

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 bactériologique aux coliformes thermotolérants et *staphylococcus aureus* de la sardine commercialisée au niveau du port d'Alger.

Présenté par :

Mlle REDJEM Chehd

Soutenu publiquement, le 15/09/2022 devant le jury :

Dr MIMOUNE Nora	MCA (ENSV)	Présidente
Dr SAHRAOUI Lynda	MCA (ENSV)	Examinatrice
Dr HACHEMI Amina	MCB (ENSV)	Promotrice

Année universitaire : 2021/2022

Déclaration sur l'honneur

Je soussigne **REDJEM Chehd**, déclare être pleinement consciente 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 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

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'R. Chehd', with a large, sweeping flourish underneath.

Remerciements

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

J'exprime tout d'abord ma reconnaissance à mon encadrante," **Dr HACHEMI Amina**", qui m'a tenu à achever le travail avec succès .je la remercie pour avoir accepté de m'encadrer, pour sa disponibilité, pour son aide tout au long du travail.

Je vous souhaite beaucoup de succès dans votre vie.

J'adresse aussi mes remerciements aux membres de jury :

Dr MIMOUNE Nora (MCA) et **Dr SAHRAOUI Lynda (MCA)**, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce modeste mémoire.

Je remercie aussi **Mlle Belhout chahrazed** la doctorante qui m'a beaucoup aidé au labo de microbiologie, merci pour tes conseils, ainsi que Mme **Louisa** l'ingénieur de laboratoire de microbiologie de l'ENSV.

Je tiens à remercier **Dr Abdelaziz Abdelhafid** pour m'avoir réalisé les prélèvements depuis la ferme de l'école.

Merci à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour arriver à réaliser mon mémoire.

Dédicace

A mes très chers Pepa et Maman Mr BOUZID REDJEM & Mme KADID FADILA

Merci d'être ce que vous êtes : des parents extraordinaires, bienveillants et toujours présents. Je pense que si je fais preuve d'autant de persévérance jusque-là c'est surtout grâce à vous, car malgré les difficultés vous m'avez toujours montré qu'il faut s'accrocher. Que ce travail qui vous est personnellement dédié soit le fruit de votre confiance en moi et vos sacrifices, Sans vous je ne serais certainement pas arrivée jusque-là S'il y a bien deux personnes qui seraient particulièrement fières de moi c'est bien vous et vous rendre fière a toujours été un moteur dans ma vie. Je vous aime

A ma défunte grand-mère Dada 'Hanifa', une brave femme qui aimait le Savoir

C'est un merci qui ne sera pas lu, ce qui me fait particulièrement mal au cœur j'aurai tant aimé que tu sois là.

Merci pour la belle enfance que j'ai eue grâce à toi, pour ton implication sans faille quand il a fallu faire beaucoup de leçons de morale, tes bons repas, ta gentillesse et surtout ton amour inconditionnel tout simplement, pour la fierté dans tes yeux à chaque fois qu'il y avait une bonne note, je te porterai toujours dans mon cœur.

A mon défunt grand-père Baba 'Si Mohamed', le moudjahid intellectuel

Merci pour tous les bons souvenirs que tu nous as laissé, et pour nous avoir léguer cette éducation et ces idéaux. On a toujours eu une grande admiration pour votre personne, pour cet homme qui a lutté pour ses convictions par ses paroles et livres, l'homme qui s'est battue et tant sacrifié pour libérer notre Algérie ! c'est grâce à vous qu'on est LIBRES aujourd'hui.

A mes sœurs Lina, Sirine(pilala) et mon unique frère Assem,

Merci à vous de m'avoir soutenu, chacun à votre façon, pendant ces années d'études. Merci pour tous les bons moments partagés, les fous rires !, des moments précieux qui sont rien qu'à nous quatre; aussi banals soient-ils, ils sont indispensables à mes yeux. JE VOUS ADORE

A ma grand-mère Momma, 'Saida', Merci d'avoir fait de mon enfance une enfance parfaite. Merci de m'avoir tant gâté par ton amour, d'avoir toujours été présente pour moi et de m'avoir autant soutenue. Je t'aime

A toute ma famille, tantes, oncles, cousins et cousines.

A tous mes amies Lydia, Sabrine, Ryhane, Chiraz, Sihem, Ferial, et Amina. Ce fut un pur bonheur de vous avoir côtoyé pendant toutes ces années d'études, Merci pour les bons moments passés ensemble, les soirées, les sorties et j'en passe. ^^

Résumé

La présente étude consiste à évaluer la qualité bactériologique de la sardine peuplant les eaux d'Alger et ce par la réalisation d'une analyse quantitative des coliformes thermotolérants et des *Staphylococcus aureus* au niveau de la chaire durant le mois de Mai 2022, Pour cela nous avons prélevés 15 échantillons.

Les résultats de dénombrement montrés un taux de contamination au coliformes thermotolérants globale de 67% et d'une manière globale 33% présente la qualité bactériologique acceptable, 0% présente la qualité Bactériologique satisfaisante. Contre un taux de contamination aux staphylocoques à coagulase positif de 7% et une qualité satisfaisante de 73%. 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 en plus de la mauvaise manipulation post capture.

Mots clés : la sardine, coliformes thermotolérants, *Escherichia Coli*, contamination fécale, poisons, *Staphylococcus aureus*, Hygiène.

Abstract

The present study consists in evaluating the bacteriological quality of the sardine inhabiting the waters of Algiers by carrying out a quantitative analysis of thermotolerant coliforms and *Staphylococcus aureus* at the level of the chair during the month of May 2022, for this, we took 15 samples.

The enumeration results showed an overall temperature-tolerant coliform contamination rate of 67% and overall 33% has acceptable bacteriological quality, 0% has satisfactory bacteriological quality. Against a 7% positive coagulase staphylococcus contamination rate and a satisfactory quality of 73%. All this is caused by sea pollution in addition to the large number of dirty sewage discharging into the sea in addition to the bad handling after capture.

Key words: sardine, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*, fecal contamination, fish, *Staphylococcus aureus*, Hygiene.

ملخص

تتمثل الدراسة الحالية في تقييم الجودة البكتريولوجية للسردين الذي يسكن مياه الجزائر من خلال إجراء تحليل كمي للأشكال القولونية المتحملة للحرارة والمكورات العنقودية الذهبية على مستوى الكرسي خلال شهر مايو 2022، ولهذا أخذنا 15 عينة.

أظهرت نتائج التعداد معدل تلوث عام بالقولون يتحمل درجة الحرارة بنسبة 67% و 33% بشكل عام له جودة بكتريولوجية مقبولة، و 0% له جودة بكتريولوجية مرضية. مقابل معدل تلوث المكورات العنقودية بنسبة 7% وجودة مرضية تبلغ 73%.

كل هذا ناتج عن تلوث مياه البحر بالإضافة إلى العدد الكبير من مياه الصرف الصحي المتسخة التي يتم تصريفها في البحر بالإضافة إلى سوء المناولة بعد الالتقاط.

كلمات مفتاحية السردين، القولونية المتسامح مع الحرارة، الإشريكية القولونية، التلوث البرازي، السموم، ::
المكورات العنقودية الذهبية، النظافة

LISTE DES ABREVIATIONS

ABVT : Azote basique volatil total.

ADP : Adénosine di-phosphate.

AIEC : Enteroinvasive *escherichia coli*.

AMP : Adénosine monophosphate.

AOAC : Association of official analytical chemists

ATP : Adénosine triphosphate.

BGN : Bacille à gram.

CTT : Colifrmes thermotolérants .

DEC : Diarrheagenic *Escherichia coli*.

DMA : Diméthylacétamide.

FAO : Food and agriculture organization.

LPS : Lipopolysaccarides.

OMS : Organisation mondiale de la santé

OTMA : Oxyde de triméthyleamine.

PH : Potentiel hydrogène.

QIM : Quality index method.

SCP : Staphylocoques à coagulase positif.

EAEC : Entéroaggregative *Escherichia coli*.

ECA: Enterobacteraceae common antigen.

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*.

EIEC: Enteroinvasive *e. coli*.

EPEC: Enteropathogenic *e. coli*.

ETEC : Enterotoxigenic *E. coli*.

ExPEC: Extra-intestinal pathogenic *e. coli*.

CoNS : Coagulase negative staph.

SCT : Syndrome du choc toxique.

STEC : Shiga toxin producing *escherichia coli*.

TDA : Tryptophane désaminase.

TMA : Triméthylamine

TSE : Tryptone sel eau.

UFC : Colony forming unit.

VRBL: Violet red bile agar

LISTE DES TABLAUX

Tableau 1 système hiérarchique de classification des espèces exemple de la sardine	3
Tableau 2 classification du poisson selon la teneur en matières grasses (université médicale virtuelle, 2011)	5
Tableau 3 Germes à recherche obligatoire (Journal officiel algérien pour les poissons,céphalopodes et mollusques crus, 2019)	17
Tableau 4 Classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine (Larpent, 2000)	20
Tableau 5 Classification d'Escherichia coli (Hufnagel, et al., 2015)	21
Tableau 6 Plan d'échantillonnage	36
Tableau 7 Matériel et Milieux utilisés.....	37
Tableau 8 Analyse statistique de la contamination des coliformes thermotolérants.....	49
Tableau 9 Le niveau de contamination à staphylococcus Spp au port d'Alger	50
Tableau 10 Le niveau de contamination à staphylococcus à coagulase positif 'aureus' au port d'Alger	52
Tableau 11 Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants au port d'Alger	53
Tableau 12 La qualité bactériologique a S. aureus coagulase positive au port d'Alger	54
Tableau 13 Qualité bactériologique globale aux SCP et CTT du poisson frais collectés de la pêche de d'Alger.....	56

LISTE DES FIGURES

Figure N° 1 : Classification des produits halieutiques	2
Figure N° 2 : classification du poisson selon le lieu de vie (Dehault, 2014)	4
Figure N° 3 : La production halieutique par wilaya en Algérie (Bazizi, 2021).	6
Figure N° 4 : Répartition géographique de la sardine européenne (FAO, 2013).	8
Figure N° 5 : Paramètres analysés et attributs donnés chez la daurade royale dans le cadre d'un test QIM (Njeh, 2016)	13
Figure N° 6 : Schématisation du protocole d'extraction des ABVT et de leur titration (Iferrer, 2008)	15
Figure N° 7 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (Denis, et al., 2016)	19
Figure N° 8 : A micrograph of E. coli (Anonyme, 2016)	22
Figure N° 9 : Les 8 Pathovars de E. coli ciblent différents sites d'infection	24
Figure N° 10 : Pathogenic diversity of Escherichia coli strains (Sarowska, et al., 2019)	24
Figure N° 11 : Les sites d'infections par E. coli chez l'Être humain (Croxen , et al., 2012)	25
Figure N° 12 : Morphology of S. aureus (CDC, 2022)	26
Figure N° 13 : Facteurs de virulence de S. aureus	28
Figure N° 14 : Spectre d'infection de staphylococcus aureus (CDC, 2022)	29
Figure N° 15 : Vue d'ensemble de l'intoxication alimentaire staphylococcique (Fetsh, 2018)	32
Figure 16 : Taux de contamination aux CTT UFC/G	50
Figure N° 17 : Taux de contamination à staphylocoque Spp au port d'Alger	51
Figure 18 : Taux de contamination aux staphylocoques à coagulase positif de la sardine prélevée du port d'Alger.	52
Figure N° 19 : Prévalence de staphylococcus à coagulase positif 'aureus' au port d'Alger	53
Figure N° 20 : Qualité microbiologique aux CTT au port d'Alger	54
Figure N° 21 : Qualité bactériologique à Staphylococcus aureus du poisson frais au niveau du port d'Alger	55
Figure N° 22 : Qualité bactériologique globale aux SCP et CTT du poisson frais collecté de la pêche de Alger .	56
Figure N° 23 : Diversité bactérienne des Entérobactéries	57

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Les facteurs de virulence de Staphylocoque (**Azad, 2020**)..... 62

Annexe 2 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39 ,2017 65

TABLE DES MATIERE

Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	2
Produits de la pêche :	2
I.1 Généralités :	2
I.1.1 Définition :	2
I.1.2 Généralités sur le poisson :	2
I.1.3 Classification du poisson :	3
I.1.3.1 Utilisation des noms vernaculaires :	4
I.1.3.2 Classification selon des caractéristiques biologiques :	4
I.1.4 Produits de la pêche et pêche en Algérie :	5
I.2 Présentation du poisson <i>Sarina Pilchardus</i> :	6
I.2.1 Systématique :	6
I.2.2 Morphologie :	7
I.2.3 Aspects écologiques :	7
I.2.3.1 Distribution et répartition géographique :	7
I.2.3.2 Habitat :	8
I.2.3.3 Régime alimentaire :	8
I.2.4 Croissance :	9
I.2.5 Reproduction :	9
I.2.6 Flore bactériologique :	9
I.2.7 Importance économique de la sardine :	10
I.2.8 Evolution de la sardine après capture :	10
I.2.8.1 Evolution morphologique :	10
I.2.8.2 Changements organoleptiques :	11
Méthodes d'appréciation de la qualité du poisson	12
I.3 Méthodes sensorielles :	12
I.3.1 MIQ Indice d'altération:	12
I.3.2 BARÈME DE COTATION DE FRAÎCHEUR EUROPÉEN :	13
I.3.3 Echelle de Torry :	14
I.4 Méthodes chimiques :	14
I.4.1 Potentiel hydrogène PH :	14

I.4.2	Dosage de l'ABVT :	15
I.4.3	Dosage des amines biogènes :	15
I.4.4	Valeur K	16
I.5	Méthodes microbiologiques :	16
I.5.1	Généralités :	16
I.5.2	Les entérobactéries :	17
I.5.2.1	Généralités :	17
I.5.2.2	Caractères biochimiques :	17
I.5.2.3	Caractères culturels :	18
I.5.2.4	Caractères morphologiques :	18
I.5.2.5	Caractères antigéniques :	18
I.5.2.6	Pouvoir pathogène :	19
I.5.2.7	Différentes espèces des entérobactéries :	20
I.5.3	Les staphylocoques :	25
I.5.3.1	Historique :	25
I.5.3.2	Classification :	25
I.5.3.3	Staphylococcus aureus :	25
PARTIE EXPERIMENTALE		34
Objectif :		34
Echantillonnage :		34
I.1	Espèce sélectionnée :	34
I.2	Méthode de récupération des échantillons :	34
I.3	Site de prélèvement :	34
I.4	Transport des échantillons :	35
MATERIELS ET METHODES		35
I.1	Lieu d'étude :	35
I.2	Durée d'étude :	36
I.3	Méthode d'analyse bactériologique :	36
I.4	Matériels utilisés durant toute l'étude :	36
I.5	Préparation des échantillons :	37
I.5.1	Pesée :	37

I.5.2	Broyage	38
I.5.3	Préparation des dilutions :	38
I.6	Préparation des milieux	39
I.6.1	Préparation du TSE	39
I.6.1.1	Objectif du TSE	39
I.6.2	Préparation de la gélose nutritive :	39
I.6.2.1	Objectif de la gélose nutritive :	40
I.6.3	Milieux spécifiques à la culture des coliformes thermotolérants :	40
I.6.3.1	Préparation de milieu VRBL :	40
I.6.3.2	Objectif de l'utilisation du milieu VRBL	40
I.6.4	Milieu spécifique à la culture des Staphylocoques à coagulase +	41
I.6.4.1	Préparation du milieu BAIRD-PARKER	41
I.6.4.2	Objectif du milieu BAIRD-PARKER	41
I.7	Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes thermotolérants	41
I.7.1	Principe	41
I.7.2	Mode opératoire	41
I.7.3	Lecture	42
I.7.4	Analyses Microbiologiques :	43
I.7.4.1	Dénombrement des germes :	43
I.7.4.2	Méthode de dénombrement :	43
I.7.4.3	Méthode d'interprétation de résultats :	43
I.8	Protocole de recherche et de dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive :	44
I.8.1	Principe :	44
I.8.2	Mode opératoire :	44
I.8.3	Lecture :	44
I.8.4	Repiquage des colonies :	45
I.8.5	Les tests de confirmation :	45
I.8.5.1	La recherche de la Catalase :	45
I.8.5.2	Recherche de la Coagulase :	46
I.8.6	Méthodes de dénombrement	47
I.8.7	Méthode d'interprétation des résultats de la qualité de la denrée :	48
RESULTATS ET DISCUSSION		49
Taux contamination de la sardine (UFC /G)		49

I.1 Taux de contamination aux Coliformes thermotolérants dans le port d'Alger :	49
I.2 Taux de contamination aux Staphylocoques Spp dans le port d'Alger _____	50
I.3 Taux de contamination aux <i>Staphylococcus aureus</i> dans le port d'Alger _____	51
Evaluation de la qualité microbiologique _____	53
I.4 Evaluation de la qualité microbiologique aux coliformes thermotolérants _____	53
I.5 Evaluation de la qualité microbiologique à <i>Staphylococcus aureus</i> _____	54
I.6 Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants et staphylococcus aureus du poisson fais prélever de la pêcheirie d'Alger : _____	55
Diversité bactérienne des souches des coliformes thermotolérants _____	57
DISCUSSION_____	58
Conclusion _____	61
Références _____	66

Introduction

La côte Algérienne est riche en poissons, mollusques et crustacés dont la sardine qui est la plus importante représentant un aliment de choix des Algériens au pouvoir d'achat plus ou moins faible ; en plus de ses vertus 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 (**Velasco Savanguane, et al., 2022**) 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 d'éventuelles contaminations chimiques, bactériologiques et/ou des proliférations microbiennes notamment les coliformes thermotolérants et le *Staphylococcus aureus* sujet de notre recherche dont l'objectif est de évaluer la qualité bactériologique des produits de pêches vendues au niveau du port d'Alger plus spécialement «la Sardine », et ce en évaluant leur degré de contamination par les coliformes thermotolérants (CTT) et aux *staphylococcus aureus* pour pouvoir nous renseigner sur la qualité de la sardine vendue et les éventuels risques encourus par le consommateur Algérien de cette denrée alimentaire.

Notre étude est ainsi divisée en deux parties :

- **La première partie** consacrée à une synthèse bibliographique qui d'intéresse aux poissons, aux coliformes thermotolérants, à l'*Escherichia Coli* et les staphylocoques ainsi que les dangers sanitaires qu'engendre leur présence dans les denrées alimentaires.

- **La deuxième partie** est réservée à l'étude expérimentale qui englobe le matériel utilisé pour la recherche des coliformes thermotolérants et les *staphylococcus aureus* ainsi qu'une discussion des résultats obtenus et pour clôturer enfin avec des recommandations.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : PRODUITS DE LA PÊCHE

Produits de la pêche :

I.1 Généralités :

I.1.1 Définition :

Tous les animaux marins ou d'eau douce, sauvages ou d'élevage (à l'exception des mollusques bivalves vivants, échinodermes vivants, tuniciers vivants et gastéropodes marins vivants et de tous les mammifères, reptiles et grenouilles), sauvages ou d'élevage, y compris toutes les formes et parties comestibles de ces animaux. (**Journal officiel de l'union européenne 139 Règlement 853, 2004**).

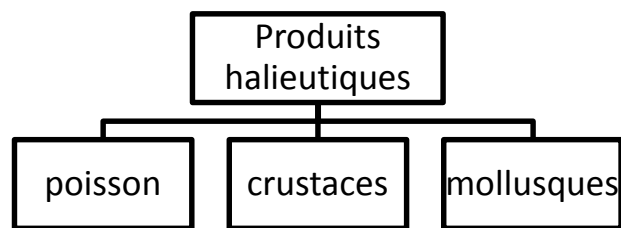


Figure N° 1 : Classification des produits halieutiques

I.1.2 Généralités sur le poisson :

Avant d'aborder la classification du poisson, il faut identifier le poisson en lui-même et il est d'un point de vue étymologique tirant son origine du latin *piscis* et des termes de vieux français *peis* et *pois*, de plus un poisson selon l'Académie Française. (**Académie française, 1932-2022**). Il est identifié comme un « *Vertébré aquatique à respiration branchiale qui possède des nageoires paires et une bouche pourvue de mâchoire* » et elle est imprécise car il y'a des poissons qui sont dépourvus de mâchoires et de nageoires comme le cas des'' lamproies'' (**Nelson, 2006**).

Actuellement, plus de 28 000 espèces de poissons ont été répertoriées. Les 40 % des poissons se trouvent dans les eaux douces (correspondant à 0,01 % des eaux de la planète), ce qui

signifie que c'est dans les eaux douces que l'on va rencontrer proportionnellement la plus grande diversité (Nelson, 2015).

I.1.3 Classification du poisson :

Il existe plusieurs critères sur lesquels on peut classer un poisson, une première approche de classification se base sur la taxonomie qui « vise à nommer et classer les êtres vivants » en définissant et décrivant leurs caractéristiques (Taylor, et al., 2017) ;

Elle permet avant tout la discrimination en deux infra-classes : les poissons osseux (Osteichthyes) et les poissons cartilagineux (Chondrichthyens). En second lieu, la taxonomie permet de classer les différents poissons sur dix niveaux successifs de la superclasse à l'espèce. C'est les deux derniers niveaux, genre et espèce, qui sont utilisés pour décrire les organismes, formant leurs noms binomiaux, celui de la sardine est ainsi *Sardina pilchardus*.

Tableau N° 1 : Système hiérarchique de classification des espèces exemple de la sardine

Nom de classes	Exemples
Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Sous-embranchement	Vertebrata
Superclasse	Osteichthyes
Classe	Actinopterygii
Sous-classe	Neopterygii
Infra-classe	Teleostei
Superordre	Clupeomorpha
Ordre	Clupeiformes
Sous	ordre Clupeoidei
Famille	Clupeidae
Genre	Sardina
Espèce	<i>Sardina pilchardus</i>

La taxonomie est la référence de la classification scientifique. Elle est en revanche presque non utilisée dans la pêche, les professionnels utilisent des noms d'usage. Les différentes méthodes de classifications communément utilisés dans le monde halieutique seront détaillées ci-dessous. Classification selon le lieu de vie. Trois types de classes sont alors définis poissons démersaux, pélagiques et Amphihalins (Dehault, 2014).

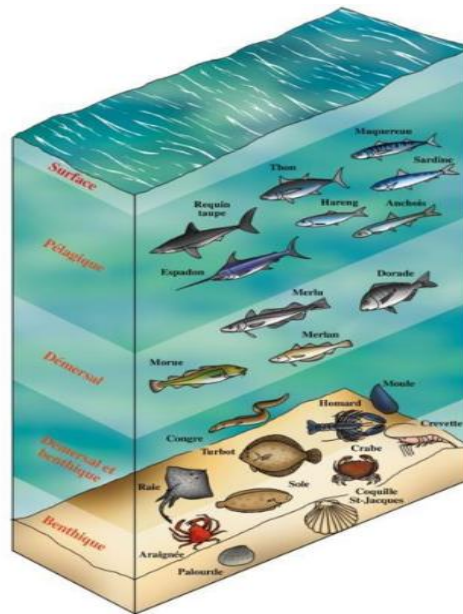


Figure N° 2 : classification du poisson selon le lieu de vie (Dehault, 2014)

I.1.3.1 Utilisation des noms vernaculaires :

Selon Larousse : « nom usuel d'une espèce animale ou végétale dans son pays d'origine », c'est-à-dire le nom commun. Cette dénomination concerne plus qu'une simple différenciation entre pays, puisque des différences sont également observées entre les régions d'un pays, ou encore, en fonction du procédé de transformation utilisé. Exemple "loup de mer" désigne *Anarhichas lupus* alors qu'au Québec il désigne les phoques (Dehault, 2014).

I.1.3.2 Classification selon des caractéristiques biologiques :

La capacité du tissu musculaire à stocker les lipides sert d'ailleurs de base à une classification des poissons. La teneur en triglycérides est extrêmement variable en fonction de l'espèce, du génotype, de l'âge des poissons et d'une saison à une autre en fonction de leur état de maturation sexuelle et du contenu énergétique de leur alimentation. Chez les poissons, les lipides peuvent être stockés dans plusieurs tissus et l'importance relative des différents sites de stockage varie selon les espèces. Ainsi, nous distinguerons (voir tableau ci-dessous) :

- **Des poissons maigres** : Qui ont des teneurs en lipides dans le muscle inférieures à 1% et peut aller jusqu'à 5%, déposent massivement les lipides dans le tissu hépatique (Jusqu'à 75% du poids du foie).
- **Des poissons gras** : qui ont des teneurs en lipides dans le muscle supérieur à 10%.

- **Des poissons dits "intermédiaires"**: qui déposent les lipides dans le muscle mais aussi dans d'autres sites tels que le tissu adipeux per viscéral et contiennent entre 5 et 10 % de lipides.

Tableau N° 2 : Classification du poisson selon la teneur en matières grasses (université médicale virtuelle, 2011)

Poissons maigres	Poissons gras	Poissons intermédiaires
Dorade	Eperlan	Bar
Lotte	Esturgeon	Espadon
Merlan	Hareng	Makaire
Morue	Maquereau	Pangasius
Rouget	Saumon	Raie
Saint-pierre	Thon	Requin
Sole	Truite	Tilapia

I.1.4 Produits de la pêche et pêche en Algérie :

La pêche maritime en Algérie est répartie en trois types de métiers à savoir, les chalutiers, les sardiniers et les petits métiers. Les chalutiers utilisent les arts traînants tel que les chaluts sous leurs différentes formes et pêchent pratiquement toutes les espèces. Les sardiniers de leur côté utilisent les sennes et capturent généralement le poisson bleu notamment les petits pélagiques, quant au petits métiers ils utilisent différents engins entre autre les filets maillants et les lignes et capturent généralement les espèces vivantes dans des zones accidentées (**Bazizi, 2021**).

Les espèces capturées par l'ensemble des métiers sont regroupé comme suit: Poissons démersaux, petits et grand pélagiques et qui représentent près de 77% de la production nationale. A noter que la production halieutique en Algérie a atteint 74.000 tonnes en 2021 (**Bazizi, 2021**).

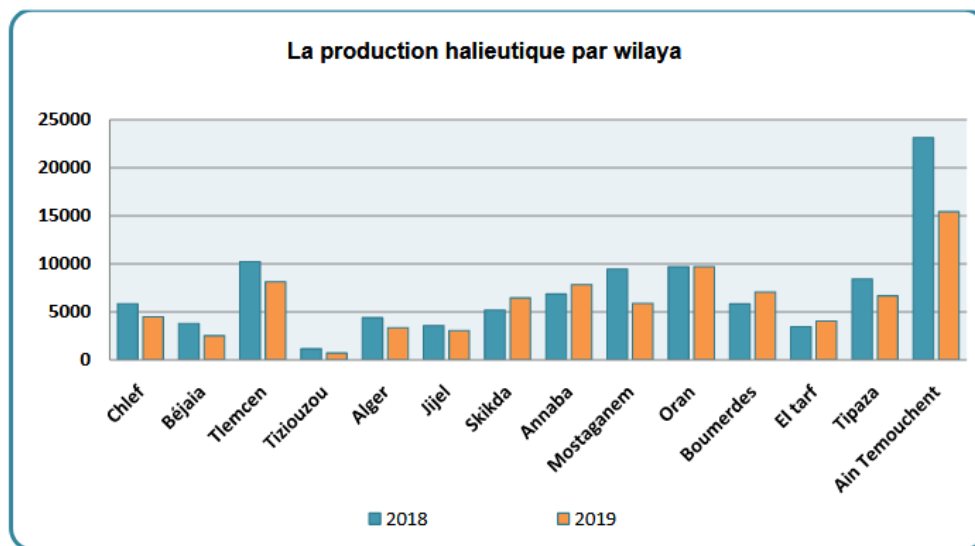


Figure N° 3 : La production halieutique par wilaya en Algérie (Bazizi, 2021).

I.2 Présentation du poisson *Sarina Pilchardus* :

Le terme « sardine » est apparu au XIII^e siècle. Il vient de l'expression latine *sardaesine sardinae*, littéralement « poisson de Sardaigne » (Larousse, 1971).

I.2.1 Systématique :

Selon (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>

I.2.2 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 (**Walbaum, 1792**).

Sardina pilchardus est, un poisson migrateur pélagique. Corps à section transversale ovale, carène ventrale peut développer mais visible de la gorge à l'anus, nageoire dorsale débutant de l'origine des nageoires pelviennes, opercule présentant des stries rayonnantes très prononcées, mâchoire supérieure dépourvue d'échancrures médianes, mâchoire inférieure n'atteignant pas le bord postérieur de l'œil (**Kaddour Cherif, et al., 2016**).

Les branchies comportes de 70 à 100 branchiopodes, avec présence de paupières adipeuses en avant et en arrière de l'œil (Code d'usage international recommandé pour le poisson frais, 1976).

D'après (**Muss, 1998**), il y a environ 80 grandes écailles minces, caduques, argentées et fragiles recouvrent une autre couche d'écailles plus petites, elles forment deux ailettes en fin du pédoncule caudal.

I.2.3 Aspects écologiques :

I.2.3.1 Distribution et répartition géographique :

Elle est rencontrée le long des côtes atlantiques et méditerranéennes d'Europe et d'Afrique. Méditerranée, elle est très commune dans le bassin occidental. Dans l'océan Atlantique, la sardine se répartit depuis Dogger Blanc en mer du Nord jusqu'aux côtes Mauritanienes et peut même atteindre les eaux du Sénégal. La sardine se rencontre également dans les archipels des Açores, de Madère et des Canaries. (**FAO, 2013**).

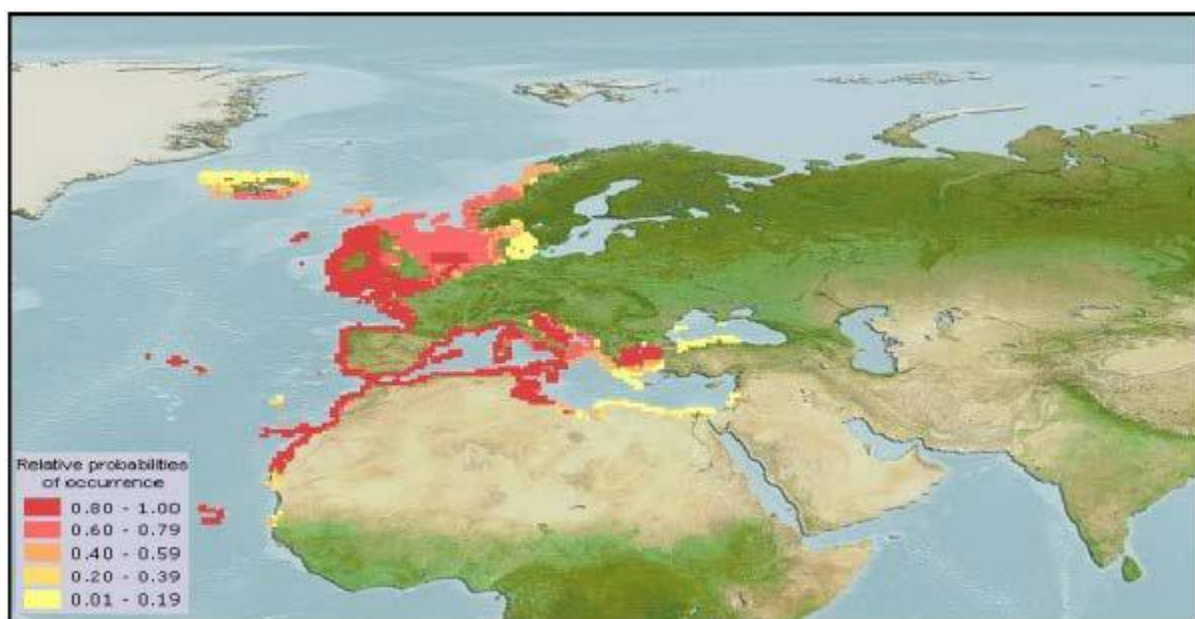


Figure N° 4 : Répartition géographique de la sardine européenne (FAO, 2013).

I.2.3.2 Habitat :

La sardine fréquente les zones de pleine eau et n'est pas attachée à un biotope en particulier. Elle est abondante dans les zones côtières (**Magnus, et al., 2022**). La sardine se trouve sur le plateau continental au-dessus des fonds 20 à 100 m de profondeur, des bancs isolés sont enregistrés au-dessus des fonds allant jusqu'à 200 m, les sardines passent la journée plus profondément (entre 25 et 55 m) que la nuit où elles remontent pour se nourrir (entre 10 et 35 m). Elle est associée aux masses d'eau de température 13,8-18,2°C et de salinité 35,67 - 36,60 pour cent en hiver; en été la température et la salinité des eaux où on rencontre la sardine sont égales à 16,7-18,7°C et à 35,95-36,65 pour cent. (**Magnus, et al., 2022**).

I.2.3.3 Régime alimentaire :

La sardine est essentiellement zooplanctonophages. Elle consomme majoritairement des copépodes, comme cela a déjà été démontré en mer du Nord et en mer Baltique, en mer catalane, dans le golfe du Lion, en mer Égée et dans la partie sud de Méditerranée. Cela n'est pas étonnant puisque les copépodes représentent le groupe zooplanctonique majeur en matière de biomasse et d'abondance en Méditerranée, en Manche-mer du Nord et en Atlantique.

Les œufs des crustacés sont aussi des proies préférentielles pour la sardine (%O = 50%) comme cela a été montré au sud du Portugal.

Les études sur l'écologie alimentaire des sardines adultes à partir de l'analyse des contenus stomacaux suggèrent que son régime alimentaire se compose de phyto et zooplancton dans des proportions différentes selon la région.

Dans une étude récente (**Garrido, et al., 2008**) ont trouvé une corrélation entre la concentration en chlorophylle a dans le milieu et l'intensité de la prise alimentaire de la sardine. La morphologie de l'appareil d'alimentation détermine la taille minimale des proies que le poisson est capable de retenir, alors que l'aspect de la proie (qui est fonction de sa taille, de sa forme, sa pigmentation et son comportement) déterminera sa sélection par les poissons. (**Jemaa, 2015**).

I.2.4 Croissance :

La sardine a une croissance rapide, notamment dans sa phase juvénile, notamment au cours des deux premières années. La longueur moyenne à 6 mois est de 10,6 cm et devient 15,3 cm à 18 mois.

A l'âge de deux ans et demi, la sardine peut avoir une taille moyenne de l'ordre de 18 cm. Toutefois, et à partir de la troisième année, la croissance en longueur devient de plus en plus lente, et peut être estimée à quelques millimètres par an (**Magnus, et al., 2022**).

L'intensité de la croissance peut être rapide au printemps et ralentie ou même interrompue au cours de l'hiver (**Claude, et al., 2005**) la sardine peut vivre jusqu'à six ans, ceci est probablement en relation avec une richesse trophique du milieu et la température engendrée par l'upwelling auquel sont soumises ces côtes. La sardine atteint sa maturité sexuelle durant les deux premières années de sa vie. La croissance et la maturité sexuelle présentent de larges variations tout au long de l'aire de répartition (**KADA, 2010**).

I.2.5 Reproduction :

La période de reproduction de ce poisson gras en Algérie se déroule d'Octobre à Mars, avec une ponte en Janvier. La taille à la première maturité sexuelle est établie à 11,50 cm chez les mâles et 11,28 cm chez les femelles. (**Bouhali, 2015**).

La ponte de la sardine est fortement corrélée aux variations hydro-climatiques d'une région à une autre, notamment la température et la disponibilité de la nourriture aux facteurs environnementaux, comme la température et l'hydrodynamisme Elle s'effectue entre 12°C et 18°C et se prolonge sur la majeure partie du plateau continental (**Ettahiri, 2003**).

Les œufs éclosent après deux à quatre jours. Les larves mesurant 4 mm de longueur, ils deviennent mûrs après deux années, atteignant une longueur de 20 cm et 26 cm au maximum à 15ans. (**Alvarez, 1992**).

I.2.6 Flore bactériologique :

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 (**Bencherga, 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*, *Achrobacter*, *Aeromonas*, *flavobacterium*, *Serratia*, *Sarcina*, *Proteus*. On en rencontre sur toutes les surfaces externes (peau et branchies) et dans les intestins estime les chiffres à **(Selidja , et al., 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 **(Ifermer, 2012)**.

I.2.7 Importance économique de la sardine :

Au moyen âge elle a joué un rôle primordial de l'alimentation des européens particulièrement au près des plus pauvres qui trouvaient là une source peu dispendieuse de protéines et d'énergie **(Cyr, 2006)**. La chair de la sardine est universellement appréciée. Elle se consomme fraîche, en conserve à l'huile, à la tomate ou en salaison, une partie importante est également conservée dans le sel et le vinaigre ou vendue fraîche. **(FAO, 1996)**.

La sardine est également vendue comme appât pour la pêche d'autre espèce et pour la transformation en farine et en huile **(Larousse, 1971)**.

I.2.8 Evolution de la sardine après capture :

I.2.8.1 Evolution morphologique :

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 **(FAO, 2020)**. Ce poisson bleu a de plus une activité métabolique rapide. D'où la nécessité de le conserver au froid aussitôt que possible **(Robertson, et al., 1982)**.

Dès la mort du poisson, un processus d'altération se met en place, ce qui fait intervenir largement l'autolyse. Les enzymes digestives du poisson détruisent la barrière intestinale, et permettent la dissémination des germes présents **(Bourgeoise , et al., 1981)**.

D'après **(Moniharapon, et al., 2021)** la chaire du poisson s'altéré 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, au lieu de branchies rouge vif (**Maas-Van Berkel, et al., 2004**).

1.2.8.2 Changements organoleptiques :

Les changements organoleptiques ou sensoriels sont ceux perçus par les sens, c'est à dire : Apparence, odeur, texture, et gout (**FAO, 2008**). 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 (**Cowey, 1993**). Cependant, la composition et la qualité des régimes alimentaires utilisés en aquaculture peuvent aussi influencer la flaveur de la chair des poissons (**Les poissons d'eau douce d'algérie : inventaire et répartition., 2012**).

Chapitre II. : METHODES D'APPRECIATION DE LA QUALITE DU POISSON

Méthodes d'appréciation de la qualité du poisson

La qualité du produit aquacole offert au consommateur n'est pas uniquement tributaire du produit sorti de la cage ou du bassin, mais aussi des procédures post-captures, de plus les poissons sont des denrées très périssables par rapport aux autres produits d'origine animale et ont des durées de vie ou "shelf life" courtes, même aux basses températures de réfrigération (Njeh, 2016).

On distingue 3 méthodes :

I.3 Méthodes sensorielles :

L'évaluation sensorielle est définie comme la discipline scientifique utilisée pour évoquer, mesurer, analyser et interpréter les réactions aux caractéristiques des aliments perçus par les sens: la vue, l'odeur, le goût, le toucher et l'ouïe (FAO, 2022).

I.3.1 MIQ Indice d'altération:

La cotation sensorielle pour le poisson cru par la Méthode de l'Indice de Qualité ou '**Quality Index Method**' (QIM) basée sur l'évaluation de la fraîcheur du poisson selon la méthode de (Njeh, 2016) a été développée par la *Tasmanian Food Research Unit* (Bremner, et al., 1985) En Australie FAO. Cette méthode :

- ✓ Evalue la fraîcheur de produits aquatiques stockés à 4°C sur glace.
- ✓ Se base sur les changements de caractéristiques tels que l'apparence (yeux, peau, branchies), l'odeur et la texture.
- ✓ Pour chaque paramètre évalué, un score est établi.
- ✓ L'addition de chaque score de chaque paramètre aboutit à un score total appelé le QIM.
- ✓ Plus le score est élevé, plus le produit analysé est non-salubre.
- ✓ La méthode a initialement été conçue pour des poissons entiers non traités, toutefois, une adaptation de cette méthode pour des produits bruts, congelés et décongelés est établie.
- ✓ Du fait de la variabilité des espèces et de leur spécificité, il est possible de retrouver dans la littérature des QIM développés spécifiquement pour une espèce.

- ✓ La valeur de l'index de qualité augmente de façon linéaire avec le temps de conservation (jours sur la glace), donc il est possible d'estimer à partir du score le temps de stockage.

A noter que parmi les avantages de la QIM, nous citerons : la rapidité, la facilité, l'aspect non destructif et l'objectivité en comparaison avec d'autres méthodes. Par contre, ses inconvénients sont les suivants : le caractère chronophage et la nécessité d'avoir le poisson entier pour établir le score total.

Paramètres	Attributs		Points d'inaptitude
Apparence	Peau	Très brillant	0
		Brillant	1
		Terne	2
	Viscosité	Clair, transparent	0
		Légèrement trouble/trouble	1
Chair	Elasticité	Elastique	0
		Marquage à la pression	1
Odeur		Frais	0
		Neutre	1
		Odeur de poisson	2
		Emanation d'odeurs	3
Yeux	Clarté	Clair, translucide	0
		Légèrement opaque	1
		Opaque, sanglant	2
	Forme	Convexe	0
		Plat	1
		Concave	2
Branchies	Couleur	Brillant/rouge foncé	0
		Rouge brunâtre/décoloré	1
	Odeur	Frais/odeur d'algues	0
		Neutre	1
		Odeur de poisson	2
		Emanation d'odeurs	3
Total maximum de points d'inaptitude			15

Figure N° 5 : Paramètres analysés et attributs donnés chez la daurade royale dans le cadre d'un test QIM (Njeh, 2016)

I.3.2 BARÈME DE COTATION DE FRAÎCHEUR EUROPÉEN :

Le système de notation de qualité mis en place par l'Union européenne en 1996, définit des normes de commercialisation communes pour certains produits aquatiques : les poissons blancs, les poissons bleus, les sélaciens (élastomobranthes), les céphalopodes et les crustacés et il s'applique à tous les produits lors de la première mise en vente.

Ici, le produit analysé est classé dans une catégorie selon sa fraîcheur : E (extra), A et B de ce fait il est non admis si ses caractéristiques ne lui permettent pas d'intégrer une de ces trois catégories. Ce classement est effectué après évaluation de la peau, des branchies, du mucus cutané, de la texture et de l'odeur de la chair (Cléach, 2018).

Par contre, cette méthode ne permet pas d'estimer la durée de vie restante et ces catégories sont trop larges et définies grossièrement. Aussi, elle ne s'applique cependant qu'au poisson entier et ne tient compte, dans sa conception, des différences entre les espèces, les descripteurs étant presque communs à tous les poissons conservés sous glace. Egalement, elle requiert des personnels avec une formation spécifique.

Finalement, nous pouvons dire que les trois catégories ne font pas le lien avec le temps de conservation sur glace comme le système QIM. Malgré cela, cette échelle est toujours utilisée **(Cléach, 2018)**.

I.3.3 Echelle de Torry :

Il s'agit d'un système de cotation de fraîcheur du poisson cuit.

Cette méthode évalue l'odeur, le goût et la texture du produit. Plus la note est élevée, plus le produit est considéré frais (10 est le max). Pour une note inférieure à 3, le poisson est considéré non acceptable à la consommation humaine. Pour une note supérieure ou égale à 5,5, le produit est classé consommable. L'échelle a été développée pour les trois types de poisson précédemment mentionnés: maigres, mi- gras et gras **(Cléach, 2018)**.

Les méthodes organoleptiques restent très utilisées à tous les niveaux de la filière pour l'évaluation de la qualité des produits. La rapidité, le faible coût, la non destruction des produits évalués sont les principaux atouts de ces méthodes. Le développement récent de nouveaux protocoles est la preuve de l'intérêt persistant pour ces méthodes **(Djamal, 2016)**.

I.4 Méthodes chimiques :

Consistent en le dosage des composés issus de l'altération des produits, il en existe plusieurs voici quelques-unes :

I.4.1 Potentiel hydrogène PH :

Le pH est un paramètre important pour apprécier la fraîcheur du poisson **(Farid, et al., 2014)**. Le poisson frais a un pH après la mort proche de la neutralité et varie de 5.5 à 7.1 suivant la saison, les espèces et d'autres facteurs.

Durant le stade de rigidité cadavérique " la rigormortis" se forme l'acide lactique dans la chair du poisson ; de ce fait la baisse du pH **(Leduc, 2011)** . La formation d'acide lactique résulte ainsi, d'une dégradation anaérobie du glycogène présent dans la chair du poisson **(Makawa, et al., 2014)**.

Par contre, une augmentation des valeurs de pH indique une production et une dégradation des composés azotés (NH₃, TMA et DMA) et une accumulation des peptides et des amines,

due à une activité microbienne et aux métabolismes autolytiques des bactéries de détérioration (Assogba, et al., 2018).

I.4.2 Dosage de l'ABVT :

Ammoniac, DMA, TMA ainsi que des amines primaires à faible poids moléculaire sont des molécules regroupées sous la dénomination de bases volatiles et constituent l'azote basique volatil total. Ces composés sont issus de la dégradation de l'OTMA et d'acides aminés.

Une des méthodes de référence pour le dosage de l'ABVT consiste à déprotéiniser l'échantillon, puis de distiller et entraîner à l'aide d'un flux de vapeur l'ensemble des amines volatiles avant de les titrer par un acide fort (Figure 6).

La mesure de l'ABVT par cette méthode est rapide et simple à réaliser, mais elle reste peu fiable pour les premiers jours d'altération des poissons (Kabamba, 2016).

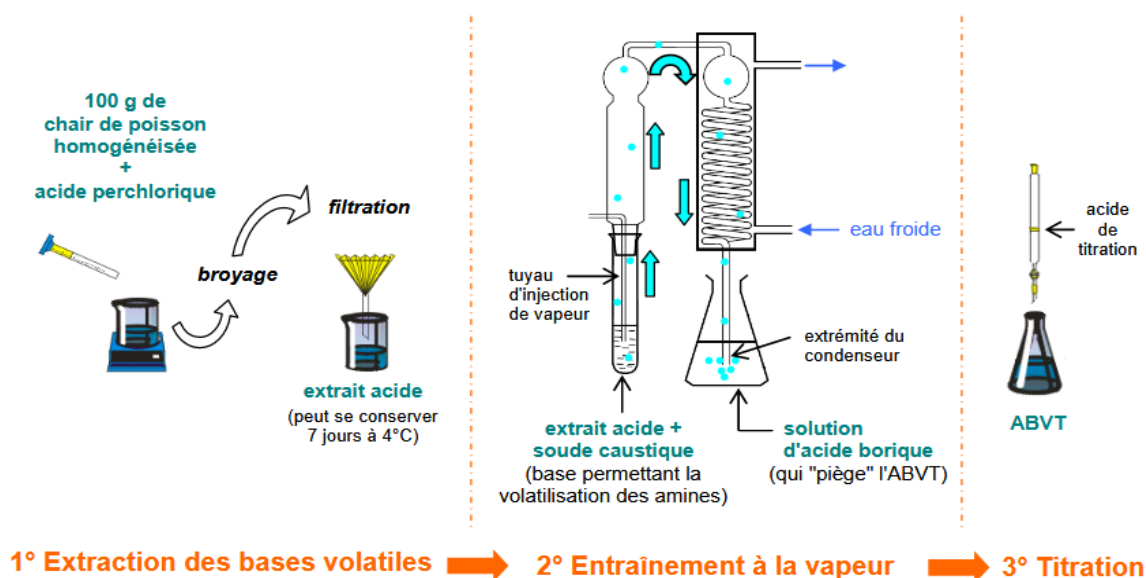


Figure N° 6 : Schématisation du protocole d'extraction des ABVT et de leur titration (Ifermer, 2008)

I.4.3 Dosage des amines biogènes :

Ces molécules sont produites par la décarboxylation d'acides aminés suite à l'action de certaines bactéries en milieu acide, essentiellement l'histamine pour des raisons de sécurité sanitaire les teneurs en histamine dans certains produits de la mer sont réglementées. Il existe plusieurs méthodes, on en cite « **Méthode AOAC 977.13** » qui est la méthode de référence pour les Etats-Unis et le *Codex Alimentarius*.

Le principe de cette méthode est le fait que l'histamine est extraite de l'échantillon avec une solution de méthanol à 75%. L'extrait méthanoïque est passé dans une colonne échangeuse

d'ions puis l'histamine éluée est complexée avec de l'orthophthaldialdéhyde (OPT), dérivé fluorescent. Le résultat est mesuré par fluorimétrie.

Cette méthode a comme avantages le fait qu'elle est très précise, sensible et reproductible. Par contre, elle reste longue à mettre en œuvre et doit être effectuée par des analystes expérimentés (**Ifermer, 2012**).

I.4.4 Valeur K

Ce facteur est influencé par de nombreux paramètres : méthodes d'abattage, les conditions de manutention et des températures d'entreposage. Ceci implique que, pour chaque espèce de poisson et pour chaque type d'entreposage et de procédé, un profil d'évolution de ce facteur doit être établi avant que les mesures effectuées soient utilisées pour évaluer la fraîcheur (**Marines, 1998**).

Développé par (Spinelli, et al., 1964), en calculant la part de métabolites finaux de l'ATP (*i.e* inosine et hypoxanthine) par rapport à l'ensemble des concentrations de l'ensemble composé de l'ATP et de ses dérivés. Néanmoins, les étapes initiales de dégradation de l'ATP étant très rapide, il a été suggéré de simplifier le ratio par un autre facteur (K' ou K1) (**Spinelli, et al., 1964**). Les facteurs K et K' sont de bons indicateurs de l'état de fraîcheur du poisson, leurs valeurs augmentent de façon quasi linéaire tout au long de la conservation (**David, et al., 2001**).

On distingue deux techniques pour quantifier l'ATP et ses métabolites : les méthodes enzymatiques et les méthodes chromatographiques.

On calcule :

Equation N° 1 : Formule de calcul du facteur K

$$K \text{ value } \% = \frac{\text{Ino} + \text{Hx}}{\text{ADP} + \text{ATP} + \text{AMP} + \text{Ino} + \text{Hx}} \times 100$$

Inosine (Ino) et Hypoxanthine (Hx)

La méthode n'est pas standardisée, elle est plutôt longue et coûteuse ; de ce fait elle n'est pratiquement pas utilisée dans l'industrie.

I.5 Méthodes microbiologiques :

I.5.1 Généralités :

Les méthodes microbiologiques reposent sur le dénombrement des germes d'altération, la croissance de ces organismes responsables de l'altération du poisson *post mortem* dépend des

conditions d'entreposage (température) et du packaging (atmosphère modifié ou non) (Kuuliala, et al., 2018).

Selon le journal officiel Algérien de 2017 ; pour les poissons, céphalopodes et mollusques crus et, il est impératif de rechercher les bactéries suivantes : Germes aérobies à 30 °C, les coliformes thermotolérants, staphylocoques à coagulase positive et salmonella.

Tableau N° 3 : Germes à recherche obligatoire (Journal officiel algérien pour les poissons, céphalopodes et mollusques crus, 2017)

Germes	Limites microbiologiques (ufc/g)
Germes aérobies à 30° C	10 ⁶ - 10 ⁷
Coliformes thermotolérants	10 - 10 ²
Staphylocoques à coagulase +	10 ² - 10 ³
Salmonella	Absence dans 25 g

I.5.2 Les entérobactéries :

I.5.2.1 Généralités :

Le nom "entérobactérie" fait référence à la localisation d'une famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement dans le côlon de l'homme et des animaux. Ces microorganismes sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Les entérobactéries appartiennent à une grande famille qui regroupe des bacilles à Gram négatif (BGN). Cette famille comporte plusieurs genres, espèces et sérotypes. La classification récente (hybridation ADN-ADN) recense 31 genres et plus de 140 espèces. Parmi tous les genres et espèces décrits, une vingtaine est impliquée en pathologie humaine et animale : *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Entérobacter*, *Proteus* (Société marocaine de pédiatrie et infectiologie, 2017).

I.5.2.2 Caractères biochimiques :

L'identification du genre et espèce bactérienne repose d'abord sur l'étude des caractères biochimiques (Decoster, 2005). Des galeries biochimiques permettent de déterminer avec précision le genre et l'espèce, se basant sur :

- L'étude du métabolisme glucidique (dégradation des sucres: glucose, lactose, galactose), (Nauciel, 2001).

- L'étude du métabolisme peptidique par la dégradation des acides aminés, recherche d'uréase et de tryptophane désaminase (TDA)
- L'utilisation du citrate comme seule source de carbone
- La production d'acétoïne, d'H₂S,
- L'hydrolyse de la gélatine .(Philippon, 2012)

I.5.2.3 Caractères culturels :

Elles ont la capacité de pousser facilement sur des milieux ordinaires (gélose ou bouillon nutritif) en 18 à 24 h. La température optimale de croissance est de 37° mais la culture est possible entre 20° et 40° en aérobie ou en anaérobie. Leur pousse se révèle par un trouble uniforme du bouillon et par l'apparition de colonies d'un diamètre supérieur à 1 mm sur milieu gélosé. Ainsi on distingue trois types de colonies:

- Colonies S (lisses) : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- Colonies R (rugueuses) : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- Colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*klebsiella spp*).

Envahissement de la gélose : formation d'un tapis uniforme (Proteus) (Meziani, 2012).

I.5.2.4 Caractères morphologiques :

Les entérobactéries sont polymorphes avec des tailles variant de 2 à 3 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. Les espèces mobiles (Drame, 2001) les plus nombreuses, le sont grâce à une ciliature péritriche tandis que certaines sont immobiles (Janda, et al., 2006). Quelques-unes possèdent une capsule visible au microscope et la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des *fimbriae* ou *pili* qui sont des facteurs d'adhésion (Bakhourn, 2004).

I.5.2.5 Caractères antigéniques :

Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents :

- **Antigène O** : antigène de paroi constitué de lipopolysaccharides (LPS) thermostable, perdu chez les souches R (colonies rugueuses) qui deviennent auto agglutinables en eau distillée
- **Antigène H** : antigène flagellaire (bactéries mobiles) constitué de flagelline thermolabile
- **Antigène K** : antigène capsulaire (*Klebsiella* et certaines souches d'*E. coli* ,*Shigella*, *Citrobacter* et *Salmonella* « antigène Vi ») constitué de couches externes de polysaccharides qui peuvent masquer l'antigène O (une ébullition de 2 heures permet de démasquer l'antigène O chez ces souches)

- **Antigène de Kunitz ou Enterobacteriaceae Common antigen (ECA)** constitué d'un glycophospholipide spécifique des entérobactéries ;
- **Antigènes d'adhésines** (pili ,fimbriae) (Denis, et al., 2016).

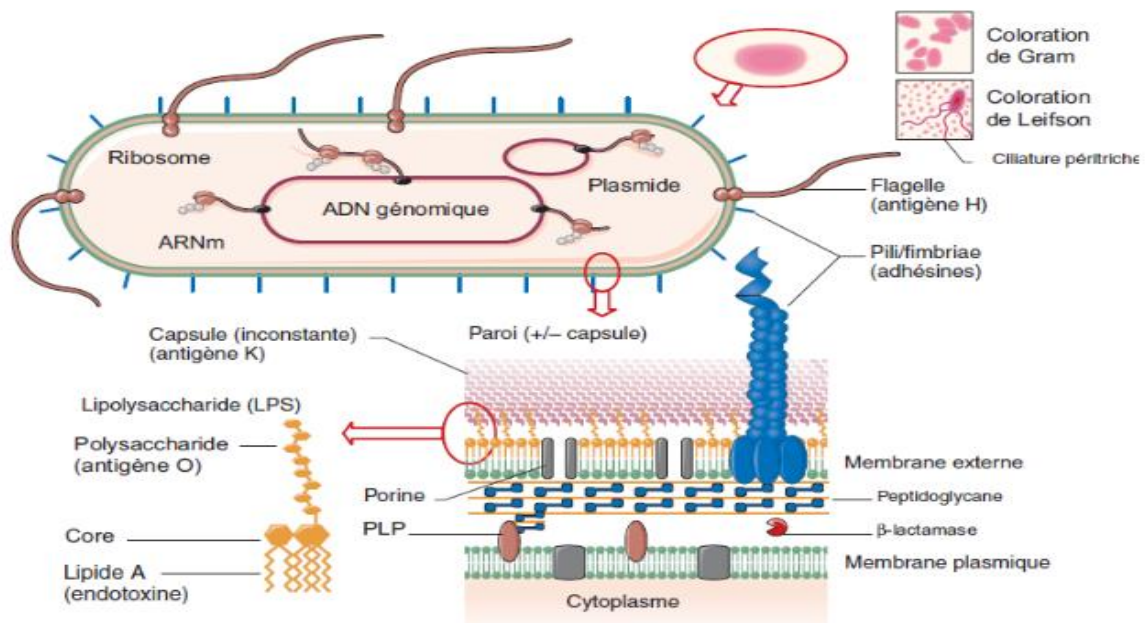


Figure N° 7 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (Denis, et al., 2016)

I.5.2.6 Pouvoir pathogène :

Chez l'homme, il convient de distinguer : Les entérobactéries pathogènes spécifiques que l'on ne trouve pas à l'état commensal (en dehors des porteurs sains) et dont la présence dans les milieux extérieurs n'est qu'un phénomène transitoire.

Les maladies qu'elles engendrent sont dues à un défaut d'hygiène et la contamination se produit soit par contact direct soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaires ou animal) citons : La fièvre typhoïde due à *Salmonella typhi*, les toxi infections alimentaires dues à *Salmonella* mineures, *Shigella* et à *Yersinia* (**Société marocaine de pédiatrie et infectiologie, 2017**).

Les entérobactéries pathogènes opportunistes peuvent provenir de la flore digestive commensale normalement résidente (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterbacter*, *Serratia*, *Proteus* ...)

Les infections qu'elles peuvent engendrer ont un point de départ endogène citons à titre d'exemple :

- Les infections urinaires
- Les infections intra abdominales (cholicystites, appendicites.)
- Septicémies à point de départ urinaire ou intra abdominale
- Surinfection respiratoire

(Société marocaine de pédiatrie et infectiologie, 2017)

En milieu hospitalier : Ces bactéries sont au premier plan des infections nosocomiales. Elles sont manu portée et elles sont capables de surinfecter n'importe quelle lésion pré- existante. La multiplication des actes médico- chirurgicaux (endoscopie, cathéter, sonde à demeure, drain), l'utilisation d'antiseptiques et d'antibiotiques majore leur rôle pathogène et leur résistance aux antibiotiques tel que les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE) qui sont responsables d'épidémies, difficiles à gérer. **(Société marocaine de pédiatrie et infectiologie, 2017)**

I.5.2.7 Différentes espèces des entérobactéries :

La famille des entérobactéries se compose d'environ 40 genres et plus de 100 espèces dont les plus isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Hafnia*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (Avril, et al., 2000). Les entérobactéries sont classées en quatre groupes par rapport à leur résistance naturelle aux β -lactamines. Pour la suite du travail, il semble nécessaire de rappeler brièvement quelques caractères de certaines entérobactéries fréquemment rencontrés en pathologie humaine et qui posent des problèmes de résistance (Tableau 4)

Tableau N° 4 : Classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine (Larpent, 2000)

	Genres	Espèces
Groupe I	<i>Edardsiella</i>	
	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
Groupe II	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
Groupe III	<i>Levinea</i>	
	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Groupe IV	<i>Erwinia</i>	
	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
Groupe V	<i>Providencia</i>	
	<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

I.5.2.7.1 Escherichia coli :

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains. L'espèce *E. coli* présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan pouvoir pathogène. (Denis, et al., 2016)

Isolée pour la première fois par *Escherich* en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Denis, et al., 2016)

Tableau N° 5 : Classification d'*Escherichia coli* (Hufnagel, et al., 2015)

Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	Entérobactérie
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

I.5.2.7.1.1 Caractères bactériologiques :

E. coli une bactérie en forme de bacille de taille allant de 0,7 à 3 μm de long sur 5 μm de large qui se produit seul ou par paires, il s'agit de bactéries à Gram négatif. Elle est un anaérobe facultatif qui en fait un occupant approprié de l'intestin inférieur des animaux à sang chaud. *E. coli* est non-sporulé et peut posséder des flagelles selon la souche, ce qui facilite sa motilité (Adomako, 2020).

La morphologie d'*E. coli* est reconnue comme étant rugueuse, plate et irrégulière ou lisse, élevée et ronde (Hasman, et al., 2000). Les propriétés chimiques des milieux utilisés pour sa culture déterminent l'apparition de l'organisme en culture. Par exemple, sur Gélose MacConkey, les isolats d'*E. coli* produisent des colonies rose vif, avec un jaune intense présentant une zone périphérique verte sur vert brillant et sur gélose Eosine-bleu de méthylène (EMB), ils produisent des colonies de reflets métalliques caractéristiques (Zinnah, et al., 2007).



Figure N° 8 : A micrograph of *E. coli* (Anonyme, 2016)

I.5.2.7.1.2 Caractères biochimiques :

E. coli possède des caractères biochimiques particuliers permettant de le différencier des autres espèces ce sont : absence d'uréase, fermentation de lactose, absence de production d'oxydase, production d'indole, absence de croissance sur le citrate et pas de production de H₂S (Gwida, et al., 2020).

I.5.2.7.1.3 Pouvoir pathogène :

Les colibacilles vivent normalement dans les intestins des humains et des animaux. La plupart des *E. coli* sont inoffensifs et constituent en fait une partie importante d'un système intestinal humain sain (Centers for Disease Control and Prevention, 2014).

Les souches d'*E. coli* associées aux humains peuvent être divisées en trois sous-ensembles principaux : les souches commensales, les souches extra intestinales pathogènes (Ex PEC) et les souches diarrhéiques/entériques (DEC) (Vila, et al., 2016).

E. coli commensal sont souvent identifiés le long des voies digestives des mammifères et ont une interaction hôte symbiotique. Ils colonisent tôt (les nourrissons) et jouent un rôle essentiel dans les intestins des mammifères en produisant des vitamines B et K, en surpassant les pathogènes envahissants 4 et en éliminant l'oxygène, empêchant ainsi la destruction des anaérobies obligatoires dans l'intestin (Rossie, et al., 2018)

En outre, des données récentes suggèrent que les protéines d'*E. coli* peuvent influencer le contrôle de l'appétit de l'hôte en signalant la fin des repas par des voies de satiété démontrant encore que l'*E. coli* commensal peut avoir de nombreux rôles différents et vitaux dans le microbiote de l'intestin humain (Breton, et al., 2016). L'ExPEC est un groupe de pathogènes d'*E. coli* qui causent des maladies chez les humains à l'extérieur du tube digestif, tandis que l'*E. coli* entérique pathogène cause des infections gastro-intestinales (Vila, et al., 2016).

Traditionnellement, l'ExPEC est divisé par sa capacité à causer une maladie clinique, p. ex., infections des voies urinaires (*E. coli* uropathogène – UPEC), *E. coli* (NMEC) associée à la méningite néonatale et *E. coli* (SEPEC). Cependant, il a été observé que les isolats ExPEC ne sont pas nécessairement spécifiques à la maladie et peuvent en fait causer des infections à de multiples sites corporels. L'ExPEC peut causer diverses maladies comme les maladies des voies urinaires, la péritonite infectieuse, la maladie inflammatoire pelvienne, les infections de la peau et des tissus mous, la méningite néonatale et la pneumonie contractée à l'hôpital, les infections sanguines et la septicémie. **(Dale , et al., 2015)**

A noter également, que les pathogènes entériques ou diarrhéiques *d'E. coli* (DEC) causent par contre des maladies gastro-intestinales (Robins-Browne , et al., 2016) et peut être sous-divisée en différents pathotypes (Figure 10) qui causent la diarrhée, les 6 premiers - *E. coli* entérotoxigène (ETEC), *E. coli* entérotoxigène (EPEC), *E. coli* entérohémorragique (EHEC) ou *E. coli* shiga-toxine (STEC), *E. coli* entéroaggregative (EAEC), *E. coli* entéroinvasive (EIEC) et *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) (Robins-Browne , et al., 2016) et les nouveaux pathotypes : *E. coli* adhérent envahissant (AIEC), associés à la maladie de Crohn, à l'entéroaggregative ; *E. coli* (STEAEC) produisant des toxines shiga le STEC O157:H7 **(Blount, 2015)**

L'un des agents pathogènes les plus notables de la DEC ; les STEC sont une cause de maladie grave d'origine alimentaire **(Majowicz, et al., 2014)** (Figure 9)

Site d'infection		Pathovar	Symptômes
InPEC (<i>E. coli</i> pathogène intra-intestinal)	Intestin grêle	EPEC (<i>E. coli</i> entéropathogène)	
		ETEC (<i>E. coli</i> entérotoxigène)	Diarrhées aqueuses
		DAEC (<i>E. coli</i> à adhérence diffuse)	Diarrhées aiguës
	Gros intestin	EHEC (<i>E. coli</i> entérohémorragique)	Diarrhées hémorragiques, SHU
		EIEC (<i>E. coli</i> entéroinvasif)	Diarrhées aqueuses, dysenterie
	Intestin grêle et gros intestin	EAggEC (<i>E. coli</i> entéroaggrégatif)	Diarrhées persistantes
ExPEC (<i>E. coli</i> pathogène extra-intestinal)		AIEC (<i>E. coli</i> à adhérence invasive)	Inflammation intestinale chronique
	Système urinaire	UPEC (<i>E. coli</i> uropathogène)	80% des infections urinaires, pyélonéphrites
	Système nerveux central	NMEC (<i>E. coli</i> induisant des méningites néonatales)	Méningites, choc septique

Figure N° 9 : Les 8 Pathovars de *E. coli* ciblent différents sites d'infection

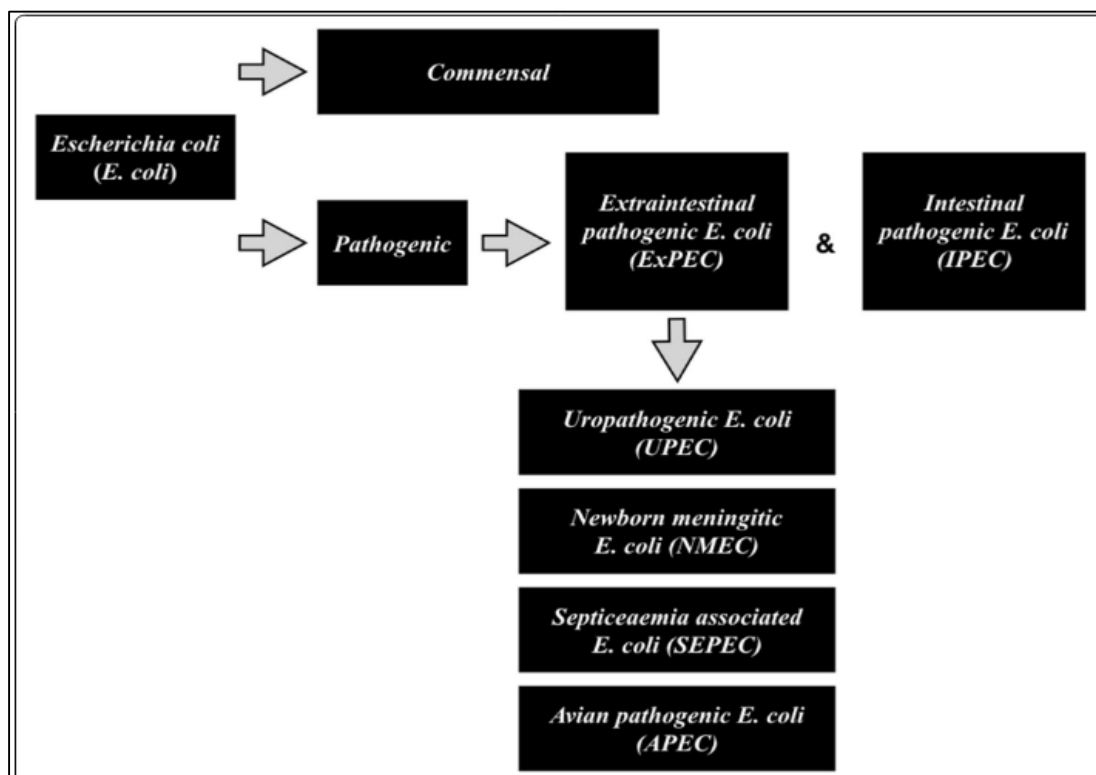


Figure N° 10 : Pathogenic diversity of *Escherichia coli* strains (Sarowska, et al., 2019)

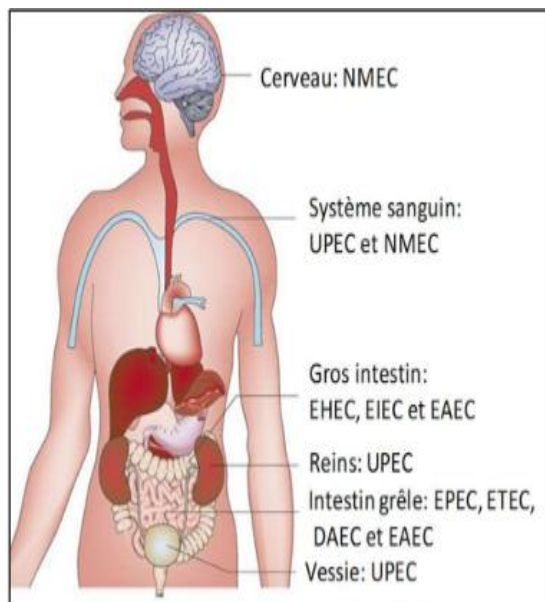


Figure N° 11 : Les sites d'infections par *E. coli* chez l'Être humain (Croxen , et al., 2012)

I.5.3 Les staphylocoques :

I.5.3.1 Historique :

Staphylococcus a été découvert par Pasteur en 1880 dans un pus. En 1883, Ogston a désigné ce microorganisme par le nom Staphylocoque pour décrire ces grains (*kokos*) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (*staphylos*).

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Le genre *Staphylococcus* a été scindé en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (Avril, et al., 2000).

I.5.3.2 Classification :

- **Domaine** : *Bacteria* ou *Eubacteria*.
- **Phylum XIII** : *Firmicutes*.
- **Classe** : *Bacilli*.
- **Ordre** : *Bacillales*.
- **Famille** : *Staphylococcaceae*.
- **Genre** : *Staphylococcus* (regroupant trente-huit espèces et sous-espèces).

(Gherardi, et al., 2018)

I.5.3.3 *Staphylococcus aureus* :

I.5.3.3.1 Généralités :

Le staphylocoque doré (*S. aureus*) est l'un des principaux pathogènes des infections hospitalières et communautaires et peut causer de nombreuses maladies infectieuses, comme

des infections cutanées légères et des infections des tissus mous, l'endocardite infectieuse, l'ostéomyélite, la bactériémie et la pneumonie mortelle (**Shore, et al., 2011**). Le staphylocoque doré a été découvert pour la première fois en 1880 à Aberdeen, en Écosse, par le chirurgien Alexander Ogston de patients atteints d'ulcères(**Nikolic, 2020**).

I.5.3.3.2 Caractères morphologiques :

Dans le pus, *S. aureus* se présente sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes mesurant 0,8 à 1µm. Sur les cultures en milieu solide, cette espèce se présente sous la forme « grappe de raisin ». Tandis qu'en milieu liquide, elle est souvent isolée en diplocoque, se multiplie parfaitement à 37°C et pH 7.4 (**Gardete, et al., 2014**). Elle est immobile, non sporulée, elle ne possède pas de capsule ni de flagelle visible au microscope optique sauf dans de très rares souches, d'autres sont entourées d'une pseudo-capsule. De plus, *S. aureus* ne forme pas de spore ni contient de flagelle, mais plutôt procède une capsule, qui est capable de produire un pigment jaunâtre (**Tayeb-Fligelman, et al., 2017**). La figure 12 ci-dessous illustre l'aspect caractéristique « en grappe de raisin »

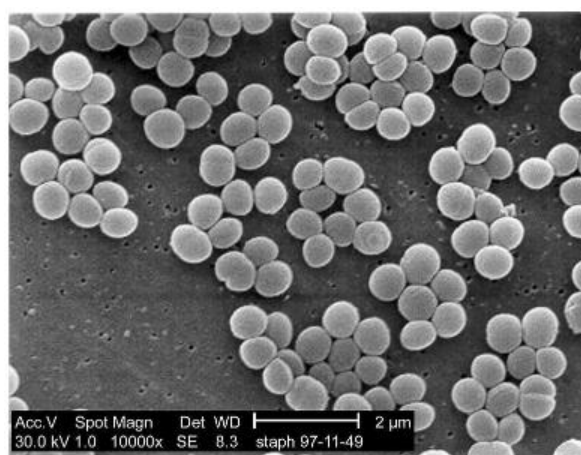


Figure N° 12 : Morphology of *S. aureus* (**CDC, 2022**)

Image captured under a scanning electron microscope (10000-x magnification)

I.5.3.3.3 Caractères cultureux et biochimiques :

Le staphylocoque doré appartient au genre *Staphylococcus*, Firmicutes. Il est positif pour la coloration de Gram, 0,8µm de diamètre, disposé dit en« grappe de raisins » sous un microscope, il est aérobie anaérobie facultatif; et pousse de façon optimale à 37 °C et à pH 7,4. (**Gardete, et al., 2014**). Les colonies sur une gélose au sang sont épaisses, brillantes et sphériques avec un diamètre de 1 à 2mm (**Gonzalez-Perez, et al., 2019**);

La plupart des staphylocoques dorés sont hémolytiques, formant un anneau hémolytique transparent autour des colonies sur les géloses au sang. De plus, *S. aureus* ne forme pas de

spores ni de flagelles, mais possède une capsule, il peut produire un pigment jaune doré et décompose le mannitol (**Tayeb-Fligelman, et al., 2017**). De plus, on a également constaté que les tests de coagulase, de fermentation lactose et de désoxyribonucléase étaient positifs chez *S. aureus* (**Sato, et al., 2019**).

I.5.3.3.4 Facteur de virulence :

Les déterminants bactériens, y compris génétiques, biochimiques ou structuraux, influent sur la pathogénicité de *S. aureus* et les déterminants de la virulence sont attribués si ces déterminants sont éliminés ou bloqués et si la virulence est atténuée. L'annexe 01 résume certains des mécanismes d'évasion immunitaire utilisés par *S. aureus*. (**Azad, 2020**)

L'expression temporelle des facteurs de virulence est importante et les déterminants de la virulence peuvent être largement divisés en ceux :

- Affectant l'adhésion tissulaire (phase exponentielle),
- Evasion immunitaire (exponentielle et post-exponentielle)
- Invasion et propagation tissulaires (principalement phase post-exponentielle).

S. aureus exprime un large spectre de déterminants de la virulence sécrétés et associés à la surface cellulaire. (**Boldock, 2016**) Certains déterminants de la virulence servent à des fins multiples, par exemple, la protéine A (spa) se lie à la partie Fc de l'immunoglobuline, empêchant l'opsonisation et la phagocytose. La libération de la protéine A de la paroi cellulaire peut réticuler les cellules B et agir comme un super antigène. ; (**Azad, 2020**) 'voir annexe 01'

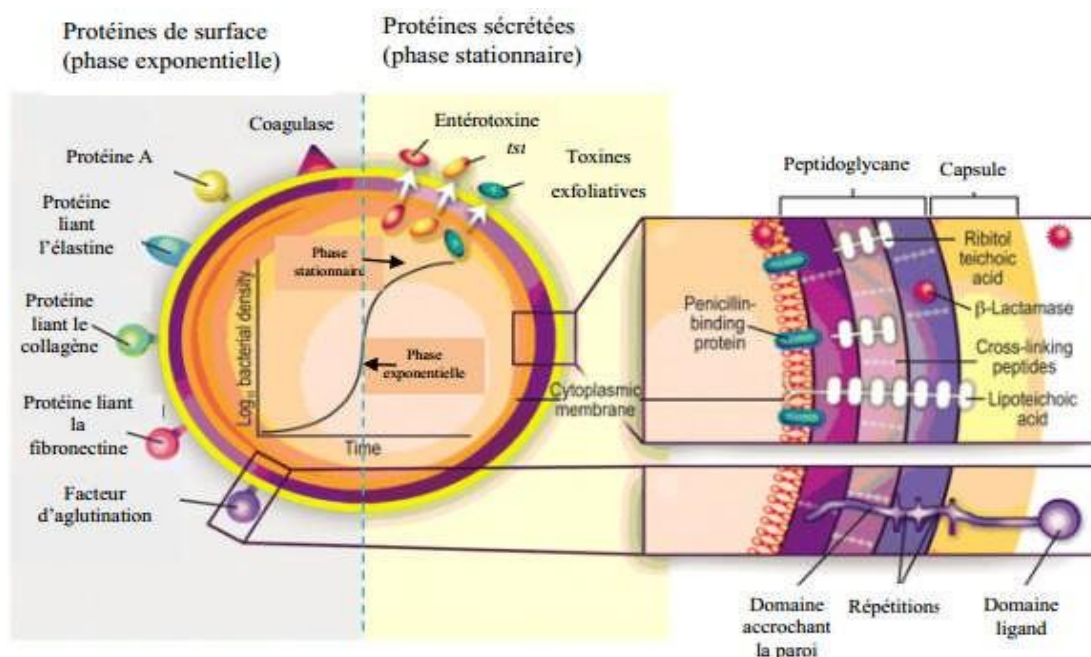


Figure N° 13 : Facteurs de virulence de *S. aureus*

I.5.3.3.5 Lésions et maladies causées par *Staphylococcus aureus* :

Les infections cliniques de *S. aureus* sont classées en catégories communautaires et nosocomiales selon l'origine de l'infection (**Colomb-Cotin, et al., 2016**).

Les infections contractées dans la collectivité sont définies comme des infections qui se manifestent et qui sont diagnostiquées dans les 48 heures suivant l'admission chez les patients, sans qu'il y ait eu auparavant de contact avec les soins de santé comme les boutons, les furoncles et les stipes (**Colomb-Cotin, et al., 2016**).

Depuis des décennies, *S. aureus* est principalement un pathogène nosocomial et est une des principales causes de mortalité et de morbidité dans les hôpitaux.

C'est la deuxième espèce la plus fréquemment isolée lors d'une infection nosocomiale en France après *Escherichia coli*, et la deuxième cause de maladies d'origine alimentaire (FBD) après *Salmonella Spp* (**Colomb-Cotin, et al., 2016**).

Les importantes infections cliniques à *S. aureus* couvrent un large éventail de maladies, allant des infections cutanées mineures (boutons, abcès) aux maladies potentiellement mortelles telles que la pneumonie, la méningite, l'ostéomyélite, l'endocardite, le syndrome de choc toxique (**Tong, et al., 2015**). Et son importance réside dans la résistance aux antibiotiques des souches isolées en dépit des sources de contamination.

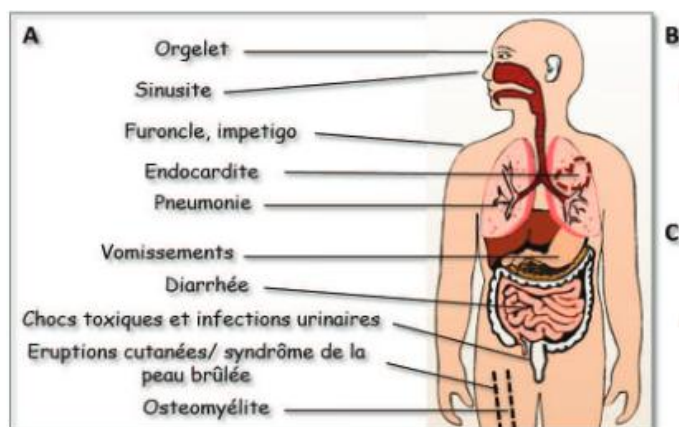


Figure N° 14 : Spectre d'infection de *staphylococcus aureus* (CDC, 2022)

I.5.3.3.5.1 Septicémies et endocardites :

L'endothélium valvulaire est normalement résistant à la colonisation par des bactéries circulantes. Cependant, à l'occasion d'une bactériémie à staphylocoques, ces derniers peuvent adhérer à l'endocarde lésé (par la turbulence du flux sanguin, électrodes, cathéters, injection répétée de particules solides) et s'y multiplier, avec pour conséquence le développement des lésions caractéristiques de l'EI : d'abcès viscéraux, d'embolies, de péricardite, de pétéchies sous-unguéales, d'hémorragies conjonctivales, de lésions purpuriques, de souffles cardiaques, d'abcès périvalvulaires, de troubles de la conduction et d'insuffisance cardiaque secondaire à un trouble valvulaire. Une endocardite peut se développer, en particulier chez les toxicomanes IV et les patients porteurs de prothèses valvulaires et récemment, on a décrit une augmentation des EI à staphylocoques à coagulase négatif sur valves natives. **(Bush, et al., 2021).**

I.5.3.3.5.2 Manifestations d'origine toxique :

L'intoxication alimentaire par la toxine de *Staphylococcus aureus* est d'action rapide, la plupart des gens tombent malades dans les 30 minutes à 6 heures après l'ingestion de l'aliment contenant la toxine. Une dose de toxine inférieure à 1,0 microgramme dans les aliments contaminés peut produire des symptômes d'intoxication staphylococcique **(Morvan, 2021).**

Les symptômes comprennent généralement des vomissements, des nausées, des crampes d'estomac, et rarement la diarrhée, qui durent au maximum la journée. Cette maladie n'est pas contagieuse, et les cas graves sont rares **(Morvan, 2021).**

I.5.3.3.5.3 Syndrome de choc toxique (TSS) :

Le SCT est une pathologie survenant à la suite du passage d'une toxine dans la circulation sanguine, la toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1), produite par la bactérie *Staphylococcus aureus*. Grâce à sa capacité à traverser les surfaces muqueuses, la TSST-1 peut facilement

rejoindre la circulation générale. Cette toxine est un super-antigène capable d'activer un nombre important de lymphocytes T, quelle que soit leur spécificité antigénique, ce qui provoque une forte fièvre, des éruptions cutanées ou un choc susceptible d'entraîner la mort car, rapidement, de nombreux organes, tels que le foie, les poumons et les reins, peuvent être atteints. Une prise en charge rapide est nécessaire **(Mach, et al., 2021)**.

I.5.3.3.6 Autres Staphylocoques :

Les staphylocoques à coagulase négative (CoNS) forment un grand groupe de cocci à Gram positif unis par l'absence mutuelle du facteur de virulence "la coagulase". De nombreuses espèces appartiennent à ce groupe, le plus récent, *Staphylococcus borealis*, décrit comme étant récent depuis 2020. **(Pain, et al., 2020)**.

Dans la pratique clinique quotidienne, les CoNS sont généralement considérés comme moins pathogènes que le staphylocoque doré (S.) et d'autres membres du complexe *S. aureus*, qui possèdent en revanche de la coagulase. De nombreuses infections CoNS sont associées à des corps étrangers (par exemple, des cathéters) qui facilitent la formation de biofilms, ce qui contribue à la pathogénicité CoNS. Au fait, les facteurs de virulence des CoNS varient considérablement, certaines espèces (p. ex., *S. lugdunensis*) pouvant avoir des effets néfastes importants sur les patients. Une explication probable de la raison pour laquelle les CoNS les infections connexes sont négligées si souvent est le fait qu'ils sont des membres commensaux fréquents du microbiote de la peau. En conséquence, ils sont souvent classés comme contaminants plutôt que l'agent causal de l'infection. La distinction entre l'infection et la contamination n'est pas toujours évidente, et la plupart des tentatives faites jusqu'à présent pour identifier un ou plusieurs marqueurs distinctifs ont été infructueuses **(Michels, et al., 2021)**.

I.5.3.3.6.1 Staphylococcus epidermidis :

Les staphylocoques épidermiques sont les espèces de Staphylocoques à coagulase négatifs les plus courantes qui vivent sur la peau humaine. Dans ses environnements naturels tels que la peau humaine ou les muqueuses, ils sont généralement inoffensifs. Souvent, ces espèces envahissent le corps humain via des dispositifs prothétiques, à partir de laquelle un petit nombre de microbes voyagent le long du dispositif prothétique à la circulation sanguine. Les bactéries, alors, peuvent produire des biofilms qui les aident à esquiver les défenses immunitaires de l'hôte et les antimicrobiens. **(Lee, et al., 2022)**.

On croit que *Staphylococcus epidermidis* est l'une des causes les plus fréquentes d'infection nosocomiale, avec des taux d'infection aussi élevés que ceux de *Staphylococcus aureus*. **(Lee, et al., 2022)**

I.5.3.3.6.2 *Staphylococcus haemolyticus* :

Staphylococcus haemolyticus fait partie de la microflore cutanée et est l'une des principales espèces de CoNS. Cette espèce représente de 10 à 20 % des infections cliniques par CoNS et est la deuxième espèce la plus fréquente et la plus importante parmi les isolats d'infections cliniques. Il y a plusieurs infections cliniques enregistrées avec *S. haemolyticus*, y compris bactériémie, méningite, infections oculaires, infections cutanées, péritonite, infections des voies urinaires, et le dysfonctionnement génital masculin. De plus, des souches de *S. haemolyticus* ont été isolées chez des chiens et des propriétaires de chiens, ce qui laisse entrevoir une possibilité de transmission zoonotique. Une caractéristique de *S. haemolyticus* est la formation de biofilms, qui sont cruciaux pour le développement des infections. De plus, *S. haemolyticus* produit plusieurs toxines et enzymes invasives qui aident à la pathogénèse bactérienne en modifiant les réponses immunitaires de l'hôte et en provoquant des dommages dans les cellules hôtes. *S. haemolyticus* est un pathogène émergent qui cause des infections nosocomiales.

Les facteurs qui causent la survie et la propagation de *S. haemolyticus* dans les hôpitaux ne sont pas bien définis. Le génome de *S. haemolyticus* causant des infections hospitalières est caractérisé par l'abondance de séquences d'insertion et la résistance plusieurs antibiotiques (Eltwisy, et al., 2022).

I.5.3.3.7 Contaminations des aliments par *Staphylococcus aureus* :

Après la contamination (animale ou humaine), les aliments sont transformés (p. ex., chauffage, refroidissement) ce qui peut inhiber ou améliorer la production d'entérotoxines staphylococciques (SE). Même si le chauffage est appliqué après la croissance de *S. aureus*, les entérotoxines resteront dans la nourriture, car les entérotoxines sont stables à la chaleur (Souches thermostables). La prise de SE sera alors la cause d'une intoxication alimentaire par staphylocoque (Hennekinne, 2018).

En résumé, la série d'événements suivante doit avoir lieu pour être admissible au "Federal Office of Public Health of the Swiss Confederation" :

(i) présence de l'agent pathogène dans les matières premières ou le ou les manipulateurs d'aliments, (ii) contamination de l'aliment, par exemple, par l'équipement de transformation ou par le préparateur d'aliments, (iii) conditions d'entreposage inappropriées ou contrôle inadéquat de la température qui permet la croissance bactérienne et la production d'entérotoxine, et (iv) ingestion d'aliments contaminés contenant une quantité suffisante de SE pour déclencher les symptômes de la maladie (Silva, et al., 2021)

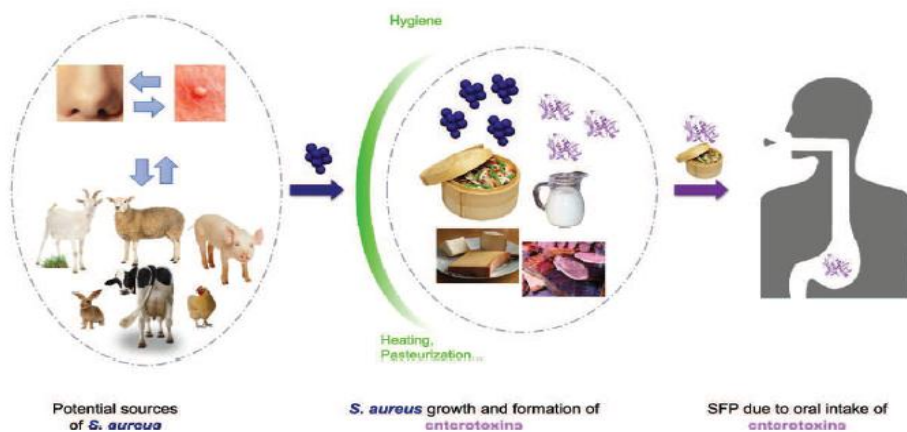


Figure N° 15 : Vue d'ensemble de l'intoxication alimentaire staphylococcique (Fetsh, 2018)

I.5.3.3.8 *Staphylococcus aureus* en médecine vétérinaire :

Les maladies de peau représentent la majorité des infections staphylococciques rapportées chez les animaux. Chez les chevaux, les infections à *S. aureus* telles que les abcès cutanés ou les cellulites sont souvent décrites (Devriese, et al., 1985). *S. aureus* peut également être associé à des infections oto-rhino-laryngologiques (otites, surinfections des voies respiratoires hautes chez le chien et le chat), infections des voies urinaires chez plusieurs espèces, métrites (vache, chien), cystites (toutes les espèces), abcès (pulmonaires, périrénaux), ostéomyélites, endocardites, pleurésies, péritonites ou encore des arthrites, plus particulièrement chez la volaille. *S. aureus* peut aussi causer des botryomycoses, des inflammations pyogranulomateuses de la mamelle chez les vaches, juments et truies (mammites) et du cordon spermatique chez les chevaux, après castration (Devriese, et al., 1985).

Les animaux sauvages sont également atteints par ces infections (ex. les rats laveurs) (Hamir, 2010), il s'agit d'une réponse rare aux infections à *S. aureus* (et autres bactéries). Chez plusieurs espèces domestiques, *S. aureus* est un des principaux agents responsables de mammites, une maladie qui a un impact économique important sur la production laitière, c'est pourquoi la mammite est probablement la pathologie la plus documentée chez les animaux. Chez les petits ruminants, *S. aureus* est un des principaux agents responsables de mammites. Il cause aussi des septicémies, qui peuvent être d'origine thromboembolique et dérivent d'une suppuration primaire d'un abcès dans le sang ou d'une contamination d'origine médicale (ex. cathéters contaminés) (Pyrah, et al., 1994).

Les infections à *S. aureus* peuvent également être secondaires à des infestations avec différents parasites (ex. *Psoroptes ovis*) (Bates, et al., 2003). Chez les agneaux, la pyohémie (septicémie à germes pyogènes) à tiques peut être causée par des souches de *S. aureus*, appartenant à la flore cutanée normale, injectées par la morsure de la tique. De telles infections

évoluent soit en toxémies fatales, soit en maladies chroniques avec la formation d'abcès disséminés. Chez les chèvres également, l'infection staphylococcique peut survenir à la suite d'une infection primaire au virus *parapox*, qui conduit à une gale chorioptique ou une dermatite pustulaire contagieuse (**Twomey, et al., 2012**).

Staphylococcus aureus subsp. Anaerobius est l'agent étiologique de la « maladie des abcès » ou « maladie de Morel » chez les petits ruminants, une lymphadénite qui affecte surtout les jeunes individus. Des résultats récents indiquent que cette maladie est due à un unique clone bactérien (ST1464) (**Péton, 2014**).

La « maladie des abcès » cause des pertes économiques importantes du fait que les animaux infectés ont une croissance moins rapide et que leurs carcasses sont déclassées dans les abattoirs (**Péton, 2014**).

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectif :

La présente étude vise à évaluer la qualité bactériologique des produits de pêches vendues au niveau du port d'Alger plus spécialement «la Sardine », et ce en évaluant leur degré de contamination par les coliformes thermotolérants (CTT) et aux *staphylococcus aureus* pour pouvoir nous renseigner sur la qualité de la sardine vendue et les éventuels risques encourus par le consommateur Algérien de cette denrée alimentaire.

Notre étude s'est articulée autour des étapes suivantes :

- ▽ **La 1^{ère} étape :** Collecte des échantillons du port d'Alger.
- ▽ **La 2^{ème} étape :** Analyse bactériologique des Coliformes thermotolérants
- ▽ **La 3^{ème} étape :** Analyse bactériologique des *Staphylococcus aureus*
- ▽ **La 4^{ème} étape :** Traitement des données et analyses.

Echantillonnage :

I.1 Espèce sélectionnée :

Les critères sur lesquels nous avons choisi de travailler sur la sardine comme denrée de recherche sont diverses, nous en citons:

1. La sardine est le poisson le plus consommé en Algérie.
2. La sardine est le poisson le plus pêché dans les ports Algériens, dont le port d'Alger.
3. Les sardines sont largement disponibles sur le marché, de plus qu'elles sont vendues à des prix très raisonnable.

I.2 Méthode de récupération des échantillons :

Nous avons prélevé aléatoirement 500g (échantillons représentatif) de sardine fraîche de 5 pêcheurs différents afin de varier les résultats, les échantillons ont été récupérés à partir du port d'Alger. Au total, nous avons pris 15 échantillons.

I.3 Site de prélèvement :

Tous nos échantillons ont été prélevés du port d'Alger (Photo 1).



Photo N° 1 : Port d'Alger (Internet, 2022)

I.4 Transport des échantillons :

Les échantillons ont été emmenés tôt à 5 heures du matin depuis le port d'Alger dans une glacière réglée à une température de 4°C dans un délai de 2 à 3 h vers le laboratoire d'HIDAOA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

MATERIELS ET METHODES

I.1 Lieu d'étude :

Les analyses microbiologiques des denrées alimentaires se sont déroulées au sein du laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire _Alger ; qui se trouve à la commune d'Oued Smar dans le quartier d'El-Harrach à Alger.

Durant les manipulations et les préparations toutes les conditions d'hygiène et d'asepsie, ont été mises en œuvre afin d'éviter les faux résultats suite à des éventuelles contaminations.



Photo N° : 2 Laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV (Photo personnelle, 2022)

I.2 Durée d'étude :

Notre étude expérimentale s'est déroulée tout au long du mois de Mai 2022 jusqu'au mois de Juin de la même année.

Tableau N° 6 : Plan d'échantillonnage

Nb. D'échantillons		Date de prélèvement	Lieu
Période 1	5	11 Mai 2022	Alger
Période 2	5	25 Mai 2022	
Période 3	5	8 Juin 2022	
TOTAL	15		

I.3 Méthode d'analyse bactériologique :

Nous avons appliqué les normes suivantes ;

- Recherche des coliformes thermotolérants :

ISO 21528-1 (Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae 2017) qui concerne le dénombrement des coliformes thermotolérants en milieu solide (VRBL).

- Recherche des staphylococcus à coagulase + :

ISO 6888_Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (staphylococcus aureus et autres espèces) —Partie 1 : Technique utilisant « Baird-Parker » dénombrement sur milieu solide.

I.4 Matériels utilisés durant toute l'étude :

Au cours de notre partie expérimentale, nous avons utilisé de nombreux matériels de laboratoire, qui sont répertoriés dans le tableau 2, comme suit :

Tableau N° 7 : Matériel et Milieux utilisés

Matériel	
▪ Matériel de saisie : paire de ciseaux, pince et lame de bistouri. ▪ Bec benzen, plaque chauffante, vortex, broyeur automatisé, autoclave, une balance de précision et des micropipettes. ▪ Erlenmeyer, flacons, tubes, eppendorfs, pipettes pasteur et des boites de pétri. ▪ Aluminium, coton, alcool et sacs stomacher.	
Milieux	
Pour rechercher des staphylocoques	Pour rechercher des coliformes thermotolérants
▪ TSE. ▪ Gélose nutritive. ▪ Baird-Parker. ▪ Plasma frais de lapin.	▪ TSE. ▪ Gélose nutritive. ▪ VRBL. ▪ Réactifs : Kovacs, TDA.

I.5 Préparation des échantillons :

I.5.1 Pesée :

Chaque échantillon est traité séparément de manière stérile près du bec bunsen ; découpé à l'aide d'un couteau et des ciseaux pour avoir une chaire stérile ; puis nous introduisons ces morceaux de chaires dans un sac stomacher stérile préalablement taré et identifié pour avoir à la fin un poids de 25 g de chaque échantillon, qui va servir à la préparation de la suspension mère.

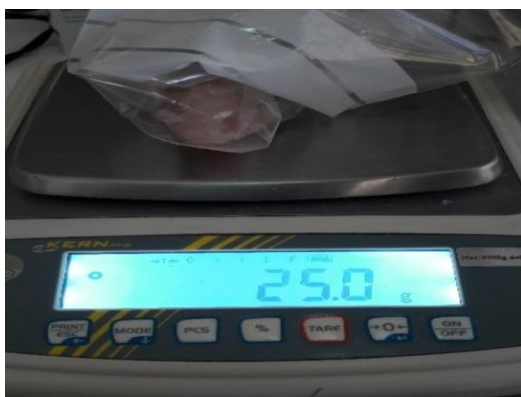


Photo N° 3 : Pesée des échantillons (Photo personnelle, 2022)

I.5.2 Broyage

Après la pesée, les 25g d'échantillons sont mélangés avec 225 ml de TSE (Tryptone Sel Eau) dans le sac stomacher, ensuite le tout (chaire de poisson + TSE) est broyé dans un broyeur disponible.

Le broyage est effectué pendant 3 minutes et nous permet d'obtenir par la suite une solution homogène dite « suspension mère » qui s'agit de la dilution 10^{-1} avec laquelle nous réaliserons nos dilutions décimales.

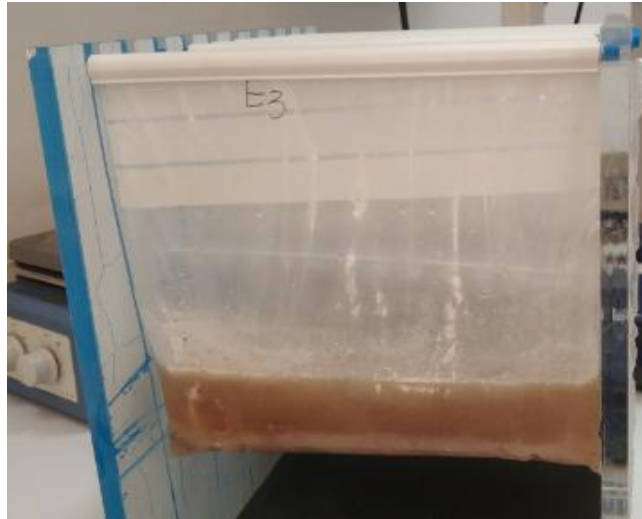


Photo N°4 : Sac stomacher après broyage (Photo personnelle, 2022)

I.5.3 Préparation des dilutions :

Les mêmes dilutions sont utilisées pour la recherche des deux bactéries.

D'abord nous avons préparé et identifié une série de tubes à essai stériles remplis de 9 ml de TSE puis à partir de la suspension mère, nous avons préparé 3 dilutions successives : (10^{-2}), (10^{-3}), et (10^{-4}).



Photo N° 5 : Les dilutions réalisées (Photo personnelle, 2022)

I.6 Préparation des milieux

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

Les milieux de culture sont préparés à partir de milieux déshydratés.

I.6.1 Préparation du TSE

Nous avons précédé à sa préparation comme indiqué dans le mode d'utilisation du fournisseur.

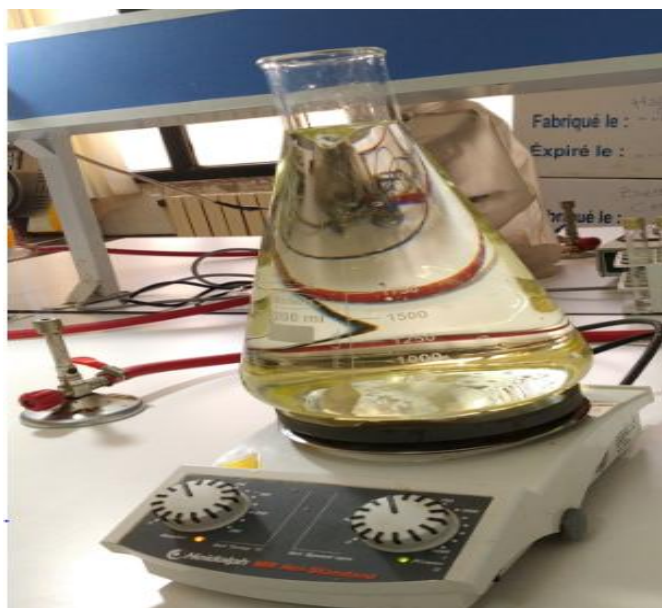


Photo N° 6 : Préparation du milieu TSE (Photo personnelle, 2022)

I.6.1.1 Objectif du TSE

Le Tryptone Sel Eau est un diluant couramment utilisé lors de la préparation d'échantillons, 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 contrôles environnementaux.

I.6.2 Préparation de la gélose nutritive :

La méthode de préparation de la gélose nutritive est complètement similaire à la méthode précédente avec quelques variables de poids. Le contenu est divisé dans des boîtes de Pétri.



Photo N°7 : Préparation de la gélose nutritive

I.6.2.1 Objectif de la gélose nutritive :

Une gélose nutritive est un milieu gélosé 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.

I.6.3 Milieux spécifiques à la culture des coliformes thermotolérants :

I.6.3.1 Préparation de milieu VRBL :

Cette méthode est similaire à la méthode de préparation du TSE, seulement le VRBL a besoin de beaucoup plus de temps pour cuire. Le contenu est divisé dans des flacons stériles.



Photo N °8 : Préparation du milieu VRBL (Photo personnelle, 2022)

I.6.3.2 Objectif de l'utilisation du 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 d'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.

I.6.4 Milieu spécifique à la culture des Staphylocoques à coagulase +

I.6.4.1 Préparation du milieu BAIRD-PARKER

Cette méthode est similaire aux méthodes précédentes, seulement le Baird Parker après sa préparation, il doit être enrichi au Tellurite de potassium et au jaune d'œuf stérile.



Photo N°9 : Etapes de préparation du milieu BAIRD-PARKER enrichit au tellurite de potassium et de jaune d'œuf (Photo personnelle, 2022)

I.6.4.2 Objectif du milieu BAIRD-PARKER

Un milieu sélectif pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les aliments et modérément sélectif servant à l'isolement et à l'énumération des *Staphylococcus aureus* issus d'échantillons alimentaires, environnementaux et cliniques.

I.7 Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes thermotolérants

I.7.1 Principe

Les colonies sont germées dans le milieu VRBL à une température de 44,1 °C, ce milieu contient simultanément le cristal violet et de sels biliars qui assure l'inhibition des bactéries Gram-positif.

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 biliars autour des colonies.

I.7.2 Mode opératoire

Après avoir préparé le milieu de culture et les dilutions, nous procédons comme suit :

- ✓ Préparer un champ stérile avec de l'eau de javel et allumer le bec bunsen au milieu.
- ✓ Prélever 1 ml de chaque dilution présente dans les tubes avec une micropipette de 1 ml, les mettre dans les boîtes de pétri (ensemencement en profondeur).
- ✓ Verser 10 à 15 ml du milieu VRBL dans chaque boîte, puis faire des mouvements circulaires en huit pour que la solution et le milieu de culture soient bien mélangés.

- ✓ Laisser les boîtes se solidifier, puis nous les mettre dans l'étuve préalablement réglée à une température de 44,1 °C.

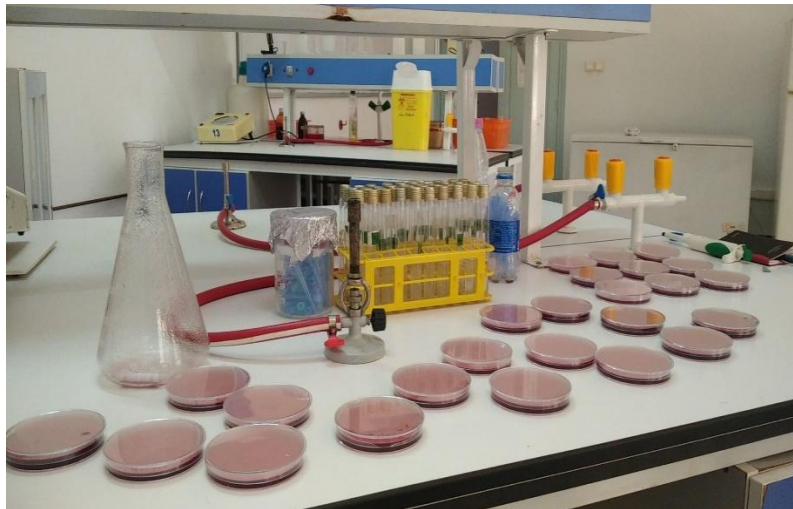


Photo N °10 : Boîtes après ensemencement en profondeur des CTT (Photo personnelle, 2022)

I.7.3 Lecture

Nous avons obtenu des colonies d'un diamètre égal ou supérieur à 0.5 mm de couleur violacées ou pourpre entourées par un halo de sels biliaries précipités. Trois types de colonies ont été isolés, certains pousse en profondeurs, d'autre au milieu et les autres au-dessus de la surface, afin de compter toutes les colonies. A noter que certaines boites de pétri étaient complètement vides et d'autres contenaient un grand nombre de colonies. (Non dénombrable).

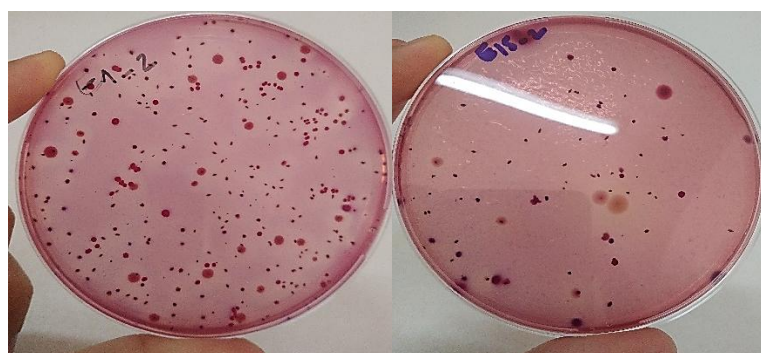


Photo N°11 : Boîtes d'E. Coli contenant des coliformes thermotolérants (Photo personnelle, 2022)

I.7.4 Analyses Microbiologiques :

I.7.4.1 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.

I.7.4.2 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 n1 le nombre de boites retenues à la première dilution (en général 2).
- Soit n2 le nombre de boites retenues à la deuxième dilution (en général 2).
- Soit d le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.

$$[N] = \frac{\Sigma c}{(n1 + 0.1 n2)dV}$$

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

I.7.4.3 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**) lequel 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.

I.8 Protocole de recherche et de dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive :

I.8.1 Principe :

Le dénombrement des bactéries dans un milieu solide (le milieu BAIRD PARKER enrichi au jaune d'œuf et en tellurite de potassium) qui est basé sur le comptage du nombre des colonies de Staphylocoques aureus préalablement extraites d'un aliment (Sardine)

Les colonies sont germées dans ce milieu à une température de 37 ° C.

- Le pyruvate de sodium : Stimule la croissance de *S. aureus* sans détruire la sélectivité du milieu.
- Le jaune d'œuf : n'est pas seulement un enrichissement, les staphylocoques qui contiennent de la lécithinase décomposent le jaune d'œuf (lipolyse) et créent des zones claires autour des colonies.
- L'additif tellurite : Près de 100% des Staphylocoques à coagulase positive sont capables de réduire la tellurite, toxique pour les souches clarifiant le jaune d'œuf, qui produit des colonies noires.

I.8.2 Mode opératoire :

Nous avons réalisé un ensemencement par étalement (ensemencement en surface) de 0,1 ml dans les boîtes de pétri identifiées pour chaque dilution.

I.8.3 Lecture :

Après 24 h d'incubation nous avons obtenus des colonies noires et nous avons identifié deux types de colonies : Colonies non caractéristiques (noire) et colonies caractéristiques (noires entourées d'une zone claire (Halo)). Pour le dénombrement ; nous avons pris en compte les deux dilutions successives (300 colonies max et 15 colonies min) .

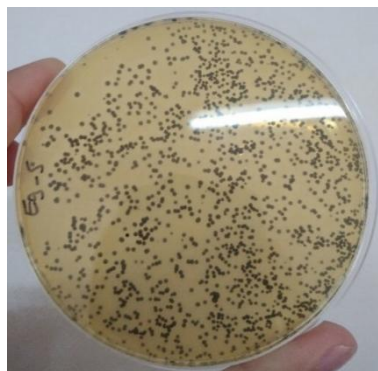


Photo N°12 : Aspect des staphylocoques sur BP (Photo personnelle, 2022)

I.8.4 Repiquage des colonies :

Après avoir fait la lecture, nous avons repiqué les colonies sur des boîtes de pétri préalablement remplies de gélose nutritive que nous divisons sur 10 parties : 10 colonies (5 colonies caractéristiques et 5 colonies non caractéristiques).

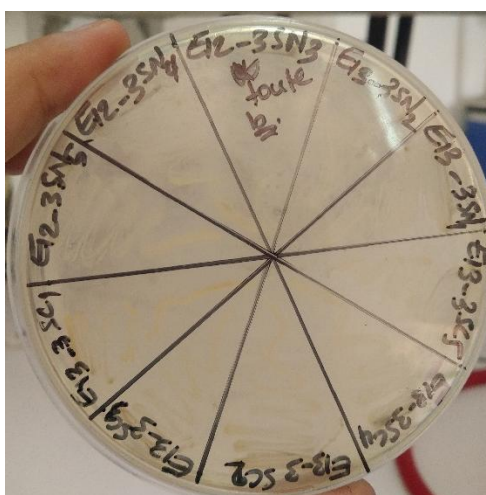


Photo N°13 : Aspect des staphylocoques après repiquage sur GN (Photo personnelle, 2022)

I.8.5 Les tests de confirmation :

I.8.5.1 La recherche de la Catalase :

I.8.5.1.1 Principe :

Une catalase est une oxydoréductase Héminique qui catalyse la dis mutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$.

Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bactéries, il s'agit de mettre en contact une colonie de la bactérie à étudier en présence d'eau oxygénée (à 10 volumes). Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase.

Du fait de la production de dioxygène par la catalase, elle est absente chez les bactéries anaérobies strictes. La plupart des bactéries à Gram négatif possèdent une catalase (catalase +). Pour les bactéries à Gram positif, la recherche de cette enzyme permet de différencier les bactéries des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus* (catalase +).

I.8.5.1.2 Méthode :

Sur surface plate stérile, déposer une goutte de H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée.

I.8.5.1.3 Lecture :

Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase.

Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

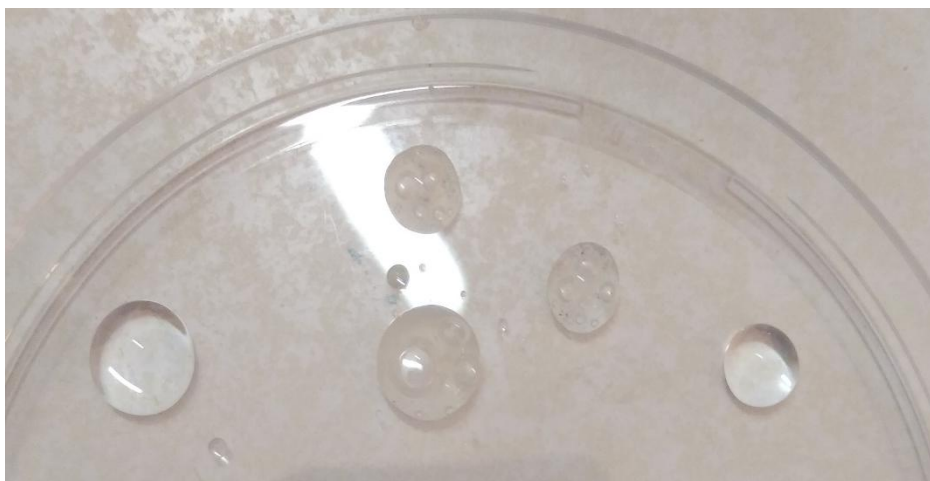


Photo N°14 : Image montrant une réaction catalase + et - (Photo personnelle, 2022)

I.8.5.1.4 Rôle du test catalase :

Ce test est important pour la première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne. Pour effectuer l'identification complète d'une bactérie il faut connaître le type respiratoire. Les bactéries Gram + possèdent pour la plupart un type respiratoire aéro-anaérobie facultatif, sauf le genre *Micrococcus* (type aérobie strict). Il faudra donc poursuivre l'identification de la souche par d'autres tests de confirmation.

I.8.5.2 Recherche de la Coagulase :

Il s'agit de la coagulase ou *Staphylocoagulase*, est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus*.

D'autres germes, moins courant en pathologie, peuvent avoir une réaction positive, notamment *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*.

I.8.5.2.1 Principe :

Le principe de ce test est simple. On met en contact du plasma oxalate, incapable de coaguler seul, avec un peu de bouillon Cœur-Cerveille où a été cultivé le germe étudié.

Si le fibrinogène, soluble dans le plasma, se transforme en fibrine solide, un caillot se formera au fond du tube.

I.8.5.2.2 Lecture des résultats

L'observation des résultats se fait par inclinaison des microtubes, si le plasma s'est coagulé il sera toujours fixé au fond de ces micro-tubes.



Photo N° 15 : Réaction positive de la Staphylocoagulase (photo personnelle, 2022)

I.8.6 Méthodes de dénombrement

Nous avons calculé le nombre de microorganismes présent dans l'échantillon après confirmation en appliquant l'équation suivante :

$$[N] = \frac{\Sigma c}{v \times 1.1 \times d}$$

Germes par gramme

Avec :

Σc : somme de colonies comptées de deux boîtes successives.

V : volume de l'inoculum posé dans chaque boîte et qui est égale à 0,1ml.

D: taux de dilution correspondant à la dilution retenue.

I.8.7 Méthode d'interprétation des résultats de la qualité de la denrée :

Selon les modalités fixées dans *l'arrêté interministériel du 8 Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires* lequel nous a permis de classer nos résultats en trois qualités :

- Qualité satisfaisante si les résultats d'analyse sont inférieurs à m.
- Qualité non-satisfaisante si les résultats d'analyse sont supérieurs à M.
- Qualité acceptable si les résultats ont dépassé m mais sans dépasser M tout en respectant la valeur c.

Avec :

- $m=10^2$: seuil en dessous duquel la qualité du produit EST considérée comme satisfaisante.
- $M=10^3$: seuil au-dessus duquel la qualité du produit EST considérée comme non-satisfaisante.
- N: nombre maximal d'unité constituant l'échantillon qui dans notre CAS égale à 5
- C: nombre maximal d'unité d'échantillonnage dans les résultats d'analyses dépassent le m mais inférieur à M sans que le lot soit rejeté ET qui EST égale à deux (2) pour le *S. aureus coagulase positive*.
- $M=10m$.
- Si la limite EST supérieure ou égale à 10^5 le lot est considéré toxique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie d'étude, nous développerons dans un premier temps les résultats concernant le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants puis le niveau de contamination aux Staphylocoques à coagulase positif au niveau du port d'Alger.

Taux contamination de la sardine (UFC /G)

I.1 Taux de contamination aux Coliformes thermotolérants dans le port d'Alger :

Les analyses statistiques de la contamination globale aux coliformes thermotolérants de notre étude sont mentionnées dans le **tableau 8** :

Tableau N° 8 : Analyse statistique de la contamination des coliformes thermotolérants

Port	Nb d'Ech total	Nb d'Ech contaminés	Fréquence	Moyenne de contamination UFC/G
Alger	15	5	67%	$3,68 \cdot 10^2$

Les résultats du taux de contamination aux coliformes thermotolérants sont illustrés dans la **figure 17**.

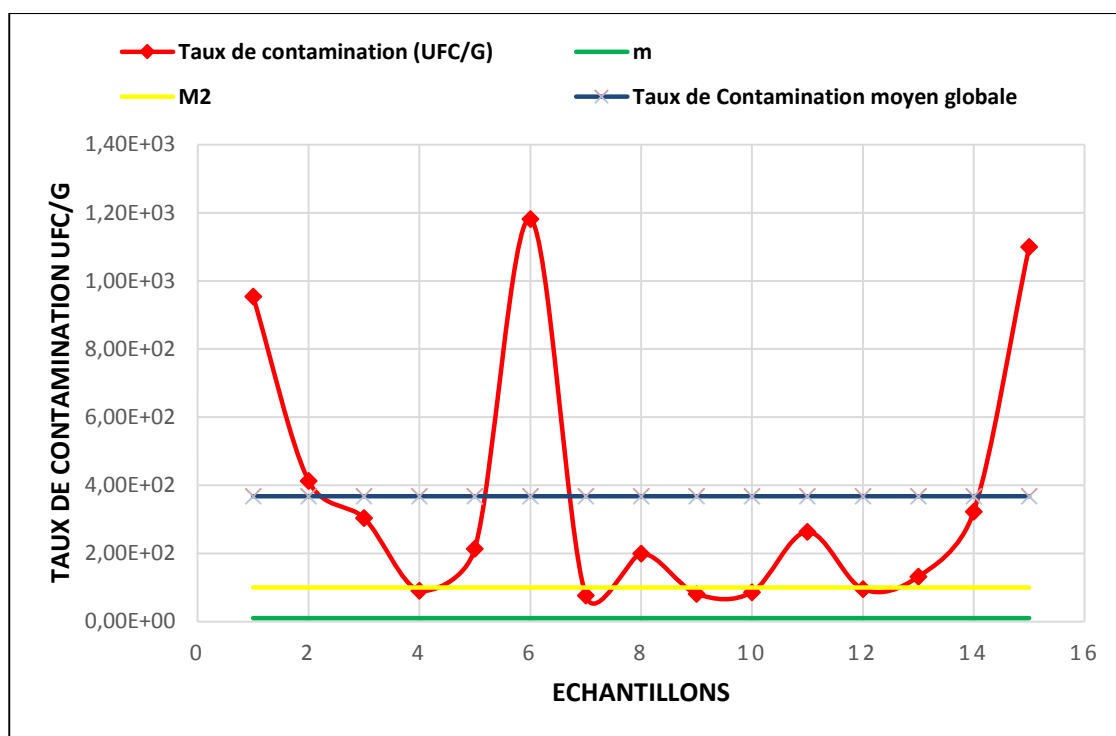


Figure 16 : Taux de contamination aux CTT UFC/G

Dans notre étude, nous avons trouvé une moyenne de contamination aux coliformes thermotolérants égale à $3,68 \cdot 10^2$ UFC/G sur 15 échantillons. **(Figure 17)**

Dans le tableau 8, nous avons trouvé que le port d'Alger est contaminé à 67% avec un total de 11 échantillons à des taux très élevés jusqu'à $1,2 \cdot 10^3$ UFC/G (échantillon 6), contre seulement 33% d'échantillons non contaminés.

I.2 Taux de contamination aux Staphylocoques Spp dans le port d'Alger

Les résultats de la prévalence des Staphylococcus Spp du poisson prélevé au niveau du port d'Alger » ; sont rapportés dans le **tableau 9** et illustrés dans la **figure 18**

Tableau N° 9 : Le niveau de contamination à staphylococcus Spp au port d'Alger

	Nombre d'échantillons	Souches isolées	Staphylocoques à catalase + (Spp)	Staph Spp %
Port d'Alger	15	143	128	90%

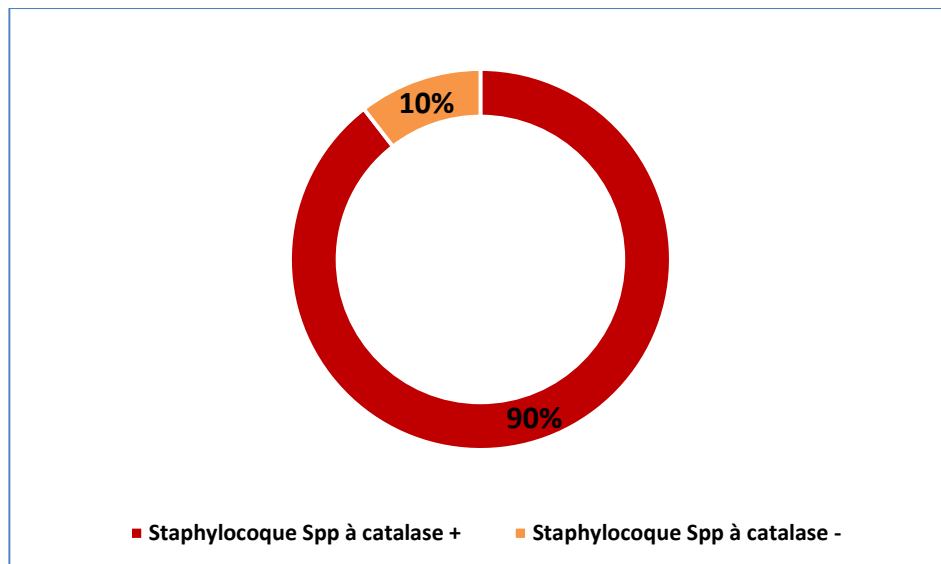


Figure N° 17 :Taux de contamination à staphylocoque Spp au port d'Alger

Sur les 143 souches isolées ; 128 souches ont été identifiées comme *Staphylococcus Spp* par la mise en évidence de la catalase (utilisation de l'eau oxygénée) soit une réaction positive.

Le résultat du niveau de la contamination globale à *staphylococcus Spp* est révélé de 90%.

I.3 Taux de contamination aux *Staphylococcus aureus* de la sardine prélevée au niveau du port d'Alger

Les résultats de la prévalence des *Staphylococcus aureus* du poisson prélevé au niveau du port d'Alger » ; sont rapportés dans **le tableau 10** et illustré dans la **figure 19**

Et les taux e contamination sont rapportés dans **la figure 18**.

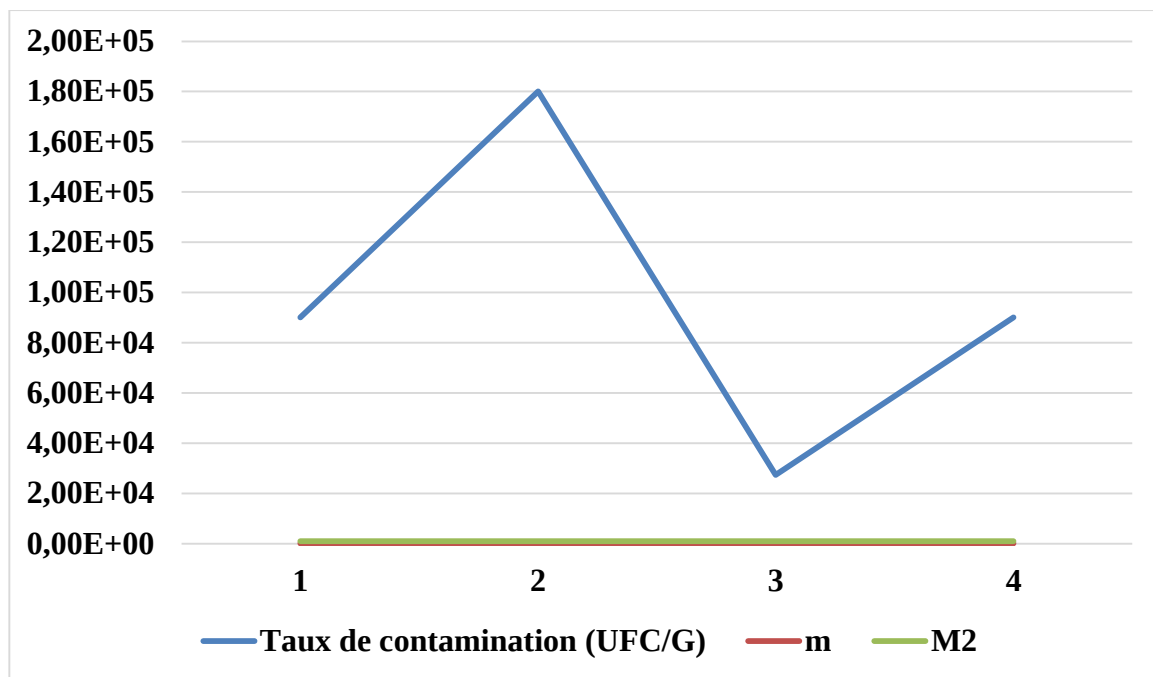


Figure 18 : *Taux de contamination aux staphylocoques à coagulase positif de la sardine prélevée du port d'Alger.*

Tableau N° 10 : *Taux de contamination à staphylococcus à coagulase positif 'aureus' au port d'Alger*

	Nombre d'échantillons	Souches isolées	Staphylocoques à catalase + (Spp)	<i>S.aureus</i> (à coagulase +)	<i>S.Spp</i> %	<i>S.aureus</i> (à coagulase +) %
Port d'Alger	15	143	128	7	90%	5%

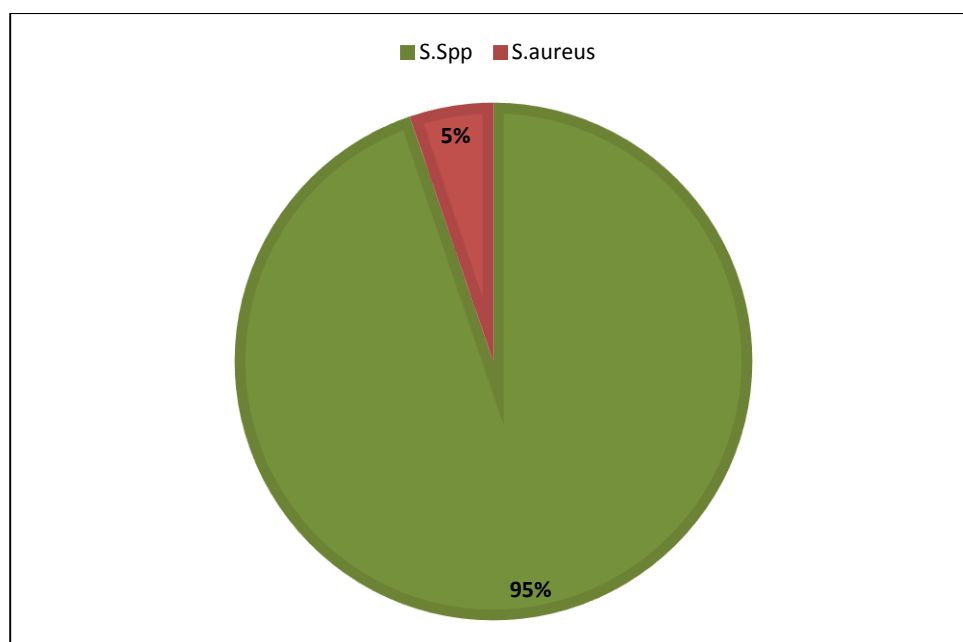


Figure N° 19 : Prévalence de *staphylococcus* à coagulase positif 'aureus' au port d'Alger

Sur les 143 souches isolées ; 7 souches ont été identifiées comme *Staphylococcus aureus* à coagulase positive par la mise en évidence de la coagulase libre (utilisation du plasma de lapin frais) soit, un coagulum qui occupe plus que la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

Le résultat du niveau de la contamination globale à *staphylococcus aureus* et *staphylococcus Spp* au niveau du port d'Alger est révélé de 5% et de 95% successivement.

Evaluation de la qualité microbiologique

I.4 Evaluation de la qualité microbiologique aux coliformes thermotolérants

Les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique des poissons dans le port d'Alger sont rapportés dans le **tableau 11** et illustrés dans la **figure 20**.

Tableau N° 11 : Qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants au port d'Alger

Port	Satisfaisante	Acceptable	Non-satisfaisante	Total général
Alger	0	5 (33,33%)	10 (66,66%)	15 (100%)

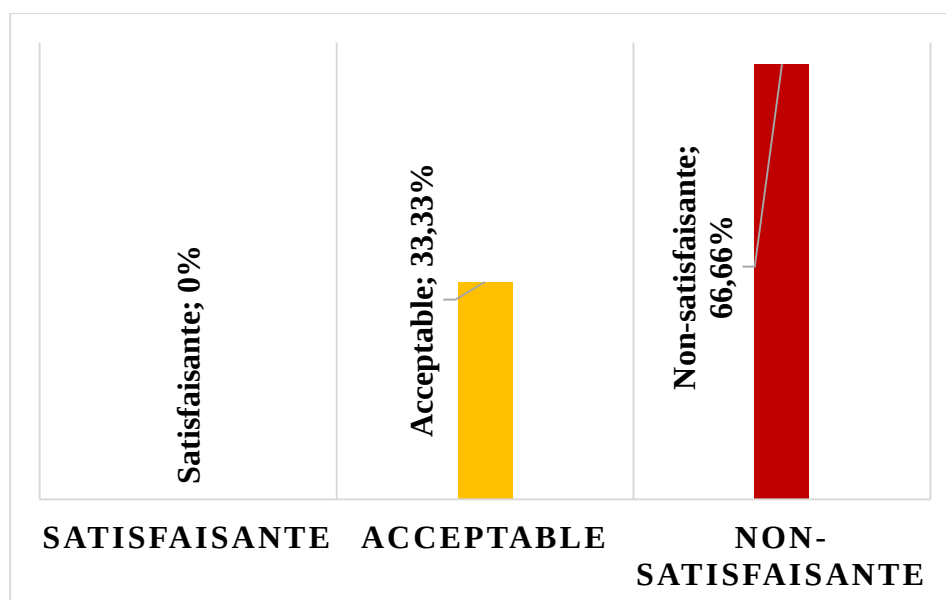


Figure N° 20 : Qualité microbiologique aux CTT au port d'Alger

Les résultats d'analyses bactériologiques aux coliformes thermotolérants des poissons prélevés au niveau de la pêche de d'Alger ont révélé une très mauvaise qualité bactériologique avec 67% de cas d'insatisfaisant, avec 33% seulement d'échantillons de qualité acceptable et 0% d'échantillons de qualité satisfaisante.

I.5 Evaluation de la qualité microbiologique à *Staphylococcus aureus*

En se basant sur la réglementation algérienne notamment *l'arrêté interministériel du 2 Moharam 1438 correspond au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires et l'interprétation des résultats d'analyses microbiologique*,

Nous avons obtenu des résultats rapportés dans l'annexe 2 qui nous a permis d'évaluer la qualité bactériologique du poisson frais à *S. aureus* coagulase positive.

Cette évaluation est en fonction de trois catégories différentes à savoir : satisfaisante « S », acceptable « A » et non satisfaisante « NS ».

- Les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique du poisson frais du « Port d'Alger », sont rapportés dans le tableau 12 et illustrés dans la Figure 21.

Tableau N° 12 : La qualité bactériologique a *S. aureus* coagulase positive au port d'Alger

		Qualité bactériologique à <i>S.aureus</i>			
		Satisfaisant	Acceptable	Non satisfaisante	Toxique
Port d'Alger	Nb. D'Ech (%)	11 (73%)	0	3 (20%)	1 (7%)
	Moyenne (ufc/g)	/	0	6,97*10 ⁴ Ufc/g	1,82*10 ⁵ Ufc/g

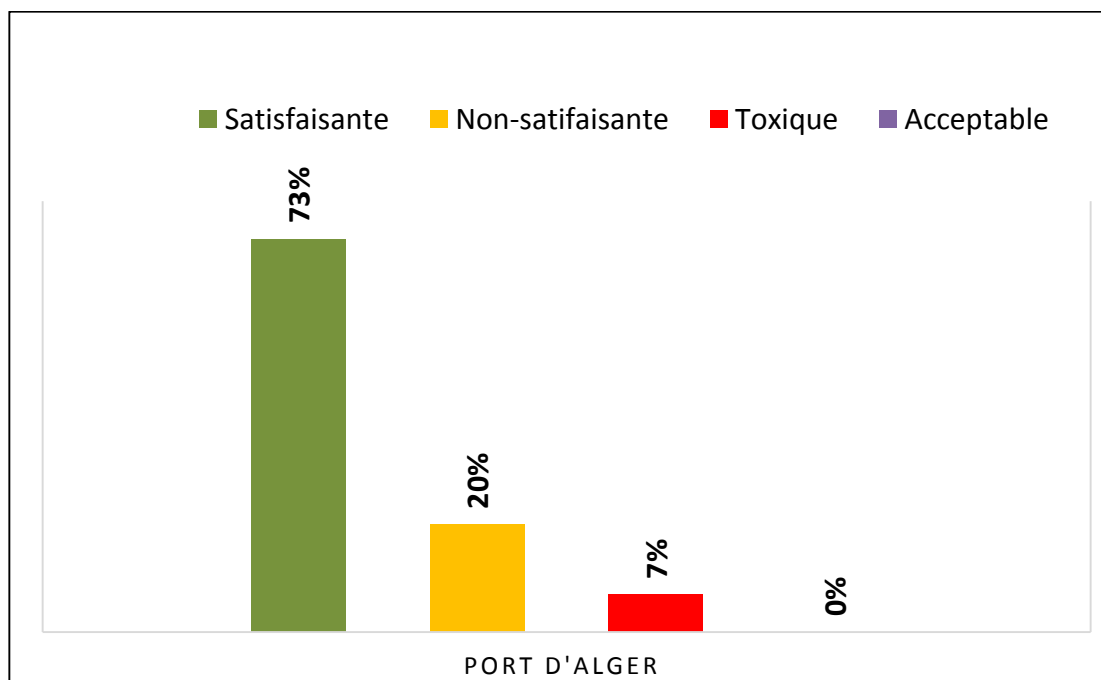


Figure N° 21 : Qualité bactériologique à *Staphylococcus aureus* du poisson frais au niveau du port d'Alger

De manière globale, nous avons trouvé 15 échantillons de poisson frais qui ont une bonne qualité bactériologique à *staphylococcus aureus* à *coagulase positif* faisant un taux de 73%, dont 11 échantillon n'ont pas dépassé la valeur m (100 ufc/g) et 3 échantillons présentent une qualité bactériologique non satisfaisante avec un taux de 20% et une moyenne de dénombrement de l'ordre de 6,97*10⁴ UFC/g. Et 1 échantillon présentait une qualité toxique du fait qu'il dépassait gravement le M (1000 ufc/g) avec un taux de 7%.

I.6 Qualité bactériologique globale aux coliformes thermotolérants et *staphylococcus aureus* du poisson fais prélever de la pêche de la pêcherie d'Alger :

Les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique aux SCP et CTT globale des poissons dans le port d'Alger sont rapportés dans **le tableau 13** et illustrés dans **la figure 22**.

Tableau N° 13 : Qualité bactériologique globale aux SCP et CTT du poisson frais collectés de la pêcheurie d'Alger

Qualité bactériologique	Bonne qualité	Qualité moyenne	Mauvaise qualité
Staphylococcus aureus	73%	0%	34%
Coliformes thermotolérants	0%	33%5	67%

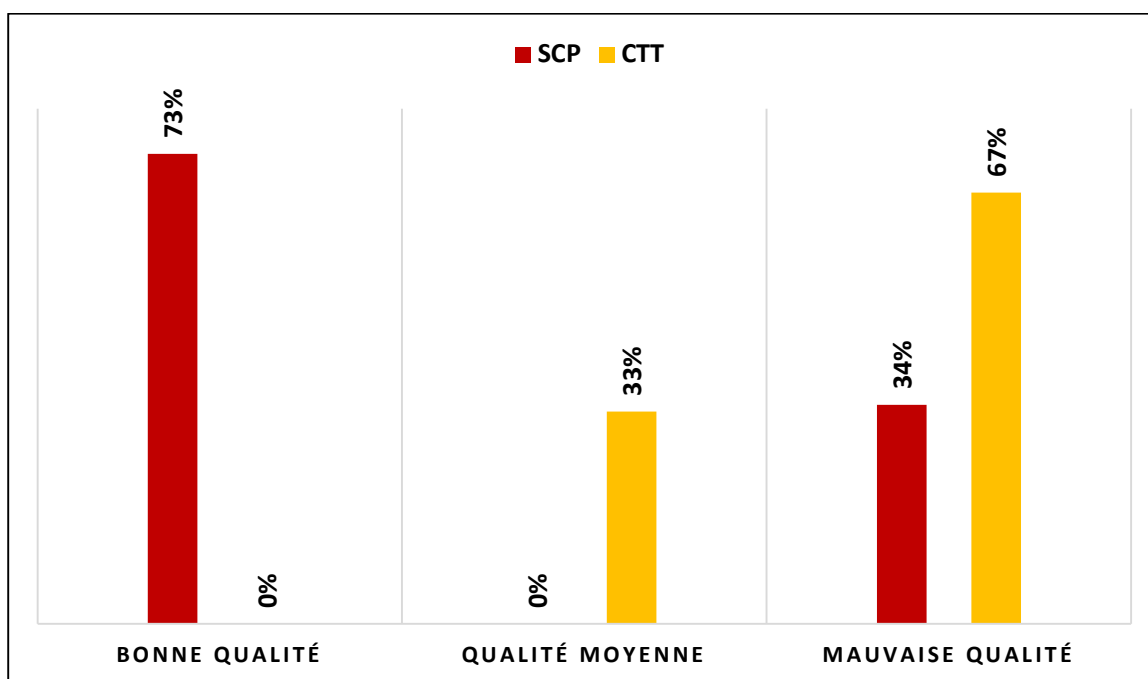


Figure N° 22 : Qualité bactériologique globale aux SCP et CTT du poisson frais collecté de la pêcheurie d'Alger .

Les résultats de l'analyse microbiologique (Tableau 2) ont montré une abondance en coliformes thermotolérants avec une moyenne de $3,68 \times 10^2$ ufc/g, plusieurs auteurs ont rapporté des résultats similaires aux nôtres avec 2×10^2 ufc/g. (Ould Abid, et al., 2015) et $7,1 \times 10^2$ ufc/g (N'Guessam, et al., 2018)

Dans notre étude nous avons enregistré un taux élevé de 67% d'échantillons qui n'étaient pas conformes aux critères légaux pour les coliformes thermotolérants dénombrées, alors qu'ils y étaient pour les SCP dénombrés à seulement 34% d'échantillons de mauvaise qualité.

Diversité bactérienne des souches des coliformes thermotolérants

Les résultats de la diversité bactérienne sont illustrés sur la **figure 23**.

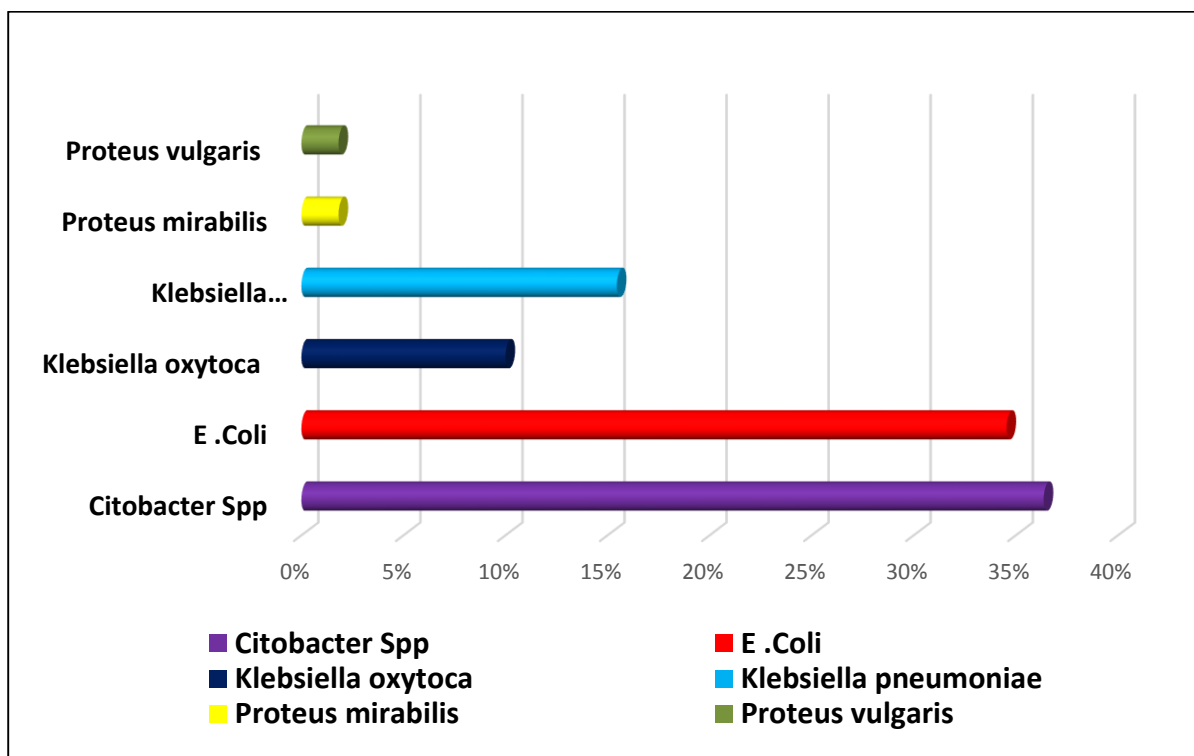


Figure N° 23 : Diversité bactérienne des Entérobactéries

Les résultats de l'étude de la diversité bactériologique des coliformes thermotolérants des poissons prélevés au niveau de la pêcherie d'Alger ont révélé la présence de plusieurs bactéries, une prédominance de *Citobacter Spp* à 36% et d'*E.Coli* à 35%, puis *Klebsiella pneumonia* à 15%, *Klebsiella oxytoca* à 10%, enfin *proteus mirabilis* et *proteus vulgaris* à taux égaux de 2%.

L'étude microscopique et la caractérisation biochimique des souches isolées à partir de ces échantillons analysés, montrent leur appartenance à la famille *Enterobacteriaceae*.

La présence des germes de contamination fécale tels qu'*Escherichia coli* est un indicateur de de risque pour la santé du consommateur mais reste à confirmer la pathogénicité de ces dernières, et ce en poussant le diagnostic par des méthodes moléculaires, en perspective.

DISCUSSION

La présente étude permet d'apprécier la qualité microbiologique aux coliformes thermotolérants et aux staphylocoques à coagulase positif des poissons frais vendus au niveau de la pêcherie d'Alger, mais aussi d'évaluer le niveau d'hygiène des poissons pendant la vente.

A l'issue de notre partie expérimentale, nous avons trouvé que ce port ; l'un des principales destinations d'achat de poisson dans l'Algérois ; est une source de contamination avec un pourcentage de 67% de produits contaminés (10 échantillons/15) par les coliformes thermotolérants par rapport aux contaminations par les *staphylococcus aureus* avec 34% seulement (4échantillons/15). Plusieurs hypothèses peuvent être avancées afin d'expliquer ces résultats en ce qui concerne le taux enregistré en Coliformes TT et les SPC.

Nous pouvons penser que les coliformes thermotolérants contaminants sont d'origine intestinale d'où leurs présences dans les produits de la pêche et sont considérées comme un indice d'une contamination d'origine fécale. **(WHO, 2019)**

La forte contamination par des Coliformes thermotolérants observée au niveau de nos poissons analysés pourrait s'expliquer par le manque des bonnes pratiques 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.

En plus de tout cela, la pollution de la ville d'Alger est l'influence directe de la ville elle-même et sa banlieue, où convergent les rejets urbains d'une ville de près de 3000 habitats et le siège d'activité industrielle, commercial, de pêche et de plaisance, qui se manifeste par :

- Présence d'une décharge directe des bateaux.
- Impotence et densité des activités industrielles, trafic terrestre et le trafic maritime.

Ces bactéries 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 **(Hammad, et al., 2022)** 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.

En parallèle, le taux de contamination enregistré pour les staphylocoques indique une contamination après la récolte due à une mauvaise hygiène corporelle car le *Staphylococcus Spp* ne se trouve pas dans la microflore normale du poisson ; étant donné que l'habitat normal de cet organisme est la peau et les muqueuses de l'animal et de l'homme du sang chaud.

La mauvaise qualité bactériologique à *S. aureus* coagulase positive de nos 4 échantillons (20% d'échantillons d'une qualité non satisfaisante et 7% d'échantillons toxiques) montre bien l'existence d'un problème d'hygiène quelque part dans la chaîne de production du stade de capture des poissons jusqu'à avoir cette denrée à table.

Le manque d'hygiène corporelle et vestimentaire du personnel pendant la manipulation de cette denrée est fortement incriminé soit par les mauvais comportements surtout que cette bactérie est présente dans la sphère oro-rhino-laryngologique de l'être humain qui se traduit par une contamination manu portée, suite au non-respect des bonnes pratiques d'Hygiène et/ou un non suivi des malades à bord ; qui normalement doivent être dispensés du travail ou bien exiger la mise d'une protection pour éviter de contaminer la denrée.

De plus, la contamination par *S. aureus* peut être due à une contamination croisée liée aux méthodes défectueuses lors de procédures de préparation, de stockage et de transport par le fait d'utiliser un seul matériel qui n'est pas nettoyé. **(Institut Pasteur Paris, 2021)**

La contamination est éventuellement inévitable si la chaîne de froid est interrompue ou bien le milieu de stockage est inapproprié par exemple le non nettoyage du matériel ou par le fait de ranger des denrées qui coulent sur les autres. Le fait de ne pas respecter la chaîne de froid, rend la denrée alimentaire plus favorable à tout développement microbien entre autre les staphylocoques aureus qui produisent des entérotoxines thermostables et seront à l'origine d'une toxi-infection alimentaire. **(ANSES, 2022)**

Ces germes telluriques de l'eau , dans des conditions de pH relativement élevé, peuvent proliférer dans l'eau de mer ce qui peut expliquer leur présence. **(Goodwin, et al., 2012).**

En effet, selon **(El Younoussi , et al., 2015)** , la flore des produits marins est très souvent dominée par des bactéries psychotropes Gram négatives, ces bactéries sont responsables des odeurs et des saveurs désagréables liées à l'altération tels que les germes *Enterobacter*.

Cet état de fait peut s'expliquer par les conditions de l'environnement de travail mais surtout le non-respect des règles d'hygiène par les acteurs évoluant dans le secteur ainsi que le rôle non-négligeable de la pollution environnementale. Ceci nous pousse à développer dans des études ultérieures d'autres paramètres et surtout de faire de telle sorte que l'échantillon analyser soit représentatif du port ou de la baie d'Alger. Mais, et malgré qu'il s'agit ici d'une étude préliminaire, mais formuler des recommandations reste très important pour essayer de sensibiliser le personnel à bord mais aussi nos pêcheurs Algériens à la nécessité de respecter les Bonnes Pratiques d'Hygiène.

Conclusion

La wilaya d'Alger dispose d'un port de pêche stratégique (La pêcherie d'Alger) qui se charge de l'accueil et de la distribution des poissons issus de la pêche pour la population locale.

Au cours de notre travail expérimental dont le but est d'apprécier le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants et aux *staphylococcus aureus* de la sardine vendue dans le port d'Alger et ainsi évaluer la salubrité vis-à-vis ces agents pathogènes étudiés. Pour cela, nous avons prélevé 15 échantillons de sardine.

D'après nos résultats obtenus, nous pouvons avancer des pourcentages de contamination aux coliformes thermotolérants et des SCP de : 67% et 34%, respectivement. En ce qui concerne la qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants, cette dernière est médiocre avec 11/15 échantillons contaminés. Quant à la qualité bactériologique aux *Staphylococcus aureus*, 04 échantillons ont été insatisfaisants.

Au vu de l'évaluation de la qualité de ces poissons, nous pouvons 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 d'Alger. 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 ; ce qui nous motive pour élargir l'étude à d'autres zones et surtout augmenter le nombre d'échantillons analysés.

Nous tenons à souligner à la fin, l'importance de la sensibilisation des maillons et acteurs de cette chaîne de production, dans le contexte national, afin de pouvoir minimiser toutes contaminations et surtout arriver à satisfaire une clientèle exigeante en matière de qualité.

Egalement, nous nous trouvons obligés de mettre l'accent sur la pollution éventuelle de la zone, qui nécessite la collaboration de tous les secteurs confondus afin de pouvoir l'assainir et ainsi préserver la biodiversité marine de l'Algérois.

Annexe 1 : Les facteurs de virulence de Staphylocoque (Azad, 2020)

<u>Virulence factor</u>	<u>Examples</u>	<u>Function</u>
<u>Immune-evasive surface factors</u>		
Capsules and shields	Polysaccharide; Efb	Polysaccharide capsule hides cell surface to evade opsonisation and recognition by phagocytes. Efb binds C3b complement and fibrinogen to shield against phagocytes. (76)
Teichoic acid	Wall; lipid	WTA binds peptidoglycan and contribute to antibiotic resistance; LTA binds cell membrane and regulates autolytic wall enzymes (85).
<u>Cell-wall anchored proteins</u>		
Sdr family	SdrC/D/E, Bbp	MSCRAMM; SdrC promotes biofilm formation (86); SdrD binds squamous cells and desmosomal cadherins (87); SdrE binds complement factor H to evade complement (88); Bbp binds bone sialoprotein (89).
Clumping factor	ClfA,B	MSCRAMM (90); Clumping factor A binds fibrinogen and complement regulator factor 1 (91, 92). Clumping factor B binds fibronectin and cytokeratin 10 (93).
Protein A	SpA	Binds Fc region of immunoglobulins and Fab region of B-cell receptors which inhibits opsonophagocytosis and results in B-cell death (64).
FnBP	FnBPA,B	MSCRAMM (90); FnBPs binds fibronectin and promotes biofilm formation (94).

Isd	IsdA,B,H	NEAT motif; Binds heme and/or hemoproteins to remove heme and then transport heme into cell for iron storage (69).
<u>Extracellular toxins</u>		
Hemolysin	$\alpha, \beta, \gamma, \delta$	Cause blood cell lysis, allows for nutrient acquisition(95).
Leukocidin	PVL	Destroys leukocytes and causes tissue necrosis (96).
Superantigens	SEA, S EB, TSST-1	Pyrogenic toxin superantigens that cause non-specific T-cell proliferation, by binding MHC II; can cause emesis or systemic shock (97).
Exfoliative	ETA, ETB	Serine proteases that hydrolyze desmosomal proteins; causes <i>Staphylococcal</i> scalded skin syndrome (98).
Lipoproteins	SitC, PrsA	Bind TLR2 and signal through MyD88; nutrient acquisition; some are siderophore binding molecules for ABC transporters (99).
Phenol-soluble modulins	PSM $\alpha/\beta/\gamma$	Erythrocyte and leukocyte lysis; biofilm development; simulate inflammation (100).
Bacteriocin	Staphylococcin 412/462/C5	Bactericidal proteins with activity against gram-negative and gram-positive bacteria (101).

BacR1**Enzymes**

Staphylokinase	Sak		Binds plasminogen to disassemble the fibrin net and invade deep host tissue. Interacts with host HNPs to prevent defensin-mediated bacteriolysis (102).
Hyaluronidase	HysA		Cleave β -1,4 glycosidic bond of host hyaluronic acid, allowing <i>S. aureus</i> disseminate through host tissues (103).
Lipase	Glycerol hydrolase	ester	Inactivate bactericidal lipids, interfere with host granulocyte function, involved in biofilm formation (104).
Phospholipases	PIPLC		Catalyzes the cleavage of glycan-phosphatidylinositol anchored proteins which alters host-cell signaling and causes cell damage (105).
Proteases	SspA, ScpA		SspA cleaves surface proteins like FnBPs (106, 107). ScpA degrades fibrinogen, fibronectin, and kininogen; it also has elastinolytic activity and inactivates host protease inhibitors (108).

Abbreviations: extracellular fibrinogen binding protein (Efb); microbial surface components recognizing adhesive matrix molecule (MSCRAMM); serine-aspartate repeat protein (Sdr); bone sialoprotein-binding protein (Bbp); clumping factor (Clf); fibronectin-binding protein (FnBP); iron-regulated surface determinants (Isd); Pantan-Valentine leucocidin (PVL); *Staphylococcal* enterotoxin A/B (SEA/B); toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1); exfoliative toxin A/B (ETA/B); toll-like receptor 2 (TLR2); SitC is a part of the iron transporter SitABC; peptidyl-prolyl *cis*-/ *trans*-isomerase (PrsA); human neutrophil peptide (Hnp); phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PIPLC); *Staphylococcal* serine protease A (SspA); staphopain A

(ScpA).

Annexe 2 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39 ,2017

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	

Références

Académie française. 1932-2022. *Dictionnaire de l'académie française*. Paris : La hachette, 1932-2022.

Adomako, Dina. 2020. *PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC ESCHERICHIA COLI IN INDIGINEOUS DAIRY PRODUCTS*. Ghana : s.n., 2020. Mémoire de Master .

Alvarez. 1992. An attempt to determine growth and birth date of juvenile(sardina pilchardus) in western mediterranean Sea. *Marine biology*. 1992, 144, pp. 109-203.

Anonyme. 2016. [En ligne] 2016. <https://www.britannica.com/science/E-coli>.

ANSES. 2022. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques. ANSES. [En ligne] Mars 2022. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0076.pdf>.

Assogba, Mahussi, et al. 2018. Qualité de la Chair des Poissons : Facteurs de Variations et Impacts des Procédés de Transformation et de conservation. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*. 02 Septembre 2018.

Avril, JL, et al. 2000. *Bactériologie clinique 2ème édition*. Paris,France : Ellipses, 2000. p. 602.

Azad, Bitu. 2020. *Investigation of the growth and survival of Staphylococcus aureus in CFTR-deficient macrophages*. The university of Western Ontario. Ontario,Canada : s.n., 2020. Thèse de doctorat.

Bakhoum, I. 2004. *Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne*. Faculté de pharmacie, Université cheikh anta diop. Dakar,Sénégal : s.n., 2004. p. 113, Thèse de fin d'étude en pharmacie.

Bates, et al. 2003. Description of an epidemic simulation model for use in evaluating strategies to control an outbreak of foot-and-mouth disease. *American Journal of Veterinary Research*. 2003, Vol. 64, 2.

Bazizi, youcef. 2021. *LES PRINCIPAUX INDICATEURS DU SECTEUR DE LA PECHE 2019*. Alger, Algérie : la Direction Technique chargée des Statistiques Régionales et de la Cartographie, Janvier 2021.

Bencherga, Khadidja. 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 bioremediation (aquabiorà. s.l. : Université d'oran, 2012. these de doctorat.

Blount, ZD. 2015. The unexhausted potential of E. coli. *Elife*. 2015.

- Boldock, Emma. 2016.** *Analysis of staphylococcus aureus virulence*. Faculty of Science, The University of Sheffield. South Yorkshire, England : s.n., 2016. Thèse de doctorat.
- Bouhali, Fatima Zohra. 2015.** Reproduction et maturation des gonades de *Sardina pilchardus* dans le golfe d'Annaba (Nord-Est algérien). *Cybiu*. 2015, 39, pp. 143-153.
- Bourgeoise, C.M et Leveau, J.Y. 1981.** *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Paris, France : s.n., 1981. Vol. 3.
- Bremner, h, et al. 1985.** Muscle fiber-connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *Journal of food science*. 1985, Vol. 50, 4, pp. 975-980.
- Breton, J, et al. 2016.** Gut commensal *E. coli* proteins activate host satiety pathways following nutrient-induced bacterial growth. *Cell Metabolism*. 2016, Vol. 23, 2, pp. 324-334.
- Bush, Larry M et Schmidt, Charles E. 2021.** Infections staphylococciques. *Le Manuel MSD*. [En ligne] Mars 2021. https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infections-staphylococciques#v26288228_fr.
- CDC. 2022.** Centers for disease control and prevention. [En ligne] 2022.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014.** Centers for disease control and prevention. [En ligne] 2014. <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.
- Claude, JQ et Jaques, V. 2005.** *Les poissons de mer françaises*. Paris : s.n., 2005. pp. 96-97.
- Cléach, Jérôme. 2018.** *Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie*. Université du littoral . Cote d'Opale : s.n., 2018. Thèse de doctorat.
- Code d'usage international recommandé pour le poisson frais. FAO. 1976.* Rome : Codex Alimentarius, 1976. p. 45.
- Colomb-Cotin, M, et al. 2016.** Estimating the morbidity and mortality associated with infections due to multidrug-resistant bacteria (MDRB), France, 2012. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2016, Vol. 5, 1, pp. 1-11.
- Cowey, CB. 1993.** Some effects of nutrition on flesh quality of cultured fish. . 1993.
- Croxen, Matthew A et Brett Finlay, B. 2012.** Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Natural Reviews Microbiology*. 2012, Vol. 8, 1, pp. 26-38.
- Cyr, Josiane. 2006.** Attention de la nutrition. 2006.
- Dale, AP et Woodford, N. 2015.** Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. *Journal of infection*. 2015, Vol. 71, 6, pp. 615-626.
- David, Milly et Arbault, Patrice. 2001.** Évaluation de la fraîcheur chez huit espèces de poissons marins par mesure rapide de la valeur K. *Sci Aliments*. 2001, Vol. 21, 3, pp. 96-295.

- Decoster, A. 2005.** Entérobactéries. [En ligne] 2005.
<http://anne.decoستر.free.fr/btelechar/bpoly/enteroba05.pdf>.
- Dehault, Alexandre. 2014.** *Evaluation de la qualité-fraîcheur du poisson par des approches biochimiques (SPME-GC_MS) et moléculaires (qPCR)*. Université de Lille. Lille : s.n., 2014. p. 5, Thèse de doctorat.
- Denis, F, et al. 2016.** *Bactériologie médicale, 3eme edition*. s.l. : Elsevier Masson, 2016.
- Devriese, L .A , Schleifer , H et Adegoke, G .O. 1985.** Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 1985, Vol. 58, 1, pp. 45-55.
- Dib , A. 2016.** *Les produits de la pêche*. Institut des sciences vétérinaires . Blida : s.n., 2016.
- Djamal, M. 2016.** *Corrélation entre l'analyse organoleptique et chimique (teneur en azote basique volatile total et triméthylamine) utilisées pour l'appréciation de la fraîcheur de la sardine*. 2016. Mémoire de Magister en sciences vétérinaires.
- Drame, B. 2001.** *Micro-méthodes d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : intérêts thérapeutiques et diagnostiques*. Faculté de pharmacie, université Cheikh Anta Diop. Dakar, Sénégal : s.n., 2001. p. 115, Thèse de fin d'études en pharmacie.
- El Younoussi , Charifa, et al. 2015.** Évaluation de la qualité microbiologique de certains poissons capturés et commercialisés dans le Grand Casablanca au Maroc. *Les technologies de laboratoire*. 2015, Vol. 9, 38.
- Eltwisy, Hala O, et al. 2022.** Clinical Infections, Antibiotic Resistance, and Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. *Microorganisms*. 31 Mai 2022, Vol. 10, 6, p. 1130.
- Ettahiri. 2003.** Observation on the spawning of *Sardina P* of the south Moroccan Atlantic coast. *FAO*. 2003, 21-26, pp. 207,222.
- FAO. 2022.** [En ligne] 2022. <https://www.fao.org/3/v7180f/V7180F09.html>.
- FAO 2013.** Fichier et Aquaculture-Species fact sheets-*Sardina P* (wilbaum,1972). Rome : s.n., 2013.
- FAO. 2008.** *Fish and fishery products: world apparent consumption statistics based on food balance sheets*, Food and Agriculture Organization Of United Nations. Rome, Italy : FAO, Year book, 2008.
- OMS. 2020.** LA SITUATION MONDIALE DES PECHEES ET DE L'AQUACULTURE. OMS:organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 2020, p. 138.
- FAO. 1996.** Perspective de l'alimentation SAMIAR: Systeme mondial d'information et d'alerte rapide sur l'alimentation et l'agriculture. [auteur du livre] FAO Organisation des nations unies pour l'Alimentation et l'agriculture. 1996.
- Farid, FB, et al. 2014.** Effect of Sun-Drying on Proximate Composition and pH of Shoal Fish (*C. striatus*; Bloch, 1801) Treated with Salt and Saltturmeric Storage at Room

Temperature (27°C - 30°C). *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. Septembre 2014, Vol. 7, 9, pp. 01-08.

Fetsh, Alexandra. 2018. staphylococcus as a foodborn pathogen . *Current clinical microbiology reports*. 2018, pp. 88-96.

Gardete, S et Tomasz, A. 2014. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of clinical investigation*. 2014, Vol. 124, 7, pp. 2836-2840.

Gardete, Susana et Tomasz, Alexander. 2014. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Journal od clinical investigation*. 2014, Vol. 124, 7, pp. 2836-2840.

Garrido, S, et al. 2008. Diet and feeding intensity of sardine *Sardina pilchardus*: correlation with satellite-derived chlorophyll data. *Marine Ecology Progress Series*. 2008, 345, pp. 245-256.

Gherardi, D, Di Bonaventura, D et Savini, V. 2018. *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. s.l. : Elsevier Masson, 2018. pp. 1-10.

Gonzalez-Perez, CJ, et al. 2019. Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by transmission electron microscopy and their relation to optical density and colony forming units. *Journal of microbiology methods*. 2019, Vol. 165, 105691.

Goodwin, Kelly D, et al. 2012. A multi-beach study of *Staphylococcus aureus*, MRSA, and enterococci in seawater and beach sand. *Water Research*. 2012.

Gwida, M, et al. 2020. Microarray-based detection of resistance and virulence factors in commensal *Escherichia coli* from livestock and farmers in Egypt. *Veterinary microbiology*. 2020, p. 240.

Hamir, Amin N. 2010. Systemic *Staphylococcus aureus* infection in a free-ranging raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of Wildlife diseases*. 2010, Vol. 46, 2, pp. 665-668.

Hammad, Ahmad hamad, et al. 2022. Loads of Coliforms and Fecal Coliforms and Characterization of Thermotolerant *Escherichia coli* in Fresh Raw Milk Cheese. *Foods*. Janvier 2022, Vol. 11, 323, pp. 1-12.

Hasman, H, Schembri , MA et Klemm, P. 2000. Antigen 43 and type 1 fimbriae determine colony morphology of *Escherichia coli* K-12. *Journal of biology*. 2000, Vol. 182, 4, pp. 1089-1095.

Hennekinne, Jaque-Antoine. 2018. *Staphylococcus aureus* as a leading cause of foodborne outbreaks worldwide. *Taphylococcus aureus*. 2018, pp. 129-146.

Hufnagel, David, Depas, William et Chapman, Matthew. 2015. The Biology of the *Escherichia coli* Extracellular Matrix. *ASM journal (Amercian Society for Microbiology)*. Juin 2015.

Ifermer. 2012. [En ligne] Octobre 2012.

Ifremer. 2008. ABVT. *Ifremer*. [En ligne] 2008.

http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_synthese_ABVT.pdf.

Institut Pasteur Paris. 2021. Staphylocoque. *Institut pasteur*. [En ligne] Janvier 2021.

<https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/staphylocoque>.

Internet. 2022. Google. *Google*. [En ligne] 2022.

https://www.google.com/search?q=port+d%27alger&client=firefox-b-d&sxsrf=ALiCzsYCO0FB9A8fD4yRNYNclffsjRYadQ:1662772689893&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwikw5f8hon6AhVaPOwKHQjyA8oQ_AUoAXoECAIQAw#imgrc=8gl8eaHHtd-baM.

Jacobsen, C. 1999. *Sensory impact of lipid oxidation in a complex food systems. Fett/Lipid*. 1999. pp. 484-492.

Janda, J Michael et Abbot, Sharon L. 2006. *The enterobacteria*, 2nd edition. Washington : s.n., 2006.

Jemaa, Sherif. 2015. Comparaison du régime alimentaire de l'anchois (*ENGRAULIS ENCRASICOLUS*) et de la sardine (*SARDINA PILCHARDUS*) en atlantique et en méditerranée. *Lebanese Science Journal, special issue*. 2015, Vol. 16.

Journal officiel algérien pour les poissons, céphalopodes et mollusques crus. JOURNAL OFFICIEL ALGERIEN. 2019. 2019.

Journal officiel de l'union européenne 139 Règlement 853. 2004. 30 Avril 2004, Journal officiel de l'union européenne.

Kabamba, Milangu. 2016. Analyse de la qualité de la chair du poisson *Trachurus trachurus* vendu sur les marchés de. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 2, 01 avril 2016, Vol. 28, pp. 4450-4456.

KADA, Omar. 2010. Contribution à l'identification et à la caractérisation biologique et dynamique de l'anchois de la lagune de Nador (Maroc). *Sciences de la vie*. Rabat : s.n., 2010.

Kaddour Cherif, Mahjouba et Benahmed, Racha. 2016. *Etude de la contamination microbiologique des produits de la pêche (sardina pilchardus) stockés en entreposage (bois et plastique) au niveau du port de Mostaghanem*. Mostaghanem : s.n., 2016. Master.

Kuuliala, L, et al. 2018. Microbiological, chemical and sensory spoilage analysis of raw atlantic cod (*Gadus morhua*) stored under modified atmospheres. *Food microbiology*. 2018, Vol. 70, pp. 232-244.

Larousse. 1971. 1971.

Larousse. 1971. *Nouveau dictionnaire étymologique et historique*. Paris, France : LAROUSSE, 1971.

- Larpent, Jean Paul. 2000.** *Introduction à la nouvelle classification bactérienne, les principaux groupes bactériens.* s.l. : TEC & DOC, 2000. p. 280.
- Leduc, L. 2011.** *Evaluation de la qualité des poissons frais par des approches chimiques. Thèse de doctorat : Biochimie. Université Sciences et Technologies de Lille.* Université de sciences et de technologies de Lille. Lille : s.n., 2011. p. 182, Thèse de doctorat.
- Lee, Azra et Anjum, Fatima. 2022.** Staphylococcus Epidermidis. *National Library of Medicine.* [En ligne] 19 Juin 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563240/>.
- Les poissons d'eau douce d'algérie : inventaire et répartition.* **Lounaci, D. 2012.** Marrakech, Maroc : s.n., 2012. 3ème congrès franco-maghrébin de zoologie et d'ichtyologie.
- Maas-Van Berkel, Brigitte, Van de Boogaard, Brigitte et Heijnen , C. 2004.** *Preservation of fish and meat.* s.l. : Agromisa Foundation, 2004.
- Mach, Fanny, Marchandin, Hélène et Bichon, Florence. 2021.** Mieux informer pour prévenir le syndrome du choc toxique. *Actualités Pharmaceutiques.* Mai 2021, Vol. 60, 601, pp. 41-44.
- Magnus, Julie et Gomez, Silvia. 2022.** FishiPedia. [En ligne] 24 août 2022. <https://www.fishipedia.fr/fr/poissons/sardina-pilchardus#:~:text=La%20sardine%20pr%C3%A9sente%20un%20corps,sont%20attach%C3%A9es%20les%20nageoires%20pelviennes..>
- Majowicz, SE, et al. 2014.** Global incidence of human Shiga toxin-producing Escherichia coli infections and deaths: A systematic review and knowledge synthesis. *Foodborn Pathogens and Disease.* 2014, Vol. 11, 6, p. 447.
- Makawa, z, Kapute, F et Valeta, J. 2014.** Effect of delayed processing on nutrient composition, pH and organoleptic quality of pond raised tilapia (*Oreochromis shiranus*) stored at ambient temperature. *Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development.* 2014, Vol. 14, 3.
- Marines, Recherches. 1998.** Paramètres biochimiques dans le poisson. *Recherches marines.* Janvier 1998.
- Meziani , Meriem. 2012.** *Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas.* Sciences vétérinaires, Université mentouri de constantine. Constantine : s.n., 2012. pp. 5-6, Mémoire de Magistère.
- Michels, Ricarda, et al. 2021.** Update on Coagulase-Negative Staphylococci—What the Clinician should know. *microorganisms.* Avril, 2021, Vol. 9, 830.
- Moniharapon, T, Pattipeilohy, F et Sormin, R.B.D. 2021.** Application of “Atung”(Parinarium glaberrimum Hassk) Natural Preservative Towards the Quantity and Quality of Enzymatic Fish Sauce of Tuna Loin Production Waste in Parigi Wahai Village, North Seram, Central Maluku District. *IOP Conference Series :Earth and Environmental Science.* 2021, Vol. 828, 1.

- Morvan, Jaques. 2021.** Toxi-infection alimentaire en Inde : le staphylocoque est suspecté. *ProMed:International Society for Infectious Diseases*. [En ligne] 9 Juillet 2021. <https://www.mesvaccins.net/web/news/17647-toxi-infection-alimentaire-en-inde-le-staphylocoque-est-suspecte>.
- Muss. 1998.** *Guide des poissons de peche 5eme édition*. Lausanne Switzerland : Delachaux et Nest S, 1998. p. 395.
- Nauciel, C. 2001.** *Bactériologie médicale*. 2001. p. 275.
- Nelson, Joseph S. 2006.** *Fishes of the world 4th edition*. Hoboken, New Jersey : John Wiley & sons, 2006. p. 601.
- Nelson, Joseph. 2015.** The canadian encyclopedia. *Fish*. [En ligne] 4 mars 2015. <https://www.thecanadianencyclopedia.ca/en/article/fishes>.
- N'Guessam, et al. 2018.** Circuit de distribution des poissons frais et congelés à Abidjan:Hygiène et évaluation microbiologique. *Mar. Sci. Agron. Vét.* 2018, Vol. 6, 1, pp. 100-116.
- Nikolic, Philip. 2020.** *The effect of permethrin cream on staphylococcal infections and studies on methicillin sensitive and resistant strains of Staphylococcus aureus*. Philip Nikolic, BSci (AdvSci). School of Medicine, Western Sydney University. Sydney, Australia : s.n., 2020. Mémoire de Master.
- Njeh, Ines. 2016.** EVALUATION DE LA QUALITE DE LA DAURADE ROYALE (*Sparus aurata*) D'ELEVAGE SUR LE MARCHE TUNISIEN. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Salammbô*. 2016, Vol. 43, pp. 17-26.
- Ould Abid, Ahmed, et al. 2015.** Etude microbiologique et identification des souches isolés à partir du poisson (*Mugil cephalus*) séché-pilé « Lekhlia ». *Environ. Science*. 2015, Vol. 6, 4, pp. 1142-1146.
- Pain, M, et al. 2020.** *Staphylococcus borealis* sp. nov isolated from human skin and blood . *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020, Vol. 70.
- Péton, Vincent. 2014.** *Identification de facteurs de Staphylococcus aureus impliqués dans la sévérité et la chronicité des mammites*. Université européenne de Bretagne . 2014. Thèse de doctorat.
- Philippon, A. 2012.** Entérobactéries des betalactamines:phénotypes de résistance naturelle. *Pathologie biologique*. 2, 2012, Vol. 60.
- Pyrah, ITG, Scott, PR et Penny , CD. 1994.** Possible involvement of *Staphylococcus aureus* as a primary pathogen in lamb septicaemia. *Veterinary record*. 1994, Vol. 134, 26, pp. 679-680.
- 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)*. Université de Rennes de l'école doctorale Vie-Agronomie-santé. 2001. p. 222, Thèse de doctorat.

- Robertson, R, Lenantonl, Al et Hansen, JA. 1982.** Nearshore accumulations of detached macrophytes as nursery areas for fish. *Marine Ecology Progress*. 1982, pp. 51-57.
- Robins-Browne , RM, et al. 2016.** Are Escherichia coli pathotypes still relevant in the era of whole-genome sequencing? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016, Vol. 6, 141.
- Rossie, E, et al. 2018.** "it's a gut feeling"-Escherichia coli biofilm formation in the gastrointestinal tract environment. *Critical reviews in microbiology*. 2018, Vol. 30, 1, pp. 1-30.
- Sarowska, J, Futuma-Koloch, B et Jama-Kmiecik, A. 2019.** .: Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog*. 2019, Vol. 10.
- Sato, A, et al. 2019.** Morphological and biological characteristics of Staphylococcus aureus biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug Resistance*. 2019, Vol. 25, 5, pp. 668-676.
- Selidja , naouel et Sereir elhirtsi, oum el kheir. 2017.** *Evaluation morphométrique et qualité bactériologique de la sardine(sardina pilchardus)importée de tunisie et mise en conservation en industrie Algerienne*. chlef,Ténés : s.n., 2017. p. 5, Mémoire de fin d'étude.
- Shore, Ac, et al. 2011.** Characterization of a novel arginine catabolic mobile element (ACME) and staphylococcal chromosomal cassette mec composite island with significant homology to Staphylococcus epidermidis ACME type II in methicillin-resistant Staphylococcus aureus genotype. *Antimicrob Agent Chemoter*. Mai 2011, Vol. 55, 5, pp. 905-1896.
- Silva, MP, et al. 2021.** Presence and growth prediction of Staphylococcus spp. and Staphylococcus aureus in Minas Frescal cheese, a soft fresh cheese produced in Brazil. *Journal of Dairy Science*. 2021, Vol. 104, 12, pp. 12312-12320.
- Société marocaine de pédiatrie et infectiologie. 2017.** *Guide pratique des bactéries pathogènes*. 2017.
- Spinelli, J, Eklund, M et Miyauchi, D. 1964.** Measurement of hypoxanthine in fish as a method of assessing freshness. *Journal of Food Science*. 1964, Vol. 29, 6, pp. 710-714.
- Tayeb-Fligelman, E, et al. 2017.** The cytotoxic Staphylococcus aureus PSM α 3 reveals a cross- α amyloid-like fibril. *Science*. 2017, Vol. 355, 6327, pp. 831-833.
- Taylor, Martha R, et al. 2017.** *Campbell biology:concepts & connections Ninth edition*. North Carolina : Pearson education, 2017.
- Techniques usuelles*. **Denis, F, et al. 2007.** s.l. : Elsevier Masson , 2007, Bactériologie médicale.

Tong, S, et al. 2015. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology review*. 2015, Vol. 28, 3, pp. 603-661.

Twomey, D. F, et al. 2012. Phenotypic characterisation and 16S rRNA sequence analysis of veterinary isolates of Streptococcus pluranimalium. *The Veterinary Journal*. 2012, Vol. 192, 2, pp. 236-238.

université médicale virtuelle. 2011. Université médicale virtuelle francophone. [En ligne] 01 Février 2011.
http://campus.cerimes.fr/nutrition/enseignement/nutrition_4/site/html/1_2.html.

Velasco Savanguane, Baretta Carlos, et al. 2022. OCCURRENCE OF TOTAL VIABLE COUNTS, TOTAL COLIFORMS, SALMONELLA spp. AND FECAL COLIFORMS FROM FRESH, SUNDRIED AND PARBOILED LAKE MALAWI SARDINE. *AQUAFISH*. 2022.

Vila, j, et al. 2016. Escherichia coli: An old friend with new tidings. *Fems microbiology reviews*. 2016, Vol. 40, 4, pp. 437-463.

Walbaum. 1792. *Fiche de description de la sardine (Sardina pilchardus)*. 1792.

WHO. 2019. Food safety-E,Coli infections. *WHO*. [En ligne] 2019.
<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>.

Zaara, Bahia. 2013. *Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management*. Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Blida 1. Blida,Algérie : s.n., 2013. Mémoire de Master.

Zinnah, M.A, et al. 2007. Characterization of Escherichia coli isolated from samples of different biological and environmental sources. *Bangladesh journal of veterinary medicine*. 2007, pp. 25-32.