intestin).

Ainsi, selon l'ICMSF (23) il y aura une prédominance de bactéries aérobies au niveau de la peau et des branchies. Mais cela n'est pas toujours vérifiable, d'autant plus que SIMIDU et all. cités par l'ICMSF (23) ont montré que dans certaines situations, on pourrait avoir la présence des bactéries du genre *Vibrio* en nombre important.

Quant à la population des anaérobies obligatoires, les est habituellement négligeable sur les surfaces externes.

Dans les intestins ou les conditions d'anaérobiose sont réunies, les bactéries du genre *clostridium* pourront se rencontrer en nombre significatif. En réalité, il s'avère que les bactéries anaérobies facultatives prédominent.

Sur le plan nutritionnel et biochimique, les bactéries du poisson frais sont décrites comme étant plus protéolytiques que glycolytiques. Ce qui voudrait dire qu'elles croissent plus facilement dans un milieu contenant des protéines, des peptides ou des acides aminés comme source majeure de carbone que des polysaccharides ou des sucres simples. Ceci reflète le substrat naturel sur lequel ces bactéries sont sensées croître (23).

#### **II.4.3.2. Flore pathogène**

La flore pathogène du poisson est constituée d'une part de bactéries appartenant au milieu marin ou autochtones, d'autre part de bactéries d'origine humaine ou animale.

##### **II.4.3.2.1. Flore pathogène marine ou autochtone**

Cette flore est la seule que l'on rencontre dans le poisson capturé au niveau des zones non polluées par les déchets humains ou animaux.

Au niveau de cette flore deux bactéries présentent un intérêt en santé publique ; il s'agit de *Clostridium botulinum* et de *Vibrio parahaemolyticus*. Nous tiendrons compte uniquement de *Vibrio parahaemolyticus* dans le cadre de notre travail.

###### **- *Vibrio parahaemolyticus***

C'est un *vibrion* halophile dont certaines souches sont pathogènes pour l'homme. Cette bactérie est responsable chez l'homme de gastro-entérite mais

également de lésions cutanées des nageurs et des pêcheurs (39), ou de septicémies et de bactériémies (28).

### **\*Ecologie**

Cette bactérie est souvent rencontrée dans les estuaires et le long des côtes. Elle n'a que rarement été isolée dans les poissons capturés en haute mer.

HOBBS (1982) cité par HUSS (21), rapporte qu'il en a trouvé dans toutes les zones côtières où il a mené des enquêtes.

Son développement est favorisé, non seulement par la température, mais aussi par la présence des matières organiques telles que celles provenant des déchets des unités de traitement de poisson ou des égouts. Les conditions optimales de multiplication de *V. parahaemolyticus* sont un milieu alcalin contenant 2 à 4% de Nacl et une température de 37°C. Dans ces conditions, le temps de génération est très court (5 à 10 minutes) et la concurrence avec d'autres micro-organismes est bonne.

De nombreux facteurs tels que le climat (la température) et les habitudes alimentaires (poisson consommé cru ou insuffisamment cuit, au Japon par exemple) influence la fréquence de *V. parahaemolyticus* dans l'environnement (9).

### **(9). \* Toxinogénèse**

La toxine produite par *V. parahaemolyticus* est une hémolysine thermostable (VP-TDH) détectable par le test de Kanagawa.

Il s'agit d'une endotoxine, produite une fois que la bactérie ingérée se trouve dans le tube digestif de l'homme.

Ce facteur TDH a été détecté chez d'autres espèces de vibrio : *V. hollisae*, *V. cholerae* et *V. mimicus* (32).

### **- Clostridium botulinum**

## **\*Ecologie**

*Clostridium botulinum* est un germe tellurique, dont la spore est présente dans le sable et les boues marines. Cette bactérie est de ce fait un hôte normal du tube digestif des poissons (44).

Sa présence, dans le poisson frais, en faible nombre est sans danger. Ce germe devient dangereux, quand les conditions de stockage ou de production permettent une germination des spores et une production de toxine.

Il existe sept types de *Clostridium botulinum* (type A à G) mais seul le type E est rencontré dans le poisson et les produits de la pêche.

Cependant, l'homme peut être affecté par la toxine botulinique produite par les bactéries de type A, B, E et F alors que celle du type C affecte surtout les oiseaux aquatiques et celle du type D, le bétail.

## **\*Toxinogénèse**

Tous les produits frais de la pêche constituent un milieu très favorable à la croissance et à la production de la toxine par les souches non protéolytiques psychrotropes (types E, B, F), (21, 23, 24)

La vitesse de synthèse des toxines augmente avec la température quand celle-ci dépasse 3.3°C, avec une production maximale à 25-30°C. Toutefois, le taux de production de la toxine botulinique est fortement subordonné à la charge effective en spores.

Selon OHYE et SCOTT (1957), cité par HUSS (21), la toxine produite est très thermolabile. Elle est complètement détruite à pH neutre en cinq minutes entre 60 et 80°C. Une étude plus complète de LICCIARDELLO ET all. (1967) cité par le même auteur (21) a permis de conclure que la cuisson du poisson est suffisante pour inactiver toute toxine préformée.

Par contre HUSS et RYE PETERSEN (1980) ont montré qu'à faible pH ou en milieu salé, cette toxine devient extrêmement stable , d'où le danger du poisson cru transformé où la toxine a été préformée (9, 21, 24).

#### **II.4.3.2.2. Flore pathogène d'origine humaine ou animale**

Il s'agit là de bactéries appartenant au groupe des *Entérobactériaceae*. Ce groupe comprend des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont *Escherichia coli* et les salmonelles. Nous nous limiterons uniquement dans l'étude d'*Escherichia coli*.

##### **- *Escherichia coli* verotoxinogène (VTEC)**

*E. coli* est le chef de file des coliformes.

Selon de nombreux auteurs GUIRAUD (18, 19), HUSS (21), *E. coli*, bactérie commensale du colon de l'homme et des animaux, peut au même titre que *Salmonella*, contaminer les produits de la pêche et occasionner des troubles graves chez le consommateur des produits halieutiques.

*E. coli* est souvent associé aux salmonelles. C'est pourquoi les bactéries coliformes sont considérées comme des témoins de contamination fécale.

#### **II.4.4. Localisation des bactéries des poissons**

Les micro-organismes se rencontrent sur toutes les surfaces externes en contact direct avec l'eau de mer polluée (17, 20, 23).

Dans le poisson, les bactéries ont une localisation plus ou moins élective. On les rencontre au niveau de la peau, des branchies, mais également dans l'intestin par le biais de l'alimentation.

Les branchies et la peau se contaminent par contact direct avec une eau de mer polluée, lors de la respiration et des déplacements du poisson dans son eau de mer natale (23, 36).

Selon de nombreux auteurs (23, 44), la chair du poisson est stérile du vivant de l'animal. La charge microbienne du poisson vivant ou fraîchement capturé est très variable.

Selon DHAOUI (13), les charges bactériennes moyennes pour le poisson venant d'être capturé varient de :

- $10^2$  à  $10^5$  germes par  $\text{cm}^2$  pour la peau
- $10^3$  à  $10^7$  germes par gramme pour les branchies
- $10^3$  à  $10^8$  germes par gramme pour le contenu intestinal.

Cette grande variabilité reflète l'effet de l'environnement et de l'alimentation du poisson.

Les diverses espèces bactériennes prolifèrent après la mort du poisson vers les tissus les plus fragiles et également vers tous les éléments proches des branchies et du tube digestif.

#### **II . 4.5. Voies de pénétration (6).**

Les bactéries contaminant le poisson ont trois voies de passage :

- la voie branchiale par le biais de la respiration,
- la voie cutanée lors de leur déplacement dans l'eau,
- la voie digestive par le biais de l'alimentation.

La voie cutanée ne peut être franchie que lorsqu'il y a au niveau de celle-ci des lésions créées par les parasites externes ou les manipulateurs.

#### **II.4.6. Facteurs influençant la contamination bactérienne du poisson**

La contamination bactérienne du poisson est sous l'influence de facteurs inhérents à l'espèce ou facteurs intrinsèques mais également de facteurs extrinsèques ou environnementaux.

##### **II.4.6.1. Facteurs intrinsèques**

La biologie de l'espèce est le principal facteur intrinsèque qui influence la contamination initiale du poisson. De nombreux auteurs (17, 20, 23) ont montré que les bactéries qui, initialement se trouvaient sur les surfaces externes, peuvent par le biais de l'alimentation et de la respiration, se retrouver au niveau des intestins et des branchies. Les espèces benthiques qui vivent au contact des fonds vaseux et sableux, seront donc plus contaminées que les espèces pélagiques (36).

#### **II.4.6.2. Facteurs extrinsèques**

##### **II.4.6.2.1. Influence de la zone de pêche**

L'influence de la zone de pêche sur la contamination initiale est notoire. Son effet apparaît à travers des facteurs tels que : la température, la salinité et le degré de pollution.

SHEWAN (47) a montré que la flore du poisson capturé en zone tropicale était différente de celle du poisson des mers tempérées et ceci en comparant leur aptitude de stockage sous glace.

D'autres auteurs ont montré que la charge bactérienne était plus élevée chez le poisson provenant de zone polluée avec un risque plus important de rencontrer des bactéries pathogènes pour l'homme.

En haute mer la microflore est dominée par les psychrotrophes (14).

##### **II.4.6.2.2. Influence du mode de capture**

Dans la pêche de chalut de fond, le poisson est traîné dans le fond pendant des périodes pouvant atteindre trois à quatre heures. Comme les sédiments recèlent généralement de grandes quantités de bactéries, cette méthode entraîne une augmentation considérable, parfois de l'ordre du centuple, de la population microbienne du revêtement cutané du poisson.

La pêche pratiquée au moyen de divers engins pélagiques tels que les filets de dérive, les sennes à poche, ne présentent pas cet inconvénient. Toutefois,

lorsqu'un filet de quelque type que ce soit est remonté et établi sur le pont, les poissons subissent inévitablement une compression, provoquant la libération des matières intestinales responsables d'une contamination croisée.

Les méthodes de pêche commerciales, notamment celles qui utilisent les filets de dérive exposent encore plus les poissons à cette contamination. En effet, les poissons ne sont retirés de l'eau que longtemps après leur mort.

Le phénomène est particulièrement grave dans les régions tropicales, où le poisson peut sérieusement se dégrader avant son extraction de l'eau avec possibilité de dissémination des bactéries viscérales vers la chair (14). Selon GOUSSET, la sole tigrée, poisson de l'étude, est capturée soit au chalut de fond, soit aux filets maillants de fond calés, le risque de contamination de ce fait est non négligeable (18).

## **CHAPITRE III : ELEMENTS DE SYSTEMATIQUE BACTERIENNE**

### **III.1. Systématique bactérienne**

#### **III.1.1. *Vibrionaceae***

La famille des *vibrionaceae* a été décrite par VERON en 1965 (28). Cette famille comprend quatre genres principaux à savoir :

- le genre *vibrio*,
- le genre *beneckea* encore appelé *v. halophiles*,

-le genre *Plesiomonas*,

-le genre *Aeromonas*.

Cette famille est caractérisée par des bacilles habituellement fins, légèrement incurvés ou allongés, de 0.3 à 1.3  $\mu\text{m}$  de diamètre contre 1.4 à 5.0  $\mu\text{m}$  de long (11). Ce sont des bactéries Gram négatif, peuvent être mobiles grâce à un flagelle polaire ou immobiles. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies, réduisant les nitrates en nitrites et fermentant le glucose avec ou sans gaz. Elles sont oxydase positive (37).

### **- le genre *vibrio***

Le genre *vibrio* regroupe des espèces souvent saprophytes des eaux et quelques espèces très pathogènes qui peuvent contaminer essentiellement les produits marins (20).

Les bactéries appartenant à ce genre ont un certain nombre de caractéristiques qui leur sont particulières.

Ce sont des bactéries asporulées, Gram négatif, incurvées en virgule ou allongées, mobiles par un ou plusieurs flagelles polaires, ils sont aérobies facultatifs et ont un diamètre variant de 0.5 à 0.8  $\mu\text{m}$  et une longueur de 1.4 à 2.6  $\mu\text{m}$ .

Leur température optimale de croissance est de 20-30°C pour les saprophytes et de 37°C pour les pathogènes.

L'une de leur caractéristique essentielle est qu'ils se multiplient dans les milieux à pH alcalin 7 à 9.

Ils sont oxydase positive, catalase positive, généralement nitrate réductase positive. Ils possèdent un métabolisme fermentatif des sucres sans production de gaz.

Ils existent des espèces saprophytes ou parasites des poissons, que l'on appelle globalement « vibrions des eaux ». Les *vibrios* sont de ce fait rencontrés dans

l'eau de mer et des estuaires à des salinités différentes (11), et des espèces pathogènes pour l'homme. Il s'agit essentiellement de :

\**vibrio cholerae*, agent du cholera

\**vibrio parahaemolyticus*, agent responsable des toxi-infections alimentaires par contamination du poisson et des produits de la pêche

\**vibrio vulnificus*, à l'origine des septicémies mortelles

**Tableau V** : composition actuelle du genre *vibrio*

Espèces pathogènes pour l'homme	Espèce non pathogène pour l'homme
<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. aesturianus</i>
<i>V. cholerae</i>	<i>V. anguillarum</i>

<i>V. carchariae</i>	<i>V. cammpbellii</i>
<i>V. cincinnatensis</i>	<i>V. costicola</i>
<i>V. fluvialis</i>	<i>V. diabolicus</i>
<i>V. furnissii</i>	<i>V. diazotrophicus</i>
<i>V. hollisae</i>	<i>V. fischeri</i>
<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. gazogènes</i>
<i>V. mimicus</i>	<i>V. harveyi</i>
<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. ichtyoenteri</i>
<i>V. vulnificus</i>	<i>V. iliopiscaius</i>
	<i>V. logei</i>
	<i>V. marinus</i>
	<i>V. mediterranei</i>
	<i>V. mytili</i>
	<i>V. navarrensis</i>
	<i>V. natriegenes</i>
	<i>V. nereis</i>
	<i>V. nigripulchritudo</i>
	<i>V. ardalii</i>
	<i>V. orientalis</i>
	<i>V. pelagius</i>
	<i>V. penaeicida</i>
	<i>V. proteolyticus</i>
	<i>V. salmonicida</i>
	<i>V. scophtalmi</i>
	<i>V. splendidus</i>
	<i>V. tapetis</i>
	<i>V. trachuri</i>
	<i>V. tubiashii</i>

**Source** : (27)

### **III.1.2. *Pseudomonaceae***

- genre *pseudomonas* (37)

Le genre *pseudomonas* comprend des bacilles habituellement fins, rectilignes ou plus rarement incurvés. Ces sont des bactéries sporulées et acapsulées.

Ce sont des bactéries Gram négatif, de 0.5 à 1.0  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1.5 à 5.0 $\mu\text{m}$  de long. Elles sont mobiles grâce à une ciliature polaire. Ce sont des aérobies stricts réduisant les nitrates et possédant un métabolisme glucidique de type oxydatif ou dénués d'action sur le sucre, elles possèdent une catalase positive, elles sont peu exigeantes, se multiplient sur milieux synthétiques simples avec comme sources d'azote et de carbones de l'ammoniac et du glucose.

Elles peuvent utiliser pour leur respiration les nitrates comme accepteurs d'hydrogène lorsqu'elles se trouvent en conséquence dans les milieux anaérobies contenant des nitrates (37).

La plupart des espèces sont capables de croître à des conditions d'acidité (pH 4.5) et ne nécessitent pas des facteurs de croissance organiques.

Largement reparties dans la nature, quelques espèces sont pathogènes pour l'homme et les animaux. L'espèce type rencontrée est : *pseudomonas aeruginosa*.

### **III.1.3. Genre *Clostridium***

C'est un bacille Gram positif, anaérobie strict, presque toujours mobile, sporulé.

*Clostridium botulinum* est une espèce saprophyte, pathogène occasionnelle ou très pathogène. C'est un agent du botulisme.

*Clostridium botulinum* est un bacille de 4 à 6  $\mu$  sur 1  $\mu$  à l'extrémité arrondie, mobile grâce à la présence d'une ciliature peritrichie. En quelques jours apparaît une spore ovoïde, déformante, subterminale. Il se développe à la température optimale de 25°C ; le pH optimal est légèrement alcalin (8.2 – 8.5).

*Clostridium botulinum* élabore une toxine protéique dont une partie seulement diffuse dans le milieu extérieur (37).

### **III.1.4. Entérobactéries (20)**

Cette famille contient plusieurs germes comportant de nombreuses espèces qui sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Ces bactéries sont fréquemment des contaminants alimentaires d'origine fécale, capables de dégradation importante. Certaines espèces sont pathogènes, responsables d'intoxications ou de toxi-infections.

Ces entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, de dimension moyenne variant de 0.5 sur 3 $\mu$ m. Elles sont oxydase négatif, asporulées. Elles réduisent les nitrates en nitrites et fermentent le glucose avec ou sans gaz ; Elles sont anaérobies facultatifs.

Certaines espèces sont mobiles grâce à une ciliature peritriche, d'autres pas.

Les principales entérobactéries rencontrées dans l'industrie alimentaire appartiennent aux genres :

-*Escherichia*

*Klebsiella*

-*Proteus*

#### \* genre *Escherichia*

Ce sont des bactéries de 1.1 à 1.5  $\mu$ m de diamètre et 2.2 à 6.0  $\mu$ m de long. Regroupées par paires ou isolées, capsulées ou micro capsulées. Elles sont Gram négatif, mobiles par une ciliature peritriche ou immobiles. Le D-glucose et d'autres hydrates de carbone sont catabolisés avec formation d'acide et de gaz.

Le genre *Escherichia* fait partie des coliformes caractérisés par leur aptitude à fermenter le lactose. Ils présentent en plus deux propriétés liées à leur habitat, l'aptitude à se multiplier à 44°C et l'aptitude à le faire en présence des sels biliaires ou d'autres agents tensioactifs, ayant des propriétés analogues à la même température en 24 heures au moins.

*Escherichia* est un coliforme thermotolérant qui produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C en 24 heures.

Les espèces *Escherichia* sont :

- oxydase négatif
- catalase positif
- rouge de methyl positif
- H<sub>2</sub>S, uréase et lipase négatifs.

Les espèces d'*Escherichia* réduisent les nitrates et fermentent un certain nombre de sucres.

L'espèce est *Escherichia coli*.

### **III.2. Classification des bactéries en fonction de leur température de croissance**

De nombreux auteurs ROZIER, BOLNOT, CARLIER (42), ROSSET (40) subdivisent les bactéries en trois groupes en fonction de leur température de croissance :

- le groupe des mésophiles
- le groupe des thermophiles
- le groupe des psychrotrophes

#### **III.2.1. Bactéries mésophiles**

Le groupe des mésophiles, comprend des bactéries aussi bien pathogènes que d'altération des aliments. Ces bactéries se développent à des températures modérées, avec un optimum situé entre 30 et 45°C et une température minimum de croissance de l'ordre de 5 à 10°C. A température optimale et dans un milieu favorable, le temps de génération des germes mésophiles est de moins d'une demi heure (23, 40, 46).

#### **III.2.2. Bactéries thermophiles**

Leur température optimale de croissance est habituellement située entre 55 et 75°C, avec une température maximale de croissance de 75- 90°C. Ces bactéries ne se développent plus en dessous de 35°C.

Selon ROZIER et all. (42), il est possible, sans préjuger de la température optimale, d'employer les termes thermotrophes, mésotrophes et psychrotrophes ou cryotrophes pour des germes se développant au dessus de 45°C, entre 20 et 45°C ou en dessous de 20°C.

Ainsi dans de nombreux ouvrages, la distinction entre le suffixe « phile » et « trophe » n'est pas faite.

Les principaux germes thermophiles, appartiennent au genre *clostridium*, *bacillus*, *lactobacillus* et *streptococcus*. Une incubation à 55°C permet de les isoler.

### **III.2.3. Bactéries psychrophiles**

Beaucoup d'auteurs ont classé dans le groupe des psychrophiles tout organisme capable de se développer à 0°C, sans tenir compte de leur température optimale de croissance.

D'autres auteurs tels que INGRAHAM et STOKE (1959) cité par l'I.C.M.S.F (23) ont séparé les organismes thermosensibles des psychrophiles obligatoires (température optimale inférieure à 20°C) et des psychrophiles facultatifs (température optimale avoisinant 20°C).

MORITA (1975), cité par l'I.C.M.S.F (23) parvient à définir une température optimale de croissance pour les psychrophiles située en dessous de 15°C, avec un minimum de 0°C et un maximum de 20°C.

Selon ces même auteurs, les organismes capables de se développer en dessous de 0°C et ayant des températures optimales et maximales supérieures à celles requises pour le développement des psychrophiles, sont appelés des psychrotrophes.

Les germes psychrotrophes.

Les germes psychrotropes des altérations sont représentées par les bactéries Gram négatif, aérobies tels que les pseudomonas qui sont souvent d'origine hydrique, mais aussi par des coccies et bâtonnets à Gram positif.

**Tableau VI** : Temps de génération de deux germes psychrotropes

Température	<i>Pseudomonas</i> (non fluorescent)	<i>Mycobactérium</i> (ou <i>Brochothrix</i> )
15°C	2 heures	2.8 heures
10°C	2.8 heures	3.4 heures
5°C	5.1 heures	7.3 heures
2°C	7.6 heures	12 heures

**Source** : (36)

## **CHAPITRE IV : CONSEQUENCES ECONOMIQUES ET SANITAIRES DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE DU POISSON**

### **IV.1. Conséquences économiques**

Les conséquences économiques relèvent de la contamination du poisson frais par les germes d'altération.

LISTON démontre que les micro-organismes sont les principaux responsables de l'altération des produits de la mer.

En effet, selon le même auteur, un muscle prélevé stérilement, et maintenu à 0°C, se conserve plus de six semaines sans modifications organoleptiques détectables (29).

#### **IV.1.1 Altération**

L'altération est due à des bactéries selon BOURGEOIS, LEVEAU (9) et l'I.C.M.S.F (23), les *Pseudomonas*, *Alteromonas* sont responsables de l'altération du poisson à basse température.

SHEWAN (47) cite les bactéries en bâtonnet à Gram négatif, *Aeromonas putrefaciens* et certains *pseudomonas* mais également *vibrio alginolyticus* et *Aeromonas*, comme agents incriminés dans l'altération du poisson réfrigéré.

Des auteurs tels que ADAMS et all. Cités par HUSS (21), ont montré qu'initialement les germes d'altération (capables de produire les odeurs et flaveurs caractéristiques des produits altérés) ne constituent qu'une très faible proportion (moins de 10%) de la contamination initiale.

Par contre, leur pourcentage augmente pendant le stockage sous glace, car ils possèdent des temps de génération courts aux températures de réfrigération (10 à 20 heures à 0°C) et sont capables d'utiliser de nombreux constituants de la chair. L'OTMA (oxyde de triméthyl amine) agit dans le cas comme agent sélectif de croissance.

La majeure partie de la flore du poisson altéré est constituée d'*Altéromanas putrefaciens* (21).

Ainsi, l'altération superficielle et profonde associent leurs effets pour transformer les caractéristiques du poisson. Ces effets provoquent des modifications localisées ou généralisées des caractères organoleptiques (aspect, consistance, couleur, odeur et goût), entraînant ainsi une perte de la qualité marchande des poissons (26).

## **IV.2. Conséquences sanitaires**

Les bactéries pathogènes des produits de la pêche et/ou leurs toxines provoquent généralement par ingestion des intoxications ou toxi-infections alimentaires.

### **IV.2.1. les vibrioses**

Les Vibrios sont souvent à l'origine des phénomènes pathologiques chez l'homme. Il s'agit de deux espèces :

- V.cholerae*, responsable du cholera,
- V.parahaemolyticus*, responsable des gastro-enterites,
- d'autres sont responsables d'infections banales.

#### **IV.2.1.1. Cholera**

Des études épidémiologiques ont permis de rapporter une épidémie de cholera, suite à la consommation de poissons crus. D'autres études, effectuées par DE ARAOZ et all. Ont montré que le *V. cholerae* survit dans les poissons et les fruits de mer pendant une à deux semaines minimum dans le réfrigérateur (14).

Le temps d'incubation de la maladie est généralement inférieur à 24 heures, mais peut parfois aller jusqu'à cinq jours. Très peu de germes suffisent pour rendre malade.

*V.cholerae* se multiplient dans l'intestin grêle où il produit une entérotoxine qui provoque une stimulation de la sécrétion des chlorures, accompagné d'une perte

liquidienne intense riche en potassium et en bicarbonates, entraînant un choc hypovolémique.

La dose infectante est de 100 à 1000 *Vibrio cholerae*.

Les symptômes sont essentiellement des crampes abdominales, avec une diarrhée aqueuse surabondante, nausées et vomissements occasionnels. Ces symptômes rappellent ceux observés dans les cas d'intoxications à *V.parahaemolyticus*, mais sont plus graves dans le cas du cholera.

La mort survient lorsque le déficit liquidiens devient supérieur à 12% du poids du corps.

#### **IV.2.1.2 Gastro-entérite à *Vibrio parahaemolyticus***

*V.parahaemolyticus* fait l'objet d'une attention croissante depuis sa mise en cause en 1957 dans le déclenchement au Japon d'intoxications alimentaires consécutives à la consommation de poisson. Dans ce pays on le considère responsable de plus de 50% de la morbidité d'origine alimentaire (21, 23).

Selon SEYDI et coll. (45), *v. parahaemolyticus* a été récemment isolé chez 30 malades au cours de l'épidémie du cholera, survenue au Sénégal en décembre 1978 et janvier 1979, suite à la consommation du poisson ou de fruits de mer (crevettes langoustes).

Cependant, toutes les souches de *V.parahaemolyticus* ne sont pas pathogènes pour l'homme. Les souches pathogènes produisent une hémolysine qu'on croyait être à l'origine des intoxications alimentaires, mais on pense aujourd'hui que c'est la production d'entérotoxine qui est plus vraisemblablement à incriminer.

Des travaux récents, effectués en 1985 par SEYDI et coll. (45) ont montré que, contrairement aux souches isolées chez l'homme, celle isolées du poisson, notamment celle trouvées au Sénégal ne sont pas hémolytiques.

Pour ce qui est de la répartition dans le temps, les intoxications à *V. parahaemolyticus* semblent être plus fréquentes par temps chaud et être étroitement liées à l'ingestion de produits de la mer crus.

Dans l'aliment contaminé, les vibrios prolifèrent plus vite que de nombreux autres agents pathogènes, mais ils sont généralement détruits par congélation.

*V. parahaemolyticus* se multiplie très rapidement sur les poissons frais en saison chaude avec un temps de génération de 12 minutes (14).

Les symptômes sont souvent ceux d'une gastro-entérite survenant après 4 à 30 heures d'incubation, suite à l'ingestion de l'aliment contaminé. Il s'agit de :

Diarrhées, crampes abdominales, parfois une légère fièvre inférieure à 40° C.

Ces symptômes disparaissent au bout de 3 à 5 jours chez la moitié des patients mais peuvent persister pendant 5 à 7 jours chez d'autres.

Dans le cas le plus grave, la diarrhée est aqueuse avec du mucus et des traces de sang (14).

Les tableaux VI et VII décrivent les symptômes observés lors d'épidémies survenues aux USA dans deux localités différentes et la proportion des malades présentant un type de symptôme donné.

**Tableau VII** : Cas de l'épidémie de l'état de Maryland (USA)

Symptômes	Nombre de malades présentant les symptômes
Diarrhées	100%
Crampes abdominales	26%
Nausées et vomissements	26%
Fièvre	23%

**Source :** (20)

**Tableau VIII** : Cas de l'épidémie de Port-allen (Louisiane, USA)

Symptômes	Nombre de malades présentant les symptômes
Diarrhée	95%
Crampes abdominales	91%
Nausées	72%
Frissons	55%
Fièvre	48%
Migraine	48%
Vomissements	12%

**Source :** (20)

#### **IV.2.2. Intoxication due à *Clostridium botulinum* (15)**

Des sept types de toxines botuliniques, c'est le type E qui intervient le plus fréquemment dans les intoxications provoquées par le poisson et les fruits de

mer, car les spores de *clostridium botulinum* de type E sont cosmopolites et largement répandues dans les eaux douces et salées.

Les signes cliniques s'observent après une période d'incubation qui varie de quelques heures à 5 jours.

La période d'invasion est marquée essentiellement par des troubles oculaires, sécrétoires (sécheresse de la bouche et du pharynx) et par une gêne de la déglutition. A la période d'état on observe :

- des troubles oculaires qui s'accentuent jusqu'à la paralysie de l'accommodation (mydriase bilatérale) ;
- des troubles bucco-pharyngés qui deviennent constants ; la paralysie du voile du palais est moins fréquente.
- des signes plus rares peuvent apparaître tels que la constipation par diminution des sécrétions digestives, paralysies musculaires, rétention urinaire et tachycardie ;
- des signes généraux tels que faiblesse, fatigue, amaigrissement.

#### **IV.2.3. les Colibacilles (36)**

*Escherichia coli*, hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur ; sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente.

*Escherichia coli* peut être pathogène :

Chez l'homme, on retrouve cette bactérie surtout dans les infections urogénitales mais aussi dans des syndromes digestif, circulatoire et pulmonaire.

Ces affections sont dues à des colibacilles commensaux qui acquerront occasionnellement un pouvoir pathogène à l'occasion d'une modification de terrain.

Cependant, il apparaît également des cas différents de colibacilles dit entéro pathogènes qui sont des agents de gastro-entérites redoutables chez l'enfant.

## **PARTIE II : EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES**

### **I.1. MATERIEL BIOLOGIQUE OU ANIMAL**

Le matériel animal qui a servi à la réalisation de ce travail est constitué par la sole entière *Synaptura cadenati*) capturé le jour même par les piroguiers débarquant à la plage de Hann. Ces poissons sont communément appelés par les mareyeurs des « pièces du jour » (Photo 1 et 2)

### **I.2. MATERIEL TECHNIQUE**

Le matériel de travail est celui habituellement utilisé dans les laboratoires de microbiologie alimentaire.

#### **I.2.1. Matériel de prélèvement**

- thermomètre à infra rouge,
- glacière de 15 litres,
- 3 générateurs de froid ou carboglace.

#### **I.2.2. Matériel de laboratoire**

- matériel de stérilisation : autoclave, four Pasteur
- matériel utilisé pour la prise d'essai : couteaux, ciseaux, pinces, sachets Stomacher<sup>ND</sup> stériles, portoir pour sachets, balance électronique.
- matériel d'analyses : tubes à essais, boites de pétri, milieux de culture, réactifs et pipettes
- matériel d'incubation : réfrigérateurs, étuves à (30°C et 37°C)
- broyeur Stomacher<sup>ND</sup>
- verreries et accessoires ...



**Photo 1 : Echantillon de *Synaptura cadenati* face australée**



**Photo 2 : Echantillon de *Synaptura cadenati* face aveugle**

## **I.3. Méthodes**

### **I.3.1. Echantillonnage**

#### **I.3.2.1. Protection des échantillons**

Les poissons sont achetés vivants le jour même de l'analyse. Le transport des échantillons s'effectue sous froid. Pour se faire, on utilise une glacière contenant 3 générateurs de froid ou carboglace. Cette mesure permet d'éviter la pullulation des germes.

#### **I.3.2.2. Préparation des échantillons**

##### **I.3.2.2.1. Prise de température**

La prise de température est effectuée à l'aide d'un thermomètre à infra rouge permettant l'obtention de la température à cœur. Cette température du poisson frais stocké sous glace, doit être au maximum égale à 7-8°C.

##### **I.3.2.2.2. Pelage**

Il est encore appelé dépeçage. C'est une opération qui consiste à enlever la peau du poisson. Cette opération succède le rinçage et l'égouttage. Ces opérations ont pour but de diminuer la charge microbienne au niveau de la peau, afin d'éviter toute contamination croisée avec la chair lors des prises d'essai.

##### **I.3.2.2.3. Préparation des prises d'essai**

La prise d'essai est la quantité de chair ou de branchies prélevée pour l'analyse microbiologique.

Deux types de prélèvements ont été effectués pour réaliser la suspension mère : Au niveau de la chair et au niveau des branchies. Ces prélèvements ont été en commençant par le site le moins contaminé (la chair) vers le site le plus contaminé (les branchies).

#### - Prélèvement de la chair

Le prélèvement de la chair est réalisé sous une source de chaleur. La chair est incisée, en profondeur à coté de l'arrête centrale avec une paire de ciseaux, puis prélevée à l'aide d'une pince stérile.

#### -Prélèvement des branchies

Le prélèvement au niveau des branchies a été effectué selon deux méthodes :

\*la première consiste à prélever le mucus recouvrant les branchies (c'est l'écouvillonnage)

\*la deuxième consiste à sectionner les branchies au niveau de leur insertion.



**Photo 3 : Prélèvement de la chaire**

### I.3.3. Protocole d'Analyses microbiologiques

#### I.3.3.1. Préparation de la suspension mère

La préparation de la suspension mère consiste à prélever :

10g de chair ou de branchies, à les introduire dans un sachet stomacher<sup>ND</sup> stérile et à ajouter 90 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) ou de bouillon cœur-cervelle (BCC).

Le contenu du sachet est homogénéisé par broyage pendant 3 minutes au stomacher<sup>ND</sup>. La suspension ainsi obtenue est appelée suspension mère, celle-ci est ensuite laissée au repos pendant 45 minutes pour revivification des bactéries, stressées par choc exercé lors du broyage. A partir de la solution mère à  $10^{-1}$ , on réalise des dilutions décimales successives ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ...) en prélevant 1 ml de la solution précédente qu'on introduit dans un tube contenant 9 ml de diluant (EPT ou BCC).

La dilution de la solution mère est obtenue en réalisant le rapport :

Poids de l'aliment

Volume total (diluant + aliment)



**Photo 4 : Revivification des solutions mères**

### **I.3.3.2. Ecouvillonnage branchial**

Cette méthode consiste à prélever le mucus recouvrant les branchies. Celui-ci est récupéré dans des tubes contenant 5 ml de Bouillon cœur cervelle (BCC). Le tout est homogénéisé par agitation mécanique au vortex

### **I.3.4. Micro-organismes recherchés**

Pour l'étude de la contamination initiale du poisson, nous avons recherché 5 groupes de bactéries adaptées aux conditions de vie du milieu aquatique.

Au niveau de la chair il s'agit :

- *Vibrio*
- Flore aérobie psychrotrophe (FAP)
- Flore mésophile aérobie totale (FMAT)
- *Pseudomonas*

Au niveau des branchies il s'agit de :

- *Vibrio*
- Flore aérobie psychrotrophe (FAP)

- Flore mésophile aérobiose totale (FMAT)

-*Pseudomonas*

- Entérobactéries

#### **I.3.4.1. Recherche des *Vibrios***

Les *Vibrios* sont des germes typiques qui peuvent être isolés du poisson fraîchement capturé et n'ayant subit aucune manipulation. Leur recherche est de ce fait primordiale dans l'étude de la contamination initiale du poisson.

##### **I.3.4.1.1. Principe**

La recherche des bactéries du genre *Vibrio* se fait en plusieurs étapes successives, comme suit :

a) Enrichissement

Le BCC est utilisé comme milieu d'enrichissement à raison de 90 ml pour 10g de chair dans le sachet Stomacher<sup>ND</sup>. Le BCC est aussi mis dans les écouvillons de 5ml pour la recherche des *Vibrios* au niveau des branchies. Après homogénéisation, les écouvillons et les sachets contenant le BCC sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

b) Isolement

A l'aide d'une pipette pasteur ou d'une anse préalablement trempée dans la solution d'enrichissement, on réalise l'isolement par stries, en surface, sur le milieu TCBS.

Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

c) Lecture

Après incubation, deux types de colonies peuvent être obtenus sur milieux TCBS.

\* Des colonies rondes, jaunâtres, saccharose positif : *V.alginolyticus* , *V.cholerae* .

\* Des colonies rondes, vertes, saccharose négatif : *V. parahaemolyticus*.

Sur certaines boites, on peut avoir une coexistence des deux types de colonies.



**Photo 5 : Colonies isolées sur TCBS**

d) Purification

La purification des colonies se fait sur gélose nutritive salée (GNS).

A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève une colonie sur TCBS pour ensemencer les boites de GNS, en réalisant des stries superficielles. Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Sur ce milieu, on obtient des colonies blanchâtres qui seront ensuite identifiées.

e) Identification

L'identification des vibrios est basée sur l'exploitation des caractères morphologiques et biochimiques de la famille. Plusieurs techniques ont de ce fait été utilisées :

#### \*Coloration de Gram

Elle a été réalisée à l'aide d'un KIT Gram comprenant quatre éléments :

- .violet de genciane phenique
- .solution iodo-iodurée (lugol)
- .solution d'alcool acétone
- .solution de fushine de ziehl diluée.

On observe à l'immersion au microscope optique à l'objectif (x 100), des bactéries colorées en rose : Gram négatif.

#### \*Recherche de l'oxydase

A l'aide d'une anse bouclée, prendre une portion de la culture pure à partir de la gélose nutritive salée et la déposer en stries sur du papier filtre humecté de réactif à l'oxydase. L'essai est positif si la couleur vire au mauve, violet ou bleu intense dans les 10 secondes.

La recherche de l'oxydase permet de différencier au sein des bactéries Gram négatif, les Vibrios (OX+) et les entérobactéries (OX-).

Dans d'autres cas on peut utiliser des disques imprégnés d'oxalate de méthyl-paraphénolène-diamine pour la recherche de l'oxydase.

Le disque est déposé à l'aide d'une pince sur une colonie de la gélose GNS. La présence de l'oxydase se manifeste par une coloration violette.

Dans le cas de bactérie OX+, on poursuit l'identification.

### \*Composé vibriostatique O.129

Il permet de faire un diagnostic différentiel au niveau de la famille des vibrionaceae entre les *Vibrios* et les *Aeromonas*. La sensibilité ou la résistance à l'action vibriostatique de 2,4 diamino-6,7 diisopropylptéridine, encore appelé « composé vibriostatique O.129 » est recherchée dans ce test à l'aide de disque impregné.

On ensemence par inondation une gélose Mueller-Hinton (MH) ou GNS.

Après séchage au bout de 15 minutes à l'étuve, on dépose un disque en appuyant légèrement à l'aide d'une pince, pour en assurer l'adhérence avec la gélose.

Puis on incube à 30°C pendant 18 à 24 heures.

#### Lecture

L'absence de zone d'inhibition autour du disque traduit la résistance au composé vibriostatique : *Aeromonas*.

La présence de zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur ou égal à 15 mm traduit la sensibilité au composé vibriostatique O.129 : *Vibrio*.

### \*Test de l'halophilie

Ce test permet l'identification des Vibrios halophiles tels que : *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* par rapport à *V.cholerae* non halophile. Le milieu utilisé est le milieu E.P.I (Eau Peptonée exempte d'Indole) à différentes concentrations de Nacl.

### Mode opératoire

Dans chaque tube, on introduit 5 ml d'EPI à une concentration donnée de Nacl.

Parallèlement, une suspension de *vibrio* est effectuée comme suite :

Une colonie prélevée sur GNS est mise dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation, une goutte de cette suspension sert à inoculer chaque tube d'EPI. La lecture se fait 24 heures après incubation à 37 °C.

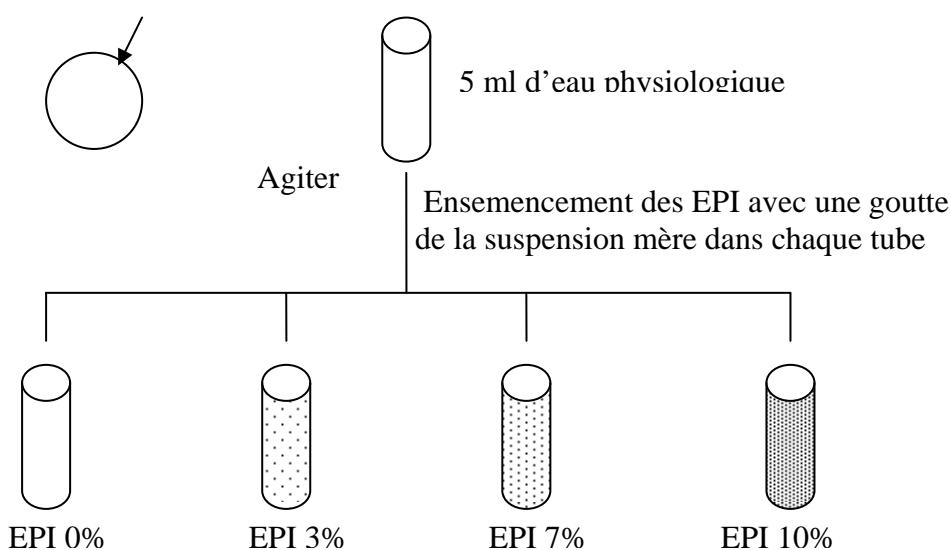
**Tableau IX** : Interprétation du test de l'halophilie

0% Nacl	3% Nacl	7% Nacl	10% Nacl	Vibrio correspondant
-	+	+	-	<i>V. parahaemolyticus</i>
-	+	+	+	<i>V. alginolyticus</i>
+	-	-	-	<i>V. cholerae</i>

+ = croissance

- = pas de croissance

Prélèvement d'une colonie  
avec une pipette Pasteur



#### **Figure 4** : Mode opératoire du test de l'halophilie

Source

\*Gélose chromagar

Les colonies de Vibrio, purifiées sur GNS, sont repiquées sur cette gélose en surface. On obtient après 24 heures d'incubation à 37°C :

- . soit des colonies pourpres : *V. parahaemolyticus*
- . soit des colonies blanchâtres : *V. alginolyticus*.

#### **I.3.4.2. Recherche et dénombrement de la flore d'origine marine**

Deux types de flores ont été dénombrés, en fonction de la température d'incubation :

- La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT),
- La Flore Aérobie Psychrotrophe (FAP).

Milieu de culture utilisé

Le milieu Plate Count Agar (PCA) est la gélose habituellement utilisée pour le dénombrement des deux flores.

## Mode opératoire

On transfère 1 ml de suspension de chacune des dilutions 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> dans des boites de pétri stériles. Le milieu PCA, fondu et refroidi au bain- marie à 45°C, est ajouté à l'inoculum à raison de 12 à 15 ml par boite. Ensuite, on homogénéise le mélange par des mouvements rotatifs et on laisse reposer.

Après solidification, une deuxième couche de 5 à 7 ml de PCA est ajoutée. Celle-ci est utilisée en raison de la faible sélectivité du PCA. Elle permet d'éviter l'envahissement de la surface de la boite par des germes contaminants qui rendraient la lecture difficile.

Les boites ayant la gélose solidifiée sont ensuite incubées, couvercle tourné vers la clayette de l'étuve à 30°C pour la FMAT pendant 48 à 72 heures, et à 5°C au réfrigérateur pour la FAP pendant 5 à 10 jours.

## Lecture

On dénombre toutes les colonies ayant poussé entre les deux couches à l'aide d'un compteur de colonies. La lecture se fait sur deux boites ensemencées avec des dilutions successives. Les colonies observées sont de couleur blanches laiteuses avec une forme de grain de riz.

Le résultat est exprimé en nombre de germes par gramme selon la formule suivante :

$$N = C/1,1 \times d$$

N= nombre de germes par gramme de produit

C= somme des colonies caractéristiques sur les deux boites retenues

d = taux de dilution de la première dilution retenue

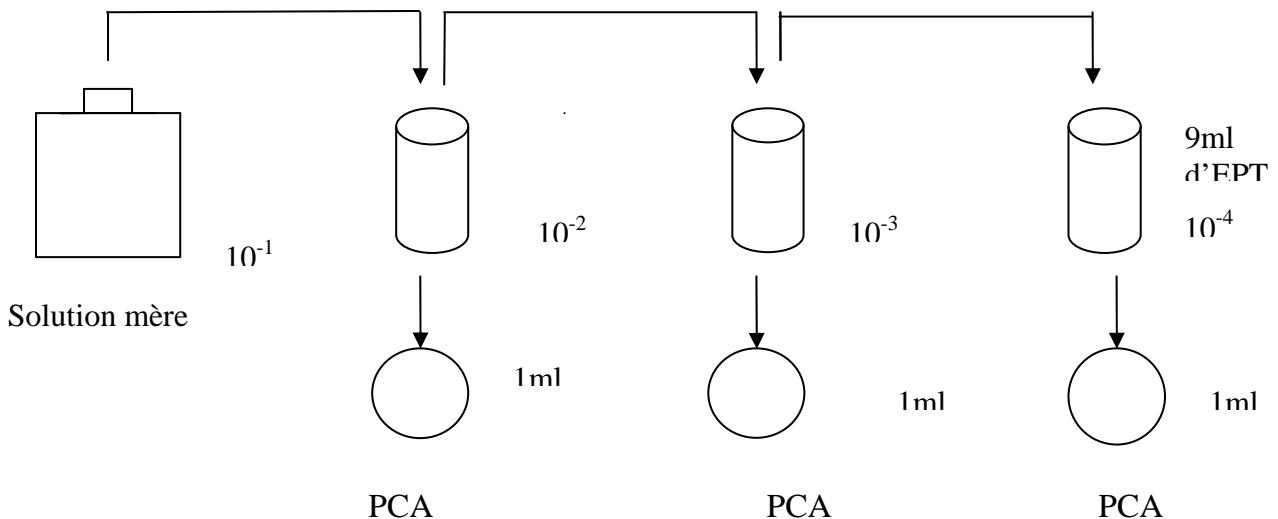
Il faut que  $C < 300$  et au moins  $C \leq 15$

1 ml  
1ml

1 ml

1 ml

1ml



**Figure 5** : Recherche et dénombrement de la FMAT à 30°C et de la FAP à 5°C.(NF V 08-051- Fév 1999

### I.3.4.3. Recherche et dénombrement des entérobactéries

Les entérobactéries ont été recherchées, aussi bien au niveau de la chair qu'au niveau des branchies.

#### Milieu de culture

La gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG) est utilisée pour le dénombrement des entérobactéries. Elle inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et pratiquement celle des autres bactéries à Gram négatif.

#### Mode opératoire

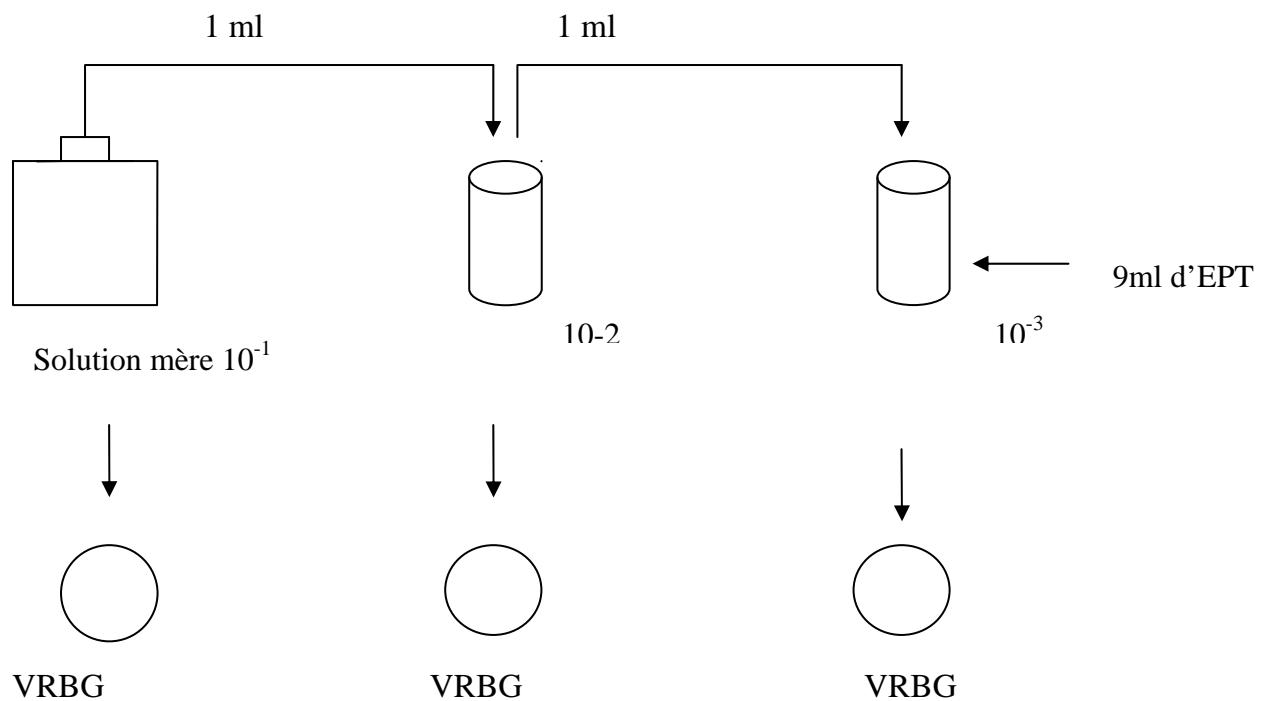
Les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  sont réalisées pour la chair alors que pour les branchies, qui ont un niveau de contamination plus important, les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  sont utilisées.

On prélève aseptiquement 1 ml de chaque tube de dilution que l'on dépose dans les boites de pétri. On coule ensuite, dans chaque boite 15 ml de VRBG. On homogénéise par des mouvements de rotation, puis on laisse reposer. Après solidification de la première couche, on coule la deuxième couche, à raison de 5 ml de VRBG. A l'incubation, les boites sont retournées, couvercle vers la clayette de l'étuve à 30°C.

#### Lecture

Après 24 heures d'incubation, on dénombre sur la gélose VRBG, les colonies rondes, rouges violacées, ayant un diamètre d'au moins 0.5 mm.

Le résultat est rapporté à l'unité de produit (gramme) selon la formule précédente.



**Figure 8** : Dénombrement des Entérobactéries (NF V 08- 06°- Mars 1996)



### Photo 6 : Lecture des colonies sur VRBG

#### Test de Mackenzie

*Escherichia coli* peut être caractérisé par le test de Mackenzie (fermentation du lactose et dégagement de gaz).

La production d'indole est mise en évidence à partir de la suspension bactérienne. Une goutte de cette suspension est introduite dans deux tubes, l'un contenant 10 ml de BLBVB (Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant) plus une cloche de Durham et l'autre contenant 5 ml d'EPI.

On homogénéise par agitation et on incube le BLBVB à 44°C pendant 24 heures et l'EPI à 37°C pendant 24 heures. Puis on procède à la lecture de la manière suivante :

- Le tube de BLBVB est positif (présence d'*E. coli*) quand il y a croissance bactérienne au fond du tube, turbidité du milieu et dégagement gazeux dans la cloche de Durham.

- La recherche de la production d'indole s'effectue en introduisant quelques gouttes de réactif de KOVACS dans le tube d'EPI. Un résultat positif se manifeste par l'apparition d'un halo rouge.

#### **I.3.4.5. Recherche et dénombrement des *Pseudomonas***

Les *Pseudomonas* sont les principaux germes d'altération du poisson sous glace.

##### **Milieu de culture**

Pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* encore appelé bacille pyocyanique, la gélose Pyocyanosel a été utilisée.

##### **Mode opératoire**

Sur la gélose pyocyanosel préalablement coulée et solidifiée dans des boites de Pétri on dépose en surface quelques gouttes de chaque tube à des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , Puis on étale les gouttes sur toute la surface des boites, et on incube les boites à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

##### **Lecture**

Les colonies obtenues sont vertes car cette coloration est due à la production par les bactéries d'un pigment vert : la pyoverdine.

## **Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION**

### **II . 1 Résultats**

**Tableau X** : Contamination de la sole tigrée par la FMAT

Valeurs en nombre de germes /g	Chair	Branchies
Valeur minimale	$0,18.10^3$	$2.10^3$
Moyenne	$6,69.10^3$	$35,54.10^4$
Valeur maximale	$2,62.10^4$	$5,45.10^4$

**Tableau XI** : Contamination de la sole tigrée par la FAP

Valeurs en nombre de germes /g	Chair	Branchies
Valeur minimale	0	$0,54.10^3$
Moyenne	$0,92.10^3$	$24,87.10^3$
Valeur maximale	$2,55.10^4$	$5,45.10^4$

**Tableau XII** : Contamination de la sole tigrée par les *Pseudomonas*

Valeurs en nombre de germes /g	Chair	Branchies
Valeur minimale	0	0
Moyenne	$0,45.10^2$	$10^2$
Valeur maximale	$1,37.10^3$	$3,9.10^3$

**Tableau XIII** : Contamination de la sole tigrée par les Entérobactéries

Valeurs en nombre de germes /g	Branchies	Chair
Valeur minimale	$0,54.10^3$	0
Moyenne	$1,09.10^4$	0
Valeur maximale	$2,72.10^4$	0

**Tableau XIV** : Contamination de la sole tigrée par les *Vibrios*

Pourcentage correspondant (%)	Chair	Branchies
Présence	65	79
Absence	35	21

**Tableau XV** : Contamination globale de la sole tigrée par les *Vibrios*

100 échantillons			
Positif		Négatif	
65		35	
<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	NI	Absence totale
54	3	8	24

NI : Non identifié (colonies caractéristiques obtenues sur TCBS, sensibles aux composés O.129, poussant sur EPI salée mais n'ayant pas pu être identifiées par le test d'halophilie).

## **II.2. Discussion**

### **II.2.1 Méthodologie**

Le choix de la méthode a d'abord été porté sur le type de prélèvement à effectuer sur le poisson, puis sur les types de bactéries à rechercher et enfin sur leur température d'incubation.

Ainsi, les types de prélèvement sélectionnés ont concerné la chair, qui est le produit de consommation et les branchies qui justifient le fait que de nombreux auteurs (21 ,23 ,36), ont affirmé que les bactéries retrouvés au niveau de la chair ont pour origine les sites initiaux de la contamination (tube digestif et branchies).

En ce qui concerne le type de bactéries recherchés, nous avons choisi d'étudier la flore globale qui à côté des vibrionaceae, constitue la flore dominante de la contamination primaire du poisson (95%) (3).

Par ailleurs des études réalisées au Sénégal par SEYDI et al. (44) et par d'autres auteurs au Japon et aux USA (26) nous ont surtout emmené à rechercher et à accorder une importance particulière à la famille des vibrionaceae.

### **II.2.2 Site de prélèvement**

Un seul site de prélèvement est choisi : il s'agit de la plage de Hann, située au Km5 boulevard du centenaire de la commune de Dakar.

Le choix de cette plage comme site de prélèvement se justifie par :

Sa proximité du laboratoire d'analyse (HIDAOA) de l'EISMV.

L'avantage d'y trouver des mareyeurs sensibilisés à l'importance du stockage sous glace du poisson.

En effet, ces derniers fournissent la matière première à certaines sociétés de pêche de la place.

L'assurance de pouvoir trouver quotidiennement chez les mareyeurs l'espèce utilisée dans l'étude.

### **II.2.3 La contamination bactérienne de la sole tigrée**

La discussion des résultats d'analyses bactériologiques consiste d'une part, à apprécier le niveau de contamination du poisson pour chaque groupe de germes recherchés par rapport aux sites de prélèvements (chair, branchies), et d'autre part, à comparer les résultats obtenus par les deux types de flore bactérienne psychrotropes et mésophiles. Signalons qu'il n'existe pas de critères microbiologiques pour la chair du poisson entier ; nous serons donc amenés dans certains cas pour nos comparaisons à utiliser les critères microbiologiques relatifs aux filets de poisson réfrigérés ou frais.

### **II.3.1 Appréciation globale du niveau de contamination du poisson**

La comparaison des résultats obtenus avec les critères microbiologiques définis par l'arrêté inter ministériel français du 21 décembre 1979 et les critères microbiologiques préconisés par l'ICMSF pour les produits de la pêche permet de faire un certain nombre d'observations. Ces observations intéressent les groupes de germes suivants :

- flore d'altération ,
- flore de contamination fécale,
- flore de contamination typiquement aquatique.

### **II.3.1.1 Flore d'altération**

#### **II.3.1.1.1. Flore mésophile aérobie**

La moyenne générale de l'ensemble des échantillons de poissons analysés est de  $6,69 \cdot 10^3$  germes / g de chair.

Cette moyenne est relativement basse lorsqu'on la compare aux résultats obtenus par CHAUVIN (12), KOVACEVIC (25), BERNADAC et coll. (8) et OUATTARA (34) soit respectivement  $4,9 \cdot 10^5$ ,  $13 \cdot 10^6$ ,  $0,93 \cdot 10^5$ ,  $1,73 \cdot 10^5$  germes/g de chair.

Le faible niveau de contamination de la chair des poissons frais que nous avons analysés par rapport aux résultats obtenus par CHAUVIN, KOVACEVIC, BERNADAC et coll. et OUATTARA n'est pas surprenant. En effet, de nombreux auteurs ont signalé auparavant que la chair du poisson frais est très faiblement contaminée à l'origine. Cependant, lorsque les conditions de stockage sont négligées, on assiste à une prolifération de bactéries à partir de leur localisation initiale (20,35). A cette flore interne va s'ajouter une flore externe résultant des différentes manipulations que subit la chair du poisson lors de sa transformation en filets.

Les résultats obtenus au niveau de la chair sont conformes alors que ceux obtenus au niveau des filets sont souvent acceptables ou non, conformes.

#### **II.3.1.1.2 Flore psychrotrophe**

La moyenne relative aux 100 échantillons de poissons étudiés est d'environ  $0,92 \cdot 10^3$  germes par gramme de chair. Ce résultat est inférieur à celui de BERNADAC et coll. (8) soit  $0,66 \cdot 10^5$  germes par gramme de chair. Le faible développement de cette flore résulte également du fait que la chair du poisson frais est très faiblement contaminée à l'origine.

En effet, la plupart de germes retrouvés dans la chair du poisson proviennent du tube digestif, des branchies et du mucus cutané (5,12). La séparation précoce de la peau avec la chair de poisson contribue à empêcher le transfert microbien.

### **II.2.1.1.3 Appréciation du niveau de contamination par les deux types de flore (FMAT, FAP)**

La moyenne de la FMAT obtenue au niveau de la chair est de  $6,69 \cdot 10^3$  germes par gramme, alors que pour la FAP elle est de  $0,92 \cdot 10^3$  par gramme de chair, donc de loin plus faible. La flore mésophile est environ 7 fois plus élevée que la flore psychrotrophe. Ces résultats confirment les travaux de nombreux auteurs (16, 19, 20,22) selon lesquels la flore du poisson des mers tropicales est à dominante mésophile. Selon SHEWAN (46) cité par HUSS (21), seuls 5% de la flore des poissons des pays tempérés seraient mésophiles alors que pour ceux capturés au large des côtes mauritaniennes représentent 55% pour la flore mésophile et 45% pour la flore psychrotrophe.

Cependant, la moyenne obtenue pour la FMAT au niveau des branchies est de  $35,54 \cdot 10^4$  germes par gramme.

Les branchies sont donc plus contaminées que la chair.

S'agissant de la FAP, les résultats obtenus montrent également une prédominance des bactéries au niveau des branchies par rapport à la chair, avec une moyenne de  $2,48 \cdot 10^4$  germes par gramme.

### **II.2.1.1.3 Appréciation de la contamination de la sole tigrée par les bactéries du genre *Pseudomonas***

Sur 100 échantillons de chair analysés, nous avons noté une rareté de *Pseudomonas*. Seuls 7 échantillons ont permis d'isoler *Pseudomonas* avec un nombre de colonies en moyenne de 45 germes par gramme contre une (????) gramme de branchies.

En effet, ceci confirme les travaux de nombreux auteurs (20, 22, 35) qui montrent que la localisation initiale de la flore d'altération du poisson, en particulier les *Pseudomonas* est surtout branchiale ou intestinale. C'est au cours de l'altération que les bactéries envahissent la chair.

### **II.2.1.2 Flore de contamination fécale**

#### **II.2.1.2.1 Contamination de la chair par les entérobactéries**

La chair de l'ensemble des échantillons analysés ne contient pas d'entérobactéries. Ceci vient confirmer les travaux de nombreux auteurs (22, 43) qui trouvent que la chair du poisson vivant, ou venant d'être capturé est tout à fait stérile. D'autres effectués par Taylor (35) pour sa part indique que les entérobactéries sont absents dans la chair. Ce sont des bactéries d'origine fécale qui se rencontrent au niveau du mucus de la peau et des branchies. Selon le même auteur, le poisson et les filets de poissons subissent de nombreuses manipulations après capture et avant consommation ; d'où sa contamination par les microorganismes essentiellement d'origine fécale.

En effet, tous les travaux qui ont porté sur la recherche des entérobactéries dans les filets de poisson ont permis de déceler des taux de contamination dépassant parfois les normes fixées (10 germes/gramme pur les filets réfrigérés). AZIBE (3) a obtenu pour 66,9 % des échantillons analysés une moyenne de  $6,25 \cdot 10^2$  germes par gramme de filet.

Ces résultats permettent de confirmer que la chair du poisson ne contiennent pas d'entérobactéries à l'origine. La présence de ces bactéries au niveau des filets est due à l'intervention de l'homme en général.

#### **II.2.1.2.2 Contamination des branchies par les entérobactéries**

Les recherches sont portées sur *Escherichia coli*. Elles ont abouti à 100% de branchies positives au test de Mackenzie avec une moyenne de  $1,09 \cdot 10^4$  germes par gramme. SEYDI (43) montre que la moyenne des bactéries au niveau des branchies lors de la contamination initiale est comprise entre  $10^3$  et  $10^6$

Ce groupe de germes est habituellement considéré comme témoin de contamination fécale, et leur présence au niveau des branchies reflète le degré de pollution du milieu marin.

#### **II.2.1.3 Flore de contamination typiquement aquatique**

Il s'agit essentiellement des bactéries du genre *Vibrio*.

Les vibrios sont présents à un taux de 65% dans la chair, alors que pour les branchies la contamination est plus importante avec un taux de 79%. Les tests d'identification effectués sur l'ensemble des échantillons ont montré que :

- 54 échantillons sont porteurs de *Vibrio alginolyticus*,

- 3 échantillons sont porteurs de *Vibrio parahaemolyticus*,
- 35 échantillons où les germes vibrios n'ont pas pu être identifiés.
- 8 échantillons non identifiés.

La fréquence élevée des Vibrios dans la sole tigrée est certainement liée à sa biologie. En effet, cette dernière est une espèce benthique qui vit dans les fonds sableux et sablo-vaseux qui sont de véritables gîtes pour les bactéries marines dont les Vibrios (22). Cependant la biologie de l'espèce semble ne pas être le seul facteur déterminant de la contamination initiale. Les facteurs environnementaux tels que la température et la salinité ne sont pas à négliger. Ils peuvent également jouer un rôle dans la contamination du poisson par les vibrios.

### **III.3 PROPOSITIONS D'AMELIORATION.**

La contamination initiale du poisson est déterminée par un certain nombre de facteurs intrinsèques (liés à l'espèce) et extrinsèques (liés à l'environnement)

#### **III.3.1 Par rapport aux facteurs intrinsèques**

Ces facteurs sont liés à la biologie de l'espèce. Notamment son habitat, son alimentation, sa respiration et sa reproduction ....En effet, le poisson vit en équilibre avec son environnement .Ce dernier est caractérisé par une multitude

de facteurs physico-chimiques qui déterminent la nature de la flore de contamination. , Cependant l'homme ne peut guère agir sur ses facteurs, sources de l'équilibre biologique du milieu marin.

### **III.3.2. Par rapport aux facteurs extrinsèques**

#### **III.3.2.1 Zone de pêche.**

La zone de pêche a une influence notoire sur la contamination bactérienne initiale du poisson. Les zones du littorale qui reçoivent les divers effluents provenant de l'activité humaine ou animale sont les plus polluées.

On peut prévenir la contamination du poisson par :

- Réduction ou suppression de la source de pollution en traitant les effluents.
- Réglementation de l'exploitation des zones
- Traitement du produit pour le rendre propre à la consommation.

#### **III .3.2.2. Mode de capture**

La plupart des espèces utilisées en industrie halieutique sont capturées au chalut. (Espèces de petite taille) avec cette méthode de pêche , le poisson est traîné durant des heures ,entraînant contamination par les bactéries des sables et des boues marines .

Les actions préconisées à ce niveau sont :

- la réduction au minimum du temps de cette capture
- l'élimination de toute les pièces présentant des anomalies tels que l'étalement des viscères.

### **III.3.2.3. Manutention à bord des engins de pêches**

Les caisses, lorsqu'elles sont vides et avant, d'être réutilisées, doivent être lavées avec des détergents et désinfectant à effets rémanant.

### **III.3.2.4 Traitement appliqué juste après la capture**

Compte tenu de la localisation initiale des bactéries du poisson (peaux, branches, intestin), des mesures d'hygiènes doivent être préconisées pour éviter l'altération de la chair par les bactéries et pour allonger la durée de conservation du produit.

-Le poisson doit être éviscétré suivie d'un ébranchage après sa capture .Puis d'un lavage soigneux .Une éviscération mal faite est pire que l'absence d'éviscération De plus ,il faut utiliser pour le lavage du poisson déjà éviscétré et ébranché une eau contrôlée de qualité microbiologique comme .

### **III.3.2.5 STOCKAGE DU POISSON**

C'est l'étape déterminant pour prévenir l'invasion microbienne, source d'altération du poisson .Il est essentiel d'utiliser de la glace de bonne qualité bactériologique et en quantité suffisante dès le début du stockage .Pour se faire il faut utiliser des caisses appropriées permettant l'élimination de l'eau provenant de la fonte de la glace .Le maintient de la chaîne de froid est nécessaire au cours de toute la vie économique du poisson .Ces mesures d'hygiène ,lorsqu'elles sont

respectées ,contribueront à l'obtention d'un poisson de qualité microbienne satisfaisante.

## **CONCLUSION GENERALE**

L'exploitation des produits halieutiques représente une source non négligeable des devises pour le Sénégal. Elle dégage un excès annuel de 24 milliards de francs CFA. Les produits proviennent du milieu marin, dont l'équilibre est constamment perturbé par les apports d'éléments polluants : résidus de l'activité humaine, déchets des animaux domestiques et sauvages ...

Ils sont également soumis après leur capture à une contamination microbienne exogène importante constituant ainsi le principal facteur limitant de l'industrie halieutique sénégalaise. Cependant, la contamination initiale du poisson est celle qui se produit du vivant de l'animal et juste après sa capture. Or peu de travaux ont été réalisés sur les poissons des mers tropicales afin de déterminer le niveau de leur contamination initiale. Ainsi, l'objectif de notre étude est d'apprécier le niveau de contamination initiale des poissons des mers tropicales en choisissant comme espèce « *Synaptura cadenati* ». De l'analyse bactériologique des 100 échantillons prélevés, seuls la flore globale (FG) qui comprend la flore Mésophile Aérobiose totale (FMAT) et la flore Aérobiose psychrotrophe (FAP), les Enterobactéries, les *Pseudomonas* et les vibrios ont été recherchés au niveau de la chair et des branchies. Des résultats obtenus, il ressort que : pour la flore globale (FG), le niveau moyen de contamination est de  $6,69 \cdot 10^3$  germes par gramme de chair en ce qui concerne la FMAT et de  $0,92 \cdot 10^3$  germes par gramme pour la FAP. Cependant des taux très élevés de l'ordre de  $3,55 \cdot 10^5$  germes par gramme de branchies pour la FMAT et  $2,48 \cdot 10^4$  germes par gramme de branchies pour la FAP ont été dénombrés.

Toute fois, l'analyse bactériologique à montrer une absence totale d'Enterobactéries au niveau de la chair et une quasi présence de ces bactéries en moyenne de  $1,09 \cdot 10^4$  germes au niveau des branchies.

Le test de MACKENZIE, réalisé sur 100 échantillons a permis d'isoler E.coli dans 100% de cas. Quant à la recherche de *pseudomonas*, les résultats obtenus

montre une contamination moyenne de l'ordre de 45 germes par gramme de chair et  $10^2$  germes par gramme de branchies .

Les bactéries du genre vibrio ont été isolées aussi bien de la chair que des branchies avec une prédominance au niveau des branchies.

-Sur 100 échantillons analysés 65 étaient contaminés uniquement au niveau de la chair soit 65% et 35 échantillons sont indemnes de toute contamination.

L'identification de 65 échantillons contaminés par vibrio a donné les résultats suivants :

- 83% des échantillons sont porteurs de *V. alginolyticus* aussi bien au niveau de la chair que des branchies avec une prédominance au niveau des branchies.
- 5% sont identifiés comme étant des *V. parahaemolyticus* .
- 12% des échantillons n'ont pas permis l'identification de l'espèce du genre *Vibrio*

Au vu de ces résultats, nous pouvons dire que pour la contamination initiale du poisson, les bactéries qui prédominent sont les *Vibrios* et la flore mésophile. Les *Pseudomonas* et les Entérobactéries se retrouvent surtout au niveau des branchies.

L'absence des Entérobactéries au niveau de la chair montre que cette dernière subit une contamination surajoutée.

L'utilisation des méthodes de capture appropriées, associée à une bonne manutention à bord des engins de pêche, et l'utilisation précoce et continue de la chaîne de froid, permettront d'obtenir des produits avec une charge microbienne réduite à l'entrée de l'usine.

A cela s'ajoute un certain nombre de facteurs tels que les bonnes pratiques d'hygiène de fabrication et de laboratoire pour garantir la qualité bactériologique du produit fini.

## BIBLIOGRAPHIE

### **1-ABABOUCH L.**

Assurance de la qualité en industrie halieutique  
Rabat : Ed. Actes, 1995, 214p.

### **AZIBE M.**

Contribution à l'étude de la qualité parasitologique, bactériologique et chimique  
des filets de poissons congelés produits au Sénégal.  
Th. Med. Vét. Dakar, 1991, 55

### **BANCHOT M. L.**

Guide des poissons marins d'Europe

### **BILLON J.**

Intérêt du froid dans la conservation du poisson et des crustacés : aspect  
microbiologique.  
Bull. Acad. Vét., France, 1976.

### **BLAIZ N.**

Les plans d'échantillonnage pour l'analyse microbiologique.  
R.T.V.A., 1987,(231) : 15-17

### **BELLEMANS M., FISCHE W., SAGNA T.**

Guide des ressources halieutiques du Sénégal et de la Gambie.

### **BERNADAC M., SCHEIB P., HUGON M.**

Aptitude à la conservation et contrôle des filets de poissons réfrigérés,  
conditionnés sous pellicule plastique en atmosphère compensée.  
R.T.V.A., 1985, (208) : 25-34

### **BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y.**

Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires.  
Vol 3 : Le contrôle microbiologique  
Lavoisier, Technique et Documentation, APRIA, Paris, 1980, 331p.

### **BRISOU J.**

Microbiologie du milieu marin  
Edition Flammarion : Paris, 1955, 272 p.

BUCHAMAN R. E., GIBBONS M.E.  
Bergey's manual of determinative bacteriology. 8<sup>e</sup> ed.  
Baltimore, The Williams and Wilkins company, 1980, 1268p.

CHAUVIN J. A. B.  
L'altération du poisson : données actuelles sur la conservation du poisson par le froid et l'Auréomycine.  
Th. Méd. Vét., Toulouse, 1960 : 14

DHAOUI S.  
Aspects sanitaires particuliers des produits de la pêche. Recherche de germes pathogènes dans les aliments.  
Paris, ENV, Service de biologie marine, Aquaculture, 132 p.

FAYE C.  
Contribution à l'étude de la contamination initiale du poisson des mers tropicales  
Th. Méd. Vét., Dakar, 2002, 26

F.A.O/O.M.S  
Hygiène du poisson et des fruits de mer.  
Rapport d'un comité d'experts de l'O.M.S réunis en coopération avec la F.A.O  
Rome : Ed. F.A.O, 1974, 66 p.

FRANCE (République)  
Manuel des pêches maritimes tropicales  
Paris éd. : Ministère de la coopération, 1974, 447 p.

FRAZIER W. C., WESTHOFF D. C.  
Contamination, Preservation and Spoilage of fish and other sea foods in Food  
Microbiology. 3<sup>e</sup> éd.  
M.C. Graw Hill, 1978, 243-254

GOUSSET J., TIXERANT G., ROBLOT M.  
Les produits de la pêche : Poissons-Crustacés-Mollusques  
Paris éd., I.T.S.V., 1980, n° 72, 192 p.

GUIRAUD J. P  
Microbiologique du poisson et produits aquatiques  
In : Microbiologie alimentaire  
Paris : Ed. DUNOD, 1988, 149-160

GUIRAUD J.P., GALZY P.

L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires : Analyse du poisson et des produits de la mer.

Paris : Ed. de l'usine nouvelle, 1980, 240 p.

HUMBERT F.

Les salmonnelles

in : Manuel de bactériologie alimentaire

Paris : Ed. Polytechnica, 1998, 27-52

HUSS H. H.

Le poisson frais : Sa qualité et altérations de qualité

Rome : F.A.O ; DANIDA, 1988, 132 p.

HUSS H. H., ELKILDSEN

V. Botulism in farmed trout caused by Clostridium botulinum type E.

Nord. Vét-Méd., 1974, 26 :733-738

I.C.M.S.F.

Fis hand shelfish and theirproduct in Microbial Ecology of food

New York: Ed. Academic Press, vol. 2, 1980, 567-605

I.C.M.S.F.

Micro-organisms in foods: Their signification and methods of enumeration

Toronto: 2<sup>eme</sup> éd. University of Toronto Press: 1978, 447 p.

JAMET J., LAGOIN Y. Manuel d'instruction et de perfectionnement des agents des services des pêches maritimes des pays tropicaux.

Paris éd. : Ministère de la coopération, 1974, 447 p.

KOVACEVIC M.

Quelques renseignements sur la microbiologie alimentaire : objectifs et méthodes

PNUD/FAO : Dakar,1970, 1-12

LEDERER J.

Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire

Paris : Ed. Polytechnica, 1988, 261-304

LESNE J.,FOURNIER J. M.

Vibrio in manuel de bactériologie alimentaire

Paris :Ed. : Politechnica, 1998, p.261-304.

LEVEAU J. Y.

Le contrôle microbiologique, clef de voûte de la qualité des produits alimentaires

Paris : Ed. : Lavoisier, TEC. & DOC. , 1985

LISTON J.

Health and safety of sea-food. In Food technol.  
1980, 32(9): p 428-436.

NDIAYE A.

Contribution à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique des produits de la pêche destinés à l'exportation en 1996 et 1997.

TH. : Méd. Vét. : Dakar, 1998,17.

OGER C., PHILIPPE A., LECLERC H.

Sur la pollution microbienne des plages de la mer du nord et de la Manche  
Ann. Microbiol., 1974, (125) : p. 513-527.

OUATTARA B.

Etude de la qualité bactériologique des filets de poissons congelés

TH. : Mèd. Vét. :Dakar, 1986, 20.

PETIT A.

Microbiologie des poissons

R. T. V. A, 1987,(227) : p. 22-25

PILLET C., BOURDON J.L., TOMA B., MARCHAL N., BALBASTRE C.

Bactériologie médicale et vétérinaire

Système bactérien.

Paris : Doin, 1981, 437.

RENAULT G. M. L.

Contribution à l'étude de l'analyse bactériologique de quelques coquillages comestibles.

Thèse Mèd. Vét. Toulouse, 1977, 111.

ROLAND F.P.

Leg gangrène and endotoxin shock due to vibrio parahaemolyticus. An infection acquired in new england coastal water

New. Eng. J. Méd., 1970, 282, 1306 p.

ROSSET R.

Effet du froid sur les organismes.

RTVA Janvier-Fevrier, 1987, p. 20-26.

ROZIER J.

La qualité hygiénique des aliments

R.T.V.A, 1987,(214) : p. 7-12

ROZIER J., CARLIER V., BOLNOT F.

Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments

Paris : Ed. SEPAIC, 1985, 225 P.

SEYDI Mg.

Stratégies de santé en situation de développement - point de vue du vétérinaire :  
Contamination des D.A.O.A, incidence sanitaire et économique.

Médecine d'afrique noire, 1982, (6) : p. 307 – 409

SEYDI Mg., KONE A.L., GAYE A., DAVID M. P., MBOUP S., SAMB A.

Poissons porteurs de vibrio parahaemolyticus: étude sur les poissons frais des côtes du Sénégal.

R.T.V.A., 1985,(213) : p.19-24

SEYDI Mg., PANGUI L., AZIBE M.

Qualité hygiénique des filets de poissons congelés produits au Sénégal

Rev. Microbiol. Et hygiène alimentaire, 1992, 9 (4) : p.12-17

SHEWAN J.M.

The biodegradation of certain proteinaceous foodstuffs at chill temperature in  
industrial aspects of biochemistry

Ed. B. Spencer Amsterdam, north holland publishing Co. For Federation of  
european biochemical societies, 1974, p. 475-490

TOURE H. M.

Contribution à l'étude de l'évolution de la contamination par les coliformes  
fécaux des filets de poisson sénégalais destinés à l'exportation.

Thèse : Méd. Vét., Dakar 1996, 17, 66p.

# RAPPORT DE MONSIEUR LE PRESIDENT DU JURY

L'exploitation des produits de la pêche constitue une source importante de devises pour le Sénégal. Malheureusement, l'essor de cette activité se trouve confrontée aux exigences de la qualité définies par les normes en vigueur. C'est pourquoi, dans le cadre de sa soutenance de Doctorat en Médecine vétérinaire, **Mlle DJOUPA MANFOUMBY NADEGE** a choisi d'apporter sa contribution à l'étude de la contamination initiale des poissons des mers tropicales, en particulier la sole tigrée (*Synaptura cadenati*).

Le travail qu'elle présente comprend deux parties :

la première a trait à la synthèse bibliographique et est scindée en quatre chapitres :

- le premier chapitre donne un aperçu des caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques des mers tropicales,
- le deuxième est consacré à l'étude spéciale des caractéristiques de l'espèce *Synaptura cadenati* utilisé comme matériel biologique et la microbiologie des poissons,
- le troisième chapitre expose les éléments de systématique bactérienne,
- le quatrième chapitre traite des conséquences économiques et sanitaires de la contamination bactérienne du poisson.

La deuxième partie, intitulée étude expérimentale comprend deux chapitres :

- le premier décrit le matériel et les méthodes utilisées,
- le deuxième rapporte les résultats, la discussion de ces résultats, ainsi que les propositions d'amélioration.

En définitive le travail de Mlle DJOUPA MANFOUMBY NADEGE comporte 15 tableaux, 4 schémas, 5 figures, 6 photos et 45 références bibliographiques et 85 pages.

Thèse de Doctorat vétérinaire

Présentée par **Mlle DJOUPA MANFOUMBY NADEGE**