

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/ Option : Biologie Moléculaire des Procaryotes
Département de : Biologie

THEME

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA
QUALITE BACTERIOLOGIQUE DES PRODUITS DE LA
PECHE ISSUS DE L'IMPORTATION**

Présenté par :

**FOUAGHLA Selma
HAMLAOUI Khadija**

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} . AMRI . S	Université 8 mai 1945 - Guelma
Examinatrice :	M ^{me} . RETTEM .C	Université 8 mai 1945 - Guelma
Encadreur :	M. BOUCHELAGHEM .H	Université 8 mai 1945 - Guelma
Co – Encadreur :	M ^{me} . BENSAKHRI . Z	Université 8 mai 1945 - Guelma

JUIN 2016

REMERCIEMENT

Au terme de ce travail de la fin d'étude, nous exprimons nos sincères remerciements à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos responsables de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

L'expression de notre haute reconnaissance s'adresse à notre promoteur de mémoire Monsieur BOUCHELAGHEM El Hadi maître assistant « A » à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils.

Nos vifs remerciements s'adressent également à notre co-promotrice de mémoire, Docteur BENSAKHRI Zinette (Université 8 Mai 1945 de Guelma) pour sa simplicité et sa patience.

Merci à Madame AMRI Sandra, maître assistant « A » à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, d'avoir accepté d'honorer cette soutenance comme présidente de jury. Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre plus haute considération.

Nous exprimons également notre grande gratitude à Madame RETAM Shahir maître assistant « A » à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de participer à ce jury et d'examiner notre travail.

Notre remerciement s'adresse à Docteur REGGAM Asma (Université 8 Mai 1945 de Guelma) pour sa disponibilité pendant toute la durée du travail.

Mes remerciements s'adressent également à tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma : Mahdi, Leila, Houria, Asma...

Nous remercions tout le corps enseignant, doctorants et les responsables de l'Université 8 mai 1945 de Guelma pour ces aides précieuses.

A tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour mener à terme cet humble travail.

DEDICACES

Grâce à Dieu J'ai pu finir ce travail

*Un cœur ouvert une immense joie, que je dédie ce travail à
mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui
m'ont soutenus tout au long de ma vie ainsi à mes sœurs
et mes frères, et en particulier à mes amis*

*A toute personnes qui m'ont encouragé ou aidé aulong de
mes études*

*Un grand merci à toutes les autres personnes avec qui j'ai
partagé un moment de bonheur et de joie, un café ou un
trajet...*

Khadija & Selma

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des schémas	
Liste des sigles et abréviation	
Introduction	
CHAPITRE I BACTERIOLOGIE DES PRODUIT DE LA PECHE	
1.1. Contamination des Produits de la Pêche.....	1
1.1.1. La contamination primaire ou endogène.....	1
1.1.1.1. Les germes typiquement aquatiques.....	1
1.1.1.2. Les germes d'origine tellurique.....	2
1.1.1.2. Les germes d'origine humaine ou animale.....	2
1.1.2. La Contamination secondaire ou exogène.....	2
1.1.2.1. Les vecteurs animés.....	2
1.1.2.2. Les vecteurs inanimés.....	4
1.1.2.3. Les espèces bactériennes rencontrées dans la contamination exogène.....	5
1.1.3. Conséquences de la contamination des produits de la pêche.....	5
1.1.3.1. L'altération.....	5
1.1.3.2. Les accidents alimentaires.....	5
1.2. Les principaux germes de contamination recherches dans les produits de la pêche.....	6
1.2.1. Les germes témoins de contamination fécale (les coliformes fécaux)	6
1.2.1.1. Généralité	6
1.2.1.2. Les principaux genres	7
1.2.1.3. Les caractères biochimiques des coliformes fécaux	10
1.2.2. Les germes témoins de manquements aux règles d'hygiène	11
1.2.2.1. Généralité sur les staphylocoques	11
1.2.2.2. Principaux caractères de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.2.2.3. Physiologie des <i>Staphylocoques aureus</i>	13
1.2.2.4. Toxinogénèse	13
1.2.2.5. Symptomatologie des intoxications causées par <i>S. aureus</i>	14
1.2.2.6. Prévention des intoxications	14
1.2.3. Les germes pathogènes.....	15
1.2.3.1. Les salmonelles	15
1.2.3.1.1. Taxonomie	15
1.2.3.1.2. Caractères bactériologiques.....	16
1.2.3.1.3. Pouvoir Pathogène	16
1.2.3.1.4. Physiologie	17
1.2.3.1.5. Epidémiologie.....	17

1.2.3.1.6. Diagnostic biologique	18
1.2.3.1.7. Traitement	18
1.2.3.2. <i>Clostridium botulinum</i>	19
1.2.3.2.1. Caractéristique.....	19
1.2.3.2.2. Physiologie	19
1.2.3.2.3. Pathogénicité et toxicité.....	20
1.2.3.2.4. Prévention	
CHAPITRE II TECHNIQUES DE TRANSFORMATION DES PRODUITS DE LA PECHE	
2.1. Les filets de poisson.....	22
2.1.1. Approvisionnement.....	22
2.1.2. Présentation des modes de conservation.....	23
2.1.2.1. La réfrigération.....	23
2.1.2.2. La congélation.....	24
2.1.3. Principales espèces de poisson utilisées	25
2.1.4. Technologie de fabrication des filets de poisson	27
2.1.4.1. Exemple de filets de poisson rond (Mérous, bars)	29
2.1.4.1.1 Réception	29
2.1.4.1.2 Pelage	29
2.1.4.1.3 Filetage.....	30
2.1.4.1.4 Lavage et trempage	30
2.1.4.1.5 Conditionnement et emballage	30
2.1.4.1.6 L'entreposage réfrigéré	30
2.2. Traitement de la crevette	30
2.3. Traitement des céphalopodes	31
CHAPITRE III MATERIEL ET METHODE	
3.1. Echantillonnage.....	33
3.1.1. Choix de l'échantillon.....	33
3.1.2. Transport et protection de l'échantillon	33
3.2. Les produits analysés.....	33
3.2.1. Echantillon I : <i>Prionace glauca</i>	33
3.2.2. Echantillon II : <i>Merluccius gayi</i>	35
3.3.3. Echantillon III : <i>Pangasius hypophthalmus</i>	36
3.2. Matériel.....	45
3.3. Méthode d'analyse	46

3.4. Recherche et dénombrement	47
3.5. Identification biochimique	56
CHAPITRE IV RESULTAT ET DISCUSSION	
4.1. Recherche et dénombrement	60
4.1.1 Recherche et dénombrement de flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	60
4.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux.....	61
4.1.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques Fécaux	62
4.1.4. Recherche et dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)....	64
4.1.5. Recherche et dénombrement des Staphylocoques.....	64
4.1.6. Recherche des Pseudomonas	65
4.1.7. Recherche des Salmonelles	66
4.1.8. Recherche et dénombrement des levures.....	67
4.2. Identification des micro-organismes	67
4.2.1. Identification des souches bactériennes.....	67
4.2.1.1. Identification Macroscopique et Microscopique.....	67
4.2.1.2. Identification biochimique	69
4.2.2. Identification des levures.....	73
4.2.2.1. Caractères macroscopiques et microscopique	73
4.2.2.2. Identification biochimique	73
4.3. Discussion.....	75
Conclusion	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des références bibliographiques	
Liste des références sites web	

N° de figure	Titre	N° de page
1.1	<i>Escherichia coli.</i>	8
1.2	<i>Citrobactersp.</i>	8
1.3	<i>Enterobacter.</i>	9
1.4	<i>Klebsiellasp.</i>	10
1.5	<i>Staphylocoques aureus.</i>	13
1.6	<i>Les salmonelles.</i>	15
1.7	<i>Clostridium botulinum.</i>	19
3.1	<i>Prioncaglauca</i> (requin bleu).	34
3.2	<i>Merlucciusgayi.</i>	35
3.3	<i>Pangasianodon hypophthalmus.</i>	37
3.4	Détermination du poids des les trois échantillons par le balance de précision.	46
3.5	Homogénéisations des échantillons.	47
3.6	Séries des délutions.	47
3.7	API 20 E (test positif et négatif).	57
3.8	API C AUX (test positif et négatif).	58
3.9	APIstrept (test positif et négatif).	59
3.10	APIStaph (test positif et négatif).	59
4.1	Répartition des FMAT aux niveaux des trois espèces étudiées.	60
4.2	Répartition des Coliformes Fécaux aux niveaux des trois	61

	espèces étudiées.	
4.3	Test indole positif sur eau peptonée exemple d'indole confirme la présence des coliformes fécaux.	62
4.4	Répartition des Streptocoques Fécaux aux niveaux les trois espèces étudiées.	63
4.5	confirmation de la présence des streptocoques fécaux par l'apparition d'un trouble dans le milieu Eva-Litsky.	63
4.6	Répartition des Staphylocoques aux niveaux des trois espèces étudiées.	64
4.7	Aspect macroscopique des Salmonelle (A) et staphylocoques (B) sur les deux milieux milieu Hektoen et milieu chapman.	68
4.8	Aspect macroscopique des Coliformes Fécaux (C) et Streptocoques (D) sur les deux milieux milieu colombia et milieu Mac Conkey .	69
4.9	Profil biochimique de la souche <i>Enterobacter Sakazakii</i> .	70
4.10	Profil biochimique de la souche <i>Serratia odorifera 1</i> .	70
4.11	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella ornithinolytica</i> .	70
4.12	Profil biochimique de la souche <i>Salmonella arizonae</i> .	70
4.13	Profil biochimique de la souche <i>Echerichia coli 1</i> .	70
4.14	Profil biochimique de la souche <i>Staphylococcus antillarum</i> .	71
4.15	Profil biochimique de la souche <i>Staphylococcus sciuri</i> .	71
4.16	Profil biochimique de la souche <i>Staphylococcus hominis</i> .	71
4.17	Profil biochimique de la souche <i>Staphylococcus xylophilus</i> .	71
4.18	Catalase positif.	72

4.19	oxydase positif.	72
4.20	Profil biochimique de la souche <i>Gemellamorbilorum</i> .	72
4.21	Profil biochimique de la souche <i>Aerococcusviridars2</i> .	72
4.22	Profil biochimique de la souche <i>Aerococcusviridars 1</i> .	73
4.23	Profil biochimique de la souche <i>Cryptococcuslaurentii</i> .	74
4.24	Profil biochimique de la souche <i>Rhodotorula minuta</i> .	74

N° de tableau	Titre	N° de page
1.1	Les caractères d'identification des souches entérobactéries.	11
1.2	Quelques températures importantes pour <i>Clostridium botulinum</i> .	20
2.1	Dénomination commercial des familles de poisson exploité pour la production de filets.	25
2.2	Technique de fabrication des filets de poisson.	26
3.1	Méthode de recherche des Salmonelles.	52
4.1	Niveau de contamination des produits par les FMAT.	61
4.2	Niveau de contamination par les coliformes thermotolérants.	62
4.3	Résultats de dénombrement des ASR au niveau les trois espèces.	64
4.4	Niveau de contamination par les Staphylocoques.	65
4.5	Résultats de recherche des Pseudomonas.	66
4.6	Résultats de recherche des Salmonelles.	66
4.7	Niveau de contamination par les Salmonelles (Qualité Microbologique Non Satisfaisante (QMNS).	66
4.8	Résultats de recherche des levures.	67
4.9	Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes.	68
4.10	Résultats de l'identification biochimique par les galeries : Api 20 E, Api20 Staph et Api20 Strep.	69
4.11	Caractères Macroscopiques et Microscopiques des levures.	73
4.12	Résultats de l'identification biochimique par les galeries : Api C AUX.	74

N° de schéma	Titre	N° de Page
3.1	Technique de dénombrement de flores mésophiles aérobies totales.	48
3.2	Technique de dénombrement des coliformes fécaux.	49
3.3	Technique de dénombrement des streptocoques fécaux.	50
3.4	Technique de dénombrement des staphylocoques.	51
3.5	Technique de dénombrement des salmonelles.	53
3.6	Technique de dénombrement des levures.	54
3.7	Technique de dénombrement des anaérobies sulfito-réductrices.	55
3.8	Technique de dénombrement des pseudomonas.	56

SIGLES ET ABREVIATIONS

ASR : Anaérobies sulfito-réducteurs.

CF : Coliformes fécaux.

DCLS : Gélose au désoxycholate citrate lactose et saccharose.

E. coli: Escherichia coli.

EDS : Eau distillée stérile.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

FMAT : Flore mésophile aérobie totale.

GT : Germes totaux.

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point.

HCG : hormone chorionique gonadotrope humaine.

LPS : Lipopolysaccharide.

MUG : 4-méthylumbelliferyl-b-D-glucuronide .

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ONPG: Ortho-nitro-phényl-galactoside.

QMA : Qualité Microbologique Acceptable.

QMNS : Qualité Microbologique Non Satisfaisante.

QMS : Qualité Microbologique Satisfaisante.

SF : Streptocoques fécaux.

SM : Solution mère.

ST : Staphylocoques.

TGEA : Tryptone Glucose Agar à l'extrait.

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective.

TVBN: Total Volatil Basic Nitrogen.

UICN : Union internationale pour la conservation de la nature.

VF : Viande-foie.

VP: Voges-Prauskauer

XLD agar: *Xylose lysine deoxycholate agar*.

INTRODUCTION GENERALE

Contexte général

Les microorganismes sont présents dans tous les écosystèmes naturels. Comme, également, ils sont présents sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants animaux et végétaux. De ce fait, tous les produits alimentaires transformés ou non peuvent être contaminés par des microorganismes. En fait, la contamination des denrées alimentaires plus précisément ceux de la pêche ; peut avoir un effet plus ou moins grave sur la qualité de ces produits et même sur la santé du consommateur. Elle peut être à l'origine d'une altération de ces denrées, ce qui provoque la perte de ses caractéristiques organoleptiques et ou commerciales et parfois la cause d'intoxications ou toxi-infections graves.

En général, la transformation du produit de la pêche, frais, congelé ou haché peut se présenter à l'état cru ou filet pour être distribué sur les marchés et les établissements commerciaux ou utilisés dans les usines de transformation. En effet, leurs techniques de préparation sont semblables et peu influencées par l'utilisation prévue (distribution directe ou transformation ultérieure).

Dans l'ensemble, les poissons exploités pour la production de filets appartiennent aux plusieurs familles. Parmi ces dernières, il existe certaines qui sont commercialisées plus fréquemment dans notre région. Pour cela, notre travail vise à étudier la qualité des trois espèces de poissons issus de l'importation, sous forme congelée, afin de vérifier l'évolution de sa qualité microbiologique. Les espèces choisies pour cette étude sont *Prionace glauca*, *Merluccius gayi* et *Pangasius hypophthalmus*.

Pour réaliser ce modeste travail, nous avons entamé les objectifs suivants :

- Recherche et dénombrement des germes indicateurs d'une contamination fécale : les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les anaérobies sulfite-réducteur.
- Recherche et dénombrement des germes indicateurs de la qualité hygiénique : *Staphylococcus*

- Recherche et dénombrement des salmonelles, des flores mésophiles, des pseudomonas.

A cette raison, notre mémoire a été structuré en quatre chapitres :

- Une première partie théorique, qui englobe deux chapitres, traitants d'un côté les différentes sorte de contamination des poissons, avec ces principaux germes, ainsi les techniques de transformation de ces produits de la pêche.
- Ensuite, une partie expérimentale a inclut le troisième chapitre du matériel et méthodes; suivi par le quatrième chapitre qui expose les différents résultats obtenus avec leurs discussions.

En fin, ce travail a été clôturé par une conclusion et perspectives.

CHAPITRE I
BACTERIOLOGIE DES PRODUITS DE LA
PECHE

1.1. Bactériologie des produits de la pêche.

Les microorganismes sont présents dans les écosystèmes naturels comme l'air, le sol et l'eau. Ils sont également présents sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants animaux et végétaux. De ce fait, tous les produits alimentaires transformés ou non peuvent être contaminés par des microorganismes (BECILA, 2009). Selon (BOURGEOIS & LEVEAU, 1980 ; ROZIER *et al.*, 1985). La contamination des produits de la pêche a deux origines :

- la contamination endogène,
- la contamination exogène.

1.1.1. Contamination endogène ou primaire

Cette contamination a lieu du vivant de l'animal. Elle se fait via la respiration (germes rencontrés dans les branchies et dans les viscères), l'alimentation et lors des déplacements. Ces germes sont localisés dans le tube digestif, dans le mucus de la peau et dans le mucus des branchies. La composition et la quantité de cette flore bactérienne dépend de l'origine, de la température de l'eau, de l'alimentation... etc (LEROI, 2002). Certains travaux ont montré une prédominance des bactéries à gram-négatif dans la flore initiale de poissons issus des eaux tempérées (GRAM & DALGAARD, 2002) alors qu'une proportion élevée de coques à gram-positif et de *Bacillus spp* est trouvée dans certains poissons provenant des mers chaudes et des eaux tropicales.

Les bactéries d'origine endogène peuvent être subdivisées en 3 classes :

1.1.1.1. Germes typiquement aquatiques

Les principaux germes rencontrés appartiennent généralement aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Acinetobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Aeromonas*, *Morexella*, (BILLON, 1976). Ces observations rejoignent les travaux réalisés par (BRISOU, 1955 et HUSS, 1988) qui ont montré que le milieu aquatique est composé surtout de bacilles psychrotrophes à gram négatif : aérobies ou anaérobies facultatifs avec en particulier les genres *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* et *Vibrio*. Celles-ci représentent 95 % de la flore totale du milieu aquatique.

1.1.1.2. Germes telluriques

Ce sont des bactéries qui vivent dans le milieu terrestre. Leur dissémination dans le milieu aquatique est pourvue par les eaux de ruissellement et de pluie pendant la saison pluvieuse. Cette flore tellurique est composée surtout de bactéries sporulées, en particulier des genres *Clostridium* et *Bacillus*.

1.1.1.3. Germes de contamination humaine et animale :

Ce sont des germes commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Cette flore est composée généralement de germes saprophytes (*Bactéroides*, flore lactique) et de germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires (*Salmonella*, *Clostridium*). En effet selon (RENAULT, 1977 & GUIRAUD, 1980) le milieu aquatique est surtout composé des espèces bactériennes pathogènes provenant de la pollution des eaux, en raison du nombre suffisamment élevé des malades, porteurs sains, convalescents ou guéris.

1.1.2. Contamination secondaire ou exogène :

Après capture, le poisson est sujet à de nombreuses manipulations qui sont à l'origine de la contamination bactérienne (contamination par le personnel, le matériel et l'environnement).

La contamination exogène fait intervenir deux types de vecteurs :

- vecteurs animés (actif)
- vecteurs inanimés (passif)

1.1.2.1 Vecteurs animés

Les vecteurs sont des agents de la contamination ou des éléments de transfert de germes de certains sites jusqu'à l'aliment. L'homme est le principal agent responsable des contaminations, soit directement ou indirectement par manipulation défectueuse des vecteurs animés. Après sa capture, lors des manipulations, le poisson va être colonisé par des contaminations de l'environnement humain.

L'homme constitue la source la plus fréquente de contamination exogène des denrées alimentaires d'origine animale. (ROZIER, 1986) montre que l'ouvrier, dans les industries agroalimentaires, doit être considéré comme le principal réservoir des germes très nocifs. Parmi ceux-ci, figurent les agents de la plupart des toxico-infections, ainsi que d'autres tels qu'*Escherichia coli*, qui sont faciles à mettre en

évidence. De ce fait, ils sont considérés comme des témoins de contamination fécale, à savoir des manipulations malpropres.

L'homme intervient de deux manières :

- comme vecteur actif
- comme vecteur passif

- **Homme, vecteur actif**

L'homme est le réservoir abondant de micro-organismes divers. TI intervient comme porteur sain, chronique, malade ou convalescent. A cet effet, les personnes atteintes en particulier, d'affection des voies respiratoires (rhume, angine, sinusite, trachéite), constituent les principaux vecteurs actifs de la contamination.

Même en dehors de toute maladie apparente, l'homme porte au niveau de sa peau et de ses muqueuses, des agents bactériens qui peuvent souiller les produits alimentaires. Il s'agit le plus souvent, comme souligné dans le chapitre précédent, de staphylocoques. Les germes cutanés se réfugient dans les glandes sudoripares et dans les follicules pileux. Même un lavage soigneux à l'aide d'un antiseptique est incapable de les déloger de ces refuges.

- **Homme, vecteur passif**

Tous les professionnels qui manipulent le poisson, peuvent jouer les rôles d'agents passifs, de souilleur de ces produits par l'intermédiaire de leurs mains salies au contact de matières souillées, par leur vêtement mal entretenu, par leurs bottes, leurs gants. Ainsi, pour peu que les règles d'hygiène soient négligées, on assiste à un ensemencement des produits sains par des germes provenant d'autres produits.

L'application des règles d'hygiène sur toute la chaîne de production, permet de réduire considérablement la prolifération bactérienne dangereuse dans les denrées alimentaires.

Selon (SEYDI, 1982) à côté de l'homme, principal vecteur animé de la contamination, les animaux domestiques (chien, chat), les rongeurs (rat et souris), les reptiles (lézard, margouillat) ainsi que les insectes (mouches) peuvent constituer des réservoirs pour des germes divers (staphylocoques, streptocoques, salmonelles).

Selon (ROZIER *et al*, 1985), la peau des animaux est recouverte de 10^3 à 10^9 germes/cm² ce qui accroît alors la contamination.

1.1.2.2. Vecteurs inanimés

Ces vecteurs représentent les facteurs de l'environnement et tous les instruments qui entrent en contact avec les produits au cours de leur vie économique.

- **L'air**

L'air, lorsqu'il est chargé de poussière peut contenir un grand nombre de micro-organismes responsables d'altération et de maladie. D'après (SEYDI, 1982), il s'agit le plus souvent de germes d'altération.

- **Le sol**

Le sol constitue une source importante de micro-organismes de contamination. Non seulement, il est en contact permanent avec les malades et porteurs sains, mais il reçoit des déchets de toute sorte.

- **L'eau**

L'eau est pratiquement le seul moyen utilisé dans les industries alimentaires pour laver les locaux et les denrées. Cependant même potable, cette eau peut contenir des micro-organismes responsables d'altération, notamment *Pseudomonas sp.*. Dans les industries alimentaires, on redoute les éclaboussures qui projettent les germes du sol vers les denrées.

- **Les locaux**

Les locaux, lorsqu'ils ont des surfaces et des raccordements rugueux, seront difficiles à nettoyer et abriteront beaucoup de matières organiques. Ceci constitue ainsi une source de contamination microbienne permanente des denrées.

- **Le matériel**

Le rôle du matériel comme vecteur inanimé de la contamination des denrées alimentaires est important à considérer, puisqu'il entre en contact avec les produits tout au long de leur vie économique. La contamination des aliments par le matériel ou les appareils peut se faire de deux façons : par un mauvais nettoyage ou par un appareil détérioré.

Les tables de découpe et les outils peuvent servir de vecteurs dans l'introduction des germes responsables de risques hygiéniques (germes fécaux, staphylocoques, Clostridium) (DIDNE, 2000).

1.1.3. Conséquence de la contamination des produits de la pêche

1.1.3.1. L'altération

Les poissons, crustacés et mollusques sont parmi les denrées alimentaires les plus périssables. Ils ont en effet :

- une hydratation plus élevée que celle de la viande,
- davantage de composés azotés non protéiques,
- un pH ultime élevé, de 6,1 à 6,9 selon les espèces, alors qu'il est de l'ordre de 5,5 chez les mammifères.

L'altération qui commence dès la mort est un processus complexe mettant en jeu des phénomènes physiques, chimiques et bactériologiques. Les changements enzymatiques post-mortem dus aux enzymes tissulaires et digestives, aboutissent à la formation d'un grand nombre de molécules de faible poids moléculaire qui, avec les autres composés extractibles de la chair, constituent le premier substrat de croissance bactérienne : inosine, ribose, lactate, créatine, urée, ansérine, camosine, acides aminés libres et, chez les organismes marins, l'oxyde de triméthylamine.

Les microorganismes se développent d'abord à partir de ces éléments simples l'altération se traduit par un changement d'aspect et par l'apparition d'odeurs et de goûts anormaux, conférés aux produits par certains métabolites bactériens.

Les principaux germes d'altération sont : *Proteus*: qui provoque une altération sulfito-ammoniacale. L'ammoniac produit provoque une élévation du pH favorisant ainsi le développement des autres germes : on dit que *les Proteus* «font le lit» des autres germes. *Pseudomonas* : ce sont des germes psychrotrophes responsables de la putréfaction des denrées à basse température (SITTI, 2001).

1.1.3.2. Les accidents alimentaires

Les bactéries pathogènes des poissons et autres produits de la pêche et /ou leurs toxines provoquent généralement des toxico-infections alimentaires, des intoxications et des infections, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *Salmonella* sont les plus souvent incriminés (SITTI, 2001).

1.2. Les principaux germes de contamination recherchés dans les produits de la pêche

1.2.1. Les germes témoins de contamination fécale (les coliformes fécaux)

1.2.1.1. Généralité

Les bactéries coliformes comprennent toutes les bactéries aérobies et facultativement anaérobies, à gram négatif, ne formant pas de spores, en forme de bâtonnets, qui fermentent le lactose avec formation de gaz dans un délai de 48 h, à 35°C. Ces organismes comprennent les bactéries habitant l'intestin des animaux à sang chaud et que l'on trouve dans le sol et dans l'eau ainsi que sur la végétation.

Etant donné que les organismes du groupe coliformes tirent leur signification de leur source d'habitat, ils sont différenciés en type fécale et non fécal, afin d'évaluer la qualité de l'eau.

La présence de coliformes fécaux provenant de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud est susceptible de provoquer la fermentation du lactose à 44,5 °C dans les 24 h est considérée comme une preuve directe de contamination entérique.

Tous les membres du groupe coliforme peuvent être d'origine fécale et par suite leur présence doit d'être interprétée comme une présomption de contamination fécale (BLACKWOOD ,1978).

Ce groupe des bactéries est souvent utilisé au lieu d'*E. Coli* pour éviter utilisation des tests de confirmation longs et couteux qu'exigent *E. coli*.

Egalement, le groupe de coliformes fécaux présente une plus grande probabilité de contenir des organismes d'origine fécale ; et ainsi d'indiquer la présence d'une contamination fécale. Le test recherche de coliformes fécaux, moins rapide et moins spécifique, en outre, il souffre des mêmes limites que celui décrit pour *E. Coli*. Il convient également d'observer que l'*E. Coli* pathogène « 0157 : H7 » ; récemment décrit ; ne se développe pas à 44°C sur tous les milieux sélectifs normalement utilisés pour le dénombrement d'*E. Coli* (HUSS, 1996).

1.2.1.2. Les principaux genres

Les poissons et les produits de la pêche sont soumis à certain nombre d'essais microbiologique, d'une part par l'industrie en vertu des contrats qu'elle a signés et à usage interne et, d'autre part par les autorités pour vérifier que l'état microbiologique est satisfaisant. Ces examens ont pour but de déceler les bactéries pathogènes (*Salmonella*, *vibrio. parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*), les organismes qui pourraient être signés une contamination fécale (*E.coli*), d'autres types de contamination en générale, ou des pratiques de fabrication défectueuses (HUSS, 1996).

L'espèce caractéristique et principale des coliformes fécaux est *E. coli*, mais d'autres souches de coliformes, telles *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella spp*, peuvent aussi se reproduire dans un milieu lactosé à 44,5 °C (1).

- *E. coli*

Cet organisme a pour habitat naturel les intestins des êtres humains et des animaux vertébrés (Figure 1.1). Dans les eaux tempérées, il est absent chez les poissons et chez les crustacés au moment de la capture (sauf dans les eaux fortement polluées).

En outre, les poissons et les crustacés devraient toujours être conservés à des températures inférieures à celles qui favorisent la multiplication. En effet, cet organisme est un excellent indicateur de la contamination (petits nombres) ou des erreurs de manipulation, par exemple la température inappropriée en cours de manipulation des produits (grands nombres). La contamination des aliments par *E. coli* implique le risque qu'un ou plusieurs pathogènes entériques se soient trouvés en contact avec l'aliment. Toutefois, l'absence d'*E. Coli* n'entraîne pas nécessairement celle du pathogène entériques (MOSSSEL, 1967 et SILIKER & GABIS, 1967).

De récents travaux ont montré que *E. coli* et les bactéries coliformes fécales se rencontrent dans les eaux tropicales chaudes non polluées et que cette espèce peut survivre indéfiniment dans cet environnement (HAZEN, 1988 ; FUJIOKA *et al.*, 1988 & TORANZOS *et al.*, 1988). Egalement, d'autres études ont révélé qu'il n'y a aucune corrélation entre la présence ou l'absence de coliformes fécaux, qui ne sont

pas des indicateurs fiables d'une contamination biologique récente ou d'une émission d'eaux usées dans le milieu aquatique (HUSS, 1996).



Figure 1.1 : *Escherichia coli* (2).

- ***Citrobacter spp***

Les bactéries du genre *Citrobacter* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*; il s'agit de bacilles ou de coccobacilles gram négatif ; et facultativement anaérobiques, d'une taille de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de longueur. En effet, leur mobilité est assurée par des flagelles péritriches (Figure 1.2).

Ces bactéries fermentent le mannitol et produisent du H₂S gazeux. Elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme source unique de carbone. Ce genre peut être divisé en 43 sérogroupes « O » selon l'antigène « O » du lipopolysaccharide (LPS) et en 20 groupes selon la composition en sucres du LPS (3).



Figure 1.2 : *Citrobacter sp* (4).

- ***Enterobacter spp***

Les espèces du genre *Enterobacter* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Figure 1.3). Ces espèces sont des bacilles gram négatif anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur. Ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche. Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, que donne une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer. Leur température de croissance optimale est de 30 °C (5).



Figure 1.3 : *Enterobacter* (6).

- ***Klebsiella spp***

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries gram négatif en forme de bâtonnet, non mobiles et généralement encapsulées, qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (Figure 1.4).

Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase, et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer. Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* sont habituellement des anaérobies facultatifs, et leur taille varie de 0,3 à 1,0 µm de largeur et de 0,6 à 6,0 µm de longueur. Les espèces du genre *Klebsiella* forment souvent des colonies mucoïdes. Ce genre comprend 77 antigènes capsulaires (antigènes K) donnant naissance à différents sérogroupes (7).



Figure 1.4 : *Klebsiella sp* (8).

1.2.1.3. Les caractères biochimiques des coliformes fécaux

Les propriétés qui définissent la famille doivent être mises en évidence pour affirmer que la souche est une entérobactérie.

Les caractères d'identification sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose...etc), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (9).

Les coliformes fécaux doivent produire une réaction positive à l'épreuve de l'ONPG (enzyme b-galactosidase) et une réaction négative à l'épreuve du cytochrome -oxydase.

Un autre test, le test du MUG (4-méthylumbelliferyl-b-D-glucuronide), s'il est positif, identifie formellement la présence d'*E. Coli* et l'origine fécale obligatoire de la contamination.

Le (tableau I) ci-dessous résume les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés :

Tableau 1.1 : Les caractères d'identification des souches entérobactéries (9).

	E. coli	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Salmonella	Shigella	Proteus	Providencia
Gluc	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lact	+	+	+	+	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+
VP Acétoïne	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-

1.2.2. Les germes témoins de manquements aux règles d'hygiène :

Staphylococcus aureus

1.2.2.1. Généralité sur les staphylocoques

Les staphylocoques sont des bactéries de type cocci à gram positif, qui se retrouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, et en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale.

Parmi la quarantaine de types de staphylocoques existants, le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est le plus souvent rencontré dans les pathologies infectieuses. Ce staphylocoque peut causer des infections graves. De plus, il est l'un des principaux responsables des infections nosocomiales, c'est-à-dire contractées en milieu hospitalier, ainsi que des intoxications alimentaires. Ces germes sont à l'origine d'affections de la peau, le plus souvent bénignes.

Par contre, le staphylocoque doré peut entraîner des infections plus graves comme certaines formes de pneumonies et de méningites bactériennes. Ce type de

bactérie est également l'une des principales causes d'intoxication alimentaire liée à des cas de gastro-entérite.

Lorsque les staphylocoques dorés se développent dans la circulation sanguine, ils peuvent se fixer dans les articulations, les os, les poumons ou le cœur. L'infection peut se révéler très grave et parfois même être mortelle **(10)**.

1.2.2.2. Principaux caractères de *Staphylococcus aureus*

L'espèce de *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, thermosensible, qui requiert des températures de croissance comprises entre 6 et 46°C (avec optimum à 37°C) (Figure 1.5). C'est une bactérie neutrophile (croissance entre pH 4 et 9,8) qui survit dans les aliments déshydratés et/ou congelés et qui tolère pour sa croissance une concentration en sels (Na Cl) élevée (jusqu'à 20%) et une activité de l'eau a réduite (0,83).

Cette espèce est une bactérie exigeante en acides aminés et en vitamines, sa croissance peut être inhibée par la présence de flores de compétition présentes dans les aliments.

Son rôle pathogène en toxi infection alimentaire collective (TIAC) est lié à la sécrétion de protéines douées de propriétés neurotoxiques chez l'homme et qu'on appelle entérotoxines staphylococciques **(11)**.

Il mesure de 0,5 à 1µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, et possède une catalase et une coagulase **(12)**.

La paroi de *S. aureus* renferme des acides teichoïques responsables de la fixation de bactériophages spécifiques **(13)**.

Les réservoirs naturels de cette espèce sont : la peau, les cheveux et les muqueuses superficielles (nez) des humains, alors qu'il ne fait pas partie de la flore que l'on trouve normalement chez les poissons et les produits de pêche. Sa présence en grands nombres peut dénoter la présence éventuelle d'entérotoxines et /ou des manquements à l'hygiène ou aux bonnes pratiques de fabrication. Il faut s'attendre à en trouver en petits nombres sur les produits manipulés par des humains. Il convient de souligner que *S.aureus* se développe mal lorsqu'il est en concurrence avec de grands nombres d'autres micro-organismes.

Pour cette raison, la recherche de *S.aureus* ne revêt de signification que dans le cas des produits de la pêche qui ont reçu un traitement bactéricide, à savoir un traitement thermique en cours de fabrication (HUSS, 1996).



Figure 1.5 : *Staphylocoques aureus* (14).

1.2.2.3. Physiologie des *Staphylocoques aureus*

L'espèce S. aureus se multiplie plus facilement en aérobiose qu'en anaérobiose. Il exige des acides aminés et des vitamines. Il est mésophile. Il est généralement inhibé en présence d'une flore compétitive importante. Il est sensible à l'acidité du milieu. Il tolère des concentrations élevées de Na Cl et des niveaux d'Aw réduits. Il survit longtemps dans les aliments déshydratés ou congelés.

C'est un germe thermosensible : des populations de 10^6 *S. aureus* / ml peuvent être complètement inactivées en 4 - 24 mn à 54 - 60°C. Cependant certains constituants du milieu (lipides, protéines, sucre, sel) peuvent le protéger de la chaleur (MINOR & MATHE, 1976 ; SITTI, 2001).

1.2.2.4. Toxinogénèse

Les entérotoxines staphylococciques sont de petites protéines thermostables alors que la bactérie est thermosensible. Plusieurs types immunologiques d'entérotoxines ont été décrits : les types A à E détectables par des méthodes immunologiques commercialisées, d'incidence connue, et les types G à M, récemment décrits, d'incidence inconnue.

Le type A, seul ou en association avec d'autres types, est le plus fréquemment impliqué dans les toxi-infections collectives (TIAC).

L'aliment ne devient toxique que s'il est contaminé par des souches productrices d'entérotoxines et si des conditions favorables à une multiplication bactérienne importante et à la toxinogénèse se trouvent réunies (15).

1.2.2.5. Symptomatologie des intoxications causées par *S. aureus*

Cette espèce représente un contaminant des aliments et constitue l'une des principales causes de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) en France. Ces TIAC sont provoquées par l'ingestion d'aliments contaminés par l'entérotoxines produites par certaines souches de *S. aureus*. Parmi les aliments incriminés dans les TIAC à *S. aureus* sont souvent retrouvés des produits dont la préparation nécessite de nombreuses manipulations (plats cuisinés, produits carnés, poissons) (16).

Les symptômes apparaissent brutalement : nausées, douleurs abdominales et surtout vomissements violents et répétés souvent accompagnés de diarrhée. Il n'y a généralement pas de fièvre. Des complications peuvent survenir en fonction de la dose ingérée et de la sensibilité individuelle : déshydratation, prostration, hypotension, état de choc. Le rétablissement intervient dans les 24 à 48 h, sans séquelle. La mortalité est exceptionnelle (15).

1.2.2.6. Prévention des intoxications :

Il faut être vigilant pour prévenir l'apparition des staphylocoques car une fois infecté, il est très compliqué de s'en débarrasser. Pour cela il est important de se laver régulièrement les mains, surtout dans le milieu hospitalier.

Le traitement contre les staphylocoques se base sur la réalisation d'un antibiogramme qui permet de déterminer le type de la bactérie responsable de l'infection et de choisir la meilleure réponse antibiotique. Ce traitement antibiotique est pris par voie orale pendant 7 à 10 jours. Dans le cas du staphylocoque doré, on recourt à l'utilisation de la pénicilline M (mécicilline, oxacilline).

Les infections cutanées peuvent se soigner le plus souvent avec une bonne hygiène locale et la prise d'antiseptiques et d'antibiotiques locaux (17). Maitriser les points de contamination lors de la transformation, du stockage et de la diffusion des denrées animale (produits laitiers notamment). Une hygiène irréprochable tout au long de la chaîne est primordiale. (CROISIER & CROISIE, 2011).

1.2.3. Les germes pathogènes

Actuellement, La famille des Enterobacteriaceae comprend 130 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (18).

1.2.3.1. Les salmonelles

Les salmonelles sont des parasites intestinaux des animaux vertébrés qui se disséminent dans la nature par les excréta. Chez les animaux à sang chaud, elles sont souvent pathogènes (Figure 1.6).



Figure 1.6 : Les salmonelles (19).

1.2.3.1.1. Taxonomie

Les salmonelles constituent un genre ne contenant qu'une seule espèce : *Salmonella enterica* divisée en 7 sous-espèces. Presque, la totalité (99,8%) des souches responsables d'infestations humaines appartiennent à une sous- espèce également dénommée *Enterica sp.* On distingue près de 2000 sérovars dans cette sous-espèce, selon leur constitution antigénique. Pour des raisons historiques, car pendant longtemps les sérovars ont été assimilés à l'espèce, on désigne chaque sérovar par un nom rappelant soit son pouvoir pathogène (*Salmonella Choleraesuis*) soit le nom de la ville du premier isolat (*Salmonella London*).

L'orthodoxie taxonomique imposerait de désigner les salmonelles par les noms du genre, de l'espèce, de la sous-espèce et du sérovar (qui peut être remplacé par la formule antigénique) :

Exemple : *Salmonella enterica*, sub sp *enterica*, sérovar *London* ou *Salmonella enterica*, sub sp *enterica*, sér 3,10 : l,v :1,6.

Pour simplifier, il est admis de désigner les salmonelles par le nom du genre suivi de celui du sérovar consacré par l'usage, mais ce dernier s'écrit en caractères droits et avec une majuscule (18).

1.2.3.1.2. Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Ce sont des bacilles de 1-6 µm de long sur 0,3 à 1 m, Mobiles par ciliature peritriche et elles ne présentent pas de capsule.

- **Caractères cultureux**

Les salmonelles supportent la température optimale (35-37°C) et une gamme de pH allant de 4,5 à 9 avec un optimum de 6,5 à 7,5

On peut cultiver les salmonella sur des milieux solides après un temps d'incubation de 24H (par exemple hektoen et XLD agar) ou bien des milieux liquides après un temps d'incubation de 18-24H (RAMBACH, 1990).

1.2.3.1.3. Pouvoir Pathogène

Les salmonelloses peuvent donner lieu à trois types de manifestations cliniques :

- Des formes bactériémiques, strictement humaines, qui sont les fièvres typhoïde et paratyphoïde dues à *Salmonella Typhi*, Para A, Para B et Para C. Ce sont des bactériémies à point de départ lymphatique.
- Des toxi-infections alimentaires donnant lieu à des gastro-entérites dues à tous les autres sérovars mais également à Para B et C.
- Des manifestations extra-digestives dans lesquelles divers sérovars sont en cause et qui sont plus fréquentes chez les sujets fragilisés :
 - Bactériémies non typhoïdiques.

- Infections pleuro-pulmonaires.
- Atteintes otéo-articulaires : arthrites septiques ou réactives, ostéomyélite, ostéite.
- Infections cardio-vasculaires : péricardites, artérites, infections sur prothèses.
- Infections urinaires.
- Infections abdominales : cholécystites, abcès du foie, abcès de la rate,
- Infections du système nerveux central : méningites, abcès du cerveau, hématome sous-dural infecté, abcès épidual.

1.2.3.1.4. Physiologie

Les salmonelles ont un pouvoir entéro-invasif et pénètrent dans les cellules de la muqueuse intestinale. Selon la conception de Reilly, les souches à propagation bactériémique se multiplient dans les ganglions mésentériques et passent dans la circulation sanguine occasionnant la bactériémie ou sont détruites sur place et libèrent l'endotoxine responsable aux troubles nerveux et végétatifs de la typhoïde.

1.2.3.1.5. Epidémiologie

L'homme est contaminé par les Salmonelles par voie digestive. Ensuite, ces bactéries sont éliminées par les matières fécales et résistent bien dans le milieu extérieur.

- Les sérovars responsables des fièvres typhoïdes sont strictement humains et le seul "réservoir de virus" est l'homme lui-même, malade, convalescent ou porteur sain. Ces contaminations interhumaines expliquent la survenue des cas de fièvre typhoïde par petites épidémies ; elles sont directes, autour d'un malade, ou le plus souvent indirectes par ingestion d'aliments souillés par les excréta. Une hygiène alimentaire défailante augmente donc le risque de survenue de la maladie.
- Les sérovars responsables de gastro-entérites sont très répandus dans le monde animal et les animaux domestiques ou d'élevage, sont à l'origine des contaminations humaines. L'infestation se fait également par voie digestive, par consommation d'aliments souillés consommés peu cuits : laitages, poissons, viandes, oeufs, coquillages, crudités arrosées ...etc.

Une source d'extension importante, particulièrement en milieu hospitalier, autour de nourrissons atteints qui éliminent des salmonelles dans les couches.

Les salmonelloses sont plus fréquentes à la fin de l'été ou au début de l'automne. Les voyages dans les pays chauds, le mode de vie "près de la nature", la consommation de produits "naturels" ou "du terroir" non aseptisés augmentent les risques d'infestation (18).

1.2.3.1.6. Diagnostic biologique

On cherche les Salmonelles, essentiellement par hémoculture ou par coproculture mais d'autres prélèvements peuvent en contenir.

L'identification biochimique doit précéder toute tentative de détermination du

Le sérodiagnostic d'une fièvre typhoïde ou sérodiagnostic de Félix consiste à rechercher les anticorps du malade en présence de suspensions antigéniques O et H de *S. Typhi*, Para A, B et C. Les anticorps anti O apparaissent les premiers mais disparaissent plus vite, les anticorps anti H persistent plus longtemps. L'analyse des résultats permet de suspecter l'agent causal et de fixer la date de l'infection.

1.2.3.1.7. Traitement

Les Salmonelles sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs contre les bacilles à gram négatif. Certaines résistances sont possibles et impliquent la pratique d'un antibiogramme.

Les fièvres typhoïdes sont actuellement traitées par une céphalosporine de troisième génération et en particulier par la ceftriaxone (traitement de référence), mais les fluoroquinolones sont également utilisées chez l'adulte.

Les gastro-entérites relèvent essentiellement d'un traitement symptomatique comprenant régime et réhydratation. Une antibiothérapie (sulfaméthoxazole-triméthoprime, fluoroquinolones) n'est utile que dans les cas graves (18).

1.2.3.2. *Clostridium botulinum*

1.2.3.2.1. Caractéristique

Clostridium botulinum est un bacille gram positif (+) aux extrémités arrondies ; il est anaérobie strict et produit des spores résistantes à la chaleur (thermorésistantes). La résistance est plus grande encore en milieu huileux. Les organismes mesurent de 0,3 à 1,5 μm de largeur par 2 à 9 μm de longueur. Les spores sont ovales, subterminales et légèrement déformantes. Grâce à ses flagelles péritriches, *C. botulinum* est mobile (Figure 1.7) (19).

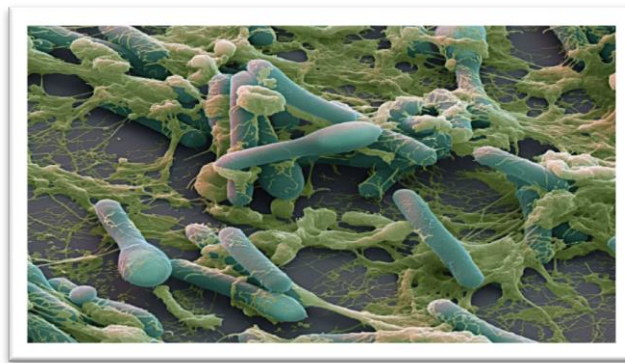


Figure 1.7 : *Clostridium botulinum* (20).

1.2.3.2.2. Physiologie

La toxine est détruite après exposition à la chaleur pendant 5 minutes à une température supérieure à 85 °C. Les toxines sont éliminées en moins de 12 heures dans l'air et après 1 à 3 heures d'exposition à la lumière du soleil. Les spores sont très résistantes à la chaleur et à la dessiccation ; par conséquent, il est recommandé de stériliser à la chaleur sèche (2 heures à 160 °C), par autoclavage (20 minutes à 121 °C, à une pression de 1 atm) et/ou par irradiation. (21).

Tableau 1. 2 : Quelques températures importantes pour *Clostridium botulinum* (22)

	Température optimale		Température minimale	
	Type E	Autres types	Type E	Autres types
Croissance	30°C	34-37°C	5°C	15-20°C
Toxinogénèse	28 - 30°C	34°C	5°C	15°C
Sporulation	15 - 41°C	15 - 41°C		
Germination	37°C	37°C	>=10°C	>=10°C
Emergence	31 - 37°C	31 - 37°C	>10°C	>10°C

- **Le pH**

C. botulinum se développe à des pH voisins de la neutralité (optimum 8.2-8.5). Sa croissance est considérée comme non possible à un pH inférieur à 4.5, à condition que cette acidité agisse dans toute la masse et qu'aucun autre microorganisme n'accompagne les spores de *Cl. botulinum* ; en effet la présence de germes assimilant les acides organiques peut conduire à une augmentation dangereuse du pH. Il a été montré que certaines souches étaient capables de se développer à pH < 4.5. Le chlorure de sodium supérieur à 10/1000 est, selon la concentration, inhibiteur de la croissance (23).

1.2.3.2.3. Pathogénicité et toxicité

La toxine botulique a été trouvée dans divers aliments, et notamment dans des légumes conservés légèrement acides comme des haricots verts, des épinards, des champignons et des betteraves ; dans du poisson, et notamment du thon en boîte, du poisson fermenté, salé ou fumé; et dans des produits carnés tels que le jambon et la saucisse. Les aliments mis en cause diffèrent selon les pays et reflètent les habitudes de consommation et les procédures de conservation locales. Occasionnellement, des aliments préparés industriellement sont aussi impliqués (23).

- Botulisme d'origine alimentaire : La forme classique du botulisme est causée par l'ingestion de la toxine préformée dans des aliments contaminés. Les symptômes comprennent les suivants : vision double, paupières tombantes (ptosis), troubles de la parole (empâtement), difficulté à avaler et faiblesse musculaire symétrique et

descendante (affecte d'abord les épaules, puis le haut des bras, les avant-bras, les cuisses, les mollets, et ainsi de suite). Le décès survient en raison d'une insuffisance respiratoire et peut survenir à peine 24 heures après l'apparition des symptômes (24).

1.2.3.2.4. Prévention

La prévention du botulisme alimentaire repose sur l'application de bonnes pratiques dans la préparation des aliments, notamment pour ce qui concerne la conservation et l'hygiène. Le botulisme peut être prévenu par l'inactivation des spores bactériennes dans les produits ou les conserves stérilisés à la chaleur (par autoclavage, par exemple) ou encore par inhibition de la croissance bactérienne dans d'autres produits. La pasteurisation à chaud industrielle (produits pasteurisés conditionnés sous vide, produits fumés à chaud) peut ne pas suffire pour détruire toutes les spores et la sécurité de ces produits doit donc reposer sur la prévention de la croissance bactérienne et de la production de toxines. L'effet combiné de la température de réfrigération, de la teneur en sel et/ou des conditions acides empêchera le développement des bactéries et la formation de toxines.

L'initiative Cinq clés pour des aliments plus sûrs de l'OMS sert de base à des programmes destinés à former et éduquer les consommateurs. Ces cinq principes sont particulièrement importants pour prévenir les intoxications alimentaires. En voici la liste:

- Prenez l'habitude de la propreté.
- Séparez les aliments crus des aliments cuits.
- Faites bien cuire les aliments.
- Conservez les aliments à la bonne température.
- Utilisez de l'eau et des produits sûrs.

La contamination des denrées alimentaires peut avoir un effet plus ou moins grave sur la qualité du produit et sur la santé du consommateur. Elle peut être à l'origine d'une altération du produit, lui faisant perdre ses caractéristiques organoleptiques et ou commerciales et parfois la cause d'intoxications ou toxi-infections graves (25).

CHAPITRE II
TECHNIQUE DE TRANSFORMATION DES
PRODUITS DE LA PECHE

L'industrie de transformation des produits de pêche regroupe les entreprises dont l'activité principale ou secondaire consiste à élaborer des produits destinés à l'alimentation humaine à partir de poissons, crustacés, mollusques et céphalopodes et en utilisant différentes techniques de préservation ou différents procédés de fabrication. Sont exclues du périmètre de l'industrie les entreprises n'effectuant qu'une activité de filetage du poisson et les entreprises spécialisées dans la transformation des algues (REGIS, 2005).

2.1. Filets de poisson :

Les filets de poisson sont des tranches de dimensions et de formes irrégulières prélevées sur la carcasse du poisson parallèlement à la colonne vertébrale, ainsi que les sections de tels filets, avec ou sans peau. Nombreuses sont les familles de poissons exploitées sous forme de filets (NIYONZIMA, 2009).

Les filets peuvent être emballés dans des sacs en plastique d'1 kg thermosoudés puis rangés dans des cartons de 10 kg doublés de plastique. Ils peuvent aussi être emballés en vrac dans des caisses de 10 kg. Les poissons entiers seront seulement emballés dans des cartons.

Pour l'exportation, il existe des règles d'étiquetage des cartons. Les informations inscrites sur les étiquettes doivent être les suivantes :

- Dénomination du produit sous son nom latin et son nom commercial.
- Poids net des produits en gramme et kilos.
- Nom et l'adresse du producteur et revendeur implanté dans un pays de l'Union Européenne,
- Lieu d'origine,
- Date de congélation,
- Numéro de lot **(26)**.

2.1.1. Approvisionnement

Les problèmes de conservation ont été et demeurent une question d'actualité de part le monde. L'Homme s'est toujours trouvé confronté au problème de conservation des denrées pendant les saisons de grandes productions pour assurer sa survie en périodes de pénurie. C'est ainsi qu'il a élaboré des méthodes pour augmenter la durée de conservation des aliments. Les premières furent le séchage au soleil, le salage et le fumage.

Bien plus tard, à ce savoir-faire ancestral, se sont ajoutées des techniques plus modernes s'appuyant presque toujours sur les mêmes principes fondamentaux : destruction des microorganismes, arrêt ou ralentissement de la prolifération bactérienne, des activités enzymatiques, des réactions d'oxydation et de radicalisation. Ceci étant fait soit en agissant directement sur ces agents soit en modifiant les paramètres limitant leur croissance. La conservation du poisson est une course contre la montre qui commence dès la capture, à bord des embarcations de pêche; l'utilisation de la glace est le meilleur moyen pour ralentir l'altération du poisson.

2.1.2. Présentation des modes de conservation

2.1.2.1. La réfrigération

La réfrigération est le processus permettant de refroidir le poisson ou les produits de la pêche pour les amener à une température proche de celle de la glace en fusion. Elle a pour but de prolonger la durée de vie du poisson en ralentissant l'action des enzymes et des bactéries ainsi que les processus physico-chimiques qui altèrent sa qualité.

Le poisson frais est une denrée hautement périssable qui se dégrade très rapidement à température normale. En abaissant la température à laquelle le poisson est conservé, on réduit le taux d'altération. La réfrigération fait chuter la température à celle de la glace en fusion, soit 0 °C pratiques d'entreposage.

Généralement, on réfrigère (à 0°C) souvent les poissons entiers (dont on a retiré les viscères et les branchies) ou les filets en les recouvrant de glace. On remplit un contenant avec des couches alternées de poisson et de glace, la dernière couche étant une couche de glace. Il faut utiliser au moins autant de glace que de poisson. La quantité de glace utilisée, est fonction de la température ambiante et de la qualité du contenant (27).

L'utilisation de la glace augmente considérablement la durée de conservation du poisson et devrait être une pratique systématique à bord des pirogues de même qu'à toutes les étapes de la manutention après le débarquement. La chaîne du froid ne doit pas être interrompue. Par conséquent, le refroidissement doit être continu et maintenu jusqu'au dernier maillon de la distribution du produit au consommateur/client. Le taux de réfrigération est fonction des facteurs suivants:

- la taille, la forme et l'épaisseur du poisson;
- le mode d'entreposage;
- le respect des proportions du mélange de glace, d'eau et de poisson (dans les coulis de glace);
- un bon contact entre la glace et le poisson;
- la taille des particules de glace.

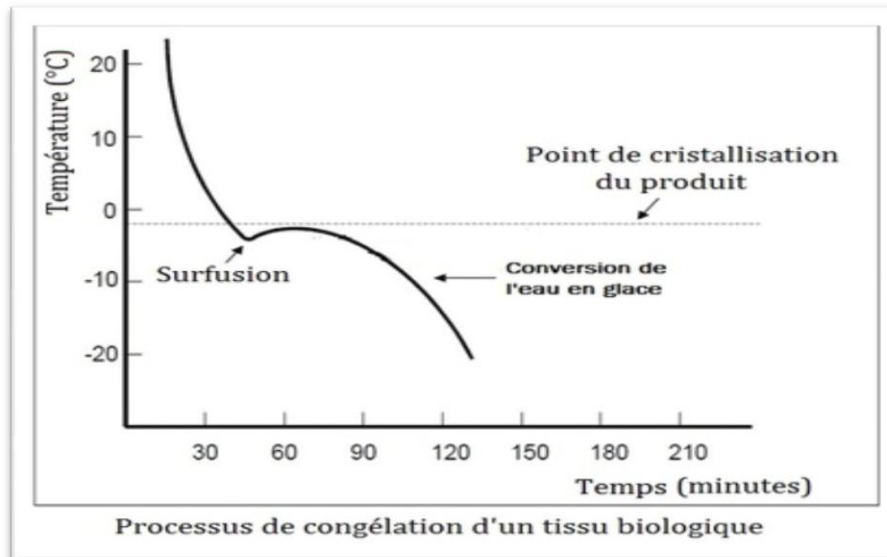
2.1.2.2. La congélation

La congélation est un procédé physique de conservation qui vise à transformer en glace l'eau que renferme les aliments et à les entreposer ensuite immédiatement à température négative. Le principe consiste à réduire fortement la dégradation naturelle de l'aliment résultant de l'activité bactérienne et enzymatique dans le produit en abaissant sa température à une valeur au moins inférieure à son point de congélation et en diminuant la disponibilité en eau libre de l'aliment.

Un produit surgelé est défini (Directive 89/108/CEE du 21/12/1988 et décret 64-949 du 9 décembre 1964) comme un produit de parfaite fraîcheur et salubrité dont la température a été portée à une valeur inférieure ou égale à -18°C en tout point du produit, avec franchissement rapide de la zone de cristallisation maximum. Cette température de -18°C doit être maintenue en tous points du produit depuis sa surgélation jusqu'à son utilisation finale, avec des fluctuations de température vers le haut n'excédant pas plus de 3°C . La surgélation est généralement réalisée en utilisant des températures inférieures à -30°C , et les denrées sont ensuite stockées à une température inférieure ou égale à -18°C .

- **Différentes phases du processus de congélation**

1ère phase. Diminution plus ou moins rapide de la température du poisson jusqu'au voisinage du point de cristallisation commençante du produit (vers -1°C).






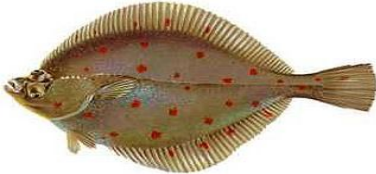





2ème phase. Une fois le point de congélation commençante atteint, la température à cœur du produit rencontre un palier qui correspond au changement d'état eau/glace : c'est à ce moment que débute la cristallisation de l'eau de constitution des tissus et une croûte de glace se forme au niveau des couches superficielles du produit.

3ème phase. Une fois le palier de changement d'état dépassé, la température de la chair déjà congelée continue de descendre et la cristallisation de l'eau de constitution des tissus se poursuit avec avancement du front de congélation vers le centre du produit (27).

2.1.3. Principales espèces de poisson utilisées

Les poissons exploités pour la production de filets appartiennent aux familles ci-dessous (Tableau 2.3). La dénomination commerciale de ces poissons correspondaux noms communs français des différentes familles traitées.

Tableau 2.3 : Dénomination commerciale des familles de poisson exploité pour la production de filets.

Dénomination commerciale	Familles	Exemples des Espèces de la famille
Gabillaud-morue	<i>Gadidès</i>	
Flétan	<i>Pleuronectidae</i>	
Limande	<i>Pleuronectidae</i>	
Plie (carrelet)	<i>Pleuronectidae</i>	
Turbot	<i>Scophthalmidae</i>	
Truites	<i>Salmonidae</i>	
Thon	<i>Scombridae</i>	
Saint-Pierre	<i>Zeidae</i>	
Saumon	<i>salmonidés.</i>	

Sole	<i>Soléïdés</i>	
------	-----------------	--

2.1.4. Technologie de fabrication des filets de poisson

Pour la fabrication des filets de poisson, le (Tableau 2.4) ci-dessous présente cette technologie.

Tableau 2.4 : Technique de fabrication des filets de poisson (28).

Les opérations	Technologie	Explications et commentaires
Stockage	<p>Les poissons frais seront placés dans une chambre froide à température positive environ 5°C) pour la journée afin d'éviter leur dégradation.</p> <p>Ils seront régulièrement glacés dans la journée (rapport glace/poisson : 1/1. Ce rapport dépend du type de poisson et de sa température initiale).</p> <p>Matériels : chambre froide, bacs</p>	
<p>Triage</p> <p>Les poissons sont triés en fonction de l'espèce et du calibre.</p>	<p>Matériel facultatif : table de triage en inox</p>	<p>La qualité de la matière sera contrôlée visuellement et les poissons considérés comme inaptes à la consommation seront écartés.</p>

<p>Les étapes préparatoires</p> <p>En fonction du produit désiré, les viscères, la tête, la peau et les arêtes seront retirés (environ 70 % du produit brut pour le mérrou) et les poissons découpés en filets.</p>	<p>Toutes les étapes préparatoires seront effectuées dans une salle sous atmosphère contrôlée à 11°C.</p> <p>Pour les poissons entiers :</p> <p>L'éviscération est réalisée pour des espèces de calibre moyen. Les petits calibres seront seulement lavés.</p> <p>Pour les filets (étapes) :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pelage manuel. 2. Le filetage. Il consiste à séparer la partie charnue et la partie osseuse du poisson. On filete toujours de la tête vers la queue. 3. L'élimination des arêtes. Cette opération doit être séparée de celle du filetage pour éviter les risques de contamination par la peau. <p>Matériels : couteaux, table en inox, salle de préparation climatisée.</p>	<p>L'éviscération doit être réalisée correctement car les viscères sont la principale source de dégradation.</p> <p>Eviter de mettre en contact les abats et les poissons sains.</p> <p>Laver régulièrement les tables et les poissons à l'eau.</p>
<p>Filage</p> <p>Etape facultative consistant à emballer les filets individuellement</p>	<p>Les filets de poisson sont filmés manuellement et individuellement (Individual Warped Frozen) dans des feuilles de plastique</p>	<p>Le film plastique préserve les filets contre la contamination et joue le rôle de pellicule protectrice.</p>

	alimentaire transparent.	
Congélation	Les poissons en filets emballés ou entiers sont disposés sur des chariots et introduits dans un tunnel de congélation à environ -40°C. La température à coeur des poissons devra atteindre 18°C. Matériel : tunnel de congélation ou congélateur à plaque.	
Emballage et Calibrage	Les produits sont calibrés puis emballés dans des sacs en plastique et thermosoudés ou mis dans des cartons préalablement tapissés d'un plastique en polyéthylène. Matériel : balance.	
Stockage	Matériel : chambre froide (Température négative -20°C).	

2.1.4.1. Exemple de filets de poisson rond (Mérus, bars)

2.1.4.1.1 Réception :

Dès leur arrivée à l'usine, les poissons sont lavés puis triés par espèce. Le lavage réduit la contamination superficielle en particulier par le sable.

2.1.4.1.2 Pelage

C'est une opération qui consiste à enlever la peau du poisson. Cette opération se fait le plus souvent manuellement.

2.1.4.1.3 Filetage

C'est la séparation de la chair du poisson des os de la colonne vertébrale et des viscères (COLINGNON *et al.*, 1984). C'est l'étape la plus importante de la chaîne de préparation des filets de poisson.

2.1.4.1.4 Lavage et trempage

La technique consiste à plonger les filets dans les bacs contenant de l'eau douce à basse température, additionnée d'une substance bactéricide telle que l'Hypochlorite de Potassium.

2.1.4.1.5 Conditionnement et emballage

L'emballage assure la conservation du produit à tous les stades de son existence, depuis la fin de sa fabrication jusqu'à sa consommation ou son utilisation finale (CHEFTEL et CEFTEL, 1980). La mise en forme de filets de poissons et leur conditionnement en film plastique réduits considérablement les contaminations microbiennes exogène par manipulation (BERNADAC *et al.*, 1985).

2.1.4.1.6 L'entreposage réfrigéré

Après leurs conditionnement et emballage, les filets de poissons sont entreposés dans une chambre froide positive dont la température varie entre 0 et +4°C en attendant leurs expédition (NIYONZIMA, 2009).

2.2. Traitement de la crevette

Les crevettes appartiennent à l'embranchement des arthropodes, sous embranchement des crustacés. Ce sous embranchement comprend 50000 espèces dont les crabes, langoustes et langoustines, homards, écrevisses. Parmi les crustacés on distingue 6 groupes ayant rang de classe dont celle des *Malacostraca* elle-même divisée en sous classes. Deux de ces sous classes concernent les crevettes :

- La sous classe des *Eumalacostraca*.
- La sous classe des *Hoplocaridés* (29).

Pour des années nous avons acquis de l'expérience dans la conception et fabrication des projets d'installations de traitement de crevettes clé en main. Nous spécialisons les services de vente des différents équipements de traitement de crevettes à l'industrie des fruits de mer, en fournissant des produits standard et d'autres sur mesure.

En utilisant notre longue expérience et notre expertise de spécialistes dans cette industrie, nous sommes capables non seulement de vous fournir des équipements pour une machine de traitement spécifique à l'intérieur d'une ligne, mais aussi nous concevons et développons la ligne de traitement des crevettes complète clé en main et la ligne de traitement des légumes conformément aux spécifications et exigences exactes. Notre ligne de traitement complète inclut :

- Equipement de réception et de lavage.
- Systèmes de classification rouleau classificateur de crevettes.
- Systèmes de cuisson Cocotte à vapeur, souffleur de crevettes.
- Machines d'épluchure éplucheur de crevettes.
- Systèmes d'emballage emballeur de crevettes.
- Retirer et séparer la coquille.
- Traitements de l'eau de mer refroidissement saumure.
- Congélateurs en tunnel C.I.R.
- Systèmes de nettoyage centralisés nettoyeur de crevettes.
- Pompes de crevettes.
- Unités de contrôle de qualité ceinture d'inspection.
- Machine de vitrage de glace.
- Fermeture et emballage.
- Dépôt froid (30).

2.3. Traitement des céphalopodes

Les plus anciens céphalopodes remontent à environ 500 millions d'années avant. Les céphalopodes ont un corps mou et parfois une coquille. Elle peut être externe, interne (seiche), réduite (calmar), ou absente (pieuvre ou poulpe). Tous les céphalopodes ont des bras ou des tentacules situés sur la tête, autour de l'ouverture buccale.

Les céphalopodes appartiennent à la famille des mollusques, qui contient également les gastéropodes (escargots), les bivalves (coquillages) ou les polyplacophores (chitons). L'encornet ou calamar est de la famille des *Teuthoïdes*, la seiche de la famille des *Sepioïdes* et le poulpe de la famille des *Octopodes* .

Pour les mollusques céphalopodes, les aspects traités sont les suivants :

- Les techniques d'attendrissement, avec l'utilisation d'acides (acétique, lactique, citrique) ou des hautes pressions.
- L'optimisation de la cuisson avec ou sans vide.
- L'extraction de collagène et de gélatine à partir d'encornets.
- La production de produits gélifiés à partir de plusieurs espèces **(31)**.

CHAPITRE III

MATERIEL ET METHODE

Dans notre présent travail, les analyses microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire pédagogique de microbiologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers « Université 8 Mai 1945 de Guelma ».

3.1. Echantillonnage

3.1.1. Choix de l'échantillon

Pour réaliser cette étude, nous avons choisi trois types de pêche ; les plus consommés dans la région de Guelma. On outre, nous avons fait nos études microbiologiques afin d'étudier l'évolution de la qualité bactériologique de ces produits issus de l'importation.

Pour un échantillonnage représentatif, on a prélevé un échantillon qui puisse refléter toutes les caractéristiques du lot auquel il appartient. En effet, un échantillon doit être représentatif du point de vue qualitatif que quantitatif.

3.1.2. Transport et protection de l'échantillon

Nos échantillons congelés sont transportés dans des glacières dont la température doit être comprise entre 4 à 6 °C. Même dans de telles conditions, l'analyse bactériologique doit débuter dans un délai maximal de 8 heures, après le recueil de l'échantillon (REJSEK, 2002). En effet, il faut éviter d'une part, la contamination par d'autres germes, d'où la nécessité de travailler dans des conditions aseptiques. D'autre part, la pullulation des germes qui s'y trouvent.

3.2. Les produits analysés

3.2.1. Echantillon I : *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758).

- Date de congélation : 04/2015
- Importé d'Indonésie

Requin bleu, dénommé également peau bleue, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758). Est une espèce de requins pélagiques très présent dans les océans tempérés à tropicaux de 350 mètres de profondeur. Ce requin est caractérisé par sa forme très effilée et par la teinte bleue de la partie supérieure de son corps. Sa taille maximale est de l'ordre de 4 m. Cette espèce c'est la seule du genre *Prionace* (Fig.3.1).

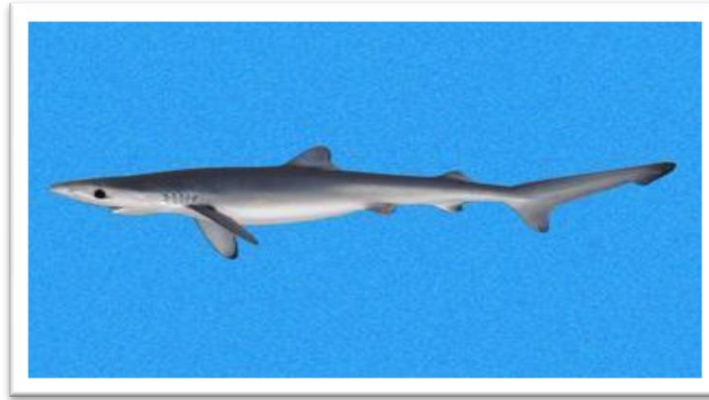


Figure 3.1 : *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) (Requin bleu).

- **Habitat**

Le requin bleu habite tous les océans et mers du monde dans des latitudes comprises entre 66° Nord à 55° Sud. Ce requin est pélagique mais peut occasionnellement rester à proximité de la ceinture continentale. De jeunes requins bleus sont parfois observés près des côtes. Il préfère les eaux entre 7 °C et 16 °C, mais supporte bien les eaux légèrement au-dessus de 20 °C.

- **Reproduction**

Le requin bleu est Vivipare, se caractérise par une maturité sexuelle au bout de 4 à 5 ans, un an de gestation, et par un nombre de 4 à 135 embryons.

- **Alimentation**

Cette espèce se nourrit de calmars, de poissons, de petits requins, de crustacés et plus exceptionnellement d'oiseaux et de cadavres de mammifères marins.

- **Comportement**

Solitaire, mais pouvant se regrouper temporairement en banc de même sexe, le requin bleu d'Atlantique effectue une migration annuelle des Caraïbes vers les côtes d'Amérique du Nord puis vers l'Europe et enfin l'Afrique avant de revenir aux Caraïbes.

Un requin bleu a été marqué au large de Monterey en Californie et a été retrouvé quelques semaines plus tard au large du Japon. Ce requin est capable d'accélérer rapidement à des vitesses de l'ordre de 40 km/h.

- **Exploitation**

Bien que présentant peu d'intérêt pour les pêcheries, ce requin fait l'objet d'une pêche accessoire soutenue par les palangriers pour ses ailerons. Il fait l'objet également de l'intérêt de la pêche sportive.

- **Conservation**

L'UICN considère que ce requin est proche de la surexploitation mais sa distribution mondiale et les captures non déclarées rendent difficile des études précises(32).

3.2.2.Echantillon II : *Merluccius gayi* (Guichenot, 1848)

- Date de congélation : 04/2015
- Importé de Pérou

Le merlu appartient à la famille des merluçidés. Plusieurs espèces de merlu sont commercialisées. Parmi lesquelles, il existe :

- *Merluccius merluccius* vit dans les eaux de l'Atlantique Nord-Est, de la Norvège à la Mauritanie, et en Méditerranée.
- *Merluccius capensis* et *Merluccius paradoxus* sont présents en Atlantique Sud Est.
- *Merluccius hubbsi* vit en Atlantique Sud-Ouest.
- *Merluccius gayi* vit dans le Pacifique Sud-Est.
- *Merluccius australis*, dans le Pacifique Sud.
- *Merluccius productus* dans le Pacifique Nord-Est fréquente les eaux des Etats-Unis et du sud du Canada.

Chasseur de nuit très vorace, le merlu se nourrit surtout de poissons mais également de crustacés et de mollusques (Fig. 3.2).



Figure 3.2 : *Merluccius gayi*.

- **Pêche intensive de merlus de petite taille**

Le merlu, toutes espèces confondues, fait l'objet d'une exploitation intensive. En Europe, elle est menée par des chalutiers, des fileyeurs et des palangriers. Les captures sont principalement destinées aux marchés du sud de l'Europe, Espagne en tête, qui affectionne particulièrement les merlus de petite taille. En 1998, environ 65% des merlus européens capturés étaient immatures (pêche ciblée et prises accessoires notamment dans la pêche à la langoustine) et près de la moitié étaient d'une taille inférieure à la taille légale de commercialisation. La taille minimale de commercialisation du merlu européen est fixée à 27 cm dans l'Atlantique Nord-Est, à 30 cm dans le Kattegat et le Skagerrak et à 20 cm en Méditerranée. Depuis 1999, les captures de poissons hors taille ont fortement chuté, en raison notamment du durcissement de l'application de la réglementation.

Plusieurs espèces sont pêchées hors des eaux européennes et exportées vers l'Europe, parmi lesquelles :

- ***Merluccius gayi* (au sud du Pacifique Est) :**

Il existe deux sous-espèces différentes de merlus du Pacifique Sud, *Merluccius gayi peruanus* entre 0° et 14° de latitude Sud au large de l'Équateur et du Pérou et *Merluccius gayi*, entre 19° et 44° de latitude Sud au large du Chili. Le stock péruvien a été surexploité pendant plusieurs années jusqu'à épuisement. Le gouvernement péruvien a imposé, fin 2002, une interdiction totale de cette pêche. Le stock a donné des signes de reprise deux ans après cette fermeture et l'industrie péruvienne a signé un protocole de pêche responsable (33).

3.3.3. Échantillon III : *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878)

- Date de congélation : 22/03/2015
- Importer du Vietnam

L'espèce de *Pangasius hypophthalmus* ou *Pangasius sutchi*) est un poisson de la famille des Pangasiidae. Il est généralement commercialisé sous le nom Panga en Europe, mais ce terme peut aussi désigner d'autres espèces (Fig.3.3).



Figure 3.3 : *Pangasius hypophthalmus*.

Bien qu'il soit parfois appelé «requin siamois» (et en anglais «iridescent shark», requin iridescent), il n'est pas apparenté aux requins mais aux siluriformes (poissons-chats).

Il vit naturellement en Asie du Sud-Est, dans le bassin du Mékong ainsi que dans le bassin de la rivière Chao Phraya. Il est maintenant largement élevé en piscicultures, y compris dans d'autres bassins fluviaux.

C'est un grand poisson (jusqu'à 1,30 m et 44 kg à l'état libre dans son milieu naturel), migrateur, omnivore capable de trouver sa nourriture dans les eaux turbides des grands fleuves mais aussi dans les zones inondées. Il s'y nourrit de poissons, de crustacés et de débris végétaux. En pisciculture, il est commercialisé lorsque son poids atteint 900 g à 1,5 kg correspondant à une taille de 35 à 55 cm environ. Une grande partie de son poids est comprise dans sa carapace céphalique propre aux poissons de l'ordre des Siluriformes.

Parfois vendu comme poisson d'aquarium, il fait maintenant l'objet d'une importante aquaculture commerciale en Asie du Sud-Est. Il est notamment devenu l'une des plus importantes espèces aquicoles en Thaïlande.

- **Dénominations**

- Il est pêché et vendu sous de nombreux noms :
- « *Iridescent shark-catfish* » pour les anglo-saxons
- « *Stripedcatfish* » remplace l'ancien nom « *Sutchicatfish* » pour la FAO. Il est maintenant légalement obligatoirement nommé « *Swai* » aux États-Unis pour ne plus être confondu avec des poissons-chat locaux.
- « *Haimonni* » en Finlande
- « *Haiwels* » en Allemagne
- « *Hajmal* » en Suède
- « *Sutchi-hajmalle* » pour les danois

- « *CáTra* » ou « *CáTrayêu* » au Vietnam
- « *Pa sooi* », « *Pa sooaikhaeo* » ou « *Pa souaykheo* » au Laos
- « *Pla sawai* » en Thaïlande, ,
- « *Pra* » ou « *Treypra* » au Cambodge
- « *Patin siam* » ou « *lelebangkok* » en Indonésie,
- « *Thailandcatfish* » à Taïwan. On l'appelle aussi souvent « *Panga* », ce qui ne permet pas de le distinguer d'autres espèces également nommées Panga.

- **Habitats**

C'est un poisson migrateur, mais réputé benthopélagique et potamodrome, c'est-à-dire vivant dans de grandes étendues d'eaux profondes des eaux douces et chaudes des zones tropicales (température de 22 à 26 °C, voire jusqu'à 35 °C). Il vit dans une eau dont le pH varie de 6.5 (en saison des pluies) à 7.5 pour une dureté variant de 2 à 29 dH. Ses habitats varient tout au long de l'année. En pleine saison des pluies, il peut être trouvé loin des fleuves dans les zones inondées qu'il quittera pour redescendre vers l'estuaire à la fin de cette saison. Il peut vivre sans impact négatif sur sa croissance jusqu'à une salinité de 13 ppt.

Il possède des branchies bien développées et une vessie natatoire modifiée qui lui permet de capter l'oxygène en surface. En cas d'hypoxie, le poisson complète donc sa respiration aquatique par une respiration aérienne adaptée, lui permettant de survivre en eau faiblement oxygénée.

- **Aire de répartition**

Il semble endémique du bassin du Mékong et de la Rivière Chao Phraya, mais il pourrait peut-être vivre dans d'autres bassins de la région (Vietnam, Cambodge, Thaïlande et Laos...). Il a été introduit en divers endroits pour l'aquaculture dont au moins au Bangladesh, peut être en Chine, aux Philippines, à Singapour, à Taïwan, avec des impacts écologiques négatifs possibles ou probables à Taïwan et Singapour.

- **Description**

- Corps d'aspect brillant et irisé chez les sub-adultes, gris, plus foncé sur le dessus chez l'adulte.
- Il peut atteindre 130 cm dans la nature; pour un poids maximum publié de 44,0 kg en liberté.
- Nageoires gris foncé ou noires ; nageoire dorsale à 6 rayons.
- Ligne noire au milieu de la nageoire anale.

- Bande sombre sur chaque lobe de la nageoire caudale (nageoire rosée chez l'adulte).
- Branchies normalement développées, avec branchies de petite taille intercalées entre des branchies plus grandes.
- Les jeunes sont caractérisés par une bande noire le long de la ligne latérale et une seconde bande noire sous la ligne latérale, les adultes étant uniformément gris.
- **Écologie**

Ce poisson a un cycle de vie encore mal connu dans la nature. C'est une espèce commune dans le bas-Mékong, où les juvéniles sont piégés pour être élevés dans des cages flottantes. Au milieu du Mékong, il est présent sous la forme de grands individus dont la robe a perdu la couleur sombre qui caractérise les juvéniles et sub-adultes pour devenir grise.

Comme pour d'autres espèces de l'immense bassin du Mékong, les dates de migration et moindrement de reproduction semblent varier selon les groupes vivant dans diverses zones géographiques (métapopulation avec groupes génétiquement différenciés).

Il se reproduit en mai, juin, juillet en Thaïlande et au Laos, et en juin et juillet au Cambodge.

La majeure partie de la population remonte le Mékong en venant d'une zone de croissance encore inconnue vers des zones de frai également inconnues (de mai à juillet) avant de revenir dans les principaux cours d'eau en automne (septembre – décembre). Au Cambodge, au sud de Don Khone et des chutes de Khone (KhoneFalls) il remonte vers les sources d'octobre à février, avec un pic de migration en novembre – décembre. Cette migration est déclenchée par la montée des eaux et semble être une migration de dispersion latérale dans les zones inondées par le Mékong à la fin de la saison des inondations.

La migration vers l'aval a lieu de mai à août de StoengTreng à Kandal au Cambodge et plus tard dans le delta du Mékong au Viêt Nam. La présence d'œufs de mars à août vers l'aval montre que cette migration est à la fois nécessaire à la reproduction (frai) et à l'alimentation des adultes.

- **Reproduction**

Elle semble mal connue dans la nature et non maîtrisée par l'homme avant 1950. Son taux de reproduction serait assez moyen dans la nature et faible à nul en captivité, avec une population doublant en 4.5 à 14 ans.

Pangasianodon hypophthalmus a été artificiellement reproduit en Thaïlande, dès 1959 selon Lionel Dabbadie, mais le Viêt Nam, longtemps isolé, élevait de jeunes individus capturés. La pisciculture industrielle a vite été limitée par la difficulté de se fournir en alevins et juvéniles (« *fingerlings* ») uniquement disponibles au Cambodge et au Viêt Nam dans la nature. De plus, le prix des alevins ou juvéniles ne cessait de monter de sorte qu'en 1995, il constituait jusqu'à 52 % du coût total de production de *Pangasius bocourti* (en cages flottantes).

Une reproduction de *Pangasianodon hypophthalmus* a été possible au Viêt Nam en 1981, mais non fiablement renouvelable, alors que la Malaisie y arrivait en utilisant les méthodes thaïlandaises. Avant d'en réussir la reproduction, les pisciculteurs vietnamiens songeaient à introduire le *Channel catfish* américain (*Ictalurus punctatus*), avec le risque qu'il devienne invasif, élimine d'autres espèces, ou apporte des pathogènes pour les espèces locales. La région insulaire de Hông Ngu, île située au Viêt Nam près de la frontière cambodgienne dans le delta du Mékong, était spécialisée dans l'élevage en nurserie du panga « *Ca tra* » à partir d'alevins piégés dans le Mékong et élevés en étangs. Elle continue l'élevage de juvéniles, mais issus de fécondation artificielle.

Ce poisson aurait en fait été artificiellement reproduit pour la première fois par Boonbrahm en 1959 en utilisant une technique testée sur un autre panga (*Pangasius bocourti*) chez lequel une exposition à de l'urine de femme enceinte déclenchait la reproduction, grâce à une hormone : l'hCG, qui est commune à de nombreuses espèces. Cette hormone est en Europe fréquemment utilisée par les éleveurs d'ovins, bovins, chevaux pour synchroniser la reproduction au rythme souhaité par l'éleveur, hors saison sexuelle, et ainsi contrôler la fertilité des animaux élevés. Cette hormone traite aussi certains problèmes d'ovulation chez la femme, ainsi que certaines stérilités masculines. Pour provoquer l'ovulation de la femelle de cette espèce, le traitement doit être fractionné avec une phase préliminaire relativement longue. Les ovules qui vieillissent vite doivent être récoltés et fécondés rapidement. Les manipulations se font sur des poissons anesthésiés (phénoxy-2-éthanol).

Ensuite, mais toujours en laboratoire, d'autres équipes l'ont reproduit : Potaros et Sitasit en 1976, puis les équipes d'Hardjamulia en 1981, de Thalathiah en 1988, d'Huy en 1990, de Kiem en 1992, Xuan en 1994, etc. C'est Philippe Cacot et son équipe qui ont appliqué ces techniques à une aquaculture à vocation productive, à partir de l'hormone hCG purifiée à partir d'urine. Au Viêt Nam, les deux espèces ont été reproduites en captivité en 1995 à Can Tho et Chau Doc, dans le cadre d'une coopération scientifique impliquant le CIRAD, l'IRD et trois partenaires vietnamiens : deux universités et une entreprise semi-publique vietnamienne d'aquaculture (Agifish). Près de 300 éclosiers ont été rapidement créés au Viêt Nam pour approvisionner les élevages en cages et/ou en étangs, tant pour fournir le marché local que pour l'export. Au total, 1 500 millions de larves auraient été produites, rien qu'en 2005. Le coût des larves a chuté de 80 à 2-5 dongs pièce, et le coût des *fingerlings* ne compte plus que pour 15 % environ du coût total de production. Des essais de reproduction ont aussi été faits à la fin des années 1990 sur des hybrides entre ces deux espèces.

- **Production commerciale « pangasiculture »**

Le filet de *Pangasianodon hypophthalmus* contient en moyenne 82 % d'eau, 15,5 % de protéines et 2 % de lipides. C'est un poisson moins gras que *Pangasius bocourti*.

Pangasianodon hypophthalmus est devenu l'un des poissons les plus élevés du sud-est asiatique et notamment en Thaïlande, faisant une concurrence sérieuse aux piscicultures nord américaines de poissons-chat.

Dans les années 2000, ce poisson a souvent été vendu sous d'autres noms, souvent confondu avec d'autres espèces dites « poisson-chat ». Il est maintenant interdit aux États-Unis de l'étiqueter « poisson-chat » où il doit être nommé « swai ».

La production a explosé, passant de 50 000 tonnes en 1996 à 400 000 tonnes en 2006, ce qui a été facilité par le régime détritivore/omnivore de ce poisson, qui permet de le nourrir de déchets, à faibles coûts de production et avec des aliments à faible teneur en protéines²⁸. Les filets congelés sont donc peu chers (7 à 10 €/kg au détail sur le marché français) ce qui en fait un poisson souvent distribué dans les écoles, cantines, maisons de retraite...

Il a d'abord été massivement orienté vers les États-Unis à la fin du XX^e siècle, puis réorienté vers l'Europe et l'Asie suite aux freins et barrières douanières américaines visant à ce que les poissons-chats du Mékong ne

concurrent pas trop les poisson-chat américains. En 2005 environ 110 000 tonnes de filets congelés étaient importées vers l'Amérique, l'Europe et l'Asie. Le marché et la pangasi culture sont en pleine évolution.

Deux espèces distinctes étaient et sont encore élevées dans le Mékong et à ses environs :

- ***Pangasius bocourti*** (autrefois nommé *Pangasius pangasius*) dit *Panga* ou « *Ca basa* » au Viêt Nam, était celui qui était élevé dans des cages flottantes pour l'exportation. Il est exporté essentiellement en filets préparés sur place et congelés (deux usines existaient dans le delta du Mékong en 1995).

La chair blanche de cette espèce est appréciée pour son caractère tendre et fondant induit par son taux élevé de graisse péri-viscérale (jusqu'à 30 % du poids vif). Certains craignent que ce poisson puisse pour cette raison bio-accumuler certains polluants liposolubles. De plus, cette espèce se reproduit très mal en captivité, et avec une faible fécondité naturelle (5 000 à 7 000 œufs par kg de femelle), uniquement avec un traitement hormonal en captivité. Enfin, ses alevins ont besoin d'une nourriture vivante aux premiers stades²⁹. Ceci explique que l'espèce *Pangasianodon hypophthalmus*, plus facile à élever et plus productive, remplace peu à peu cette dernière.

- ***Pangasianodon hypophthalmus*** (autrefois nommé *Pangasius sutchi*) était autrefois presque exclusivement élevé en étangs extensifs où il se nourrissait d'eaux usées et de divers effluents. Il était essentiellement vendu localement et plutôt à l'état frais, sur les marchés du delta. Ce poisson au ventre moins arrondi que *Pangasius bocourti* est caractérisé par une chair jaunâtre et moins tendre, réputée avoir un goût de vase s'il est élevé sur le fond ou dans des étangs fermés, mais sa chair est moins grasse que celle de *Pangasius bocourti*. Il tend maintenant à remplacer *Pangasius bocourti* dans les cages, car il a une fécondité dix fois plus élevée (70 000 œufs par kg de femelle) et l'élevage des larves en est facile en étang fertilisé.

Il semble pour ces raisons avoir été presque totalement substitué à *Pangasius bocourti*. Il constituerait en 2007 plus de 95 % des pangas exportés. Une nourriture contrôlée (sans pigments) et l'élevage des adultes en cage plutôt qu'en étang lui donnent une chair blanche et suppriment le goût de vase qui le caractérise lorsqu'élevé en étang.

Le Viêt Nam en produit en cages flottantes depuis les années 1970. En 1994, ce sont 15 000 tonnes de chaque espèce qui sont élevées, les juvéniles étant nourris

avec des *fingerlings* provenant de la pêche. Vers 1995, on produisait environ 50 000 tonnes de pangas dans le delta du Mékong ; 15 000 à 30 000 tonnes en cages flottantes et 30 000 tonnes en étangs extensifs, essentiellement constitués par les étangs « à latrines », le système d'élevage traditionnel utilisé depuis des siècles dans tout le Sud-Est asiatique (de la Chine jusqu'en Indonésie).

Le Viêt Nam à lui seul aurait produit environ un million de tonnes de poissons de pisciculture en 2005 (toutes espèces et milieux confondus), dont 30 % étaient des Pangasiidae (350 000 tonnes), et de manière de plus en plus contrôlée et industrielle, toujours dans le delta du Mékong (35 000 km²) dans le sud du pays.

Jérôme Lazard³¹ estime que la production exportée de *Pangasius* était d'environ 300 000 tonnes en 2005, exclusivement sous forme de filets congelés produits dans douze usines du sud-est asiatique. Ces poissons sont aujourd'hui élevés avec des déchets animaux industriellement préparés et 20 % environ d'aliments industriels d'origine végétale, pour un coût estimé entre 0,6 et 0,7 \$/kg en moyenne.

220 000 tonnes de sous-produits (carcasses) sont utilisées pour la production de plats cuisinés, l'extraction d'huile de poisson et la production de farine de poisson.

Il a fait l'objet d'une campagne de dénigrement aux États-Unis, à l'initiative des pisciculteurs américains.

- **Exploitation commerciale**

Depuis le milieu des années 2000, le filet de *Pangasianodon hypophthalmus* (80 cm en moyenne) rencontre un vif succès sur les étals des poissonniers et dans les hypermarchés, notamment du fait de son prix compétitif³⁵, mais aussi grâce à ses filets blancs sans arêtes et au goût peu prononcé de sa chair, ce qui en fait un poisson bien adapté aux goûts de la clientèle occidentale. Avec la perche du Nil, ce poisson est parmi ceux dont le prix d'achat est le plus abordable pour le consommateur.

Les Vietnamiens ont littéralement « lancé » cette nouvelle variété de poisson sur le marché mondial dans les années 1996-1997. Supportant une densité d'élevage record grâce au développement d'une respiration aérienne, et grandissant très vite, toute une industrie est née dans les dix dernières années grâce à ce poisson.

S'il n'est pas élevé pour être commercialisé, le panga peut vivre jusqu'à vingt ans. Dans la nature, le poisson se reproduit une à deux fois par an et produit 2 000 œufs par ponte, alors qu'avec une ovulation artificielle, il peut atteindre 500 000 Alevins par ponte.

L'ovulation artificielle se fait entre autres par l'utilisation d'hormones hCG. Le lieu d'élevage est composé de plusieurs bassins d'une taille de 500 m², et de 2,5 à 3 m de profondeur. Pour l'approvisionnement de l'étang, un barrage est installé pour gérer le débit d'eau. Comme l'homme ou le cochon, le panga est omnivore. Il est nourri avec des aliments à base de farines de poissons (issus de coproduit ou de poissons minotier), de petites crevettes, de farines de soja, de blé, ou de haricots. Le panga est élevé à 90 % en étang, pendant une durée de 5 à 8 mois, dans une eau à une température de 28-32 °C.

À la fin de cette étape, le panga atteint un poids compris entre 900 grammes et 1,5 kg. Le poisson est ensuite transporté chez un industriel non loin de la zone de pêche pour y être découpé et congelé (transformation). Cette congélation est nécessaire, au vu de la durée du transport vers les pays occidentaux, et permet que le produit ne subisse pas d'altération. Il est ensuite emballé puis stocké, et enfin acheminé par bateau ou par avion jusqu'aux lieux de commercialisation.

Certains documents officiels sont nécessaires pour le transport du panga :

- la liste de colisage,
- le certificat de santé (publié par le ministère de la pêche au Vietnam NAFIQUAVED),
- le certificat d'origine (publié par la Chambre de commerce et d'industrie du Vietnam VCCI).

Arrivé à destination, le produit est décongelé pour ensuite être vendu aux grossistes, aux centrales d'achats, etc.

Du premier jour de pêche du poisson jusqu'à son arrivée chez le client, il y a un délai de 15 jours, qui correspond à :

- Le premier jour, le poisson est pêché.
- Le deuxième jour le poisson est transformé dans l'usine.
- Il faut ensuite 3 jours pour produire les spécifications relatives au produit, puis 7 jours pour le certificat de santé et encore 3 jours pour l'exportation des documents.

- **Limites et sécurité sanitaires**

Les aspects sanitaires sont discutés : en particulier à cause du risque de présence de contaminants dans la chair des poissons, et de l'utilisation peu transparente d'antibiotiques (légaux ou non du point de vue de la FAO ou de la réglementation des États-Unis ou de l'Union européenne) dans les élevages. Une antibio-résistance a été détectée chez la flore bactérienne des poissons. L'achat de

médicaments vétérinaires serait d'ailleurs devenu le troisième poste des coûts de production (> 5 %). La production intensive et concentrée d'animaux génétiquement peu diversifiés accroît le risque de pathologies transmissibles et antibio-résistantes, ainsi que les impacts en termes de pollution par les rejets aquacoles, ainsi que les impacts indirects en amont, notamment pour la production des farines alimentaires.

Le panga est notamment sensible à la bactérie *Edwardsiella tarda*.

- **En aquarium**

Les juvéniles sont vendus par les marchands de poissons pour l'aquariophilie. En raison de sa taille et de sa vitesse de croissance, il n'est pas recommandé, sauf dans de très grands aquariums, en groupe de 5 individus ou plus pour les jeunes. C'est par ailleurs un poisson qui prend facilement peur et peut se blesser sur les parois ou éléments de décor quand il cherche à fuir (il est réputé avoir une mauvaise vue et vit effectivement dans une eau généralement turbide, mais un bon odorat). Il est peu facile à élever en aquarium (dans la nature, c'est un migrateur qui exploite de vastes volumes d'eau et sort des fleuves pour se nourrir dans les zones inondées). Une variété albinos existe.

La ressemblance avec un squalo à l'état juvénile le rend attrayant pour les aquariophiles débutants qui ne connaissent pas ses dimensions une fois adulte. Comme tous les poissons d'eau douce qui s'adaptent aux dimensions de l'aquarium, il sera atteint de nanisme (34)

3.2. Matériel de travail

Le matériel de travail est celui communément utilisé dans les laboratoires de bactériologie:

- Matériel de prélèvement: ciseaux, pinces, scalpels,
- Matériel d'incubation: étuves,
- Matériel de stérilisation: autoclaves, four Pasteur,
- Homogénéisateur
- Milieux de culture et réactifs
- Divers: becs bunsen.

3.3. Méthode d'analyse

Préparation de la solution mère et dilution décimale (NF V08 - 010 - Mars 1996)

La préparation de la solution mère consiste à prélever aseptiquement 25 grammes de chaque échantillon et à l'introduire dans un Homogénéisateur, après l'addition de 225 ml d'eau distillé stérile ; pour obtenir la solution mère (SM). L'homogénéisation du contenu se fait pendant 3 mn, puis la solution est récupérée dans un flacon stérile. Cette suspension contenant des micro-organismes est laissée au repos pendant 30 mn pour assurer leur revivification. Le titre de cette solution mère est obtenu en établissant le rapport :

$$\text{Poids de l'aliment / Volume total (diluant + aliment)}$$

Un 1ml de la solution mère est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de l'eau distillée stérile. On obtient une solution de dilution 10^{-1} . Un 1ml de la solution 10^{-1} est de nouveau prélevé puis introduit dans un autre tube contenant toujours 9 ml d'EDS. La dilution de la solution ainsi obtenue est 10^{-2} . Cette opération se poursuit pour enfin atteindre des dilutions de 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} .



Figure 3.4 : Détermination du poids des trois échantillons par une balance de précision (Prise personnelle 2016).

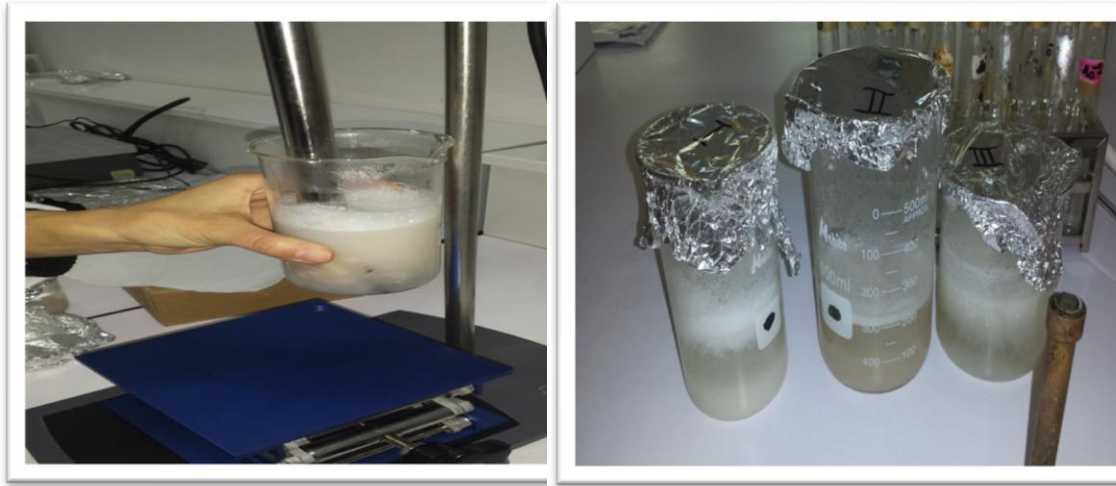


Figure 3.5 : Homogénéisations des échantillons (Prise personnelle 2016).



Figure 3.6 : Séries des dilutions (Prise personnelle 2016).

3.4. Recherche et dénombrement

Recherche et dénombrement des flores mésophile aérobie (NF V08-010-Mars 1996)

- **Le milieu**

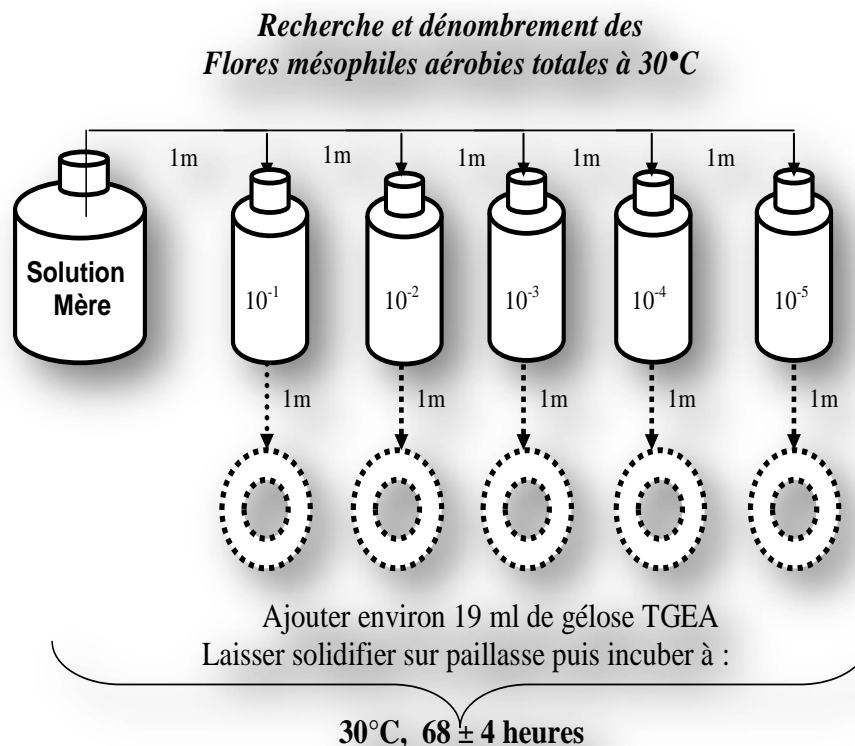
Tryptone Glucose Agar à l'extrait (TGEA) est utilisé pour la culture et le dénombrement des micro-organismes dans les produits alimentaire et de l'eau embouteillée.

- **Mode opératoire**

On prélève 1 ml de chaque dilution ($10^{-1}/10^{-2}/10^{-3}/10^{-4}/10^{-5}$) qu'on introduit aseptiquement dans les boîtes de pétri à usage unique. On ajoute le milieu gélosé TGEA le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires des boîtes. Après solidification sont ensuite incubées à 30C.

- **Lecture**

Le comptage se fait après 24 à 48 heures d'incubation. Les colonies caractéristiques apparaissent blanchâtres.



Dénombrer les colonies lenticulaires ayant poussé en masse dans chacune des boîtes.

Schéma 3.1 : Technique de dénombrement de flores mésophiles aérobies totales.

Dénombrement des coliformes thermo tolérants ou « fécaux» (NF V08 - 010 - Mars 1996)

- **Le milieu**

Mac Conkey milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques.

- **Mode opératoire**

On ensemence 0,1 ml des dilutions ($10^{-1}/10^{-2}$) dans des boîtes de pétrie dans les quelles on a coulé le milieu Mac-Conkey. Ensuite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24heures.

- **Lecture**

Démembrement les colonies blanchâtres.

- **Test confirmatif**

Technique

On prélève une colonie à partir du milieu Mac Conkey et on la met dans des tubes confirmatifs qui contiennent l'eau peptonée exempte d'indole puis on l'incube à 44°C pendant 24 heures.

Lecture

Les résultats sont considérés positifs quant :

- Un trouble dans les tubes de l'eau peptonée exempte d'indole
- Un anneau rouge sur la surface après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

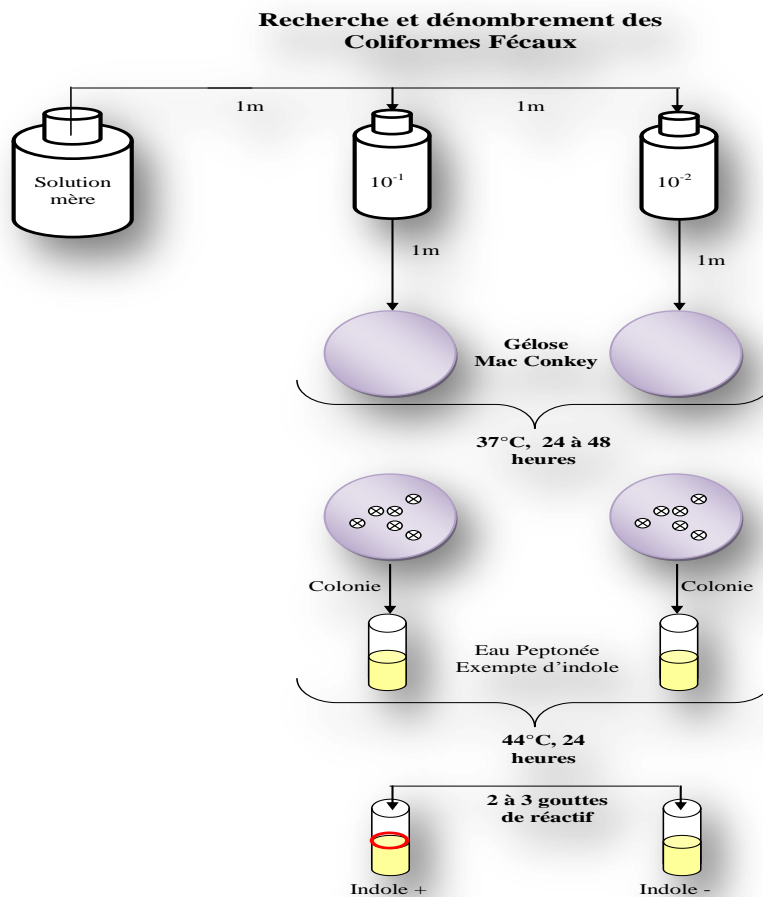


Schéma 3.2 : Technique de dénombrement des coliformes fécaux.

Dénombrement des streptocoques fécaux (NF V08 - 010 - Mars 1996)

▪ Le milieu

La gélose Columbia est un milieu très nutritif pour la culture de germes exigeants, comme les Streptocoques ou Pneumocoques.

▪ Mode opératoire

On ensemence 0,1 ml des dilutions ($10^{-1}/10^{-2}$) dans des boîtes de pétrie dans les quelles on a coulé le milieu Columbia. Ensuite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

▪ lecture

Démembrement des colonies jaunes et blanchâtres.

▪ Test confirmatif

Technique

On prélève une colonie à partir du milieu colombia et on la met dans des tubes confirmatifs qui contiennent le milieu eva-litsky puis on les incube à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Les tubes seront considérés comme positifs lorsqu'ils présentent des troubles microbiens et une pastille blanchâtre.

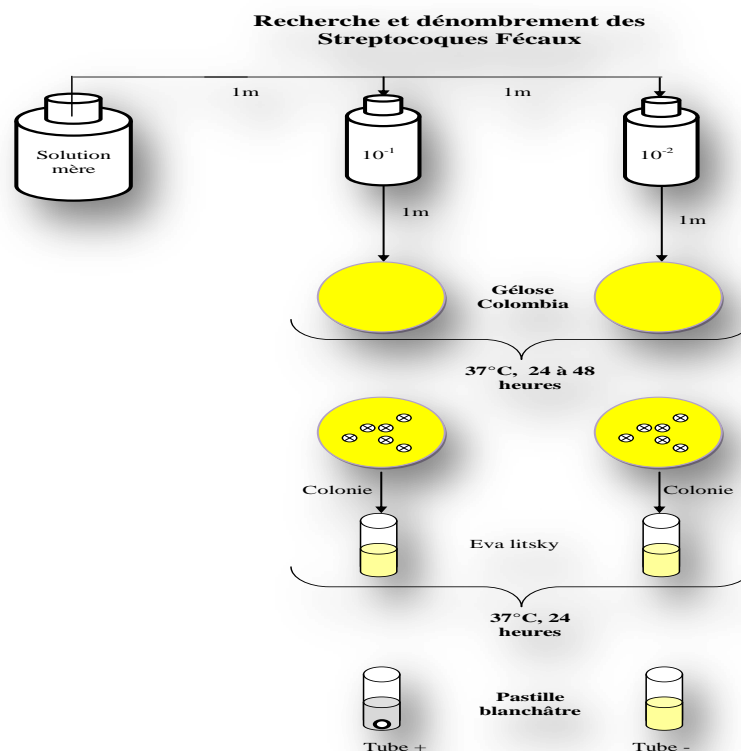


Schéma 3.3 : Technique de dénombrement des streptocoques fécaux.

Recherche et dénombrement de staphylocoque présumés (NF V08 - 010 - Mars 1996)

Le milieu

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif.

Mode opératoire

On prélève 0,1ml de la solution mère puis on l'ensemence par des stries dans des boîtes qui contiennent le milieu Chapman. Ensuite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Démembrement des colonies jaunes et roses.

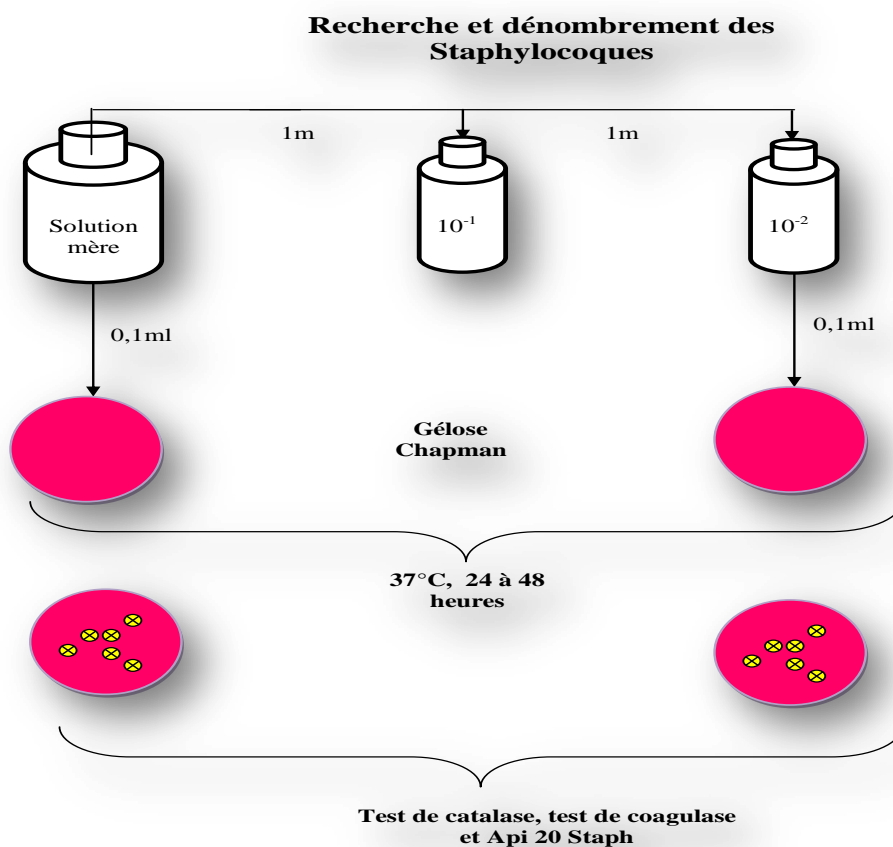


Schéma 3.4 : Technique de dénombrement des staphylocoques.

Recherche des salmonelles (NF V08 - 010 - Mars 1996)

▪ Milieu de culture

Ils varient en fonction de leur mode d'utilisation. Ils se répartissent en :

- Milieux d'enrichissement,
- Milieux d'isolement,
- Milieux d'identification.

Tableau 3.1: Méthode de recherche des Salmonelles.

Milieux d'enrichissement	Milieux d'isolement	Milieux d'identification
Bouillon au sélénite	Milieux Hektoën	Api 20 E

Mode opératoire

• Le pré-enrichissement

La solution mère est incubée à 37°C pendant 16 à 20h

• L'enrichissement

Après cette première étape, 0,1ml et 2 ml de la solution mère sont prélevés et introduits dans deux tubes à essai contenant 10 ml de sélénite cystine. Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 à 37°C.

• L'isolement

Les cultures sur sélénite cystine sontensemencées séparément dans des boîtes de Pétri stériles dans lesquelles on a préalablement coulé le milieu Hecktoen qui s'est solidifié. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées pendant 24h à 48 heures à 37°C.

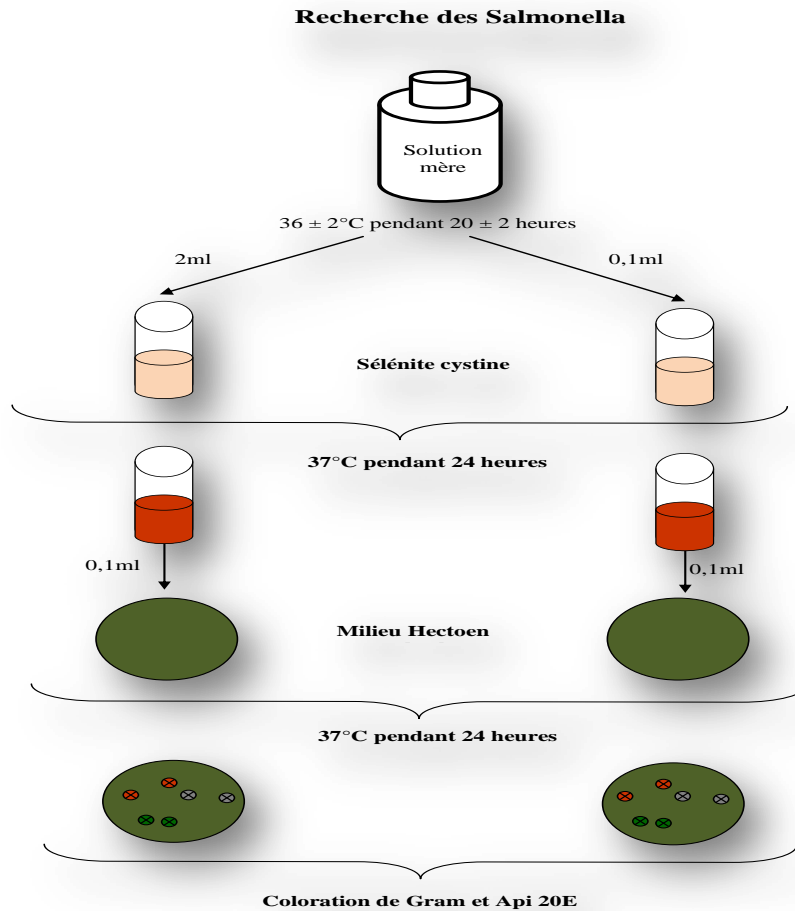


Schéma 3.5 : Technique de dénombrement des salmonelles.

- **Identification Biochimique**

Une colonie de la gélose Hecktoen est ensemencée sur la galerie API 20 E. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la galerie est lue.

Recherche et dénombrement de la levure et des moisissures (NF V08-010-Mars 1996)

- **Le milieu**

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

- **Mode opératoire**

On ensemence 0,1 ml des dilutions ($10^{-1}/10^{-2}/10^{-3}$) dans des boîtes de pétrie dans lesquelles on a coulé le milieu Sabouraud. Ensuite, les boîtes sont incubées à 25°C pendant 3 à 5 jours.

- **Lecture**

Les colonies caractéristiques apparaissent blanchâtres.

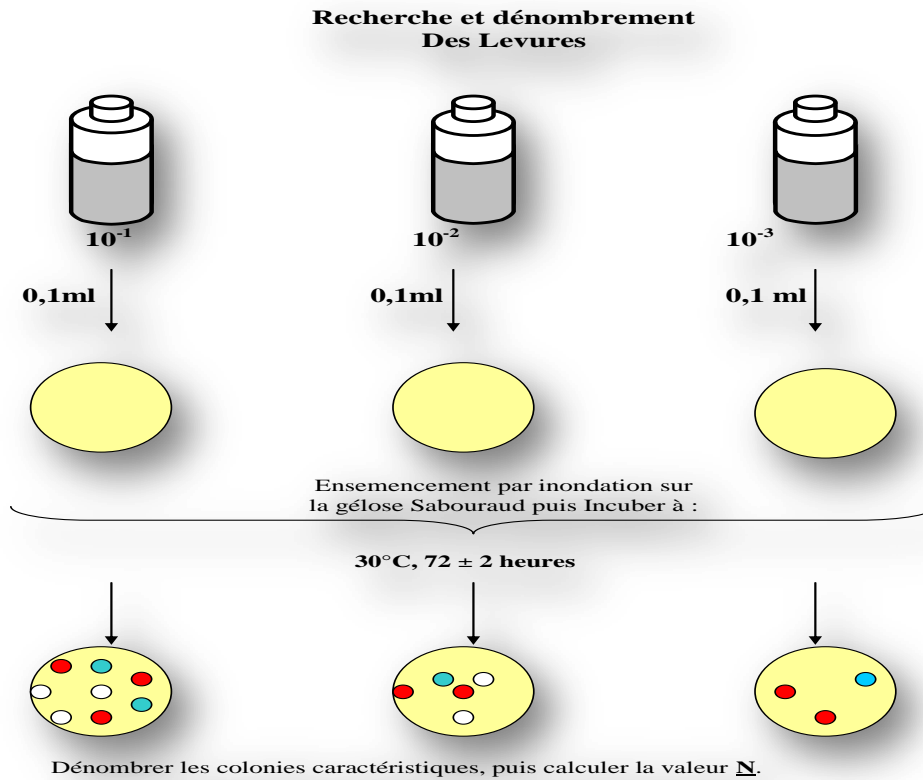


Schéma 3.6 : Technique de dénombrement des levures.

Dénombrement des anaérobies sulfito – réducteurs (NF V08 - 010 - Mars 1996)

▪ Le milieu

L'étude du type respiratoire d'une bactérie (c'est à dire ses rapports avec l'O₂) nécessite un milieu de culture riche contenant un gradient de pression partielle en di-oxygène.

Le principal milieu utilisé à cette fin est la gélose viande-foie (gélose VF).

▪ Mode opératoire

Un volume de 0,1ml des dilutions 10⁻¹ et 10⁻² est ensemencé dans des tubes contenant 10 ml du milieu sélectif FV. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C. Après 24 heures d'incubation, les colonies caractéristiques sont dénombrées.

▪ Lecture

Dénombrement des colonies noires.

Recherche et dénombrement des Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices

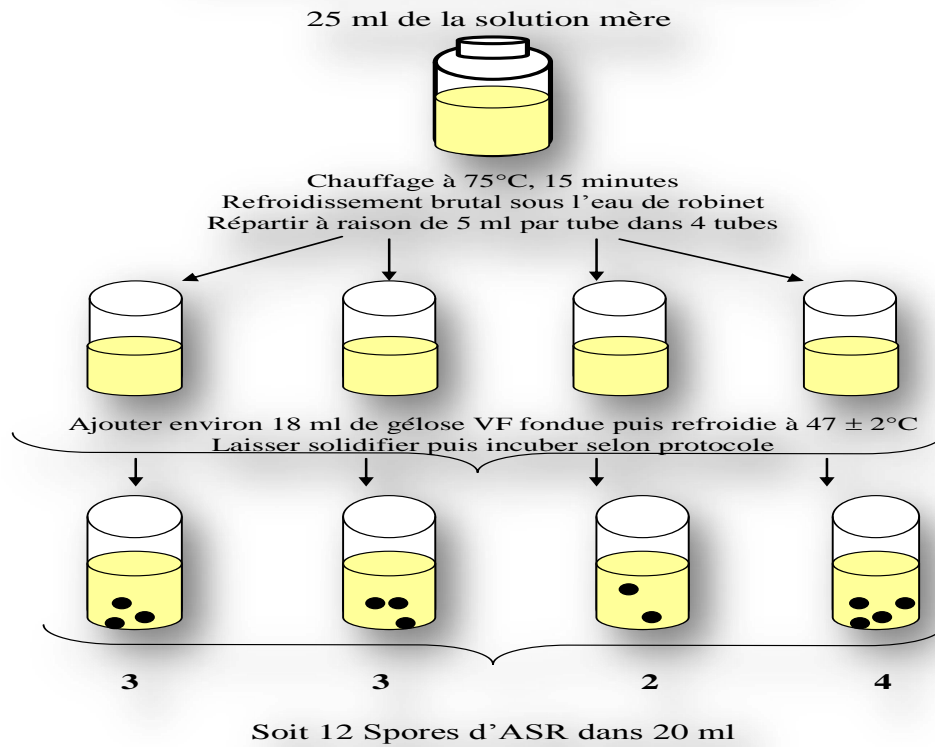


Schéma 3.7 : Technique de dénombrement des anaérobies sulfito-réductrices.

Dénombrement des anaérobies pseudomonas (NF V08 - 010 - Mars 1996)

- **Milieu**

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des Pseudomonas et notamment de *P.aeruginosa*

- **Méthode de travail**

Un volume de 0,1ml de solution mère de trois échantillons est ensemencé dans des boîtes contenant du milieu sélectif cétrimide. Ces boîtes sont ensuite incubées à 37°C. Après 24 heures d'incubation, les colonies caractéristiques sont dénombrées

- **Lecture**

Dénombrement des colonies blanchâtre

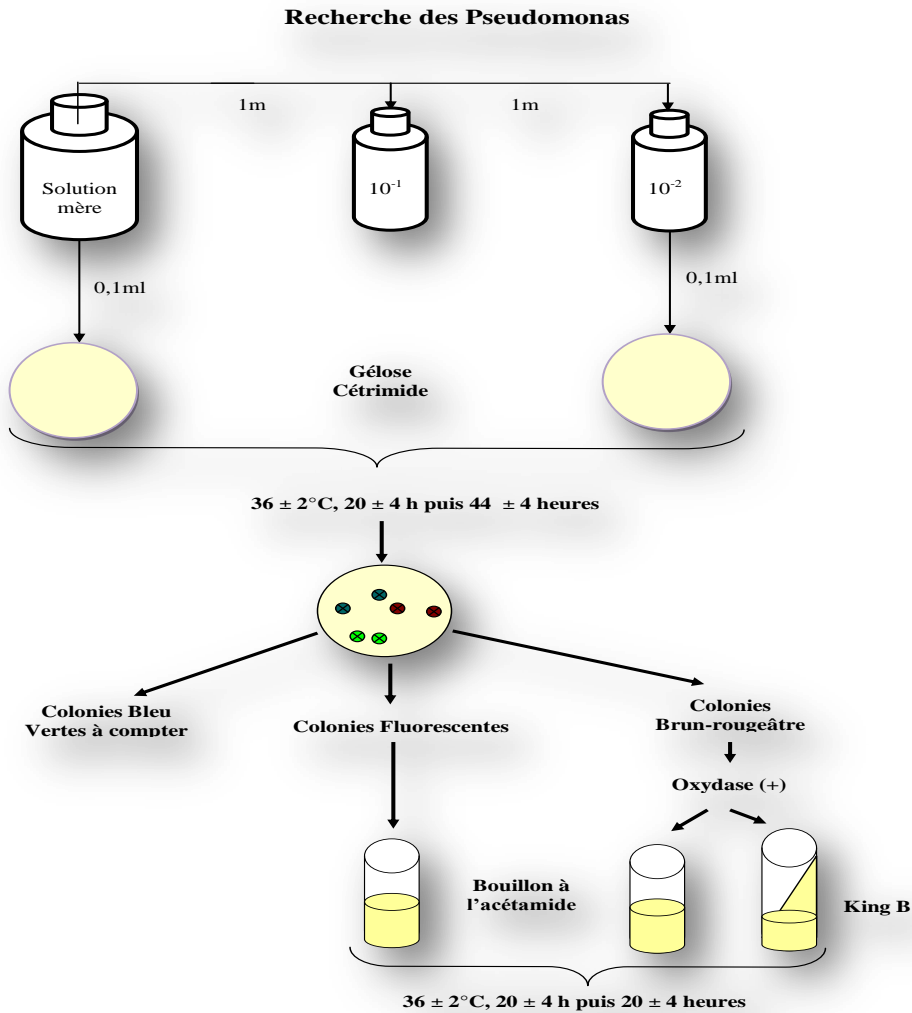


Schéma 3.8 : Technique de dénombrement des pseudomonas

3.5. Identification biochimique

Une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification des micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques.

- **API 20 E**

Objet du test

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

Principe

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (Fig. 3.7).

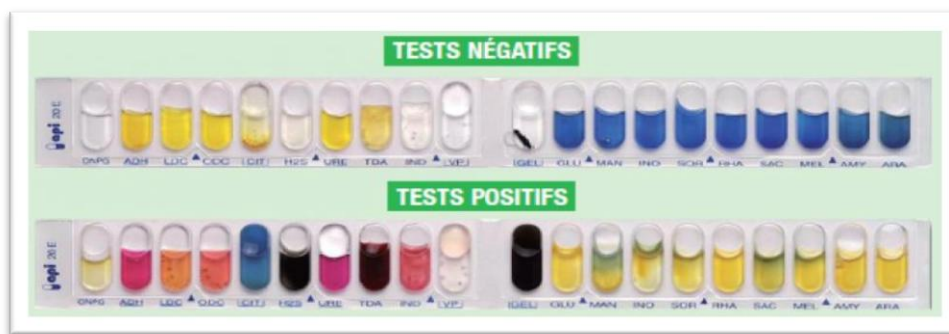


Figure 3.7 : api 20 E (test positif et négatif).

- **API 20 C AUX**

Objet du test

API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées. La liste complète des espèces qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le tableau d'identification en fin de notice.

Principe

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (Fig.3.8).



Figure 3.8 : api C AUX (test positif et négatif)

- **API 20 Strep**

Objet du test

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le tableau d'identification en fin de notice.

Principe

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.



Figure 3.9 : api strept (test positif et négatif).

- **API Saph**

Objet du test

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le tableau d'identification en fin de notice.

Principe

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (Fig.3.10) .

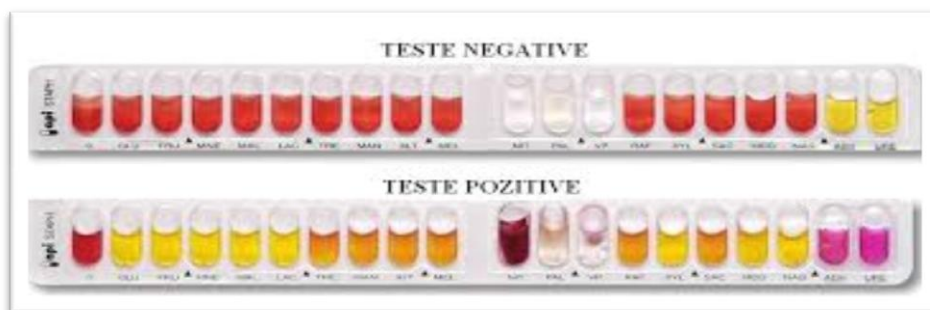


Figure 3.10 : API Staph (test positif et négatif).

CHAPITRE IV RESULTAT ET DISCUSSION

4.1. Recherche et dénombrement

Les résultats des dénombrements des germes totaux (GT), coliformes fécaux (CF), streptocoques fécaux (SF) et les staphylocoques (ST) sont représentés graphiquement dans les figures (4.1-4.4) et pour les résultats des bactéries ASR, Salmonelle et *Pseudomonas* sont représentés dans les tableaux (7.9.10).

4.1.1. Recherche et dénombrement de flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Les valeurs de dénombrement des FMAT sont représentées dans la figure ci-dessous. *Pangasiushypophthalmus* est le poisson le plus chargé en flore, leur valeur maximale ($2,5 \cdot 10^5$ germes/g) a été enregistrée durant le mois de février. Pendant, le mois de mars l'espèce *Merluccius gayi* registre le taux le plus élevé avec une valeur maximale de $3,1 \cdot 10^5$ germes/g.

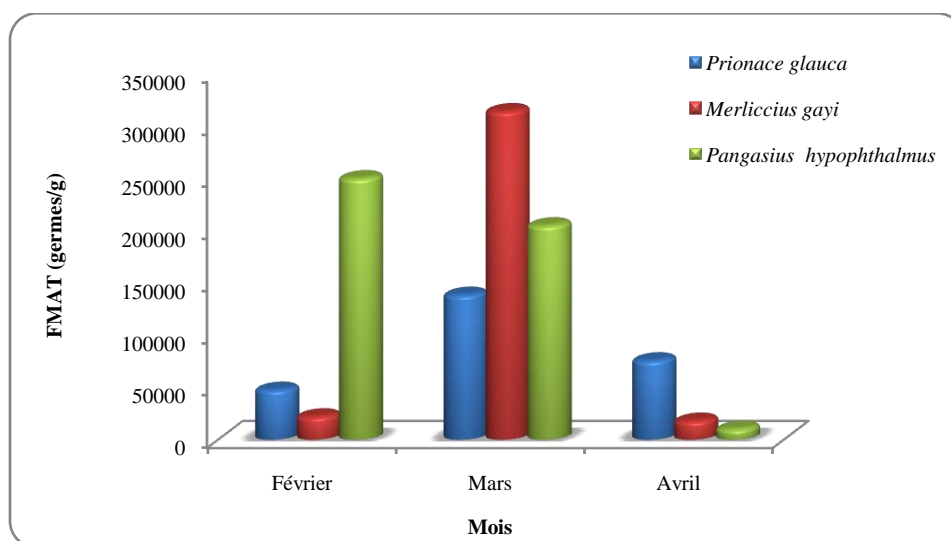


Figure 4.1 : Répartition des FMAT aux niveaux des trois espèces étudiées.

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que ces poissons congelés sont contaminés par la flore mésophile totale avec une moyenne de $8,7 \cdot 10^4$ germes/g de l'espèce *Prionace glauca*, $1,2 \cdot 10^5$ germes/g de l'espèce *Merluccius gayi* et $1,5 \cdot 10^5$ germes/g de l'espèce *Pangasiushypophthalmus* (Tab 5).

Tableau 4.1: Niveau de contamination des produits par les FMAT.

Produits	Moyenne	Niveau de contamination	Qualité
<i>Prionaceglauca</i>	8,7*10 ⁴ germes/g	Absence	Bonne Qualité
		F<3*10 ⁴	QMS
		3*10 ⁴ <F<10 ⁵	QMA
		F>10 ⁵	QMNS
<i>Merlicciusgayi</i>	1,2*10 ⁵ germes/g	Absence	Bonne Qualité
		F<3*10 ⁴	QMS
		3*10 ⁴ <F<10 ⁵	QMA
		F>10 ⁵	QMNS
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	1,5 *10 ⁵ germes /g	Absence	Bonne Qualité
		F<3*10 ⁴	QMS
		3*10 ⁴ <F<10 ⁵	QMA
		F>10 ⁵	QMNS

4.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Les résultats obtenus montrent que la valeur maximale des coliformes fécaux a été enregistré au niveau de *Pangasiushypophthalmus* ($6 \cdot 10^3$ UFC/g) pendant le mois de Février (Fig 4.2). Par contre, *Prionaceglauca* représente l'espèce la moins chargée à une valeur de $8,2 \cdot 10^2$ UFC/g pendant le mois de Mars (Fig 4.2).

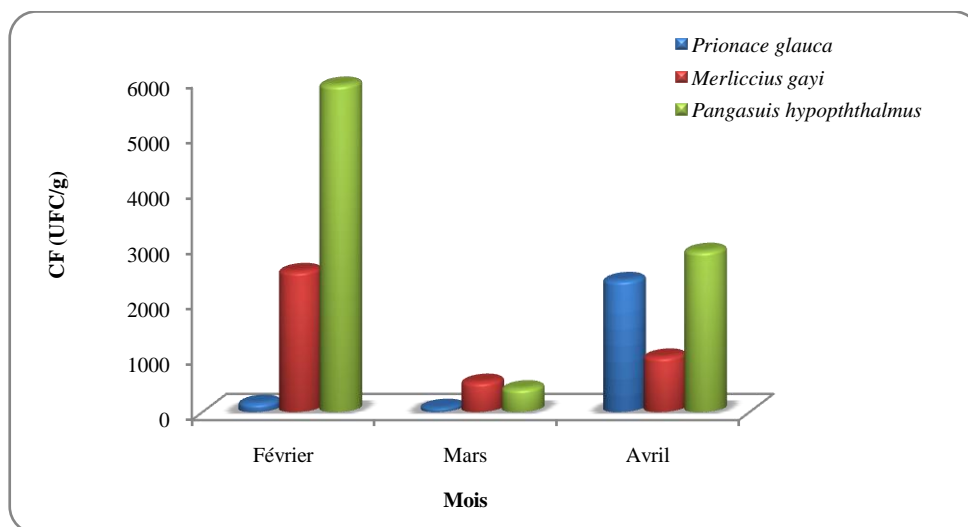


Figure 4.2 : Répartition des Coliformes Fécaux aux niveaux des trois espèces étudiées.

La moyenne de contamination des produits par les CT varie de $8,7 \cdot 10^2$ UCF/g pour l'espèce *Prionaceglauca*, de $1,3 \cdot 10^3$ UFC/g pour l'espèce *Merliccius gayi* et de $3 \cdot 10^3$ UCF/g pour l'espèce *Pangasiushypophthalmus* (Tab 6).

Tableau 4.2: Niveau de contamination par les coliformes thermotolérants (*Qualité Microbologique Satisfaisante (QMS)*, *Qualité Microbologique Acceptable (QMA)*, *Qualité Microbologique Non Satisfaisante (QMNS)*).

Produits	Moyenne	Niveau de contamination	Qualité
<i>Prionaceglauca</i>	$8,7 \cdot 10^2$ UCF/g	Absence	Bonne Qualité
		$F < 30$	QMS
		$30 < F < 10^2$	QMA
		$F > 10^2$	QMNS
<i>Merlicciusgayi</i>	$1,3 \cdot 10^3$ UFC/g	Absence	Bonne Qualité
		$F < 30$	QMS
		$30 < F < 10^2$	QMA
		$F > 10^2$	QMNS
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	$3 \cdot 10^3$ UCF/g	Absence	Bonne Qualité
		$F < 30$	QMS
		$30 < F < 10^2$	QMA
		$F > 10^2$	QMNS

- Après confirmation (par l'ajout de kovacs aux tubes contenant les coliformes fécaux), les résultats de la présence des coliformes fécaux pour les trois échantillons ont été positifs au niveau tous les tubes indiquant la présence des CF : Présence d'anneau rouge (Fig.4.3).

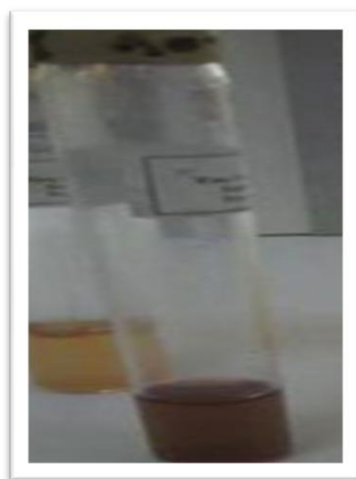


Figure 4.3 : Test indole positif sur eau peptonée exemple d'indole confirme la présence des coliformes fécaux.

4.1.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques Fécaux

A partir des résultats de dénombrement des streptocoques fécaux au niveau des trois poissons, nous pouvons dire que le poisson *Merlucciusgayi* est le plus

contaminé par ce groupe bactérien avec une valeur maximale de $4 \cdot 10^3$ UFC/g, pendant le mois de février. La valeur minimale a été enregistrée au niveau du poisson *Prionace glauca* ($4,3 \cdot 10^2$ UFC/g) durant le mois de Février (Fig. 4.4). En fait, ces résultats sont dépassés la valeur guide « 10^2 UFC/g » (Huss, 1988).

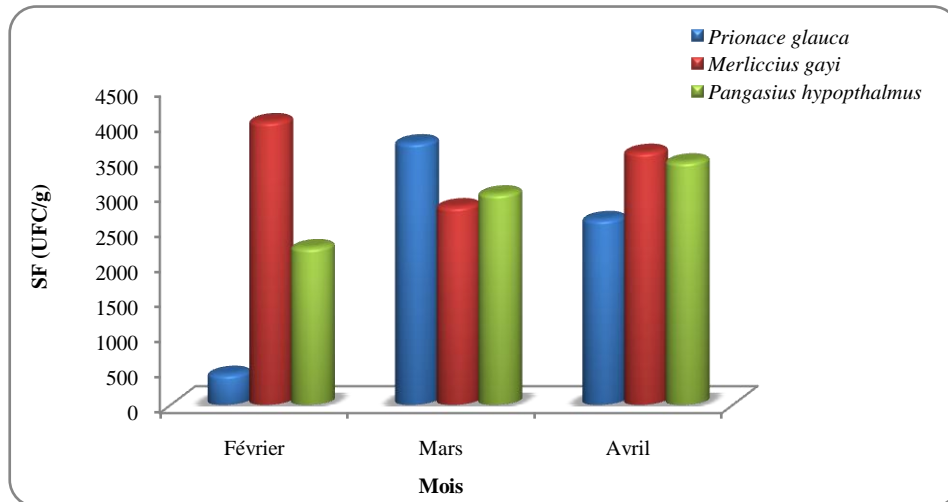


Figure 4.4: Répartition des Streptocoques Fécaux aux niveaux les trois espèces étudiées.

- Les résultats de test confirmatif de la présence des streptocoques fécaux sont représentés par la figure n°4.4.



Figure 4.5 : confirmation de la présence des streptocoques fécaux par l'apparition d'un trouble dans le milieu Eva-Litsky.

4.1.4. Recherche et dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Les résultats de dénombrement des Anaérobies sulfito-réducteurs à partir des trois espèces sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4.3 : Résultats de dénombrement des ASR au niveau les trois espèces.

Espèce	Février	Mars	Avril
<i>Prionaceglauca</i>	00	00	00
<i>Merlucciusgayj</i>	00	00	00
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	00	00	00

L'absence des ASR indiquera que l'échantillon est de qualité microbiologique satisfaisante (QMS). Ces germes sont considérés comme « germes test » pour l'appréciation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires d'origine animal.

4.1.5. Recherche et dénombrement des Staphylocoques

Les résultats de dénombrement des Staphylocoques sont consignés dans la (Fig. 4.6) ci-après :

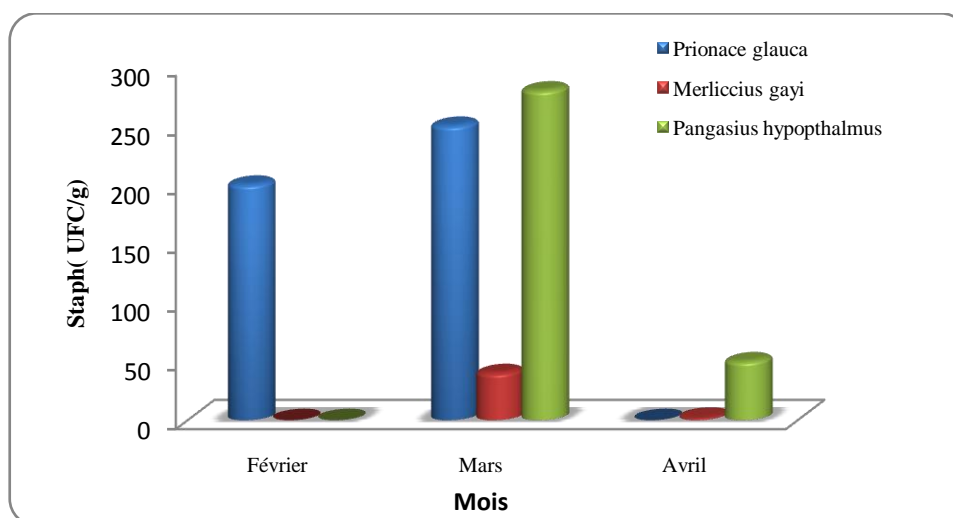


Figure 4.6 : Répartition des Staphylocoques aux niveaux des trois espèces étudiées.

Nos résultats de dénombrement montrent la présence des staphylocoques chez l'espèce *Prionaceglauca* avec un teneur de $1,9 \cdot 10^2$ UFC/g, et leur absence total chez les deux autres espèces (*merlucciusgayi* et *Pangasiushypophthalmus*) durant le mois de Février. Par contre, pendant le mois de Mars ils montrent une charge bactérienne très importante chez les trois espèces (*Prionaceglauca*, *merlucciusgayi* et *Pangasiushypophthalmus*) avec les concentrations ($2,5 \cdot 10^2$ UFC/g, $0,4 \cdot 10^2$ UFC/g et $2,8 \cdot 10^2$ UFC/g respectivement). En fait, durant le mois d'Avril les résultats montrent l'absence des staphylocoques au niveau de poisson *Prionaceglauca* et leur présence au niveau les deux espèces *Merlucciusgayi* et *Pangasiushypophthalmus* ($0,02 \cdot 10^2$ UFC/g et $0,5 \cdot 10^2$ UFC/g) (Fig.4.6).

Egalement, la moyenne de contamination des produits par les Staphylocoques est représentée dans le tableau ci-dessous. A partir de ce tableau, on observe que la moyenne est de $1,4 \cdot 10^2$ UCF/g pour l'espèce *Prionaceglauca*, de $0,1 \cdot 10^2$ UFC/g pour l'espèce *Merliccius gayi* et de $1,1 \cdot 10^2$ UCF/g pour l'espèce *Pangasiushypophthalmus*.

Tableau 4.4 : Niveau de contamination par les Staphylocoques (Qualité Microbiologique Non Satisfaisante (QMNS)).

Produits	Moyenne	Niveau de contamination	Qualité
<i>Prionaceglauca</i>	$1,4 \cdot 10^2$ UCF/g	Absence	Bonne Qualité
		$F > 10^2$	QMNS
<i>Merlicciusgayi</i>	$0,1 \cdot 10^2$ UFC/g	Absence	Bonne Qualité
		$F > 10^2$	QMNS
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	$1,1 \cdot 10^2$ UCF/g	Absence	Bonne Qualité
		$F > 10^2$	QMNS

La présence des Staphylocoques indiquera que l'échantillon est de Qualité microbiologique non satisfaisante (QMNS).

4.1.6. Recherche des Pseudomonas

Le tableau ci-dessous représente les résultats de dénombrement des Pseudomonas au niveau des trois espèces étudiées :

Tableau 4.5: Résultats de recherche des Pseudomonas.

Espèce	Février	Mars	Avril
<i>Prionaceglauca</i>	-	-	-
<i>Merlucciusgayj</i>	-	-	-
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	-	-	-

Pour les Pseudomonas, les résultats négatifs (absence des Pseudomonas dans toutes les espèces durant toute la période de notre étude) indiquera que l'échantillon est de Qualité microbiologique satisfaisante (QMS).

4.1.7. Recherche des Salmonelles

Les résultats de recherche des salmonelles sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 4.6 : Résultats de recherche des Salmonelles.

Espèce	Février	Mars	Avril
<i>Prionaceglauca</i>	+	+	+
<i>Merlicciusgayi</i>	+	+	+
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	+	+	+

Les résultats obtenus montrent que les trois espèces (*Prionaceglauca*, *Merlucciusgayi* et *Pangasiushypophthalmus*) sont contaminées par les Salmonelles durant la période d'étude (Février, Mars, Avril). La présence des Salmonelles indiquera que l'échantillon est de qualité microbiologique non satisfaisante (QMNS) (Tab11).

Tableau 4.7: Niveau de contamination par les Salmonelles (Qualité Microbiologique Non Satisfaisante (QMNS)).

Produits	Moyenne	Niveau de contamination	Qualité
<i>Prionaceglauca</i>	+	Absence/25g	QMNS
<i>Merlicciusgayi</i>	+		
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	+		

4.1.8. Recherche et dénombrement des levures

Les résultats de dénombrement des levures au niveau des trois espèces étudiées durant les trois mois (Février, Mars, avril) sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 4.8 : Résultats de recherche des levures.

Espèce	Février	Mars	Avril
<i>Prionaceglauca</i>	+	+	-
<i>Merlicciusgayi</i>	+	+	-
<i>Pangasiushypophthalmus</i>	+	-	-

A partir des résultats de dénombrement des levures, nous pouvons dire que les trois espèces : *Prionaceglauca*, *Merlucciusgayj* et *Pangasiushypophthalmus* sont contaminées par les levures pendant le mois Février. Durant le mois de Mars, seulement les deux espèces *Prionaceglauca*, *Merlucciusgayi* sont contaminées. Par contre, pendant le mois d'Avril ils montrent une absence totale des levures au niveau des trois espèces.

4.2. Identification des micro-organismes

4.2.1. Identification des souches bactériennes

4.2.1.1. Identification Macroscopique et Microscopique

Lorsque nous ensemençons une bactérie sur une gélose, elle n'est pas visible. Toutefois, elle se divise à un rythme assez important pour former une colonie, qu'est visible à l'œil nu. Chacune de ces colonies est formée par de millions de bactéries identiques et chaque colonie possède des caractéristiques propres à l'espèce bactérienne. Voici les critères qui permettent de caractériser une colonie (Tab 13) et (Fig.4.7-4.8).

Toutefois, plusieurs espèces bactériennes font des colonies qui se ressemblent. C'est pourquoi il faut faire une observation microscopique.

Tableau 4.9 : Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes.

Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies	Milieu de culture
Circulaire, ondulés, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre.	Bacilles isolés, Gram négatif	Gélose Mac Conkey
* Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre * Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche	Cocci groupés en amas, en paires, Gram positif.	Milieu Chapman
* Colonies jaune, petites arondes, lisses, régulier	Monocoque, diplocoque, amas, chaînettes, gram positif	Gélose Columbia
* Vertes ou bleuâtres, circulaire, ondulés, bossue, rigoureuse, transparente légèrement blanchâtre. * jaune saumon, bombée, lisse, 1 mm de diamètre	Bacilles isolés, Gram négatif	Milieu Hektoen

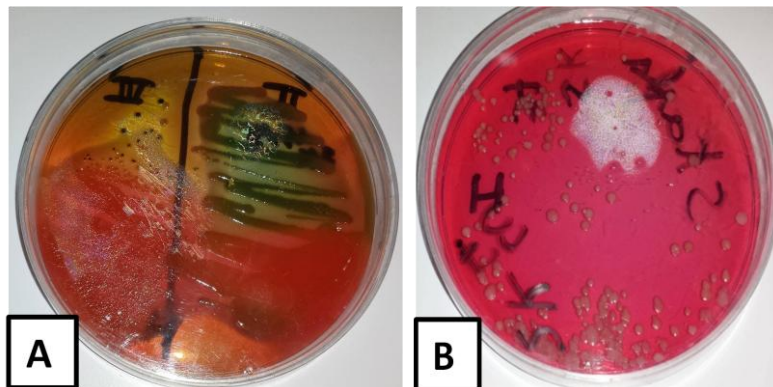


Figure 4.7: Aspect macroscopique des Salmonelles (A) et staphylocoques (B) sur les deux milieux milieu Hektoen et milieu chapman.

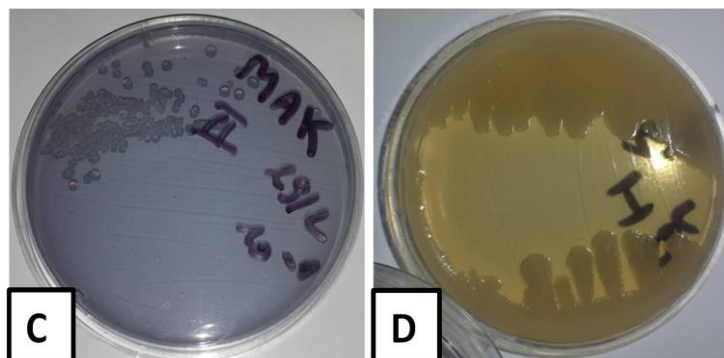


Figure 4.8 : Aspect macroscopique des Coliformes Fécaux (C) et Streptocoques (D) sur les deux milieux milieu colombia et milieuMac Conkey .

4.2.1.2. Identification biochimique

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 7 espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, 3 espèces bactériennes appartenant à la famille des Streptococcaceae et 6 espèces bactériennes appartenant à la famille des Staphylococcaceae. Les résultats sont représentés dans le tableau (14) et les figures (4.9- 4.20).

Tableau 4.10: Résultats de l'identification biochimique par les galeries : Api 20 E, Api20 Staph et Api20 Strep.

Echantillons	API	Espèces bactériennes identifiées
I	Api 20 E	<i>Klebsiellaornithinolytica.</i>
II	Api 20 E	<i>Salmonella arizonae/ Serratiaodorifera</i> <i>Lecterciaadecarboxylata/ Escherichia coli I.</i>
III	Api 20 E	<i>Enterobactersakazakii.Citrobacterbraakii.</i>
I	Api 20 Staph	<i>Staphylococcus xybsus/ Staphylococcus hominis.</i>
II	Api 20 Staph	<i>Staphylococcusciuri /Staphylococcuscopitis.</i>
III	Api 20 Staph	<i>Staphylococcusanticularis /Staphylococcuslestus.</i>

I	Api20Strep	<i>Aerococcusviridans 2.</i>
II	Api20Strep	<i>Gemellamorbilorum /Aerococcusviridans 1.</i>
III	Api20Strep	<i>Gemellamorbilorum.</i>

• **Api 20 E**

Nous avons isolé et identifié 7 espèces au niveau des trois échantillons. Les résultats sont représentés dans les figures (4.9-4.13) :



Figure 4.9 : Profil biochimique de la souche *EnterobacterSakazakii.*



Figure 4.10 : Profil biochimique de la souche *Serratiaodorifira 1.*



Figure 4.11 : Profil biochimique de la souche *Klebsiellaornithinolytica.*



Figure 4.12 : Profil biochimique de la souche *Salmonella arizonae.*



Figure 4.13 : Profil biochimique de la souche *Escherichia coli 1*.

- **Api20 Staph**

Nous avons isolé et identifié 6 espèces au niveau des trois échantillons. Les résultats sont représentés dans les figures (4.14-4.17):

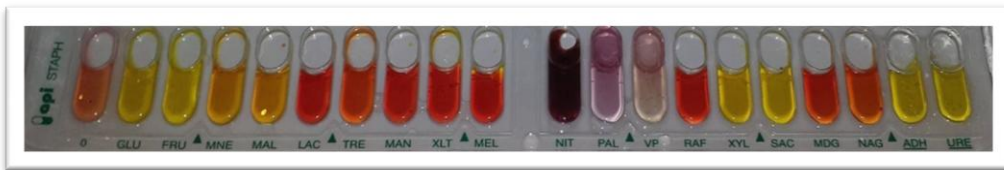


Figure 4.14 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus antillarum*.

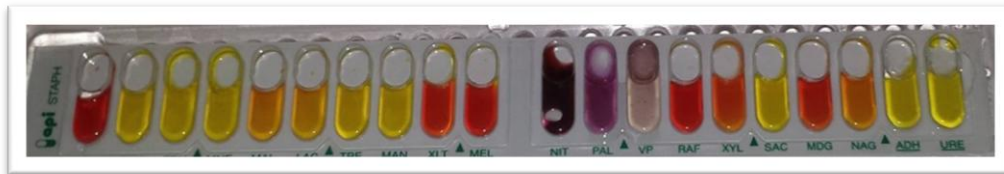


Figure 4.15 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus sciuri*.



Figure 4.16 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus hominis*.



Figure 4.17 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus xybois*.

- **Profil biochimique pour Staphylocoques:**

- **Test catalase :**

Les résultats montrent un catalase positif, sont consignés dans la Figure ci-dessous :



Figure 4.18 :Catalase positif.

- **Teste oxydase :**

Nos résultats représentent l'apparition d'une couleur violacé sont présentés dans la figure ci-après :



Figure 4.19:oxydase positif.

- **Api20 Strep**

Nous avons isolé et identifié 3 espèces au niveau des trois échantillons. Les résultats sont représentés dans les figures(4.20-4.22):



Figure 4.20 :Profil biochimique de la souche *Gemellamorbillorum*.



Figure 4.21: Profil biochimique de la souche *Aerococcus viridans* 2.



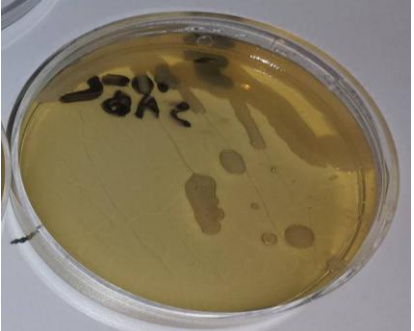
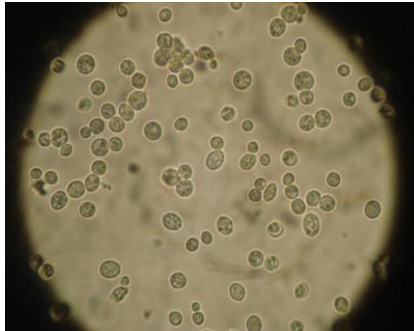
Figure 4.22 : Profil biochimique de la souche *Aerococcus viridans* 1.

4.2.2. Identification des levures

4.2.2.1. Caractères macroscopiques et microscopique

L'identification des levures isolées a été faite sur la base de l'aspect macroscopique et microscopique des colonies. Cette identification reste approximative, vu la nécessité d'un examen biochimique (Apti 20 C AUX). Les caractères macroscopiques et microscopiques des espèces isolées sont résumés dans le tableau (15).

Tableau 4.11 : Caractères Macroscopiques et Microscopiques des levures.

Observation macroscopique	Observation microscopique	Milieu de culture
Colonies blanchâtres, petites et grandes, lisses, bombées et régéreuses	Présence de levures avec Bourgeons	Sabouraud
		

4.2.2.2. Identification biochimique

Nous avons isolé et identifié 2 espèces au niveau des trois échantillons. Les résultats sont représentés dans le tableau (16) les figures (4.23, 4.24) :

Tableau 4.12 :Résultats de l'identification biochimique par les galeries : Api C AUX

Echantillons	API	Espèces bactériennes identifiées
I	Api C AUX	<i>Rhodotorula minuta</i>
III	Api C AUX	<i>Cryptococcuslaurentii</i>



Figure 4.23 : Profil biochimique de la souche *Cryptococcuslaurentii*.



Figure 4.24 : Profil biochimique de la souche *Rhodotorula minuta*.

4.3. Discussion

Dans ce travail nous avons évalué la charge microbiologique de trois espèces de poissons sous forme congelée (*Prionaceglauca*, *Merlucciusgayi* et *Pangasiushypophthalmus*) ; par la recherche de la flore mésophile aérobie totale, les coliformes thermo-tolérants, les Staphylocoques, les Streptocoques Fécaux, des Anaérobies sulfito-réducteurs, des Pseudomonas, des Salmonelles et des levures.

Ces analyses ont été effectuées au niveau des filets, pendant une période d'étude de trois mois (Février, Mars et Avril). Dans l'ensemble, les résultats obtenus montrent une contamination remarquable par les différents germes dénombrés avec des degrés plus au moins importants.

La flore mésophile aérobie totale assimilée (FMAT) dans un produit alimentaire reflète la qualité microbiologique générale du produit et permet d'en suivre son évolution. La flore totale peut donner une indication sur l'état de décomposition du produit et constitue de ce fait un indice de la qualité sanitaire (ANIHOVI *et al.* 2009). Selon (DJINO, 2001), les FMAT sont des germes « test d'hygiène » du fait qu'ils rendent compte de l'hygiène générale ou d'une conservation inefficace.

En effet, la forte contamination des Coliformes thermo-tolérants observée au niveau des poissons pourrait s'expliquer par le manque de la bonne pratique d'hygiène observée souvent à la halle des marées et, d'autre part, par la rupture de la chaîne de froid. La forte contamination de ces échantillons par les Coliformes thermo-tolérants peut constituer un problème de santé publique dans la mesure où ces germes peuvent être des bactéries de report de contamination (HUSS, 1995) qui peuvent se révéler parfois très pathogènes, et qui peuvent résister dans les poissons. Une autre raison du risque sanitaire lié aux Coliformes thermo-tolérants est la production de l'histamine, une amine biogène résistante à la chaleur et toxique pour l'homme (SITTI, 2001). Selon (BORNERT, 2000), les Coliformes thermo-tolérants constituent des germes de contamination fécale et sont donc des indicateurs des mauvaises conditions d'hygiène lors de la manipulation des poissons.

La présence des Staphylocoques pathogènes dans les trois échantillons analysés pendant des période d'étude différentes ; s'expliquerait par le fait que ces

poissons sont probablement trop manipulés à bord des navires par des ouvriers du fait qu'il s'agit des denrées congelées dans la calle ou mises sous glace dans des caisses isothermes. On peut déduire que la glace utilisée pour la conservation de ces poissons à bord des navires peut être contaminée par ces germes. Egalement, selon l'étude de (BORNERT, 2000), les *Staphylococcus aureus* sont des germes ubiquistes largement répandus dans la nature ; mais la principale source de contamination est l'homme qui héberge les germes au niveau de la peau, des cheveux et de la bouche.

Aujourd'hui, les streptocoques fécaux n'indiquent pas seulement une contamination fécale mais aussi l'absence d'hygiène pendant la manutention et le traitement (Huss, 1988) et au cours de la fabrication des produits alimentaires congelés. En effet, ils font partie de la flore normale de nombreux produits alimentaires et produits de la pêche et ils peuvent très bien s'établir et persister dans les ateliers d'une usine de produits alimentaires. La plupart sont halotolérants et peuvent se multiplier à 45°C ainsi que dans les basses températures (Huss, 1988).

En fait, les Salmonelles sont des germes communs à toutes les espèces animales et qui se retrouvent au niveau de l'environnement pollué. La présence de ces bactéries dans nos poissons dénote d'un manque d'hygiène au cours de la chaîne de transport (ABOTCHI, 2010).

D'après les résultats des levures obtenus, sa présence en grand nombre dans nos poissons indique une altération de ces produits. Son existence n'a pas une grande incidence sur la santé du consommateur par contre elle entraîne des pertes économiques importantes à cause de l'altération des poissons (ABOTCHI, 2010). En revanche, il existe certaines espèces résistantes à la chaleur, à la congélation et aux antibiotiques.

Conclusion et perspectives

Notre travail porte sur l'étude de la qualité microbiologique de trois espèces de poisson importés sous forme congelée et destinés à la consommation locale. Dans l'ensemble, les résultats obtenus nous ont permis de montrer une contamination plus au moins importante :

- Les trois poissons étudiés ont montré la présence des germes indicateurs d'une contamination d'origines fécales (Présence des coliformes fécaux, streptocoques fécaux, les anaérobies sulfite-réducteur) durant la période d'étude du mois de Février jusqu'au mois Avril.
- Egalement, une contamination pathogène par les Staphylocoques et les salmonelles a été enregistrée dans les trois espèces étudiées durant toute la période d'étude (Février, Mars, Avril).
- En outre, une contamination par les levures a été signalée chez les trois produits analysés, durant Février et Mars, avec une absence totale au mois d'Avril.

En fait, ce travail mérite d'être poursuivi afin d'ouvrir les portes sur ce plan de recherche, pour une amélioration plus efficace de la santé publique. Pour cela, nous avons noté les recommandations et perspectives suivantes:

- ✓ De prolonger la période d'étude pour mieux suivre l'évolution de la qualité des produits de la pêche destinés à la consommation publique.
- ✓ D'utiliser d'autres espèces marines existantes dans notre pays, pour bien contrôler la qualité de ces produits avant de les destiner à la consommation.
- ✓ De réaliser une étude pour comparer les espèces prévenantes de l'agriculture avec celles issues de la mer, ainsi des produits congelés avec ceux frais.

Enfin, pour assurer une sécurité des produits de la pêche, des règles d'importation doivent être suivies en ce qui concerne l'hygiène pendant la manutention et le traitement, pour éviter toute perte économique à cause de l'altération de ces produits, et même de prévenir la santé du consommateur.

Résumé

Les poissons présentent une source importante des protéines animales, et leur consommation mondiale a été augmentée. Afin d'évaluer la qualité microbiologique des produits de la pêche congelé issus de l'importation, une étude a été faite sur trois espèces les plus consommés dans la région de Guelma (*Prionace glauca*, *Merluccius gayi* et *Pangasius hypophthalmus*) durant une période de trois mois (Février, Mars et Avril. 2016).

L'analyse microbiologique des trois échantillons étudiés nous a permis de mettre en évidence une contamination graduelle suivant une évolution mensuelle. Une contamination d'origines fécales (Présence des coliformes fécaux, streptocoques fécaux et des anaérobies sulfite-réducteur) a été notée durant les trois mois d'étude, dépassant les valeurs des normes acceptées. Concernant la contamination par les germes pathogènes (Staphylocoques et Salmonelles), les résultats obtenus ont montré une contamination intense pendant toute la période d'étude, ce qui constitue un risque réel pour la santé publique. En outre les trois poissons analysés ont présenté une contamination par les levures durant les deux mois Février et Mars.

Dans l'ensemble, cette étude a permis de confirmer que la qualité microbiologique des trois espèces est non satisfaisante, et représente un risque sanitaire pour les consommateurs de ces produits.

Mot Clé : Poisson congelé, Contamination, *Prionace glauca*, *Merluccius gayi*, *Pangasius hypophthalmus* et Guelma.

ملخص

تعتبر الأسماك مصدرا قيما للبروتينات الحيوانية و يعرف استهلاكها العالمي ارتفاعا كبيرا. من اجل تقييم الجودة الميكروبيولوجية للمنتجات السمكية المستوردة و المجمدة، ركزنا على دراسة ثلاث عينات الأكثر استهلاكها في منطقة قالمة (*Pangasius hypophthalmus* و *Merluccius gayi* *Prionace glauca*) في مدة ثلاث اشهر (فيفري مارس و افريل 2016).

التحليل الميكروبيولوجي للعينات الثلاث يظهر وجود تلوث قوي يتغير من شهر إلى آخر. نلاحظ وجود تلوث دو مصدر برازي بالنسبة للعينات الثلاث (وجود *streptocoques* ، *coliformes fécaux* و *fécaux* و *des anaérobies sulfito-réducteur*) خلال الأشهر الثلاثة و الذي تجاوز المعايير الطبيعية . و فيما يخص الملوثات الممرضة (*Staphylocoques* و *Salmonelles*) النتائج المتحصل عليها أظهرت تلوث كبير خلال كل فترة الدراسة . بالإضافة إلى ذلك لوحظ وجود تلوث بالخمائر عند أنواع الأسماك الثلاثة خلال شهري فيفري و مارس .

هذه الدراسة سمحت بالتحقق من أن الجودة الميكروبيولوجية للعينات الثلاث المدروسة غير مقبولة وملوثة وبالتالي تشكل خطر على الصحة العامة للمستهلك .

الكلمات المفتاحية : اسماك مج مدة ، تلوث، *Pangasius* ، *Prionace glauca* ، *Merluccius gayi* و *hypophthalmus* و قالمة

Abstract

The fish are an important source of animal protein, and their global consumption has really increased in the last years. To evaluate the microbiological quality of frozen fishery products from imports, a study was done on the three most consumed species in the region of Guelma (*Prionace glauca*, *Merluccius gayi* and *Pangasius hypophthalmus*) for a period of three months (February, March and April 2016).

Microbiological analysis of the three samples studied allowed us to highlight a gradual contamination following monthly changes. Contamination of fecal origin (presence of faecal coliforms, faecal streptococci and sulphite-reducing anaerobes) was recorded during the three months of study, exceeding the values of accepted standards. Regarding contamination pathogens (*Salmonella* and *Staphylococcus*), the results showed an intense contamination throughout the study period, which constitutes a real risk to public health. In addition to the three fish analyzed, yeasts during the two months February and March.

Overall, this study confirmed that the microbiological quality of the three species is unsatisfactory and represents a health risk for consumers of these products.

Keyword: Frozen fish, Contamination, *Prionace glauca*, *Merluccius gayi*, *Pangasius hypophthalmus* and Guelma.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **ANIHOUVI V.B. (2009).**- Biochemical changes and aroma development during the spontaneous fermentation of cassava fish into lanhouin and their influence on product acceptability. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **18**: 370-384.
- **BERNADA C.M. et al. (1985).**- Aptitude à la conservation et contrôle microbiologique des filets de poissons réfrigérés, conditionnés sous pellicule plastique en atmosphère compressé. *R.T.V.A.*, (208):25_34.
- **BILLON J. (1976).** - Intérêt du froid dans la conservation du poisson et des crustacées : aspects microbiologiques. *Bul. Acad. Vétérinaire de France*. **49** :333-334
- **BLACKWOOD C.M. (1978).** - Microbiological quality of fishery products – role and environment, Canada. Fisheries Inspection Branch. *Can Inst Food Sci*
- **BORNERT G. (2000).**- Intérêt et limites des analyses microbiologiques des denrées dans une stratégie de maîtrise de la sécurité des aliments : cas de la restauration collective. *Bulletin Vét. France*, **153**: 433-442.
- **BOURGEOIS C.M. & LEVEAU J.Y. (1980).** - Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires.Vol 3 : le contrôle microbiologique. *Lavoisier, Technique et documentation, APRIA, Paris, 1980, 331 p.*
- **BRISOU J. (1955).** - Microbiologie en milieu marin Paris: éd. Flammarion, 1955, 272.
- **CHEFTEL.J.C et CEFTEL.H. (1980).** - Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Paris : Entreprise moderne d'édition, vol1, 418p.
- **COLINGNON.J.C. et al. (1984).** -Le poisson en filet et en tranches. *Sciences de la pêche*, 1984:340,341,342.
- **CROISIER.M. et CROISIE.Y. (2011).**- Hygiène et santé en élevage: Les populations. Edition Educagri, 2011.Paris.P111
- De quelques coquillages comestibles *Th. Méd. Vét., Toulouse : 1977, 111.*
- **Djinou HP. (2001).**- Etude de la qualité microbiologique du poisson fumé artisanalement en Côte d'Ivoire et destiné à l'exportation. Thèse : Méd. Vét : Dakar; 23.
- **GRAM L. & DALGAARD P. (2002).** - Fish spoilage bacteria problems and solution. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **13**: 262 – 266.

- **GUIRAUD J., GALZY P.(1980)** .- L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'Usine Nouvelle: *Paris, 1980, 240 p.*
- **HUSS H.H. (1995).** - Safety of Seafoods. FAO:Rome; 63p.
- **HUSS H.H., (1988).** - Le poisson frais: qualité et altération de la qualité Rome: *FAO, 1988, 130.*
- **HUSS.H.H (1996).**- Assurance de qualité des produits de la mer. organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Danemark.186 P.
- **LEROI F. (2002).** - La microbiologie du saumon fumé à froid : aspects hygiéniques et qualité. *Revue générale du froid (1028) : 35 – 40.*
- **MINOR T. E., MATH E. H. (1976).** - Staphylococci and their significance in Foods. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1976, 297.
- **NIYONZIM.M. (2009).**- Contribution à l'étude de l'évolution de la maîtrise de la sécurité sanitaire des produits de la pêche destinés à l'exportation au Sénégal.Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de dakar. 114P
- **REGIS K. (2005).** - Données économiques maritimes françaises. France. Edition Quae, 2006. 32_33.
- **RENAULT G. M. L.(1977).** - Contribution à l'étude de l'analyse bactériologique
- **ROZIER J. (1986).**- Qualité hygiénique des aliments. RTVA, 1986, 214, 7-12
- **ROZIER J., CARLIER F. & BOLNOT F. (1985).** - Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments.- Paris : éd. SEPAIC.-230p.
- **SEYDI Mg. (1982).**- Stratégie de santé en situation de développement. Point de vue du vétérinaire: contamination des D.A.O.A. - Incidence sanitaire et économique. *Médecine d'Afrique Noire, 1982 (6) : 307-409.*
- **SITTI AH. (2001).** - Contribution à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique des produits de la pêche de 1997-2000. Thèse : Méd. Vét : Dakar ; 17.
- **SYLVAIN.P.E.(2006).**- Evolution des caractéristiques organoleptiques, microbiologiques et chimiques des filets de soles langues tropicales frais exportes. Mémoire. Université cheikh anta diop de dakar.42P Technol J 1978; 1: A42-9.

LES REFERENCES SITES WEB

1. http://ville.montreal.qc.ca/pls/portal/docs/PAGE/ENVIRO_FR/MEDIA/DOCUMENTS/VDM_M-CR-5.4-022_COLIFORMES_FECAUX.PDF. Consulté le 20/2/2016.
2. <http://www.cdc.gov/ecoli/>. Consulté le 22/2/2016.
3. www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/citrobacter-fra.php. Consulté le 25/2/2016.
4. <http://www.bode-science-center.com/center/relevant-pathogens-from-a-z/citrobacter-spp.html>. Consulté le 28/2/2016.
5. www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/enterobacter-fra.php. Consulté le 2/3/2016.
6. <http://www.cellinoandbarnes.com/practice-areas/foodborne-illness/enterobacter-sakazakii/>. Consulté le 5/3/2016
7. www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/klebsiella-fra.php. Consulté le 9/3/2016.
8. <http://klebsiella-pneumoniae.org/>. Consulté le 12/3/2016.
9. anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.htm. Consulté le 15/3/2016.
10. www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?...staphylocoques. Consulté le 18/3/2016.
11. <https://tel.archives-ouvertes.fr/pastel-00005863/document>. Consulté le 20/3/2016.
12. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0117Fi.pdf>. Consulté 21/3/2016.
13. www.liste-hygiene.org/STAPHY.html. Consulté le 21/3/2016.
14. <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=11181>. Consulté le 1/4/2016.
15. biotec.ac-dijon.fr/IMG/pdf/staureus.pdf. Consulté le 3/4/2016.
16. prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:222505. Consulté le 4/4/2016.
17. http://www.maxisciences.com/staphylocoque/staphylocoque-symptomes-traitement-contagion-qu-039-est-ce-que-c-039-est_art36180.html. Consulté le 7/4/2016.
18. <http://anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.htm>. Consulté le 12/5/2016.
19. <http://www.journaldelenvironnement.net/article/l-acidite-revigore-les-salmonelles,29779>. Consulté le 12/4/2016.

20. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs270/fr/>. Consulté le 11/2/2016.
21. <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/736x/6e/a6/fc/6ea6fcc4e88fce20587fdf1910f85d01.jpg> . Consulté le 14/4/2016.
22. <http://www.liste-hygiene.org/BOTULIS.html>. Consulté le 14/4/2016.
23. <http://www.liste-hygiene.org/BOTULIS.html>. Consulté le 14/4/2016.
24. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/clostridium-fra.php>. Consulté le 14/4/2016.
25. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs270/fr/>. Consulté le 18/4/2016.
26. infotpa.gret.org/fileadmin/fiches/cta42.pdf. Consulté le 19 /4/2016.
27. https://www.legifrance.gouv.fr/;jsessionid=264D3E98CE703A8E8DB62581E120F9F7.tpdila10v_3. Consulté le 10/6/2016.
28. www.eassafe.com/upload/classificationdescrevettes.htm. Consulté le 2/6/2016.
29. <http://fr.shiningfishtech.com/index.php/produits/traitementalimentaire/traitement-de-crevettes/>. Consulté le 5/6/2016.
30. <http://www.medisite.fr/dictionnaire-de-la-nutrition-cephalopodes-seiche-calamar-poulpe.1265.380.html>. Consulté le 8/4/2016.
31. <http://www.bibliomer.com/consult.php?ID=2012-6152>. Consulté le 9/6/2016.
32. https://fr.wikipedia.org/wiki/Requin_bleu. Consulté le 12/5/2016.
33. <http://www.guidedesespeces.org/fr/merlu>. Consulté le 18/5/2016.
34. https://fr.wikipedia.org/wiki/Pangasianodon_hypophthalmus. Consulté le 18/5/2016.