

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de master

Pour l'obtention du diplôme de Master
en

Médecine vétérinaire
THEME

**Contribution à l'étude de l'évolution de la
contamination par *Pseudomonas* spp. de
l'Allache lors de sa conservation
à l'état réfrigéré**

Melle YERBOUB Nour el houda Amira

Soutenu le 06 Décembre 2020 devant le jury :

Mme BOUHAMED Radia	MCB (ENSV)	Présidente
Mme BOUAYAD Leila	MCA (ENSV)	Examinatrice
Mr HAMDI Taha Mossadak	Pr (ENSV)	Promoteur

2019-2020

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de master

Pour l'obtention du diplôme de Master
en

Médecine vétérinaire

THEME

**Contribution à l'étude de l'évolution de la
contamination par *Pseudomonas* spp. de
l'Allache lors de sa conservation
à l'état réfrigéré**

Melle YERBOUB Nour el houda Amira

Soutenu le 06 Décembre 2020 devant le jury :

Mme BOUHAMED Radia	MCB (ENSV)	Présidente
Mme BOUAYAD Leila	MCA (ENSV)	Examinatrice
Mr HAMDI Taha Mossadak	Pr (ENSV)	Promoteur

2019-2020

DECLARATION SUR L'HONNEUR

« Je soussignée **YERBOUB Nour el houda Amira** déclare être pleinement consciente que le plagiat de document ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisé pour écrire ce mémoire. »

Signature

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized, cursive letters, positioned below the word 'Signature'.

REMERCIEMENT

Je tiens à remercier profondément et chaleureusement mon promoteur **M^r Hamdi Taha Mossadek** professeur à l'**P'ENSV**, qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, et qui a bien voulu diriger et suivre ce modeste travail.

Je remercie **Mlle BOUHAMED RADIA** maitre de conférence classe B à l'**P'ENSV**, qui a toujours montré sa disponibilité pour la bonne réalisation de ce présent mémoire et qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury.

Je remercie **Mme BOUAYAD LEILA** maitre de conférence classe A à l'**P'ENSV**, pour son écoute et son aide au cours de la réalisation de mémoire, et pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je remercie également **Mme LAALA SOUAD** chef de service d'hygiène alimentaire à l'**P'INMV** pour l'attention et les conseils qu'elle m'a prodigué, sa soutenance pour mon travail et ainsi pour sa gentillesse.

Je remercie **Mme Louiza** technicienne du laboratoire d'HIDAOA à l'**P'ENSV**, pour m'avoir aidé et soutenir lors de la réalisation de ce présent mémoire.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

Mon cher grand père « **ABBAOUI SI HAMDI** » décédé il y a peu et qui serait content d'apprendre que sa petite-fille a enfin terminé

les études qu'elle avait commencé.

Que Dieu ait pitié de lui

Mes chers parents « **FATAH** » et « **MERZAKA** »

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Mes adorables frères « **LYES** » et « **ACIL** »

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PREMIERE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Le genre *Pseudomonas*

I. Généralités

I.1. Introduction.....	3
I.2. Historique.....	3
I.3. Habitat.....	3

II. Classification et taxonomie.....4

II.1. Classification du Bergey's manual (1994).....	4
---	---

III. Génome.....4

IV. Caractères généraux.....5

V. Autres caractères.....7

V.1 Température optimale de croissance.....	7
V.2. Halophilie.....	7
V.3 Accumulation de poly Beta-hydroxybutyrate (PHB).....	7
V.4. Production de pigments.....	7

VI. Principales espèces du genre *Pseudomonas*.....8

VI.1. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	8
VI.1.1. Interaction de <i>Pseudomonas fluorescens</i> avec les végétaux.....	8
VI.1.2. Contamination de produits alimentaires par <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
VI.2. <i>Pseudomonas putida</i>	9
VI.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10

VI.1.3.1. Pouvoir pathogène de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
--	----

PREMIERE PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

I.1 Matériel.....	11
I.1.1. Matériel biologique.....	11
I.1.2. Matériel de laboratoire	11
I.2 Méthodes	12
I.2.1 Méthode de prélèvement	12
I.2.2 Protocole d'analyse.....	12
I.2.3. Méthodes d'analyses.....	13
I.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales	13
I.2.3.2. Ensemencement en surface des <i>Pseudomonas</i> spp.....	14
I.2.3.3. Interprétation	16

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats globaux	17
II.1.1 Taux de contamination à J0.....	18
II.1.2. Taux de contamination à J5	19
II.1.2.1.Conservation sous glace.....	19
II.1.2.2. Conservation sans glace	20
II.1.3. Niveau de contamination à J7.....	20
II.1.3.1. Conservation sous glace	20

II.1.3.2. Conservation sans glace.....	21
II.2. Evolution des taux de contamination par <i>Pseudomonas</i> spp. Lors de conservation à l'état réfrigéré, sous et sans glace.....	21
II.2.1. Réfrigération sous glace.....	21
II.2.2. Réfrigération sans glace	22
II.3. Etude comparative entre l'évolution de <i>FAMT</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. lors de conservation du poisson Allache à l'état réfrigéré sous et sans glace.....	23
II.3.1. Moyenne de contamination globale par <i>FAMT</i> et <i>Pseudomonas</i> spp.....	23
II.3.2. Taux moyens de contamination par la <i>FAMT</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. au cours de la réfrigération sous et sans glace.....	23
II.3.3. Corrélation entre la <i>FAMT</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. durant la conservation à l'état réfrigéré sous glace	25
II.3.4. Corrélation entre la contamination par la <i>FAMT</i> et <i>Pseudomonas</i> spp. durant la conservation à l'état réfrigéré sans glace.....	26

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....27

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Résumé

Le but de cette étude est l'évaluation du taux de contamination de l'Allache *Sardinella aurita* commercialisée dans le marché Algérien par *Pseudomonas* spp. à l'état frais et réfrigéré avec et sans glace, et faire la comparaison entre l'évolution de *Pseudomonas* spp. et la FAMT lors de ces différents modes de conservations. 07 échantillons ont été achetés dans les poissonneries d'Alger ont fait l'objet d'analyses microbiologiques.

Nos résultats ont montré que la moyenne de la charge bactérienne initiale est élevée $9,21.10^4$ UFC/g. La moyenne de contamination du lot conservé réfrigéré sous glace est $9,70.10^3$ UFC/g à J5 et $1,78.10^5$ UFC/g à J7. La moyenne de contamination du lot conservé à l'état réfrigéré sans glace est de $4,04.10^6$ UFC/g à J5 et de $5,57.10^5$ UFC/g à J7. Il est constaté à travers cette étude que l'application de la glace au cours de la conservation du poisson a pour avantage de retarder le début de processus d'altération du poisson par *Pseudomonas* spp., par contre la conservation au froid fait augmenter progressivement le nombre des *Pseudomonas* spp. et la FAMT, le processus d'altération est plus précoce.

Mots clés : poisson Allache, FAMT, *Pseudomonas* spp. , réfrigération, sous glace, sans glace.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the contamination rate of Allache *Sardinella aurita* marketed in the Algerian market by *Pseudomonas* spp. in fresh and chilled state with and without ice, and to compare the evolution of *Pseudomonas* spp. and the FAMT during these different methods of preservation. 07 samples were purchased in the fish shops of Algiers and were subjected to microbiological analyses.

Our results showed that the average of the initial bacterial load is high at $9.21,104$ CFU/g. The average contamination of the batch kept refrigerated under ice is $9.70.103$ CFU/g at D5 and $1.78.105$ CFU/g at D7. The average contamination level of the lot kept refrigerated without ice is $4.04.106$ CFU/g at D5 and $5.57.105$ CFU/g at D7. It was found through this study that the application of ice during the conservation of fish has the advantage of delaying the onset of fish spoilage by *Pseudomonas* spp. but cold conservation progressively increases the number of *Pseudomonas* spp. and the FAMT, the spoilage process is earlier.

Keywords : Allache fish, FAMT, *Pseudomonas* spp. , refrigeration, under ice, without ice.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم معدل التلوث السمك المسوق في السوق الجزائري بواسطة بكتيريا الزائفة طازجة ومبردة مع وبدون ثلج ، و مقارنة تطور بكتيريا الزائفة و البكتيريا الهوائية التي تتكيف مع الحرارة المعتدلة خلال هذه الأنواع المختلفة من الحفظ. تم شراء 07 عينة من تجار الأسماك بالجزائر العاصمة وخضعت لتحاليل ميكروبيولوجية.

أظهرت نتائجنا أن متوسط الحمل البكتيري الأولي كان مرتفعاً. متوسط تلوث الدفعة المحفوظة في الثلاجة تحت الجليد. أصغر متوسط التلوث للدفعة المخزنة في حالة التبريد بدون ثلج. وقد لوحظ من خلال هذه الدراسة أن وضع الثلج أثناء حفظ الأسماك له ميزة تأخير بدء عملية تلف الأسماك بواسطة ومن ناحية أخرى ، فإن التخزين البارد بدون ثلج يزيد تدريجياً من عدد بكتيريا الزائفة و البكتيريا الهوائية التي تتكيف مع الحرارة المعتدلة ، إذا عملية تدهور السمك تكون أسرع.

الكلمات المفتاحية : السمك، بكتيريا الزائفة ، البكتيريا الهوائية التي تتكيف مع الحرارة المعتدلة، التبريد، تحت الجليد، بدون الجليد.

LISTE DES ABREVIATIONS

BN : Bouillon nutritif

Ce.IRSA : Centre Interministériel de Recherche et de Documentation sur la Sécurité Alimentaire

CFC : Céphalosporine / Fucidine / Ceftriaxone

DAOA : Denrées alimentaires d'origine animale

FAMT : flore aérobie mésophile totale

Ind : indénombrable

ISO : Organisation internationale de normalisation

J0 : jour 0

J05 : jour 05

J07 : jour 07

log : logarithme

PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

PHB : poly Beta-hydroxybutyrate

SAG : Sans glace

SOG : Sous glace

spp : espèce

SSO : Specific spoilage organisms

TSE : tryptone sel eau

UFC : unités formant colonies

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Taxonomie de <i>Pseudomonas</i> selon la classification de Bergey (1994) (Delarras, 2008).....	4
Tableau n°2 : Groupe génomique de <i>Pseudomonas</i> spp. (Guiraud, 2012).....	5
Tableau n°3 : Caractères généraux du genre <i>Pseudomonas</i> spp. (Guiraud, 2012).....	6
Tableau n°4 : propriété des pigments et espèces productrice (Delarras, 2008).....	8
Tableau n°5 : Taux de contamination par les <i>Pseudomonas</i> spp. à J0, J5 et J7 conservé sous et sans glace.....	17

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : <i>Pseudomonas fluorescens</i> sous lumière UV (Ce.IRSA , 2010).....	9
Figure n°2 : Réalisation de la pesée pour l'obtention de la solution mère (Photo personnelle).....	13
Figure n°3 : Homogénéisation de la suspension mère (dilution 10^{-1})(Photo personnelle)).....	13
Figure n°4 : Préparation des dilutions décimales (Photo personnelle).....	14
Figure n°5: Aspect des différentes colonies de <i>Pseudomonas</i> spp. sur milieu cétrimide après incubation pendant 44h à 25°C (Photo personnelle).....	15
Figure n°6 : Réalisation du test de confirmation à l'oxydase (Photo personnelle).....	15
Figure n°7: Résultat du test positif (à gauche) et un témoin négatif (à droite)(Photo personnelle).....	16
Figure n°8 : Taux moyens globaux de contamination par <i>Pseudomonas</i> spp.....	18
Figure n°9 : Evolution des taux de contamination par <i>Pseudomonas</i> spp. lors de la conservation du lot à l'état réfrigéré sous glace.....	22
Figure n°10 : Evolution des taux de contamination par <i>Pseudomonas</i> spp. lors de la conservation du lot à l'état réfrigéré sous glace sans glace.....	22
Figure n°11 : Taux moyens de contamination globale par la FAMT et <i>Pseudomonas</i> spp.....	23
Figure n°12 : Taux moyens de contamination des échantillons par la FAMT au cours de la conservation à l'état réfrigéré avec et sans glace.....	24
Figure n°13 : moyenne de contamination par <i>Pseudomonas</i> spp. au cours de conservation à l'état réfrigéré avec et sans glace.....	24
Figure n°14 : Corrélation entre la contamination par la FAMT et <i>Pseudomonas</i> spp. des échantillons conservés sous glace.....	25
Figure n°15 : Corrélation entre la contamination par la FAMT et <i>Pseudomonas</i> spp. des échantillons conservés sans glace.....	26

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les produits de la mer sont un composant important dans la ration alimentaire dans la majorité des pays du monde et sont classés comme deuxième source de protéines après les viandes rouges et blanches (**Bakr et al., 2011 ; Albuquerque Costa, 2013**).

Le secteur de la pêche et de l'aquaculture en Algérie présente des potentialités importantes de diversification de l'économie. Depuis le début des années 2000, le gouvernement Algérien a engagé une politique de réhabilitation, de restructuration et d'intégration de l'économie du secteur de la pêche et de l'aquaculture, considéré comme un secteur prometteur pour la diversification économique et pour répondre aux besoins alimentaires de base de la population (**Anonyme 1**).

Une profonde connaissance de la composition des produits de la mer et des modifications qui surviennent lors de leur manipulation, transformation et stockage est un élément essentiel dans la prise de décision concernant les méthodologies à mettre en place pour l'évaluation de la qualité et de la sécurité, car malgré leur importance socio-économique, les produits de la pêche jouent un rôle important dans l'apparition de toxi-infections alimentaires provoquées par des micro-organismes présents de manière soit naturelle dans le milieu aquatique, ou introduits à travers les différentes manipulations subies (**Karunasagar et al., 2004**).

C'est pour cela que l'assurance de la salubrité des denrées d'origine animale telle que le poisson, offerte aux consommateurs, constitue l'une des préoccupations prioritaires de la sécurité alimentaire.

C'est dans cette optique que nous avons abordé cette thématique qui consiste à étudier l'évolution de la contamination par les *Pseudomonas* spp. de l'une des espèces de poissons la plus consommée en Algérie, qui est l'allache (*Sardinella aurita*) lors de sa conservation à l'état réfrigéré sous et sans glace.

Pour ce faire, ce travail a été divisé en deux parties :

- La première partie est bibliographique, elle est consacrée à des rappels concernant l'espèce *Pseudomonas* spp.
- La deuxième partie est expérimentale, elle étudie la mise en évidence du genre *Pseudomonas* spp. dans l'Allache lors de sa conservation à l'état réfrigéré sous et sans glace, et l'évolution de ce genre bactérien durant sa période de conservation, ainsi qu'une

comparaison avec l'évolution de la contamination par la flore aérobie mésophile totale (FAMT), flore indicatrice de l'hygiène générale, et de l'évaluation de l'altération microbienne des denrées.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Le genre *Pseudomonas*

I. Généralités :

I.1 Introduction :

Le terme *Pseudomonas* vient du grec, où *pseudo* signifie "faux" et *monas* veut dire "unité". La famille des *Pseudomonadaceae* regroupe probablement la forme de vie la plus abondante et la plus répandue sur la planète. Les *Pseudomonas* sont les principales bactéries psychrotrophes retrouvées dans les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA), et dans une moindre mesure dans les produits végétaux. Leur présence dans les DAOA sous réfrigération permet leur multiplication, et par là, la production d'enzymes protéolytiques et lipolytiques souvent thermostables responsables d'altérations (**Alquati et al., 2002**).

I.2 Historique :

En 1894, le botaniste allemand Walter Migula a inventé le terme *Pseudomonas* pour un genre qu'il a décrit comme "Cellules avec des organes polaires de motilité". Le genre a été depuis révisé à plusieurs reprises par divers auteurs notamment par **Paulin et al. (2001)**.

Emmerich et Loew identifièrent en 1899 la première substance chimique douée d'activité antibiotique, la pyocyanase produite par *Pseudomonas aeruginosa* (espèce type), le bacille pyocyanique.

I.3. Habitat :

Ces bactéries sont ubiquistes et vivent en saprophytes dans la nature. Suivant les espèces, elles peuvent être retrouvées dans les eaux douces et marines, dans les sols humides, dans les boues et les sédiments, dans l'air et chez les végétaux.

Elles sont mêmes présentes en milieu hospitalier dans des habitats liés à la présence humaine, aux activités du personnel médical et aux produits liquides utilisés.

Certaines espèces sont commensales de l'homme et des animaux, le plus souvent pathogènes opportunistes chez les personnes immunodéprimées ou responsables d'infections nosocomiales fréquentes et graves chez les malades (**Delarras, 2008**).

II. Classification et taxonomie :

La famille des *Pseudomonadaceae* inclut dix genres différents dont *Pseudomonas*. Les *Pseudomonas* appartiennent au groupe des Eubactéries non photosynthétiques et chimiotrophe, à l'ordre des Eubacteriales, et à la famille des *Pseudomonadaceae* (Buchanan, 1917).

II.1. Classification du Bergey's manual (1994) :

Le genre *Pseudomonas* regroupe plus de 180 espèces actuellement répertoriées sur le site internet « <http://www.bacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html> », dont les principales sont: *Pseudomonas aeruginosa* (espèce type), *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*. La taxonomie de *Pseudomonas* est rapportée dans le Tableau N° 1.

Tableau N° 1 : Taxonomie de *Pseudomonas* selon la classification du Bergey's manual (1994) (Delarras, 2008)

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>

III. Génome :

Les *Pseudomonas* ont tout d'abord été classés dans cinq groupes génomiques ARN I à V, les plus connus sont présentés dans le tableau n°4 :

Tableau n° 02 : Groupe génomique de *Pseudomonas* spp. (Guiraud, 2012)

Groupe génomiques	Caractéristiques des espèces
Groupe I : 15 espèces (actuellement plus de 90 espèces)	Espèces fluorescentes, oxydase + : <i>P.aeruginosa</i> , <i>P.fluorescens</i> , <i>P.putida</i>
	Espèces fluorescentes, oxydase - : <i>P.syringae</i> , <i>P.viridiflava</i>
	Espèces non fluorescentes : <i>P.alcaligenes</i> , <i>P.mendocina</i> , <i>P.stutzeri</i>
Groupe II : 8 espèces	<i>P.cepacia</i> , <i>P.pseudomallei</i> qui devient <i>Burkholderia</i> dans la famille des <i>Burkholderiaceae</i>
Groupe III : 12 espèces	Deviennent la famille des <i>Comamonadaceae</i> avec le genre <i>Comamonas</i> : <i>P.acidovorans</i> , <i>P.testosteroni</i> ...
Groupe IV : 2 espèces	<i>P.diminuta</i> , <i>P.vesicularis</i> devient le genre <i>Brevundimonas</i>
Groupe V : 1 espèce	<i>P.maltophilia</i>

IV. Caractères généraux :

Ce genre qui comprend plus de 188 espèces ubiquitaires est composé de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, avec une taille de 0,5 à 1,0 µm sur 1,5 à 5,0 µm, aérobies, oxydase positifs, non sporulés et généralement mobiles par un ou des flagelles polaires (monotriche ou multitriche). Certaines espèces de *Pseudomonas* produisent des pigments hydrosolubles fluorescents, de couleur jaune-vert. La plupart de ces espèces sont psychrotrophes, leur croissance s'effectue entre +4°C et +43°C (Labadie *et al.*, 1996 ; Euzéby, 2007).

Les espèces du genre *Pseudomonas* produisent une couche d'exopolysaccharides qui entourent les cellules, qui leur permet de se protéger de la phagocytose par les macrophages chez les mammifères. Cette couche d'exopolysaccharides leur permet également former des biofilms, grâce auxquels elles peuvent rester collées aux surfaces, de telle manière qu'il est difficile de les déloger (Visca *et al.*, 2007).

Les principaux caractères généraux du genre *Pseudomonas* sont résumés dans le tableau N°3 :

Tableau n° 03 : Caractères généraux du genre *Pseudomonas* (Guiraud, 2012)

Morphologie	▪ Bacilles
Coloration de Gram	▪ Gram -
Mobilité	▪ Ciliature monotriche (<i>P.aeruginosa</i>) multitriche (<i>P.fluorescens</i>) ou immobile
Type respiratoire	▪ Aérobie stricte ▪ Respiration nitrate pour certaines espèces
Oxydase	▪ Positive en générale
Catalase	▪ positive
Condition de culture	▪ Température optimale 30 à 45 C ▪ Espèces psychrotrophe ▪ pH compris entre 6.5 et 8
Milieux de culture d'usage courant	▪ Gélose nutritive ▪ Gélose cétrimide ▪ Gélose trypticase soja
Caractères spécifiques	▪ Utilisation de glucose par voie oxydative ▪ Dégradant la caséine ▪ Production de pigments

V. Autres caractères :

V.1 Température optimale de croissance :

Elle est déterminée de façon rapide et grossière en ensemençant trois tubes de milieu liquide Bouillon Nutritif (BN) que l'on place à 37, 30, et 20 °C (température ambiante) (**Guiraud, 2012**).

Après 24 h et plus d'incubation, l'intensité de couleur est comparée.

V.2. Halophilie :

Caractère mis en évidence après ensemencement sur gélose nutritive à 10% de NaCl suivi d'une incubation à une température de 30°C (**Guiraud, 2012**).

V.3 Accumulation de poly Beta-hydroxybutyrate (PHB) :

Le recherche de granule PHB s'effectue sur à partir d'une culture sur gélose nutritive ou mieux sur milieu Koser par coloration au noir Soudan : un frottis séché non fixé est recouvert de colorant pendant 20 mn puis rincé et concentré à la safranine à 0,5 %. Les granules apparaissent noirs dans les cellules roses (**Guiraud, 2012**).

V.4. Production de pigments :

Les *Pseudomonas* spp. peuvent produire des pigments diffusant dans les milieux de culture. Deux types de pigments peuvent être synthétisés : des pigments fluorescents (pyoverdines), des pigments phénaziniques non fluorescents. Ces deux caractères sont mis en évidence sur gélose King A et King B (**Delarras, 2008**).

Tableau n° 04 : Propriétés des pigments et espèces productrices de pigments (Delarras, 2008)

Nom et couleur de pigment	Pyocyanine (phénazinique) Bleu-vert	Pyoverdine Jaune-vert fluorescent
Propriété du pigment	Non diffusible	Diffusible
	Soluble dans l'eau et chloroforme	Soluble dans l'eau
	Pas de fluorescence sous lumière ultraviolette	Fluorescence sous lumière ultraviolette
Espèces productrices	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.aeruginosa</i> <i>P.fluorescens</i> <i>P.putida</i> <i>P.syringae</i>

VI. Principales espèces du genre *Pseudomonas* :

VI.1. *Pseudomonas fluorescens* :

Elle tient son nom de la deuxième partie de son nom *fluorescens*, du fait qu'elle est fluorescente. Cette fluorescence est due à la production d'un pigment de pyoverdine. Sa température de croissance optimale se situe entre 25 et 30 °C (Palleroni, 1984).

VI.1.1. Interaction de *Pseudomonas fluorescens* avec les végétaux :

De nombreuses bactéries de cette espèce sont retrouvées au niveau de la zone de sol sous l'influence des racines de plantes (Rhizosphère). Certaines souches appartenant à ce sous-groupe montrent mêmes des effets bénéfiques pour la plante et sont alors qualifiées de PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) (de Salmone et al., 2001).

VI.1.2. Contamination de produits alimentaires par *Pseudomonas fluorescens* :

La contamination de fromages par *P. fluorescens* est possible, la bactérie étant très présente dans l'environnement des vaches laitières (sol et plantes). Elle a pour conséquence de graves défauts sur les fromages : taches, défauts de goûts, défauts d'aspect des croûtes.

Ainsi, en juin 2010, des consommateurs ont vu leur mozzarella (produite en Allemagne) virer au bleu à l'ouverture de leur sachet. Cette couleur a été attribuée à une contamination à *P. fluorescens* (Ce.IRSA , 2010).



Figure n° 01 : *Pseudomonas fluorescens* sous lumière UV (Ce.IRSA , 2010)

VI.2. *Pseudomonas putida* :

Pseudomonas Putida montre un métabolisme très diversifié, y compris la capacité de dégrader les solvants organiques tels que le toluène, cette capacité a été mise à profit dans la biorestauration, ou l'utilisation de micro-organismes pour dégrader les polluants environnementaux (Marqué *et al*, 1993). Par exemple, il a été démontré en laboratoire qu'il fonctionne comme un inoculant du sol pour remédier aux sols contaminés par le naphtalène (Gomes *et al.*, 2005).

De nombreux isolats de *P. putida* ont été cités en exemple comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes. L'assimilation de composés aromatiques semble par contre moins courante chez les isolats provenant de sols non contaminés ou de la rhizosphère (Latour *et al.*, 1996). Patten et Glick (2002), ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P. putida*, chez la plante hôte, dans le développement de son système racinaire.

VI.3. *Pseudomonas aeruginosa* :

Pseudomonas aeruginosa ou bacille pyocyanique est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux douces, eaux de piscine et marines, dans l'air. Elle est commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, mais aussi pathogène pour eux (**Delarras, 2008**).

VI.3.1. Pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa* :

P. aeruginosa peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement et Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés) (**Delarras, 2008**). *P. aeruginosa* est reconnu comme pathogène opportuniste, causant des infections pulmonaires mortelles chez les patients atteints de fibrose kystique (**Mavrodi et al., 2001**).

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs :

Les objectifs de notre partie expérimentale sont les suivants :

-Apprécier la qualité hygiénique de la chair de poisson « *Sardinella aurita* - Allache» pêché dans les côtes Algériennes par l'intermédiaire d'une étude quantitative et qualitative d'une partie de la flore de contamination d'origine bactérienne : *Pseudomonas* spp.

- Etudier l'évolution de cette flore de contamination, lors de la conservation de *Sardinella aurita* (Allache) à température de réfrigération +4 C° avec et sans glace, pendant 5 et 7 jours de conservation.

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

I. Matériels et méthodes :

I.1 Matériel :

I.1.1. Matériel biologique :

Les échantillons de *Sardinella aurita* ont été achetés dans les poissonneries d'Alger centre (Pêcherie d'Alger) et dans celle du port d'El-Djamila (ex Madrague) située à l'Ouest d'Alger. Le choix de l'utilisation de cette espèce de poisson dans notre expérimentation est justifié par :

- Sa disponibilité sur le marché
- Sa consommation élevée par la population algérienne
- Son prix relativement bas.

II.1.2. Matériel de laboratoire :

Le matériel de laboratoire utilisé est représenté par le matériel nécessaire afin de réaliser une analyse microbiologique des aliments :

- Bec Bunsen(FALC)
- Balance électrique (KERN_{PFB})
- Vortex (SCILOGEX)
- Boîtes de Pétri
- Sacs Stomacher
- Broyeur type Stomacher(MAYOhomogenius)
- Tubes à essais stériles (Institut Pasteur d'Algérie)

- Lames de bistouri
- Eau de javel
- Micropipette(Dragon-lab)
- Embouts plastiques stériles(PipetTips)
- Étaleurs stériles en forme de L à bout recourbé
- Autoclave (MEMMERT ®)
- Incubateurs préréglés à 25C° et 30C° (MEMMERT)
- Disques de test d'Oxydase
- Diluant TSE (tryptone sel eau)(Institut Pasteur Algérie)
- Milieu Cétrimide(Institut Pasteur Algérie)
- Milieu PCA (Plat Count Agar) (Institut Pasteur Algérie)
- Compteur de colonies (FUNKE GERBER)

I.2 Méthodes :

I.2.1 Méthode de prélèvement :

Au total, 07 échantillons de *Sardinella aurita* ont été prélevés. 02 ont été prélevés au niveau de la pêcherie d'Alger et 05 au niveau du port d'El-Djamila.

Chaque échantillon se compose d'un seul prélèvement de 500 g, transféré dans des sacs de prélèvements et entreposé dans une glacière, puis transporté immédiatement au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV pour être analysé le même jour .

Chaque échantillon est ensuite séparé en deux lots dans 2 boîtes en plastique:

- Le premier lot est conservé à +4 C° sous glace (De la glace pilée est ajoutée).
- Le deuxième est conservé à +4 C° mais sans ajout de glace.

I.2.2 Protocole d'analyse :

Les analyses bactériologiques sont réalisées comme suit :

- À J0 : au premier jour du prélèvement, qui correspond à «l'état frais de commercialisation»
- À J5 :
 - Sur le prélèvement conservé à l'état réfrigéré sous glace durant 5 jours.

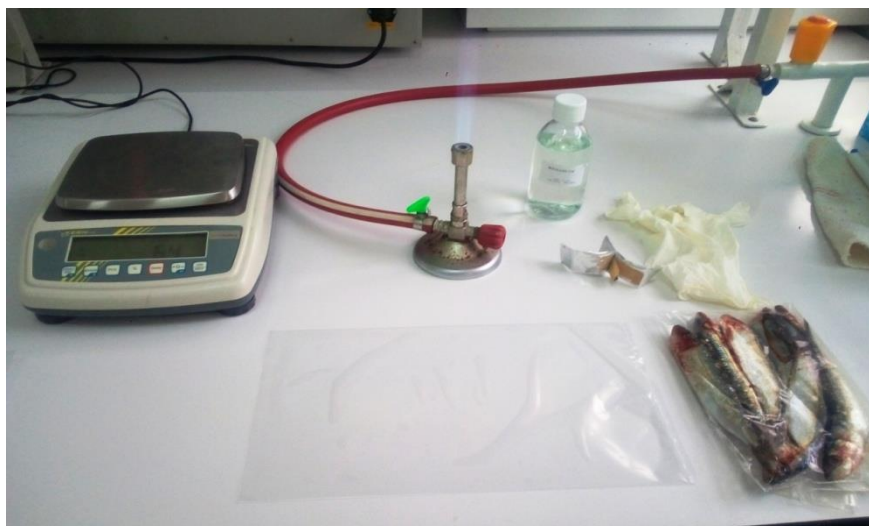
- Sur le prélèvement conservé à l'état réfrigéré sans glace.
- À J7 : Les mêmes tests réalisés à J5 sont reconduits.

I.2.3. Méthodes d'analyses :

I.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales :

La suspension mère (dilution 10^{-1}) ainsi que les dilutions décimales ont été préparées conformément aux instructions de la norme modifiée ISO 6887-1 :1999 :

Dans un champ stérile, à l'aide d'une lame de bistouri et des gants nous avons prélevé 10g de chair de sardinelle auquel nous avons déposé dans un sac Stomacher, auquel nous avons rajouté 90ml de TSE. Après homogénéisation de la prise d'essai avec le broyeur Stomacher, nous obtenons la solution mère (Dilution 10^{-1}).



**Figure n° 02 : Réalisation de la pesée pour l'obtention de la solution mère
(Photo personnelle)**



Figure n° 03 : Homogénéisation de la suspension mère (Dilution 10^{-1}) (Photo personnelle)

- **Dilution décimales :**

Dans un champ stérile et à l'aide d'une micropipette, 1ml de la suspension mère est introduit aseptiquement dans un tube à essai contenant au préalable 9ml de TSE, afin d'obtenir une deuxième dilution à 10^{-2} . La même opération est effectuée pour l'obtention du reste des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} .



Figure n°04 : Préparation des dilutions décimales (Photo personnelle)

I.2.3.2. Ensemencement en surface des *Pseudomonas* spp. (ISO 13720 - 2^{ème} édition) :

La norme ISO 13720:2010 spécifie une méthode pour le dénombrement des *Pseudomonas* spp. présumptifs présents dans la viande et les produits à base de viande, y compris les volailles.

La procédure comprend les étapes suivantes :

- Déposer à l'aide de micropipette 0,1ml de la suspension mère sur la surface de gélose CFC (Céphalotine/Fucidine/Cetrimide) stérile, préalablement coulée, gélifiée et séchée.
- Etaler l'inoculum de façon homogène en prenant soin de couvrir toute la surface de la gélose, et cela à l'aide d'un étaleur stérile en forme de L et à bout recourbé.
- Procéder de la même façon pour le reste des dilutions décimales successives.
- Incuber les boîtes ensemencées et identifiées dans l'étuve à 25°C pendant 44h $\pm$ 4.
- En fin d'incubation la lecture se fait sur deux boîtes de dilutions successives contenant entre 15 et 150 colonies.

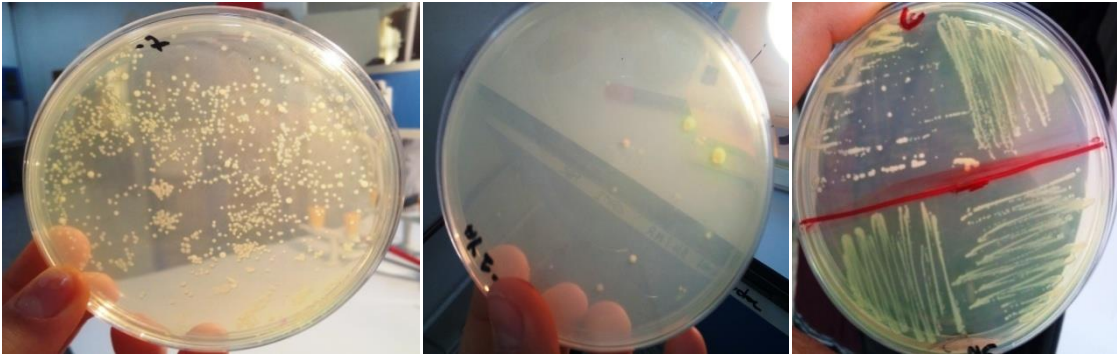


Figure n° 05: Aspect des différentes colonies de *Pseudomonas* spp. sur milieu cétrimide après incubation pendant 44h à 25°C (Photo personnelle)

➤ **Test de confirmation pour *Pseudomonas* spp. :** Le test de confirmation comprend les étapes suivantes :

- **Test à l'oxydase**

- Prendre 05 colonies bien isolées à partir d'une boîteensemencée, et incuber à l'aide d'un inoculateur stérile.
- Déposer la culture dans un tube à essai qui contient 2 à 3 ml de diluant, et agiter.
- Déposer le disque d'oxydase avec une pince stérile.
 - Le test est positif s'il y a apparition de couleur violette dans les 10 secondes.
 - Le test est négatif s'il y a absence de couleur violette dans les 10 secondes.

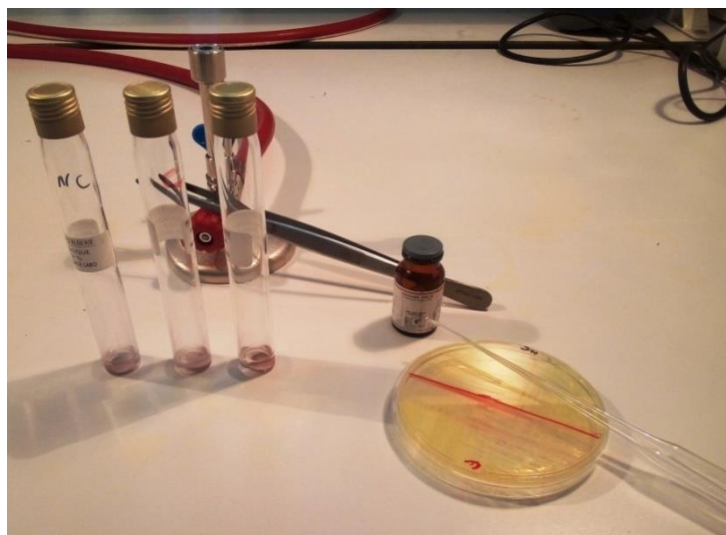


Figure n° 06 : Réalisation du test de confirmation à l'oxydase (Photo personnelle)



Figure n° 07 : Résultat du test positif (à gauche) et un témoin négatif (à droite)

(Photo personnelle)

I.2.3.3. Interprétation :

Le nombre N de microorganismes dénombrés par gramme est calculé avec l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(1,1)d}$$

N : est le nombre d'UFC par gramme de produit initial.

$\sum C$: La somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution.

-Le résultat final de microorganismes dénombrés par gramme d'aliment est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^n , ou n est la puissance appropriée de 10. Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule selon la règle suivante :

- Si le chiffre après la virgule est supérieure à 5 : le chiffre précédent est augmenté d'une unité
- Si le chiffre après la virgule est inférieur à 5 : le chiffre précédent ne change pas.
- Si le chiffre après la virgule est égale à 5 : arrondir le chiffre précédent au chiffre entier le plus proche.

- Le chiffre s'exprime en UFC (Unités Formant Colonie) par gramme d'aliment.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats globaux :

Rappelons que le genre *Pseudomonas* a été recherché dans cette étude comme critère d'altération du poisson. La moyenne globale de la contamination de l'ensemble des lots par *Pseudomonas* spp. est de $9,75.10^5$ UFC/g. Les résultats de l'étude de la contamination par les *Pseudomonas* spp. des 7 lots de sardines testés à J0, et ceux conservés jusqu'à J5 et à J7 sous glace et sans glace, sont rapportés dans le tableau n° 05. Les taux moyens de contamination globale par les *Pseudomonas* spp. sont illustrés par la figure N° 08.

Tableau n° 05 : Taux de contamination par les *Pseudomonas* spp. à J0, J5 et J7 conservé sous et sans glace.

ESSAIS	J0	J5		J7	
		SOG	SAG	SOG	SAG
1	$1,20.10^3$	Ind	$8,54.10^6$	Ind	Ind
2	$6,27.10^5$	Ind	$1,90.10^7$	10^4	$1,80.10^6$
3	10^3	7.10^3	2.10^5	$4,50.10^5$	$5,50.10^5$
4	8.10^2	$1,30.10^3$	$1,90.10^4$	$4,20.10^3$	$4,90.10^5$
5	10^4	2.10^4	$1,50.10^5$	$3,90.10^5$	$1,50.10^5$
6	4.10^3	$3,20.10^3$	$2,20.10^4$	$1,50.10^5$	$1,50.10^5$
7	7.10^2	$1,40.10^4$	$3,50.10^5$	$6,40.10^4$	$2,02.10^5$
Moyenne	$9,21.10^4$	$9,70.10^3$	$4,04.10^6$	$1,78.10^5$	$5,57.10^5$

SOG : Sous glace

SAG : Sans glace

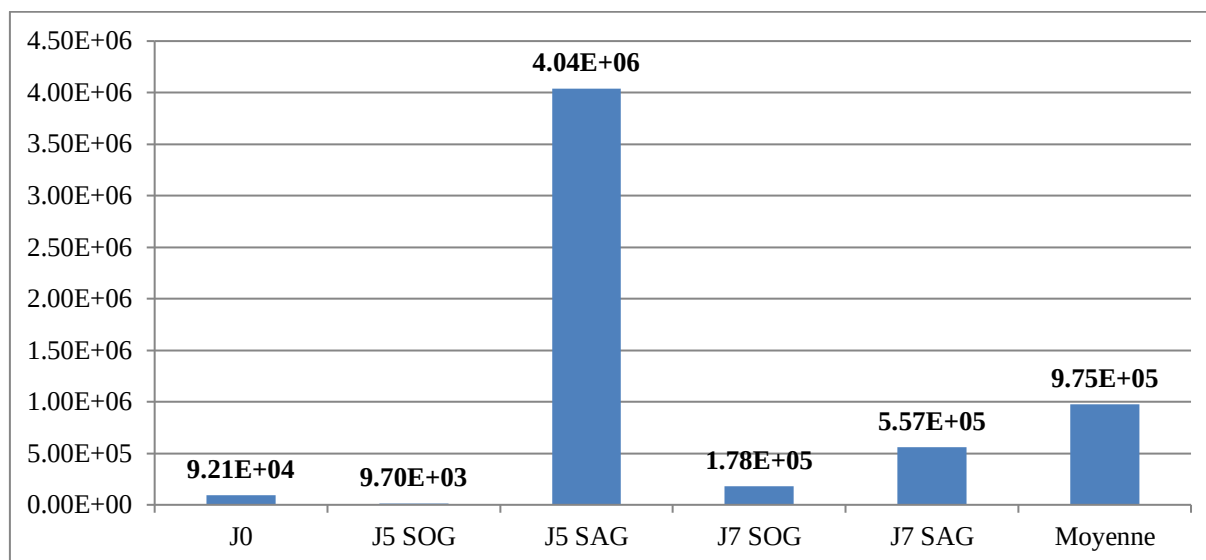


Figure n° 08 : Taux moyens globaux de contamination par *Pseudomonas* spp.

Bien que les principales bactéries responsables de la formation d'histamine chez les poissons soient les *Enterobacteriaceae*, il est admis que parmi les microorganismes psychrotrophes qui altèrent le poisson réfrigéré on retrouve essentiellement les genres *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp. (Odeyemi *et al.*, 2018). Ces bactéries appartiennent au microbiote intestinal du poisson et sont largement présentes dans l'eau et le sol, elles peuvent être trouvées dans les aliments frais réfrigérés et peuvent contaminer le poisson pendant la transformation (Egerton *et al.*, 2018). La prolifération bactérienne ramollit la chair du poisson; elle provoque la formation d'une couche visqueuse épaisse sur la peau et les ouïes, et engendre différentes odeurs, aigres, ammoniacales (*Alteromonas*, *Pseudomonas*), putrides (*Alteromonas*), piquantes, terreuses et de type sulfure (Pseudomonas) (Hobbs, 1987).

II.1.1 Taux de contamination à J0 :

Les taux de contamination enregistrés à J0 c'est-à-dire à l'état frais, exprimés en nombre d'UFC/g sont compris entre $8,10^2$ UFC/g et $6,27.10^5$ UFC/g. Le taux moyen de contamination à J0 est de $9,21.10^4$ UFC/g.

Même si le dénombrement de *Pseudomonas* spp. est utilisé dans cet essai comme indice d'altération du poisson, on remarque qu'ils sont présents quand même à l'état frais, ceci corrobore les résultats obtenus par Diabate *et al.* (2019) dans leur travail effectué sur l'espèce Chinchard *Trachurus trachurus*, ou ils ont constaté que la fréquence d'apparition des espèces bactériennes variait en fonction de l'état du poisson (pourri ou frais). Les travaux de ces mêmes auteurs montrent que

l'espèce *Pseudomonas luteola* à l'état frais avait une fréquence d'apparition de 03. **Danile de Lira et al. (2020)** dont les travaux ont porté sur de la sardine, ont constaté que dans les échantillons de sardines fraîches, les familles prédominantes étaient *Staphylococcaceae* (50,32 %), *Moraxellaceae* (17,41 %) et *Pseudomonadaceae* (7,02%).

Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Coumba (2002)** dans son travail sur la contamination initiale du Rouget, où il a enregistré 3.10^1 UFC/g comme valeur maximale de contamination de la chair du rouget, ainsi que la valeur de $0,7.10^4$ UFC/g comme valeur maximale de contamination des branchies par *Pseudomonas* spp.

Adoum Doutoum et al. (2018) montrent que la localisation initiale de la flore d'altération des poissons, en particulier des *Pseudomonas*, est principalement branchiale ou intestinale. C'est au cours de l'altération que les bactéries envahissent la chair par les fibres de collagène. Selon ces mêmes auteurs, la chair du poisson frais contient une flore globale, composée à la fois de mésophiles et de psychrotrophes, avec une prédominance des mésophiles.

Une récente étude a montré que les microorganismes les plus abondants présents dans les sardines fraîches appartiennent aux genres *Macroccoccus* spp. (49,88%), *Acinetobacter* spp. (11,11%), et *Pseudomonas* spp. (6,98%), tandis que les genres *Phyllobacterium* spp. (47,73 %), *Pseudomonas* spp. (16,76 %) et *Acinetobacter* spp. (9,75 %) étaient les plus abondants dans les sardines congelées (**Danile de Lira et al., 2020**).

Selon **Gill et Newton (1977)**, parmi les bactéries psychrotrophes, le genre *Pseudomonas* possède la meilleure capacité de développement au froid et présente une activité significative jusqu'à une température de +2°C, ce qui explique sa présence dans les échantillons conservés au frais.

II.1.2. Taux de contamination à J5 :

II.1.2.1. Conservation sous glace :

Les résultats des taux de contamination des échantillons obtenus à J5 lors de la conservation à l'état réfrigéré sous glace sont rapportés dans le tableau N° 05 et illustrés par la figure N°08. Les taux de contamination enregistrés, exprimés en nombre d'UFC/g sont compris entre $1,30.10^3$ UFC/g et $2,30.10^4$ UFC/g, à noter que sur les 07 essais réalisés, les résultats de 02 essais étaient indénombrables. Le taux de contamination moyen à J5 sous glace est de $9,70.10^3$ UFC/g.

La détermination de *Pseudomonas* spp. dans le poisson conditionné sous glace est confirmée par les résultats de **Danile de Lira et al. (2020)** qui ont isolé *Pseudomonas* spp. dans la sardine fraîche (7,80 %) et dans la sardine congelée (18,25 %).

Selon **Bourgeois et al. (1996)** bien que les *Pseudomonas* aient une croissance lente, ils présentent une importante activité de synthèse d'enzymes qui réalisent l'hydrolyse du substrat alimentaire.

II.1.2.2. Conservation sans glace :

Les résultats des taux de contamination des échantillons obtenus à J5 lors de la conservation à l'état réfrigéré sans glace sont rapportés dans le tableau N° 05 et illustrés par la figure N° 08.

Les taux de contamination enregistrés, exprimés en nombre d'UFC/g sont compris entre $1,90.10^4$ UFC/g et $1,90.10^7$ UFC/g, et le taux de contamination moyen à J5 sans glace est de $4,04.10^6$ UFC/g.

Les valeurs maximales et la moyenne de contamination sont en nette augmentation par rapport aux valeurs enregistrées à J₀.

Selon **Arulkumar et al. (2019)** et **Klanian et al. (2018)**, plusieurs bactéries sont responsables de la production de l'histamine parmi lesquels on retrouve les *Pseudomonas* spp. Les travaux de **Danile de Lira et al. (2020)** ont montré que les poissons non éviscérés présentaient une forte concentration d'histamine, ce qui suggère la présence de *Pseudomonas* spp. en nombre important de ces lots. Ces auteurs ont observé que la non éviscération du poisson au cours de sa conservation à l'état réfrigéré était responsable dans une grande partie du taux élevé de *Pseudomonas* spp. Enregistré.

II.1.3. Niveau de contamination à J7 :

II.1.3.1. Conservation sous glace :

Les résultats des taux de contamination des échantillons obtenus à J7 lors de la conservation à l'état réfrigéré sous glace sont rapportés dans le tableau N° 05 et illustrés par la figure N°08.

Les taux de contamination enregistrés, exprimés en nombre d'UFC/g sont compris entre $4,20.10^3$ UFC/g et $4,50.10^5$ UFC/g, à noter que sur les 07 essais réalisés un seul résultat était indénombrable. Le taux de contamination moyen pour cette catégorie d'échantillons est de $1,78.10^5$ UFC/g.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de **Dalgaard et al. (1993)** qui ont constaté que lorsque les poissons glacés sont conservés sous glace et en aérobiose, ils sont altérés lorsque le

nombre de bactéries atteint 10^7 UFC/g, ils estiment qu'à ces niveaux, la flore est composée presque exclusivement de *Pseudomonas* spp. Dans notre cas à J7 sous glace, l'altération de l'état du poisson Allache est bien avancée bien que le nombre maximal de *Pseudomonas* spp. soit inférieur à 10^7 UFC/g. Ceci est certainement du aux mauvaises conditions d'hygiène lors des diverses manipulations que ce soit au niveau des bateaux, des halles à marée et des points de vente.

II.1.3.2. Conservation sans glace :

Les résultats des taux de contamination des échantillons obtenus à J7 lors de la conservation à l'état réfrigéré sans glace sont rapportés dans le tableau N° 05 et illustrés par la figure N° 08.

Les taux de contamination enregistrés, exprimés en nombre d'UFC/g sont compris entre $2,45.10^5$ UFC/g et 3.10^8 UFC/g.

Le taux de contamination moyen pour cette catégorie d'échantillons est de $5,57.10^5$ UFC/g.

Selon **Diabate et al. (2019)**, la moitié des bactéries retrouvées sur le chinchard altéré était retrouvée sur le chinchard frais. Parmi la flore d'altération, 18,75 % étaient propre à l'état altéré contre 31,25 % à l'état frais. Ces taux très élevés observés auraient pour origine, en premier lieu à la charge microbienne initiale élevée, puis les conditions de conservation et de manipulation, notamment au manque de glace qui aurait diminué la température de conservation et ainsi ralentit la multiplication bactérienne.

II.2. Evolution des taux de contamination par *Pseudomonas* spp. lors de conservation à l'état réfrigéré, sous et sans glace :

II.2.1. Réfrigération sous glace :

Les résultats obtenus montrent que la phase de multiplication intense des *Pseudomonas* spp. ne commence qu'après J5, après une phase de latence (Figure N° 08). La baisse de la température par l'application de la glace allonge la phase de latence de *Pseudomonas* spp. sur le poisson Allache, et retarde donc le mécanisme d'altération de ce dernier. Ceci confirme les observations de **Shewan et Hobbs (1967)**, qui avaient constaté qu'après une phase de latence correspondant à la rigor-mortis, les bactéries allaient se développer de façon exponentielle, pour atteindre des populations de l'ordre de 10^8 à 10^9 UFC/g de muscle après 8 à 10 jours de conservation sous glace.

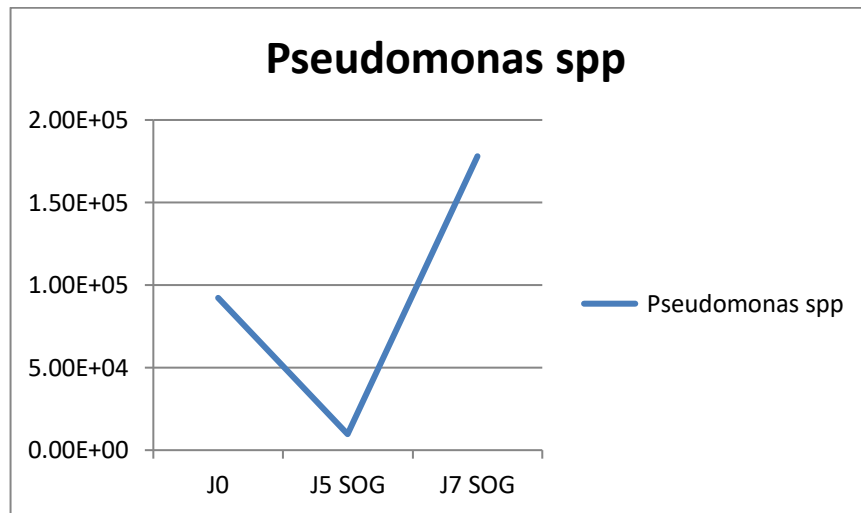


Figure n° 09 : Evolution des taux de contamination par *Pseudomonas* spp. lors de la conservation du lot à l'état réfrigéré sous glace

II.2.2. Réfrigération sans glace :

Les résultats obtenus montrent que la phase de croissance est plus précoce par rapport au lot conservé sous glace (Figure N° 10).

La température de réfrigération est une température plus optimale à la croissance de *Pseudomonas* spp. dans le poisson Allache que la température fournie par le contact avec la glace, et par conséquent, son activité d'altération sur lui sera plus intense.

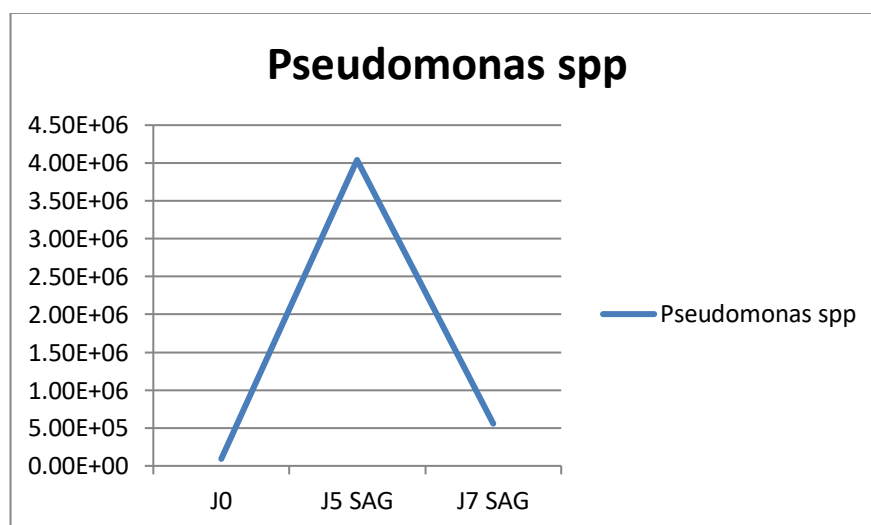


Figure n° 10 : Evolution des taux de contamination par *Pseudomonas* spp. lors de la conservation du lot à l'état réfrigéré sous glace sans glace

II.3. Etude comparative entre l'évolution de *FAMT* et *Pseudomonas* spp. lors de conservation du poisson Allache à l'état réfrigéré sous et sans glace :

II.3.1. Moyenne de contamination globale par *FAMT* et *Pseudomonas* spp. :

La flore de contamination de l'Allache est composée beaucoup plus par la flore aérobie mésophile totale que par les *Pseudomonas* spp. Ceci est peut être du au contact permanent du poisson avec l'air qui favorise la croissance de l'ensemble de bactéries aérobies par rapport aux *Pseudomonas* spp. (Figure N° 11).

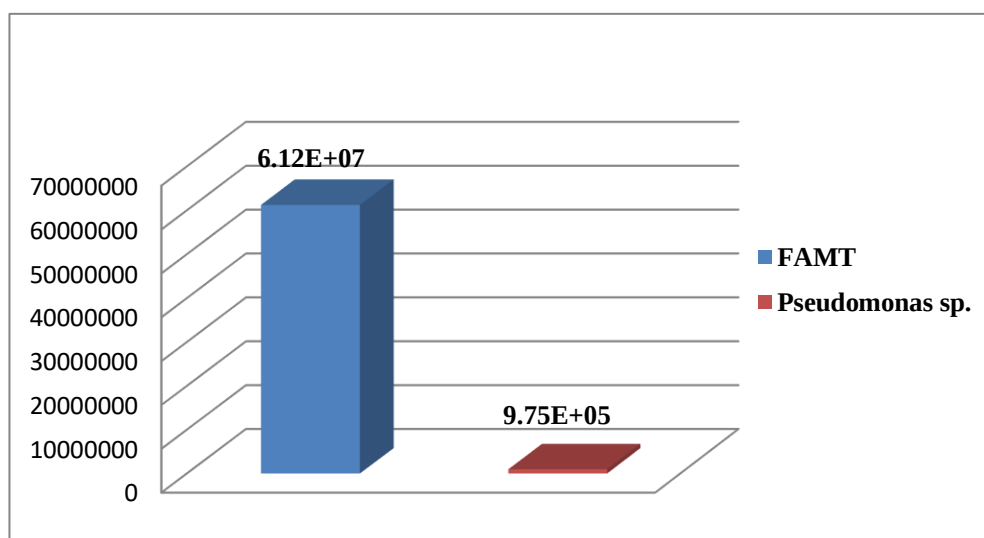


Figure n° 11 : Taux moyens de contamination globale par la FAMT et *Pseudomonas* spp.

Les résultats obtenus montrent que le taux moyen de contamination par la FAMT est de 7 fois plus élevé que celui des *Pseudomonas* spp. Il est bien connu que l'altération du poisson frais est le résultat de l'activité microbienne de certains microorganismes dits spécifiques de détérioration (SSO), il s'agit en fait d'une fraction de la flore totale de contamination du poisson qui dégrade le poisson en des composants biochimiques, qui sont habituellement perçus comme la perte de fraîcheur de poisson par les consommateurs (Garcia *et al.*, 2015).

II.3.2. Taux moyens de contamination par la FAMT et *Pseudomonas* spp. au cours de la réfrigération sous et sans glace :

Dans ce cas, nous observons que les valeurs maximales pour la FAMT sont enregistrées pour les échantillons testés à l'état réfrigéré à J5 et J7 sans glace (Figure N° 12).

Les valeurs maximales des taux moyens de contamination par *Pseudomonas* spp. ont été enregistrées également pour les échantillons testés à l'état réfrigéré à J5 et J7 sans glace (Figure N° 13).

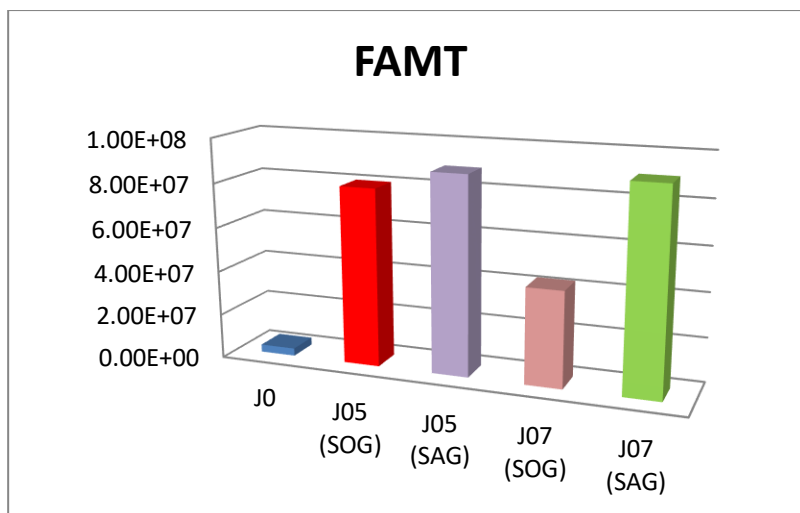


Figure N° 12 : Taux moyens de contamination des échantillons par la FAMT au cours de la conservation à l'état réfrigéré avec et sans glace

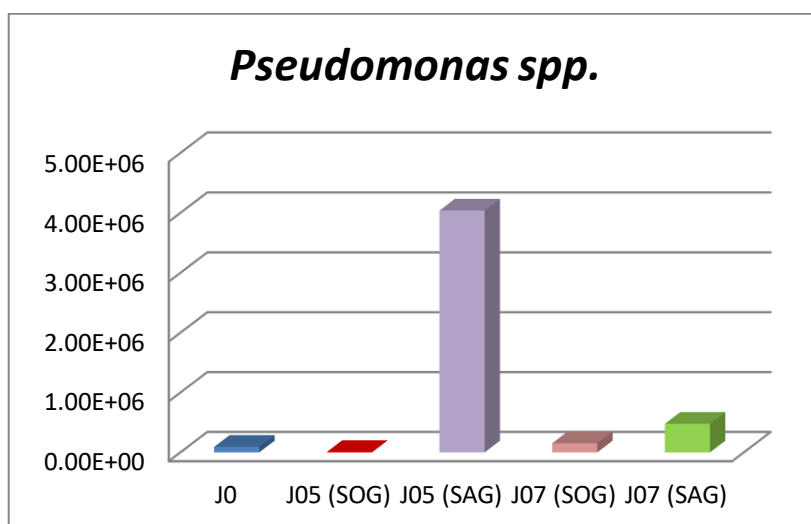


Figure N° 13 : Moyenne de contamination par *Pseudomonas* spp. au cours de conservation à l'état réfrigéré avec et sans glace

Les résultats montrent que l'évolution des moyennes maximales de contamination par *Pseudomonas* spp. sont similaires avec celles obtenus pour la FAMT, notamment du point de vue temps et mode de conditionnement, car même si ce n'est pas avec les mêmes valeurs, les figures

N°12 et N° 13 représentant les catégories à J5 SAG et à J7 SAG correspondent aux jours où les moyennes de contamination sont les plus élevées, et cela dans les deux groupes bactériens (figures N°12 et N° 13).

Cela pourrait signifier que le développement de la FAMT et des *Pseudomonas* spp. au cours de la conservation de poisson Allache à l'état réfrigéré, suit un sens identique, malgré que l'intensité du froid appliqué soit différente.

Chez les *Pseudomonas* spp. les valeurs moyennes enregistrées à **J5 SOG** et **J7 SOG** paraissent très faibles par rapport à celles obtenues pour la FAMT pour les mêmes catégories d'échantillons, ceci laisse supposer que , le développement de ces deux groupes bactériens au cours de la réfrigération du poisson Allache conditionné sous glace, se fait dans un sens totalement contraire l'un par rapport à l'autre.

II.3.3. Corrélation entre la FAMT et *Pseudomonas* spp. durant la conservation à l'état réfrigéré sous glace :

Une corrélation négative est observée entre les taux de contamination par la FAMT et celle des *Pseudomonas* spp. lors de la conservation sous glace, cela signifie que les flores FAMT et *Pseudomonas* spp. évoluent en sens inverse, plus le nombre de FAMT augmente plus le nombre *Pseudomonas* spp. diminue (Figure N° 14).

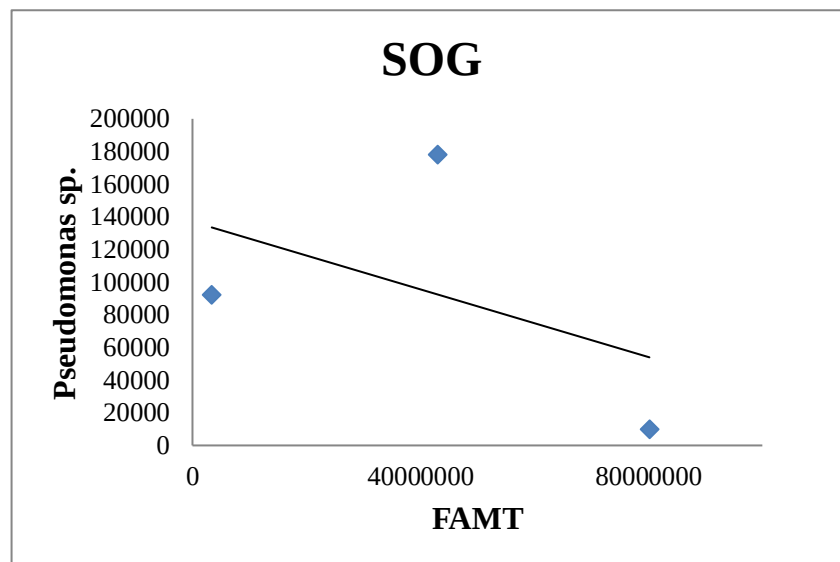


Figure N° 14 : Corrélation entre la contamination par la FAMT et *Pseudomonas* spp. des échantillons conservés sous glace

II.3.4. Corrélation entre la contamination par la FAMT et *Pseudomonas* spp. durant la conservation à l'état réfrigéré sans glace :

Une corrélation positive est observée entre le taux de FAMT et celui de *Pseudomonas* spp. lors de la conservation à l'état réfrigéré sans glace, plus le nombre de FAMT augmente, plus le nombre de *Pseudomonas* spp. augmente également. Ce résultat est contraire à celui retrouvé lors de conservation sous glace (Figure N° 15).

Il est à constater que l'effet exercé sur les deux groupes bactériens par la température basse obtenue par l'application de la glace, n'est pas le même, cela signifie que le comportement de la FAMT et de *Pseudomonas* spp. présents dans la chair du poisson Allache n'est pas le même lors de la présence de glace.

Par contre, la température de réfrigération seule a permis une évolution proportionnelle du nombre de FAMT et de *Pseudomonas* spp. , donc une simple réfrigération ne peut garantir une bonne conservation du poisson Allache.

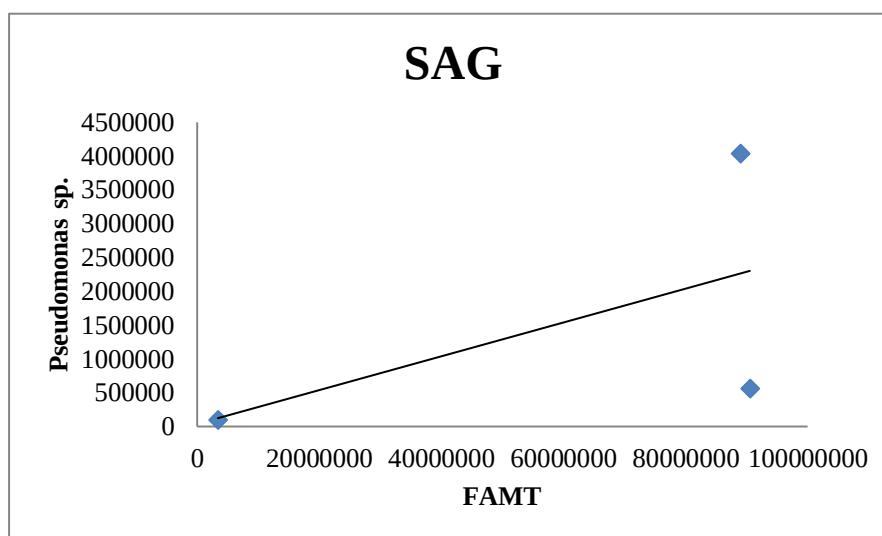


Figure n°15 : Corrélation entre la contamination par la FAMT et *Pseudomonas* spp. des échantillons conservés sans glace

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

I. Conclusion :

Notre étude s'est intéressée à la contamination bactérienne initiale par *Pseudomonas* spp. de la chair du poisson Allache *Sardinella aurita*, vendu dans les poissonneries d'Alger à l'état frais, et son évolution durant sa conservation à J5 et J7 à l'état réfrigéré avec et sans glace. L'étude a permis de mettre en lumière l'impact du mode de conservation du poisson sur sa qualité sanitaire.

Ainsi, la comparaison entre les taux de contamination par *Pseudomonas* spp. et par la FAMT lors de la conservation de l'Allache à température de réfrigération (+4°C), et lors de sa réfrigération en présence ou absence de glace, nous a fourni des approches sur la relation existante entre le développement de ces deux groupes microbiens lors de chaque mode de conservation.

Nos résultats montrent que les taux de contamination initiaux étaient compris entre $8,10^2$ UFC/g et $6,27.10^5$ UFC/g. Même si le genre *Pseudomonas* est impliqué dans le processus d'altération microbienne du poisson, il est aussi présent dans la chair du poisson frais, car la migration des bactéries *Pseudomonas* spp. à partir des viscères vers la chair commence dès la capture du poisson. Mais la limite maximale enregistrée est relativement élevée, ce qui nous fait prêter l'attention à un autre aspect qui est l'influence du degré de pollution de la zone de pêche sur la contamination interne du poisson et qui se répercute par la suite sur la qualité bactériologique de la denrée.

A J5, les taux de contamination lors de conservation sous glace varient de $1,30.10^3$ UFC/g à $2,30.10^4$ UFC/g, alors que lors de conservation sans glace, ils sont nettement supérieurs et se situent entre $1,90.10^4$ UFC/g et $1,90.10^7$ UFC/g. Ces résultats montrent l'effet positif de l'application de la glace durant la période de réfrigération qui a pour but de ralentir le processus de dégradation du poisson et donc de préserver sa qualité sensorielle.

A J7, il est enregistré une valeur maximale plus élevée dans les deux lots. Les taux de contamination des échantillons conservés sous glace se situent entre $4,20.10^3$ UFC/g et $4,50.10^5$ UFC/g, et entre $2,45.10^5$ UFC/g et 3.10^8 UFC/g en l'absence de glace. Ces valeurs sont en premier lieu la conséquence de la charge microbienne initiale élevée, ensuite ils sont la conséquence de l'action du froid sur les microorganismes qui est limité par l'incapacité de supprimer une contamination.

Nos travaux montrent que l'application de la glace au poisson lors de la réfrigération peut retarder le début du phénomène d'altération du poisson Allache par les *Pseudomonas* spp.

Il nous paraît ainsi à travers l'étude comparative de l'évolution de FAMT et *Pseudomonas* spp. qu'il existe une relation proportionnelle entre le développement de ces deux groupes bactériens lors de la conservation à température de réfrigération ($+4\text{ C}^0$) uniquement, ce qui fait perdre le poisson sa qualité sensorielle et bactériologique rapidement.

Alors qu'en appliquant la glace en plus du froid fourni par la réfrigération, les deux groupes bactériens évoluent dans un sens différent l'un par rapport à l'autre : plus le nombre de FAMT augmente plus le nombre de *Pseudomonas* spp. diminue.

Ce résultat valorise l'importance de l'application de la glace lors de la conservation du poisson afin de préserver sa qualité hygiénique et organoleptique, et donc d'empêcher l'apparition de toxico-infections alimentaires chez les consommateurs par les métabolites chimiques de dégradation comme l'histamine produites par les bactéries impliquées dans l'altération.

II. Recommandations :

Afin de préserver la qualité sensorielle et hygiénique du poisson le plus longtemps possible, et limiter l'apparition de toxi-infections alimentaires chez les consommateurs par les métabolites de dégradation, les mesures suivantes devraient être appliquées:

- La réduction ou la suppression de la source de pollution dans les zones de pêche et cela par la mise en place d'une réglementation d'exploitation de ces zones.
- La mise en place d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène pour la filière « pêche » des pêcheurs aux vendeurs.
- Fournir la glace à bas prix pour procéder à un glaçage optimal du poisson commercialisé.
- Procéder à une éviscération précoce du poisson après sa capture.
- L'élimination de toute pièce présentant des anomalies telles que l'éclatement des viscères pour empêcher la contamination croisée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **Adoum Doutoum A., Tidjani A., Abba H., Faye C., Seidy Mg. & Toguebaye B S, 2018.** Microbiological characteristics of the contamination fish of tropical seas, G.J.B.A.H.S., Vol. 7 (1) : 32-44
2. **Albuquerque CR. 2013.** *Escherichia coli* in seafood: A brief overview. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 4: 450-454.
3. **Alquati, C., De Gioia, L., Santarossa, G., Alberghina, L., Fantucci, P., Lotti, M. 2002.** The cold-active lipase of *Pseudomonas fragi*. Heterologous expression, biochemical characterization and molecular modeling. *Eur. J. Biochem.*, 269: 3321-3328.
4. **Anonyme 1** Fiche action pour l'Algérie. Programme d'appui à la diversification de l'économie – secteur Pêche (ENPI/2012/023-469). Approche projet / Gestion décentralisée partielle et centralisée. *Code CAD 31320 Secteur Développement de la pêche.12p.* Disponible sur le site suivant : https://ec.europa.eu/neighbourhood-enlargement/sites/near/files/aap_algerie_part_2_2012_ad.pdf . (Consulté le 04/11/2020)
5. **Arulkumar A, Paramasivam S, Rameshthangam P, Paramithiotis S., 2019.** Evaluation of psychrophilic, mesophilic, histamine forming bacteria and biogenic amine content in the muscle of mud spiny lobster, *Panulirus polyphagus* (HERBST, 1793) during ice storage ; *Journal of Food Safety*, vol 39 (1) e12582

B

6. **Bakr WMK, Hazzah W et Abaza AM. 2011** *Detection of Salmonella and Vibrio species in some seafood in Alexandria Journal of American Science* 7(9):663-668.
7. **Buchanan, R.E. 1917.** Studies on the nomenclature and classification of the bacteria. 3.The families of Eubacteriales. *Journal of Bacteriology* 4, 347–350.
8. **Bourgeois C., Mescle J.-F. et Zucca J. 1996.** Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, 672 pages, Lavoisier Editeur, Paris,.

C

9. **Ce.IRSA Centre Interministériel de Recherche et de Documentation sur la Sécurité Alimentaire, 2010.** Blue Mozzarella [en ligne] [consulté le 06/11/2020] Disponible sur internet : <https://www.ceirsa.org/leggitutto.php?idrif=259>
10. **Coumba, F. 2002 :** *Contribution à l'étude de la contamination initiale du poisson des mers tropicales.* Thèse pour obtention le grade de Docteur vétérinaire (Diplôme d'état)., Sénégal.

D

11. **Dalgaard, P. 1993.** Evaluation and prediction of microbial fish spoilage. Ph,D – thesis, Technological laboratory, Danish Ministry of Fisheries, Lyngby, Denmark, pp. 169.

12. Danile de Lira A, Maia Santos de Castro I, Bertoni Mann M , Peixoto Mallmann L , Kothe C.I, Muterle Varela A.P, Guedes Frazzon A.P , Frazzon J., 2020. Evaluating *Sardinella brasiliensis* quality indicators through the quantification of histamine and bacterial communities, *Heliyon* vol6 (8), E04461

13. Delarras, C. 2008. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire . Paris: Ed TEC & DOC, Lavoisier, 476 p.

14. de Salamone, G.I.E., Hynes, R.K. and Nelson, L.N., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can. J. Microbiol.*, 47: 103-113.

15. Diabate D., Samake F., Sanogo Y. et Babana A.H., 2019. Détermination des souches bactériennes impliquées dans l'altération du chinchard *trachurus trachurus* (linnaeus, 1758) vendu dans le district de Bamako (Mali), *Agronomie Africaine* 31 (1) : 1 - 14

E

16. Egerton S, Culloty S, Whooley J, Stanton C, Ross R P, 2018. The Gut Microbiota of Marine Fish, *Front Microbiol.* May 4;9:873

17. Euzéby J.P. 2007 : Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. [en ligne] Adresse URL : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/>, consulté le 15/08/2007

G

18. Garcia M. R., Vilas C., Herrera J. R., Bernárdez M., Balsa-Canto E., Alonso A. A. 2015. Quality and shelf-life prediction for retail fresh hake (*Merluccius merluccius*). *Int. J. Food Microbiol.* 208: 65 - 74.

19. Gill C. et Newton K., 1977. The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperature. *J. Appl. Bacteriol.*, , 43, 189-195

20. Gomes, NC; Kosheleva, IA; Abraham, WR; Smalla, K , 2005. [Effects of the inoculant strain *Pseudomonas putida* KT2442 \(pNF142\) and of naphthalene contamination on the soil bacterial community". *FEMS Microbiology Ecology*. 54 \(1\): 21–33. Disponible sur internet: \[doi:10.1016/j.femsec.2005.02.005\]\(https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.02.005\). PMID 16329969.](https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.02.005)

21. Guiraud, J.-P. 2012. Microbiologie Alimentaire. Éditeur DUNOD. Collection : Technique et ingénierie – Agroalimentaire, 696 pages.

H

22. Hobbs G, 1987. Essays in Agricultural and Food Microbiology. éd., Microbiology of Fish, p. 199-226

K

23. Klanian M.G, Díaz M.D and Sánchez Solís M.J, 2018. Molecular characterization of histamine-producing psychrotrophic bacteria isolated from Red Octopus (*Octopus maya*) in refrigerated storage, *High-Throughput*, 7, 25; 1-14

24. Karunasagar I et Parvathi A. 2004. *Microbial safety of fishery products. Marine microbiology, facets and opportunities* 135-144 .Disponible sur le site : http://drs.nio.org/drs/bitstream/handle/2264/79/Karunasagar_chap14.pdf;jsessionid=6931396F19DD142532B8232C1997A9EA?sequence=1 . Consulté le 04/11/2020.

L

25. **Labadie J.C., Dousset X., Hebraud M., 1996.** Les Pseudomonas et autres bactéries Gram - d'altération. In : Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. (Eds.), Microbiologie alimentaire. Tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Technique et Documentation: Paris, p 209-220.
26. **Latour, X., Corberand, T., Laguerre, G., Allard, F. and Lemanceau, P., 1996.** The composition of fluorescent Pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. Appl. Environ. Microbiol. 62: 2449-2456.

M

27. **Marqués, Silvia; Ramos, Juan L. 1993.** *Transcriptional control of the Pseudomonas putida TOL plasmid catabolic pathways". Molecular Microbiology. 9 (5): 923–9. Disponible sur internet : [doi:10.1111/j.1365-2958.1993.tb01222.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1993.tb01222.x). PMID 7934920.*
28. **Mavrodi, O.V., McSpadden Gardener, B.B., Mavrodi, D.V., Bonsall, R.F., Weller, D.M. and Thomashow, L.S., 2001.** Genetic diversity of phlD from 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent Pseudomonas species. Phytopathol. 91: 35–43.

O

29. **Odeyemi O, Burke C, Bolch CC.J., Stanley R, 2018.** Seafood spoilage microbiota and associated volatile organic compounds at different storage temperatures and packaging conditions, International Journal of Food Microbiology 280,87 -99

P

30. **Palleroni, N.J., 1984. Genus I. Pseudomonas Migula 1894.** In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.
31. **Patten, C.L., Glick, B.R., 2002.** Regulation of indoleacetic acid production in Pseudomonas putida GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. Can. J. Microbiol. 48: 635-642.
32. **Paulin, J.P., Ridé, M., and Prunier, J.P. 2001.** Découverte des bactéries phytopathogènes il y a cent ans: controverses et polémiques transatlantiques. Sciences de la vie 324, 905-914

S

33. **Shewan, J.M. ; Hobbs, G. 1967.** The bacteriology of fish spoilage and preservation Prog. Ind. Microbiol.; 169-208

V

34. **Visca, P., Imperi, F. and Lamont, I.L., 2007.** Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. Trends Microbiol. 15: 22–30.