

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



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

en

Médecine vétérinaire

THEME

**Evaluation de la qualité microbiologique
d'un produit de la pêche "*Sardina
Pilchardus*" dans la wilaya de Tipaza**

Présenté par :

Melle REDJIMI Farah Naziha

Soutenu publiquement, le 13 juillet 2021 devant le jury :

Mr BAROUDI Djamel

MCA(ENSV)

Président

Mme BENMOHAND Chabha

MAA (ENSV)

Examinatrice

Mme GUESSOUM Myriam

MCB(ENSV)

Promotrice

Année universitaire 2020-2021

Déclaration sur l'honneur

Je soussignée, **REDJIMI Farah Naziha**, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toutes formes de support, y compris l'intérêt, constitue une violation des droits d'auteurs 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:

Toute ma gratitude ,et remerciement vont a Dieu le tout puissant qui nous a donner la foi ,et la volonté pour évaluer ce travail

Je tiens a remercier tout particulièrement a ma promotrice **Dr GUESSOUM Myriam ,M.C.B** a l'école nationale supérieure vétérinaire d'avoir dirigé méticuleusement notre travail, de m'avoir fait confiance, encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté

Mes remerciements vont également aux membres de jury,

A **Mr Baroudi Djamel**,pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury, et pour sa gentillesse

A **Mme BENMOHAND Chabha** ,pour avoir accepté d'examiner ce travail

Nous remercions également tous nos professeurs qui nous ont dispensé les études de qualité ainsi que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de notre thèse.

Dédicaces

A mes plus chers a mon cœur

A ma chère mère, ma raison d'être, la lanterne qui éclaire mon chemin et l'illumine d'amour Tu es la meilleure maman au monde .Ce travail est le fruit ,de l'amour et de la tendresse qui m'ont donné la force et le courage de me battre et qui ont motivé ma réussite. En ce jour je suis si contente de t'avoir a mes cotés pour partager ces émotions si fortes. Que le dieu te garde longtemps a nos cotés.

A mon père, être exceptionnel pour nous .Tu nous as toujours comblé de bonheurs.

Papa,ta bénédiction tes conseils et ton soutien m'ont permis aujourd'hui d'accomplir mon rêve d'être Docteur vétérinaire. Qu'allah t'accorde longue vie et santé inchallah. Je t'aime Papa

A mes chers frères: M'hamed et Maamar :qui m'ont toujours soutenu dans ma vie

A Toute la familles : REDJIMI,DECHICHA

A mes chers amis qui m'ont soutenu et encouragé et surtout me supporté : ,Tahar ,allaoua,Aymen Amina ,Narimene,Yasmine

Sommaire

Introduction.....	1
Partie Bibliographie.....	2
Chapitre I : Généralités sur la sardine.....	2
I.1.Sardine commune.....	2
I.2.Position systématique.....	2
I.3.Aspect biologique de la sardine.....	2
I.3.1. Présentation et Classification.....	2
I.3.2. Morphologie.....	3
I.3.3. Valeurs Nutritionnelles.....	3
I.4.Distribution Géographique.....	4
I.5.Comportement.....	5
I.6.Nutrition.....	6
Chapitre II : Bactériologie.....	8
II.1. Origine de la contamination.....	7
II.2. Contamination primaire ou endogène.....	7
II.2.1. Localisation des bactéries dans les produits de la pêche.....	7
II.2.2. Nature de la flore bactérienne du milieu aquatique.....	9
II.3. Contamination secondaire ou exogène.....	11
II.3.1. Vecteur animés de la contamination.....	11
II.3.2. Vecteur inanimés de contamination.....	13
II.4. Espèces bactériennes rencontrées	14
II.5. Conséquence de contamination de produits de la mer.....	15
II.5.1. Altération.....	15
Partie Expérimentale.....	16
Matériel et Méthode	16
I.Matériel.....	16
I.1.Zone d'étude	16
I.2.Choix de point de vente.....	16
I.3.Matériel de laboratoire.....	17
II.Méthode.....	17
II.1. Prélèvement et préparation des échantillons.....	17
II.2. Broyage et homogénéisation.....	18
II.3. Revivification.....	19

II.4. Analyse bactériologique des sardines.....	19
II.4.1. Préparation des dilutions.....	19
II.4.2. Dénombrement des différentes flores bactérienne.....	21
II.4.2.1. Dénombrement de la flore Mésophile Aérobie Totale.....	22
II.4.2.2. Dénombrement de la flore de contamination fécale.....	24
II.4.2.3. Expression des résultats	27
II.4.3. Recherche de germes pathogènes.....	28
II.4.4. Moisissures et levures.....	28
III. Résultats et Discussion.....	33
III.1. Flore mésophile aérobie totale.....	33
III.2. Dénombrement de la flore de contamination fécale.....	34
III.3. Recherches de germes pathogènes.....	34
IV. Conclusion.....	35
Références Bibliographiques.....	39

Table des tableaux:

Tableau1: Les risques microbiologiques liés aux produits de la pêches.....	9
Tableau2: Les différents sites de prélèvements.....	18
Tableau3: Nombre de la flore cultivable hétérotrophe mésophile(SARDINE)	33
Tableau4: Résultats de dénombrement des coliformes totaux et fécaux	34

Table des figures

Figure1: Sardina Pilchardus	3
Figure2: Carte de l'aire de répartition de la sardine européenne, Sardina pilchardus	5
Figure3: Localisationdes bactéries	8
Figure4: Les différentes dairas de la wilaya de tipaza.....	17
Figure5: Les différents échantillons prélevés (Photo personnelle)	18
Figure6 : Broyage de la sardine a l'aide d'un mortier	19
Figure7: Solution mère et les différentes dilutions	20
Figure8: Schéma d'analyse quantitative.....	21
Figure9: Répartition des Bactéries recherchées dans les produits de pêche(sardines).....	22
Figure 10 : Dénombrements de la FMAT sur gélose PCA	23
Figure11: Dénombrement des bactéries	24
Figure 12: Dénombrements des coliformes sur gélose VRBL	25
Figure 13: Schéma récapitulatif de la technique de dénombrement des ASR.....	27
Figure 14: La recherche des salmonelles sur gélose Hektoen	29
Figure 15: Recherche des salmonelles sur gélose Hektoen	30
Figure16: Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman	31
Figure 17: Présence d'Entérobacteriaceae	36
Figure18: Profil biochimique illustrant la présence du germe <i>Proteus mirabilis</i> (75.6 %/.....	36

Liste des abréviations:

FAO: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

AEP: Acide Eicosapentaénoïque

ADH: Acide Docosahexaénoïque

EPT: Eau Peptonée Tamponnée

SM: Solution mère

FMAT: Flore Mésophile Aérobie Totale

UFC: Unité Formant Colonies

PCA: Plat Count Agar

VRBL: Milieu Lactosé Bilié au Cristal Violet et au Rouge Neutre

ASR: Anaérobies Sulfito-Réducteurs

E.coli: *Escherichia coli*

VF: Gélose Viande foie

SCP: Staphylocoques à Coagulase Positive

Staph.aureus: *Staphylocoque aureus*

INTRODUCTION

Introduction

Dans le bassin Méditerranéen, l'apport nutritionnel du citoyen algérien est inférieur à celui des habitants riverains 3,2kg/ha/an malgré les efforts employés par l'Etat Algérien pour l'amélioration du secteur halieutique, avec une norme de 6 kg/ha/an (OMS ,2005).

Le poisson représente non seulement un produit de grand valeur socio-économique mais aussi un aliment de haute valeur nutritionnelle vue sa richesse exceptionnelle en éléments nutritifs essentiels (protéines, lipides, vitamines liposolubles, éléments minéraux ...etc.), de plus il est particulièrement apprécié pour sa haute teneur en acide gras polyinsaturés (ACKMAN, 1989) dont les effets bénéfiques sur la santé humaine.

Ces acides gras sont notamment reconnus pour participer à la prévention des maladies cardiovasculaires (PSOTA et AL., 2006), des maladies inflammatoires (SIMOPOULOS, 2002) et des maladies neuro -dégénératives comme la maladie d'Alzheimer (MOYAD, 2005).

Le potentiel biologique important que recèle la cote Algérienne sur une étendue de 1200 km offre de grandes opportunités d'investissements rentables pour les opérateurs publics et privés.

La pêche sardinière, l'une des principales composantes des produits de la pêche, évaluée à 70% des ressources halieutique (ZEGHDOUDI, 2006), est destinée dans sa totalité à satisfaire le marché interne.

La sardine *Sardina pilchardus*, reste l'un des rares produits de la mer encore accessible au consommateur algérien. Elle est inscrite dans la culture culinaire algérienne et est recommandée par plusieurs institutions internationales de la santé pour ses vertus nutritionnelles (AFSSA, 2003).

Comme les produits de la pêche contaminés ou altérés sont à l'origine de différents maladies intoxication alimentaire nous nous sommes intéressés dans notre travail à suivre l'évolution dans son aspect microbiologique de la sardine (*Sardina pilchardus*) capturée dans LA Wilaya de TIPAZA.

Notre travail se présente en deux parties, une première partie concernant la synthèse bibliographique et une deuxième partie comprenant le travail expérimental, matériel et méthode et résultats et discussion.

Partie Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur la sardine

I.1. La sardine commune (*Sardina pilchardus*)

Selon (LAVOUE et Al., 2007), les sardines appartiennent à un groupe taxonomique complexe qui regroupe les poissons pélagiques marins ou dulçaquicoles comme les aloses, les harengs.

Les noms vernaculaires attribués à la *Sardina pilchardus* selon la (FAO,2011)sont : An. :European pilchard ; Es. : Sardina ; Fr. : Sardine commune.

I.2. Position systématique

La classification de la sardine selon Walbaum (WALBAUM, 1792)

Régne:Animalia

Embranchement : Vertébrés

Sous-embranchement: Gnathostomes

Super –classe: Poissons

Classe : Ostéichtyens

Sous-classe: Actinoptérygiens

Super-ordre : Téléostéens

Ordre : Clupéiformes

Sous-ordre : Clupéoidés

Famille : Clupéidés

Genre : *Sardina*

Espèce : *Sardina pilchardus*

I.3.Aspect biologique de la sardine

I.3.1.Présentation et classification

Sardina pilchardus est un poisson migrateur pélagique côtière (CARRIES, 1976),communément appelé: Sardine, allant jusqu'à 200 m de profondeur. Elle est rencontrée le long des côtesatlantiques et méditerranéennes d'Europe et d'Afrique

Elle a une forme fusiforme et allongée avec une taille de 10cm à 20cm qui peut atteindre les 25cm, possède un ventre argenté brillant et un dos bleuté.

Elle se caractérise par des écailles sessiles qui se détachent facilement du corps, un opercule strié, et les derniers rayons de la nageoire anale sont plus que les précédents.

Elle possède une série de taches sombres le long des flancs supérieures (HALFAOUI, 2014)

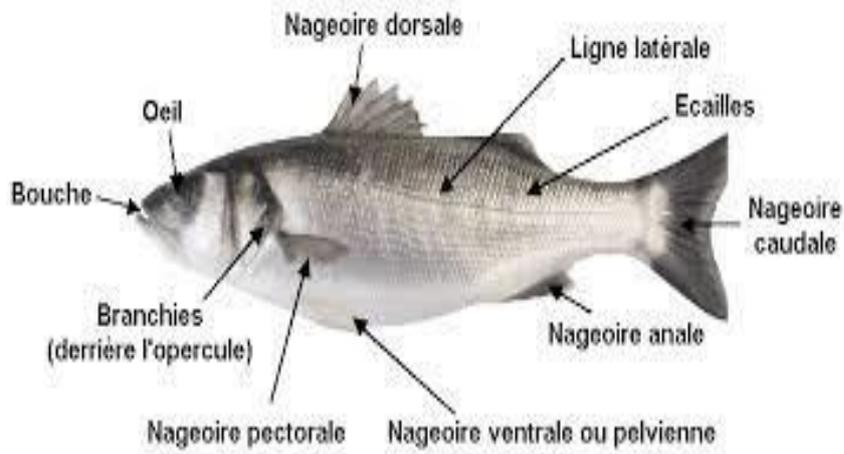


Figure1: *Sardina Pilchardus* (site web)

I.3.2. Morphologie

La sardine se caractérise par:

- ✓ Une mâchoire légèrement saillante.
- ✓ Opercules portant des cannelures radiaires. La nageoire dorsale est située en avant des pelviennes.
- ✓ L'anale est caractérisée par un allongement au niveau des deux derniers rayons.
- ✓ Les flancs sont dorés et le ventre argenté. Une rangée de taches sombres se trouve le long de chaque flanc (DAOUAR et AL., 2016).

I.3.3. Valeurs nutritionnelles

La sardine est un poisson qui possède un contenu élevé en matières grasses, et surtout en acide gras polyinsaturés de la série oméga 3. Ces acides gras issus de la sardine mais aussi d'autres produits de mer possèdent un effet bénéfique dans le cas d'obésité, le syndrome métabolique et l'insulino-résistance (Nettleton et Katz) (HALFAOUI, 2014)

Parmi les vertus nutritionnelles de la sardine, l'une des principales, est la présence de lipides particuliers: les acides gras de la famille des oméga 3, dont les propriétés vasculo-protectrices sont maintenant bien établies.

Le poisson exerce un effet cardio-protecteur spécifique pour des doses relativement modestes: 30g en moyen par jour soit 2 repas de poisson par semaine.

C'est une excellente source d'acide eicosapentaénoïque (AEP) et d'acide docosahexaénoïque (ADH), deux acides gras de la famille des oméga-3 qui représentent 20 à 30% des acides gras totaux de la sardine.

Ces acides gras agissent comme précurseurs de messagers chimiques favorisant un bon fonctionnement des systèmes immunitaire, circulatoire et hormonal. En effet la sardine est l'un des poissons les plus riches en protéines.

Elle contient peu de sodium mais est riche en calcium, magnésium et potassium, et constitue un excellent apport de zinc et d'iode. Avec toutes ces qualités, la sardine est un aliment hypocalorique (170 kcal pour 100g) pouvant être intégrée dans la plupart des régimes alimentaires (TERMOUL., et al .,2020)

I.4. Distribution géographique

La sardine du méditerrané vit sur le plateau continental ne dépassant pas l'isobathe de 150 m. Dans l'atlantique son aire de répartition s'étend de la mer du nord jusqu'à la baie de Gorée au Sénégal, elle est rare dans le bassin oriental méditerranée, et absente au large des côtes libyenne (**Figure 2**).

Souvent associé à l'allache, la sardine rapproche rarement des haut fonds, elle se tient au large entre 10 et 50 mètres sous la surface. Ceci fut, sa présence de longe des côtes ne passe pas inaperçue, tant que par la compacité des bancs (TERMOUL et Al.,2020)

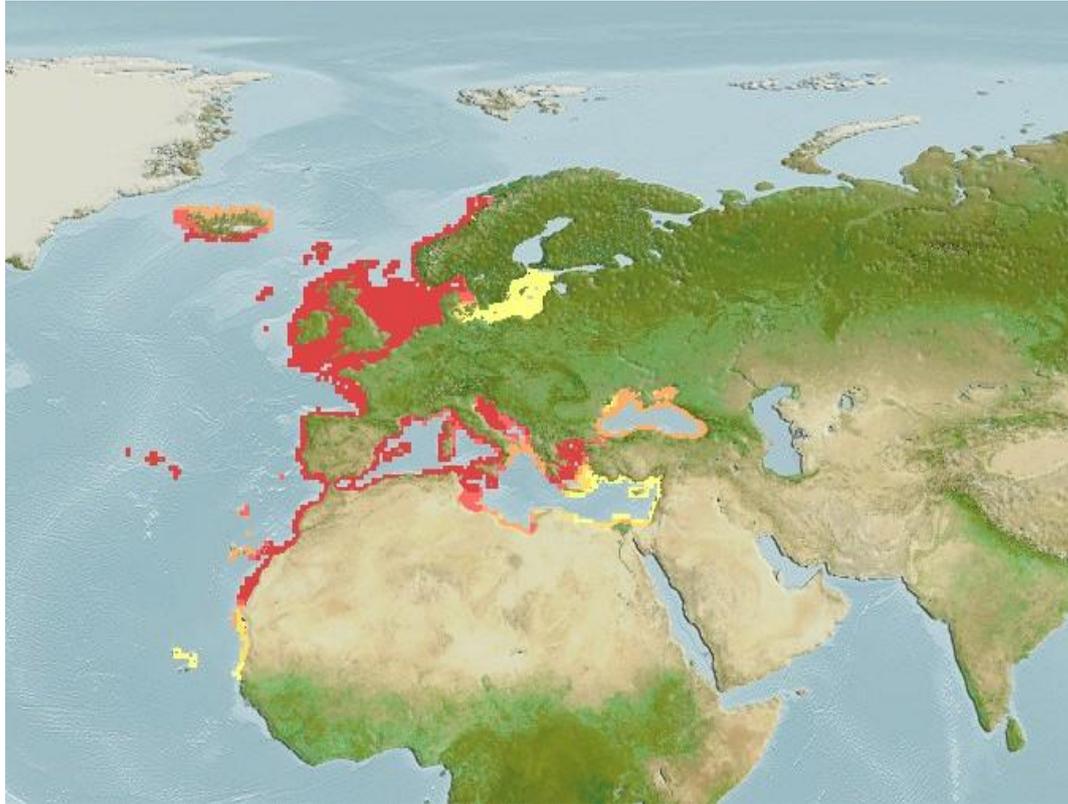


Figure2: Carte de l'aire de répartition de la sardine européenne, *Sardina pilchardus* (TAAZIBT, 2017).

I.5. Comportement

La sardine commune est un poisson pélagique grégaire, qui vit sur le plateau continental à une profondeur maximale de 150 m et sa présence est souvent associée à celle de l'anchois (ABAD et al, 1998).

Elle vit en bancs parfois très importants, près de la surface pendant la nuit (entre 15 et 40 m de la surface) et en profondeur le jour (de 30 m à 50 m de la surface), depuis les eaux côtières jusqu'à 120 m de fond. La sardine supporte une faible dessalure, raison pour laquelle selon les années, elle peut être observée dans des estuaires comme celui de Lima au Portugal (RAMOS et Al., 2006).

Généralement, les bancs peuvent être composés d'individus d'âges et de sexes différents mais de tailles équivalentes (CURY et Al., 2000). En cas de fortes abondances, les bancs ont tendance à être mono spécifiques.

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**).

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

I.6. 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**).

Les sardines adultes utiliseraient essentiellement le mode filtration, particulièrement quand la composition du milieu en phytoplancton est intéressante (**BODE et AL., 2004**).

La jeune sardine se nourrit de phytoplancton, d'œufs et de petits crustacés et de larves, alors que l'adulte consomme essentiellement des crustacés planctoniques, des larves de crabes ou d'ophiures. Ces deux modes de prise alimentaire sont possibles grâce à des modifications d'ordre morphologique(**BODE et AL., 2004**).

Chapitre II: Bactériologie

II.1. Origine de la contamination :

Les zones littorales sont soumises a une pollution importante, les pathogènes apportés par cette voie sont principalement des organismes a transmission fécale .

De divers produits de pêches montrent la sensibilité différentes a la pollution du milieu environnant.

II.2. Contamination primaire ou endogène :

La contamination primaire ou endogène est celle qui survient du vivant de l'animal. Elle est essentiellement le fait des bactéries propres aux poissons, la totalité des tissus et organes est contaminée lors d'infections généralisées ou d'affections localisées accompagnées de réactions générales de l'organisme avec bactériémie. (KAIRE ,2013).

II.2.1. Localisation des bactéries des produits de la pêche :

La contamination du milieu marin se fait d'une manière :

- directe par les baignades
- indirecte par les rejets des eaux usées.

Dans le milieu marin; les bactéries servent de nourriture à de nombreux organismes marins, elles favorisent la fixation d'algues ou de larves sur certains substrats, elles permettent également la dégradation de certains polluants tel que pesticides, hydrocarbures, etc. Cependant leur effet peut être nuisible, Certaines bactéries ont la capacité de concentrer des polluants tels que les métaux lourds (mercure) ; leur consommation par des mollusques filtreurs ou des vers peut contaminer la chaîne alimentaire.

Ces contaminants bactériens peuvent être véhiculés à l'homme par les produits de la pêche notamment les mollusques bivalves. Chez les poissons, les germes contaminants se rencontrent dans les branchies, dans l'intestin, et sur la peau. Le muscle, qui est consommé, est exempt de germes à l'état vivant(PR DIB, 2021)

la localisation des microorganismes(bactéries) se retrouvent au niveau de toute la surface externe du poisson qui est en contact direct avec l'eau de mer ,elle est plutôt élective.

En effet, c'est surtout au niveau du mucus de la peau ,les branchies et le tube digestif que se rencontre les germes, la qualité de l'eau de mer a été défini comme étant un élément influençant sur la charge microbienne du poisson notamment a la surface de sa peau(AUSTIN,2002).

les charges bactériennes pour le poisson venant d'être capturé varient de :

- 10^2 à 10^6 germes par cm^2 pour la peau,

- 10^3 à 10^7 germes par gramme pour les branchies

- 10^3 à 10^8 germes par gramme pour le contenu intestinal.

Il est a noté ,que plusieurs facteurs environnementaux du poisson vont influencer sur la charge microbienne, qui sont comme suit:

- la température de l'eau
- la profondeur
- la proximité de la coté
- la saison de pêches

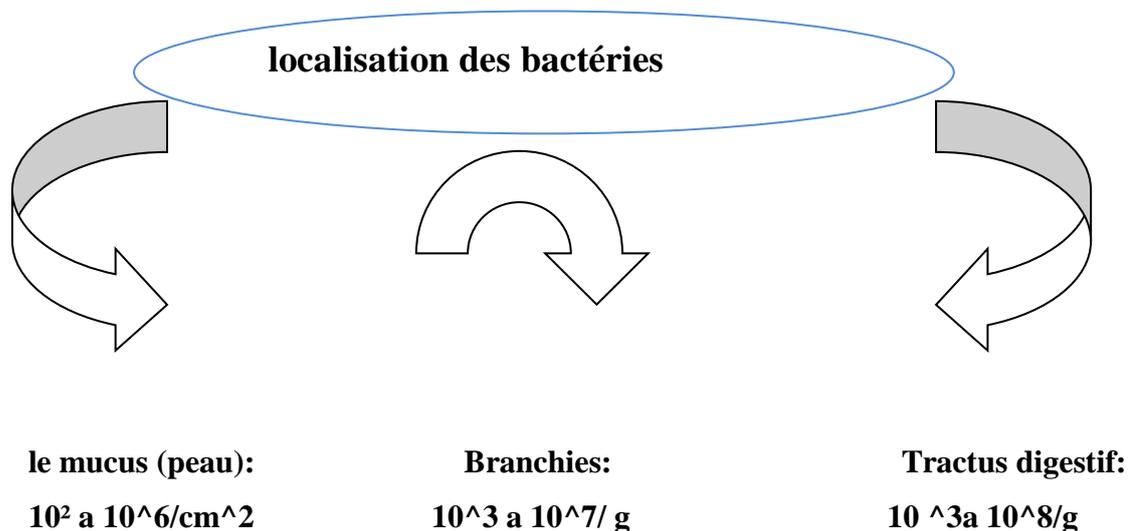


Figure3: Localisation des bactéries

II.2.2. Nature de la flore bactérienne du milieu aquatique :

Les bactéries isolées dans les produits de la pêche sont partagées en deux groupes:

- ❖ le groupe des bactéries indigènes que l'on trouve de façon naturelle sur les produits de la pêche et qui est commun et présent un peu partout dans les milieux aquatiques des différentes régions du monde (**tableau 1**). Plusieurs espèces bactériennes de ce groupe peuvent être retrouvées dans les produits de la pêche s'il y a eu prolifération. Cette dernière représente un danger sérieux, avec de forts risques d'entraîner des maladies(**Pr DIB ,2021**)
- ❖ bactéries non indigènes: elles sont d'origine humaine ou des animaux terrestre

Tableau1 :les risques microbiologiques liés aux produits de pêches.(**PR DIB , 2021**)

Origine	Espèces
Bactéries naturellement présentes dans l'environnement aquatique (indigène)	<i>Vibrio</i> <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> , <i>Clostridium botulinum de type E</i>
Origine humaine et animale (non-indigène)	Salmonella Shigella Escherichia coli Campylobacter Staphylococcus

D'une autre part et selon la nature de la flore bactérienne qui est très variée que l'on peut grouper en trois (03) classes :

- les germes typiquement aquatiques
- les germes telluriques
- les germes issus de la contamination humaine et/ou animale

- Germes typiquement aquatiques :

Ce sont toutes les bactéries qui ont un métabolisme adapté aux milieux aquatiques

Les principales bactéries appartiennent au genre:

Pseudomonas, vibrio, Flavobactérium, Acinetobacter, Bacillus, Micrococcus, Corynébactérium.

Ceux-ci représentent 95% de la flore totale du milieu aquatique (**KAIRE, 2013**).

- Germes telluriques:

Ce sont les Bactéries du milieu terrestre présentes au niveau du sol, de l'air

Elles sont disséminées dans le milieu aquatique par les eaux de ruissellement et la pluie durant la période hivernale (**KAIRE, 2013**).

Essentiellement composée de Bactéries sporulées du genre: *Clostridium, Bacillus.*

- Germes de contamination humaine et animale :

Ce sont des germes commensaux de l'intestin de l'homme et l'animal

la Flore est composée de germes saprophytes et pathogènes responsable des TIAC "toxi-infection alimentaire" généralement (*Clostridium/Salmonelle*)

Beaucoup de travaux : ont démontré que les Bactéries retrouvées dans le milieu aquatique proviennent de la pollution des eaux : à cause du nombre des malades ainsi qu'aux porteurs sains et convalescents (**M. CHEIKH, 2011**)

II.3. Contamination secondaire ou exogène

Les sources exogènes de contamination des produits de la pêche sont nombreuses ,ils subissent au cours de diverses opérations plusieurs manipulations.

Il en résulte un transfert important de germes de contamination humaine vers le produit qui se retrouvent principalement au niveau :(M. CHEIKH,2011)

- la peau (10^3 - 10^6 /cm²)

-des écailles (10^2 - 10^9 /cm²).

Ce transfert fait intervenir de principaux vecteurs:

- ✓ Vecteurs animés de la contamination
- ✓ Vecteurs inanimés de la contamination

II.3.1. Vecteurs animés de la contamination:

Ce sont des agents de contamination / des éléments de transfert des germes de certains sites jusqu'à l'aliment

- Homme

Considéré comme le principal agent responsable des contaminations soit:

✚ Directement

✚ Indirectement par manipulation défectueuse des vecteurs inanimés. Après sa capture, lors des manipulations, le poisson va être colonisé par des contaminants de l'environnement humain(M. EUGENE ,2009)

L'homme constitue la principale source de contaminations exogènes des denrées alimentaires d'origine animale (KAIRE,2013)

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

- *Homme, vecteur actif*

L'homme est un vecteur actif du fait qu'il constitue un réservoir important de divers micro-organismes ,intervient comme porteur sain ,chronique ,convalescent

Selon(M. CHEIKH,2011) les personnes atteintes, d'affections des voies respiratoires ,de la peau ,constituent les principaux vecteurs actifs de la contamination

L'homme porte au niveau de sa peau et de ses muqueuses, les agents bactériens *Staphylocoque* qui peuvent souiller les produits alimentaires staphylocoques. Ces germes cutanés se réfugient dans les glandes sudoripares et dans les follicules pileux de telle sorte que même un lavage soigneux à l'aide d'un antiseptique est incapable de les déloger.

- *Homme, vecteur passif*

Les professionnels qui manipulent les poissons peuvent les contaminer passivement par:

- L'intermédiaire de leurs mains sales au contact des matières souillées, leurs vêtements mal entretenus, leurs bottes
- Simple mégarde des règles d'hygiène, on assiste à un ensemencement, sur les produits sains, des germes provenant des produits souillés. C'est la contamination croisée (KAIRE, 2013)

- *Animaux :*

Selon plusieurs auteurs , les animaux domestiques tels que les carnivores, les rongeurs, les reptiles ainsi que certaines insectes en particulier les mouches ,peuvent constituer des réservoirs pour divers germes tels que les *Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Salmonelles*(M. EUGENE ,2009)

Le rôle des animaux et de l'homme comme agents de la contamination est bien connu de nos jours. C'est ce qui justifie la rigueur des règles d'hygiène dans les industries agro-alimentaires Cependant, toutes ces mesures seraient sans effet sans une maîtrise effective des vecteurs inanimés. (KAIRE,2013)

II.3.2. Vecteurs inanimés de la contamination :

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 :

Son rôle est important surtout lorsqu'il est chargé en poussière, riche en microorganismes et donc responsable: des maladies et engendre des toxi-infection a l'homme, ainsi *Salmonella*, *Escherichia coli*) qu'aux altérations (*Entérobactéries*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae*, spores de levures et moisissures pigmentogènes...).

L'air poussiéreux peut également contribuer à la dissémination des germes *bacille tuberculeux*, *les leptospires* et *les spores de Bacillus anthracis*aux ouvriers et contaminer les aliments **(KAIRE ,2013)**

❖ L'eau :

L'eau même potable peut contenir des microorganismes d'altération des denrées telles que *Pseudomonas sp.* Les eaux non potables seront par conséquent plus dangereuses.

Dans les industries agro-alimentaires on redoute les éclaboussures d'eau, qui projettent les germes du sol sur les denrées.

❖ Les locaux

Les locaux contribuent grandement à la contamination des denrées.

L'absence de séparation nette entre le secteur sain et le secteur souillé, le mauvais état des murs et du sol, accroissent considérablement les risques de souillures.

Lorsque les surfaces ainsi que leurs raccordements sont rugueux, elles rendent le nettoyage et la désinfection difficiles et abritent beaucoup de matières organiques. Elles constituent alors des amorces de contamination microbienne permanente des denrées **(KAIRE,2013)**

❖ Le matériel :

Le rôle du matériel comme vecteur inanimé de la contamination des denrées est à considérer puisqu'il entre en contact avec les produits tout au long de leur vie économique.

(KAIRE,2013)

II.4. Espèces bactériennes rencontrées :

les principales espèces bactériennes rencontrées sont comme suit:

✓ *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* (E):

Le réservoir de *C. botulinum*, comme des autres *Clostridium* est l'environnement tel que, le sol, la poussière, les sédiments marins ou l'eau douce, les eaux souillées, le lisier, et occasionnellement le contenu digestif de l'homme et des animaux asymptomatiques.

Les poissons des mers du Nord, notamment de la Baltique et ceux d'eau douce sont fréquemment des porteurs asymptomatiques de *C. botulinum* E dans leur tube digestif, qui produit une neurotoxine chez les poissons transformés, lorsque les conditions optimales de croissance sont favorables.

En plus des *Clostridium botulinum* E, il existe d'autres souches atypiques, plus rarement isolées en Europe appartenant à d'autres espèces de *Clostridium*, qui sont neurotoxigènes tels que *C. baratii* (neurotoxine botulique F). Les spores de *Clostridium botulinum* de type F se trouvent également dans les sédiments marins et le tractus intestinal des poissons et crustacés surtout si les produits de la mer sont stockés dans de mauvaises conditions (principalement en l'absence d'oxygène), ce qui permet la germination des spores et la multiplication bactérienne

✓ *Les vibrios*:

Tous les vibrions ont une exigence en NaCl pour leur croissance, cependant certains d'entre eux comme *V. cholerae* ne nécessitent pas un taux élevé en NaCl. La surface et la flore microbienne intestinale des poissons pêchés et crustacés, en particulier dans les eaux saumâtres, estuaires et environnements côtiers, auront tendance à contenir un nombre élevé en vibrions pathogènes.

La contamination des produits de la mer par les vibrios est généralement due à une contamination fécale de l'environnement marin ou par contact de l'eau avec les matières fécales, lors de la préparation de la nourriture

II.5. Conséquences de la contamination des produits de la mer :

II.5.1.. Altérations

L'altération des poissons est due aux enzymes tissulaires et aux microorganismes ; ces derniers jouant un rôle important. De nombreux facteurs conditionnent les modalités de l'altération microbienne (HUSS, 1988 et JOUVE, 1993) : Variété du poisson ;) pH de la chair ;) Richesse en graisse ;) Habitat du poisson ;) Type et étendue de la contamination bactérienne ;) Condition de pêche et de stockage.) Les dégradations microbiennes proviennent de la flore de surface et intestinale. Cette dernière peut envahir les surfaces après autolyses des viscères d'où l'intérêt d'une éviscération rapide (SOGUE, 1987) à basse température ; les germes les plus actifs sont les Pseudomonas, Achromobacters et Fusobacters. A température ordinaire interviennent Microccus et Bacillus(SEYDI, 1985 ;SOGUE, 1987; SEYDI, 1982) ; dans d'autres cas sont incriminés coliformes, Proteus, Clostridium .Ces germes sont responsables de mauvaises odeurs, de mauvais goût, de colorations, de décolorations, de dégradations de graisses ou de putréfaction. L'altération aboutit le plus souvent à la libération d'ammoniac et d'amines comme la triméthylamine qui peuvent être globalement dosés (taux ABVT). Des amines toxiques peuvent être formées à partir d'acides aminés et en particulier de l'histamine.

Partie Expérimentale

I. Matériel

I.1. Zone d'étude

La wilaya de Tipaza, dont le chef-lieu est situé à 68 Km à l'ouest du capital d'Alger, au nord de Tell central. Cette wilaya s'allonge en bordure de la méditerranée sur près de 123 Km, limitée géographiquement par:

- La wilaya d'Alger à l'est ;
- La wilaya de Blida au sud ;
- La wilaya d'Ain Defla au sud-ouest ;
- La wilaya de chlef à l'ouest ;

Selon le recensement 2018, la population de la wilaya est 617 661 habitants et couvre une superficie de 1 707 Km². Par sa position en bordure de mer, la richesse de ses terres agricoles et son passé historique, le développement économique de la wilaya de Tipaza est axé sur l'agriculture maraichère, l'industrie, le tourisme et la pêche.

La zone d'étude est limitée autours des différents points de vente de la ville de Tipaza savoir les deux grands marchés du centre-ville

I.2. Choix des points de vente

Sur l'ensemble des points de vente de la Sardine dans la Wilaya de TIPAZA ,nous avons choisi pour notre étude 3 points de vente :

1.Bouharoune

2.Bousmail

3.Fouka

Le choix de ces points est fondé sur certains critères a savoir :

- Proximité, facilité d'accès et acceptation de participer à l'étude en permettant le prélèvement d'un échantillon de poisson (Sardine)
- La grande consommation et le nombre élevé des acheteurs au niveau de la zone d'étude.

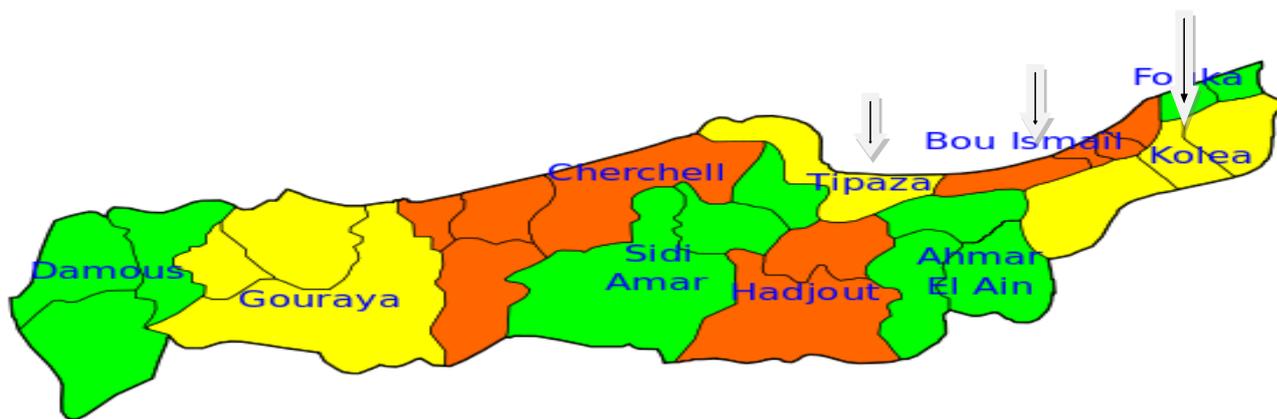


Figure4:Les différentes dairas de la wilaya de tipaza(site web 2)

I.3.. Matériels de laboratoire

C'est le matériel classiquement utilisé dans les laboratoires d'analyse microbiologique alimentaire. Il comprend :

- Le matériel de stérilisation : autoclave, four pasteur, bec bunsen
- Le matériel de pesée : balance de précision
- Le matériel de broyage : Mortier
- La verrerie et ses accessoires : boîtes de Petri, tubes à essais, pipettes, étaleurs
matériel divers : bains-marie, pinces, ciseaux.
- Les milieux de culture et réactifs

II. Méthodes

II.1. Prélèvements et préparation des échantillons

- ⇒ Les prélèvements sont effectués conformément aux exigences fixées dans le journal officiel de la république algérienne N°15 - 2018: Prélever une quantité suffisante de matière de l'échantillon pour le laboratoire afin d'obtenir une prise d'essai représentative telle que spécifiée dans la présente méthode.
- ⇒ Au niveau de chaque point de vente, 3 prélèvements ont été effectués au niveau des différents points de vente. Chaque prélèvement est constitué d'un lot de 10 poissons (sardine) mélangés puis, un poisson a été prélevé de manière aléatoire et utilisé pour les analyses.
- ⇒ Une fois prélevés, les échantillons sont acheminés directement vers le laboratoire de microbiologie de l'ENV d'Alger.

⇒ Après prélèvement, la tête de la sardine est tranchée, la paroi abdominale ouverte et les viscères enlevés, la cavité viscérale est lavée par un fil d'eau. Les arêtes et la peau sont enlevées ; la chair seule est broyée pour avoir un échantillon homogène (BELAIOUER et Al., 2016).

Tableau2:Les différents sites de prélèvements

Numéro du prélèvement	Site du prélèvement
E1+E2	Bouharoune
E3+E4	Fouka
E5+E6	Bousmail

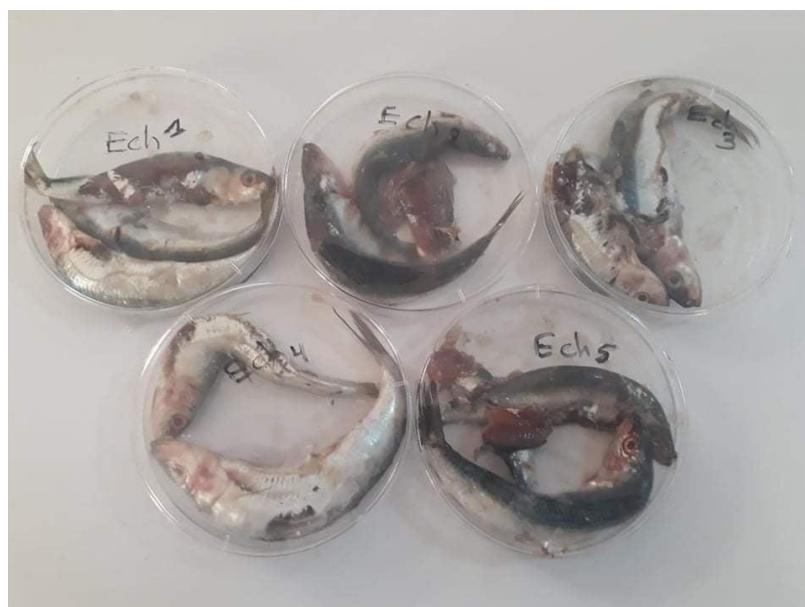


Figure5: Les différents échantillons prélevés (Photo personnelle)

II.2. Broyage et homogénéisation

Le broyage est une étape importante de la microbiologie alimentaire. Il permet en effet la suspension des germes dans le liquide de dilution.

- Le broyeur utilisé est de type Mortier
- Le mélange constitué par l'aliment et l'EPT.
- Le broyage dilacère le produit et mettent les germes en suspension.



Figure6 : Broyage de la sardine a l'aide d'un mortier (Photo personnelle)

II.3. Revivification

Les germes présents dans les aliments sont soumis au stress (chauffage, réfrigération, acidité, conservateurs, broyage, etc). Bien que viables, et donc capables de provoquer une altération de la denrée ou une toxi-infection chez le consommateur, ils pourront ne pas être cultivables suivant l'intensité du stress.

Pour permettre à ces microorganismes de réparer les dommages métaboliques subis, le mélange homogène est alors laissé au repos à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la revivification des germes.

- La suspension obtenue est appelée : «suspension mère».

II.4. Analyse bactériologique des sardines

II.4.1. Préparation des dilutions

Sur une paille bien désinfectée et devant un bec Bunsen, on introduit 10 g de chair dans un mixeur stérile et inoxydable avec 90 ml d'eau distillée stérile.

Après homogénéisation pendant quelques minutes, on récupère la solution mère (SM) dont la dilution est de 1/10 ou 10^{-1} dans un flacon stérile.

Dans un autre flacon stérile contenant au préalable 9 ml d'eau distillée stérile, on introduit 1ml de solution mère (SM) à l'aide d'une pipette graduée stérile puis on mélange soigneusement pour homogénéiser, ainsi on obtient une dilution de 1/100 ou 10^{-2} .

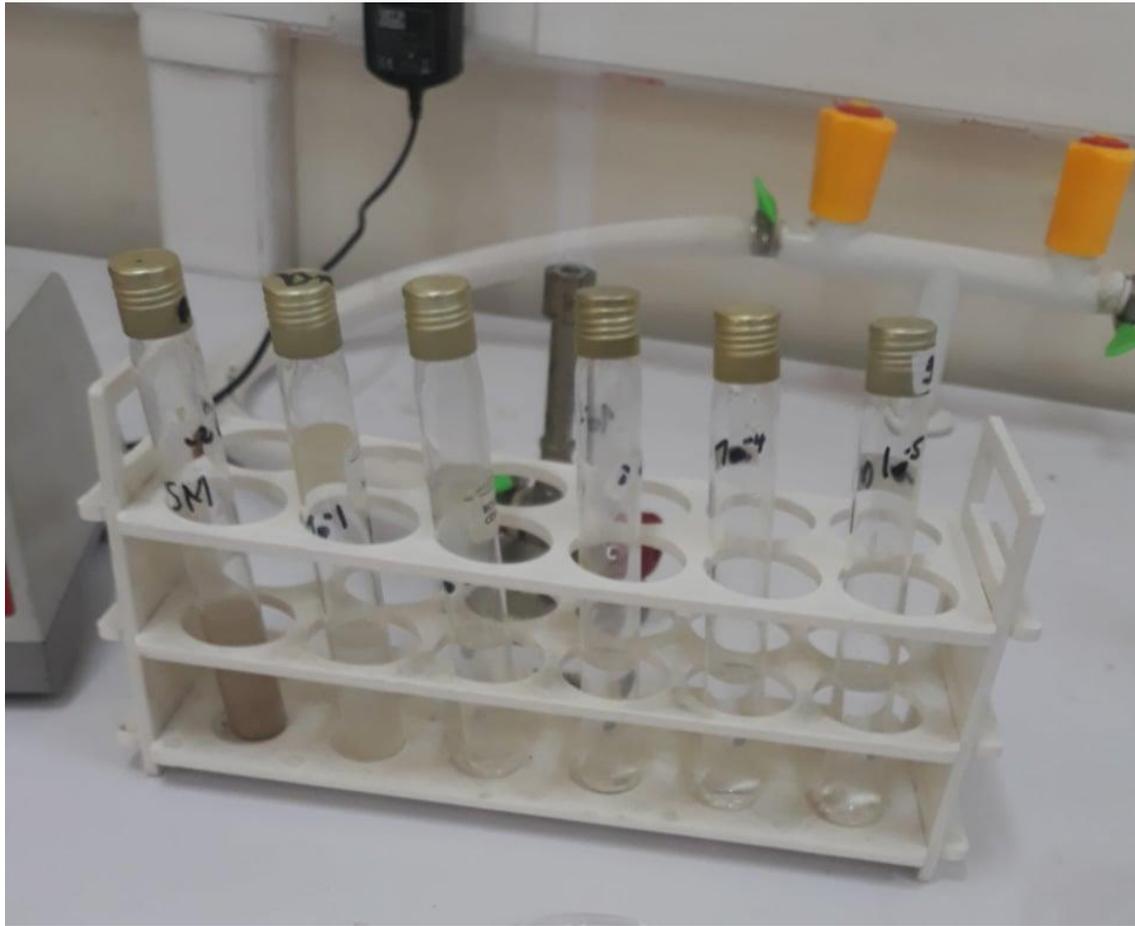


Figure7: Solution mère et les différentes dilutions (photo personnelle)

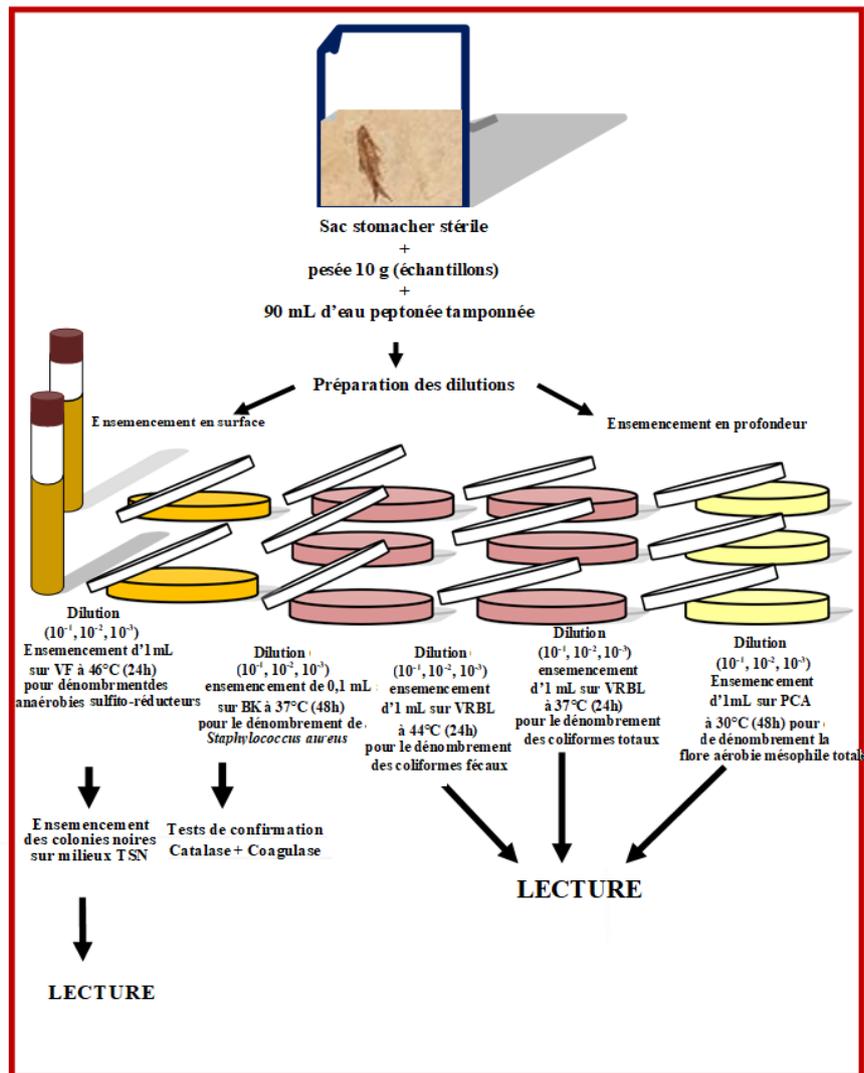


Figure8: Schéma d'analyse quantitative

II.4.2. Dénombrement des différentes flores bactériennes

- Le dénombrement et la recherche des bactéries se fait par des analyses microbiologiques.
- Ces examens microbiologiques ont pour but une appréciation quantitative ou qualitative de la flore de contamination d'un produit à un moment donné.
- A travers les résultats obtenus et pour peu que l'échantillon analysé soit représentatif que l'on pourra conclure de la salubrité ou de l'insalubrité du lot correspondant, ou de sa conformité à certaines prescriptions réglementaires ou commerciales (GUIRAUD et Al, 2004).

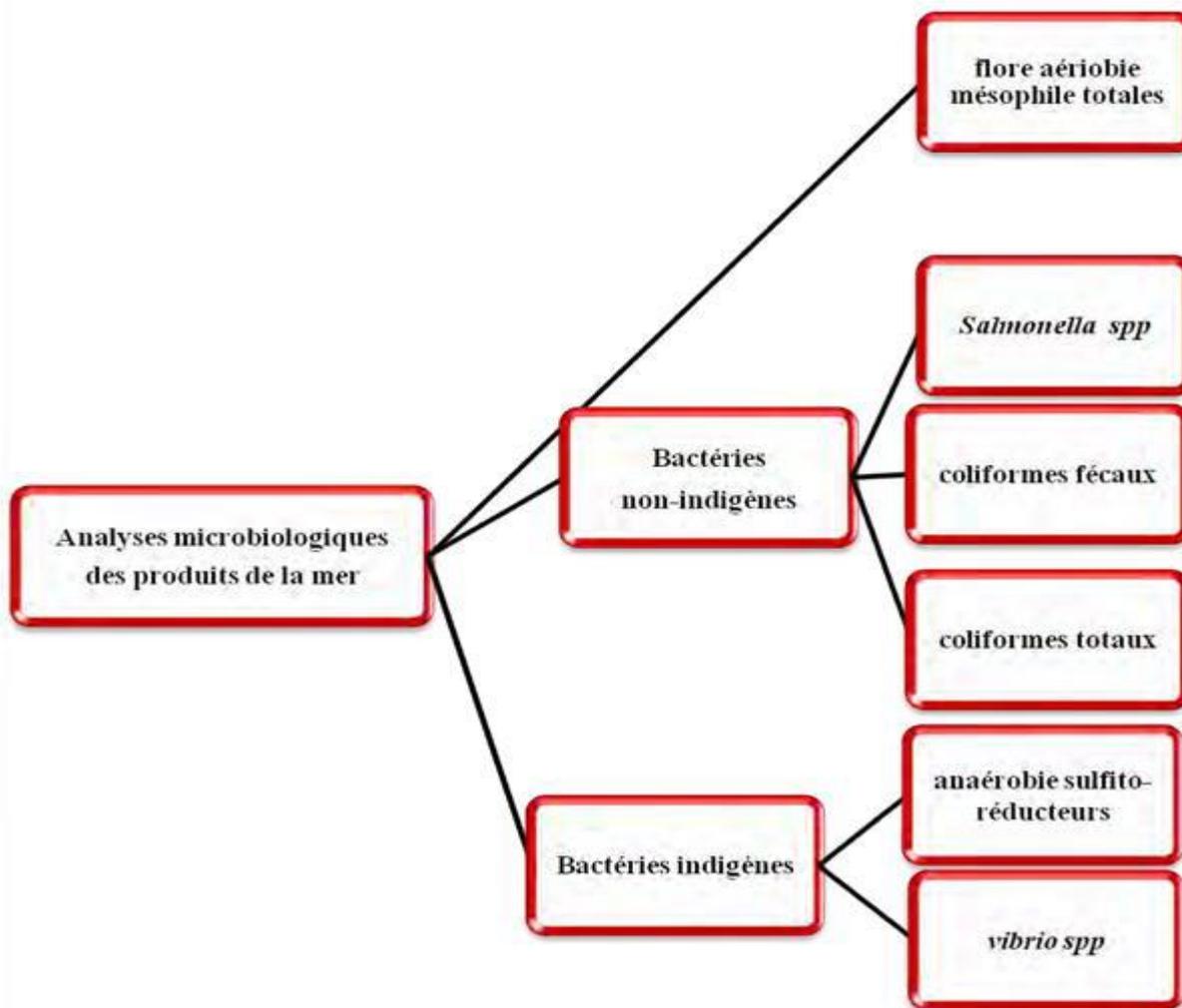


Figure9: Répartition des Bactéries recherchées dans les produits de pêche(sardines)

II.4.2.1. Dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)

La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie) présentes dans un produit dans le but de déterminer l'état de fraîcheur d'un produit ou l'efficacité d'un traitement thermique ou de la conservation.

Cette recherche est donc un outil permettant de garantir une certaine sécurité hygiénique et un certain niveau organoleptique.

Ce dénombrement se fait à 30 °C pendant 72h d'incubation dans un milieu de culture bien défini (GUIRAUD et Al., 2004).

⇒ **Mode opératoire**

A partir des dilutions effectuées et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on ensemence en masse des boîtes de pétri pour chaque échantillon, puis ajouter 15 ml de la gélose PCA (Plat Count Agar) et homogénéiser le contenu des boîtes par des mouvements en huit pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose puis laisser solidifier.

Après solidification incubé à 30 °C pendant 72 h



Figure 10 : Dénombrements de la FMAT sur gélose PCA

⇒ **Lecture**

- On dénombre toutes les colonies ayant croître entre les deux couches à l'aide d'un compteur de colonies muni d'une loupe ou à l'œil nu.
- La lecture se fait sur 2 boites ensemencées avec des dilutions successives.
- On retient les dilutions, compte des colonies blanchâtres ou jaunâtres dans les boites qui en contiennent 30 à 300 colonies.

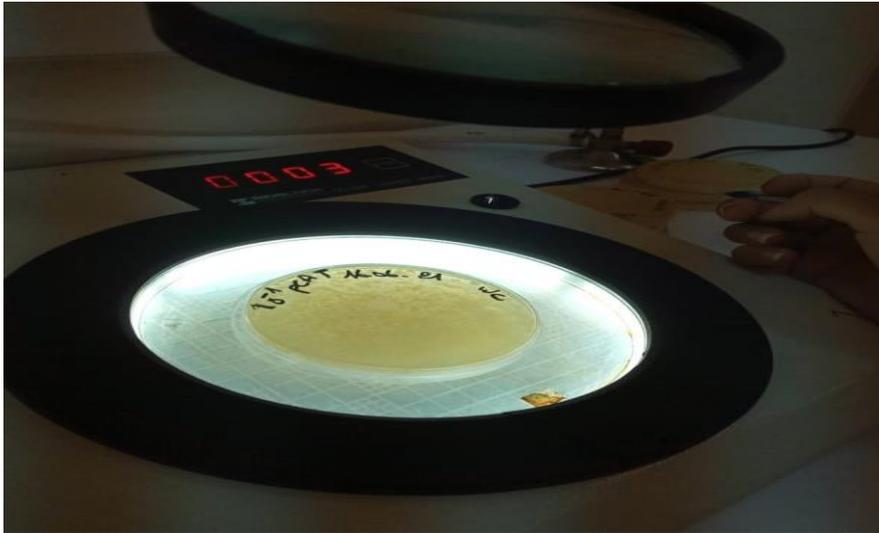


Figure11: Dénombrement des bactéries (Photo personnelle)

II.4.2.2.Dénombrement de la flore de contamination fécale

a. Dénombrement des coliformes

Le terme "coliformes renferme toutes les espèces bactériennes faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae* qui sont aérobies ou anaérobies facultatives, à Gram négatif, a sporulées, en forme de bâtonnet.

Les coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants :font partie des coliformes totaux.

L'espèce caractéristique et principale des coliformes fécaux est :*Escherichia coli*, mais d'autres souches de coliformes, telles:*Citrobactersp*, *Enterobactersp* et *Klebsiellasp*, peuvent aussi se reproduire dans un milieu lactosé à 44,5°C.

Les coliformes fécaux sont des micro-organismes indicateurs d'une pollution d'origine fécale humaine ou animale.

Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination récente (GUIRAUD et Al., 2004).

⇒ Mode opératoire

L'ensemencement se fait en profondeur, à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose stérilement 1 ml ou 20 gouttes de chaque dilution dans les boites de Pétri stérile, on ajoute la gélose VRBL (Milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre) puis on procède à l'étalement en faisant des mouvements de huit et on laisse solidifier.

Une série de boîte sera incubé à 37 °C pendant 24 h à 48 h et servira à la recherche des coliformes totaux, et celle qui servira à la recherche des coliformes fécaux sera incubé à 44°C pendant 24 h à 48 h.

Retenir les boîtes de deux dilutions successives donnant une numération comprise entre 30 et 300 colonies (**Fig. 12**).



Figure 12: Dénombrements des coliformes sur gélose VRBL (Photo personnelle)

⇒ **Lecture**

Pour les deux séries la première lecture se fait à 24h et consiste à repérer des petites colonies lenticulaires.

b. Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

Ce sont des formes résistantes d'organismes anaérobies en raison de leur caractère sporulé, dont les plus fréquentes et les plus faciles à mettre en évidence sont les Clostridies

Elles sont normalement présentes dans les matières fécales mais en plus petite quantité qu'*E. Coli*.

Elles sont également présentes dans le sol, les rivières.

Parmi les Clostridium sulfito-réducteurs, *C. perfringens* et *C. botulinum* qui sont très souvent à l'origine de toxi-infections d'origine alimentaire sont considérés comme germe-test pour l'appréciation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (KADI et Al.,2000).

⇒ **Mode opératoire**

- On verse environ 25 ml de SM dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre à 80°C pendant 10 minutes pour détruire toutes les formes végétatives des bactéries ASR éventuellement présentes, puis refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau du robinet.
- Répartir le contenu du tube dans 4 tubes différents et stériles à raison de 5 ml par tube
- Ajouter environ 20 ml de la gélose viande foie (VF) fondue, additionnée d'une ampoule d'Alun de fer (4gouttes) et d'une ampoule de sulfite de sodium (0,5 ml).
- Mélanger doucement en évitant d'introduire des bulles d'air.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis ajouter l'huile de paraffine et incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

⇒ **Lecture**

Les sulfito-réducteurs se développent sous forme de grosses colonies noires dues à la réduction des sulfites qui précipitent avec les ions de fer, chaque colonie noire est issue d'une spore.

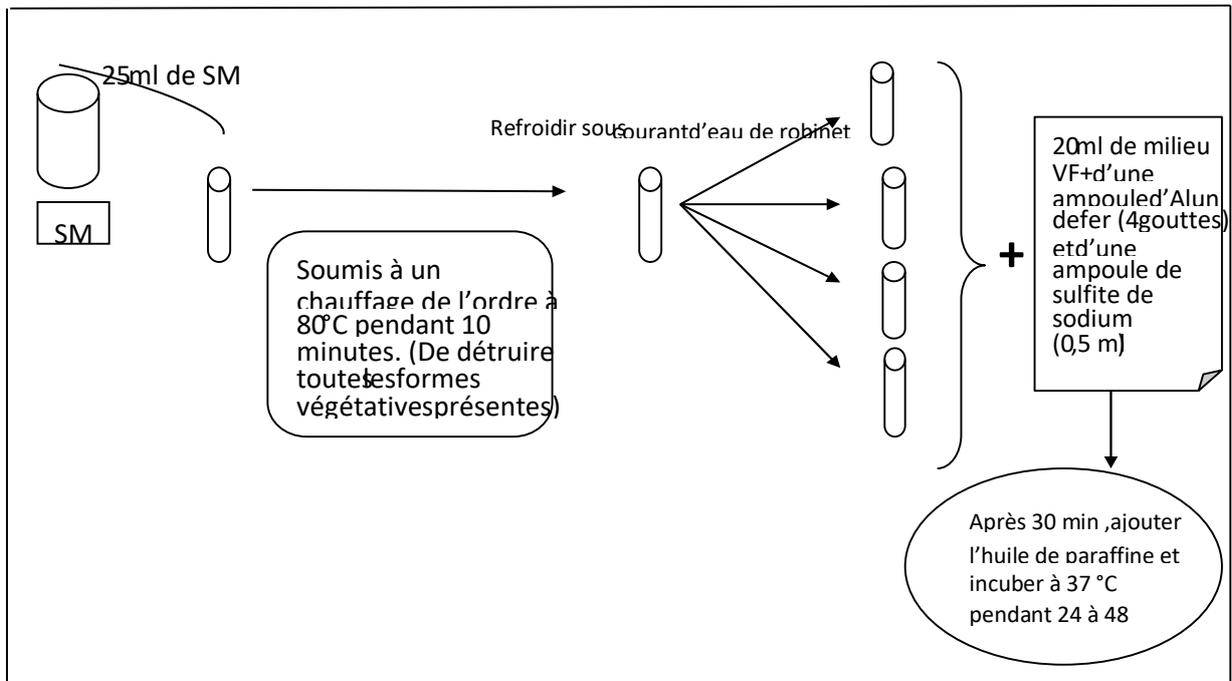


Figure 13: Schéma récapitulatif de la technique de dénombrement des ASR

II.4.2.3. Expression des résultats

Lorsqu'on utilise les valeurs pour deux dilutions successives, on calcule le nombre N de microorganismes dénombrés en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

Où : $\sum c$: est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

n_1 : le nombre de boîtes retenues à la première dilution C

n_2 : le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

V : est le volume inoculum appliqué à chaque boîte

II.4.3. Recherche des germes pathogènes

II.4.3.1. Recherche de *Salmonella*

Les salmonelles sont des bacilles à gram négatif, aéro-anaérobies facultatif, ils appartiennent à la famille des *Entérobacteriaceæ*.

Ces bactéries possèdent un métabolisme oxydatif et fermentaire.

La salmonelle est un type de bactéries intervenant dans divers types d'intoxications alimentaires, mais qui peuvent aussi être la cause de la fièvre typhoïde et paratyphoïde.

- Mode opératoire

La recherche et le dénombrement de salmonelle font appel à plusieurs milieux de culture (SS, Sélénite cystine, Hecktoen,...etc.) et se déroulent en plusieurs étapes.

Après incubation, on fait la purification des colonies semblables dans des boites de pétris qui contiennent le milieu SS(ou hektoen) déjà coulé et on fait l'incubation à 37°C pendant 24 heures pour avoir des souches pures

-Lecture

- Les salmonelles apparaissent sur SS incolores et transparentes avec des colonies de petite taille (2 à 4 mm de diamètre).
- Toutes les colonies caractéristiques feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :
- Etat frais (forme, mobilité).
- Coloration de Gram (forme et Gram).
- Réalisation du test d'oxydase.
- Identification biochimique en utilisant la galerie biochimique des systèmes Biomériex galerie Api.

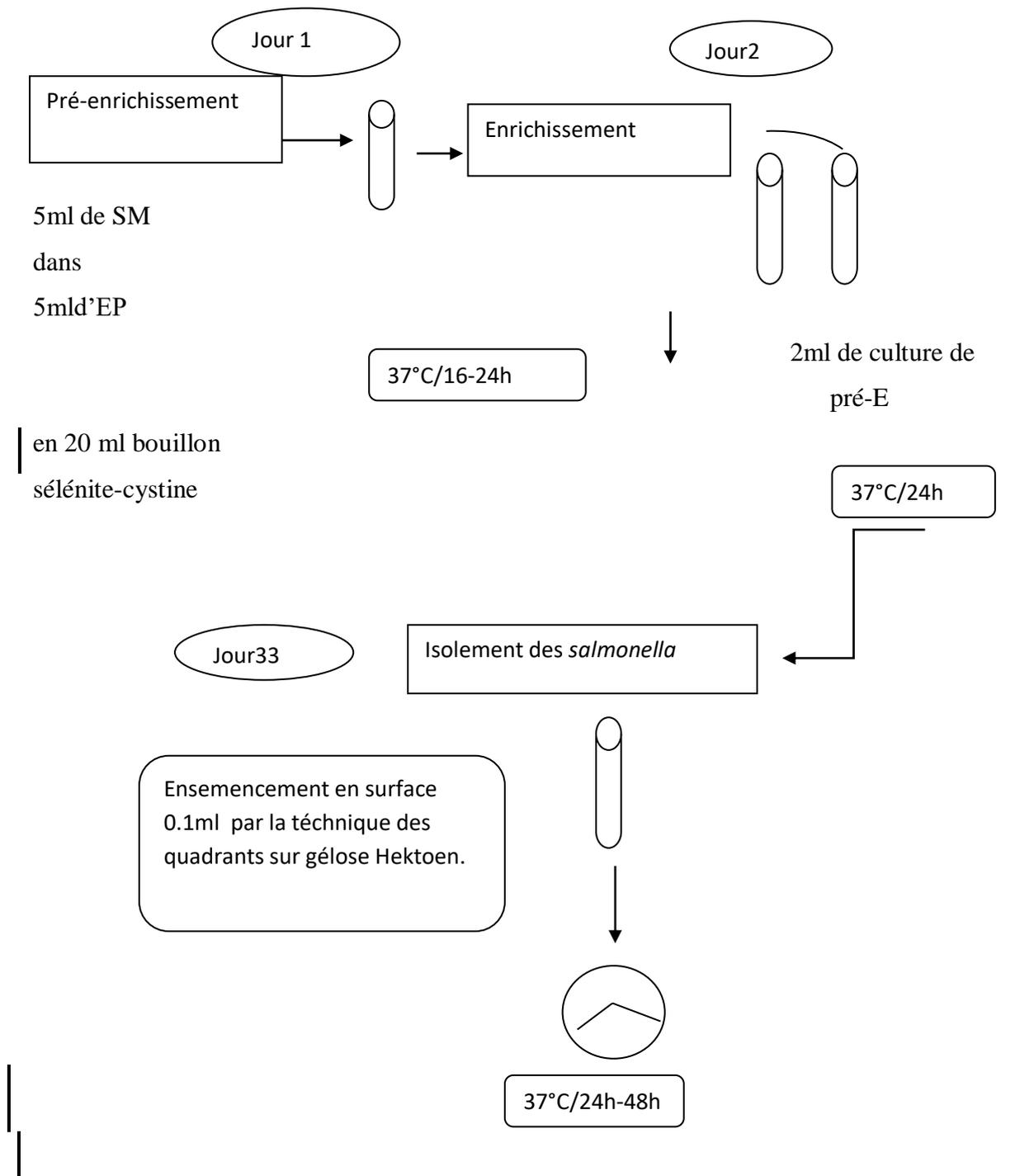


Figure 14: La recherche des salmonelles sur gélose Hektoen

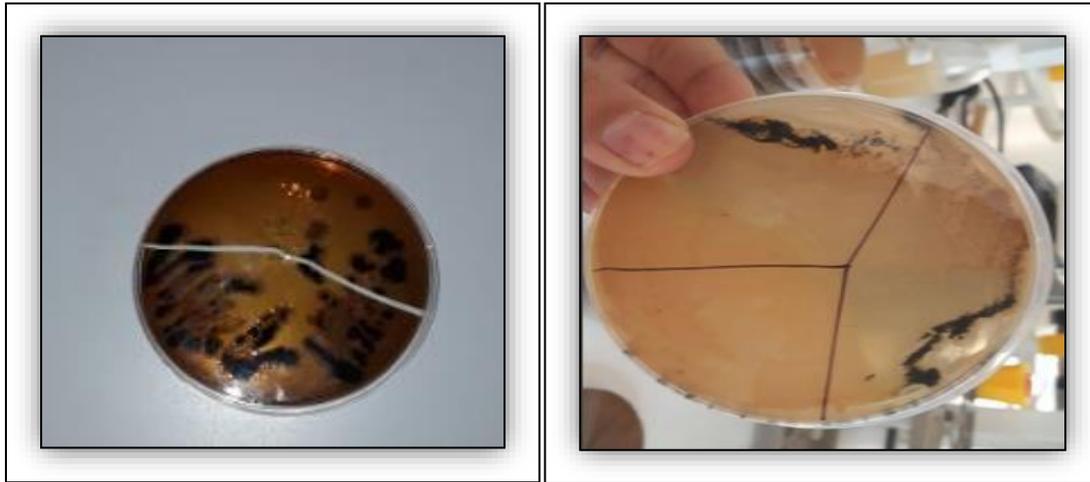


Figure 15: recherche des salmonelles sur gélose Hektoen(Photo personnelle)

II.4.3.2. Recherche des *Staphylocoques aureus*(staph.aureus)

Les staphylocoques constituent avec les microcoques les deux principaux genres de la famille des Micrococcaceae. Ce sont des cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, se divisant en plusieurs plans en formant des amas irréguliers.

Ils produisent une catalase. Staphylocoques à coagulase positive (SCP), notamment *Staphylococcus aureus*, principal producteur d'entérotoxines pathogènes pour l'homme possède une enzyme, la coagulase qui permet de les identifier (**BERAUD, 2004**).

➔ Mode opératoire

- On ensemence en surface avec 2 gouttes de la solution mère dans une boîte de Pétri stérile contenant déjà la gélose Chapman, puis on fait l'incubation à 37°C pendant 24h.
- Après incubation, la purification des colonies semblables se fait sur gélose Chapman puis mise en cultures à 37 °C pendant 24 heures (**Fig. 16**).



Figure16: Recherche des *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman(Photo personnelle)

⇒ **Lecture**

Les Staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol.

Les Staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges .

Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol.

Toutes les colonies caractéristiques feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- Etat frais (forme, mobilité).
- Coloration de Gram (forme et Gram).
- Identification biochimique en utilisant la galerie biochimique des systèmes Biomériex Api Staph.

II. 4.4. Recherche des levures et moisissures

Les levures et les moisissures, en fonction des genres et des espèces, peuvent être utilisées comme une flore technologique, ou bien comme un indicateur de contamination ou encore comme test pathogène dans les aliments.

Ce sont souvent des espèces bien connues qui provoquent des changements indésirables par la dégradation de la qualité organoleptique et nutritionnelle des aliments.

⇒ **Mode opératoire**

Deux gouttes de la solution mère sontensemencées par stries séparément dans des boîtes de pétri stériles avec le milieu Sabouraud au chloramphénicol. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées pendant 24h à 48 heures à 37°C puis on prolonge l'incubation à une température ambiante pendant cinq jours.

⇒ **Lecture**

L'identification macroscopique permet d'apprécier les types de colonies suivants :

-Les levures dont l'aspect rappellent celui des colonies blanches bactériennes. Elles sont rondes à contours réguliers, opaques, plates en surface et lenticulaires en profondeur.

-Les moisissures souvent pigmentées, d'aspect velouté, plus ou moins proéminents.

-La lecture se fait quotidiennement pendant 05 jours et non à la fin de l'incubation et cela pour éviter l'envahissement par les levures ou par les moisissures.

-Une identification biochimique est faite par l'Api 20 C qui est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées.

III. Résultats et Discussion

La discussion des résultats des analyses bactériologiques consistera à apprécier la qualité microbiologique de la chair des sardines. Cette appréciation se fera d'une part par rapport à la réglementation en vigueur, et d'une autre part par rapport aux travaux antérieurs.

III.1 Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

La contamination microbienne des poissons destinés à l'alimentation humaine est exprimée en nombre de micro-organismes par gramme de contenu (UFC/g) en ce qui concerne la flore mésophile totale. Ces germes n'ont pas une grande incidence sur la santé du consommateur par contre ils entraînent des pertes économiques importantes à cause de l'altération des produits. Les résultats obtenus sont enregistrés dans les tableaux

L'interprétation des résultats est faite selon un plan à deux classes. L'examen comparatif de la totalité des résultats de dénombrement de la flore totale montre qu'en générale les valeurs maximales de cette flore ont été notées : avec un nombre de 16.10^4 germes/g au niveau du troisième point de vente

Tableau 03 : Nombre de la flore cultivable hétérotrophe mésophile(SARDINE)

Période de prélèvements	Points de vente	Nombre des échantillons	FMT(UFC/g)	Moyenne
Début Mai 2021	Bouharoune	E1	15.10^4	77.10^3
		E2	5.10^3	
Fin Mai 2021	Fouka	E1	13.10^4	76.10^3
		E2	22.10^3	
Juin 2021	Bou ismail	E1	16.10^4	21.10^2
		E2	26.10^2	

La moyenne générale des germes dénombrés dans les échantillons de la sardine au cours de ce travail est de 52.10^3 UFC/ gramme. Elle s'avère en dessus du seuil d'acceptabilité qui est de 10UFC/g (**Journal Officiel Algérien N°35 /2017**).

III.2. Dénombrement de la flore de contamination fécale

2.1 Les coliformes fécaux et totaux

les résultats obtenus pour le dénombrement des coliformes fécaux et totaux, indiquent une absence totale de ces germes dans tous les échantillons collectés au niveau des différents points de vente.

Les résultats sont exprimés dans le **tableau (04)** suivant :

Tableau 04: Résultats de dénombrement des coliformes totaux et fécaux.

Période de prélèvements	Points de vente	Nombre des échantillons	CF	CT
Début Mai 2021	Bouharoune	E1	Inden	Abs
		E2	Inden	Abs
Fin Mai 2021	Fouka	E1	Inden	Abs
		E2	Inden	Abs
Juin 2021	Bou-ismail	E1	Inden	Abs
		E2	Inden	Abs

2.2. Anaérobies Sulfite réducteurs (ASR)

Ce sont en général les clostridies, dont les spores sont rencontrées dans le milieu extérieur (terre, poussières et excréments). Ils peuvent aussi provenir des évaporateurs mal entretenus ou des ingrédients (ex : eau).

Les résultats trouvés, sont de 0 spores /g de chair.

Comparativement à la réglementation en vigueur, 100% des échantillons sont satisfaisants.

La diminution progressive de la contamination de poissons frais par les ASR témoigne de l'amélioration des mesures d'hygiène dans les industries de transformation des produits de la pêche.

Les FMAT, CT retrouvées dans la chair de sardine analysé proviennent généralement de ces deux origines :

→ Soit de la contamination des eaux de pêche (contamination endogène) la flore marine microbienne ressemble à celle des eaux douces mais adaptée aux conditions de salinité. Elle varie selon la profondeur, la salinité, l'éloignement des côtes etc.

La flore est constituée de germes à gram négatif saprophytes dont: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Photobacterium* et des germes gram positif tels que *Micrococcus*, *Corynebacterium*.

Cependant, les sardines capturées à température ordinaire ont une flore superficielle dominée par *Micrococcus* et *Bacillus*.

→ Cette contamination peut être postérieure à la pêche (contamination exogène). Elle est due généralement aux manipulations que subit la sardine après sa capture, ces germes sont issus de l'environnement immédiat de l'homme.

III.3 Recherche des germes pathogènes

III.3.1 Recherche de *Salmonella*

- Les salmonelles sont des bactéries présentes généralement dans l'intestin des animaux, pouvant contaminer l'environnement via leurs matières fécales.
- Ces bactéries résistent au froid mais sont sensibles à la chaleur, elles restent l'agent pathogène principal dans la contamination des aliments tel que les produits de pêches (*Guiraud et Rosec, 2004*).
- L'enrichissement et ensemencement sur milieu Hektoen, nous avons enregistré la présence des colonies de couleur bleu-vert à centre noir, indiquant la présence des *Enterobacteriaceae*, suspecté d'être de genre *Salmonella* dans plusieurs boîtes issues des différents échantillons des points de ventes P1 et P2 (Échantillon P1 E1, P2 ;E2).



Figure 17:Présence d'Entérobacteriaceae.

L'identification biochimique de l'espèce isolée du milieu gélose Hektoen est faite avec le système galerie Api 20E.

Après notation de toutes les réactions spontanées sur la fiche des résultats, on compare cette dernière avec la liste des profils numérique provenant avec la galerie Api 10S, dans le but d'identifier l'espèce isolé.et dans ce cas-là, le profil propose la présence de **Proteus mirabilis** avec une probabilité de 75.6% (excellente identification).



Figure18:Profil biochimiqueillustrant la présence du germe*Proteus mirabilis* (75.6%)

La recherche des salmonelles dans 25g de chair de sardine frais a abouti aux résultats négatifs.

L'absence des salmonelles dans nos échantillons peut être liée à une présence des germes inhibiteurs, à l'utilisation de l'hypochlorite de potassium pour la désinfection et la réduction minimum au contact des manipulateurs avec les denrées ou par leur grande sensibilité aux différents facteurs de développement tel que le froid.

III.3.2. *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus est un microorganisme pathogène dont on connaît au moins deux types de manifestations cliniques chez l'homme.

Les staphylocoques sont d'abord souvent mis en cause dans les cas de toxi-infections alimentaires ou il y a production d'une entérotoxine thermorésistante responsable de gastro-entérites.

Ils sont également responsables d'infections rhinopharyngées et cutanées qui sont prédominantes par rapport aux infections gastro-intestinales.

- Le dénombrement de cette flore microbienne a montré la présence d'un faible nombre de colonies correspondant aux Staphylocoques au niveau des échantillons de Sardine.
- Ces germes sont généralement assimilés à *Staphylocoques aureus*, mais l'espèce reste non identifiable jusqu'à la confirmation par la galerie Api staph.

La réduction du taux de contamination de poissons frais par les staphylocoques à coagulase positive résulterait de l'amélioration progressive des conditions d'hygiène de fabrication telle que le port des gants, des masques et des coiffes.

Conclusion

IV-Conclusion:

Au terme de notre étude, qui a pour objectif évaluation du risque microbiologique des produits de pêches "sardine Pilachardus" par: la flore mésophile aérobie totale(FAMT),contamination par les coliformes totaux (CT)et fécaux (CF),ainsi qu'aux aérobie Sulfite réducteur (ASR) et les agents pathogènes :Salmonelle, et staphylocoques aureus qui a un impact sur la qualité bactériologique des poissons pêchés ,au niveau de la wilaya de tipaza : Bouharoune,Fouka,Bou-ismail.

Les analyses bactériologiques des échantillons ont mis en évidence que de quelques bactéries recherchées

Nous avons pour cela isolé durant un mois d'étude expérimentale au cours de l'année 2021,a partir de 5 échantillons sur 3 sites différents.

Nos résultats montrent qu'au niveau de la wilaya de tipaza nous avons trouvé:

- Contamination par la flore mésophile aérobie totale(FAMT): $52. 10^3$ UFC/ gramme
- Absence totale de contamination par les coliformes totaux et fécaux dans les échantillons
- Absence de spore de clostridies dans les échantillons
- Absence de salmonelles dans les échantillons
- Présence d'un faible nombre de colonies de Staphylocoque aureus.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **(ABAD et AL,1998)** Acoustic estimation of abundance and distribution of sardine in the Northwestern Mediterranean. *Fisheries research*,
2. **(ACKMAN, 1989)** In: Ruiter A. (Ed.), Fish and Fishery Products. CAB International,
3. **(CARRERAS et Al, 2011)**. A new cryptic species of *Aponurus* Looss, 1907 (Digenea: Lecithasteridae) from Mediterranean goatfish (Teleostei: Mullidae). *Syst Parasitol* 79:145-159
4. **(CURY et Al, 2000)**. Small pelagics in upwelling systems: patterns of interaction and structural changes in "wasp waist" ecosystems. *Ices Journal of Marine Science*, 57, 603-618. DE FILETS DE POISSON FRAIS EXPORTES DU SENEGAL : DE Janvier 2009 à Avril 2013 *Ecology Progress Series* 217: 111-120.
5. **(DAOUAR et Al ,2016)**: Etude microbiologique et biochimique de l'altération de la sardine « sardina pilchardus » dans la baie de Bouismail
6. **(F.A.O, 2011)**. The State of World Fisheries and Aquaculture. *Table 1*. Rome, FAO. 2011.
7. **(HALFAOUI,2014)**: Diversité et variations géographiques de la communauté parasitaire chez la *Sardina pilchardus* Walbaum 1792 pêchées dans les côtes algériennes.
8. **(HATTOU,2016)**: Effet des saisons de pêche sur la qualité nutritionnelle de la sardine « *Sardina pilchardus* » pêchée dans la zone de Mostaganem. p 8
9. **(KAIRE,2013)**: APPRECIATION DE LA QUALITE BACTERIOLOGIQUE
10. **(KASCHNER,2013)**. AquaMaps: Predicted range maps for aquatic species. World Wide Web electronic publication, www.aquamaps.org, Version 08/2013.
11. **(LAVOUÉ , 2007)**. Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43, 1096-1105
12. **(M. CHEIKH ,2011)**: Thèse intitulée Evaluation de la qualité des produits débarqués au marché central au poisson de Dakar en 2011.
13. **(EUGENE,2009)**: Thèse intitulée Contribution à l'étude de l'évolution de la maîtrise de la sécurité sanitaire des produits de la pêche destinés à l'exportation au Sénégal
14. **(MOUHOUB, 1986)** . contribution à l'étude de la biologie et de la dynamique de la population exploitée de la sardine (*sardina pilchardus* , walbaum , 1976) des côtes algéroises .Thèse de magistère. USTHB.alger. 163p.
15. **(MOYAD,2005)** : : Effet des saisons de pêche sur la qualité nutritionnelle de la sardine

- « *Sardina pilchardus* » pêchée dans la zone de Mostaganem. p 8
16. (NETTLETON,2005).N-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type2 diabetes: a review. J Am Diet Assoc, 3:428-440.
 17. (OLIVAR ,2001).Comparative study of spatial distribution patterns of the early stages of anchovy and pilchard in the NW Mediterranean Sea. Marine
 18. (OMS,2005): Organisation mondiale de la santé Oxon UK. pp. 117-156.
 19. (Pr DIB ,2021): Polycopié cours HIDAOA 5eme année:2020,2021
 20. (TERMOUL et Al ,2020):Evaluation du Microbiote du Poisson, cas de la Sardine, Merlu, et la Bonite197p.34: 239-245.
 21. (WALBUM, 1792). Fiche de description de la sardine (*Sardinapilchardus*).
 22. (WHITEHEAD, 1985).FAO species catalogue. Clupeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolfherrings. Part 1 -Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. FAO Fish.Synop., (125)Vo1.7, Pt.1:303 p.
 23. (YASHODHARA,2009).Omega-3 fatty acids: a comprehensive review of their role in healthand disease. Postgrad Med J, 85(1000):84-90.
 24. (ZEGHDOUD,2006).Modélisation bioéconomique des pêcheries méditerranéennes - application aux petits pélagiques de la baie de Bouismail -(Algérie).Mémoire de Master, Université de Barcelona, pp61

Site web:

-Site web 1:

Consulté le 20 mai: (https://www.google.fr/search?q=sardina+pilchardus+sch%C3%A9ma&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjbsqWM9tLxAhXSB50JHZwrDKcQ_AUoAXoECAIQAw&biw=1280&bih=657#imgrc=n9GkSHFQfj019M)

-Site web 2: Consulté le 21 mai: (https://fr.wikipedia.org/wiki/Da%C3%A9ras_de_la_wilaya_de_Tipaza)

Résumé:

L'objectif de notre étude afin de déterminer la qualité bactériologique des poissons (Sardine) vendus dans la wilaya de Tipaza et son impact sur la santé humaine.

5 échantillons ,ont été prélevés des différents points de ventes et soumis a des analyses bactériologique ,durant le mois de mai- juin de l'année 2021.

Nos résultats montrent qu'au niveau de la wilaya de Tipaza nous avons trouvé:Contamination par la flore mésophile aérobie totale(FAMT): 520. 10² UFC/gramme,Absence totale de contamination par les coliformes totaux et fécaux dans les échantillons ,Absence de spore de clostridies dans les échantillons ,Absence de salmonelles dans les échantillons ,Présence d'un faible nombre de colonies de Staphylocoque aureus. Ces résultats sont probablement liés a deux origines ,d'une part le non respect des bonnes pratiques d 'hygiène tout au long des procédure de vente , et d'autre part a la pollution des eaux de mers.

Mots clés: Coliformes totaux et fécaux ,Staphylocoque aureus, Salmonelles, poisson

ملخص:

الهدف من دراستنا هو تحديد الجودة البكتريولوجية للأسماك (السردين) المباعة في ولاية تيبازة وتأثيرها على صحة الإنسان. تم اخذ 5 عينات واخضاعها للتحاليل البكتريولوجية في شهر مايو- يونيو من عام 2021. تظهر نتائجنا أنه على مستوى ولاية تيبازة وجدنا: التلوث بالنباتات الهوائية المتوسطة الكلية (FAMT): 520. 102 CFU / جرام- , الغياب التام للتلوث بالبكتيريا القولونية الكلية والبرازية في العينات, عدم وجود بوغالمطثية في العينات, غياب السالمونيلا في العينات, وجود عدد قليل من مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية. من المحتمل أن تكون هذه النتائج مرتبطة بأصلين , من ناحية , عدم احترام ممارسات النظافة الجيدة طوال عملية البيع , ومن ناحية أخرى تلوث مياه البحر. الكلمات المفتاحية: القولونيات الكلية والبرازية , المكورات العنقودية الذهبية , السالمونيلا , الأسماك

Summary:

The objective of our study to determine the bacteriological quality of fish (Sardine) sold in the wilaya of Tipaza and its impact on human health.

5 samples were taken from the various points of sale and subjected to bacteriological analyzes, during the month of May-June of the year 2021.

Our results show that at the level of the wilaya of Tipaza we found: Contamination by total aerobic mesophilic flora (FAMT): 520. 102 CFU / gram, Total absence of contamination by total and faecal coliforms in the samples, Absence of Clostridia spore in the samples, Absence of salmonella in the samples, Presence of low number of Staphylococcus aureus colonies.

These results are probably linked to two origins, on the one hand the failure to respect good hygiene practices throughout the sales process, and on the other hand to the pollution of seawater.

Key words: Total and faecal coliforms, Staphylococcus aureus, Salmonella, fish