

Influence des facteurs environnementaux et saisonniers sur le niveau de contamination des zones de production des palourdes par *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., le virus de l'hépatite A et les norovirus dans la région de Sfax (Sud tunisien)

Cet article (n° 05122018-00142-FR) a été évalué par les pairs, accepté, puis soumis à une révision linguistique approuvée par les auteurs. Il n'a pas encore été mis en page pour impression. Il sera publié en décembre 2018 dans le volume 37 (3) de la *Revue scientifique et technique*.

S. Zormati ^(1, 2), I. Kallel ⁽²⁾, H. Sellami ^(2, 3) & R. Gdoura ^{(2)*}

(1) Centre régional de recherches vétérinaires de Sfax, Route aéroport Km 1, 5, B.P. 3000, Sfax, Tunisie

(2) Laboratoire de recherche de toxicologie – microbiologie environnementale et santé (LR17ES06), Faculté des sciences de Sfax, Université de Sfax, B.P. 1171, 3000 Sfax, Tunisie

(3) Laboratoire de traitement et de valorisation des rejets hydriques (LTVRH), Centre de recherches et des technologies des eaux (CERTE), Université de Carthage, route touristique de Soliman, B.P. 273-8020, Nabeul, Tunisie

*Auteur chargé de la correspondance : gdoura.radhouane@gmail.com

Résumé

Pour étudier l'influence des facteurs environnementaux et biologiques sur le niveau de contamination des zones de production des palourdes par *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., le virus de l'hépatite A (VHA) et les norovirus, une enquête épidémiologique a été réalisée en utilisant 791 échantillons de palourdes vivantes (*Ruditapes decussatus*), dont 539 destinés à des analyses bactériologiques et 252 destinés à la détection des norovirus et du VHA. Ces échantillons ont été collectés dans différentes zones de production de la région de Sfax (Sud de la

Tunisie) durant quatre années consécutives, du mois de mars 2013 au mois de décembre 2016. La prévalence d'échantillons positifs était respectivement de 36 % pour *E. coli*, de 11 % pour *Salmonella* spp., de 19 % pour les norovirus et de 3 % pour le VHA. La corrélation était fortement significative entre la contamination par *E. coli* et celle par *Salmonella* spp., ainsi qu'entre la contamination par les norovirus et celle par le VHA et entre la contamination par les norovirus et celle par *Salmonella* spp. La température, la présence d'oiseaux migrateurs et l'activité touristique sont les principaux facteurs associés au niveau de contamination microbienne des mollusques bivalves.

Mots clés

Contamination – *Escherichia coli* – Facteurs environnementaux – Mollusques bivalves – Norovirus – *Salmonella* spp. – Virus de l'hépatite A.

Introduction

Les mollusques filtrent de grands volumes d'eau pour en extraire des particules de nutriments. Parallèlement, des microorganismes pathogènes, des substances toxiques et des phytoplanctons toxiques présents dans l'eau peuvent aussi se concentrer dans l'organisme de ces mollusques et se transmettre au consommateur. Suite à leur ingestion à l'état cru ou peu cuit, ces coquillages peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA), dont les symptômes sont le plus souvent de nature digestive. Une étude effectuée aux États-Unis d'Amérique sur plusieurs systèmes de surveillance a montré que 58 % des maladies associées aux aliments sont attribuées aux virus et notamment aux norovirus humains et au virus de l'hépatite A (VHA) (1). Ces derniers sont régulièrement associés à des gastroentérites liées à la consommation de cet aliment (2). Les norovirus sont la cause la plus fréquemment identifiée de gastroentérite aiguë non bactérienne dans toutes les catégories d'âge dans le monde entier. Les maladies diarrhéiques constituent l'une des principales causes de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans et représentent chaque année près de 1,4 milliard d'épisodes et de 1,6 à 2,5 millions de décès, majoritairement dans les pays en développement (3, 4, 5). En France,

l'hépatite A est une maladie peu fréquente. Les aliments contaminés interviennent dans 17 % des cas, les coquillages étant suspectés dans la moitié d'entre eux (6). En moyenne, chaque année aux États-Unis d'Amérique, les norovirus provoquent 19 à 21 millions de cas de gastroentérite. Ils entraînent entre 56 000 et 71 000 hospitalisations et de 570 à 800 décès, principalement chez les jeunes enfants et les personnes âgées (7).

De nombreuses études épidémiologiques démontrent le rôle des mollusques bivalves dans des épisodes épidémiques d'hépatite virale A. L'épidémie la plus importante est celle survenue en 1988 à Shanghai (République populaire de Chine) avec 300 000 cas liés à la consommation de coquillages prélevés sur un site insalubre (8). En Tunisie, l'hépatite A reste une infection fréquente, survenant essentiellement chez l'enfant. Rezig et coll. en 2008 (9) ont rapporté une endémicité très élevée du VHA dans ce pays, puisque 84 % des enfants sont déjà atteints par le virus durant les cinq premières années de leur vie.

La salmonellose est l'une des maladies d'origine alimentaire les plus courantes et les plus répandues, causée par des entérobactéries du genre *Salmonella*. On estime à plusieurs dizaines de millions le nombre de cas recensés chez l'homme chaque année dans le monde et la maladie entraîne plus de 100 000 décès par an (10). Les coquillages, consommés crus ou peu cuits, peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), dont les symptômes sont le plus souvent de nature digestive (11). Parmi 520 foyers de TIAC, 51 (9,8 %) ont concerné des produits marins, parmi lesquels 13 (2,5 %) mettaient en cause les coquillages. Par ailleurs, les experts estiment que ces statistiques officielles ne représentent que 1 à 10 % des cas réels de salmonelloses (12, 13).

Les agents pathogènes responsables de la plupart des décès d'origine alimentaire étaient, en 2010, *Salmonella* Typhi (52 000 décès), *Escherichia coli* entéropathogène (37 000 décès) et les norovirus (35 000 décès) (14).

Dans ce cadre, une enquête analytique des facteurs environnementaux est d'une importance capitale pour évaluer l'origine de la contamination des mollusques bivalves par ces agents et l'impact de cette contamination sur le consommateur.

La réglementation européenne exige un niveau assez faible de contamination des mollusques bivalves vivants (MBV) par *E. coli* (< 230 UFC [unité formant colonie] / 100 g CLI [chair et liquide intervalvaire]) et l'absence de *Salmonella* spp. pour toute mise sur le marché.

En Tunisie, le secteur conchylicole joue un rôle capital dans l'économie du pays. Il est à l'origine de l'emploi d'une main d'œuvre importante et constitue surtout une source d'apports de devises considérables, puisque la majeure partie de la production tunisienne de mollusques bivalves est exportée en Europe.

La collecte des palourdes (*Ruditapes decussatus*) constitue l'une des principales activités dans le domaine de la pêche et de l'aquaculture en Tunisie. La moyenne de production annuelle est de l'ordre de 564 tonnes (15, 16, 17). La consommation locale de palourdes en Tunisie est très limitée et plus de 99 % de la production est destinée à l'exportation vers les pays de l'Union européenne (principalement l'Italie et l'Espagne). Toutefois, ce secteur est autant prometteur que fragile et tributaire de nombreuses interactions dont les plus importantes sont les aléas sanitaires. De par leur système de filtration de l'eau dans laquelle ils vivent, comme tous les mollusques bivalves, les palourdes concentrent dans leur organisme les particules et les microorganismes (18). De plus, ces mollusques sont souvent consommés par l'homme à l'état cru, donc ils jouent un rôle très important dans la transmission de pathogènes (18).

Cet article présente la première étude environnementale effectuée dans la région de Sfax (Sud Tunisien), au cours de laquelle les facteurs de risques de contamination microbiologique des palourdes ont été examinés durant quatre années consécutives. Les objectifs de l'étude étaient les suivants :

- déterminer le taux de contamination par *E. coli*, *Salmonella* spp., le virus de l'hépatite A et les norovirus des palourdes récoltées sur différents sites ;
- étudier l'association de facteurs environnementaux, biologiques et météorologiques avec le taux de contamination des palourdes par *E. coli*, *Salmonella* spp., le virus de l'hépatite A et les norovirus dans les zones de production.

Matériels et méthodes

Description de l'enquête

L'enquête environnementale a été réalisée en collaboration avec les partenaires suivants :

- le réseau de surveillance microbiologique (REMI), qui contrôle la qualité microbiologique des mollusques bivalves vivants à raison d'une fois tous les quinze jours. Les analyses, effectuées à l'Institut de recherche vétérinaire de Sfax (IRVT Sfax), portent sur la recherche des *E. coli* et des *Salmonella* spp. dans la chair et le liquide intervalvaire des coquillages, en suivant les méthodes ISO 16649-3:2015 (19) et ISO 6579-1:2017 (20) respectivement ;
- le réseau de surveillance virologique (REVI), qui contrôle la qualité microbiologique des mollusques bivalves vivants à raison d'une fois tous les quinze jours. Les analyses, effectuées à l'Institut national des sciences et technologies de la mer (INSTM), annexe de la Goulette, Tunis (Tunisie), portent sur la détection des acides ribonucléiques (ARN) des norovirus des génogroupes I et II (GI et GII) et des VHA par la technique d'amplification en chaîne par polymérase couplée à une transcription inverse en temps réel (RT-PCR), en suivant la méthode ISO 15216-1:2017 (21).

Au total, 791 prélèvements de palourdes (*R. decussatus*) ont été récoltés sur différents sites de production de la région de Sfax durant quatre ans, du mois de mars 2013 au mois de décembre 2016. Parmi ceux-ci, 539

prélèvements ont servi pour la recherche d'*E. coli* et de *Salmonella* spp. tandis que les 252 autres ont été utilisés pour la détection de l'ARN du virus de l'hépatite A et des norovirus.

Pour ce faire, un questionnaire a été établi pour tous les échantillons présentant une contamination microbienne et/ou virale (*E. coli* > 230 UFC/100 g CLI, présence de *Salmonella* spp., détection d'ARN des norovirus et/ou du VHA). Ce questionnaire consistait à examiner le(s) facteur(s) associés à la contamination microbienne pendant la période correspondant à la date de collecte des coquillages. Il s'agissait de définir tout d'abord la date de collecte des coquillages afin de fixer la saison et par la suite les facteurs observés lors de la prise d'échantillons, tels que la température, la présence d'oiseaux migrateurs, l'activité touristique, la période de tonte des moutons, ainsi que la localisation des sites de production à proximité de la zone de croisement de l'eau de mer avec les oueds et les eaux usées. Ces paramètres ont été utilisés pour le calcul de la moyenne de positivité en fonction de la période au moyen du test statistique de Student.

L'enquête a également permis d'exploiter les résultats positifs (contamination bactérienne et/ou virale) de chaque période en calculant le facteur de corrélation entre les contaminations par ces microorganismes au moyen du test de Pearson.

Méthode d'identification et de quantification des contaminants microbiens

La méthode ISO 16649-3:2015 (19) est la technique de référence pour le dénombrement des *E. coli*. Il s'agit d'une méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *E. coli* β -glucuronidase par la technique de mise en culture en milieu liquide (glutamate) et par le calcul du nombre le plus probable (NPP) après incubation à 37 °C \pm 1 °C, puis à 44 °C \pm 1 °C sur gélose TBX (tryptone bile X-glucuronide).

La méthode ISO 6579-1:2017 (20) est la technique de référence pour la recherche des salmonelles. Cette méthode horizontale permet de rechercher la plupart des sérovars de *Salmonella*. Elle nécessite une étape de pré-enrichissement par l'eau peptonée tamponnée (EPT) et

l'enrichissement sur deux milieux liquides spécifiques RVS (bouillon Rappaport-Vassiliadis soja) et MKTN (bouillon de Müller-Kauffmann au tétrathionate-novobiocine) suivis de l'isolement sur deux milieux solides XLD (gélose xylose-lysine-désoxycholate) et GVB (gélose au vert brillant). En cas de présence des colonies suspectes, celles-ci doivent être identifiées et confirmées par des analyses biochimiques et sérologiques.

L'analyse des échantillons a été conduite comme suit : 170 échantillons ont été analysés à l'Institut de recherche vétérinaire de Sfax et 230 échantillons ont été soumis pour analyse à un laboratoire d'analyse bactériologique en Italie (Centro Ricerche Marine, Cesenatico).

Méthode d'identification et de quantification des contaminants viraux

La méthode ISO 15216-1:2017 (21) décrit une méthode de quantification des ARN du VHA et des norovirus des génogroupes GI et GII présents dans des échantillons, dans le cadre d'essais d'aliments (fruits tendres, légumes, feuilles, tiges, bulbes, eau embouteillée et mollusques bivalves vivants) ou sur des surfaces alimentaires.

La méthode sur les mollusques bivalves est la suivante : un échantillon de 2 g de glande digestive prélevée des mollusques vivants est découpé en très fins morceaux. Pour l'extraction des virus, les morceaux sont mélangés avec 10 µl du matériel de contrôle du processus, constitué du virus Mengo. Immédiatement, 2 ml d'une solution de protéinase K (30 U/mg) sont ajoutés. Le mélange est incubé dans un incubateur agitateur à 37 °C pendant 60 min à 320 rpm puis le mélange est incubé à 60 °C pendant 15 min. La solution obtenue est centrifugée à 3 000 g pendant 5 min ; 500 µl du surnageant contenant les virus sont traités pour l'extraction et la concentration de l'ARN viral. Deux millilitres de la solution de lyse des capsides virales composée de thiocyanate de guanidine sont ajoutés. Après une incubation de 10 min à température ambiante et les étapes de lavage et de centrifugation, l'ARN viral est récupéré par adsorption sélective sur silice. La détection et la quantification de chaque cible du VHA et des génogroupes GI et GII des norovirus sont réalisées par RT-PCR quantitative (qRT-PCR). Il

s'agit d'analyser la cinétique de quantification, qui est basée sur la détection en temps réel du signal fluorescent dont l'intensité est proportionnelle à la quantité du produit de PCR généré au cours de l'amplification.

Études statistiques

Afin d'exploiter les résultats de l'enquête, une analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, Illinois, États-Unis d'Amérique). La comparaison des moyennes a été réalisée en utilisant le test de Student. Les corrélations entre les valeurs ont été analysées au moyen du coefficient de corrélation de Pearson. Les valeurs p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

Résultats

Influence des facteurs environnementaux, biologiques et saisonniers sur le niveau de contamination des zones de production de palourdes

Contamination par *Escherichia coli*

Sur les 539 échantillons de palourdes analysés, 194 ont présenté un taux de contamination par *E. coli* supérieur à la limite fixée par la réglementation (> 230 UFC/100 g CLI), soit 36 % (Tableau I).

Le suivi du taux de contamination par *E. coli* dans le temps a montré une contamination toute l'année durant, avec un pic important entre les périodes estivale et hivernale (Fig. 1). En effet, l'enquête a montré un taux de contamination par *E. coli* de 21 à 23 % pendant les mois de septembre et octobre, période marquée par la présence des oiseaux migrants.

De plus, une corrélation a été observée entre 6 % des cas de contamination par *E. coli* et la localisation des sites de production des palourdes à proximité de la zone de croisement de l'eau de mer avec des oueds ou avec des eaux usées, ainsi qu'entre 2 % de la contamination enregistrée pendant la saison printanière et la période

marquée par le lavage de la laine au bord de la mer près des zones de production.

Contamination par *Salmonella* spp.

Au total, 59 échantillons de *R. decussatus* sur les 539 analysés étaient contaminés par *Salmonella* spp., soit environ 11 % (Tableau I). L'étude a montré un pic important de 31 % des cas de contamination par *Salmonella* pendant le printemps (Figure 1), période marquée par la variation des températures et le vent, qui favorisent le développement de *Salmonella*. Une proportion de 47,4 % des cas (28/59) correspondait à un niveau de contamination élevé par *E. coli* et *Salmonella* spp. durant deux périodes de l'année, de mars à mai et de septembre à novembre (Fig. 1).

Contamination par les norovirus

L'enquête a montré que 19 % des échantillons de *R. decussatus* (48/252) étaient contaminés par les norovirus (Tableau I). L'étude de l'évolution de la contamination des mollusques bivalves par les norovirus en fonction de la saison a révélé un pourcentage élevé de contaminations pendant les mois de mars et d'avril. Un pourcentage moins élevé a été observé entre les mois d'août et octobre (Fig. 1). Le typage des 48 norovirus détectés dans notre étude a montré la prédominance du génogroupe GI par rapport au génogroupe GII (78 % vs 21,8 %).

Les résultats ont montré que 58,3 % (28/48) des échantillons positifs à norovirus étaient également contaminés par *Salmonella* spp. et/ou *E. coli*.

Contamination par le virus de l'hépatite A

Le taux de contamination des palourdes par le VHA dans les échantillons examinés était de 3 % (Tableau I). L'étude de l'évolution du niveau de contamination des mollusques bivalves par le VHA en fonction de la saison a montré un pic au mois de mars et un deuxième pic au mois de juillet (Fig. 1).

Corrélations entre la contamination des palourdes par les agents étudiés et les facteurs biotique et abiotique

Corrélations entre les taux de contamination des palourdes par les différents germes entéropathogènes étudiés

Le test de Pearson a permis d'analyser la corrélation entre la contamination des palourdes respectivement par *E. coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le VHA (Tableau II).

Les analyses statistiques ont montré une corrélation hautement significative entre les contaminations par *E. coli* et par *Salmonella* spp. ($p < 0,001$), avec une association positive dont le facteur de corrélation est de 0,216. Une corrélation hautement significative a été aussi observée entre la contamination des palourdes par *Salmonella* spp. et par les norovirus ($p < 0,001$). Il s'agit d'une association positive avec un facteur de corrélation de 0,269 (Tableau II).

Une association significative a été mise en évidence entre la contamination par les norovirus et par le VHA, avec une valeur p de 0,031 et un coefficient de corrélation de 0,135.

Cependant, les contaminations par *E. coli*, par les norovirus et par le VHA sont inversement corrélées, avec un facteur de corrélation de $-0,045$ et $-0,074$, respectivement. Cette corrélation est statistiquement non significative, avec une valeur de p de 0,481 pour les norovirus et de 0,245 pour le VHA, respectivement.

L'analyse de la corrélation linéaire entre les contaminations par le VHA et *E. coli* a montré un coefficient de corrélation r de $-0,02$, soit très proche de zéro, traduisant une absence de lien entre la présence de ces deux agents pathogènes.

Aucune corrélation significative n'a été observée entre la présence de *Salmonella* spp. et le VHA ($p = 0,401$), le coefficient de corrélation étant de $-0,053$ (Tableau II).

Variation saisonnière

Le test de Student a permis d'analyser les variations du taux de contamination des palourdes par *E. coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le VHA en fonction des variations de la température, représentées par quatre périodes de l'année, comme suit : de janvier à mars (période 1), d'avril à mai (période 2), de juin à août (période 3) et de septembre à décembre (période 4).

Les analyses ont montré l'absence de différence significative de la charge microbienne d'*E. coli* ($p = 0,098$), de *Salmonella* spp. ($p = 0,383$), des norovirus ($p = 0,822$) et du VHA ($p = 0,495$) entre les périodes 1 et 2 (Tableau III).

Une différence significative a été observée pour *E. coli* ($p = 0,002$) entre les périodes 1 et 3, avec une charge plus importante pendant la période 3 (Tableau III). En revanche, à ces mêmes périodes, aucune différence significative n'a été observée pour *Salmonella* spp., les norovirus et le VHA.

S'agissant des périodes 1 et 4, des différences significatives de la charge bactérienne d'*E. coli* et de *Salmonella* spp. ont été observées entre ces deux périodes, avec une valeur p de 0,004 et 0,012 respectivement. La charge bactérienne était plus importante durant la période 4.

Aucune différence de la charge bactérienne et virale n'a été observée entre les périodes 2 et 3.

La contamination des palourdes par *E. coli* était significativement plus élevée durant la période 4 par rapport à la période 2 ($p = 0,030$) (Tableau III). Par contre, il n'y a aucune différence significative pour les autres microorganismes entre ces deux périodes.

S'agissant des périodes 3 et 4, la positivité moyenne était significativement plus élevée pendant la période 4 pour *E. coli* et *Salmonella* spp., avec une valeur p de 0,018 et de 0,009 respectivement.

Concernant la charge virale, aucune différence significative de la moyenne de positivité n'a été notée entre les quatre périodes de l'année.

Discussion

Contaminations bactériennes et virales des palourdes

Contamination par *Escherichia coli* et *Salmonella* spp.

Plusieurs facteurs environnementaux ont été propices à la contamination des palourdes par *E. coli* et *Salmonella* spp. Le premier de ces facteurs était la saison et plus précisément la présence d'oiseaux migrateurs (flamants roses) de septembre à octobre. Comme toutes les volailles, ces oiseaux peuvent héberger des entérobactéries dans leurs intestins. Baylet et Rollin en 1979 (22) ont montré la présence de salmonelles dans les intestins des flamants roses ainsi que d'*E. coli*, indicateur classique de la pollution fécale des eaux, dans la flore digestive des goélands de Camargue, qui occupent pratiquement la même niche écologique que les flamants roses (22). Ces oiseaux vont se rassembler à côté de l'eau de mer pour se nourrir puis par leurs fèces vont contaminer cette eau, ainsi que les produits alimentaires d'origine marine. L'Union européenne indique que le risque de contamination fécale d'origine humaine et animale dans les mollusques bivalves est estimé en déterminant la concentration d'*E. coli* dans des échantillons prélevés des zones de production (23). Les oiseaux vivant dans ces écosystèmes peuvent être porteurs de plusieurs agents pathogènes zoonotiques (virus, bactéries, parasites, champignons) (24).

Il existe également un lien entre le taux de contamination fécale et la localisation des sites au croisement de l'eau de mer avec des oueds ou avec des eaux usées. Il a été démontré dans une étude marocaine de 2014 (25) que les niveaux de contamination élevés rapportés peuvent s'expliquer par la proximité entre les parcs et l'embouchure de l'oued Moulouya, qui draine la totalité des contaminants issus des activités agricoles pratiquées le long du bassin versant (aviculture, élevage bovin et ovin, etc.) ainsi que des rejets urbains des villes intérieures. Cette situation pourrait aussi se produire lors d'un dysfonctionnement des unités de traitement des eaux usées ou des réseaux d'assainissement ou encore lors de déversements d'eaux insuffisamment épurées (26).

La contamination par *E. coli* a été associée à l'activité touristique pendant la saison d'été. Une étude réalisée sur un ensemble de lagunes côtières à Ria Formosa (un site protégé au Portugal) a montré un taux accru de contamination des coquillages par *E. coli* suite à l'augmentation de la population du fait de l'activité touristique (27).

Le taux de contamination des palourdes par les salmonelles coïncide avec un niveau de contamination élevé par *E. coli* durant deux périodes de l'année (du mois de mars au mois de mai et du mois de septembre au mois de novembre), représentant 47 % de ces contaminations (Fig. 1). Monfort et coll. en 1997 (28) ont rapporté une relation hautement significative ($p < 0,001$) entre la fréquence d'isolement des salmonelles et l'abondance du germe test de contamination fécale *E. coli*.

Contamination par les norovirus

Le faible taux de contamination des palourdes par les norovirus dans notre étude (19 %) pourrait s'expliquer par la difficulté de détection de ces virus à ARN ainsi que par le fait que l'efficacité de la technique RT-PCR dépend de deux facteurs : l'efficacité de l'extraction des acides nucléiques et la pureté de ces derniers (29). Une étude tunisienne réalisée en recourant à la technique RT-PCR en temps réel sur les mollusques bivalves de la lagune de Bizerte (Nord tunisien) a révélé un taux de contamination des coquillages par les norovirus plus important, de l'ordre de 45 % (30).

Deux génogroupes (GI et GII) des norovirus sont détectés chez les mollusques bivalves. Une étude tunisienne a montré une corrélation entre les souches des norovirus détectées dans les eaux usées et dans les coquillages et celles retrouvées dans les selles des patients (31). Cette étude suggère qu'il existe une relation entre la contamination hydrique et les diarrhées infantiles (31). Les deux principaux génogroupes affectant les humains sont GI et GII (32).

La prédominance du GI (78 %) par rapport au GII (21,8 %) dans notre étude est similaire aux résultats rapportés dans une étude réalisée dans la région des rias galiciennes (nord-ouest de l'Espagne) portant sur la

détection des norovirus GI et GII chez les palourdes. Cette étude a montré que le génogroupe GI était le plus répandu (32,1 %), suivi par le génogroupe GII (25,6 %) (33). Flannery et coll. en 2012 (34) ont rapporté une concentration élevée en norovirus du génogroupe GI dans les eaux usées. Ils ont expliqué que ce taux est cohérent avec l'augmentation des cas d'infection par des virus du génogroupe GI dans la population pendant cette période. En revanche, contrairement à nos résultats, Siebenga et coll. en 2010 (35) ont rapporté que depuis quelques années, les souches de norovirus détectées appartiennent majoritairement au génogroupe GII, qui représente 70 à 80 % des souches identifiées dans les cas cliniques (35).

Les résultats de la présente étude relatifs à la saisonnalité des norovirus confirment ceux de Flannery et coll. en 2012 (34). Ces derniers ont montré que les norovirus sont présents dans les eaux usées toute l'année, avec toutefois une augmentation importante entre les mois de janvier et mars (34). Les travaux de Green et coll. en 2001 corroborent également ces résultats (36). Ils ont rapporté la saisonnalité des infections, marquée par une fréquence hivernale élevée, avec toutefois des pics épidémiques ponctuels au printemps et en été.

Selon la Direction générale de l'alimentation de France en 2013 (37), la contamination croisée des échantillons par les norovirus et *E. coli* (l'indicateur de contamination fécale microbiologique réglementaire) et/ou *Salmonella* spp. n'est pas toujours corrélée à la présence du virus dans l'environnement. En effet, les coquillages présents dans le milieu ou en zone de dépôt (sur l'estran, zone sensible car plus proche des exutoires d'eaux usées) peuvent concentrer en moins d'une heure les virus rejetés dans l'eau et cette contamination peut perdurer pendant huit à dix semaines au sein des coquillages.

Contamination par le virus de l'hépatite A

Le faible taux de contamination des palourdes par le VHA (3 %) dans la présente étude pourrait s'expliquer par la présence des substances inhibitrices extraites et concentrées au même titre que les ARN viraux. Cet effet inhibiteur est d'autant plus notable que le nombre de copies de génome viral dans l'échantillon est faible (38). La présence

d'inhibiteurs de réaction enzymatique peut masquer la présence du virus, comme l'ont rapporté Gantzer et coll. en 1998 (39).

L'hypothèse d'une contamination des mollusques bivalves par le VHA déterminée par la saison a été confirmée par Schwab et coll. en 1998 (40). Ils ont rapporté que la bioaccumulation des virus dans les coquillages est un phénomène qui varie en fonction des espèces de coquillages et de leur activité physiologique et que cette dernière dépend de la saison et de la température de l'eau de mer.

Corrélations entre la contamination des palourdes par des bactéries et des virus et les facteurs biotique et abiotique

Corrélations entre les taux de contamination des palourdes par les différents germes entéropathogènes

Les résultats de l'étude concernant la corrélation entre la contamination des palourdes par *E. coli* et *Salmonella* spp. sont similaires à ceux rapportés par Montfort et coll. en 1997 (28). Ces derniers ont rapporté une relation hautement significative ($p < 0,001$) entre la fréquence d'isolement des salmonelles et l'abondance du germe test de contamination fécale, *E. coli*. Amri et coll. en 2011 (41) ont également rapporté une corrélation entre la contamination des palourdes par *E. coli* et *Salmonella* spp.

Aucune corrélation entre la présence d'*E. coli*, des norovirus et du VHA n'a été mise en évidence dans notre étude. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Amri et coll. en 2011 (41) qui ont montré que des échantillons de coquillages contaminés par le VHA (31,48 %) se sont révélés négatifs pour *Salmonella* spp. et pour *E. coli*.

L'utilisation des coliformes comme indicateurs de la qualité virologique d'une eau est très largement critiquée et plusieurs études ont montré qu'il n'y avait pas de relation quantitative entre la concentration des coliformes et celle des entérovirus notamment (42).

Le test de Pearson montre une association significative entre la contamination par les norovirus et la présence du VHA. Nos résultats corroborent ceux de Croci et coll. en 2007 (43) qui ont rapporté la

contamination des mollusques et des crustacés en mer par les virus entériques, le VHA et les norovirus.

Variation saisonnière

Le test de Student a été appliqué pour étudier la variation du taux de contamination des palourdes par *E. coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le VHA pendant quatre périodes, déterminées en fonction de la variation de la température, de la période de migration des oiseaux et de l'activité touristique. L'étude de la variation saisonnière de la contamination des palourdes par *E. coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le VHA a montré l'influence de la température, de la présence d'oiseaux migrateurs et de l'activité touristique en tant que facteurs majeurs de contamination de l'eau de mer et des coquillages par les bactéries et les virus.

Une charge microbienne homogène a été constatée pendant les périodes 1 et 2. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'absence de différence au niveau des facteurs favorisant la contamination entre ces deux périodes.

La charge bactérienne en *E. coli* des palourdes était plus importante pendant la période 3. Cette période correspond à la saison touristique, caractérisée par l'activité au bord de la mer et l'augmentation du taux d'entérobactéries.

La charge bactérienne (tant *E. coli* que *Salmonella* spp.) importante durant la période 4 pourrait être attribuée à deux facteurs principaux, à savoir la présence d'oiseaux migrateurs (flamants roses) au bord de la mer durant cette période de l'année, ces oiseaux étant porteurs d'agents pathogènes, et la variation de la température. Ryu et coll. en 2014 (44) ont montré que les oiseaux migrateurs sont des réservoirs et des porteurs importants d'espèces pathogènes et surtout d'entérobactéries. Hubálek et coll. en 1995 (45) ont rapporté que la prévalence la plus élevée de *Salmonella* spp. chez les oiseaux migrateurs a été observée pendant la saison de reproduction ainsi que pendant l'hivernage de certaines espèces d'oiseaux urbains, en particulier celles qui se nourrissent de déchets. La température est l'un des paramètres faisant partie des modèles explicatifs de l'évolution des abondances bactériennes (46).

Une étude expérimentale sur l'évolution des abondances d'*E. coli* 0126:B16 et d'autres bactéries pathogènes d'intérêt sanitaire comme *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium et *Aeromonas hydrophila* dans l'eau usée et épurée, a montré que la température fait partie des facteurs responsables des variations des abondances de ces bactéries dans les milieux aquatiques (47). McFeters et Stuart en 1972 (48) ont noté une relation inverse entre l'abondance d'*E. coli* et l'augmentation de la température, surtout dans l'intervalle entre 5 °C et 30 °C. La survie d'*E. coli* dans l'eau de mer est d'autant plus longue que la température est faible (49).

Le taux de contamination correspondant à l'indicateur de contamination fécale (*E. coli*) était significativement plus élevé pendant la période 4 que pendant la période 2 (Tableau III). Ceci confirme l'hypothèse de l'influence de la température sur le taux de contamination par cette bactérie.

Le taux élevé de contamination par *Salmonella* spp. et *E. coli* observé durant la période 3 pourrait être attribué à la moyenne élevée des températures au cours de cette période, qui favorise la multiplication de ces deux espèces, ainsi qu'à l'activité touristique importante (Tableau III).

Concernant la charge virale, nous n'avons pas noté une différence significative entre les quatre périodes de l'année pour ce qui concerne le taux moyen de prélèvements positifs. La Tunisie se caractérise par un taux élevé d'ensoleillement toute l'année. Plusieurs études ont montré l'influence des rayonnements solaires sur la survie des virus. En effet, une inactivation virale se produit suite à une réaction photochimique qui entraîne une altération de l'acide nucléique ou d'autres récepteurs non nucléiques du virus sous l'effet des rayons ultraviolets (UV) et des rayons du spectre visible (50).

Conclusion

L'étude des corrélations entre les contaminations par différents agents pathogènes dans les zones de production de palourdes de la région de Sfax a fait ressortir trois types de corrélation hautement significative, à

savoir celle entre la contamination par *E. coli* et *Salmonella* spp. ($p < 0,001$), celle entre la contamination par les norovirus et le VHA ($p = 0,031$), et celle entre la contamination par les norovirus et *Salmonella* spp. ($p < 0,001$).

L'analyse statistique des différentes données et des corrélations entre la contamination des palourdes par *E. coli*, *Salmonella* spp., le VHA et les norovirus d'une part et les facteurs biotiques et abiotiques d'autre part a confirmé que le niveau de contamination des mollusques bivalves vivants est directement lié à des facteurs environnementaux et saisonniers, principalement.

Références

1. Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Widdowson M.A., Roy J.L., Jones S.L. & Griffin P.M. (2011). – Foodborne illness acquired in the United States: major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.*, **17** (1), 7–15. doi:10.3201/eid1701.P11101.
2. Kosek M., Bern C. & Guerrant R.L. (2003). – The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull. WHO*, **81** (3), 197–204. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2572419/ (consulté le 9 août 2018).
3. Parashar U.D., Hummelman E.G., Bresee J.S., Miller M.A. & Glass R.I. (2003). – Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg. Infect. Dis.*, **9** (5), 565–572. doi:10.3201/eid0905.020562.
4. Bryce J., Boschi-Pinto C., Shibuya K. & Black R.E. (2005). – WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet*, **365** (9465), 1147–1152. doi:10.1016/S0140-6736 (05)71877-8.
5. Patel M.M., Hall A.J., Vinjé J. & Parashar U.D. (2009). – Norovirus: a comprehensive review. *J. Clin. Virol.*, **44** (1), 1–8. doi:10.1016/j.jcv.2008.10.009.
6. Miossec L. (1997). – Études épidémiologiques sur

l'importance des coquillages en tant que facteur d'exposition de l'hépatite A : approche méthodologique. Rapport interne. Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral, Ifremer, Nantes, France, 35 pp. Disponible en ligne : <http://archimer.ifremer.fr/doc/00105/21576/19156.pdf> (consulté le 9 août 2018).

7. Hall A.J., Lopman B.A., Payne D.C., Patel M.M., Gastañaduy P.A., Vinjé J. & Parashar U.D. (2013). – Norovirus disease in United States. *Emerg. Infect. Dis.*, **19** (8), 1198–1205. doi:10.3201/eid1908.130465.

8. Lees D. (2000). – Viruses and bivalve shellfish. *Int. J. Food Microbiol.*, **59** (1–2), 81–116. doi:10.1016/S0168-1605(00)00248-8.

9. Rezig D., Ouneissa R., Mhiri L., Mejri S., Haddad-Boubaker S., Ben Alaya N. & Triki H. (2008). – Séroprévalences des infections à hépatite A et E en Tunisie. *Pathol. Biol.*, **56** (3), 148–153. doi:10.1016/j.patbio.2007.09.026.

10. Organisation mondiale de la santé (OMS) (2018). – Typhoïde. Communiqué de presse, OMS, Genève, Suisse. Disponible en ligne : <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/typhoid/> (consulté le 9 août 2018).

11. Delmas G., Jourdan da Silva N., Pihier N., Weill F.-X., Vaillant V. & de Valk H. (2010). – Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. *Bull. Épidémiol. Hebdo.*, **31–32**, 344–348. Disponible en ligne : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=265 (consulté le 9 août 2018).

12. Mossel D.A.A. (1989). – Infections et intoxications alimentaires. In *Microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments* (H. Leclerc & D.A.A. Mossel, édit.). Quatrième Partie, Chapitre IV. Éditions Doin, Paris, France, 389–412.

13. Desenclos J.C., Bouvet P., Pierre V., Brisabois A., Frémy S., Lahelléc C., Grimont F. & Grimont P.A.D. (1996). – Épidémiologie des

infections à *Salmonella* : tendances récentes en France et en Europe. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, **11** (3), 209–215.

14. Organisation mondiale de la santé (OMS) (2015). – Journée mondiale de la santé 2015 : vos aliments sont-ils vraiment sûrs ? OMS, Genève, Suisse. Disponible en ligne : www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/food-safety/fr/ (consulté le 9 août 2018).

15. Direction générale des Services vétérinaires (Tunisie) (DGSV) (1995). – Arrêté du ministre de l’Agriculture du 28 novembre 1995, fixant les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché de mollusques bivalves vivants. *JORT*, **97**, 3 pp. Disponible en ligne : <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/tun6780.pdf> (consulté le 14 août 2018).

16. Direction générale des Services vétérinaires (Tunisie) (DGSV) (2006). – Arrêté du ministre de l’Agriculture et des ressources hydrauliques du 2 novembre 2006, modifiant et complétant l’arrêté du ministre de l’Agriculture du 28 novembre 1995 fixant les exigences auxquelles doivent satisfaire les zones de production des mollusques bivalves vivants. *JORT*, **90**, 3920–3921. Disponible en ligne : www.cnudst.rnrt.tn/jortsrc/2006/2006f/jo0902006.pdf (consulté le 14 août 2018).

17. Direction générale des Services vétérinaires (Tunisie) (DGSV) (2009). – Arrêté du ministre de l’Agriculture et des ressources hydrauliques du 3 février 2009, complétant l’arrêté du 28 novembre 1995, fixant les exigences auxquelles doivent satisfaire les zones de production des mollusques bivalves vivants. *JORT*, **13**, 512–513. Disponible en ligne : www.cnudst.rnrt.tn/jortsrc/2009/2009f/jo0132009.pdf (consulté le 14 août 2018).

18. Lee R., Lovatelli A. & Ababouch L. (2010). – Purification des coquillages bivalves : aspects fondamentaux et pratiques. Document technique sur les pêches, n° 511, FAO, Rome, Italie, 155 pp. Disponible en ligne : www.fao.org/docrep/013/i0201f/i0201f00.htm

(consulté le 9 août 2018).

19. Organisation internationale de normalisation (ISO) (2015). – ISO 16649-3:2015 : Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positives – Partie 3 : Recherche et technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-5-chloro-4-indolyl-3 β -D-glucuronate. ISO, Genève, Suisse, 10 pp.

20. Organisation internationale de normalisation (ISO) (2017). – ISO 6579-1:2017 : Microbiologie des aliments – Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* – Partie 1 : Recherche des *Salmonella* spp. ISO, Genève, Suisse, 50 pp.

21. Organisation internationale de normalisation (ISO) (2017). – ISO 15216-1:2017 : Microbiologie dans la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche des virus de l'hépatite A et norovirus par la technique RT-PCR en temps réel – Partie 1 : Méthode de quantification. ISO, Genève, Suisse, 49 pp.

22. Baylet R. & Rollin P.E. (1979). – *Edwardsiellae tarda* et sp., et *Salmonella typhimurium* chez des oiseaux en Camargue. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **72** (5–6), 405–410.

23. Lee R.J. & Silk R. (2012). – Sources of variation of *Escherichia coli* concentrations in bivalve molluscs. *J. Water Health*, **11** (1), 78–83. doi:10.2166/wh.2012.114.

24. Janovy J. (1997). – Protozoa, helminths and arthropods of birds. *In* Host-parasite evolution: general principles and avian models (D.H. Clayton & J. Moore, édit.). Oxford University Press, Oxford, Royaume-Uni, 303–337.

25. Belbachir C., Chafi A., Aouniti A. & Khamri M. (2014). – Qualité microbiologique de trois espèces de mollusques bivalves à intérêt commercial récoltées sur la côte méditerranéenne nord-est du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.*, **5** (1), 304–309. Disponible en ligne : www.jmaterenvirosci.com/Document/vol5/vol5_N1/36-JMES-600a-

2014-Chaouki.pdf (consulté le 9 août 2018).

26. Le Guyader F.S., Neill F.H., Dubois E., Bon F., Loisy F., Kohli E., Pommepuy M. & Atmar R.L. (2003). – A semi-quantitative approach to estimate Norwalk-like virus contamination of oysters implicated in an outbreak. *Int. J. Food Microbiol.*, **87** (1–2), 107–112. doi:10.1016/S0168-1605 (03)00058-8.

27. Botelho M.J., Soares F., Matias D. & Vale C. (2015). – Nutrients and clam contamination by *Escherichia coli* in a meso-tidal coastal lagoon: seasonal variation in counter cycle to external sources. *Mar. Pollut. Bull.*, **96** (1–2), 188–196. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.05.030.

28. Monfort P., Piclet G., Le Gal D., Raguénès P., Le Naour G., Boulben S. & Le Saux J.C. (1997). – Incidence de *Salmonella* spp. dans les bivalves issus de zones conchylicoles du Finistère (France). Colloque Salmonelles et salmonelloses, Ploufragan, France, 20–22 mai 1997, 431–433.

29. Loisy F. (2004). – Devenir des virus entériques humains en milieu marin : apport des VLPs (*virus like particles*) pour la purification des coquillages. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, Université Paris XI, France, 232 pp. Disponible en ligne : <http://archimer.ifremer.fr/doc/2004/these-327.pdf> (consulté le 9 août 2018).

30. Essebai El Amri D. & Aouni M. (2005). – Recherche par RT-PCR des virus entériques chez des moules (*Mytilus galloprovincialis*) et des palourdes (*Ruditapes decussatus*). *Bull. Inst. Natl Sci. Technol. Mer*, **32**, 93–98. Disponible en ligne : www.oceandocs.org/handle/1834/3755 (consulté le 9 août 2018).

31. Sdiri-Loulizi K., Gharbi K.H., de Rougemont A., Chouchane S., Sakly N., Ambert-Balay K., Hassine M., Guédiche M.N., Aouni M. & Pothier P. (2008). – Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *J. Clin. Microbiol.*, **46** (4), 1349–1355. doi:10.1128/JCM.02438-07.

32. Lindesmith L.C., Donaldson E.F., LoBue A.D., Cannon J.L., Zheng D.-P., Vinje J. & Baric R.S. (2008). – Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. *PLoS Med.*, **5** (2), e31, 0269–0290. doi:10.1371/journal.pmed.0050031.

33. Polo D., Varela M.F. & Romalde J.L. (2015). – Detection and quantification of hepatitis A virus and norovirus in Spanish authorized shellfish harvesting areas. *Int. J. Food Microbiol.*, **193**, 43–50. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.007.

34. Flannery J., Keaveney S., Rajko-Nenow P., O’Flaherty V. & Doréa W. (2012). – Concentration of norovirus during wastewater treatment and its impact on oyster contamination. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78** (9), 3400–3406. doi:10.1128/AEM.07569-11.

35. Siebenga J.J., Lemey P., Kosakovsky Pond S.L., Rambaut A., Vennema H. & Koopmans M. (2010). – Phylodynamic reconstruction reveals norovirus GII.4 epidemic expansions and their molecular determinants. *PLoS Pathog.*, **6** (5), e1000884. doi:10.1371/journal.ppat.1000884.

36. Green K.Y., Chanock R.M. & Kapikian A.Z. (2001). – Human caliciviruses. *In* Fields virology (B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley & D.E. Griffin, édit.), 4^eéd. Raven Press, New York, États-Unis, 841–874.

37. Ministère de la transition écologique et solidaire (France) (2013). – Note de service DGAL/SDSSA/N2013-8187 du 20 novembre 2013 relative à la contamination des zones de production de coquillages par les norovirus : protocole cadre de gestion. Disponible en ligne : https://aida.ineris.fr/consultation_document/32006 (consulté le 9 août 2018).

38. Jaykus L.A., De Leon R. & Sobsey M.D. (1996). – A virion concentration method for detection of human enteric viruses in oysters by PCR and oligo probe hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62** (6), 2074–2080. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC167985/ (consulté le 9 août 2018).

2018).

39. Gantzer C., Dubois É., Crance J.-M., Billaudel S., Kopecka H., Schwartbrod L., Pommepeuy M. & Le Guyader F. (1998). – Devenir des virus entériques en mer et influence des facteurs environnementaux. *Oceanol. Acta*, **21** (6), 983–992. doi:10.1016/S0399-1784(99)80020-6.

40. Schwab K.J., Neill F.H., Estes M.K., Metcalf T.G. & Atmar R.L. (1998). – Distribution of Norwalk virus within shellfish following bioaccumulation and subsequent depuration by detection using RT-PCR. *J. Food Protec.*, **61** (12), 1674–1680. doi:10.4315/0362-028X-61.12.1674.

41. Amri I., Hmaïed F., Loisy F., Lebeau B., Barkallah M., Saidi M. & Slim A. (2011). – Détection du virus de l'hépatite A dans les coquillages en Tunisie par *reverse transcription–nested PCR* – recherche de corrélation entre la contamination virale et bactérienne. *Pathol. Biol.*, **59** (4), 217–221. doi:10.1016/j.patbio.2009.10.009.

42. Wheeler D. (1990). – The pollution of beaches by viruses. House of Commons Environment Committee inquiry into the pollution of beaches. Appendices to the Minutes of Evidence, No. 11, 24–39. Gouvernement du Royaume-Uni, Londres, Royaume-Uni.

43. Croci L., Losio M.N., Suffredini E., Pavoni E., Di Pasquale S., Fallacara F. & Arcangeli G. (2007). – Assessment of human enteric viruses in shellfish from the northern Adriatic Sea. *Int. J. Food Microbiol.*, **114** (2), 252–257. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.015.

44. Ryu H., Grond K., Verheijen B., Elk M., Buehler D.M. & Santo Domingo J.W. (2014). – Intestinal microbiota and species diversity of *Campylobacter* and *Helicobacter* spp. in migrating shorebirds in Delaware Bay. *Appl. Environ. Microbiol.*, **80** (6), 1838–1847. doi:10.1128/AEM.03793-13.

45. Hubálek Z., Sixl W., Mikuláskova M., Sixl-Voigt B., Thiel W. & Halouzka J. (1995). – *Salmonellae* in gulls and other free-living birds in the Czech Republic. *Centr. Eur. J. Public Hlth*, **3** (1), 21–24. Disponible en ligne : <https://cejph.szu.cz/pdfs/cjp/1995/01/03.pdf>

(consulté le 9 août 2018).

46. Davey K.R. (1989). – A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *J. Appl. Bacteriol.*, **67** (5), 483–488. doi:10.1111/j.1365-2672.1989.tb02519.x.

47. Mezrioui N. & Baleux B. (1992). – Effets de la température, du pH et du rayonnement solaire sur la survie de différentes bactéries d'intérêt sanitaire dans une eau usée épurée par lagunage. *Rev. Sci. Eau*, **5** (4), 573–591. doi:10.7202/705148ar.

48. McFeters G.A. & Stuart D.G. (1972). – Survival of coliform bacteria in naturel waters: field and laboratory studies with membrane-firter chambers. *Appl. Microbiol.*, **24** (5), 805–811. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC380667/ (consulté le 9 août 2018).

49. Vasconcelos G.J. & Swartz R.G. (1976). – Survival of bacteria in seawater using a diffusion chamber apparatus *in situ*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **31** (6), 913–920. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC169856/ (consulté le 9 août 2018).

50. Suttle C.A. & Chen F. (1992). – Mechanism and rates of decay of marine viruses in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58** (11), 3721–3729. Disponible en ligne : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC183166/ (consulté le 9 août 2018).

Tableau I

Taux de contamination par *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le virus de l'hépatite A des palourdes récoltées sur différents sites de production dans la région de Sfax (Tunisie)

Agent pathogène recherché	Pourcentage d'échantillons contaminés
<i>Escherichia coli</i> (> 230 UFC/100 g CLI)	36 % (194/539)
<i>Salmonella</i> spp. (présence)	11 % (59/539)
Norovirus (présence d'ARN viral)	19 % (48/252)
VHA (présence d'ARN viral)	3 % (8/252)

ARN : acide ribonucléique
 CLI : chair et liquide intervalvaire
 UFC : unité formant colonie
 VHA : virus de l'hépatite A

Tableau II

Étude de corrélation par le test de Pearson entre la contamination des mollusques bivalves par *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le virus de l'hépatite A

	<i>Salmonella</i> spp.			<i>Escherichia coli</i>			Norovirus			VHA		
	<i>E. coli</i>	Norovirus	VHA	<i>Salmonella</i> spp.	Norovirus	VHA	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	VHA	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Norovirus
Valeur <i>p</i>	<0,001	<0,001	0,401	<0,001	0,481	0,245	0,481	<0,001	0,031	0,245	0,401	0,031
Facteur de corrélation	0,216	0,269	-0,053	0,216	-0,045	-0,074	-0,045	0,269	0,135	-0,074	-0,053	0,135

VHA : virus de l'hépatite A

Tableau III

Variation du taux de contamination des palourdes par *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., les norovirus et le virus de l'hépatite A en fonction de la variation de la température, représentée par quatre périodes de l'année, en Tunisie (calculée au moyen du test de Student)

Période	Période 1				Période 2				Période 3			
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Norovirus	VHA	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Norovirus	VHA	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Norovirus	VHA
1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
2	0,098	0,0383	0,822	0,495	/	/	/	/	/	/	/	/
3	0,002*	0,374	0,561	0,519	0,096	0,306	0,413	0,724	/	/	/	/
4	0,004*	0,012*	0,454	0,286	0,030*	0,184	0,261	0,178	0,018*	0,009*	1,000	0,062

Période 1 : janvier, février, mars
 Période 2 : avril, mai
 Période 3 : juin, juillet, août
 Période 4 : septembre, octobre, novembre, décembre
 VHA : virus de l'hépatite A
 * : présence d'une différence significative

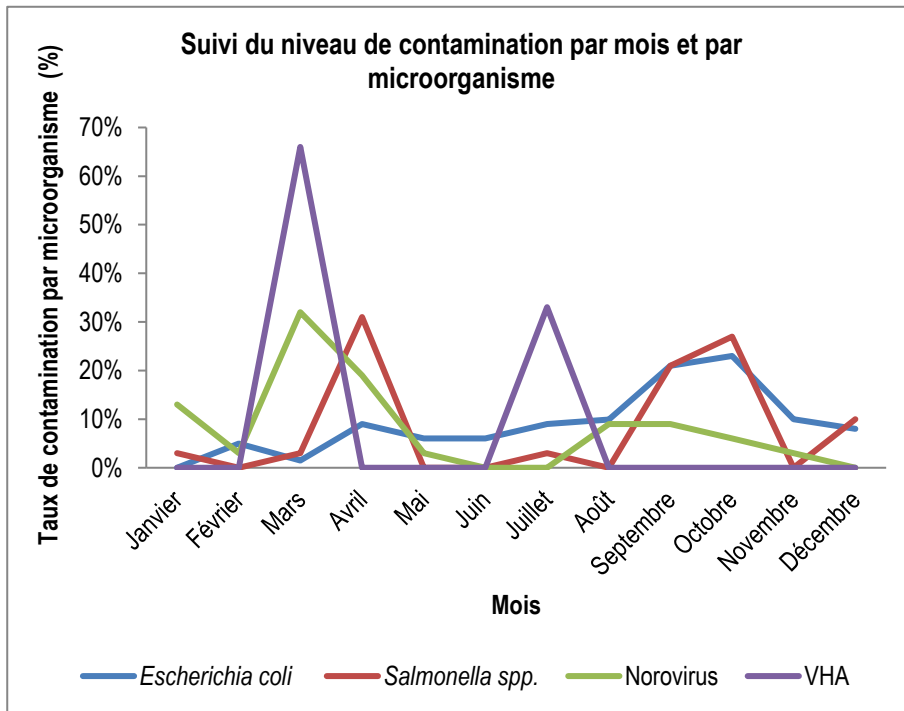


Fig. 1

Étude de l'évolution saisonnière de la contamination des palourdes par *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, les norovirus et le virus de l'hépatite A

VHA : virus de l'hépatite A