

## Évaluation des effets de la fertilisation animale des étangs intégrés à tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) sur la qualité microbiologique de l'eau et la salubrité du poisson

Albert TSHINYAMA<sup>1,2\*</sup>, Freddy OKITAYELA<sup>2</sup>, Damase KHASA<sup>3</sup> et Grant VANDENBERG<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Laval, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Département des sciences animales, Qc, G1V 0A6 Québec, Canada

<sup>2</sup> Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques, Département de Zootechnie, BP 117 Kinshasa XI, RD-Congo

<sup>3</sup> Université Laval, Centre for Forest Research and Institute for Systems and Integrative Biology, Qc, G1V 0A6, Québec, Canada

\* Correspondance, courriel : [albert.tshinyama-ntumba.1@ulaval.ca](mailto:albert.tshinyama-ntumba.1@ulaval.ca)

### Résumé

Cette étude a été menée, en vue d'évaluer les effets des fertilisants animaux (lisier de porc et fiente de canard) et de leur pré-séchage, sur la qualité microbiologique de l'eau des étangs et la salubrité du poisson. Les analyses microbiologiques ont permis d'isoler les germes microbiens de l'eau et du poisson (muscle et intestins), en lien avec les sources de fertilisation des étangs. Ainsi, 990 alevins de tilapia *Oreochromis niloticus* (poids moyen  $2,1 \pm 0,1$  g, longueur moyenne  $4,9 \pm 0,1$  cm) pêchés dans le Fleuve Congo (Kinshasa, RD-Congo) ont été élevés dans 18 étangs, en raison de 2 alevins/m<sup>2</sup>, soit 55 alevins/étang de 25 m<sup>2</sup>. Les résultats révèlent des charges bactériennes mineures sur des échantillons analysés, mais plus élevées sur ceux associés à l'utilisation des fertilisants animaux, et ceci avec une légère prédominance pour le lisier de porc par rapport à la fiente de canard. Les prévalences et les infections bactériennes ont été supérieures dans l'eau des étangs et dans les intestins de poissons, par rapport aux muscles lesquels n'ont été colonisés que par des infections bactériennes très mineures. Le pré-séchage des excréments a réduit les infections dans les échantillons, comparé au traitement à l'état frais. Les infections mineures enregistrées dans les muscles sont associées aux agents de toxi-infections alimentaires (*Salmonelles*, *Shigella spp*, *E. coli*, etc.) et ne rendent pas les poissons produits impropres à la consommation, s'ils sont convenablement cuits.

**Mots-clés :** *Oreochromis niloticus*, fertilisants animaux, fiente de canard, lisier de porc, pisciculture intégrée, qualité microbiologique de l'eau et du poisson.

### Abstract

**Assessment of the effects of animal fertilization of integrated fish farming with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) on the microbiological quality of pond water and the fish safety**

This study was conducted to assess the effects of animal fertilizers (pig manure and duck droppings) and their pretreatment by sun-drying, on the microbiological quality of pond water and on the safety of fish.

Microbiological analysis were performed to isolate microbial germs in water and fish (muscle and intestines), in relation to the sources of pond fertilization. Thus, 990 tilapia fry (*Oreochromis niloticus*; mean weight  $2.1 \pm 0.1$  g, mean length  $4.9 \pm 0.1$  cm) caught on the Congo River (Kinshasa, DR-Congo) were reared in 18 earthen ponds, due to 2 fish/m<sup>2</sup>, i.e. 55 fish/pond 25 m<sup>2</sup>. The results reveal minor bacterial loads on all samples analyzed, but higher in the samples associated with the use of animal fertilizers, and this with a slight predominance for pig manure compared to duck droppings. Prevalence and bacterial infections were higher in pond water and in fish intestines than in muscles that were colonized only by very minor bacterial infections. Pre-drying of animal faeces prior to use, reduced bacterial infections in the samples, compared to fresh animal fertilizers. Minor infections in the muscle are associated with food-borne pathogens (*salmonella*, *Shigella spp*, *E. coli*, etc.) and do not make fish unfit for consumption if properly cooked.

**Keywords :** *Oreochromis niloticus*, animal fertilizers, duck droppings, pig slurry, integrated fish farming, microbiological quality of water and fish.

## 1. Introduction

L'élevage du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) en étang est l'une des activités qui réussit mieux en pisciculture intégrée, grâce aux caractéristiques positives que présente cette espèce, notamment, l'élevage facile et simple, la tolérance à l'encombrement, la résistance aux maladies, la croissance rapide surtout pour les mâles, la précocité et la prolificité élevées, la forte fécondité, etc. [1 - 4]. Cet élevage convient comme solutions palliatives pouvant juguler la crise alimentaire chronique et lutter contre l'insécurité alimentaire endémique dans les ménages des pays en développement et les exploitations paysannes en situation des faibles intrants, en raison de ses avantages socio-économiques démontrés dans certains pays d'Afrique, Asie et Amérique du Sud [2, 5 - 10]. Sa promotion ainsi que son intensification devraient donc être envisagées pour garantir la production des poissons et essayer de disponibiliser l'approvisionnement des protéines animales de façon durable et soutenue. Cependant, l'amélioration de la productivité ainsi que l'augmentation des rendements des poissons en pisciculture intégrée sont étroitement associées à la productivité primaire des étangs, laquelle est également dépendante de l'utilisation des fertilisants organiques (fumier animal, fiente, etc.) [11 - 13]. Plusieurs auteurs ont rapporté des avantages de l'utilisation des fertilisants animaux dans l'exploitation (apport direct et indirect des nutriments, production des microalgues, réduction de la pollution environnementale, aspects économiques, etc.) [2, 5, 14, 15].

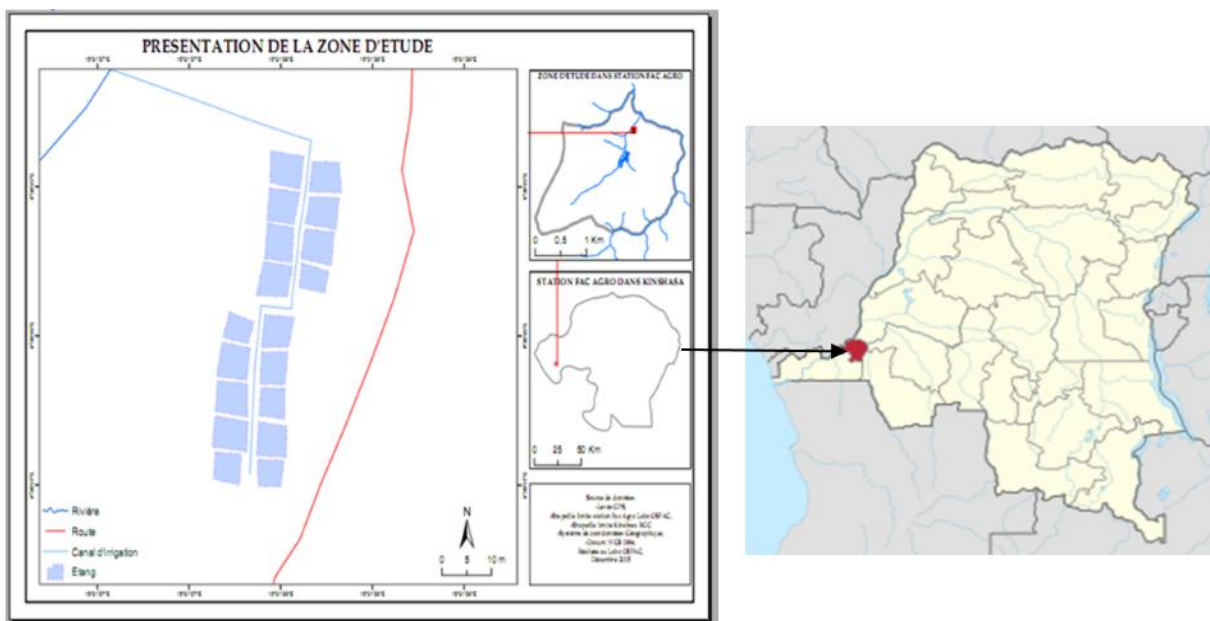
Néanmoins, les implications microbiologiques et environnementales de cette pratique ne sont pas complètement comprises et bien maîtrisées, du fait que la valorisation du fumier en étangs peut simultanément favoriser l'apparition des maladies chez les poissons. Aussi l'apport des quantités élevées de fumier animal ou d'autres fertilisants organiques peut se traduire par la diminution des qualités physico-chimiques de l'eau (eutrophisation, turbidité, etc.) avec un impact sur l'environnement [2, 14 - 17]. Dans cet ordre d'idées, il est aussi documenté que certaines sources d'eau utilisées en aquaculture sont potentiellement contaminées par des agents pathogènes dérivés d'excréments animaux ou pas [11, 14]. [15] rapportèrent de fortes charges microbiennes que véhiculent particulièrement les matières fécales de porc et l'existence en eaux douces d'une flore pathogène associée. [18] évoqua des risques particuliers pour la santé publique que l'agriculture et les étangs d'eau douce peuvent engendrer par la propagation des maladies microbiennes d'origine aquatique. Pour [11], les infections à *Streptococcus spp* isolées chez les tilapias d'élevage sont principalement associées à la qualité marginale de l'eau qu'aux systèmes intégrés. Au regard de ces considérations et comme l'ont suggéré certains auteurs, il convient de retenir que les animaux d'élevage et les poissons pourraient être impliqués dans la transmission passive et active aux humains d'une

série de maladies, du fait des niveaux importants de microorganismes pathogènes ou non (bactéries, virus, algues, champignons, parasites, etc.) dans l'eau de l'étang et dans le fumier, surtout si ce dernier n'est pas traité au préalable [11, 14, 16, 17, 19, 20]. Ainsi, dans l'optique de promouvoir la production du tilapia et de veiller à la gestion raisonnée des fertilisants animaux, cette étude a pour objectifs d'évaluer l'impact sanitaire de l'association poisson-élevage sur la qualité de l'eau des étangs et la salubrité du poisson, par l'identification des germes microbiens associés aux sources de fertilisation des étangs.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Localisation de la zone d'étude

Cette expérience a été réalisée à la Station de Recherche de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université de Kinshasa (Kinshasa, RD-Congo), située dans la zone péri-urbaine à 25 km du centre-ville de la province-ville de Kinshasa (**Figure 1**). La station s'étend sur > 450 Ha et présente un potentiel à l'intégration élevage-pisciculture, grâce à une intense activité agricole et à l'existence de plusieurs étangs piscicoles et des cours d'eau qui l'arrosent [21, 22]. En effet, suivant la classification de [23], le climat de Kinshasa est du type Aw<sub>4</sub>, climat tropical chaud et humide, avec deux saisons : une saison sèche qui s'étend de mi-mai à mi-septembre et une saison des pluies qui débute à mi-septembre pour s'achever à mi-mai. La moyenne annuelle des précipitations est de 1500 mm. La température moyenne annuelle est de 25 °C. L'insolation est élevée et la durée annuelle atteint 1838 heures par an. L'humidité relative moyenne atteint la valeur de 90 % pendant la nuit et décroît à 50 % durant les heures chaudes de la journée, la moyenne journalière oscillant autour de 80 %. L'évapotranspiration varie entre 1237 et 1340 mm/an. L'hydrographie comprend le Fleuve Congo, des rivières qui s'y jettent et des lacs de faibles étendues [21, 22, 24].



**Figure 1 :** Localisation de la zone d'étude expérimentale

### 2-2. Aménagement et gestion des étangs piscicoles

Dix-huit étangs en dérivation creusés en terre (**Figures 1 et 2**) d'une superficie de 25 m<sup>2</sup> (5 x 5 m) chacun et d'une profondeur moyenne de 0,9 m (0,8-1 m) ont été utilisés et disposés de façon aléatoire, selon un plan

exécuté en trois périodes d'échantillonnage (initial, intermédiaire et final). Le chaulage ( $\text{CaO}$  :  $300 \text{ g/m}^2$ ) a été appliqué sur le fond sec immédiatement après l'aménagement des étangs. Sept jours suivants, l'alimentation des étangs est intervenue progressivement jusqu'à  $0,8 \text{ m}$  de profondeur à l'arrivée d'eau et  $1 \text{ m}$  à sa sortie. La première fertilisation organique (lisier de porc et fiente de canard :  $0,175 \text{ kg/m}^2$  d'étang) a été appliquée au 7<sup>ème</sup> jour après la mise sous eau des étangs [25]. Ensuite, le moment idéal pour la fertilisation a été déterminé par la transparence de l'eau ou le niveau de fertilité de l'étang. Toutefois, si nécessaire un intervalle d'une semaine entre les prochaines fertilisations a été respecté pour permettre la régénération des aliments naturels dans l'étang [25, 26]. L'ensemencement des étangs (densité :  $2 \text{ alevins/m}^2$ ) a été réalisé 7 jours après la 1<sup>ère</sup> fertilisation organique. Le débit de l'eau des étangs a été maintenu constant ( $2 \text{ l/s/Ha}$ ), en vue de compenser les pertes par infiltration et évaporation [4]. Pour renforcer la solidité des étangs, la pelouse a été semée sur toutes les digues.



**Figure 2 :** Aménagement des étangs avant et au cours de la présente expérience

### 2-3. Poissons, alimentation et fertilisation des étangs

Cette expérience a duré 5 mois partant de l'ensemencement des alevins à la récolte finale (septembre 2014 à février 2015). Au total, 990 alevins de tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758 (poids moyen  $2,1 \pm 0,1 \text{ g}$ , longueur totale moyenne  $4,9 \pm 0,1 \text{ cm}$ ) pêchés dans le Fleuve Congo (Kinshasa, RD-Congo) ont été élevés dans 18 étangs, en raison de  $2 \text{ alevins/m}^2$ , soit 55 alevins/étang de  $25 \text{ m}^2$  considérant le taux de mortalité de  $10 \%$  [2]. Le choix a été porté sur des souches locales de tilapia *O. niloticus* du fait de leur adaptation aux conditions d'aquaculture intégrée à faibles intrants, contrairement aux souches génétiquement modifiées (GIFT) reconnues plus performantes avec des aliments riches en protéines, mais incapables de convertir les aliments naturels [2, 27]. L'expérience a consisté à évaluer l'effet de deux types de déjections animales (lisier de porc et fiente de canard) utilisées à l'état frais et sec comme fertilisants organiques pour les étangs. Pour le séchage, les fertilisants ont été séchés au soleil jusqu'au poids constant, afin d'évaluer le degré de réduction des contaminants (coliformes fécaux, germes pathogènes, parasites) associés à l'utilisation des déjections animales en aquaculture [11, 28 - 30]. En effet, il convient de rappeler ici que, selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le prétraitement préalable des excréments est à encourager avant leur utilisation en aquaculture [19]. Pour leur conservation, les excréments préalablement séchés ont été stockés dans des fûts en plastique hermétiques afin d'en conserver la qualité et d'éviter les pertes d'azote liées au stockage prolongé, et aux conditions d'aérobies et de températures élevées [3, 11]. L'effet d'aliment artificiel formulé *in situ* selon les besoins nutritionnels des tilapias [31, 32] a été également évalué sur les mêmes paramètres étudiés. Cet aliment a été formulé dans le but de minimiser le coût de production de poisson, par la valorisation des sous-produits agro-industriels

locaux et disponibles. Ainsi, pour sa préparation, les ingrédients secs ont été séparément et finement moulus (120 µm) à l'aide d'un broyeur (Moulinex<sup>®</sup>, France), ensuite pesés et mélangés de façon homogène avant d'ajouter l'huile de palme en dernier. A l'aide d'un broyeur manuel de grain (CORONA<sup>®</sup> Hand Mill, Henan, Chine) muni d'une vis hélicoïdale, le mélange a été pressé à travers des mailles de 2 mm de la matrice pour produire des granules d'environ 2 mm de long. La moulée produite a été ensuite séchée au soleil et conservée jusqu'à l'utilisation. La ration quotidienne (10 % du poids vif/jour) a été servie manuellement en deux repas (9h et 16h) pour minimiser les pertes dans l'eau, vu la surface large des étangs et le tube digestif de tilapia moins développé [2]. La ration a été ajustée chaque semaine selon l'évolution de la biomasse des poissons. Sa composition ainsi que sa teneur en nutriments sont présentées dans le **Tableau 1**.

**Tableau 1** : *Composition et analyses biochimiques de la ration expérimentale pour les tilapias *Oreochromis niloticus**

Ingrédients	Taux d'incorporation et coûts de ration
Son de blé (%)	47
Son de riz (%)	5
Maïs gran moulu (%)	5
Drèche de bière (%)	5
Tourteau de soja (%)	24
Farine de sang (%)	10
Farine d'os (%)	2
Huile de palme (%)	2
Coût de ration (USD/kg aliment)	0,38
Coût de production (USD/kg poisson)	1,45
Nutriments et énergie	Teneurs
Matière sèche (%)	89,6
Protéines brutes (%)	32,2
Lipides (%)	5,0
Energie Mj/kg (kcal/kg)	19,7 (4541)
Phosphore (%)	1,0
Fibres brutes (%)	9,7
Cendre brute (%)	9,0

#### 2-4. Collecte et préparation des échantillons d'analyses

Au terme de la présente expérience, la détermination de la qualité sanitaire de l'eau et de la salubrité du poisson produit a été effectuée au moyen des analyses microbiologiques, en vue d'établir le lien entre les sources d'alimentation des poissons, le type des germes associés et le niveau de contamination des échantillons [11]. En effet, trois types d'échantillons, en l'occurrence l'eau des étangs, le muscle et les intestins de poissons, ont été analysés pour la mise en évidence des entérobactéries et des coliformes fécaux. Il faut signaler que pour réduire le risque éventuel de contamination au cours des opérations, le prélèvement, le transport et la manipulation des échantillons ont été effectués selon les méthodes standard et les règles de biosécurité et d'asepsie, telles que décrites dans certains travaux [33 - 37]. Avant les analyses au laboratoire, un examen externe des poissons a été effectué in situ, pour s'assurer que ceux-ci sont indemnes des parasites. Pour préparer les échantillons, la collecte de l'eau d'effluent a été effectuée à l'aide d'un flacon stérile, tôt le matin en dehors de toute turbidité et avant toutes manipulations dans l'étang. Pour ce faire, 1 litre d'eau prélevé à 4 différents endroits de l'étang a été homogénéisé et immédiatement transféré au

laboratoire en moins de 24 heures, à l'aide d'une glacière hermétique accompagnée d'une feuille d'anamnèse, pour la préparation de l'inoculum. Par ailleurs, les poissons destinés aux analyses bactériologiques ont été collectionnés à la récolte finale, à l'issue de laquelle, ils ont été comptés, pesés et mesurés de longueurs. Les lots de poissons retenus pour ces analyses ont été constitués, chacun, de trois sujets/étang échantillonnés de façon aléatoire. La recherche des germes sur les poissons a porté sur le muscle abdominal et dorsal et sur les intestins. Le muscle a été collecté avant la dissection des poissons, afin de garantir un prélèvement soigné des intestins, sans la contamination de la carcasse entière. Pour ce faire, à l'aide d'un scalpel, les fragments de tissus ont été collectés par écouvillonnage de la peau et par incision légère de la chair du poisson (environ 3 mm de profondeur). Entre chaque prélèvement, le matériel (scalpel, pinces histologiques) a été stérilisé avec de l'éthanol 75 % [36, 38]. Enfin, pour la préparation de l'inoculum, 1 g d'échantillon de tissu a été homogénéisé par dilution dans 10 ml d'eau peptonée tamponnée (diluant) [38].

## 2-5. Énumération des colonies bactériennes

A l'aide d'une anse stérile, 0,5 mL d'inoculum de chaque échantillon collecté (eau d'effluents, muscle et intestins de poisson) a étéensemencé par étalement sur toute la surface de milieu culture solide basique et sélectif approprié préalablement préparé. Ensuite, les boîtes de Pétri ont été portées dans l'étuve pour une incubation à 37 °C pendant 48 heures, avant la lecture et le comptage des colonies bactériennes poussées. Cependant, seules les boîtes de Pétri possédant entre 30 et 300 colonies ont été considérées pour l'énumération ; de plus, seules les colonies typiques et bien visibles d'un diamètre supérieur à 0,4 mm ont été prises en compte pour la suite. Toutefois, à la différence de *Salmonella spp*, toutes les colonies qui semblent uniformément rouges sont présumées de *Shigella spp* [37]. Les colonies à *S. aureus* sont distinctes noires et luisantes avec une marge blanche et entourées de zones dégagées après 24 heures. Les streptocoques présenteraient de petites colonies violettes [38]. Enfin, le nombre des germes a été estimé selon [38] par la **Formule** suivante :

$$NG \text{ (g ou ml)} = \frac{Nc \times Td}{Qi} \quad (1)$$

*D'où, NG (g ou ml) : le nombre des germes par gramme ou par millilitre d'échantillon ; Nc : le nombre des colonies poussées ; Td : le taux de dilution et Qi la quantité d'inoculum.*

Pour estimer la quantité de milieux de culture nécessaires, la préparation de ceux-ci a été faite selon la concentration et les normes recommandées par le fabricant, par la **Formule** suivante :

$$Qm = \frac{C \times Qe}{1000} \quad (2)$$

*Qm étant la quantité de milieu de culture nécessaire ; C : la concentration en gramme/litre d'eau et Qe : la quantité d'eau distillée.*

Ainsi, cinq milieux de culture solides ont été préparés et utilisés selon les méthodes décrites par Damergi [38], pour permettre le développement et/ou l'isolement des germes bactériens et/ou microbiens :

- Plant Count Agar (PCA) : milieu de base utilisé pour la croissance et l'énumération de tous les germes aérobies mésophiles totaux ;
- Salmonella-Shigella Agar (SSA) : milieu sélectif pour la croissance et l'énumération des coliformes fécaux ;
- Mannitol Salt Agar (MSA) : milieu sélectif pour la croissance et l'isolement des staphylocoques [39] ;

- Slanetz-Bartley Agar (SB) : milieu sélectif pour la croissance et l'énumération des entérocoques du groupe des streptocoques ;
- Sabouraud : milieu sélectif pour la croissance et l'isolement des champignons, moisissures et levures.

## 2-6. Identification ou isolement de bactéries et/ou champignons

Après l'énumération des colonies suspectes poussées sur les milieux de culture solides, les bactéries ont été identifiées selon la clé d'identification spécifique, par l'examen de leur comportement au moyen des épreuves biochimiques après incubation à 37 °C pendant 24 heures [38]. Ainsi, le **Tableau 2** résume l'expression des résultats basés sur l'emploi de quatre tests biochimiques disponibles, à savoir : Kligler, Lysine, Citrate et SIM (Sulfure-Indole-Mobilité).

**Tableau 2 :** Expression des résultats des tests biochimiques selon les bactéries identifiées

Germes	Tests biochimiques
<i>Salmonella spp.</i>	Kligler (Glucose+, Lactose-, Gaz+, H <sub>2</sub> S+)
	Lysine+
	SIM (Sulfure±, Indole±, Mobilité+)
<i>Shigella spp.</i>	Kligler (Glucose+, Lactose-, Gaz-)
	Citrate-
	SIM (Sulfure-, Indole±, Mobilité-)
<i>Escherichia coli</i>	Kligler (Glucose+, Lactose+, Gaz±)
	Citrate-
	SIM (Sulfure±, Indole+, Mobilité-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kligler (Glucose+, Lactose+, Gaz-)
Streptocoques fécaux	Kligler (Glucose+, Lactose+, Gaz-)
	Coques en chaînettes mais isolées

Malgré les réactions quasi similaires des coliformes fécaux aux épreuves biochimiques (**Tableau 2**), les colonies uniformément rouges poussées sur le milieu SSA sont présumées dérivées de *Shigella spp.* Aussi, la présence des coques en chaînettes isolées chez les streptocoques fécaux, les différencie des staphylocoques [40].

## 2-7. Analyses statistiques

Le logiciel R i389 version 3.3.1 a été utilisé pour les analyses statistiques des données. Les paramètres à mesurer ont été soumis à l'analyse de variance (ANOVA à un facteur et double facteur). En cas de différence significative ( $P < 0,05$ ), les résultats ont été soumis aux tests de comparaison multiple de Tukey ( $P < 0,05$ ) pour établir les différences entre les moyennes des traitements et déterminer les effets de facteurs.

## 3. Résultats

### 3-1. Énumération des colonies microbiennes dans l'eau et le poisson

Les résultats des analyses microbiologiques sont consignés dans le **Tableau 3** et les **Figures 3 et 4**. En effet, le **Tableau 3** rapporte sur le développement des colonies microbiennes sur les milieux de culture basique (PCA) et sélectifs (SSA, MSA, SB, Sabouraud) à partir des échantillons de l'eau des étangs, muscles et intestins de poissons. De toutes les colonies dénombrées, les germes aérobies mésophiles totaux (germes totaux) ont été généralement prédominants suivis par les coliformes fécaux. L'analyse du **Tableau 3**

révèle que les charges bactériennes ont été généralement plus élevées dans étangs fertilisés avec les déjections utilisées à l'état frais, avec une prédominance dans le lisier de porc sur la fiente de canard. L'eau des étangs et les intestins de poissons ont montré des charges bactériennes plus élevées, comparées à celles de muscle dont les valeurs légèrement élevées n'ont été observées que chez les poissons des étangs fertilisés avec le lisier de porc frais, soit 13 et 10 germes/g de muscle, respectivement pour les germes totaux et les coliformes fécaux.

**Tableau 3 : Énumération des colonies microbiennes (germes/g) dans l'eau des étangs, muscles et intestins de tilapias<sup>1</sup>**

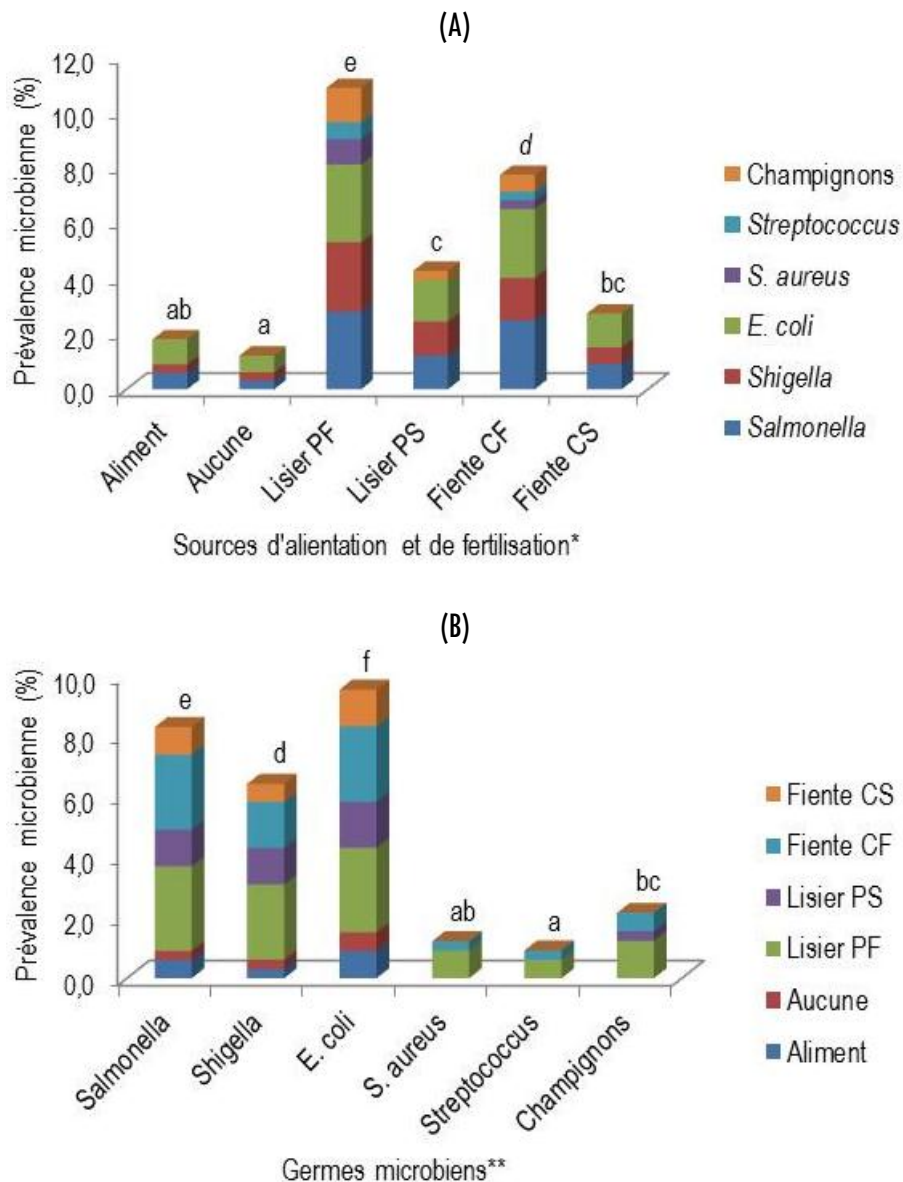
Sources d'aliment et de fertilisant	Echant. analysés	Milieux de culture et germes spécifiques				
		PCA	SSA	MSA	SB	Sabouraud
		Germes totaux	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	<i>Streptocoq.</i>	Champign.
Aliment exogène	Eau	20	15	1	0	0
	Muscle	6	3	0	0	0
	Intestin	30	25	0	0	0
Aucune fertilisation	Eau	10	10	0	0	0
	Muscle	7	5	0	0	0
	Intestin	30	20	0	0	0
Lisier de porc frais	Eau	300	30	15	10	1
	Muscle	13	10	0	0	1
	Intestin	210	30	10	3	1
Lisier de porc séché	Eau	90	15	7	0	0
	Muscle	10	3	0	0	0
	Intestin	30	25	2	0	1
Fiente de canard fraîche	Eau	120	30	3	1	1
	Muscle	10	7	0	0	1
	Intestin	120	30	5	3	1
Fiente de canard séchée	Eau	30	13	0	0	0
	Muscle	10	0	0	0	0
	Intestin	30	23	0	0	1

<sup>1</sup>Chaque valeur représente les moyennes de trois étangs/traitement pour les échantillons d'eau et trois poissons/étang pour les échantillons de muscle et intestins, le tout analysé en triplicata. Le nombre des colonies est égal au nombre des germes microbiens à la dilution 1. Les milieux de cultures : PCA (Plant Count Agar) utilisé pour le dénombrement des germes totaux ; SSA (Salmonella-Shigella Agar) pour le dénombrement des coliformes fécaux ; MSA (Mannitol Salt Agar) pour l'isolement de *Staphylococcus aureus* ; SB (Slanetz-Bartley Agar) pour l'isolement des streptocoques fécaux et sabouraud pour l'isolement des champignons.

### 3-2. Prévalences microbiennes dans l'eau et poisson

Les **Figures 3 et 4** montrent que le séchage des fertilisants animaux (lisier de porc et fiente de canard) a significativement influencé les prévalences et la charge bactériennes dans les étangs et dans les échantillons analysés ( $P < 0,001$ ). Les prévalences bactériennes (**Figure 3**) ont été supérieures dans les étangs fertilisés avec les excréments animaux utilisés à l'état frais, soit 10,9 % pour le lisier de porc et 7,7 % pour la fiente de canard, comparées à celles des étangs fertilisés avec le lisier de porc (4,3 %) et la fiente de canard (2,7 %) séchés. Tandis que, dans les étangs ayant reçu l'aliment artificiel et dans ceux n'ayant reçu aucune fertilisation, les prévalences ont été très faibles, soit 1,8 et 1,2 % respectivement.

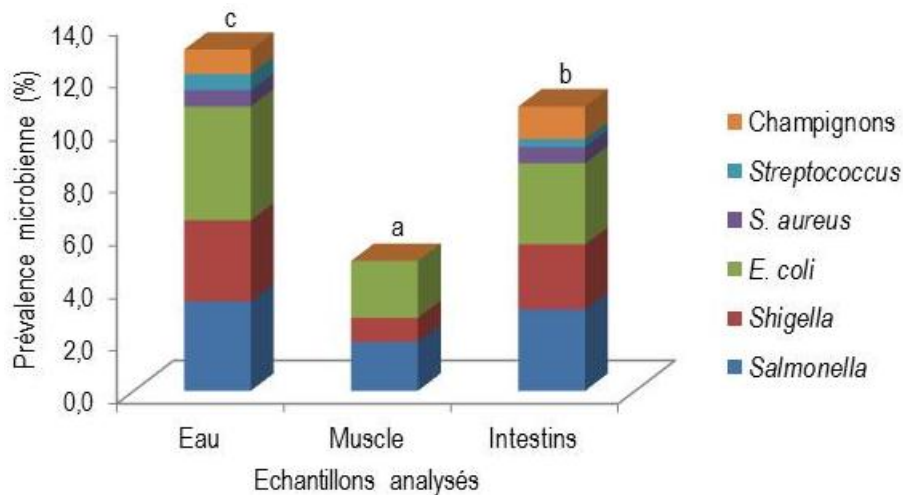




**Figure 3 :** Prévalence des bactéries selon les sources de fertilisation et d'alimentation (A) et les types de germes microbiens (B)

\*Les sources de fertilisation et d'alimentation ont été constituées de 6 traitements appliqués aux étangs : Aliment exogène, Aucune fertilisation (témoin), Lisier de porc frais (Lisier PF), Lisier de porc séché (Lisier PS), Fiente de canard fraîche (Fiente CF) et Fiente de canard séchée (Fiente CS). \*\*Parmi les bactéries : E. coli = Escherichia coli ; S. aureus = Staphylococcus aureus. Les échantillons (histogrammes) portant des lettres différentes sont statistiquement différents selon le test de Tukey au seuil de probabilité  $P < 0,05$ .

En ce qui concerne les échantillons analysés, les présents résultats montrent également que les prévalences bactériennes (**Figure 4**) ont été significativement supérieures ( $P < 0,001$ ) dans l'eau des étangs (13 %) et dans les intestins de poissons (10,8 %), par rapport au muscle de poissons (4,9 %). En effet, dans ces trois principaux échantillons (eau de l'étang, muscle et intestins de tilapia), les coliformes fécaux, E. coli(9,6 %) et Salmonella spp (8,3 %) ont été prédominants suivis par Shigella spp (6,5 %) ; les autres entérobactéries, notamment, Staphylococcus aureus(1,2 %) et Streptococcus spp(0,9 %) ont été très faiblement représentées, ainsi que les champignons non identifiés (2,2 %) (**Figures 3 et 4**).



**Figure 4 :** *Prévalence des bactéries selon les échantillons analysés<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Les échantillons (histogrammes) portant des lettres différentes (a, b et c) sont statistiquement différents selon le test de Tukey au seuil de probabilité  $P < 0,05$ .

### 3-3. Sensibilité des tests biochimiques à l'identification des bactéries

L'observation du **Tableau 4** montre que, de toutes les épreuves biochimiques employées au cours de la présente expérience, le test au Kligler a été plus sensible à l'identification de toutes les entérobactéries, alors que les tests au SIM et à la lysine ont été particulièrement plus performants pour la détection des coliformes fécaux (*Salmonella spp*, *Shigella spp* et *Escherichia coli*).

**Tableau 4 :** *Sensibilité des tests biochimiques pour l'identification des bactéries<sup>1</sup>*

Bactéries	Tests biochimiques positifs (%)			
	Kligler	Lysine	Citrate	SIM
<i>Salmonella spp.</i>	90	95	0	85
<i>Shigella spp.</i>	75	15	5	55
<i>Escherichia coli</i>	95	5	5	80
<i>Staphylococcus aureus</i>	80	0	0	5
Streptocoques fécaux	80	0	0	5

<sup>1</sup>Le tableau ne reprend que les bactéries dont les tests d'identification ont été positifs. SIM = Sulfure-Indole-Mobilité

## 4. Discussion

Les résultats de la présente étude relatifs aux effets des sources de fertilisation des étangs sur les contaminations microbiennes de l'eau des étangs et du poisson (**Tableau 3 ; Figure 3**), ont montré que le séchage des excréments a exercé un impact positif significatif sur le niveau de la charge microbienne. Les étangs fertilisés avec les excréments séchés ont généralement montré une charge bactérienne inférieure, comparée à celle des étangs ayant reçu les fertilisants frais. Ceci est en accord avec les recommandations sanitaires de l'OMS et les suggestions de certains chercheurs qui soutiennent le prétraitement des déchets et des excréments animaux avant leur utilisation comme fertilisants en pisciculture [3, 11, 19]. Considérant les

sources de fertilisation des étangs (**Tableau 3 et Figure 3**), le risque de contamination microbienne des échantillons a été plus élevé avec l'usage des excréments animaux, que dans les étangs contenant des poissons non nourris et nourris à l'aliment exogène. Évidemment, plusieurs travaux similaires ont généralement soutenu que l'utilisation des excréments d'animaux fertilise les étangs en induisant la production d'algues et en fournissant directement des nutriments, mais aussi que cette pratique favorise simultanément l'apparition des maladies chez les poissons [3, 11], Perdomo (1996) cité par [20]. Les charges bactériennes (**Tableau 3 ; Figure 3**) ont été plus élevées dans les échantillons associés à l'usage du lisier de porc qu'à celui de la fiente de canard. Évidemment, la forte colonisation microbienne du lisier de porc a été documentée par quelques chercheurs. Par exemple, [15] rapportèrent que, malgré leurs richesses en nutriments essentiels (N, P, etc.), les lisiers ou les matières fécales de porc véhiculent par ailleurs de fortes charges microbiennes, car elles renferment de 10<sup>7</sup> à 10<sup>12</sup> bactéries/gramme. En effet, la présence remarquable des bactéries particulièrement dans l'eau des étangs et les excréments animaux, en particulier le lisier de porc, a été rapportée par nombreux auteurs [41 - 45]. Certains parmi ces chercheurs associent la présence évidente de ces bactéries dans l'eau ou dans les excréments, à l'existence de gènes de résistance que ces dernières auraient développé chez les animaux d'élevage, sources des fertilisants utilisés en étangs piscicoles.

Ainsi, en référence aux auteurs précités, l'apport prolongé du lisier en étangs, pourrait expliquer l'augmentation du risque de contamination des poissons par les bactéries exogènes. Par ailleurs, tel qu'observé au cours de la présente expérience (**Tableau 3 ; Figure 3**), certaines études rapportèrent des charges bactériennes plus faibles dans les fientes de canes, comparées à celles du fumier de buffle apporté dans les étangs [11]. Considérant les types d'échantillons analysés dans la présente étude (**Tableau 3 et Figure 4**), l'eau d'effluent des étangs et les intestins de poissons, ont présenté des charges bactériennes plus élevées, par rapport aux échantillons de muscle de poissons. Les tendances quasi similaires ont été observées par [11] qui rapportèrent des niveaux très importants de microorganismes dans le fumier, l'eau de l'étang et dans les tubes digestifs de poissons. De même, [46] observèrent des charges bactériennes variant considérablement avec les types d'échantillons (eau des étangs, sédiments, branchies et intestin), lors d'une étude qualitative et quantitative sur la flore bactérienne du tilapia hybride (*O. niloticus* x *O. aureus*) élevés en étangs creusés en terre. En termes d'unités formant des colonies (UFC), ces auteurs enregistrèrent des charges bactériennes très élevées dans les intestins ( $3,4 \times 10^6$  à  $5,8 \times 10^7$  UFC/g) et sédiments ( $9,3 \times 10^6$  à  $1,9 \times 10^8$  UFC/g), par rapport aux branchies ( $7,1 \times 10^5$  à  $8,7 \times 10^6$  UFC/g) et eau des étangs ( $5,6 \times 10^3$  à  $2,4 \times 10^4$  UFC/g), bien que ces valeurs soient hautement supérieures à celles obtenues au cours de la présente étude (**Tableau 3**).

Toutefois, les colonisations bactériennes observées dans les échantillons analysés (**Tableau 3 et Figure 4**) pourraient contraster avec les observations d'autres études similaires. Par exemple, l'expérience de [20] sur le tilapia *O. niloticus* élevé avec l'utilisation du lisier de porc a, par contre, montré une contamination à *Edwardsiella tarda* plus élevée dans la peau de poisson (17,5 %), comparée à celle du muscle (14,3 %) et des intestins de poissons (11,5 %). Par ailleurs, les faibles prévalences microbiennes enregistrées sur l'ensemble des résultats de la présente expérience, ainsi que la faible colonisation du muscle par les bactéries (**Tableau 3, Figures 3 et 4**), pourraient également traduire la résistance relative du tilapia aux infections bactériennes et diverses. Ceci s'explique par les résultats de [36] qui enregistrèrent des prévalences à *Streptococcus iniae* faibles de 3,81 % (37 sur 970) chez le tilapia, contre 7,23 % (30 sur 415) chez le bar rayé hybride. En considérant les échantillons selon les types de tissus, les prévalences globales de *S. iniae* enregistrées par ces auteurs dans le cerveau, les reins et la peau du tilapia et du bar rayé hybride ont été de 3,25, 3,65 et 2,91 %, respectivement. Cette observation semble concorder avec les résultats de la présente étude (**Tableau 3 ; Figure 4**), malgré une prévalence nulle à Streptocoques fécaux, du fait que le muscle a généralement présenté une faible colonisation bactérienne, par rapport aux intestins et à l'eau des étangs. De plus, au-delà des causes extrinsèques (apport des fertilisants organiques dans l'étang), tel qu'observées

jusqu'à présent, selon [36, 47], les méthodes d'élevage (forte densité, manipulations) pourraient également favoriser la colonisation ou la contamination de la peau des tilapias par certaines espèces de bactéries comme par exemple *Streptococcus iniae*. Cependant, comparées aux études similaires, le niveau des charges bactériennes enregistré au cours de la présente étude a semblé très faible pour constituer un risque de santé publique, alors que les poissons dans les étangs ont été maintenus dans une température ambiante de l'eau très élevée (27,4-30,2 °C) et proche de l'optimum favorable pour de nombreuses bactéries mésophiles dans les systèmes naturels [14, 46, 48]. De plus, les niveaux des infections bactériennes enregistrées dans les muscles de poissons ne traduisent pas forcément que les tilapias produits lors de la présente étude ont été impropres à la consommation humaine, car malgré les avis fort divergents de plusieurs auteurs sur les normes de législation en termes de la charge bactérienne tolérable et de la pathogénicité de certains germes, un aliment est considéré comme impropre à la consommation si sa charge bactérienne développée en culture dépasse un seuil limite supérieure à 300 germes/g/mL [38, 40, 49]. Ceci est également soutenu par [11] qui introduit les concepts de concentration seuil, à savoir la concentration critique soit le nombre total de bactéries chez le poisson, responsables de leur apparition dans les muscles. Cet auteur suggéra des charges globales de bactéries entre 1,0 et 2,0 x 10<sup>4</sup> germes/ml, comme concentration seuil pour la carpe commune. Ainsi, pour la concentration bactérienne nécessaire dans l'eau pour atteindre ces valeurs seuils capables d'occasionner l'infection des organes de poisson (muscles, intestins, etc.), l'auteur évoque une quantité des germes variant entre 1,0 et 5,0 x 10<sup>4</sup>/ml, ce qui requiert des apports bien plus importants en fumier que ceux qui sont exigés pour une croissance optimale des poissons. Au regard des résultats des épreuves biochimiques présentant principalement le test au Kligler comme étant plus sensible à l'identification des entérobactéries (**Tableau 4**), les travaux de certains chercheurs montrent toutefois que, certaines techniques peuvent sembler inadéquates pour détecter les bactéries chez les tilapias [36]. C'est pourquoi, le recours aux tests de diagnostic rapide (par exemple, test moléculaire) est nécessaire pour mieux comprendre la maladie causée par les germes chez le tilapia [38, 50].

## 5. Conclusion et recommandations

Les résultats de cette expérience révèlent des charges bactériennes mineures en général, mais particulièrement plus élevées dans les échantillons (eau, intestins) associés à l'utilisation des fertilisants animaux, et ce avec une légère prédominance pour le lisier de porc par rapport à la fiente de canard. Les prévalences et les infections bactériennes dans les muscles de poissons ont été très mineures, par rapport à celles de l'eau de l'étang et des intestins. L'effet du prétraitement des excréments par le séchage au soleil, a significativement influencé les prévalences et les charges bactériennes, lesquelles ont été inférieures dans les étangs utilisant les fertilisants animaux (lisier et fiente) préalablement séchés. Cependant, des infections bactériennes mineures enregistrées dans les étangs non fertilisés par les excréments animaux, pourrait traduire l'existence probable des germes microbiens dans l'environnement aquatique. Certaines des bactéries isolées représentent des pathogènes facultatifs ou des agents d'intoxications alimentaires chez l'homme, d'où elles ne constituent pas une menace sérieuse pour la santé publique, pour autant que ces poissons soient manipulés avec prudence et dans les strictes conditions de biosécurité. Au regard de tout ce qui précède, on peut conclure que, ce n'est pas la présence des agents pathogènes dans les échantillons qui est à redouter, mais plutôt leur capacité à provoquer la maladie chez l'homme. C'est pourquoi des lignes directrices pour la lutte contre la pollution en aquaculture en général, devraient se fonder plus sur l'épidémiologie des maladies que sur la prévention des microorganismes seulement.

### Remerciements

*Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet d'appui Programme Élargi de Formation en Gestion des Ressources Naturelles dans le Bassin du Congo (PEFOGRN-BC) grâce au don du Fonds pour les Forêts du Bassin du Congo (FFBC), administré par la Banque Africaine de Développement (BAD) et exécuté par Réseau des Institutions de Formation Forestière et Environnementale en Afrique Centrale (RIFFEAC). Nous appuyons aussi les appuis multiformes des organismes subventionnaires comme le CRNSG et World Fish au Professeur Grant Vandenberg et CRNSG au Professeur Damase KHASA. Nous remercions toute l'équipe de Laboratoire Vétérinaire de Kinshasa (LABOVET-KIN) affectée principalement aux Services de Bactériologie-Microbiologie et de Toxicologie, pour des analyses microbiologiques des échantillons de l'eau et des poissons.*

### Références

- [1] - FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). Globefish. FAO, Rome, Italy, (2010)
- [2] - A.-F. M. EL-SAYED, Tilapia culture. Cab International Publishing, London, UK, (2006) 294 p. <http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2006/20063084667.pdf>
- [3] - A. HILBRANDS & C. YZERMAN, AD21F La pisciculture à la ferme. Fondation Agromisa, Wageningen, Pays-Bas, (2004) 73 p.
- [4] - P. LAZARD, P. MORISSENS & P. PARREL, La pisciculture artisanale du tilapia en Afrique : analyse de différents systèmes d'élevage et de leur niveau de développement. In : Méthodes artisanales d'aquaculture du tilapia en Afrique. Centre Technique Forestier Tropical. CIRAD, France, (1990) 82 p.
- [5] - J. O. MANYALA, R. S. POMEROY, P. NEN, K. FITZSIMMONS, M. K. SHRESTHA & J. S. DIANA, Low cost Tilapia production with fertilization and supplementary feeding. *World aquaculture*, (2015) 43 - 46
- [6] - R. E. BRUMMETT, J. GOCKOWSKI, V. POUOMOGNE & J. MUIR, Targeting agricultural research and extension for food security and poverty alleviation: A case study of fish farming in Central Cameroon. *Food Policy*, 36 (2011) 805 - 814
- [7] - G. R. POOT-LÓPEZ, J. M. HERNÁNDEZ & E. GASCA-LEYVA, Input management in integrated agriculture - aquaculture systems in Yucatan : Tree spinach leaves as a dietary supplement in tilapia culture. *Agricultural Systems*, 103 (2010) 98 - 104
- [8] - V. POUOMOGNE & D. E. PEMSL, Country Case Study : Development and Status of Freshwater Aquaculture in Cameroon. Reducing poverty and hunger by improving fisheries and aquaculture. WorldFish Center, Penang, Malaysia, (2008) 72 p.
- [9] - O. MIKOLASEK, D. T. KHUYEN, J.-M. MEDOC & V. PORPHYRE, L'intensification écologique d'un modèle de pisciculture intégrée : recycler les effluents d'élevages porcins de la province de ThaiBinh (Nord Vietnam). CIRAD, Montpellier, Cahier Agricole, 18 (2009) 235 - 241 [http://www.jle.com/e-docs/00/04/4B/8C/vers\\_alt/VersionPDF.pdf](http://www.jle.com/e-docs/00/04/4B/8C/vers_alt/VersionPDF.pdf)
- [10] - D. K. NHAN, L. T. DUONG, L. T. PHONG, M. C. J. VERDEGEN, J. J. STOOBVOGEL & J. A. J. VERRETH, Nutrient accumulation and water use efficiency of ponds in integrated agriculture-aquaculture farming systems in the Mekong delta. In : VAN DER ZIJPP et al. (eds). Fishponds in farming systems, Wageningen Academic Publisher, Wageningen, Netherlands, (2007) 295 - 303
- [11] - D. C. LITTLE & P. EDWARDS, Systèmes agricoles intégrés bétail-poisson. Service des Ressources des Eaux intérieures et de l'Aquaculture. Service de la production animale. Organisation des Nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.-FAO, Rome, Italie, (2005) 197 p.
- [12] - C. F. KNUD-HANSEN, T. R. BATTERSONA & C. D. McNABB, The role of chicken manure in the production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*(L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 24 (1993) 483 - 493

- [13] - C. F. KNUD-HANSEN & T. R. BATTERSONA, Effect of fertilization frequency on the production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 123 (1994) 271 - 280
- [14] - V. JEGATHEESAN, L. SHU & C. VISVANATHAN, Aquaculture Effluent : Impacts and Remedies for Protecting the Environment and Human Health. School of Engineering and Physical Sciences, James Cook University, Townsville, QLD, (2011)
- [15] - C. ALZIEU & G. RAVOUX, La conservation de la qualité des milieux littoraux. In : J.-P. TROADEC (eds). L'Homme et les ressources halieutiques : essai sur l'usage d'une ressource commune renouvelable. Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer, IFREMER, Plouzané, France, (1989)
- [16] - S. XIE, W. LEI, X. ZHU, D. HAN & Y. YANG, Reducing waste production from aquaculture in China by feed formulation and system management: an overview. In : VAN DER ZIJPP et al. (eds). Fishponds in farming systems. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, Netherlands, (2007) 167 - 175
- [17] - A. E. BACCARIN & A. F. M. CAMARGO, Characterization and Evaluation of the Impact of Feed Management on the Effluents of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Culture. Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48 (1) (2005) 81 - 90
- [18] - R. PULLIN, Intégration agriculture-aquaculture et environnement. In : Intégration agriculture-aquaculture : principes de base et exemple. Food and agriculture Organization (FAO), Document technique sur les pêches, Rome, Italie, 407 (2003) 17 - 18
- [19] - J. A. J. VERRETH, R. H. BOSMA, M. BEVERIDGE, L. Q. TRI, M. E. F. VAN MENSVOORT & A. J. VAN DER ZIJPP, Strategies to enhance the role of fishponds in farming systems. In: VAN DER ZIJPP et al. (eds). Fishponds in farming systems. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, Netherlands, (2007) 295 - 303
- [20] - M. C. S. MURATORI, A. I. DE OLIVEIRA, L. P. RIBEIRO, R. C. LEITE, A. P. R. COSTA & M. C. C. DA SILVA, *Edwardsiella tarda* isolated in integrated fish farming. *Aquaculture Research*, 31 (2000) 481 - 483
- [21] - ANONYME, Document de Stratégies pour la Réduction de la Pauvreté (DSRP), RD-Congo. Ministère du Plan, Kinshasa, RD-Congo, (2005)
- [22] - L. DE SAINT MOULIN & J. L. KALOMBO, Atlas de l'organisation administrative de la RD-Congo. CEPAS : Kinshasa, RD-Congo, (2005) 15 p.
- [23] - W. KÖPPEN, Das geographischa System der Klimate. In : W. KÖPPEN & G. GEIGER (eds) Handbuch der Klimatologie 1. C. Gebr, Borntraeger, (1936) 1 - 44
- [24] - L. J. NDEMBO, Conditions agro-écologiques et socio-économiques de Menkao, Plateau de Batéké. Kinshasa, RD-Congo, (2000)
- [25] - M. OHASHI, W. M. CHIRWA & I. J. CHAGGWA, Project on Aquaculture Research and Technical Development of Malawian Indigenous Species. Manual of Tilapia Culture at The National Aquaculture Center, Japan International Cooperation Agency, N° 2 (2001) 35 p.  
<http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093200526.pdf>
- [26] - R. SEVILEJA, J. TORRES, J. SOLLOWS & D. LITTLE, Utilisation des déchets animaux en étangs. In : Intégration agriculture-aquaculture : principes de base et exemple. Food and agriculture Organization (FAO), Document technique sur les pêches, 407 (2003) 129 - 133, Rome, Italie
- [27] - H. KOMEN & H. BOVENHUIS, Selection of fish for integrated agriculture-aquaculture systems. In: VAN DER ZIJPP et al. (eds). Fishponds in farming systems. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, Netherlands, (2007) 21 - 24
- [28] - M. R. RAHMAN, M. VERDEGEM & M. A. WAHAB, Effects of tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) stocking and artificial feeding on water quality and production in rohu—common carp bi-culture ponds. *Aquaculture Research*, 39 (2008) 1579 - 1587
- [29] - G. A. KHAN, Nurseries pour carpes. In : Intégration agriculture-aquaculture : principes de base et exemple. Food and agriculture Organization (FAO), Document technique sur les pêches, 407 (2003) 147 - 149, Rome, Italie

- [30] - A. K. SOLIMAN, A. A. A. EL-HORBEETY, M. A. A. ESSA, M. A. KOSBA & I. A. KARIONY, Effects of introducing ducks into fish ponds on water quality, natural productivity and fish production together with the economic evaluation of the integrated and non-integrated systems. *Aquaculture International*, 8 (2000) 315 - 326
- [31] - FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). Système d'information sur les ressources alimentaires et d'engrais en aquaculture. Nile tilapia - Nutritional requirements. Rome, Italie, (2015). <http://www.fao.org/fishery/affris/profil-des-especes/nile-tilapia/besoins-nutritionnels/fr/>
- [32] - NRC (National Research Council), Nutrient requirements of fish and shrimp. Animal Nutrition Series. National Academy Press, Washington DC, USA, (2011) 346 p.
- [33] - AOAC, Official methods of analysis of AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA, (2012)
- [34] - N. OKAFOR, Pollution and Purification of, and Disease Transmission in Water. In: Environmental microbiology of aquatic and waste systems. New-York. USA, (2011a) 149 - 245
- [35] - N. OKAFOR, Waste Disposal in Aquatic and Solid Media. In : Environmental microbiology of aquatic and waste systems. New-York. USA, (2011b) 247 - 307
- [36] - C. A. SHOEMAKER, P. H. KLESIUS & J. J. EVANS, Prevalence of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial fish farms in the United States. *Am. J. Vet. Res.*, 62 (2001) 174 - 177
- [37] - APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed., American Public Health Association, Washington, DC, (1985)
- [38] - C. DAMERGI, Manuel d'analyses des aliments. Partie II : Analyse microbiologique. Projet d'appui à la mise en place d'une stratégie de contrôle et de surveillance de la qualité des aliments. FAO-TCP/DRC/3002, (2007) 129 p.
- [39] - T. L. BANNERMAN, *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: P.R. MURRAY, E.J. BARON, J.H. JORGENSEN, M.A. PFALLER & R.H. YOLKEN (eds). Manual of clinical microbiology, 8th ed. *American Society for Microbiology*, Washington, D.C., (2003)
- [40] - APHA, Compendium of methods for the Microbiological Examination of Food. Washington, D.C., (1976)
- [41] - N. WU, M. QIAO, B. ZHANG, W. D. CHENG & Y.G. ZHU, Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China. *Environ. Sci. Technol.*, 44 (2010) 6933 - 6939
- [42] - G. K. KOZAK, P. BOERLIN, N. JANECKO, R. J. REID-SMITH & C. JARDINE, Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolate from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75 (2009) 559 - 566
- [43] - C. VARGA, A. RAJIC, M. E. MCFALL, R. J. REID-SMITH, A. E. DECKERT, S. L. CHECKLEY & S. A. McEWEN, Associations between reported on-farm antimicrobial use practices and observed antimicrobial resistance in generic fecal *Escherichia coli* isolated from Alberta finishing swine farms. *Prev. Vet. Med.*, 88 (2009) 185 - 192
- [44] - F. BAQUERO, J. L. MARTINEZ & R. CANTON, Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 19 (2008) 260 - 265
- [45] - T. KHANNA, R. FRIENDSHIP, C. DEWEY & J. S. WEESE, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Vet. Microbiol.*, 128 (2008) 298 - 303
- [46] - A. H. AL-HARBI & N. UDDIN, Qualitative et quantitative studies on bacterial flora of hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. *Aquaculture Research*, 34 (2003) 43 - 48
- [47] - C. A. SHOEMAKER, J. J. EVANS & P. H. KLESIUS, Density and dose : factors affecting mortality of *Streptococcus iniae*-infected tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 188 (2000) 229 - 235
- [48] - G. RGENHEIMER, Aquatic Microbiology, 3rd edn. John Wiley and Sons. Chichester, (1985) 257 p.
- [49] - C. PILET, Bactériologie médicale et vétérinaire. *Edition Vigot*, Paris, (1987) 44 p.
- [50] - A. ZLOTKIN, A. ELДАР & C. GHITTINO, Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. *J Clin Microbiol.*, 36 (1998) 983 - 985