

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 fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur
en
Médecine vétérinaire

THEME

**Contribution à l'étude de la qualité
bactériologique aux coliformes thermotolérants
dans la sardine vendue au niveau de la wilaya de**

Présenté par :

Melle MERABIA Kawther

Soutenu publiquement, le 28 juin 2021

Devant le jury composé de :

Promotrice

Dr. HACHEMI A.

Maître de conférences Classe B

Président (e)

Dr TAIBI M.

Maître de conférences Classe A

Examinatrice 1

Dr REGGUEM S.

Vétérinaire Inspecteur

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné(e), (NOM ET PRENOM) MERABIA Kawther, déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents 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 utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature



Remerciements

Tous d'abord, je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage et la patience pour accomplir ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à ma promotrice de thèse, Dr HACHEMI Amina je la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé tout au long de ce travail.

Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées.

Je tiens à remercier les membres du jury :

Madame TAIBI M. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Madame REGGUEM S. qui a accepté de juger ce travail.

J'exprime toute ma gratitude à tous les enseignants de l'ENSV pendant ces cinq années pour leur sincérité, leur gentillesse et leurs encouragements.

Dédicaces

À mon cher père Youcef, tu es pour moi l'exemple inégalable de la rigueur, de la patience et de la justice. Vous m'avez enseigné l'honneur, le respect de soi d'autrui et le travail bien. Que dieu vous garde pendant longtemps à nos côtés et qu'il exhausse vos bénédictions.

À ma tendre mère Yasmine, ne serait 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 que vous me porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours que ce modeste travail soit l'exhaussement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes chères sœurs Lina et Sara ceux qui m'ont soutenu avec leur amour, leur encouragement permanent et leur soutien moral. Dieu vous accorde une longue vie pleine de bonheur.

A ma copine Chahinez, Ce que j'ai partagé avec elle chaque instant pendant les 5 années d'études. je veux te dédier ce travail et je te souhaite une vie heureuse et beaucoup de succès.

A Rachia, Bouchra, Raouia, Amel, Rahil, Asma, Imen, Mino, Dado je souhaiterais vous remercier et vous dédier ce travail. Peu importe la distance, je vous garde au fond de mon cœur, voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance puisse dieu vous garder toujours auprès de moi dans le bonheur et la prospérité.

A TOUTE MA FAMILLE

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

Résumé

La présente étude consiste à évaluer la qualité bactériologique de la sardine peuplant les eaux des ports de Cherchell et Bouharoun (situé dans la Wilaya de tipaza, le centre Algérien) par la réalisation d'une analyse quantitative des coliformes thermotolérants au niveau de la chair durant le mois de novembre 2020, Pour cela nous avons prélevés 40 échantillons

Les résultats de dénombrement montrés un taux de contamination au coliformes thermotolérants globale de 40%, dont 70% pour le port de Bouharoun et 10% pour le port de Cherchell. D'une manière globale 27,5% présente la qualité Bactériologique satisfaisante, 32.5% présente la qualité Bactériologique acceptable et 40% présente la qualité bactériologique insatisfaisante. Et tout cela est causé par la pollution des eaux de la mer en plus du grand nombre d'eaux usées sales qui se déversent dans la mer.

Mots clés : la sardine, coliformes thermotolérants, Escherichia Coli, contamination fécale, poissons

Table des matières

| | |
|---|----|
| REMERCIEMENTS | |
| DEDICACES | |
| RESUME | |
| TABLE DES MATIERES | |
| LISTE DES ABREVIATIONS..... | |
| LISTES DES FIGURES | |
| LISTES DES TABLEAUX | |
| LISTES DES ANNEXES..... | |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | 2 |
| CHAPITRE I : LES PRODUITS DE PECHE..... | 2 |
| I. GENERALITE | 2 |
| I.1 Poisson..... | 2 |
| I.2 Classification des poissons | 2 |
| I.2.1 Classification selon la composition biologique | 3 |
| I.2.2 Classification selon le lieu de vie | 4 |
| I.3 Les facteurs déterminants la répartition des poissons | 5 |
| I.4 les poissons en Algérie..... | 5 |
| II. SPECIFICITES DE LA SARDINE..... | 6 |
| II.1 Définition | 6 |
| II.2 Classification et position systématique | 6 |
| II.3 Morphologie de l'espèce | 7 |
| II.4 La flore bactériologique (Sardine) | 8 |
| II.5 Taille de la sardine | 9 |
| II.6 Mode de vie et migrations | 9 |
| II.7 Distribution Géographique | 10 |
| II.8 Nutrition | 11 |
| III. EVOLUTION DE LA SARDINE APRES LA CAPTURE | 11 |
| III.1 Evolutions de la morphologie de la sardine après la capture | 11 |
| III.2 les changements organoleptiques | 12 |
| III.3 Contamination de la sardine..... | 13 |
| III.3.1 contamination par des germes pathogènes | 13 |
| III.3.2 Contamination par l'homme et l'animal | 13 |

| | |
|--|-----------|
| III.3.3 contamination par l'eau de pêche | 14 |
| III.3.4 contamination au bord de bateau | 14 |
| CHAPITRE II : LES ENTEROBACTERIES | 15 |
| I GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES | 15 |
| I.1 Définition des entérobactéries | 15 |
| I.2 Position taxonomique..... | 15 |
| II LES INDICATEURS DE CONTAMINATION FECALE..... | 16 |
| II.1 Coliformes totaux | 16 |
| II.2 Coliformes thermotolérants | 17 |
| III <i>ESCHERICHIA COLI</i> | 18 |
| III.1 Généralités | 18 |
| III.2 Classification et position taxonomique | 19 |
| III.3 Caractères bactériologiques..... | 19 |
| III.4 <i>E. coli</i> à tropisme intestinal..... | 19 |
| III.4.1 Les <i>E. coli</i> enterotoxigenes (ETEC) | 20 |
| III.4.2 Les <i>E. coli</i> enteropathogenes (EPEC) | 20 |
| III.4.3 Les shiga toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC)..... | 21 |
| III.4.4 Les <i>E. coli</i> enterohemorragiques (EHEC) | 21 |
| III.4.5 Les <i>E. coli</i> entero-invasives (EIEC)..... | 21 |
| III.4.6 Les <i>E. coli</i> adherentes invasives (AIEC) | 22 |
| III.4.7 Les diffuse-adhering <i>E. coli</i> (DAEC) | 22 |
| III.5 <i>E. coli</i> à tropisme extra-intestinal | 22 |
| III.5.1 Les <i>E. coli</i> uropathogenes (UPEC)..... | 23 |
| III.5.2 les <i>E. coli</i> associees a la meningite neonatale (NMEC) | 23 |
| III.5.3 <i>E. coli</i> pathogenes aviaires (APEC)..... | 23 |
| III.6 Mode de transmission et contamination par les toxines | 23 |
| III.6.1 Réservoir animal | 23 |
| III.6.2 Transmission à l'homme | 24 |
| PARTIE EXPERIMENTALE..... | 25 |
| I. OBJECTIF..... | 25 |
| II. ECHANTILLONNAGE | 25 |
| II.1 Espèce sélectionnée..... | 25 |
| II.2 Méthode de récupération des échantillons..... | 25 |
| II.3. Site de prélèvement..... | 26 |
| II.3.1 Le port de Bouharoun | 26 |

| | |
|--|-----------|
| II.3.2 Le port de Cherchell..... | 26 |
| II.4 Transport des échantillons | 27 |
| III. MATERIEL ET METHODE..... | 27 |
| III.1 Lieu d'étude | 27 |
| III.2 Méthode d'analyse bactériologique | 27 |
| III.3 Matériel utilisé durant toute l'étude..... | 28 |
| III.4 Préparation d'échantillons | 28 |
| III.4.1 La pesée | 28 |
| III.4.2 Le broyage..... | 29 |
| III.4.3 Préparation des dilutions | 29 |
| III.4.4 Préparation des milieux | 30 |
| III.4.4.1 Préparation de l'eau peptonée..... | 30 |
| III.4.4.2 Objectif de l'eau peptonée | 31 |
| III.4.4.3 Préparation de milieu VRBL..... | 31 |
| III.4.4.4 Objectif de milieu VRBL..... | 31 |
| III.4.4.5 Préparation de la gélose nutritive | 31 |
| III.4.4.6 Objectif de la gélose nutritive..... | 32 |
| III.5 Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes thermotolérants | 32 |
| III.5.1 Principe..... | 32 |
| III.5.2 Mode opératoire | 33 |
| III.5.3 Lecture..... | 33 |
| III.6 Protocole de recherche d' <i>Escherichia coli</i> | 34 |
| III.6.1 Purification des souches | 34 |
| III.6.2 Résultat..... | 35 |
| III.6.3 Test d'indole | 35 |
| III.6.4 LA METHODE ET RESULTAT..... | 35 |
| IV. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES | 36 |
| IV.1 Dénombrement des germes | 36 |
| IV.2 Méthode de dénombrement | 36 |
| IV.3 Méthode d'interprétation de résultats | 37 |
| RESULTATS ET DISCUSSION..... | 38 |
| I.1 Résultats du niveau de contamination aux coliformes thermotolérants par port | 38 |
| I.2 Résultats du niveau de contamination globale aux coliformes thermotolérants | 39 |
| I.3 La qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants des poissons par port..... | 40 |
| I.4 La qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants des poissons..... | 41 |

| | |
|---|----|
| I.5 Dénombrement bactériologique aux coliformes thermotolérants des poissons | 42 |
| II. TAUX DE LA CONTAMINATION A L'ESCHERICHIA COLI | 42 |
| II.1 Taux de la contamination à <i>Escherichia Coli</i> par port | 42 |
| III. DISCUSSION | 43 |
| IV. CONCLUSION | 45 |
| LES ANNEXES | |
| REFERENCES | |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|--|---|
| °C degré Celsius | Km kilomètre |
| µm Micromètre | LDC lysine décarboxylase |
| A/E lésions d'attachement et effacement | M mètre |
| AIDA-I adhesin involved in diffuse adherence | Mg Milligramme |
| AIEC <i>Escherichia Coli</i> adhérentes invasives | Mm Millimètre |
| ANP le peptide natriurétique atrial | Mmoles Millimoles |
| APEC <i>E. coli</i> pathogènes aviaires | NMEC la méningite néonatale <i>E. coli</i> |
| Cm Centimètre | OMS organisation mondiale de la santé |
| CT coliformes thermotolérants | ONPG Ortho-nitrophényl-β-galactoside |
| DAEC Les Diffuse-adhering <i>E. coli</i> | pH potentiel hydrogène |
| <i>E. coli</i> <i>Escherichia coli</i> . | SLT Shiga-like toxines |
| EAEC <i>Escherichia Coli</i> EntéroAggrégative | Sous-embr Sous Embranchement |
| EAggEC enteroaggrégative <i>E. coli</i> | ST toxines thermostables |
| EHEC <i>Escherichia Coli</i> EntéroHémorragiques | Stx Shigatoxines |
| EIEC <i>Escherichia Coli</i> Entéro-Invasives | TDA test direct à l'antiglobuline |
| EPEC <i>Escherichia Coli</i> EntéroPathogène | TMA Triméthylamine |
| ETEC <i>Escherichia coli</i> entérotoxino-gène | UPEC <i>E. coli</i> uropathogènes |
| ExPEC extra-intestinal pathogenic <i>E. coli</i> | UTI infections des voies urinaires |
| G Gramme | UTIs infections des voies urinaires |
| H2S Sulfure d'hydrogène | VP Voges-Proskau |
| <i>K. pneumoniae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> . | VT vérotoxines |

LISTES DES FIGURES

| | | |
|--------------------|--|-----------|
| Figure 1 : | classification des poissons en fonction de la profondeur de la mer (Françoise, 2002). | 5 |
| Figure 2 : | Pourcentages des différents types d'origine des espèces ichtyologiques Algérienne décrites selon leur origine (Lounaci, 2016). | 6 |
| Figure 3 : | <i>sardina pilchardus</i> (Walbaum, 1792). | 8 |
| Figure 4 : | Répartition géographique de la sardine européenne (FAO, 2013). | 10 |
| Figure 5 : | Signes d'altération de la sardine (branchie) (Berkel et al., 2004). | 12 |
| Figure 6 : | Résumé des effets pathologiques associés aux divers <i>E. coli</i> à tropisme intestinal. Adapté de (Nataro et Kaper, 1998). | 20 |
| Figure 7 : | Réservoirs et modes de transmission des <i>E. coli</i> producteurs de Shiga- toxine (Armstrong et al., 1996). | 24 |
| Figure 8 : | Port de Bouharoun (Paperblog, 2008) | 26 |
| Figure 9 : | Port de Cherchell (Alamy, 2014) | 27 |
| Figure 10 : | photo représente le matériel de saisir (photo personnelle2020) | 28 |
| Figure 11 : | Gestes pratiques pour obtenir la chaire de la sardine (photo personnelle, 2021) | 28 |
| Figure 12 : | Pesée des échantillons à l'aide d'une balance (photo personnelle2020) | 29 |
| Figure 13 : | le contenu de sac smacher avant et après le broyage (Photo personnelle2020) | 29 |
| Figure 14 : | Image montrant la méthode de réalisation des dilutions (Photo personnelle2020) | 30 |
| Figure 15 : | Préparation de milieu VRBL en couleur bordeaux et la gélose nutritive en couleur (Photo personnelle2020) | 32 |
| Figure 16 : | Image montrant les boîtes de Pétri contenant chaqu'une1ml avant d'ajouter le milieu VRBL (Photo personnelle2020) | 33 |
| Figure 17 : | boites de pétri contenant des coliformes thermotolérants (Photo personnelle2020) | 34 |
| Figure 18 : | la technique de purification (repiquage des colonies) (Photo personnelle2020) | 35 |

| | | |
|--------------------|---|-----------|
| Figure 19 : | boite de pétri de gélose nutritive après le repiquage (photo personnelle2020) | 35 |
| Figure 20 : | Deux Eppendorfs l'un montre une résultat négatif et l'autre positif (qui contient un anneau rouge) (photo personnelle2020) | 36 |
| Figure 21 : | Journal Officiel n° 39 du 2 Juillet 2017 | 37 |
| Figure 22 : | Le taux de contamination aux coliformes thermotolérants par port | 38 |
| Figure 23 : | taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants | 40 |
| Figure 24 : | Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants par port | 41 |
| Figure 25 : | Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants | 42 |
| Figure 26 : | Répartition des échantillons par taux de positivité au test Kovacs | 43 |
| Figure 27 : | les eaux usées se déversent dans la zone entre Bouharoun et Ain Tagourait | 44 |

LISTES DES TABLEAUX

| | | |
|---------------------|---|-----------|
| Tableau 1 : | La différence entre les poissons gras et les poissons maigres selon la teneur en lipides(Françoise et Stéphanie, 2010). | 4 |
| Tableau 2 : | la classification de la sardine (Walbaum, 1792) | 7 |
| Tableau 3 : | La contamination secondaire des poissons (Rozier, 1986). | 13 |
| Tableau 4 : | Principaux microorganismes indicateurs et index d'intérêt en santé publique (Pearson, 1926). | 16 |
| Tableau 5 : | Analyses statistiques de la contamination aux coliformes thermotolérants | 38 |
| Tableau 6 : | Analyses statistiques globale de la contamination aux coliformes | 39 |
| Tableau 7 : | taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants | 39 |
| Tableau 8 : | Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants par port | 40 |
| Tableau 9 : | Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants | 41 |
| Tableau 10 : | récapitulatif de dénombrement de coliformes TT (Port de Bouharoun) | 42 |

LISTES DES ANNEXES

Annexe 1 : Concentration minimale en oxygène dissous en concentration maximale en ammoniacque observées dans les stations où les espèces sont présentes (au moins 1 individu capturé) (d'après **PHILIPPART et VRANKEN, 1983**).

Annexe 2 : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries (**Croize, 1999**).

INTRODUCTION

La côte Algérienne est divisée en quatorze wilayas maritimes. Chaque wilaya renferme un certain nombre de ports qui ont connu des mutations depuis l'indépendance et ce n'est qu'en l'an 2000 qu'il y a eu l'installation d'un ministère de la pêche et des ressources halieutiques (**Drara et Bouterait, 2014**).

La côte Algérienne est riche en poissons, mollusques et crustacés dont la sardine est la plus importante représentant un aliment de choix des Algériens au pouvoir d'achat plus ou moins faible ; en plus de ses qualités nutritionnelles.

La sardine a une chair particulièrement altérable mais généralement saine au moment de la pêche. Par-contre, des composés toxiques et des micro-organismes pathogènes présents dans l'eau de mer peuvent se retrouver dans les intestins et les viscères de ce poisson et par conséquent nous les retrouvons par le manque d'hygiène et/ou par mauvaise conservation ou manipulation dans la denrée qui peuvent avoir plusieurs origines à n'importe quel stade de la chaîne de vente jusqu'aux consommateurs, ce qui met en danger la santé de ce dernier (**Parigi, 1996**), sachant que le pourcentage de pertes après capture et détérioration de la qualité des produits est élevé, avec tous les risques qui en découlent pour la santé du consommateur.

Devenant vite impropre à la consommation et même dangereux pour la santé du fait des contaminations chimiques et/ou des proliférations microbiennes notamment les coliformes thermotolérants sujet de notre recherche.

Pour compléter les études de **Karim hammache** en 2019 Notre étude est divisée en deux parties :

- La première partie consacrée à une synthèse bibliographique qui d'intéresse aux poissons, aux coliformes thermotolérants et à l'*Escherichia Coli* et les dangers sanitaires qu'engendre sa présence dans les denrées alimentaires.
- La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale qui englobe le matériel utilisé et les coliformes thermotolérants et à *Escherichia Coli* ainsi qu'une discussion des résultats obtenus et enfin des recommandations.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES PRODUITS DE PECHES

I. GENERALITE

Les produits de pêches regroupent des espèces animales de biologiques, de tailles et d'origines très différentes, de plus de 230000 espèces dont 150000 de poissons, crustacés, coquillages, mollusques et céphalopodes. Ce sont des animaux marins ou d'eau douce, sauvage ou d'élevage.

I.1 Poisson

Les poissons sont des animaux aquatiques qui font partie des vertébrés, ils possèdent des branchies qui leur permettent de respirer sous l'eau, et nagent grâce à leurs nageoires.

Il existe environ 28000 espèces de poisson dans le monde, et il s'en découvre chaque année de nouvelles (**Eastman, 2005**).

Ils ont des formes extrêmement variées. Il y en a qui sont arrondis, d'autres qui sont allongés et presque cylindriques comme des serpents (les Anguilles, par exemple), mais parmi eux, la forme oblongue, comprimée latéralement, atténuée aux deux extrémités et surtout à l'extrémité postérieure, est la plus ordinaire (**Blanchard, 1866**).

I.2 Classification des poissons

La science qui étudie les poissons s'appelle ichthyologie (du grec : *ichthy* : poissons et *logos* : science). La plupart des ichthyologistes utilisent la méthode de classification qui classe les organismes strictement selon l'ancêtre commun le plus récent.

Actuellement les espèces vivantes sont classées en plus de 27000 espèces de poisson (**Thurre et Kurht, 2006**) Dont 67 espèce en Algérie réparties en 27 familles (6 espèces autochtones et 20 introduites) (**Lounaci, 2012**).

Les poissons sont désormais répartis en 2 groupes :

A- **Les poissons sans mâchoires (agnathes)** sont des poissons primitifs, dont ne subsistent plus que deux groupes :

- Les lamproies
- Les myxines

B- **Les poissons avec mâchoires (gnathostomes)** sont subdivisés en 2 catégories :

1- Les poissons cartilagineux (trois groupes), essentiellement marins et souvent prédateurs :

- Les requins
- Les raies
- Les chimères

2- Les poissons osseux : ils constituent les groupes de poissons le plus vaste et le plus varié, dont on distingue notamment :

- Les poissons à nageoires charnues : dipneustes et cœlacanthes
- Les poissons à nageoires rayonnées primitifs : esturgeons
- Les autres poissons à nageoires rayonnées.

La classification des poissons a changé au cours des années : elle évolue en fonction des résultats des recherches scientifiques. (**Thurre et Kurht, 2006**).

I.2.1 Classification selon la composition biologique

On les classe généralement en 3 groupes (**Françoise et Stéphanie, 2010**) (**Tableau 1**) :

- Poissons maigres (0,5 % à 5 %) : merlan, sole, dorade, morue (ou cabillaud), truite, colin etc. ; ainsi que mollusques et crustacés,
- Poissons demi-gras (5 % à 10 %) : maquereau, sardine, saumon, thon
- Poissons gras (> 10 %) les moins nombreux : anguille, hareng

Tableau 1 : La différence entre les poissons gras et les poissons maigres selon la teneur en lipides (Françoise et Stéphanie, 2010) :

| Teneurs en lipides totaux | Teneur en oméga 3 à longue chaîne (EPA et DHA) | Espèces de poissons ⁽¹⁾ |
|----------------------------|--|---|
| Poissons gras (>2 %) | Forte teneur (3 g/100 g) | Saumon, Sardine, Maquereau, Hareng, Truite fumée |
| | Teneur moyenne (1,4 g/100 g) | Rouget, Anchois, Pilchard, Bar ou Loup, Truite, Dorade, Turbot, Eperlan, Brochet, Flétan. |
| Poissons maigres (<2 %) | Faible teneur (0,3 g/100g) | Thon (conservé), Colin ou lieu noir, Cabillaud, Merlan, Sole, Julienne, Raie, Merlu, Baudroie ou Lotte, Carrelet ou Plie, Limande |

I.2.2 Classification selon le lieu de vie

L'habitat correspond au lieu où vit l'espèce et à son environnement. En effet, les différentes espèces de poissons ne sont pas distribuées au hasard dans les systèmes aquatiques mais elles se répartissent en fonction de leurs exigences biologiques et écologiques (Audrey, 2005), Différents types de poissons vivent également à différentes profondeurs dans la mer (Gafred et Ismail, 2009).

Parmi les nombreux paramètres pouvant caractériser l'habitat, il faut considérer qu'un poisson, à chacune des étapes de son existence, doit faire face à 3 exigences fondamentales :

1. Se protéger des contraintes du milieu (courant, oxygène, température, etc....)
2. Se nourrir dans les meilleures conditions
3. Se reproduire à l'état adulte, dans les conditions les plus favorables

L'habitat de poissons ne se trouve pas qu'en pleine nature !

En fait, tout milieu où il y a de l'eau, même de façon périodiques peut être vital pour les poissons (Sebaste, 2010) (Figure 1).

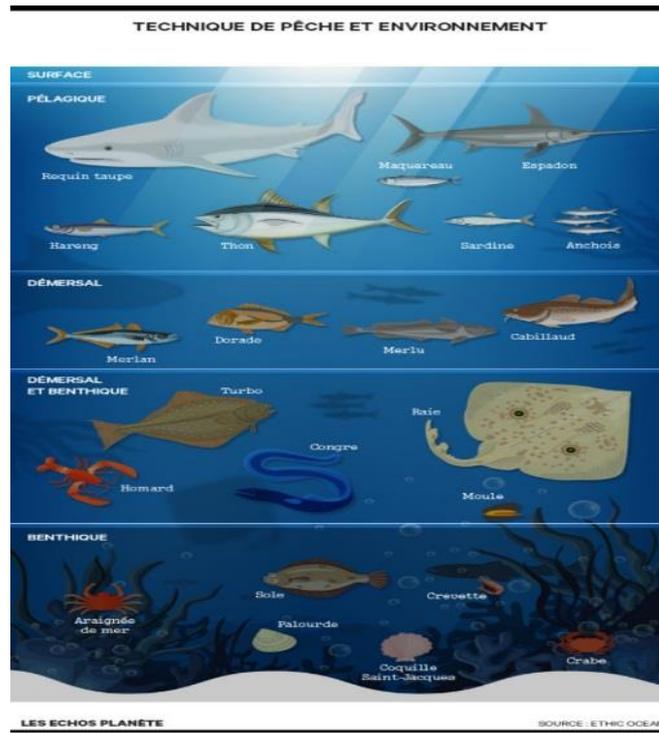


Figure 1 : classification des poissons en fonction de la profondeur de la mer.

(Françoise, 2002)

I.3 Les facteurs déterminants la répartition des poissons

La présence d'une espèce en un point donné dans les limites de son aire de répartition générale dans le bassin hydrographique considéré est liée à l'existence de conditions géomorphologique, hydrauliques, thermique et chimiques de milieu qui permettent sa reproduction et sa survie aux différents stades de son développement, En plus de prendre en compte d'autres facteurs tels que la vitesse du courant, le substrat de fond, la température, les besoins en oxygène dissous, la tolérance au PH et la sensibilité à l'ammoniaque (**Annexe 1**) (**Van Beneden, 1989**).

Il en résulte une structuration des peuplements marquée à la fois par des modifications de l'amont vers l'aval et des différenciations régionales (**Jérôme et al., 2009**).

I.4 les poissons en Algérie

La longueur de la côte algérienne est estimée à 1280 km et se compose de 31 ports de pêche, La richesse marine algérienne est estimée à 600 mille tonnes par an, dont 220 mille tonnes peuvent être capturées annuellement (**Drara et Bouterbiat, 2014**).

L'ichtyofaune des eaux continentales d'Algérie est composée de 64 espèces réparties en 22 familles et 45 genres. 37 sont natives dont 6 sont endémiques et 29 introduites (**Figure 2**) (**Lounaci, 2016**).

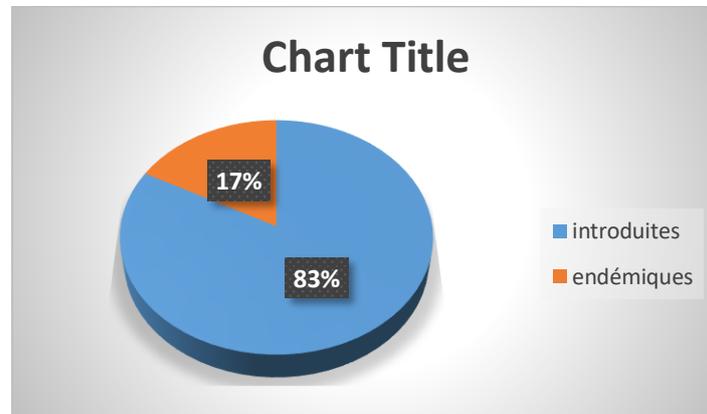


Figure 2 : Pourcentages des différents types d'origine des espèces ichtyologiques Algérienne décrites selon leur origine (**Lounaci, 2016**).

II. SPECIFICITES DE LA SARDINE

II.1 Définition

Le terme « la sardine » est apparu en XIII siècle. Il vient de l'expression latine *Sardaesine sardinae*, littéralement « poissons de sardeigne » (**Larousse, 1971**).

Les sardines appartiennent à un groupe taxonomique complexe qui regroupe les poissons pélagiques marins ou dulçaquicoles.

Historiquement on sépare la sardine atlantique en quatre races distinctes : saharienne, marocaine, ibérique et atlantique septentrionale. La population du golfe de Gascogne appartiendrait à la race de l'atlantique septentrionale, et serait divisée elle-même en deux formes : armoricaine et aquitaine (**Benderradji, 1997**).

II.2 Classification et position systématique

La sardine commune est classée dans le **tableau 2** :

Tableau 2 : la classification de la sardine (Walbaum, 1792)

| | |
|---------------|---------------------------|
| Règne | <i>Animalia</i> |
| Embranchement | <i>Chordata</i> |
| Sous-embr. | <i>Vertebrata</i> |
| Super-classe | <i>Osteichthyes</i> |
| Classe | <i>Actinopterygii</i> |
| Sous-classe | <i>Neopterygii</i> |
| Infra-classe | <i>Teleostei</i> |
| Super-ordre | <i>Clupeomorpha</i> |
| Ordre | <i>Clupeiformes</i> |
| Sous-ordre | <i>Clupeoidei</i> |
| Famille | <i>Clupeidae</i> |
| Genre | <i>Sardina</i> |
| Espèce | <i>Sardina pilchardus</i> |

II.3 Morphologie de l'espèce

La sardine a un corps conique, mais plus élevée et plus comprimé latéralement et le ventre possède une rangée de flocons rigide et pointu (Louisy et Trainito, 2006).

Carène ventrale peu développer mais visible de la gorge à l'anus, nageoire dorsal débutant de l'origine des nageoires pelviennes (Figure 3), opercule présentant des stries rayonnantes très prononcées (Clofman, 1984). La ligne latérale non visible. La sardine est pourvue d'une mâchoire supérieure non échancrée et d'une mâchoire inférieure n'atteignant pas le bord postérieur de l'œil (Djabali et al., 1993), ses écailles sont grandes, minces, caduques, argentées et se détache facilement recouvrent une autres couches d'écailles plus petites (Muss et al., 1998).

Le dos de la sardine est bleu-vert, les flancs brillants et argentés sont marqué d'une bande longitudinale aux reflets dorés, le ventre est d'un blanc argenté. Souvent à l'arrière de l'opercule se dessine quelques points noirs mais aucune ligne latérale ne marque les flancs (Josiane, 2006).

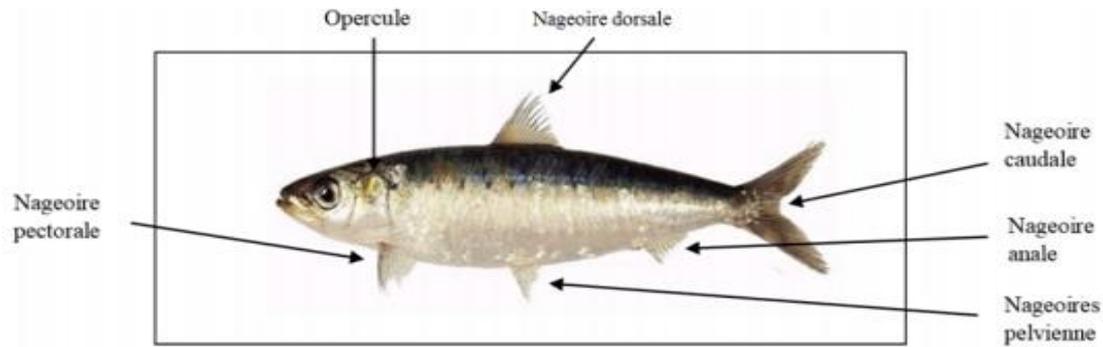


Figure 3 : *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792).

II.4 La flore bactériologique (Sardine)

Les poissons sains, vivants ou fraîchement pêchés, sont stériles car le système immunitaire du poisson empêche les bactéries de se multiplier et proliférer dans la chair (Benchegra, 2012).

En ce qui concerne la chair de la sardine, elle est stérile. Les régions contaminées sont les branchies, le mucus qui recouvre la peau et le tube digestif. La flore intestinale est constituée des bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *flavobacterium*, *Serrattia*, *Sarcina*, *Proteus*. On en rencontre sur toutes les surfaces externes (peau et branchies) et dans les intestins estime les chiffres à : (Selidja et Elhirtsi, 2017).

- Sur les branchies 10^3 à 10^9 germes/g.
- Dans les viscères 10^3 à 10^9 germes/g.
- Sur la peau 10^2 à 10^7 germes/g.

Cependant, les muscles de la sardine vivante ou fraîchement capturé sont indemnes de micro-organismes, et les germes endogènes ne les détériorent pas. Mais le muscle de la sardine reste un milieu propice au développement de microorganismes car il est très riche en éléments nutritifs.

Ce poisson bleu a de plus une activité métabolique rapide. D'où la nécessité de le conserver au froid aussitôt que possible (Hansen et Jensen, 1982).

II.5 Taille de la sardine

Maximum :

- 22 Cm en Méditerranée.
- 17 Cm en mer noire.
- 25 Cm dans l'atlantique.

Commune :

- 10 à 25 Cm en Méditerranée.
- 06 à 08 Cm en mer noire. (FAO, 1983)

D'après les travaux de (Mouhoub, 1986) ; la croissance en taille des sardines de la région d'Alger est comparable à celle d'autre région méditerranéenne et qu'aucun individu n'excédait la taille de 20cm.

Les paramètres de la relation taille poids pour la sardine ont fait l'objet de nombreux travaux dans la méditerrané et l'atlantique. La taille de premières maturités sexuelles de la sardine *Sardina pilchardus* varie selon les années et la zone considérée. Cette variabilité est due à la date de déclenchement de la ponte (ponte précoce ou tardive selon les années) et du recrutement annuel correspondant (Abad et Giraldez, 1993).

II.6 Mode de vie et migrations

La sardine commune *pilchardus* est un poisson pélagique vit en bancs parfois très importants dans les eaux côtières et le plateau continental à une profondeur maximale de 150 m et sa présence est souvent associée à celle de l'anchois (Abad et Giraldez, 1998). La distribution est conditionnée par la température de l'eau. Pendant le jour, les sardines forment des bancs très denses entre le fond et la surface (de 30 m à 50 m de la surface), alors que la nuit elles sont plus dispersées et restent à une profondeur n'excédant pas 35m (entre 15 et 40 m de la surface) (Whitehead, 1985).

En revanche, si la sardine est moins abondante, les bancs seront composés de plusieurs espèces de petits pélagiques, notamment des anchois et/ou des chinchards (Laurent, 2005). En plus de ses migrations journalières, la sardine effectue de plus grands déplacements en fonction des saisons. Ces migrations sont probablement conditionnées par l'âge des individus,

la présence de nourriture, la reproduction et les conditions thermiques du milieu (**Olivar et al., 2001**). Elles migrent en automne vers le large, alors qu'au printemps, elles se rapprochent de la côte. Des déplacements le long de la côte ont également été observés (**Tosello-Bancal, 1994**).

De la même façon, les lieux de ponte sont influencés par les variations saisonnières, lesquelles imposent des migrations aux sardines.

II.7 Distribution Géographique

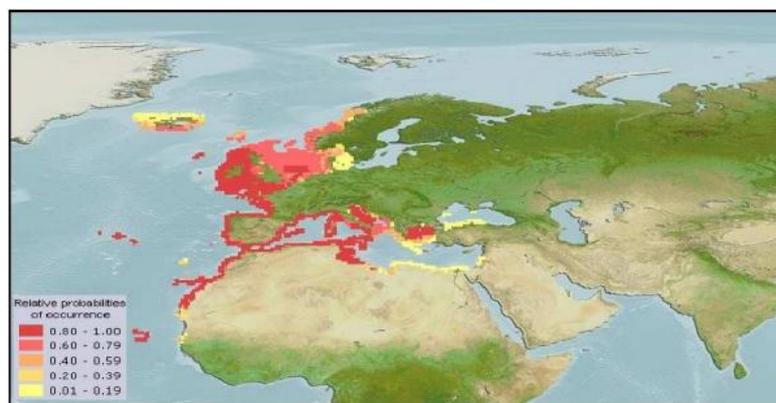


Figure 4 : Répartition géographique de la sardine européenne (**FAO, 2013**).

La sardine commune vit en Atlantique, son aire de répartition s'étend de mer de nord-est depuis la Norvège et l'Écosse jusqu'à la côte saharienne en Mauritanie (**Figure 4**) (**Parrish et al., 1989**).

Elle est rare dans le bassin oriental méditerranéen, et absente au large des cotés libyennes (**Quero et Vayne, 1997 ; Whitehead et al, 1986**).

Périodiquement et selon les anomalies de température de l'eau, l'aire de répartition de *sardina pilchardus* a vu ses limites se délater ou se rétracter. Au milieu des années 1960-1970, la limite sud de l'extinction de l'espèce s'est prolongée jusqu'au Sénégal et s'est reculée dans le nord durant les années suivantes (**Binet et al., 1998**).

II.8 Nutrition

La sardine utilise deux modes de nutrition : le "particulate-feeding" qui est une prise de nourriture volontaire par la bouche, et un "filter-feeding" qui représente la filtration de petites particules grâce aux branchies. La filtration est utilisée pour les petites proies inférieures à 724 μm , tandis que le mode particulaire est utilisé pour les proies supérieures à 780 μm (**Garrido et al., 2007**).

Des diatomées, des dinoflagellés peuvent être considérées comme des composantes de l'alimentation de la sardine (**Borme et al., 2013 ; Costalago et al., 2011; Jemaa et al., 2015**).

Il s'agit d'une espèce planctophage (**Forest, 2001**), grâce à la présence de phycotoxines produites par la diatomée *PseudoNitzschia* dans les tissus de la sardine prouve l'ingestion de phytoplancton (**Costa and Garrido, 2004**).

III. EVOLUTION DE LA SARDINE APRES LA CAPTURE

III.1 Evolutions de la morphologie de la sardine après la capture

La peau, le mucus, les branchies et le tractus gastro-intestinal du poisson hébergent une microflore importante, la chair du poisson vivant reste toujours saine. C'est donc après la capture et/ou mort du poisson que plusieurs changements interviennent pour dégrader sa qualité (**Huss, 1988 ; Leduc, 2011**).

Ce poisson bleu a de plus une activité métabolique rapide. D'où la nécessité de le conserver au froid aussitôt que possible (**Hansen et al., 1982**).

Dès la mort du poisson, il se met en place un processus d'altération qui fait intervenir largement l'autolyse. Les enzymes digestives du poisson détruisent la barrière intestinale, et permettent la dissémination des germes présents (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

D'après (**Parigi, 1996**), la chair du poisson s'altère plus rapidement que la viande des autres mammifères à cause de multiples raisons dont :

- a. La teneur en eau très élevée.
- b. La qualité réduite du tissu conjonctif.
- c. La concentration importante d'azote extractible.
- d. La présence de lipides fortement insaturés.

Les caractéristiques d'une sardine avariée par apport à une sardine fraîche sont les suivants : une chair molle avec traces de sang de couleur brune, au lieu de chair ferme avec sang rouge, des pupilles rouges laiteuses, au lieu de pupille claires, une colonne se détache facilement, au lieu d'une colonne se brise, des branchies rouges foncé et visqueuses (**Figure 5**), au lieu de branchies rouge vif (**Berkel et al., 2004 ; FAO, 2009**).



Figure 5 : Signes d'altération de la sardine (branchie) (**Berkel et al., 2004**).

III.2 les changements organoleptiques

Les changements organoleptiques ou sensoriels sont ceux perçus par les sens, c'est-à-dire : Apparence, odeur, texture, et gout (**FAO, 2000**).

Les mauvaises odeurs traduisent les altérations biochimiques d'un produit et sont souvent de très bons indicateurs d'altérations (**Jacobsen, 1999**).

La flaveur qui rassemble à la fois les sensations gustatives (saveur) et olfactives (odeur) apparait aussi comme un paramètre déterminant de l'acceptabilité du poisson par les consommateurs. Selon plusieurs auteurs (**Regost, 2001**), divers composés odorants sont caractéristiques des poissons frais, des poissons post-mortem, des poissons conservés ou des poissons ayant subi différents traitements technologiques (cuisson, salage, fumage, séchage-salage, fermentation, etc.).

Les acides aminés libres, les peptides, les acides organiques et les minéraux, généralement hydrosolubles, sont les principaux composés responsables de la saveur chez le poisson (**Haard, 1992 ; Cowey, 1993**). Cependant, la composition et la qualité des régimes alimentaires utilisés en aquaculture peuvent aussi influencer la flaveur de la chair des poissons (**Lefèvre, Bugeon, 2008**).

III.3 Contamination de la sardine

III.3.1 contamination par des germes pathogènes

Les sources exogènes de contamination des produits de la pêche sont nombreuses ; les produits de la pêche subissent au cours de diverses opérations plusieurs manipulations. Il en résulte un transfert important de germes de contamination humaine vers le produit (**Tableau 3**). Selon (**Rozier, 1986**), ce transfert fait intervenir deux types de vecteurs :

- A. Les vecteurs animés (Les vecteurs sont des agents de contamination ou des éléments de transfert des germes de certains sites jusqu'à l'aliment : homme, animal).
- B. Les vecteurs inanimés (Il s'agit des facteurs de l'environnement et de tous les instruments qui entrent en contact avec les produits tout au long de leur vie économique : l'air, l'eau, matériels).

Tableau 3 : La contamination secondaire des poissons (**Rozier, 1986**)

| | GROUPE DES BACTERIES | | TAUX |
|--|--------------------------|--------------------------------|---|
| | Gram + (2-3 %) | Gram – (95 %) ^(*) | |
| Contamination secondaire ou endogène | | <i>Morganella (ex Proteus)</i> | Peau 10 ³ -10 ⁶ /cm ² |
| | | <i>Klebsiella</i> | |
| | <i>Staphylococcus sp</i> | <i>Enterobacter</i> | Ecailles 10 ² -10 ⁹ /cm ² |
| | <i>Clostridium sp</i> | <i>Escherichia coli</i> | |
| | <i>Streptococcus sp</i> | <i>Citrobacter</i> | |
| | | <i>Shigella</i> | |
| | | <i>Salmonella</i> | |

^(*)Entérobactéries d'origine humaine

III.3.2 Contamination par l'homme et l'animal

De mauvaises méthodes de manipulation peuvent endommager le poisson frais ce qui peut accélérer la décomposition et accroître inutilement les pertes après récolte.

L'homme est le principal agent responsable des contaminations des poissons soit directement ou indirectement par manipulation défectueuse des vecteurs inanimés (**Petit, 1987**), et il constitue la principale source de contaminations exogène des poissons surtout la sardine. (**Rozier, 1986**).

Ainsi, l'homme chargé de la préparation, de la manipulation, de la récolte et de la commercialisation des denrées alimentaires est responsable de ces contaminations directes et indirectes du produit. Il peut alors contaminer les denrées activement ou passivement.

L'animal est un vecteur animé de la contamination des poissons. Les animaux domestiques (chiens et chats), les rongeurs (rats et souris), les reptiles (lézards et margouillats) ainsi que les insectes (mouches en particuliers) peuvent constituer des réservoirs pour divers germes tels que les *Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Salmonelles* (**Rozier, 1986**).

III.3.3 contamination par l'eau de pêche

La microbiologie du milieu aquatique va conditionner de façon importante celle des poissons, l'eau des rivières, des lacs, et des marées. Elles contiennent une flore importante, ces eaux peuvent être extrêmement polluées par les rejets humains et animaux contenir donc des germes pathogènes. Les pathogènes apportés par cette voie sont principalement des organismes à transmission fécale (*enterobacteriaceae*) (**Goumba, 2002**).

L'eau de mer contient une flore voisine de celle des eaux douces, mais cette flore est adaptée aux conditions de salinité. La flore de l'eau de mer varie en fonction de nombreux facteurs : proximité ou éloignement des côtes, surface ou profondeur, température etc. (**Petit, 1987**).

Chez les poissons, les germes contaminant se rencontrent généralement dans les branchies, dans l'intestin, et sur la peau (**Huss, 1999**).

III.3.4 contamination au bord de bateau

La contamination peut déjà voir lieu à bord du bateau, par contact avec les surfaces et le matériel souillé (caisses, couteaux, glace, de mauvaise qualité bactériologique).

Cette contamination à bord dépend du mode de capture et des installations disponibles. Il faut éviter d'exposer le poisson à la lumière solaire directe et de l'endommager au cours des manipulations, ce qui faciliterait la contamination et la prolifération microbiennes. Il y a intérêt pour cela, dans le cas des poissons pêchés aux lignes, qui sont généralement remontés vivants, à les assommer immédiatement après la prise (**FAO et OMS, 1973**).

Le lavage par des eaux contaminées peut parfois expliquer l'apport de germes dangereux. De nombreux autres ont souligné l'importance d'une éviscération complète (**Guthman, 1991**).

CHAPITRE II : LES ENTEROBACTERIES

I Généralités sur les entérobactéries

I.1 Définition des entérobactéries

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie (Cartier et Moevi, 2007). Elle comprend 130 espèces actuellement répertoriées (Bouazza et Bouakka, 2016).

La famille des entérobactéries comprend plusieurs genres bactériens dont certains sont les hôtes principaux du tube digestif de l'Homme et des animaux. Ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensal (EL Bouamri, 2017). Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Par leur particularité métabolique, certaines entérobactéries participent au cycle naturel des matières organiques, d'autres peuvent coloniser et dégrader des produits agroalimentaires ou encore provoquer des maladies parfois graves chez l'homme ou chez l'animal (Cristian, 2008).

I.2 Position taxonomique

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. *Enterobacteriaceae*. Si le nom de famille est toujours maintenu, en revanche le classement des bactéries dans la famille a beaucoup évolué (Joly et Reynaud, 2007).

- Domaine : *Eubacteria*.
- Phylum XII : *Proteobacteria*.
- Classe : *Gammaproteobacteria*.
- Ordre : *Enterobacteriales*.
- Famille : *Enterobacteriaceae*.

44 genres dont les genres récents *Alterococcus*, *Arsenophorus*, *Brenneria*, *Pectobacterium*, *Raoultella*, *Samsonia*, *Sodalis* (Delarras, 2007).

Les genres de cette famille sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersinia* et *Erwiniae* (Larpent, 2000).

II. Les indicateurs de contamination fécale

Ce sont des microorganismes habituellement retrouvés en faible concentration dans l'environnement ce qui rend difficile leur détection et leur identification. De plus, les techniques disponibles pour leur découverte sont trop coûteuses pour être utilisées de façon routinière (Pearson, 1926).

Ces microorganismes pathogènes transmis par l'eau sont en grande majorité d'origine fécale, les méthodes d'estimation de la qualité microbiologique de l'eau potable et les différents aliments ont depuis le début été conçues pour détecter des microorganismes qui justifieraient la présence de matières fécales dans l'eau. Ces microorganismes sont nommés les indicateurs de contamination fécale. L'OMS fait à l'avenir la distinction entre trois groupes de microorganismes indicateurs **Tableau 4 (Pearson, 1926)**.

Tableau 4: Principaux microorganismes indicateurs et index d'intérêt en santé publique (Pearson, 1926)

| Groupe | Définition | Exemple |
|------------------------|--|--|
| Indicateurs de Procédé | Un groupe d'organismes qui démontrent l'efficacité d'un procédé de traitement | Les bactéries hétérotrophes Aérobies et anaérobies, Facultatifs ou les coliformes, Totaux pour la désinfection au Chlore |
| Indicateurs fécaux | Un groupe d'organismes qui indiquent la présence de contamination fécale | Les coliformes Thermotolérants ou les <i>Escherichia coli</i> suggèrent, tout au plus, la présence de microorganismes pathogènes |
| Microorganismes Index | Un groupe d'organismes qui indiquent la présence et l'état d'organismes pathogènes | <i>Escherichia coli</i> comme Index des Salmonella et les coliphages comme index des virus entériques humains |

II.1 Coliformes totaux

Le terme coliforme est utilisé depuis longtemps par les bactériologistes pour désigner un Groupe de bactéries qui peuvent être employées comme indicateurs de contamination fécale (Sibille et al., 1998 ; Pearson, 1926).

Les coliformes totaux sont facilement isolables des fèces humaines et de l'eau contaminée par la matière fécale ; la plupart (50-100%) des coliformes totaux isolés de la matière fécale sont des *E. coli* (Neu et al., 1997). Et il était donc admis que la détection des coliformes totaux reflétait la présence d'*E. coli* (Medema et al., 1997).

Ce groupe de bactéries est aujourd'hui défini par l'OMS comme étant des bâtonnets à Gram négatif, positifs pour la catalase et négatifs pour l'oxydase, capable de croître en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose à 35-37°C en produisant de l'acide, du gaz et de l'aldéhyde en 24-48 heures (Dworzanski et al., 1997). Aussi compris dans ce groupe sont les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* qui sont positifs pour la β -galactosidase.

Plusieurs coliformes, telles que celles appartenant aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Morganella* et *Proteus*, sont non pathogènes pour la grande majorité et font partie de la flore normale du Tractus gastro-intestinal, alors que d'autres sont des pathogènes opportunistes, telles les espèces du genre *Salmonella*, *Shigella*, l'espèce *Yersinia pestis*.

Les coliformes totaux sont aujourd'hui utilisés comme indicateur de procédé des Systèmes de traitement de l'eau et de moins en moins tant qu'indicateur de contamination fécale (Carrillo et al., 1985).

II.2 Coliformes thermotolérants

Les bactéries formant ce sous-groupe des coliformes thermotolérants se distinguent de ces dernières par leur capacité à fermenter le lactose et à produire du gaz et de l'acide à des températures de $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ en 24 ± 2 heures. On croyait d'abord que les bactéries ayant la capacité de croître à des températures élevées étaient nécessairement d'origine fécale, on les appelait donc les coliformes fécaux.

De nombreuses études ont par la suite démontrées que certains de ces coliformes thermotolérants (CT) étaient retrouvés dans l'environnement en absence de contamination fécale (Davies et al., 1995). Provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe et al., 1998 ; OMS, 2000). On remplaça donc le terme « coliformes fécaux » par «

coliformes thermotolérants ». Ce dernier sera d'ailleurs privilégié dans ce mémoire, Malgré que le terme de microbiologie le plus adéquat pour désigner ce groupe d'indicateurs est « coliformes thermotrophes » (OMS, 1994).

L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (Ceaq, 2000). Par ailleurs, puisque les coliformes fécaux ne prolifèrent habituellement pas dans un réseau de distribution, ils sont utiles pour vérifier son étanchéité, permettant de détecter une contamination fécale découlant par exemple d'infiltrations d'eau polluée dans les canalisations (Awwa, 1990). Ils sont aussi de bons indicateurs de l'efficacité du traitement de l'eau, mais comme leur nombre est moins élevé que celui des coliformes totaux, ces derniers leur sont préférables pour cette fonction.

Les CT forment le groupe de microorganismes le plus communément utilisé en tant qu'indicateur de contamination fécale et ce malgré que certains de ses membres soient parfois retrouvés dans l'environnement. *Escherichia coli* représente 94% des CT (Barthe et al., 1998 ; Edberg et al., 2000). Alors que les autres espèces, telles les *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter* ne représentent que 3.2 à 7.4% (OMS, 2004 ; Elmund et al., 1999 ; Edberg et al., 2000).

III *ESCHERICHIA COLI*

III.1 Généralités

Escherichia coli a été décrit pour la première fois en 1885 par Theodore Escherich comme étant *Bacterium coli* commune (Escherich, 1885). Ce microorganisme fait maintenant partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Holt et al., 1994). *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril et al., 2000).

Elle est retrouvée en abondance dans la flore commensale de l'homme et des animaux. *E. coli* est l'une des espèces bactériennes la plus souvent impliquée en pathologie infectieuse (Pilet et al., 1979).

III.2 Classification et position taxonomique

Plusieurs approches moléculaires ont permis d'élaborer une signature génétique permettant de classer l'espèce *E. coli* indépendamment des notions de *E. coli* commensal et pathogène.

Classification (**Castellani et Chalmers, 1919**) :

- Domaine : *Biota*
- Règne : *Bacteria*
- Phylum : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Enterobacteriales*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli*

III.3 Caractères bactériologiques

Les *Escherichia coli* sont des bacilles à coloration de Gram négative mobiles grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates. Ces bactéries sont catalase positives et ne possèdent pas d'oxydase (**Le Minor et al., 1990**).

Fermentent le glucose avec production de gaz et dégradent le lactose, ils sont ONPG (+), urée (-), LDC (+), RM (+), VP (-), TDA (-), H₂S (-) et ils n'utilisent pas le citrate (**Jean, 1998**).

Escherichia coli se distingue des autres coliformes par sa capacité à produire de l'indole à partir de tryptophane. Ces caractéristiques sont utilisées pour l'isolement sélectif et la confirmation de différents processus analytiques (**Iso, 2001**).

La température optimale de culture est de 44.1°C Sur milieu gélosé ordinaire, les colonies sont lisses, arrondies parfois muqueuses.

III.4 *E. coli* à tropisme intestinal

Les *E. coli* à tropisme intestinal sont classés en 6 pathotypes principaux (**Smith, 1992 ; Law 1994 ; Polotsky et al., 1994**). Les effets pathogéniques des divers pathotypes de *E. coli*

à tropisme intestinal sont schématisés à la **figure 6**, et les prochaines sections seront consacrées à résumer les principaux mécanismes de virulence de chacun des pathotypes énumérés.

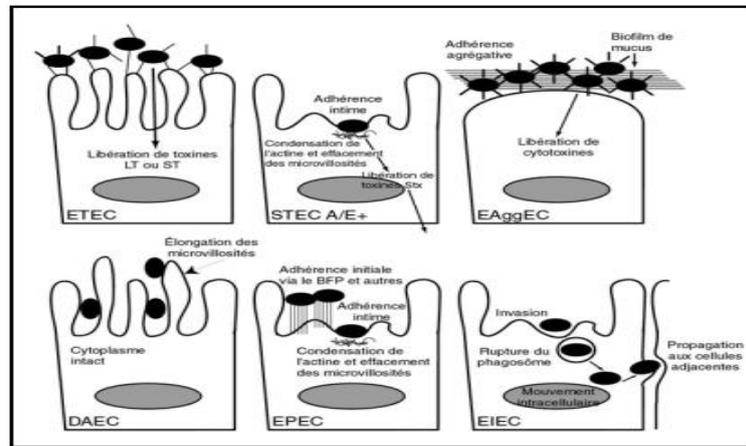


Figure 6 : Résumé des effets pathologiques associés aux divers *E. coli* à tropisme intestinal.

Adapté de (Nataro et Kaper, 1998)

III.4.1 Les *E. coli* enterotoxinogènes (ETEC)

Les ETEC sont responsables de désordres intestinaux chez l'humain (Nataro et Kaper, 1998), et d'autres espèces animales (diarrhée) (Gyles et Fairbrother, 2004).

Le mécanisme d'induction de la diarrhée par les ETEC est très bien connu aujourd'hui, les ETEC possèdent des adhésines fimbriaires telles F4 (K88), (Nataro et Kaper, 1998 ; Gyles et Fairbrother 2004), leur permettant d'adhérer à la muqueuse intestinale et ainsi, produire une ou plusieurs entérotoxines, soit la toxine thermolabile LT (heat-labile enterotoxin), soit les toxines thermostables STa et/ou STb (heat-stable enterotoxin) (Hacker, 1992). Ces toxines stimulent la sécrétion de fluide intestinal et amènent ainsi l'apparition de diarrhée (Hacker, 1992). Les ETEC demeurent à une certaine distance de la cellule hôte et n'induisent pas de changement morphologique (Fairbrother, 1992).

III.4.2 Les *E. coli* enteropathogènes (EPEC)

Les EPEC sont responsables de désordres intestinaux chez d'autres espèces animales, en particulier chez le porc, le lapin, le chien, les bovins, les agneaux, les chevaux, les chats (Moxley et Francis 1986 ; Sherman et al., 1988 ; Janke et al., 1989) et les singes (Carvalho et al., 2003).

Il a été possible de différencier 2 groupes d'EPEC, soit les EPEC de clone 1 (expriment l'antigène flagellaire H6) et les EPEC de clone 2 (expriment l'antigène H2) (**Frankel et al., 1998a**).

L'efficacité des EPEC repose sur leur capacité à adhérer intimement aux cellules hôtes, à causer l'effacement des microvillosités et à induire une réorganisation du cytosquelette sous le site de liaison (**Frankel et al. 1998a ; Neves et al. 1998a**).

III.4.3 Les shiga toxin-producing *E. coli* (STEC)

Les STEC sont connus comme agents pathogènes chez l'humain depuis 1982 et ont été isolés pour la première fois aux États-Unis (**O'Brien et al., 1983**). Les STEC sont caractérisées par leur capacité à produire une ou plusieurs toxines Shiga (Stx, anciennement appelées vérotoxines (VT), ou Shiga-like toxines (SLT)).

De façon générale, les STEC causent des gastro-entérites et des colites hémorragiques, mais peuvent également causer des problèmes rénaux et neurologiques sévères, voire même mortels (**Frankel et al., 1998**).

III.4.4 Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont associées aux colites hémorragiques et au syndrome urémique hémolytique (HUS) provoqués par la production de Shigatoxines (Stx). Les EHECs peuvent aussi provoquer une défaillance rénale. Les toxines inhibent la synthèse des protéines et provoquent la mort cellulaire.

Les EHECs sont surtout trouvées chez les enfants, mais aussi dans la flore normale bovine. (**Nataro et al., 2004**).

III.4.5 Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC)

Les EIEC sont responsables d'une diarrhée dysentérique invasive chez l'humain, et leur implication dans des cas cliniques chez d'autres espèces animales n'a pas été signalée jusqu'à présent (**Beutin, 1999 ; DebRoy et Maddox, 2001**).

L'infection se fait dans la muqueuse du colon, les bactéries l'envahissent et se multiplient de façon intracellulaire. Les EIECs sont similaires à la bactérie *Shigella* (Nataro et al., 2004). Les EIEC possèdent divers facteurs de virulence, dont des invasives et des entérotoxines (Nataro et Kaper, 1998).

III.4.6 Les *E. coli* adhérentes invasives (AIEC)

Les *E. coli* adhérentes invasives sont majoritairement associées à la maladie de Crohn. Cette maladie est responsable d'infections importantes dans l'intestin. Les AIECs sont capables d'adhérer fortement aux cellules épithéliales de l'intestin et de les envahir. Les AIECs sont aussi capables de survivre et de se répliquer dans des macrophages (Agus et al., 2014).

III.4.7 Les diffuse-adhering *E. coli* (DAEC)

Ils ont été associés à des diarrhées chez les jeunes enfants, en particulier entre 1 et 5 ans. Les diarrhées peuvent être aqueuses et contenir du mucus. Ce pathotype est également associé à des infections urinaires.

Il existe 2 types de DAEC, ceux qui codent pour une adhésine fimbriaire (appartenant à la famille Afa/Dr), impliqués dans les infections urinaires et les troubles digestifs et ceux qui codent pour une adhésine impliquée dans le phénomène d'adhérence « diffuse » (AIDA-I). Ce deuxième type de DAEC est responsable de diarrhées chez les enfants et provoque au niveau de l'intestin des lésions similaires aux lésions de type A/E (Servin, 2005).

III.5 *E. coli* à tropisme extra-intestinal

Les *E. coli* pathogènes à tropisme extra-intestinal (extra-intestinal pathogenic *E. coli*, ExPEC) sont responsables d'infections extra-intestinales dont la porte d'entrée se situe soit au niveau de l'intestin, soit au niveau d'autres sites divers (plaies, appareil respiratoire, etc...) (Groisman et Ochman, 1996).

III.5.1 Les *E. coli* uropathogènes (UPEC)

Les *E. coli* uropathogènes (UPEC) sont responsables de 80 % des infections des voies urinaires (UTI) soit environ 150 millions de personnes par an dans le monde. Les UPECs touchent particulièrement les femmes de tout âge. Les UTIs se produisent lorsqu'il y a contamination de la région urogénitale par la flore fécale (Nataro et al., 2004).

III.5.2 les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)

Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés, 15 à 40 % des nouveau-nés atteints décèdent. Bon nombre des survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) (Nataro et al., 2004).

III.5.3 *E. coli* pathogènes aviaires (APEC)

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) affectent les voies respiratoires de la volaille. Elles peuvent aussi causer des péricardites et des septicémies. Ces pathogènes sont responsables d'importantes pertes économiques (Kaper et al., 2004).

III.6 Mode de transmission et contamination par les toxines

Les études d'épidémiologie analytique et les investigations d'épidémies ont permis d'améliorer les connaissances sur les modes de transmission et les sources de contamination des *Escherichia coli* (Savoye, 2011).

III.6.1 Réservoir animal

Le réservoir des STEC est représenté par les bovins. La colonisation du tube digestif des bovins est asymptomatique et transitoire (Afssa, 2003).

L'excrétion est influencée par le stress, l'alimentation, les pratiques d'élevage et les saisons. D'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages dont certains gibiers peuvent également être porteurs sains de STEC (Afssa, 2003).

La contamination peut également survenir lors de la traite ou l'abattage de ces animaux. Les matières fécales des ruminants présents dans le sol, dans le fumier et dans l'eau (mares, ruisseaux) sont aussi une source possible de contamination.

III.6.2 Transmission à l'homme

Le principal mode de transmission est la consommation d'aliments contaminés : denrées alimentaires directement liées au réservoir animal de STEC, ou produits en contact direct ou indirect avec des fèces animales et consommés crus ou peu cuits (Afssa, 2003 ; Armstrong et al., 1996) (Figure 7). Ainsi, l'homme se contamine en consommant de la viande (essentiellement steaks hachés insuffisamment cuits), du lait ou des produits laitiers non pasteurisés et de l'eau.

Différents végétaux et des fruits consommés par l'homme peuvent être contaminés par des STEC, soit par les fumures obtenues à partir d'animaux contaminés (Afssa, 2003) .

La contamination se fait aussi par contact avec des animaux où leur environnement, et par transmission de personne à personne (famille, crèche...) (Afssa, 2003 ; Siegler et Oakes, 2005).

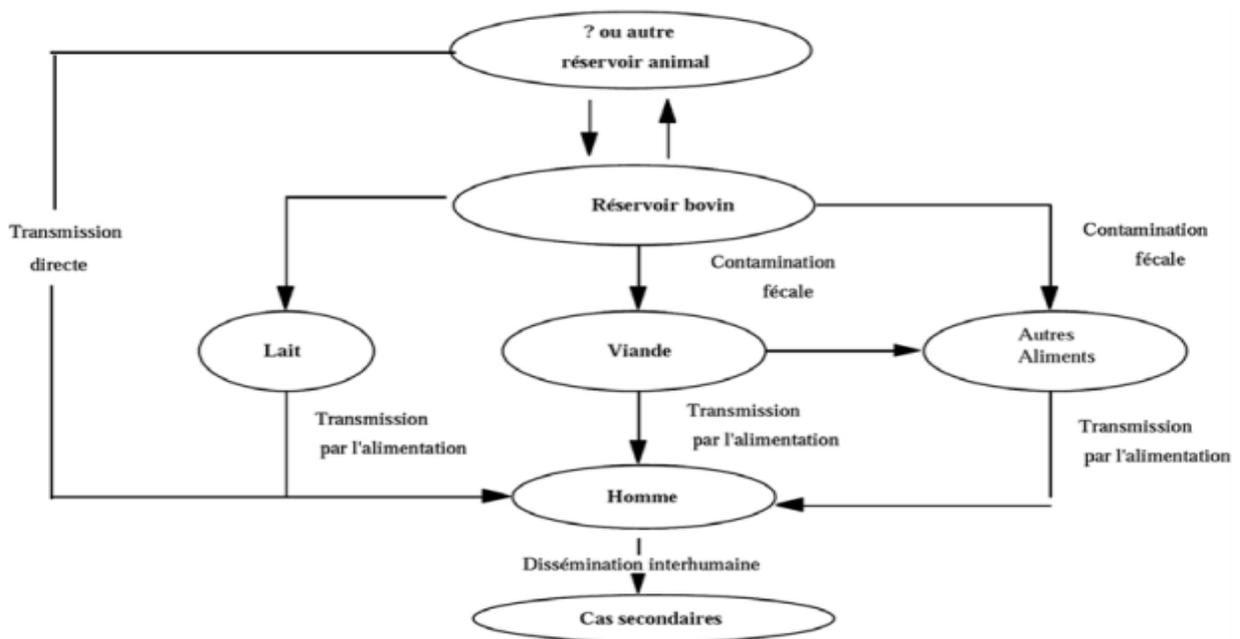


Figure 7 : Réservoirs et modes de transmission des E. coli producteurs de Shiga-toxine (Armstrong et al., 1996).

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Objectif

La présence de bactéries dans les aliments peut provoquer de nombreuses intoxications alimentaires et de nombreuses maladies. C'est à cause de ce dernier problème que nous avons décidé de faire ces études. Qui consiste à évaluer la qualité microbiologique de poissons, en particulier dans la sardine ; en évaluant la qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants au niveau de la sardine et aux *E. coli* particulièrement, vu qu'elle est témoin d'une contamination fécale.

Et aussi pour compléter les recherches de Karim Hammache en 2019, nous avons sélectionnés une quantité spécifique de sardines commercialisés aux ports de pêche de Bouharoun et Cherchell dans la wilaya de Tipaza pour faire une étude comparative entre les deux ports concernant le degré de contamination.

II. Echantillonnage

II.1 Espèce sélectionnée

La sélection des sardines pour notre expérience n'était pas aléatoire, nous avons eu plusieurs raisons de choix dont :

1. La sardine est le poisson le plus consommé par le citoyen Algérien.
2. Les sardines sont les plus pêchées dans les ports de l'Algérie, en particulier le port de Bouharoun, où il est classé parmi les ports de pêche les plus importants pour les sardines.
3. Les sardines sont largement disponibles sur le marché, en plus de leur prix raisonnable par rapport aux autres poissons.

II.2 Méthode de récupération des échantillons

Nous avons pris de petites quantités de sardines, environ trois à cinq sardines, de chaque vendeur au niveau des deux ports, et ce pour avoir un échantillon représentatif des vendeurs et des ports choisis. Afin d'obtenir 40 échantillons.

II.3 Site de prélèvement

Nous avons récupéré nos échantillons à partir des deux ports appartenant au territoire de Tipaza, et dans laquelle nous avons pris 20 échantillons de chaque port, et que tous les échantillons aient été prise la veille avant l'expérience, entre 19 :00 et 21 :30 heures, heure à laquelle les pêcheurs entrent dans le port, et ils sont conservés dans le réfrigérateur durant la nuit.

Tous les échantillons ont été collectés en novembre 2020 avec une température comprise entre 24°C et 28°C.

II.3.1 Le port de Bouharoun

Bouharoun est une commune de la wilaya de Tipaza en Algérie (environ 20 km à l'est de Tipaza). C'est une petite ville côtière connue par son port et ses sardines.

Bien que le port de Bouharoun soit l'un des plus grands et des plus anciens ports de pêche d'Algérie, ce qui lui a permis de devenir un centre important pour les marchands de poisson, où des gens de différentes régions viennent acheter du poisson frais (**Figure 8**).



Figure 8 : Port de Bouharoun (**Paperblog, 2008**)

II.3.2 Le port de Cherchell

La ville de Cherchell est une commune de la wilaya de Tipaza en Algérie. Ancienne ville sur la côte méditerranéenne de l'Algérie. Elle fut l'une des plus importantes cités du littoral de l'Afrique du Nord.

Elle se caractérise depuis l'époque romaine par un port anciennement appelé Césarée, contient un linéaire de quai avec 520 m, un plan d'eau avec 20.000 m et un terreplein avec

12.000m un accès maritime avec 60 m, comprend également 48 cases de pêcheurs, C'est aussi un siège pour la pêche et la vente de divers poissons (**Figure 9**).



Figure 9 : Port de Cherchell (Alamy, 2014)

II.4 Transport des échantillons

Les échantillons ont été prise la veille, complètement au moment où les bateaux de pêche débarqués dans le port, et ils ont été conservés au réfrigérateur dans une boîte stérile à une température ne dépassant pas 4C°.

Puis ces échantillons ont été emmenés tôt à 5 heures du matin de Tipaza vers Alger où se trouve le laboratoire d'HIDAOA, emballé dans une glacière.

III. Matériel et méthode

III.1 Lieu d'étude

Toutes les expériences et les études ont été réalisées dans laboratoire d'HIDAOA de l'École nationale supérieure vétérinaire, située sur la commune d'Oued Smar dans le quartier de El-Harrach, à Alger.

III.2 Méthode d'analyse bactériologique

Cette recherche dépend du comptage du nombre de colonies qui poussent dans un milieu solide VRBL selon la norme (ISO, 2017).

III.3 Matériel utilisé durant toute l'étude

Au cours de l'expérience, nous avons utilisé de nombreux matériels de laboratoire, qui sont :

Matériel de saisie (une paire de ciseaux, pince, lame de bistouri) (**Figure 10**), bec Bunsen, vortex, aluminium, coton et Alcool, sacs smacher, balance, appareil de broyage, micropipette de 1ml, des embouts bleus de 1ml stérile, tubes stériles, boîtes de pétri, flacons de milieu VRBL, flacons de l'eau peptonée, erlenmeyer, pipette Pasteur, plaque chauffante et l'autoclave.



Figure 10 : photo représente le matériel de saisir (photo personnelle 2020)

III.4 Préparation d'échantillons

III.4.1 La pesée

Au cours de l'étude, nous avons placé chaque échantillon sur un morceau d'aluminium stérilisé et l'avons placé à l'intérieur d'un champ préalablement stérilisé avec l'eau de Javel autour de bec Bunsen.

Avec la lame de bistouri et le pince, on sépare la peau et les écailles et nous prenons que la chaire de poissons (**Figure 11**), sachant que de chaque échantillon nous devons prélever que 25 grammes de la chaire placée dans un sac stomacher stérile préalablement taré et nous le pesons avec une balance afin d'avoir le poids souhaité (**Figure 12**).



Figure 11 : Gestes pratiques pour obtenir la chaire de la sardine (photo personnelle2020)



Figure 12 : Pesée des échantillons à l'aide d'une balance (photo personnelle2020)

III.4.2 Le broyage

Lorsque le poids souhaité est obtenu (25g), nous versons le contenu d'un flacon contenant de l'eau peptonée dans le sac qui contient la chaire et nous l'insérons dans l'appareil spéciale de broyage pendant une période ne dépassant pas les trois minutes jusqu'à ce que nous obtenions une solution homogène et on va la laisser reposer pendant un certain temps. La solution que nous obtenions nous l'appelons **la première dilution** (10^{-1}) (**Figure 13**).



Figure 13 : le contenu de sac stomacher avant et après le broyage

(Photo personnelle2020)

III.4.3 Préparation des dilutions

Des dilutions doivent être préparées un jour avant le travail pour faciliter le processus de recherche.

Plusieurs tubes à essai doivent être préparés et remplis d'eau peptonée afin que chaque tube contienne 9ml.

Le nombre de tubes doit être trois fois le nombre d'échantillons pour obtenir de chaque échantillon les dilutions suivantes 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Avec une micropipette, nous prélevons 1 ml de la solution mère et nous la mettons dans un tube et qui contient déjà 9ml, et nous l'appelons **la deuxième dilution** (10^{-2})

Ensuite, à partir de la deuxième dilution, nous prélevons 1 ml et nous le mettons dans un autre tube et nous l'appelons **la troisième dilution** (10^{-3}) et ainsi de suite jusqu'à ce que nous obtenions toutes les dilutions de tous les échantillons (**Figure 14**).



Figure 14 : Image montrant la méthode de réalisation des dilutions

(Photo personnelle2020)

III.4.4 Préparation des milieux

La préparation des milieux est une tâche qui doit être fait un jour avant le travail de laboratoire pour faciliter la tâche et parce qu'elle demande aussi du temps et de la concentration.

III.4.4.1 Préparation de l'eau peptonée

A l'aide d'une cuillère, déjà stérilisé avec de l'Alcool et bien chauffé avec le bec bunsen, 9,5 g de la poudre spécial de l'eau peptonée sont pris à la cuillère et pesés sur une feuille d'aluminium déjà taré sur la balance.

Après cela, un litre de l'eau distillé est mélangé avec les 9,5 g précédemment pesés et mis dans un erlenmeyer stérile et placé sur la plaque chauffante jusqu'à ce que nous obtenions un mélange homogène et transparent d'environ une heure et demie. Une fois la préparation

terminée, nous vidons le contenu dans des flacons préalablement stérilisés et nous les mettons à nouveau pour être stérilisés à l'intérieur de l'autoclave et nous les laissons refroidir légèrement et enfin l'eau peptonée est prête à l'emploi.

III.4.4.2 Objectif de l'eau peptonée

L'eau peptonée tamponnée est un diluant couramment utilisé lors de la préparation d'échantillons de produits alimentaires ou lors des contrôles environnementaux.

Il est utilisé comme diluant pour le dénombrement des microorganismes et aussi comme milieu de pré-enrichissement non sélectif pour la recherche de certaines bactéries dans les produits alimentaires ou les échantillons environnementaux.

III.4.4.3 Préparation de milieu VRBL

Cette méthode est similaire à la méthode de préparation de l'eau peptonée.

La préparation de ce milieu diffère du milieu précédent (l'eau peptoné) dans le temps nécessaire à la cuisson parce qu'il prend environ quatre heures (**Figure 15**). Ensuite, il sera rempli dans des flacons stériles.

III.4.4.4 Objectif de milieu VRBL

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des bactéries coliformes (*Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*) dans l'eau, les produits laitiers, et autres denrées alimentaires.

Elle est également utilisée pour les opérations de purification et d'isolement des colonies présumées de *Salmonella* dans les produits carnés et assimilés.

III.4.4.5 Préparation de la gélose nutritive

La méthode de préparation de la gélose nutritive est complètement similaire aux deux méthodes précédentes (**Figure 15**). Le contenu est divisé dans des boîtes de Pétri.



Figure 15 : Préparation de milieu VRBL en couleur bordeaux et la gélose nutritive

En couleur orange (photo personnelle2020).

III.4.4.6 Objectif de la gélose nutritive

Une gélose nutritive est un milieu gélifié qui permet la culture de micro-organismes en microbiologie. Ce milieu est dit non sélectif car il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise.

III.5 Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes thermotolérants

III.5.1 Principe

Le dénombrement des bactéries dans un milieu solide (dans notre étude nous avons utilisé le milieu VRBL) qui est basé sur le comptage du nombre des colonies de Coliforme thermotolérante préalablement extraites d'un produit alimentaire (la sardine pour notre expérience).

Les colonies sont germées dans ce milieu à une température de 44,1 ° C, de sorte que ce milieu empêche toutes les autres bactéries de se développer à l'intérieur grâce à la présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires (bactéries Gram-positif).

Et la fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur pH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies

III.5.2 Mode opératoire

Après avoir préparé le milieu de culture et les dilutions, nous préparons un champ stérile avec du l'eau de javel et nous mettons un bec bunsen au milieu.

Avec une micropipette de 1 ml, on prélève 1 ml de chaque dilution présente dans les tubes à essai préalablement préparés (ensemence en profondeur) (**Figure 16**).

On verse 10 à 15 ml du milieu VRBL dans chaque boîte, puis on fait des mouvements circulaires en huit pour que la solution et le milieu de culture soient bien mélangés.

Ensuite, nous les laissons un peu geler, puis nous le mettons dans le four préalablement préparé à une température de 44,1 °C.



Figure 16 : Image montrant les boîtes de Pétri contenant chaque une 1ml avant d'ajouter le milieu VRBL (photo personnelle2020)

III.5.3 Lecture

Comme la lecture était médiocre en 24 heures après l'incubation (les colonies étaient petites), nous avons donc décidé de les lire en 48 heures après l'incubation.

Nous obtenons des colonies d'un diamètre égal ou supérieur à 0.5 mm de couleur violacée ou pourpre entourées par un halo de sels biliaires précipités (**Figure 17**).

Nous avons trouvé trois types de colonies, certains pousés en profondeur, d'autre au milieu et les autres au-dessus de la surface, a fin de compter toutes les colonies, certaines boites de pétri complètement vides et d'autres contenant un grand nombre de colonies.

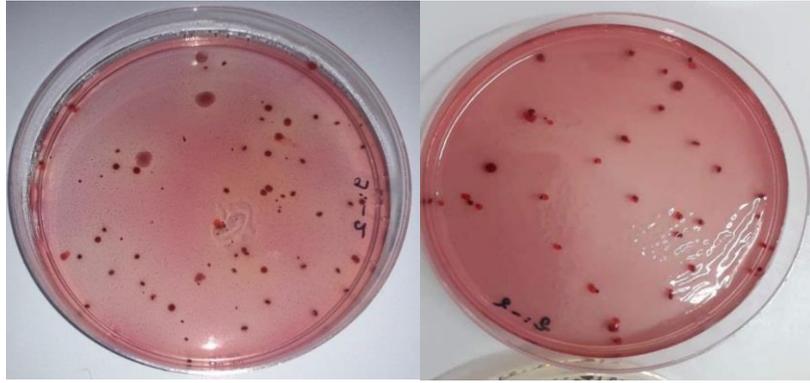


Figure 17 : boîtes de pétri contenant des coliformes thermotolérants

(Photo personnelle2020)

III.6 Protocole de recherche d'*Escherichia coli*

III.6.1 Purification des souches

Cette technique est basée sur l'obtention des colonies pures à partir des colonies précédemment obtenues en utilisant la technique de repiquage.

Après avoir préparé le milieu nutritif dans des boîtes de Pétri, les identifier et les diviser en 10 sections. Dans chaque section, nous réalisons des ensemencements prélevés par les colonies précédemment obtenues.

Pour que de chaque dilution nous puissions prendre 5 colonies et les ensemencher sur la gélose nutritive.

Nous faisons cette technique avec de l'aide d'une anse ou une pipette pasteur, il doit être stérilisé ou changé après chaque utilisation (**Figure 18**).

Une fois toutes les boîtes terminées, nous les incubant à 37°C pendant 24 heures, puis 48 heures.

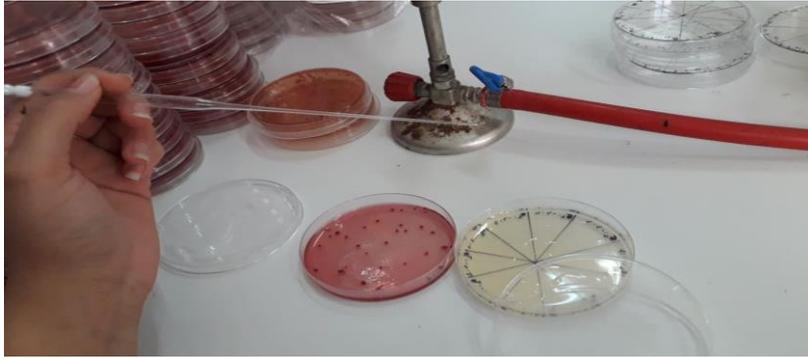


Figure 18 : la technique de purification (repiquage des colonies)

(Photo personnelle2020)

III.6.2 Résultat

Après 24 heures, les colonies ont été poussées dans ce milieu et sont confirmées comme des *E. coli* (**Figure 19**).



Figure 19 : boîte de pétri de gélose nutritive après le repiquage

(Photo personnelle2020)

III.6.3 Test d'indole

Ce test est employé pour confirmer et identifier les *E. Coli* par la production d'indole sous forme d'un anneau rouge.

III.6.4 La méthode et résultat

A l'aide d'une anse de Henlé stérile on prend quelques colonies et les mettez-le dans des Eppendorf qui contient de l'eau péptonée, puis laissez-le reposer pendant 24 heures à une température de 44,1°C.

24 heures après, Ajoutez quelques gouttes réactives de kovacs dans chaque Eppendorf, quelques minutes après l'apparition d'un anneau rouge confirme la présence d'*E.coli* (**Figure 20**).



Figure 20 : deux Eppendorfs l'un montre un résultat négatif et l'autre positif (qui contient un anneau rouge) (photo personnelle2020)

IV Analyses Microbiologiques

IV.1 Dénombrement des germes

Le dénombrement microbiologique est une technique scientifique de comptage de microorganismes. Ce procédé est avant tout destiné pour connaître la présence ou non de germes pathogènes dans un produit.

Ce dénombrement consiste à compter toutes les colonies qui sont apparues de chaque boîte de pétrie selon **le Jo n° 39 du 2 Juillet 2017**.

IV.2 Méthode de dénombrement

Le calcul de la concentration en micro-organismes [N] présents dans l'échantillon essai est une moyenne pondérée à partir des résultats de 2 dilutions successives.

Pour que le calcul soit valable, il est nécessaire de compter sur au moins une boîte contenant au moins 10 colonies.

- Soit Σc la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes retenues (et tel que au moins une des boîtes comptées contenait au moins 10 colonies).
- Soit V le volume inoculum appliqué à chaque boîte (en général exprimé en ml).
- Soit n_1 le nombre de boîtes retenues à la première dilution (en général 2).
- Soit n_2 le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution (en général 2).

- Soit **d** le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.

$$[N] = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 n_2) dV}$$

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

IV.3 Méthode d'interprétation de résultats

Nous avons interprété nos résultats selon les modalités fixées dans l'**arrêté interministériel fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. (Jo n° 39 du 2 Juillet 2017) (Figure 21)** le quel nous a permis de classer nos résultats selon le plan d'échantillonnage à trois classes.

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à trois classes, dans le cas où la valeur « c » est différente de zéro (0). Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- Si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat du critère microbiologique est satisfaisant
- Si le résultat de l'analyse n'excède pas « M » et si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat supérieur à « m » et compris entre « 1 » et « c », le résultat du critère microbiologique est acceptable ;
- Si le résultat de l'analyse excède « M » ou si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat compris entre « m » et « M » est supérieur à « c », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

5- Produits de la pêche et de l'aquaculture

| | | | | | |
|---|------------------------------|---|---|-------------------|-----------------|
| Sauce de poisson produite par fermentation de produits de la pêche et de l'aquaculture | Histamine | 1 | — | 400 mg/kg | |
| Poissons, céphalopodes et mollusques crus (sauf mollusques bivalves vivants) (3) | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 2 | 10 ⁶ | 10 ⁷ |
| | Coliformes thermotolérants | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| | Staphylocoques à coagulase + | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes marins vivants (4) (5) | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 1 | 230 NPP*/100g | 700 NPP/ 100 g |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |

Figure 21 : Journal Officiel n° 39 du 2 Juillet 2017

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie d'étude, nous développerons dans un premier temps les résultats concernant le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants au niveau des deux ports cités ci-dessus, ainsi que le résultat global de contamination.

I.1 Résultats du niveau de contamination aux coliformes thermotolérants par port

Tableau 5 : Analyses statistiques de la contamination aux coliformes thermotolérants

| Port | Nbre d'Ech. contaminés | Fréquence(%) | Minimum de contamination |
|-----------|------------------------|--------------|--------------------------|
| Bouharoun | 14/20 | 70% | 14 |
| Cherchell | 2/20 | 10% | 2 |
| Total | 16/40 | 40% | 16 |

Taux de contamination aux CTT /Port

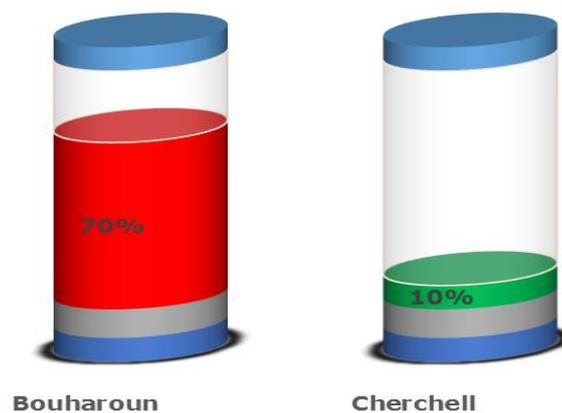


Figure 22 : Le taux de contamination aux coliformes thermotolérants par port

Dans le tableau 5, nous avons trouvé que le port de Bouharoun est plus contaminé avec 70% (14 échantillons/20) que le port de Cherchell avec 10% (2 échantillons/20).

I.2 Résultats du niveau de contamination globale aux coliformes thermotolérants

Les analyses statistiques de la contamination globale aux coliformes thermotolérants de notre étude sont mentionnées dans **le tableau 6**.

Tableau 6 : Analyses statistiques globale de la contamination aux coliformes thermotolérants

| | |
|-------------------------------|-------------|
| Nbre d'échantillon | 40 |
| Moyenne | 8 |
| Erreur standard de la moyenne | 1,26 |
| Ecart -type | 6 |
| Minimum | 2 |
| Maximum | 14 |

Dans notre étude, nous avons trouvé une moyenne de contamination aux coliformes thermotolérants égale à 8 sur un échantillon de 40 et un écart-type égale à 6 ; avec un minimum de contamination 2 et un maximum de 14.

Les résultats du taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants sont rapportés dans le tableau 15 et illustré dans **la figure 23**.

Tableau 7 : taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants

| | Nbre d'éch. | Nbre d'éch.contaminés | Fréquence(%) |
|----------------|-------------|-----------------------|--------------|
| Les deux ports | 40 | 16 | 40% |

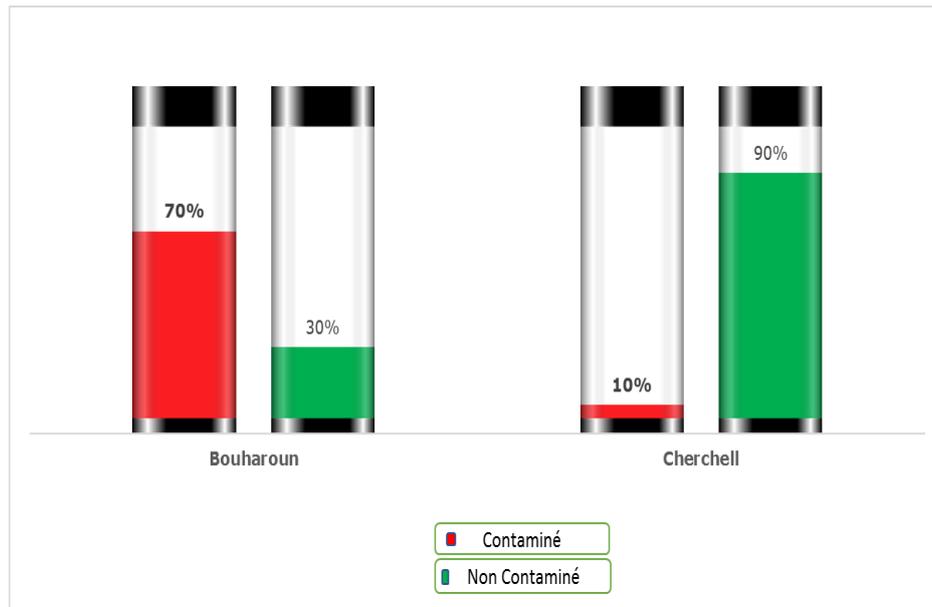


Figure 23 : taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants

Nos résultats d'étude présentés dans le **tableau 7** montrent que dans les 40 échantillons analysés, 16 au total trouvés contaminés par les coliformes thermotolérants avec un taux de 40% contre seulement 24 échantillons non contaminés (60%).

I.3 La qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants des poissons par port

Les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique des poissons dans les ports de Bouharoun et Cherchell sont rapportés dans le **tableau 8** et illustrés dans la **figure 24**.

Tableau 8 : Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants par port

| ports | Satisfaisante | Acceptable | Insatisfaisante | Total général |
|----------------------|---------------|------------|-----------------|---------------|
| Bouharoun | 0(0%) | 6(30%) | 14(70%) | 20(100%) |
| Cherchell | 11(55%) | 7(35%) | 2(10%) | 20(100%) |
| Total général | 11(27,50%) | 13(32,50%) | 16(40%) | 40(100%) |

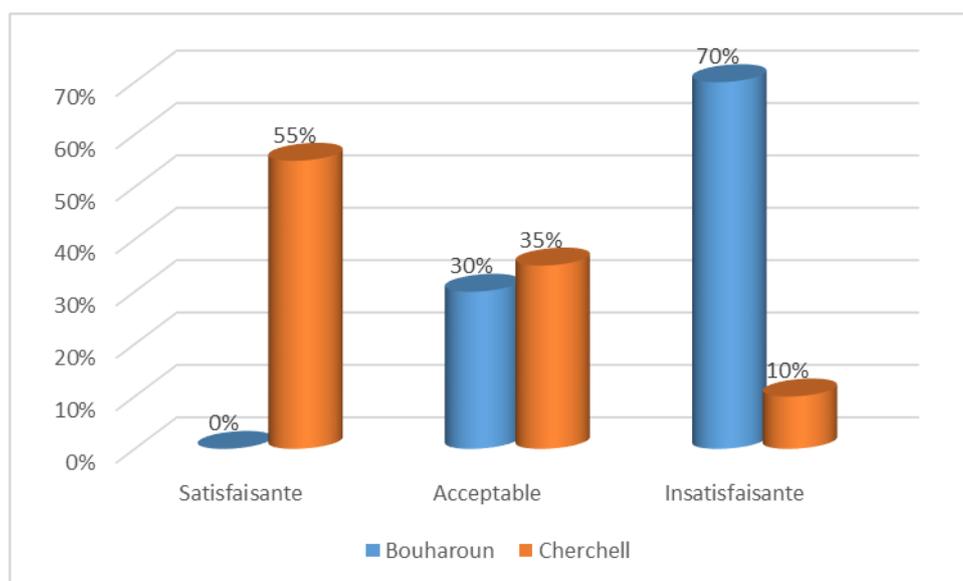


Figure 24 : Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants par port

Les résultats d'analyses bactériologiques aux coliformes thermotolérants des poissons prélevés au niveau du port de Bouharoun ont révélé une très mauvaise qualité bactériologique avec 70% de cas d'insatisfaisant, par contre celui de Cherchell révèle une bonne qualité avec 55% de cas de satisfaisant.

I.4 La qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants des poissons

Les résultats globaux obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique des poissons dans les ports de Bouharoun et Cherchell sont rapportés dans le tableau 9 et illustrés dans la figure 25.

Tableau 9 : Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants

| Les deux ports | Satisfaisante | Acceptable | Insatisfaisante | Total général |
|--------------------|---------------|------------|-----------------|---------------|
| Nbre d'échantillon | 11 | 13 | 16 | 40 |
| Taux d'échantillon | 27,50% | 32,50% | 40% | 100% |

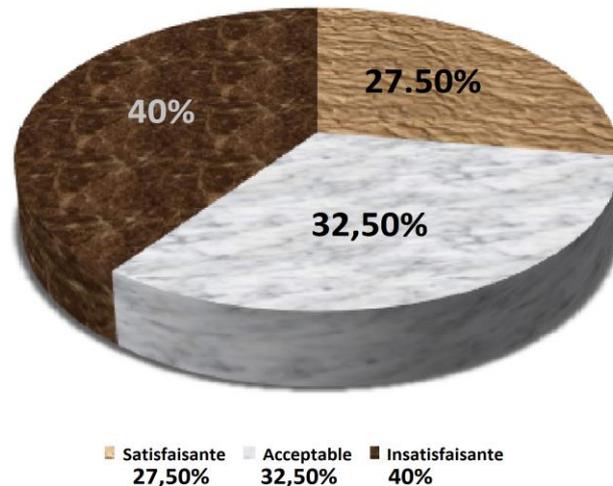


Figure 25 : Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants

D'une manière globale, nous avons trouvés 40% de sardine de mauvaise qualité contre 60% de sardine de bonne qualité (avec 33% acceptable et 27% de satisfaisante).

I.5 Dénombrement bactériologique aux coliformes thermotolérants des poissons

Tous les échantillons de poissons analysés (40 échantillons) ont un taux élevé de coliformes thermotolérants. Par ailleurs, on note que le niveau de contamination des coliformes est plus élevé au niveau du port de Bouharoun qu'au niveau du port de Cherchell. Ces résultats indiquent que les niveaux de contamination des poissons varient en fonction du lieu de prélèvement.

II. Taux de la contamination à l'*Escherichia Coli*

II.1 Taux de la contamination à *Escherichia Coli* par port

Tableau 10 : nombre de souche à kovacs positive :

| Port | Nb de souche (Kovacs+) | Nb D' Esch, (Kovacs+) |
|-----------|------------------------|-----------------------|
| Bouharoun | 32 | 12 |
| Cherchell | 17 | 9 |
| Total | 49 | 21 |

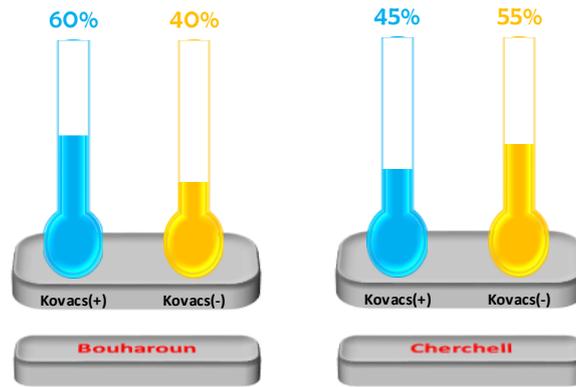


Figure 26 : Répartition des échantillons par taux de positivité au test Kovacs

Sur les 40 échantillons prélevés, nous avons enregistré un taux de 53% d'échantillons positifs au Kovacs.

La répartition par port comptabilise au niveau du port de Bouharoun un taux contaminé de 60% ceci dit 12 échantillons sur 20 ont été contaminés ; alors qu'au niveau du port de Cherchell nous avons trouvés 9 échantillons sur 20 avec un taux de 45%.

III. DISCUSSION

La présente étude permet d'apprécier la qualité microbiologique au coliformes thermotolérants des poissons frais vendus au niveau des ports de cherchell et bouharoune de la wilaya de Tipaza, mais aussi d'évaluer le niveau d'hygiène des poissons pendant la vente.

Nous avons trouvé que le port de Bouharoun est plus contaminé ; qui est l'un des principales destinations d'achat de poisson avec un pourcentage de 70% (14 échantillons/20). Ces derniers sont d'origine intestinale d'où leurs présences dans les produits de la pêche sont considérées comme une contamination d'origine fécale (**Diouf, 2011**). La forte contamination des Coliformes thermotolérants observée au niveau des poissons pourrait s'expliquer par le manque de la bonne pratique d'hygiène et une importante pollution de l'eau de mer et ceci est le résultat d'un manque de sensibilisation à la fois de la population locale et des autorités compétentes.

La photo suivante prélevé d'une page de Facebook montre les eaux usées se déversent dans la zone entre Bouharoun et Ain Tagourait ce qui renforce nos résultats :



Figure 27 : les eaux usées se déversent dans la zone entre Bouharoun et Ain Tagourait

En plus de tout cela, la région de Bouharoun a connu, ces dernières années, une forte concentration d'activités industrielles, qui ont à leur tour affecté le milieu marin.

Dans un autre aspect, le port fait face au danger de contaminer le bassin en raison de l'écoulement d'eau sale de plusieurs côtés, en plus du fait que la plupart des pêcheurs non sensibilisés ont recours à des jets aléatoires de déchets de poisson.

La forte contamination des poissons par les Coliformes thermotolérants 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 tout en constituant un maillon de la chaîne alimentaire de ces derniers.

Selon **Borne (2000)**, les Coliformes thermotolérants constituent des germes de contamination fécale et sont donc des indicateurs des mauvaises conditions d'hygiène lors de la manipulation des denrées.

D'autre part, le port de Cherchell contient un faible pourcentage aux coliformes thermotolérants 10% (2 échantillons/20), en 2019 le Wali de Tipaza a raccordé tous les réseaux d'assainissement de la ville de Cherchell aux stations d'épuration, selon sa déclaration au journal El Chorouk, ce qui rend la sardine vendue au niveau du cherchell d'une bonne qualité microbiologique, mais cela ne signifie pas une absence totale de pollution de l'eau.

IV. CONCLUSION

La wilaya de Tipaza dispose de deux ports stratégiques (Bouharoun et Cherchell) qui se chargent de l'accueil et de la distribution des poissons issus de la pêche. De chaque port nous avons prélevé 20 échantillons dans le but d'apprécier leur niveau de contamination aux coliformes thermotolérants et spécifiquement à *Escherichia coli* et leur salubrité vis-à-vis ces agents pathogènes.

D'après nos études sur les échantillons précédents, nous pouvons obtenir des pourcentages de contamination aux coliformes thermotolérants de chaque port qui sont successivement de : 70% et 10%, avec une contamination globale de 40%.

En ce qui concerne la qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants par port est comme suit :

Nous commençons avec les 20 échantillons du port de Bouharoun qui présente 6 sur 20 acceptables et les reste 14 sur 20 sont insatisfaisantes pendant que aucun échantillon n'y satisfaisante.

D'autre part, le port de cherchell est présenté 11 sur 20 échantillons satisfaisantes, 7 sur 20 échantillons acceptables et 2 sur 20 échantillons insatisfaisantes.

Les études concernant l'*Escherichia coli* montrent dans chaque port les pourcentages suivants : 60% des échantillons sont contaminés à des souches d'*E. coli* présomptive (avec 23 souches dans 12 échantillons) pour le port de bouharoun et 45% des échantillons des souches d'*E. coli* présomptive (avec 17 souches dans 9 échantillons) pour le port de cherchell.

Au vu de l'évaluation de la qualité de ces poissons, on peut dire que la capture et la commercialisation des poissons connaissent des difficultés liées principalement au manque de bonnes pratiques d'hygiène et de conservation au niveau du port de Bouharoun que celui de Cherchell, malgré que ce dernier présente un faible taux de contamination aux coliformes thermotolérants. Cette situation témoigne une fois de plus des conditions d'hygiène peu satisfaisantes et de stockages aussi bien au niveau des produits eux-mêmes, qu'au niveau du matériel utilisé. Sans omettre de citer la qualité environnementale des zones étudiées.

LES ANNEXES

Annexe 1 : concentration minimale en oxygène dissous en concentration maximale en ammoniacale observées dans les stations où les espèces sont présentes (au moins 1 individu capturé) (d'après **Philippart et Vranken, 1983**).

| Familles | Espèces autochtones | Espèces introduites |
|-----------------|---|---|
| Clupeidae | Alosa alosa (Linnaeus, 1758) Alosa fallax fallax (Lacepède, 1803) | |
| Salmonidae | Salmo trutta macrostigma (Duméril, 1858) | Oncorhynchus mykiss (Walbaum, 1792) |
| Cyprinidae | Barbus callensis (Valenciennes, 1842) Barbus nasus (Gunther, 1874) Barbus beserti (Pellegrin, 1909) Pseudophoxinus callensis (Guichenot, 1850) | Cyprinus carpio carpio Aristichthys nobilis Hypophthalmichthys molitrix Ctenopharyngodon idella Tinca tinca Carassius auratus auratus Pseudorasbora parva |
| Anguillidae | Alguilla anguilla | |
| cyprinodontidae | Aphanius fasciatus , Aphanius iberus Aphanius apodus , Aphanius saourensis | |
| Poeciliidae | | Gambusia holbrooki |
| Esocidae | | Esox lucius |
| Atherinidae | Atherina boyeri | |
| Mugilidae | Chelon labrosus Liza ramado Liza aurata Liza saleins Mugil cephalus | |
| Moronidae | Dicentrarchus labrax Dicentrarchus punctatus | |
| Percidae | | Sander lucioperca |
| Claridae | Clarias anguillaris | Clarias gariepinus |
| Siluridae | | Silurus glanis |
| Gobiidae | Pomatoschistus marmaratus Gobius paganellus | |
| Blenniidae | Salaria fluviatilis | |

Annexe 2 : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries (Croize, 1999).

| | <i>Escherichia</i> | <i>Citrobacter</i> | <i>Enterobacter</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>Serratia</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Shigella</i> | <i>Proteus</i> | <i>Providencia</i> | <i>Yersinia</i> |
|---------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|----------------|--------------------|-----------------|
| Glu | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Lac | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| ONPG | + | + | + | + | + | - | +/- | - | - | + |
| Indole | + | - | - | +/- | - | - | +/- | +/- | + | +/- |
| VP | - | - | + | + | + | - | - | - | - | + |
| Cit | - | + | + | + | + | +/- | - | +/- | + | - |
| Mob | + | + | + | - | + | + | - | + | + | + |
| Urée | - | - | - | + | - | - | - | + | - | + |
| H2S | - | +/- | - | - | - | + | - | +/- | - | - |

REFERENCES

A :

- **Abad, R. & Giraldez, A. (1998).** Reproduction, factor de condition y talla de primer madurez de la sardina, *Sardina pilchardus* (Walb.), del littoral de Malaga, mar. de Alboran (1989 a1992). Bol. Inst. Esp. Oceanogr., 9, 1, 145-155.
- **Afssa (2003)** Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de *Shiga-toxines* (STEC) Acides gras de la famille oméga 3 et système cardiovasculaire. intérêt nutritionnels et allégations. Communiqué de l’AFFSSA : 70pp.
- **Agus, A., S. Massier, A. Darfeuille-Michaud, E. Billard and N. Barnich (2014).** "Understanding host-adherent-invasive *Escherichia coli* interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies." Biomed Res Int 2014: 567929.
- **Alamy** source internet; Port, Cherchell, province de Tipaza, Algérie, Date de la prise de vue: 30 octobre 2014, <https://www.alamyimages.fr/photo-image-port-cherchell-province-de-tipaza-algerie-78543447.html>
- **Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG (1996)** Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiol Rev 18:29–51.
- **Audrey Bongiovanni, 2005,** Les poissons d’eau douce (dossier de l’enseignant). Haute Ecole HEMES Huy.
- **Avril J. ; Dabernat H. ; Denis F. et Monteil H. (2000).** Bactériologie clinique. 3ème édition. Ellipses. Paris. p171-229.
- **Awwa (1990)** Water quality and treatment. American Water Works Association, 4e édition, 1194 p.

B :

- **Barthe, C., J. Perron et J.M.R. Perron (1998)** Guide d’interprétation des paramètres microbiologiques d’intérêt dans le domaine de l’eau potable. Document de travail (version préliminaire), ministère de l’Environnement du Québec, 155 p. + annexes.
- **Benchegra Khadidja, 2011-2012.,** DYnamique dans la formation de l'amine biogène, histamine, des hydroperoxydes, des TBA -rs et le suivi de la qualité microbiologique chez la sardine (*sardina pilchardus*),. laboratoire d'aquaculture et de bioremediation (aquabior), 2011-2012, p: 13.
- **Benderradji H., 1997.** Bilan des connaissances sur la sardine (*Sardina pilchardus walbaum*), en tant que matière première. Rapport de stage, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (E.N.V.), pp 4-14.

- **Berkel Maas-Van, B., Van Den Boogaard, B., Heijnen, C., 2004.** La conservation du poissons et de viande. Agrodok n°12, Paris.90p.
- **Beutin, L. 1999.** Escherichia coli as a pathogen in dogs and cats. Vet Res 30(2-3): 285-98.
- **Binet D., Samb B., Taleb Sidi M., Levenez J.J., Servain J., 1998.** Sardines and other pelagic fisheries changes associated with trade wind increases in the Canary current upwelling (26°N-14°N), late 1960s-early 1990. In : Durand M.H., Mendelssohn R., Cury P., Roy C., Pauly D. (eds). Global versus local changes in upwelling systems. Collection & Séminaires. Orstom, Paris, pp. 211-233.
- **Blanchard, 1866.** Poissons des eaux douces de la France. J.B.balli ere et fils, paris.656p.)
- **Borme, D., Tirelli, V. and Palomera, I. (2013).** Feeding habits of European pilchard late larvae in a nursery area in the Adriatic Sea. J. Sea Res. 78, 8–17.
- **Bouazza Sara, Bouakka Nesrine,** Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master : Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans la viande rouge, Université de Tébessa, 2016 p : 3.
- **Bourgoise, C. M et Leveau, J. Y.1980-1981.** Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol 3.

C :

- **Carrillo, M., Estrada, E. Hazen, T.C.1985.**Survival and enumeration of the fecal indicators Bifidobacterium adolescentis and Escherichia coli in atropical rain forest watershed. Appl Environ Microbiol 50:468-476.
- **Cartier P, Moevi I., 2007.** Le point sur la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Département Techniques d'Élevage et qualité. Service Qualité des viandes. Compte, 70p.
- **Carvalho, V. M., C. L. Gyles, K. Ziebell, M. A. Ribeiro, J. L. Catao-Dias, I. L. Sinhorini, J. Otman, R. Keller, L. R. Trabulsi and A. F. Pestana de Castro 2003.** Characterization of monkey enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and human typical and atypical EPEC serotype isolates from neotropical nonhuman primates. J Clin Microbiol 41(3): 1225-34.
- **Castellani & Chalmers, 1919 in GBIF Secretariat (2019).** GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2020-12-17.
- **Ceaq (2000)** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
- **Clofman, 1984** poissons de l'Atlantic nord-est et méditerrané. In ; WHITE6HEAD P.G.P BAUCHOT M.L.NIELSON J ET TORTONESE (ebs).
- **Costa, P. R. and Garrido, S. (2004).** Domoic acid accumulation in the sardine *Sardina pilchardus* and its relationship to *Pseudo-nitzschia* diatom ingestion. Mar. Ecol. Prog. Ser. 284, 261–268.
- **Costalago, D., Tecchio, S., Palomera, I., Alvarez-Calleja, I., Ospina-Alvarez, A. and Raicevich, S. (2011).** Ecological understanding for fishery management: Condition and

growth of anchovy late larvae during different seasons in the northwestern mediterranean. Estuar. Coast. Shelf Sci. 93, 350–358.

- **Cowey CB. 1993.** Some effects of nutrition on flesh quality of cultured fish. . Ln: S.1. Kaushik et P. Luquet (Eds.), Fish Nutrition in Practice, Biarritz, France, INRA Editions. Les Colloques. 061 : p. 228-236.

- **Cristian C. (2008).** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257.

- **Croize J., 1999.** Evolution de la maturation d'un fromage industriel tunisien à pâte pressée non cuite : Caractéristiques microbiologiques, physico-chimiques et biochimiques. Industrie alimentaire et agricoles. Paris.

D :

- **Davies, C.M., Long, J.A. Donald, M., Ashbolt, N.J.1995.** Survival of fecal microorganisms in marine and fresh water sédiments. Appl Environ Microbiol 61:1888- 1896.

- **DebRoy, C. and C. W. Maddox 2001.** Identification of virulence attributes of gastrointestinal Escherichia coli isolates of veterinary significance. Anim Health Res Rev 2(2): 129-40.

- **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Techniques et Documentation Lavoisier, Paris. p.128-129,247.

- **Diouf S .(2011).**Analyse microbiologiques et chimiques des produits de la pêche. Rapport de stage .Centre national de formation des techniques des pêches maritimes

- **Djabali, F ;Brahimi, B ;Mammasse, M.,** poissons des côtes algériennes I.S.M.A.L :p58.

- **Drara NORA., Bouterbiat AEICHA.,** L'emplacement stratégique des ports et son impact sur la pêche maritime. 1993.

- **Dworzanski, J.P., McClennen, W.H. , Cole, P.A. Thornton, S.N. Meuzelaar H.L.C., Arnold, N.S. ,Snyder, A.P.1997.**Field-portable, automated pyrolysis GC/IMS system for rapid biomarker détection in aérosols:a feasibility study.FieldAnal ChemTechnol:295-305.Edition: Ifremer, France, 336 pages. (CNFTPM).P :10.

E :

- **Eastman, 2005,** the nature of the diversity of Antractic fishes. Polar Biology 28 : 93-107.

- **Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin et MJ Allen (2000)** *Escherichia coli* : the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88 : 106S-116S.

- **El bouamri Mohamed chrif,** universite mohammed v - rabat faculte de medecine et de pharmacie ,these de doctorat etude epidemio-moleculaire des enterobacteries productrices de β -lactamases a spectre elargi au chu de marrakech ,juillet 2017 ,p :15.

- **Elmund, GK, MJ Allen et EW Rice (1999)** Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. Water Environ. Res., 71 : 332-339.

- **Escherich, T. V. 1885.** Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der Medicin 3(16): 515-22.

F :

- **FAO, OMS., 1973**, hygiène du poisson et des fruits de mer Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS réuni en coopération avec la FAO Genève, 18-24 septembre 1973 Publié par la FAO et l'OMS.

- **Fairbrother, J. M. 1992.** Enteric colibacillosis. Diseases of swine. A. D. Leman, B. E. Straw, W. L. Mengeling, S. D'Allaire and D. J. Taylor. Iowa, Iowa State University Press: 489-97.

- **FAO., 2010a.** Fish and fishery products: world apparent consumption statistics based on food balance sheets. FAO Yearbook 2008. Food and Agriculture Organization Of United Nations, Rome, Italy. PP. 215-219.

- **Forest, A. (2001).** Ressources halieutiques hors quotas du Nord Est Atlantique: bilan des connaissances et analyse de scénarios d'évolution de la gestion. Ifremer Eds, tome 2: 215 pp.

- **Frankel, G., A. D. Phillips, I. Rosenshine, G. Dougan, J. B. Kaper and S. Knutton 1998a.** Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*: more subversive elements. Mol Microbiol 30(5): 911-21.

- **Françoise Blind Kempinski**, guide à l'usage du consommateur responsable par (Responsable éditoriale) Publié le 11/2002.

- **Françoise Médale, Stéphanie Fontagné-Dicharry**, Les lipides des poissons d'aquaculture et leurs facteurs de variation, July 2010 ;OCL -Oilseeds and Fats, Crops and Lipids 17(4):209-213.

G :

- **Gafred ,Amani Ismail**, Autorité publique pour le développement des ressources halieutiques - Ministère de l'agriculture et de la mise en valeur des terres ,Publié le 4 juillet 2009 par GAFRD-Autorité générale pour la mise en valeur des ressources halieutiques ».

- **Garrido, S., Marccalo, A., Zwolinski, J. and Van der Lingen, C. D. (2007).** Laboratory investigations on the effect of prey size and concentration on the feeding behaviour of *Sardina pilchardus*. Mar. Ecol. Prog. Ser.

- **Goumba FAYE, 2002.**, pour obtenir un diplôme de docteur vétérinaire sous le thème de : Contribution a l'etude de la contamination initiale du poisson des mers tropicales., Dakar,SENEGAL, 2002.

- **Groisman, E. A. and H. Ochman 1996.** Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. *Cell* 87(5): 791-4.
- **Guthman 1991.** Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaire, volume III, Ed. Lavoisier, Paris : pp 256.
- **Gyles, C. L. and J. M. Fairbrother 2004.** *Escherichia coli*. Pathogenesis of bacterial infections in animals. C. L. Gyles, J. F. Prescott, J. G. Songer and C. O. Thoen, Blackwell Publishing Ltd.: 193-223.

H :

- **Hacker, J. B., 1992.** *Setaria sphacelata* (Schumach.) Stapf & Hubbard ex M.B. Moss. Record from Proseabase. Manneetje, L.'t and Jones, R.M. (Editors). PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation, Bogor, Indonesia.
- **Hansen, F., Kjærgård Pedersen, G.** Jensen's inequality for operators and Löwner's theorem. *Math. Ann.* 258, 229–241 (1982). <https://doi.org/10.1007/BF01450679>.
- **Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams 1994.** *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore, Williams and Wilkins.
- **Huss H (1999).** LA qualité et son évolution dans le poisson frais, organisation des nations unis de l'alimentation de l'agriculture Rome.
- **Huss HH. 1988.** Le poisson frais : qualité et altérations de la qualité. Manuel de formation préparé pour le Programme FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le contrôle de qualité. Collection FAO, Pêches n°29. 138p.

I :

- **ISO 16649-1: 2001.** Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement d'*Escherichia coli* à bêtaglucuronidase positive. Partie 1 : Technique de comptage des colonies à 44 ° C en utilisant des membranes et du 5-bromo-4- chloro-3-indolyl bêta-D-glucuronide.

J :

- **Jacobsen, C. 1999.** Sensory impact of lipid oxidation in acomplex food systems. *Fett/Lipid* 101 484-492.
- **Janke, B. H., D. H. Francis, J. E. Collins, M. C. Libal, D. H. Zeman and D. D. Johnson 1989.** Attaching and effacing *Escherichia coli* infections in calves, pigs, lambs, and dogs. *J Vet Diagn Invest* 1: 6-11.
- **Jean P ., 1998.** Collection Médecine-Sciences. Paris. ISBN 2-257-16399-0.1030 p.
- **Jemaa, S., Dussene, M., Cuvilier, P., Bacha, M. and Amara, R. (2015).** Comparasion du - régime alimentaire de l'anchois *Engraulis encrasicolus* et de la sardine *Sardina pilchardus* en Atlantique et en Méditerranée. *Leban. Sci. J.* 16, 7–22.

- **Jérôme B., G.Guillaume , C.Pichon., E.Tales. 2009.** Le peuplements de poissons du bassin de la seine. Cemagref, Hydrosystèmes et bioprocédés. P :16.
- **Joly, B. et Reynaud, A. (2007).** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p.3.
- **Josiane Cyr, 2006,** Attention de la Nutrition-Article-Institut de nutraceutique et des aliments fonctionnels (INAF).

L :

- **Larousse, 1971,** Nouveau dictionnaire etymologique et historique. Larousse, France.1971.
- **Larpent J.P. (2000).** Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Edition Technique et Documentation Lavoisier. Paris. p280.
- **Laurent, V., 2005.** Description de la structure génétique des populations de sardines européennes, *Sardina pilchardus*, dans un contexte d'évolution de l'espèce. Université de Perpignan et de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, p. 218.
- **Law, D. 1994.** Adhesion and its role in the virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 7(2): 152-73.
- **Le Minor, L., Popoff, M. Y. & Bockemühl, J. (1990).** Supplement 1989 (n. 33) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol 141, 1173–1177.
- **Leduc F. 2011.** Evaluation de la qualité des poissons frais par des approches biochimiques. Thèse de doctorat en biochimie de l'Université Science et Technologie de Lille 1 de l'Ecole doctorale biologie et Santé.
- **Lefèvre F, Bugeon J. 2008.** Déterminisme biologique de la qualité des poissons in 12ème Sciences du Muscle et Technologies des Viandes. p. 139-146.
- **Louisy P., Trainito E. (eds)** Guide de l'identification des poissons marins en Europe et de la Méditerranée. Milan, le château, 2006. ISBN 88-8039-472-X).
- **lounaci D. 2012,** LES poissons d'eau douce d'algerie : inventaire et répartition. 3eme congrès franco-Maghrebian de zoologie et d'ichthyologie- . Marrakech – Maroc.
- **Lounaci-daoudi d., 2016.** Freshwater fish fauna of Algeria. The fish fauna of inland waters of Kabylia. Advances in Environment Biology. 10 pp.

M :

- **Medema G., Bahar M. Schets , F. 1997.** Survival of *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli*, faecal enterococci, and *Clostridium perfringens* in river water: Influence of temperature and autochthonous microorganisms. Wat Sci Technol 35:249-252.
- **Mouhoub, R., 1986.** Contribution à l'étude de la biologie et la dynamique de la population exploitée de la sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) des cotes Algéroises (Algérie). Thèse de Magistère en halieutique, USTHB .pp163.

- **Moxley, R. A. and D. H. Francis 1986.** Natural and experimental infection with an attaching and effacing strain of *Escherichia coli* in calves. *Infect Immun* 53: 339-46.

- **Muss, B.J; Nielson, J.G Dhalsrom, P ET Oleson Nystrom, B.1998.** Guide des poissons de mer et de pêches, 5^{ème} Édition, Delachaux et Nestlé S.A Lausanne (Swaziland-) Paris :395p.

N :

- **Nataro JP, Kaper JB. 1998.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev* 11:142–201.

- **Kaper, J. B., Nataro, J. P. & Mobley, H. L 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2, 123–140.

- **Neu, T.R. Lawrence, J .R.1997.** Development and structure of microbial biofilms in river water studied by confocal laser scanning microscopy.*FEMS Microb.Ecol.*24:11-25. Numéro 6. Novembre 2009. Pp 18-37.

- **Neves, B. C., S. Knutton, L. R. Trabulsi, V. Sperandio, J. B. Kaper, G. Dougan and G. Frankel 1998a.** Molecular and ultrastructural characterisation of EspA from different enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes. *FEMS Microbiol Lett* 169: 73- 80.

O:

- **O'Brien, A. O., T. A. Lively, M. E. Chen, S. W. Rothman and S. B. Formal 1983.** *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (SHIGA) like cytotoxin. *Lancet* 1(8326 Pt 1): 702.

- **Olivar M.P., Salat J., Palomera I., 2001.** Comparative study of spatial distribution patterns of the early stages of anchovy and pilchard in the NW Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series* 217: 111-120.

- **OMS (1994)** Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 – recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2^e édition, 202 p.

- **OMS (2000)** Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 – critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2^e édition, 1050 p. Accessible à : www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/

P :

-**Paperblog**, Source internet : Publié le 30 mai 2008 par Mesk Ellil ;
<https://www.paperblog.fr/754329/bouharoun-le-port-de-peche/>

- **Parigi 1996**, société civile est en activité depuis 24 ans. Établie à PARIS 1 (75001), elle est spécialisée dans le secteur d'activité de la location de terrains et d'autres biens immobiliers.

- **Parrish R.H., Serra R. et Grant W.S., 1989.** The monotypic sardines, sardina and sardinops: their taxonomy, istribution, stock structure and zoogeography. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 46 : 2019-2036.
- **Pearson, K.1926.**On the coefficient of racial likeness. Biometrika 18:105-117.
- **Petit A., 1987.** Microbiologie des poissons. RTVA, 1987, (227):22-25.
- **Philippart Jean-Claude et Vranken Martin, 1983,** Atlas des poissons de Wallonie: distribution, écologie, éthologie, pêche, conservation ; Volume 3 de Cahiers d'Ethologie appliquée ; Volume 4 de Cahiers d'éthologie appliquée: Collection Enquêtes et dossiers, Institut de zoologie de l'Universitzé de Liège, 1983.
- **Pilet C., Bourdon J.L., Toma B (1979).** Les entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris. p.109-187.
- **Polotsky, Y., E. Dragunsky and T. Khavkin 1994.** Morphologic evaluation of the pathogenesis of bacterial enteric infections. Crit Rev Microbiol 20: 161-208.

Q :

- **Quero J-C., Vayne J-J., 1997,** Les poissons de mer des pêches françaises , « Les encyclopédies du naturaliste », ed. Delachaux & Niestle.

R :

- **Regost C. 2001.** Effets des lipides sur la qualité nutritionnelle, physique et organoleptique de la chair de la Truite Fario (*Salmo trutta*) et du turbot (*Psetta maxima*). Thèse de doctorat de l'Université de Rennes 1 de l'Ecole Doctorale Vie-Agronomie- Santé p. 222.
- **Rozier J., 1986,** Qualité hygiénique des aliments. RTVA, 1986,(214):7-12.

S :

- **Savoie F. (2011).** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. THÈSE de doctorat en Microbiologie. Université de Bourgogne. France. p 42-43.
- **Sebaste :richard larocque,** le poissons dans tous ses habitat 2010 : le poissons dans tous ses habitat : l'habitat du poissons mieux le connaitre pour mieux le préserve ; photos de g. a dr. :activité en eau douce (peches et oceans canada, guylaine morrier) ;perchaudes(engbretson underwater photo) ;sebaste(richard larocque) ; arriere-plan :marais(canards illimites, claudie lessard) 9184-10-09 - deuxieme edition – oqtobre 2010).
- **Selidja Naouel, Sereir elhirtsi Oum el kheir** Mémoire de fin d'étude ; Evaluation Morphométrique et qualité Bactériologique de la Sardine (*Sardina Pilchardus*) Importée de Tunisie et Mis en Conservation en Industrie Algérienne (SARL CAPTEN, Tènès, Chlef) ; **2017.** P :5.
- **Servin, A. L. (2005).** Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 18, 264–292.

- **Sherman, P., R. Soni and M. Karmali 1988.** Attaching and effacing adherence of vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* to rabbit intestinal epithelium in vivo. *Infect Immun* 56(4): 756-61.

- **Sibille, L., Sime-Ngando, T., Mathieu, L. Block, J.C.1998.** Protozoan bacterivory and *Escherichiacoli* survival in drinking water distribution Systems. *Appl Environ Microbiol.* 64:197-202.

- **Siegler R, Oakes R (2005)** Hemolytic uremic syndrome; pathogenesis, treatment, and outcome. *Curr Opin Pediatr* 17:200–4.

- **Smith, H. 1992.** Virulence determinants of *Escherichia coli*: present knowledge and questions. *Can J Microbiol* 38: 747-52.

T :

- **thurre D. et kurht C., 2005-2006,** dossier pédagogique pour les enseignants (3p- 6p) 2005-2006 titre : poissons et trésors aquatiques, par Daniel thurre et Christiane kurht).

- **Tosello-bancal F., 1994.** L'évolution de la pêche de la sardine sur le littoral français. Thèse de géographie. Paris sorbonne, UFR de Géographie: pp21-23.

V :

- **Van Beneden, 22,4020 LIEGe,** bulletin de la société géographique de liège, 1989, 25 :175-198, titre : ecologie des population de poissons de poissons et caracteristique physiques et chimique des riveres dans le bassin de la meuse.

W :

- **Walbaum, J.J , 1792.** Petri Artedi suecignera piscium systema totum ichthyologiae proponitur cum classibus, ordinibus generum characteribus, Geographic variability of sardine growth across the atlantic and the mediterranean Sea *Fisheries Research* 90 (2008)56-69.

- **Whitehead P., 1985.** Clupeoid fishes of the world, In: *FAO Fisheries synopsis*, n°125, vol 7, Part 1. Rome, pp22-24.

- **Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J., Tortonese, e., 1986.** fishes of thenortheast atlantic and mediterranean, unesco.paris, france.

Résumé :

La présente étude consiste à évaluer la qualité bactériologique de la sardine peuplant les eaux des ports de Cherchell et Bouharoun (situé dans la Wilaya de tipaza, le centre Algérien) par la réalisation d'une analyse quantitative des coliformes thermotolérants au niveau de la chaire durant le mois de novembre 2020, Pour cela nous avons prélevés 40 échantillons

Les résultats de dénombrement montrés un taux de contamination au coliformes thermotolérants globale de 40%, dont 70% pour le port de Bouharoun et 10% pour le port de Cherchell. D'une manière globale 27,5% présente la qualité Bactériologique satisfaisante, 32.5% présente la qualité Bactériologique acceptable et 40% présente la qualité bactériologique insatisfaisante. Et tout cela est causé par la pollution des eaux de la mer en plus du grand nombre d'eaux usées sales qui se déversent dans la mer.

Mots clés : la sardine, coliformes thermotolérants, Escherichia Coli, contamination fécale, poissons

Abstract :

The present study consists of evaluating the bacteriological quality of sardines populating the waters of the researchell and Bouharoun ports (located in the Wilaya of tipaza, the Algerian center) by carrying out a quantitative analysis of thermotolerant coliforms at the chair level during the month of November 2020, For this we took 40 samples

The count results showed an overall thermotolerant coliform contamination rate of 40%, including 70% for the port of Bouharoun and 10% for the port of Cherchell. Overall, 27.5% has satisfactory bacteriological quality, 32.5% has acceptable bacteriological quality and 40% has unsatisfactory bacteriological quality. And all this is caused by the pollution of the sea water in addition to the large number of dirty sewage flowing into the sea.

Key words: sardines, thermotolerant coliforms, Escherichia Coli, faecal contamination, fish

المخلص :

تتمحور الدراسة الحالية حول تقييم الجودة البكتريولوجية لسماك السردين الذي تم اقتنائه من ميناء شرشال وميناء بوهارون (الكائنين بولاية تيبازة ، المركز الجزائري) أخذنا 40 عينة من أجل إجراء تحليل كمي للبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة على مستوى المنبر السمك خلال شهر نوفمبر 2020.

أظهرت نتائج العد نسبة الكلية للتلوث بالبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة بلغت 40% منها 70% بميناء بوهارون و 10% بميناء شرشال.

بشكل عام ، 27.5% ذات جودة بكتريولوجية مرضية ، و 32.5% ذات جودة بكتريولوجية مقبولة و 40% ذات جودة بكتريولوجية غير مرضية. و كل هذا ناتج عن تلوث المحيط بالإضافة الى العدد الكبير من المجاري القذرة التي تصب في البحر.

الكلمات الرئيسية : السردين ، القولونيات المقاومة للحرارة ، الإشريكية القولونية ، التلوث البرازي ، الأسماك