

Prévalence des *Vibrions* potentiellement pathogènes dans les moules commercialisées à Agadir (Maroc)

N. BOU M'HANDI¹*, M. LAACHIR²

(Reçu le 21/10/2014; Accepté le 29/10/2014)

Résumé

Cette étude a porté sur la recherche de bactéries appartenant au genre *Vibrio* dans 104 échantillons de mollusques bivalves constitués de moules vivantes (n=23) issue de zones de production conchylicoles classées A et de moules transformées sous forme congelées (n=23), séchées (n=35) et marinées (n=23) achetées dans les marchés et grandes surfaces d'Agadir (Maroc). Ces investigations, effectuées durant deux ans (2010-2011), ont mis en évidence une prévalence globale du genre *Vibrio* de 24% dans l'ensemble des produits analysés. *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus* sont les deux principales espèces identifiées dans des proportions relatives de 20,2% et 3,8%. La moule vivante est la plus contaminée par *Vibrio spp.* (78,3%) vient ensuite la moule séchée (20%). Cependant, *Vibrio spp.* n'a pas été trouvé dans la moule congelée et la moule marinée.

Mots clés: *Vibrio*, Prévalence, Coquillages, Produits marins, Maroc.

Abstract

This study aims to searching for bacteria belonging to the genus *Vibrio* in 104 shellfish samples consisting of live mussels (n=23) harvested from shellfish growing areas classified A and transformed mussels consisting of frozen (n=23), dried (n=35) and marinated mussels (n=23) purchased in markets and supermarkets in Agadir (Morocco). These investigations, conducted during two years (2010-2011), showed an overall incidence of *Vibrio* of 24% in all analyzed products. *V. alginolyticus* and *V. parahaemolyticus* were the main species identified in relative proportions of 20.2% and 3.8%, respectively. Live mussels were the most contaminated with *Vibrio spp.* (78.3%) followed by dried mussels (20%). However, no *Vibrio spp.* were found in frozen and marinated mussels.

Keywords: *Vibrio*, Prevalence, Shellfish, Marine products, Morocco.

INTRODUCTION

Les bactéries appartenant au genre *Vibrio* sont considérées comme natives des écosystèmes aquatiques marins et estuariens. Comme conséquence, la contamination naturelle des produits de la pêche est communément admise. Avant la commercialisation, cette contamination initiale peut être amplifiée pendant le stockage, si les bonnes conditions de conservation et les bonnes pratiques hygiéniques ne sont pas respectées. Plus de 10 espèces de *Vibrio* connues provoquent des maladies humaines (West, 1989; Lesne et Fournier, 1998). Selon les espèces de *Vibrio* impliquées, les manifestations cliniques sont différentes, elles s'étendent des gastroentérites aux septicémies consécutives à l'infection de plaies occasionnées par des blessures (FAO/WHO, 2002; Gopal et al., 2005). Les *Vibrio* sont également des bio-agresseurs majeurs des stades larvaires et juvéniles des produits de la mer.

L'incidence des infections aux vibrions pathogènes est en constante et régulière progression dans le monde (FAO/WHO, 2002; Hara-Kudo et al., 2003; Gonzales et al., 2004). Cette progression pourrait être directement liée à l'augmentation de la concentration de ces bactéries dans

les eaux côtières et estuariennes et qui est consécutive à l'anthropisation du littoral et au réchauffement planétaire (McLaughlin et al., 2005). La consommation des produits de la mer et notamment des produits crus ou sommairement cuits, ainsi que la mondialisation des échanges commerciaux des produits alimentaires pourraient contribuer, de façon substantielle, à la recrudescence des infections dues à ces germes pathogènes (Tantillo et al., 2004; Gerner-Smidt, 2001; FAO/WHO, 2011).

A côté de l'intérêt sanitaire, une prévalence élevée des vibrions pathogènes dans les produits de la mer peut constituer un frein au commerce international, ce qui peut créer des obstacles pour le Maroc qui a axé son plan économique sur le développement du secteur halieutique. Avec un chiffre d'affaires national à l'export dépassant les 13 milliards de dirhams. Ce secteur occupe une place de choix dans l'économie du Maroc par les apports en devises qu'il réalise en matière d'exportation (Anonyme, 2009).

Par ailleurs, peu d'études ont été réalisées dans notre pays afin de mieux estimer la prévalence des vibrions pathogènes dans les produits de la pêche. De telles études sont importantes parce qu'elles permettent d'évaluer le

¹ Centre Spécialisé de Valorisation et de Technologie des Produits de la Mer, Institut National de Recherche Halieutique, BP 1050, Agadir, Maroc

² Laboratoire de virologie, hygiène et microbiologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Hassan II, BP: 146, Mohammédia, Maroc

* Corresponding auteur: naimaboumhandi@gmail.com

risque dû à ces pathogènes, notamment dans les étapes de la caractérisation du danger et de l'évaluation de l'exposition au risque. L'évaluation des risques dus à ces agents pathogènes est en mesure de contribuer à la mise en place des mesures préventives pour la maîtrise des dangers sanitaires liés à la consommation des produits de la pêche. C'est dans ce sens que s'inscrit la présente étude qui se fixe comme objectif d'évaluer la prévalence de pathogènes émergents de type vibrions, principalement les deux espèces qui sont le plus souvent impliquées en pathologie humaine par voie alimentaire, à savoir les espèces *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillonnage

L'étude a été menée au niveau de la région atlantique du centre-ouest du Maroc (Agadir), sur une période de deux ans (2010-2011). Les échantillons sont constitués principalement de (i) moule vivante collectées de façon aléatoire et simple au niveau de deux principales zones de production conchylicoles (Tamri et Taghazout), sites salubres classés A selon la circulaire inter ministérielle n° 1246 (Anonyme, 2001) et (ii) moules transformées collectées dans les marchés et les grandes surfaces d'Agadir. Un nombre de 104 échantillons de moules représentés par la moule vivante (n= 23), la moule séchée (n= 35), la moule congelée (n= 23) et la moule marinée (n= 23) ont été analysés. Des échantillons de cinq unités de moule fraîche et de moule séchée sont prélevés et placés dans des sachets stériles puis transportés au laboratoire dans une glacière isotherme au même titre que les échantillons de moule congelée et de moule marinée. L'analyse s'effectue au maximum dans les deux heures qui suivent le prélèvement.

Analyses bactériologiques

Nous avons adopté comme protocole d'analyse un protocole provisoire, rédigé en collaboration entre l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA, remplacer par ANSES) de Boulogne-sur-mer, l'École Nationale de la Santé Publique (ENSP) à Rennes et le Centre National de Référence des vibrions et du Choléra (CNRVC) à l'Institut Pasteur à Paris. Ce protocole avait été rédigé à la demande de la Direction Générale de l'Alimentation, en France, dans le but de normaliser les protocoles d'étude et de recherche de *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* dans les produits de la mer entre les différents laboratoires vétérinaires de contrôle, dans l'attente de la publication d'une norme ISO pour la recherche des *Vibrio* spp. présumés pathogènes par voie digestive. L'essai est réalisé à partir de 25 g d'échantillons prélevés aseptiquement et dilués dans 225 ml d'eau peptonée alcaline à 2 % de NaCl, puis incubés 24 h à 41°C. A partir du bouillon d'enrichissement, un isolement sur milieu Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS) (Oxoid LTD, Basingstoke, England) est effectué. Après 24 h d'incubation à 37°C, 5 colonies saccharose positives (colonies jaunes sur milieu TCBS) et 5 colonies saccharose

négatives (colonies bleu/vert sur milieu TCBS) ont été ré-isolées sur gélose nutritive à 2 % de NaCl (GNA) (BIORAD, Marnes la Coquette, France), puis incubées 18 à 24 h à 37°C. L'identification est effectuée en deux étapes. Une identification présomptive réalisée sur les colonies isolées par la recherche de l'oxydase, de l'arginine dihydrolase (ADH) (BIORAD, Marnes la Coquette, France) et de la Lysine décarboxylase (LDC) (BIORAD, Marnes la Coquette, France). Cette identification est poursuivie sur les souches oxydase positives, ADH négatives et LDC positives avec l'ensemencement d'une galerie *Enterobacteriaceae* API 20 E, kit commercial (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et d'une galerie de croissance en sel constituée d'une série de tubes d'eau peptonée alcaline contenant 0, 3, 6, 8 et 10 % de NaCl.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des identifications biochimiques des souches de vibrions isolées lors de cette étude sont résumés dans le tableau 1. Les résultats de prévalence des vibrions dans les différents produits analysés sont résumés dans le tableau 2. Un échantillon est considéré comme positif lorsqu'une colonie au moins appartenant au genre *Vibrio* se développe.

Sur 104 échantillons dont 23 de moules vivantes et 81 de moules transformées dont la moule séchée (n=35), la moule congelée (n= 23) et la moule marinée (n= 23) prélevés respectivement au niveau de deux principales zones de production conchylicoles et dans les marchés et les grandes surfaces d'Agadir, 25 sont positifs pour *Vibrio* spp. soit 24%. *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus* sont les deux principales espèces identifiées dans des proportions relatives de 20,2% et 3,8%.

En se référant au type de produit analysé, il apparaît que la moule vivante est la plus contaminée par *Vibrio* spp. (78,3%) vient ensuite la moule séchée (20%). Cependant, aucune contamination par *Vibrio* spp. n'a été enregistrée dans la moule congelée et la moule marinée.

La recherche de *Vibrio* dans les échantillons de moule vivante soulignent l'omniprésence de ce genre bactérien (*Vibrio* spp: 78,3%) et l'incidence non négligeable de *V. parahaemolyticus* (17,4%). Ces valeurs se révèlent pour l'essentiel supérieures à celles obtenues par Cohen *et al.* (2007), qui ont analysé des échantillons de moules et d'huîtres prélevés dans les marchés et les grandes surfaces de Casablanca. Les résultats laissent apparaître 46% d'échantillons contaminés par le genre *Vibrio* dont 12% par *V. parahaemolyticus*.

Bouchriti *et al.* (2001), examinant des échantillons d'huîtres prélevés au niveau de la région de Rabat, ont trouvé que seul 21% des échantillons se sont révélés positifs. Les recherches réalisées par Malainine *et al.* (2013) soulignent aussi une faible incidence de *Vibrio* sp (4%) dans les échantillons de coquillages (*Ceratoderma edule*, *Crassostrea gigas*) prélevés à partir de sites conchylicoles de la lagune de Khnifis au sud du Maroc. Cependant, Cohen *et al.* (2007) fournissent des chiffres sensiblement plus élevés en *Vibrio* dans les bivalves et particulièrement dans les huîtres (76%).

Tableau 1: Résultats de l'identification biochimique des souches de Vibrions isolées de la moule vivante et transformée.

Souche N°	Type de produit	Identification biochimique	Croissance en cc de NaCl	Résultats des Identification
1	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
2	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
3	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
4	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
5	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
6	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
7	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
8	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
9	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
10	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
11	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
12	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
13	Moule vivante	<i>V. parahaemolyticus</i>	3 à 8%	<i>V. parahaemolyticus</i>
14	Moule vivante	<i>V. parahaemolyticus</i>	3 à 8%	<i>V. parahaemolyticus</i>
15	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
16	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
17	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
18	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
19	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
20	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
21	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
22	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
23	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
24	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
25	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
26	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
27	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
28	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
29	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
30	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
31	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
32	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
33	Moule vivante	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
34	Moule vivante	<i>V. parahaemolyticus</i>	3 à 8%	<i>V. parahaemolyticus</i>
35	Moule vivante	<i>V. parahaemolyticus</i>	3 à 8%	<i>V. parahaemolyticus</i>
36	Moule vivante	<i>V. parahaemolyticus</i>	3 à 8%	<i>V. parahaemolyticus</i>
37	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
38	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
39	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
40	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
41	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
42	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
43	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
44	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
45	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
46	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
47	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>
48	Moule séchée	<i>V. alginolyticus</i>	3 à 10%	<i>V. alginolyticus</i>

A titre aussi de comparaison, la fréquence d'isolement des espèces de *Vibrio* à partir des bivalves est de plus de 61% en France (Hervio-Heath *et al.*, 2002), 24% en Croatie (Jaksic *et al.*, 2002) 53- 79% en Suède (Collin et Rehnstam-Holm, 2011), 20-75% aux USA (DePaolo *et al.*, 2010).

La variabilité de la contamination des coquillages peut s'expliquer non seulement par la diversité des origines

des prélèvements mais aussi par l'hétérogénéité des méthodologies analytiques appliquées au cours de ces travaux (Anonyme, 2001) et également la saison de prélèvement étant donné qu'il existe une relation étroite entre la température de l'eau et l'écologie des vibrions.

La moule séchée est un produit populaire dans la région d'Agadir. Le produit est transformé de manière

Tableau 2: Prévalence de Vibrio dans les échantillons de moules.

Types de moules	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons positifs	Prévalence (%)
Moule vivante	23	18	78.3
Moule transformée	81	7	0.9
Moule séchée	35	7	20
Moule surgelée	23	0	0
Moule marinée	23	0	0
Total	104	25	24

traditionnelle, il subit un pré-chauffage avant séchage au soleil. Les vibrions ne sont pas considérés comme des germes thermorésistants. Une simple cuisson des aliments, à condition d'obtenir une température à cœur (Température >70°C) suffit pour détruire *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* (Bonhomme, 2003; Hackney et al., 1980; Johnston et Brown, 2002). La contamination des moules cuites puis séchées analysées dans le cadre de notre étude laisse ainsi supposer que le traitement thermique appliqué était inadéquat pour détruire le germe, ou qu'une contamination post traitement s'était produite.

Les résultats obtenus pour les moules marinées et congelées, attesteraient du respect des règles d'hygiène exigées par les normes et la bonne maîtrise du processus de fabrication par les industriels. Ajoutons à cela, l'effet de deux facteurs limitant pour la croissance des vibrions il s'agit pour le cas de notre étude du pH pour la moule marinée et de la température pour la moule congelée. La combinaison de ces deux paramètres, à savoir les hautes températures appliquées au début pour l'ouverture des coquilles associées aux très basses températures pour la congélation et à l'acidité pour la conservation du produit mariné, peut constituer un stress supplémentaire pour ces germes. En effet, selon la littérature, le pH minimal de croissance des vibrions se situe entre 4,8 et 5,0 en fonction de l'espèce. Ces données suggèrent que les produits de la pêche marinés dont on a baissé à dessein le pH à des valeurs inférieures à 4,6 ne permettent pas la multiplication des vibrions (Fournier, 1996). De même, Cook et Ruple observent en 1992, que la congélation à -20°C est plus efficace qu'à 0°C pour éliminer *Vibrio vulnificus* dans les coquillages et que la congélation peut être adoptée comme moyen acceptable pour la maîtrise de *Vibrio vulnificus* et *V. parahaemolyticus* après collecte (Drake et al., 2007).

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent une prédominance de *V. alginolyticus*, 20,2% dans l'ensemble des produits analysés dont 60,7% dans la moule vivante et 20% dans la moule séchée. Ces résultats confirment ceux obtenus dans des études similaires conduites au Maroc, en Europe et en Amérique (Bouchriti et El Marrakchi, 1995; Cohen et Karib, 2007; Barbieri et al., 1999; Matté et al., 1994; Ripabelli et al., 1999).

En outre, cette forte présence de *V. alginolyticus* dans les échantillons analysés, confirme l'appartenance de cette espèce à la flore native de l'environnement aquatique (Fournier et Quilici, 2002). Par conséquent, elle représenterait une flore normale des produits de la pêche (Housseini et al., 2004), mais cela n'exclurait en rien le risque lié à la consommation de ce type de produit. En

effet, l'application de techniques moléculaires notamment de PCR à l'étude des souches identifiées biochimiquement comme *V. alginolyticus* a permis de mettre en évidence des souches de *V. parahaemolyticus* atypique (Robert-Pillot et al., 2002; Sabir et al., 2012; Sabir et al., 2013).

Les diverses données de la littérature scientifiques font état d'une large distribution de *V. parahaemolyticus* aussi bien dans l'environnement marin que dans les produits de la pêche et confirment le caractère ubiquiste du pathogène.

Dans le cadre de notre étude la prévalence globale de l'espèce *V. parahaemolyticus* est de 3,8% présente à 17,4% dans la moule vivante. Cette prévalence est inférieure à celle rapportée pour cette espèce dans les coquillages (moules, huîtres et palourdes) au niveau national au Maroc, en Italie, en Allemagne et au Mexique et qui se situe entre 24-50% (Bouchriti et al., 2001; Ottaviani et al., 2005; Torres- Vitela et Fernandez- Escartin, 1993; Lhafi et Kuhne, 2007). Ces études ont également montré que le plus grand nombre d'échantillons positifs en *V. parahaemolyticus* étaient enregistrés pendant les mois les plus chauds. La distribution de *V. parahaemolyticus* dans l'environnement marin est en effet étroitement dépendante de la température de l'eau. Plusieurs études ont révélé une corrélation positive entre la densité de *V. parahaemolyticus* et la température de l'eau avec des populations les plus élevées du germe pendant les mois chauds (Duan et Su, 2005; Gjerde et Boe, 1981). Comme conséquence de la présence de *V. parahaemolyticus* dans l'environnement marin, la contamination des produits de la pêche est considérée comme naturelle. Bien entendu, comme dans les eaux marines, les densités les plus élevées sont rencontrées les mois les plus chauds confirmant le caractère saisonnier de la distribution du pathogène ainsi que celui des infections qu'il engendre (Gooch et al., 2002). Il est par ailleurs important de relever que les densités en *V. parahaemolyticus* sont généralement inférieures à 10³ UFC/g à la collecte mais la bactérie peut se multiplier après exposition des coquillages aux températures élevées. Des études ont montré que les populations de *V. parahaemolyticus* dans les huîtres non réfrigérées pourraient s'accroître rapidement de 50 à 790 fois de son niveau initial en 24h après collectes si ces coquillages sont exposés à 26°C (Gooch et al., 2002).

Il existe peu de données concernant l'isolement de *V. cholerae* O1 et O139 à partir des produits de la mer. Selon Lesne et Fournier (1998), les produits de la pêche ou d'aquaculture peuvent être contaminés sur le lieu de récolte si la zone d'élevage ou de pêche est contaminée

par les eaux urbaines (eaux douces ou eaux de mer) ou si le Vibrion cholérique y est implanté (eaux saumâtres). Il a été cependant, décrit de rares souches de *V. cholerae* n'appartenant pas aux sérogroupes O1 ou O139 (*V. cholerae non-O1/non O139*) possédant les gènes de la toxine cholérique, ce qui explique que ces gènes soient systématiquement recherchés chez toutes les souches de *V. cholerae* isolées dans le cadre de contrôles de produits de la mer destinés à la consommation. Dans notre étude aucune souche de *V. cholerae* n'a été isolée à partir des échantillons étudiés. Ces résultats supportent l'étude qui a été effectuée en Iran et qui a montré l'absence de cette espèce dans les échantillons de crustacés prélevés du Golf Persique témoignant ainsi de la bonne qualité de ces eaux (Hosseini *et al.*, 2004).

V. vulnificus est rapporté par plusieurs études comme agent d'infection associé à l'ingestion des produits de la mer (Bisharat *et al.*, 1999; FAO/WHO, 2005). L'apparition de ces infections est hautement corrélée avec la température de l'eau de mer. En outre, il est reconnu que les densités de l'organisme augmentent pendant les mois chauds, une conclusion correspondant à la distribution saisonnière des cas (Arias *et al.*, 1999; Gerner-Smidt, 2001; FAO/WHO, 2005). Dans le cadre de notre étude, aucune souche de *V. vulnificus* n'a été décelée ce qui est en parfaite concordance avec les résultats obtenus dans les coquillages collectés au niveau des côtes méditerranéennes françaises (Hervio-Heath *et al.*, 2002).

Il est à noter par ailleurs, que les données sur la prévalence de ces germes bactériens doivent être considérées avec beaucoup de précautions parce qu'elles dépendent en grande partie des techniques de leur détection, notamment de l'étape d'isolement où les milieux utilisés présentent des performances très inégales (Høi *et al.*, 1998; Hervio-Heath *et al.*, 2002). Dans le même sens, la spécificité et la sensibilité de la technique PCR, par rapport à la méthode conventionnelle de culture, pour la détermination des vibrions pathogènes dans les produits de la pêche ont été rapportées par plusieurs travaux (Lee *et al.*, 1995; Panicker *et al.*, 2004; Gubala et Proll, 2006; Tanxi *et al.*, 2006). Par une technique PCR Multiplex, Panicker *et al.* (2004) ont rapporté une fréquence d'isolement des *Vibrio spp.* dans les huîtres naturelles de 100% avec 83,3% de *V. parahaemolyticus* dont 13 à 20% sont des souches pathogènes qui possèdent soit le gène TDH, le gène TRH ou les deux.

CONCLUSION

L'étude de la prévalence des *Vibrions* réputés pathogènes pour l'homme a été conduite dans 104 échantillons de moule représentés par la moule vivante (n= 23), la moule séchée (n= 35), la moule congelée (n= 23) et la moule marinée (n= 23). Au total, 25 échantillons sont positifs pour *Vibrio spp.* soit 24%. *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus* sont les deux principales espèces identifiées dans les proportions relatives de 20,2% et 3,8%.

En se référant au type de produit analysé, il apparaît que la moule vivante est la plus contaminée par *Vibrio spp.* (78,3%) vient ensuite la moule séchée (20%).

Cependant, aucune contamination par *Vibrio spp.* n'a été enregistrée dans la moule congelée et la moule marinée. La contamination des moules cuites puis séchées analysées dans le cadre de notre étude laisse supposer que le traitement thermique appliqué est inadéquat pour détruire le germe, ou qu'une contamination post traitement s'est produite. Les résultats obtenus pour les moules marinées et congelées, attesteraient du respect des règles d'hygiène exigées par les normes et la bonne maîtrise du processus de fabrication par les industriels. Ajoutons à cela, l'effet de deux facteurs limitant pour la croissance ou la survie des vibrions il s'agit pour le cas de notre étude du pH pour la moule marinée et de la température pour la moule congelée.

La forte présence de *V. alginolyticus* dans les échantillons analysés, confirme l'appartenance de cette espèce à la flore native de l'environnement aquatique. Par conséquent, elle représenterait une flore normale des produits de la pêche, mais cela n'exclurait en rien le risque lié à la consommation de ce type de produit. En effet, l'application de techniques moléculaires notamment de PCR à l'étude des souches identifiées biochimiquement comme *V. alginolyticus* permettent de mettre en évidence des souches de *V. parahaemolyticus* atypique pour le saccharose. Il est donc nécessaire, pour une meilleure prévention des infections alimentaires à vibrions, d'améliorer les méthodes de détection et de caractérisation des espèces de *Vibrio* pathogènes pour l'homme. L'utilisation des réactions d'amplification génique (PCR) assure, non seulement une meilleure spécificité que les techniques bactériologiques classiques pour la détermination de l'espèce, mais permet également la mise en évidence des différents gènes de pathogénicité des deux espèces principalement associées au risque *Vibrio* dans les produits de la mer, *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme (2001). Opinion of Scientific Committee on Veterinary Measures related to Public Health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* (in raw and undercooked seafood). European Commission Health & Consumer Protection Directorate – General, Directorate C - Scientific Opinions. C2- Management and scientific committees; Scientific co-operation and networks. Adopted on 19- 20 september 2001.
- Anonyme (2001). Circulaire conjointe N° 1246/01 du 12/11/2001 du ministère de la pêche maritime et du ministère de l'agriculture, du développement rural et des eaux et forêts relative à la surveillance du milieu marin et au contrôle de la salubrité des coquillages.
- Anonyme (2009). Communiqué de presse du Département des Pêches Maritimes, paru dans *Aujourd'hui Le Maroc*, le 22/01/2009.
- Arias C.R., Macian M.C., Aznar R., Garay E., Pujalte M.J. (1999). Low incidence of *Vibrio vulnificus* among *Vibrio* isolated from sea water and shellfish of the western Mediterranean coast. *J. Appl. Microbiol.* 86: 125-134.

- Barbieri E., Falzano L., Fiorentini C., Anna Pianetti A., Baffone W., Fabbri A., Matarrese P., Casiere A., Katouli M., Kühn I., Möllby R., Bruscolini F., Gianfranco Donelli G. (1999). Occurrence, Diversity, and Pathogenicity of Halophilic *Vibrio* spp. and Non-O1 *Vibrio cholerae* from Estuarine Waters along the Italian Adriatic Coast. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(6): 2748–2753.
- Bisharat N., Agmon V., Finkelsstein R., Raz R., Bendror G., Lerner L., Soboh S., Colodner R., Cameron D.N., Wykstra D.L., Swerdlow D.L., Farmer J.J. (1999). Clinical, epidemiological, and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. *Lancet* 354: 1421-1424.
- Bonhomme A.J.C. (2003). *Les bactéries du genre Vibrio et la santé publique vétérinaire*. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (France).
- Bouchriti N., El Marrakchi A. (1995). Occurrence of marine vibrios isolated from seawater and shellfish. *Microbiol. Alim. Nutr.* 13:381-387.
- Bouchriti N., Hamouda A., Karib H., Oumokhtar B., Yaakoubi I. (2001). Appréciation de la qualité bactériologique des huîtres *Crassostrea gigas* commercialisées à Rabat. *Animalis* 2: 26-35.
- Cohen N., Karib H. (2007). *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche: Risques et prévention. *les Technologies de laboratoire*, 4:4-10.
- Cohen N., Kabib H., Ait Said J., Lemee L., Guenole A., Quilici M.L. (2007). Prévalence des Vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc). *Rev. Med. Vét.* 158: 562-568.
- Collin B., Rehnstam-Holm A.S. (2011). Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the South Coast of Sweden. *FEMS Microbiol. Ecol.* 78(2): 306-313.
- Cook D.W., Ruppel A.D. (1992). Cold storage and mild heat treatment as processing aids to reduce the numbers of *Vibrio vulnificus* in raw oyster. *J. Food Prot.* 55: 985-989.
- Croci L., Serratore P., Cozzi L., Stacchini A., Milandri S., Suffredine E., Toti L. (2001). Detection of *Vibrionaceae* in mussels and in their seawater growing area. *Lett. appl. Microbiol.* 32: 57- 61.
- DePaola A., Jones J.L., Woods J., Burkhardt W., Calci K.R., Krantz J.A., Bowers J.C., Kasturi K., Byars R.H., Jacobs E., Williams-Hill D., Nabe K. (2010). Bacterial and Viral Pathogens in Live Oysters: 2007 United States Market Survey. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(9): 2754–2768.
- Drake L.S., DePaola A., Jahkas L.A. (2007). An overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6: 120-144.
- Duan J., Su Y.C. (2005). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in two Oregon oyster- growing bays. *J. Food Sci.* 71: 77- 82.
- Gerner-Smidt P. (2001). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* (in raw and undercooked seafood). European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General, Brussels, Belgium.
- FAO/WHO (2002). Food Safety Consultation, Risk assessment of *Campylobacter* spp. In broiler chickens and *Vibrio* spp. In seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation (Bangkok, Thailand), 59p.
- FAO/WHO (2005). Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters, 08(a), 114 p- ISBN: 925 105423 1.
- FAO/WHO (2011). Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood 16, 183 p- ISBN: 978-92-5-106874-8.
- Fournier J.M. (1996). *Choléra*. *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier, Paris). *Maladies Infectieuses* 8(026-F-10), 5p.
- Fournier J.M., Quilici M.L. (2002). Infections à *Vibrions* non cholériques. *Encycl. Méd. Chir.* (ed.), *Maladies infectieuses* 8 (026 F-15), 7p.
- Gjerde J., Boe B. (1981). Isolation and characterization of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* from the Norwegian coastal environment. *Acta. Vet. Scand.* 22: 331- 343.
- Gonzalez S.F., Krug M.J., Nielsen M.E., Santos Y, Call D.R. (2004). Simultaneous detection of marine fish pathogens by using multiplex PCR and DNA Microarray. *J. Clin. Microbiol.* 42: 1414-1419.
- Gooch J.A., DePaola A., Kaysner C.A., Marshall D.L. (2002). Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters. *J. Food Prot.* 65: 970-974.
- Gopal S., Otta S.K., Karunasagar I., Nichibuchi H. (2005). The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *Int. J. Food Microbiol.* 102: 151-159.
- Gubala A.J., Proll D.F. (2006). Molecular-Beacon Multiplex Real-Time PCR assay for detection of *Vibrio cholerae*. *App. Env. Microbiol.* 72: 6424-6428.
- Hackney C.R., Ray B., Speck M.L. (1980). Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* and the microbiological quality of seafood in north Carolina. *J. Food Prot.* 43: 769-772.
- Hara-Kudo Y., Sugiyama K., Nishibuchi M., Chowdhury A., Yatsuyanagi J., Ohtomo Y., Saito A., Magnagano H., Nishina T., Nakagawa H., Konuma A., Miyahara M., Kumagai S. (2003). Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* 03: K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Appl. Env. Microbiol.* 69: 3883-3891.
- Hervio-Heath D., Colwell R.R., Derrien A., Robert-Pillot A., Fournier J.M., Pommepuy M. (2002). Occurrence of pathogenic *vibrio* in coastal areas of France. *J. Appl. Microbiol.* 92: 1123-1135.

- Høi L., Dalsgaard I., Dalsgaard A. (1998). Improved isolation of *Vibrio vulnificus* from seawater and sediment with cellobiose- colistin agar. *Appl. Envir. Microbiol.* 64: 1721- 1724.
- Housseini H., Cherghali A.M., Yalfani R., Razavilar V. (2004). Incidence of *Vibrio spp.* in shrimp caught of the south coast of Iran. *Food Control* 15: 187-190.
- Jaksic S., Uhitil S., Petrak T., Bazulic D., Karolyi G.L. (2002). Occurrence of *Vibrio spp.* in sea fish, shrimps and bivalve mollusks harvested from Adriatic sea. *Food Control* 13: 491-493.
- Johnston M.D., Brown M.H. (2002). An investigation into the changed physiological state of *Vibrio* bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. *J. Appl. Microbiol.* 92: 1066-1077.
- Lee C.Y., Pan S.F., Chen C.H. (1995). Sequence of a cloned pR72H fragment and its use for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish with the PCR. *Appl. Env. Microbiol.* 61: 1311-1317.
- Lesne J., Fournier J.M. (1998). *Vibrio*. In Manuel de Bactériologie Alimentaire, Coordonnateurs: Sutra L, Federighi M, Jouve JL. Polytechnica (Ed.), Paris, 261- 304.
- Lhafi S.K., Kuhne M. (2007). Occurrence of *Vibrio spp.* in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *Int. J. Food Microbiol.* 116: 297- 300.
- Malainine S.M., Mimouni R., Scheffel J.M., Bensmail L. (2013). Prevalence des espèces du genre *Vibrio*, dans l'eau, les coquillages et les sédiments de la lagune de Khnifiss (sud du Maroc). *REMISE* 7(1) : 49-61.
- Matté G.R., Matté M.H., Sato M.I., Sanchez P.S., Rivera I.G., Martins M.T. (1994). Potentially pathogenic *Vibrios* associated with mussels from a tropical region on the Atlantic coast of Brazil. *J. Appl. Bacteriol.* 77(3): 281-287.
- McLaughlin J.B., DePaola A., Bopp C.A., Martinek K.A., Napolilli N.P., Allison C.G., Murray S.L., Thompson E.C., Bird M.M., Middaugh J.P. (2005). Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *N. Engl. J. Med.* 353:1463-1470.
- Ottaviani D., Santarelli S., Bacchiochi S., Masini L., Ghittio C., Bachichi I. (2005). Presence of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in mussels from the adriatic sea, Italy. *Food Microbiol.* 22: 585- 590.
- Panicker G., Call D.R., Krug M.J., Bej A.K. (2004). Detection of pathogenic *Vibrio spp.* in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarrays. *Appl. Env. Microbiol.* 70 (12) : 7436-7444.
- Ripabelli G., Sammarco M.L., Grasso G.M., Fanelli I., Caprioli A., Luzzi I. (1999). Occurrence of *Vibrio* and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* (mussels) harvested from Adriatic Sea, Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 49(1-2) : 43-8.
- Robert-Pillot A., Guenole A., Fournier J.M. (2002). Usefulness of R72H PCR assay for differentiation between *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* species: validation by DNA-DNA hybridization. *FEMS Microbiol. Lett.* 215: 1-6.
- Sabir M., Ennaji M. M., Bouchrif B., Cohen N. (2012). Characterization of *Vibrio alginolyticus* Trh Positive From Mediterranean Environment of Tamouda Bay (Morocco). *World Envir.* 2 : 76-80.
- Sabir M., Ennaji M. M., Cohen N. (2013). *Vibrio alginolyticus* : An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. *IJST*, 2 : 302-309.
- Tantillo G., Fontanarosa M., Di Pinto A., Musti M. (2004). Update perspectives on emerging *Vibrios* associated with human infections. *Letters in Appl. Microbiol.* 39: 117-126.
- Tanxi C., Luyan J., Chengbo Y., Kehe H. (2006). Application of real-time PCR for quantitative detection of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood in eastern China. *FEMS Imm. & Med Microbiol.* 46: 180-186.
- Torres-Vitela M.R., Fernandez-Escartin E. (1993). Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in raw fish, oysters and shrimps. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 35: 276- 282.
- West P.A. (1989). The human pathogenic vibrios-a public health update with environmental perspectives. *Epidemiol. Infect.* 103 (1): 1-34.