

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

### **Contribution à l'étude de la qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants des produits de pêche vendus au niveau des ports d'Alger et de Tipaza**

Présenté par : **HAMMACHE Karim**

**MAZOUZ Amina**

Soutenu le : **26 Septembre 2019**

**Devant le jury composé de:**

Promotrice	Dr. HACHEMI A.	Maître Assistante Classe A
Président (e)	Dr. BAAZIZI	Maître de conférences Classe B
Examinatrice 1	Dr. MIMOUNE N.	Maître de conférences Classe A
Examinatrice 2	Dr. ZENIA.	Maître Assistante Classe A

# Remerciements

*En premier lieu, nous remercions le bon Dieu de nous  
avoir donné la santé, la force et la volonté d'entamer et  
de terminer ce mémoire.*

*Nous tenons à présenter nos vifs remerciements à  
notre promotrice Dr.Hachemi Amina pour son suivi et  
ses orientations tout le long de ce travail et surtout pour sa patience.*

*Nous remercions aussi les membres de jury Dr.  
BAAZIZI,Dr MIMOUN et DR. ZENIA qui ont bien fait  
l'honneur d'examiner et de juger ce travail.*

*Comme nous tenons à remercier tous ceux et celles qui  
de loin ou de près ont contribué à finaliser ce modeste  
travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ma très chère famille*

*A ma chère maman Leila*

*Qui m'a soutenu durant toute ma vie, qui m'a aidé durant mes  
années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon  
comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit.*

*A mon cher père Abd El Hak*

*Pour être le bon exemple de père par son soutien, ses  
encouragements et aides de mes premiers pas d'études jusqu'à ce jour.*

*A ma chère sœur Imene et mon cher frère Abd Raouf*

*Pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études. Qu'ils trouvent ici le  
témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A mes amies Ahlem, Fasmine, Sara, Feriel, Fasmine et Asma*

*Pour les moments de joie et de folie qu'on a passé ensemble*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*Amina*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à ma très chère famille*

*A ma chère maman fatiha*

*Qui m'a soutenu durant toute ma vie, qui m'a aidé durant mes  
années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon  
comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit.*

*A mon cher père abdellah*

*Pour être le bon exemple de père par son soutien, ses  
encouragements et aides de mes premiers pas d'études jusqu'à ce jour.*

*A ma chère sœur sabrina ,meriem ,lydia*

*et mon cher frère hamza, riyad*

*Pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux  
tout au long de mes études.*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A mes amis, sath, habo, houssem, redouane, alaa, nimo,  
younes, mido, mounir, ayman, ali, kerimo*

*Pour les moments de joie et de folie qu'on a passé ensemble*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*Karim*

## Table des matières

**Introduction générale**

**Partie bibliographique :**

**Chapitre I : les produits de pêche**

I. DÉFINITION.....	2
I.1 Les produits de pêche.....	2
I.2 Poisson.....	2
II. SPÉCIFICITÉS DU POISSON ET PRODUITS DE PÊCHE EN LIEN AVEC LA QUALITÉ.....	2
II.1 Systèmes de classification des poissons.....	2
II.1.1 Utilisation des noms vernaculaires.....	3
II.1.2 Classification selon le lieu de vie.....	4
II.1.3 Classification selon des caractéristiques biologiques.....	5
II.2 Spécificités biologiques du poisson pouvant influencer la qualité.....	6
II.2.1 Des modes de vie distincts reflétés par des muscles différents.....	6
II.2.2 Importance de la croissance et reproduction.....	7
II.2.3 Composition chimique du poisson.....	8
II.2.3.1 Importance du régime alimentaire.....	8
II.2.3.2 Des lipides caractéristiques.....	9
II.2.3.3 Trois grandes classes de protéines.....	11
II.2.3.4 OTMA et autres composés azotés non-protéiques des poissons.....	12
II.2.3.5 Vitamines et sels minéraux du poisson.....	14
II.2.4 La flore bactérienne du poisson.....	15
II.2.4.1 Origine et localisation.....	15

---

II.2.4.1.1 La température et la qualité de l'eau.....	16
II.2.4.1.2 La profondeur à laquelle le poisson évolue.....	16
II.2.4.1.3 La proximité de la côte.....	16
II.2.4.1.4 La saison de pêche.....	16
II.2.4.2Composition de la flore.....	17
III. EVOLUTION POST MORTEM DE LA CHAIR DU POISSON.....	19
III.1 L'étape de rigor mortis entre changements biochimiques et modifications de la texture.....	19
III.2 Deux voies d'altération conduisant à la dégradation des lipides.....	21
III.2.1 Dégradation des lipides par hydrolyse enzymatique.....	21
III.2.2 Autooxydation des acides gras libres.....	22
III.3 Catabolisme des nucléotides.....	23
III.4 Deux voies de réduction de l'OTMA.....	24
III.4.1 Décomposition par voie autolytique.....	25
III.4.2 Réduction via l'activité microbienne.....	26
III.5 Evolutions microbiologiques.....	27
III.5.1 Une évolution de la microflore soumise à de nombreux facteurs.....	27
III.5.2 Importance de la notion d'organisme spécifique d'altération.....	29
IV. ORIGINE DE LA CONTAMINATION.....	30
IV.1 Contamination primaire ou endogène.....	31
IV.1.1 Localisation des bactéries des produits de la pêche.....	31
IV.1.2 Nature de la flore bactérienne du milieu aquatique.....	32
IV.1.2.1 Germes typiquement aquatiques.....	32
IV.1.2.2 Germes telluriques.....	32
IV.1.2.3 Germes de contamination humaine et animale.....	32

---

IV.2 Contamination secondaire ou exogène.....	33
IV.2.1 Vecteurs animés de la contamination.....	33
IV.2.1.1 Homme.....	33
IV.2.1.1.1 Homme, vecteur actif.....	34
IV.2.1.1.2 Homme, vecteur passif.....	34
IV.2.1.2 Animaux.....	35
IV.2.1.3 Vecteurs inanimés de la contamination.....	35
V. CONSÉQUENCES DE LA CONTAMINATION DES PRODUITS DE LA MER...	35
V.1 Altérations.....	35
V.2 Accidents alimentaires.....	36

## **Chapitre II : Les entérobactéries**

I. MICROORGANISMES RECHERCHÉS DANS LES ALIMENTS.....	37
I.1 Responsables de l'altération.....	37
I.2 Des microorganismes indicateurs de la contamination fécale.....	37
I.3 Des microorganismes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires.....	37
II. INDICATEURS DE CONTAMINATION FÉCALE.....	37
III. LES ENTÉROBACTÉRIES.....	37
III.1 Définition.....	38
III.2 Taxonomie.....	38
III.3 Habitat.....	38
III.4 Classification.....	39
III.5 Caractères cultureux.....	40
III.6 Caractérisation antigénique des espèces.....	40

---

III.6.1 Antigènes O.....	40
III.6.2 Antigènes H.....	41
III.6.3 Les Antigènes K.....	41
III.6.4 L'antigène Kunitz.....	41
IV. LES ENTÉROBACTÉRIES COLIFORMES D'ORIGINE FÉCALE.....	41

## **Chapitre III : Escherichia coli.**

I. GÉNÉRALITÉS.....	44
I.1 Définition.....	44
I.2 Historique.....	44
I.3 Taxonomie et caractères bactériologiques.....	44
I.4 Organisation et dynamique du génome.....	46
I.4.1 Le core-génome.....	47
I.4.2 Le génome unique.....	47
I.4.3 Le génome périphérique.....	48
II. CLASSIFICATION.....	48
II.1 Classification selon le sérotype.....	48
II.2 Classification selon les phylogroupes.....	49
II.3 Classification selon les sérotypages.....	52
III. HABITAT.....	53
III.1 Habitat primaire.....	53
III.2 Habitat secondaire.....	53
IV. LES PATHOLOGIES CAUSÉES PAR E. COLI.....	56
IV.1 Les pathologies intestinales chez l'homme.....	56

IV.1.1 Les E. coli entérotoxinogènes (ETEC).....	57
IV.1.2 Les E. coli entéro-invasifs (EIEC).....	57
IV.1.3 Les E. coli entéro-pathogènes (EPEC).....	57
IV.1.4 Les E. coli entéro-agrégatifs (EAEC).....	57
IV.1.5 Les E. coli à adhésion diffuse (DAEC).....	58
IV.1.6 Les E. coli entéro-hémorragiques (EHEC).....	58
IV.1.7 Les E. coli adhérents-invasifs (AIEC).....	59
IV.2 Les pathologies extra-intestinales chez l'homme.....	59
IV.2.1 Les pathologies chez l'animal.....	61
V. RÉSISTANCE D'E COLI AUX ANTIBIOTIQUES.....	62
V.1 Résistance naturelle.....	62
V.2 Résistance acquise.....	63
VI. ESCHERICHIA COLI DANS L'ENVIRONNEMENT LITTORAL.....	63
VI.1 Définition de l'environnement littoral.....	63
VI.2 Sources et apports d'E. Coli dans l'environnement littoral.....	65
VI.2.1 Sources d'origine urbaine.....	65
VI.2.2 Sources d'origine agricole.....	67
VI.2.3 Sources environnementales : les animaux sauvages.....	68

## **Partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

I. OBJECTIF.....	69
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	69
II.1 Durée de l'étude.....	69

---

II.2 Echantillonnage.....	69
II.2.1 Nature des échantillons.....	69
II.2.2 Sites de prélèvement.....	70
II.2.2.1 Le port de Bouharoune.....	70
II.2.2.2 Le port de la Madrague.....	71
II.2.2.3 La pêcherie d'Alger.....	71
II.2.3 Transport des échantillons.....	72
II.3 Lieu de l'étude.....	72
II.4 Traitement des échantillons.....	73
II.4.1 Méthode d'analyse bactériologique.....	73
II.4.2 Préparation des échantillons.....	73
II.4.2.1 La pesée.....	73
II.4.2.2 Le broyage.....	74
II.4.3 Préparation des dilutions.....	74
II.5 Protocole de recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants.....	75
II.5.1 Principe.....	75
II.5.2 Mode opératoire.....	76
II.5.3 Lecture.....	77
II.6 Protocole de recherche d'Escherichia Coli.....	77
II.6.1 La purification des souches.....	77
II.6.2 Test d'eau peptonée exempte d'indole.....	78
II.6.2.1 Principe.....	78
II.6.2.2 Méthode.....	78
II.6.2.3 Lecture.....	79

---

II.7 La recherche d'E.Coli par la galerie Api (api 20E).....	80
II.7.1 Principe.....	80
II.7.2 Mode opératoire.....	80
II.7.3 Lecture.....	81
II.8 Méthode de dénombrement.....	81
II.8.1 Méthode d'interprétation de résultats.....	81
II.8.2 Le traitement des résultats.....	83
I RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	83
II RÉSULTATS DU NIVEAU DE CONTAMINATION AUX COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS.....	83
II.1 Résultats du niveau de contamination aux coliformes thermotolérants par port.....	83
II.2 Résultats du taux de contamination globale aux coliformes thermotolérants.....	85
II.3 La qualité bactériologique aux coliformes TT des poissons par port.....	87
II.4 La qualité bactériologique globale aux coliformes TT des poissons.....	90
III TAUX DE LA CONTAMINATION À ESCHERICHIA COLI.....	92
III.1 Taux de la contamination à Escherichia Coli par port.....	92
III.1.1 Taux de positivité au test Kovacs par port.....	92
III.1.2 Taux de la contamination à Escherichia Coli par port.....	94
III.2 La diversité bactérienne des souches Kovacs+ isolées par API E20.....	96
Conclusion et recommandations.....	98
Annexes.....	101
Références	

# Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b>	Système hiérarchique utilisé pour la classification des espèces (exemple du Cabillaud).	03
<b>Tableau 02 :</b>	Différence de dénominations usuelles des poissons en fonction de la zone géographique considérée ou des processus de transformation subis par le poisson.	04
<b>Tableau 03 :</b>	Principaux composants (en pourcentage) des muscles de poisson.	10
<b>Tableau 04 :</b>	Flore bactérienne (Gram négatifs et positifs) retrouvée sur du poisson capturé dans des eaux propres et non-polluées.	17
<b>Tableau 05 :</b>	Principaux facteurs ayant une influence sur la période écoulée entre la mort du poisson et l'apparition de la rigor mortis.	20
<b>Tableau 06 :</b>	Récapitulatif des principales activités de la flore microbienne du poisson et de leurs conséquences d'un point de vue sensoriel.	28
<b>Tableau 07 :</b>	les principaux groupes des entérobactéries	39
<b>Tableau 08 :</b>	Principaux critères différentiels des espèces du genre <i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> , <i>E. hermanii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> )	46
<b>Tableau 09 :</b>	Répartition des principaux groupes phylogénétiques de <i>E. coli</i> chez l'Homme, les animaux et dans l'environnement.	51
<b>Tableau 10 :</b>	Principaux paramètres influençant la survie des bactéries dans l'environnement.	54
<b>Tableau11 :</b>	Concentrations en <i>E. coli</i> présentes au niveau des fèces humaines et de différentes sources urbaines.	66
<b>Tableau12 :</b>	La répartition des échantillons par date et par site de prélèvement.	73
<b>Tableau13 :</b>	Tests de Khi-deux de la contamination aux coliformes thermotolérants .	84
<b>Tableau14 :</b>	Analyses statistiques de la contamination aux coliformes TT dans les trois ports choisis.	85

---

<b>Tableau15 :</b>	Analyses statistiques globales de contamination aux coliformes TT.	87
<b>Tableau16 :</b>	Taux de contamination globale aux coliformes TT.	87
<b>Tableau17 :</b>	La qualité bactériologique aux coliformes TT par port.	88
<b>Tableau18 :</b>	Qualité bactériologique globale aux coliformes TT des poissons.	91
<b>Tableau19 :</b>	tests de Khi-deux de la contamination à <i>E. Coli</i> .	93
<b>Tableau20 :</b>	Résultats de positivité au test de Kovacs par souche.	94
<b>Tableau21 :</b>	Le taux de contamination à <i>E. Coli</i> par port.	95

# Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Classification des espèces de poissons selon les profondeurs dans lesquelles elles évoluent.	05
<b>Figure 02 :</b>	Proportion de six molécules appartenant à l'azote non-protéique dans les muscles de deux poissons téléostéens marins (A et B), d'un sélacien (C) et d'un poisson téléostéen d'eau douce (D).	12
<b>Figure 03 :</b>	Equation chimique de l'oxydation de la triméthylamine par action d'une monoxydase NADPH dépendante.	13
<b>Figure 04 :</b>	Classes de microorganismes déterminées par les plages optimales de croissance en fonction de la température.	19
<b>Figure 05:</b>	Sites d'action potentiels des lipases sur une molécule de phospholipide.	22
<b>Figure 06:</b>	Réactions chimiques intervenant dans le processus d'autooxydation.	23
<b>Figure 07 :</b>	Représentation schématique des réactions de dégradation de l'ATP et de ses métabolites.	24
<b>Figure 08:</b>	Equation chimique de la réduction de l'OTMA en DMA et formaldéhyde par l'action de l'OTMA déméthylase .	25
<b>Figure 09 :</b>	Equation chimique de la réduction de l'OTMA en TMA et en eau par l'action de l'OTMA réductase.	27
<b>Figure 10 :</b>	Diminution de l'indice de qualité de cabillaud conservé à 0°C. Les causes majeures de l'altération sont données pour les phases considérées.	28
<b>Figure 11 :</b>	Evolution visuelle de l'apparence globale de bars communs, de la transparence de leurs rétines et de l'aspect des branchies.	30
<b>Figure 12 :</b>	Représentation de la composition du génome moyen de <i>E. coli</i> .	47
<b>Figure 13 :</b>	Cycle de vie de <i>E. coli</i> .	55
<b>Figure 14 :</b>	Représentation schématique de l'environnement littoral.	64
<b>Figure 15 :</b>	Influence du niveau de pluviométrie sur la pénétration et le ruissellement de fumier épandu sur le sol.	68

---

<b>Figure 16:</b>	Le port de Bouharoune.	70
<b>Figure 17 :</b>	Le port de la Madrague.	71
<b>Figure 18 :</b>	La pêcherie d'Alger.	71
<b>Figure 19 :</b>	laboratoire d'HIDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger	72
<b>Figure 20 :</b>	Pesée des échantillons à l'aide d'une balance électronique.	74
<b>Figure 21 :</b>	Les dilutions effectuées.	75
<b>Figure 22 :</b>	Flacon préparé de gélose VRBL.	76
<b>Figure 23 :</b>	Boite de pétri contenant des coliformes thermotolérants.	77
<b>Figure 24 :</b>	Tube contenant de l'eau peptonée exempte d'indole.	78
<b>Figure25 :</b>	Réactif du kovacs.	79
<b>Figure26 :</b>	Résultat positif (présence d'anneau rouge).	79
<b>Figure27 :</b>	Résultat négatif (absence d'anneau rouge).	79
<b>Figure28 :</b>	Galerie api 20 E.	80
<b>Figure29 :</b>	Tableau des critères microbiologiques (coliformes thermotolérants) dans le poisson selon le journal national (Arrêté interministériel du 28 Moharram 1439 correspondant au 1 octobre 2017).	82
<b>Figure30 :</b>	Le taux de contamination aux coliformes thermotolérants par port.	85
<b>Figure31 :</b>	Taux de contamination globale aux coliformes TT	87
<b>Figure32 :</b>	La qualité bactériologique aux coliformes TT par port.	89
<b>Figure33 :</b>	La qualité bactériologique globale aux coliformes TT.	91

<b>Figure34 :</b>	Répartition des échantillons par taux de positivité au test Kovacs.	94
<b>Figure35 :</b>	Taux de contamination à <i>E.Coli</i> par port.	95
<b>Figure36 :</b>	La diversité bactérienne des souches Kovacs+ isolées par API E20.	97

# *Liste des annexes*

<b><i>Annexe 01 :</i></b>	Compositions en eau, lipides et protéines de la chair des principaux poissons retrouvés sur les étals français. Les valeurs correspondent à la part de l'élément par rapport au poids de chair.	<b>101</b>
<b><i>Annexe 02 :</i></b>	Composition moyenne en acides aminés essentiels (en pourcentage) de différentes protéines animales.	<b>101</b>
<b><i>Annexe 03 :</i></b>	Composition en acides aminés libres des muscles de plusieurs espèces de poissons. Les valeurs affichées correspondent à des milligrammes pour 100 g de chair.	<b>102</b>
<b><i>Annexe 04 :</i></b>	Teneurs en urée de muscles de plusieurs espèces de poissons appartenant aux élasmobranches et aux téléostéens.	<b>102</b>
<b><i>Annexe 05 :</i></b>	Exemple de molécules jouant le rôle d'inhibiteur ou de cofacteurs pour l'OTMA déméthylase.	<b>103</b>
<b><i>Annexe 06 :</i></b>	Représentation schématique de la cinétique de la microflore présente au sein de la chair du poisson, de celle d'un microorganisme spécifique d'altération et d'un catabolite servant d'indicateur d'altération.	<b>103</b>
<b><i>Annexe 07 :</i></b>	Exemples d'organismes spécifiques d'altération rencontrés pour différentes conditions de conservation de poissons marins des eaux froides ou tempérées.	<b>104</b>
<b><i>Annexe 08 :</i></b>	Liste des principales espèces B galactosidase + appartenant au groupe des entérobactéries coliformes.	<b>105</b>
<b><i>Annexe 09 :</i></b>	Matériel de laboratoire.	<b>107</b>
<b><i>Annexe 10 :</i></b>	lecture de la galerie API.	<b>108</b>
<b><i>Annexe 11 :</i></b>	Sortie de oued El Harrach dans la mer vue de ciel (10 février 2019).	<b>109</b>
<b><i>Annexe 12 :</i></b>	La baie d'Alger vu de ciel (10 février 2019)	<b>110</b>

# *Liste des abréviations*

<b>ATP</b>	Adénosine-triphosphate
<b>AGPI</b>	Acides Gras Polyinsaturés
<b>AGMI</b>	Acides Gras Monoinsaturés
<b>AGL</b>	Les Acides Gras Libres
<b>DHA</b>	Acide Docosahexaénoïque
<b>EPA</b>	Acide Eicosapentaénoïque
<b>PC</b>	Phosphatidylcholine
<b>PE</b>	Phosphatidyléthanolamine
<b>OTMA</b>	Oxyde De Triméthylamine
<b>ANP</b>	Azote Non-Protéique
<b>mg</b>	Milligramme
<b>g</b>	gramme
<b>TMA</b>	Triméthylamine
<b>AJR</b>	Apports Journaliers Recommandés
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centimètre carré
<b>m</b>	Mètre
<b>°C</b>	Degree Celsius
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène
<b>DMA</b>	Diméthylamine
<b>FMAT</b>	La Flore Mésophile Aérobie Totale
<b>ASR</b>	Les Anaérobies SulfitoRéducteurs
<b><i>E. coli</i></b>	Escherichia coli
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>IMViC</b>	indole, rouge de méthyl, Voges Proskauer, citrate
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation

<b>ORFs</b>	Open Reading Frame
<b>EAEC</b>	Enteroaggregative Escherichia coli
<b>DAEC</b>	Diffuse-adhering Escherichia coli
<b>STEC</b>	Shiga toxigenic Escherichia coli
<b>EHEC</b>	Enterohemorrhagic Escherichia coli
<b>EPEC</b>	Enteropathogenic Escherichia coli
<b>ETEC</b>	Enterotoxigenic Escherichia coli
<b>ExPEC</b>	extraintestinal pathogenic Escherichia coli
<b>ECDC</b>	European Centre for Disease Prevention and Control
<b>VNC</b>	viable Non-cultivable
<b>AIEC</b>	adhérentes-invasives Escherichia coli
<b>AECC</b>	Attaching- Effacing Escherichia coli
<b>APEC</b>	Avian Pathogenic Escherichia coli
<b>CTT</b>	Coliformes Thermo Tolérants
<b>TSE</b>	Tryptone Sel Eau
<b>VRBL</b>	Violet Red Bile Lactose (milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)
<b>Nbre</b>	Nombre
<b>Ech</b>	Echantillon
<b>Frq</b>	Fréquence
<b>S</b>	Satisfaisant
<b>NS</b>	Non Satisfaisant

# **INTRODUCTION**

# Introduction

Les produits de pêche sont des produits appréciés par le consommateur Algérien (6kg/hab/an). Ils sont repartis entre poissons, mollusques et crustacés ils sont considérés comme aliment de choix en raison de leur valeur nutritives très élevée, mais c'est une denrée alimentaire très sensible parce qu'elle présente un risque très élevé de contamination.

De ce fait, la pêche et la vente des poissons doivent suivre les critères définis dans la réglementation Algérienne afin de garantir une meilleure qualité nutritionnelle, organoleptique et hygiénique et surtout sanitaire pour le consommateur Algérien.

La contamination de ce genre de denrée alimentaire par les micro-organismes, entre autres les coliformes thermotolérants possède plusieurs origines et peut être à n'importe quel stade de la chaîne de vente et ce dès la sortie de l'eau jusqu'à l'arrivée aux consommateurs.

Elle est la conséquence d'une pollution des eaux de mer, mauvaise maîtrise ou de manque d'hygiène conduisant d'une part à l'altération de la qualité marchande du poisson et d'autre part met en danger la santé publique.

C'est dans ce cadre précis que se situe notre travail qui a pour objectif de déterminer le niveau de la contamination aux coliformes thermotolérants et à *Escherichia Coli* des poissons commercialisés dans les ports de la pêcherie d'Alger, Bouharoune et la madrague et d'apprécier sa qualité bactériologique vis-à-vis ces agents pathogènes.

Notre étude est répartie en deux volets :

- ❖ Le premier est consacré à une synthèse bibliographique qui s'intéresse aux poissons, aux coliformes thermotolérants et à *Escherichia Coli* et les dangers sanitaires qu'engendre sa présence dans les denrées alimentaires.
- ❖ Le second volet est réservé à la partie expérimentale qui englobe le matériel utilisé et les méthodes suivies pour effectuer les analyses bactériologiques des poissons aux coliformes thermotolérants et à *Escherichia Coli* ainsi qu'une discussion des résultats obtenus et enfin des recommandations.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## CHAPITRE I : les produits de pêche.

### I. Définition :

#### I.1 Les produits de pêche :

Sont tous les animaux marins ou d'eau douce (à l'exception des mollusques bivalves, des échinodermes vivants, des tuniciers vivants et des gastéropodes marins vivants et de tous les mammifères marins, reptiles et grenouilles), sauvages ou d'élevage, y compris toutes les formes et parties comestibles de ces animaux, entiers ou transformés. (Gousset ; J., 2001).

#### I.2 Poisson :

Du point de vue étymologique, le mot poisson tire son origine du latin piscis et des termes de vieux français peis et pois. Comme indiqué par (Académie Française., 2013), un poisson est défini comme un « Vertébré aquatique à respiration branchiale qui possède des nageoires paires et une bouche pourvue de mâchoire ». De cette définition, se dessine une première imprécision : un poisson n'est pas forcément pourvu de mâchoire et de nageoires paires, en effet parmi les poissons, sont retrouvées les lamproies qui ne possèdent ni mâchoire, ni nageoires paires.

### II. Spécificités du poisson et produits de pêche en lien avec la qualité :

#### II.1 Systèmes de classification des poissons :

Les premiers poissons sont apparus vers la fin du Cambrien, début de l'Ordovicien, il y a près de 500 millions d'années (Bockelie ; T et Fortey ; RA., 1976). De nos jours, les derniers recensements font état de près de 28 000 espèces de poissons soit près de la moitié des espèces de vertébrés (Eastman ; JT., 2005). Parmi l'ensemble de ces espèces de poissons, 57% sont des espèces marines (Nelson ; JS., 2006). Plusieurs méthodes de classification peuvent être utilisées.

Une première approche de classification se base sur l'évolution et l'approche développée par la taxonomie qui « vise à nommer et classer les êtres vivants » en définissant et décrivant leurs caractéristiques (Campbell ; NA et Reece ; JB., 2004). En ichtyologie, outre le reflet de

l'extrême diversité des super-ordres au sein des poissons (**Huss ; HH., 1999**), la taxonomie permet avant tout la discrimination en deux infra-classes : les poissons osseux (*Osteichthyes*) et les poissons cartilagineux (*Chondrichthyes*). En second lieu, la taxonomie permet de classer les différents poissons sur dix niveaux successifs (**Tableau 1**) de la super-classe à l'espèce. C'est généralement les deux derniers niveaux, genre et espèce, qui sont utilisés pour décrire les organismes, formant leurs noms binomiaux, celui du cabillaud est ainsi *Gadus morhua*.

La taxonomie est la référence pour toute classification scientifique, elle est peu utilisée par les professionnels du monde de la pêche, qui lui ont substitué des noms d'usage. Les différents systèmes de classifications communément utilisés dans le monde halieutique seront détaillés ci-dessous.

**Tableau 1:** Système hiérarchique utilisé pour la classification des espèces (exemple du *Cabillaud*).

Nom des classes	Exemple
Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Chordata</i>
Sous-embranchement	<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>Paracanthopterygii</i>
Ordre	<i>Gadiformes</i>
Famille	<i>Gadidae</i>
Sous-famille	<i>Gadinae</i>
Genre	<i>Gadus</i>
Espèce	<i>morhua</i>

### II.1.1 Utilisation des noms vernaculaires :

Le nom vernaculaire est défini par le Larousse comme le « nom usuel d'une espèce animale ou végétale dans son pays d'origine », il s'agit donc du 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 comme le prouvent les exemples du (**Tableau 2**). Très vite se dessinent donc les limites de l'utilisation des noms vernaculaires dans le domaine halieutique.

**Tableau 2 :** Différence de dénominations usuelles des poissons en fonction de la zone géographique considérée ou des processus de transformation subis par le poisson (**Quéro; JC et Vayne; JJ et al., 1997**).

Différence en fonction du pays d'origine	
Lieu noir (France)	Goberge (Canada)
Différence en fonction de la région d'origine	
Lieu noir	Colin (Bretagne, Normandie)
Bar commun	Loup (Méditerranée)
Lingue franche	Morue lingue (Manche) Julienne (Atlantique)
Différence en fonction du processus de transformation	
Cabillaud (Frais)	Morue (Salé)
Eglefin (Frais)	Haddock (Fumé)
Baudroie (Poisson entier)	Lotte (Poisson étêté)

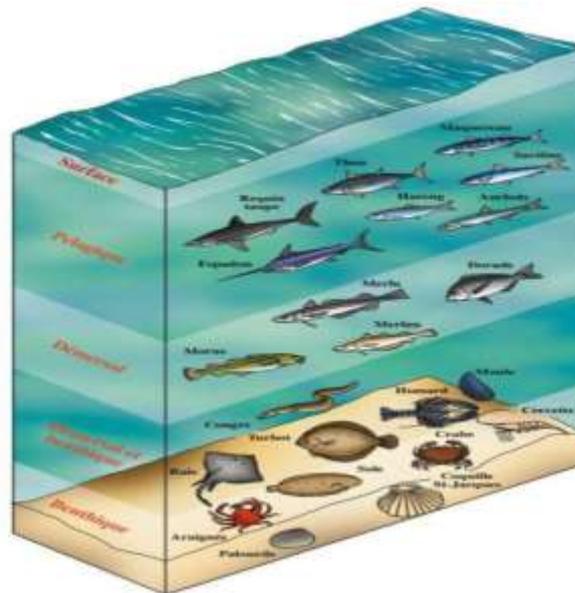
### II.1.2 Classification selon le lieu de vie :

Un type de classification utilisé consiste à séparer les espèces de poissons en se basant selon leurs lieux de vie (**figure 1**). Trois types de classes sont alors définis : poissons démersaux, pélagiques et amphihalins.

Les poissons démersaux sont définis comme évoluant en profondeur, ils sont séparés en deux sous-classes : les espèces benthiques, comme la sole commune (*Solea solea*) ou la plie (*Pleuronectes platessa*) et les espèces d'eau profonde comme le cabillaud ou le rouget grondin (*Lepidotrigla cadmani*).

Les poissons pélagiques sont des espèces évoluant généralement en bancs, en surface ou dans des eaux peu profondes. Certains individus solitaires peuvent tout de même être observés. Parmi les espèces pélagiques, sont notamment retrouvés les thons blancs (*Thunnus alalunga*), les sardines (*Sardina pilchardus*) ou encore les harengs (*Clupea harengus*).

Le terme amphihalins, adjectif composé des racines grecques amphi « à la fois » et halos « mer / salé », désigne les espèces évoluant à la fois en eau de mer et en eau douce. Cette classe regroupe les espèces migratrices qui changent d'environnement pour aller frayer, c'est le cas pour le saumon atlantique (*Salmo salar*) retournant frayer dans les cours d'eau douce et pour les anguilles (*Anguilla anguilla*) partant frayer en mer. (**Ifremer., 2011**).



**Figure 1 :** Classification des espèces de poissons selon les profondeurs dans lesquelles elles évoluent. (Ifremer., 2011)

### II.1.3 Classification selon des caractéristiques biologiques :

Un dernier type de classification existant consiste à différencier les poissons maigres et gras. Cette différenciation se fait principalement sur des différences physiologiques de stockage des graisses. Les poissons maigres sont caractérisés par un stockage des lipides au sein du foie, quand les poissons gras stockent les graisses dans leurs tissus. Cette classification est liée à celle décrite dans le paragraphe précédent, en effet, les espèces pélagiques sont en grande majorité des poissons gras quand les espèces démersales sont plutôt classées comme des poissons maigres.

## II.2 Spécificités biologiques du poisson pouvant influencer la qualité.

### II.2.1 Des modes de vie distincts reflétés par des muscles différents :

La structure anatomique du muscle de poisson est différente de celle rencontrée chez les mammifères. En effet, il n'existe pas de tendons chez les poissons, qui assurent chez les mammifères un lien mécanique entre les fibres musculaires et le squelette. Cette liaison est assurée par des assises de collagène chez le poisson (**Helfman;PG et Collette;B et al., 1997**). Le muscle de poisson, ou filet, est composé d'un réseau de cellules musculaires, les myotomes ou myomères, disposées de façon parallèle et reliées les unes aux autres par un tissu conjonctif appelé myocomme ou myosepte (**Collignon;J et Dorer;G et al., 1984**). Les cellules musculaires s'étendent sur toute la partie située entre deux myocommes, et ce, parallèlement à l'axe antéropostérieur du poisson (**Huss ; HH., 1999**). La structuration des fibres musculaires et du tissu conjonctif revêt un intérêt dans la qualité du poisson, car durant la phase d'altération, les fibres musculaires vont se désolidariser de l'assise conjonctive et créer des phénomènes de « gaping » ou « bâillement » (**Borderias;AJ et Sanchez-Alonso ; I., 2011**)(**Roth;B et Slinde;E et al.,2006**).

En observant les filets des poissons, il est remarqué qu'une part importante est constituée d'un muscle blanc, translucide. Cependant selon les espèces étudiées un second type de tissu musculaire peut être observé. Cet autre muscle, d'aspect foncé, est communément appelé « muscle rouge ». Ce tissu est en position sous-cutanée sur la longueur du flanc du poisson. La proportion muscle rouge sur muscle blanc varie en fonction des espèces et de l'activité des poissons. Ainsi, pour les espèces pélagiques comme le hareng qui se meuvent de façon quasi constante, la part de muscle rouge peut atteindre 48% du poids total de l'individu (**Love;RM ., 1980**). En revanche, pour les espèces démersales ayant des déplacements périodiques, la part de muscle rouge est très faible. Muscles rouges et blancs sont très différents d'un point de vue biochimique et métabolique, les premiers sont notamment plus riches en lipides et en myoglobine en regard des seconds.

Ces différences biochimiques ne sont d'ailleurs pas sans conséquence sur l'évolution du muscle en phase post-mortem.

La forte teneur en lipides entraîne des phénomènes d'oxydation et un problème de rancissement (**Medina;I et Gallardo;JM et al., 2009**). Les muscles blancs et rouges ne font pas appel aux mêmes sources de régénération d'ATP pour la production d'énergie. Le muscle blanc tire majoritairement son énergie du glycogène, produisant par anaérobiose des quantités importantes d'acide lactique qui sont métabolisées en phase ultime au niveau du foie. Pour le muscle rouge, ce sont les lipides qui servent de réserves d'énergie. En outre, la présence d'un nombre important de mitochondries dans ces tissus va favoriser un métabolisme aérobie à l'origine de la production d'eau et de dioxyde de carbone. Ainsi, le muscle blanc est plutôt approprié à un effort bref et intense des espèces démersales, quand le muscle rouge est lui adapté aux efforts continus et de faible intensité des espèces pélagiques.

## II.2.2 Importance de la croissance et reproduction :

D'un point de vue physiologique, la croissance du muscle du poisson est le résultat d'une augmentation de la taille des cellules (**Huss ; HH., 1999**) et du recrutement de nouvelles fibres musculaires (**Johnston;IA., 1999**). La croissance du poisson est réalisée sous le contrôle de facteurs endogènes : régulation par les systèmes nerveux et endocriniens puis exogènes comme la température, la photopériode ou encore la salinité de l'eau (**Bœuf;G et Payan;P., 2001**).

L'avènement de la maturité sexuelle marque l'amorce d'une chute importante de la croissance du poisson, l'activité du métabolisme basculant vers la production des gonades. Ce paramètre, couplé à l'existence d'un dimorphisme sexuel chez de nombreuses espèces de poissons, va avoir un impact important notamment en pisciculture. Par exemple chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), un sexage est réalisé afin d'obtenir des populations de poissons femelles, qui atteignent la maturité sexuelle plus tardivement que les mâles (**Kause;A et Ritola;O et al., 2003**). D'autres élevages privilégient les poissons femelles pour des raisons économiques, autres que la taille des animaux, comme la valorisation des oeufs dans le cas des esturgeons (*Acipenser sturio*). Enfin, pour d'autres espèces, il est plus intéressant de privilégier l'élevage de mâles ; c'est le cas du tilapia (*Tilapia sp.*) pour lequel la croissance des mâles est beaucoup plus rapide que celle des femelles (**Kestemont;P et Micha;JC et al., 1989**). De nombreuses pratiques aquacoles visent à optimiser la croissance des poissons comme l'utilisation d'animaux triploïdes et de dispositifs de lumière artificielle influant sur les taux de maturation sexuelle (**Glebe;B., 2012**).

De façon générale la période de frai ainsi que les saisons influent sur les teneurs en lipides, protéines et la composition en eau du muscle. Ces périodes sont éprouvantes pour les organismes et influencent la qualité des poissons.

## **II.2.3 Composition chimique du poisson :**

La composition chimique est un paramètre qui varie fortement chez les poissons, aucune donnée fixe ne pourra être fournie dans ce développement. Outre l'espèce, de nombreux facteurs peuvent influencer cette composition comme l'âge, l'environnement, la saison, le sexe de l'individu, ou encore l'alimentation qui sera abordée dans un premier paragraphe.

### **II.2.3.1. Importance du régime alimentaire :**

La classification retient quatre grands régimes alimentaires chez les poissons : herbivores, détritivores, omnivores et carnivores.

Les herbivores, comme la carpe chinoise (*Ctenopharyngodon idella*) ou certaines espèces de tilapia, se nourrissent exclusivement de végétaux et débris végétaux. Les détritivores mangent des organismes en décomposition s'est notamment le cas du silure (*Silurus glanis*). Les poissons omnivores, comme la carpe commune (*Cyprinus carpio*) et les cheves-nes (*Squalius salar*), possèdent une alimentation mixte d'origine animale et végétale. Enfin, le régime carnivore est retrouvé chez de nombreux poissons marins, ils se nourrissent d'autres poissons ou d'invertébrés. Bar commun (*Dicentrarchus labrax*) et saumon sont des exemples d'espèces carnivores.

La classification présentée précédemment est à relativiser, en effet il n'existe pas de réel cloisonnement du régime alimentaire, une majorité d'espèces a un régime omnivore selon le principe que « le poisson mange ce qu'il trouve ». De même, le type d'alimentation peut varier au cours de la vie de certains poissons entre les stades larvaires et adultes.

La majorité des espèces issues de l'aquaculture sont herbivores, plus de 50% du tonnage de l'aquaculture mondiale correspondaient aux carpes en 2010 (FAO., 2012). De façon générale, l'aquaculture traditionnelle s'est orientée vers des espèces herbivores ou détritivores généralement d'eau douce. L'aquaculture occidentale s'intéresse plutôt aux espèces carnivores comme le saumon, le bar, la dorade (*Sparus aurata*) ou le turbot (*Scophthalmus maximus*).

Cette aquaculture fait face à plusieurs défis concernant les apports protéiques adéquats pour les poissons (**Hardy ; RW., 1996**). Des études ont permis de répondre à ces défis en modifiant le régime alimentaire de truites arc-en-ciel devenues herbivores en élevage (**Le Boucher;R et al., 2012**).

Les modes de productions de poisson qui viennent d'être décrits vont directement influencer la composition chimique des poissons et donc l'évolution de sa qualité à plus long terme comme cela a pu être montré sur la dorade d'élevage (**Grigorakis;K et Giogios;I et al., 2010**). La question peut également être posée suite à la modification du régime alimentaire des poissons.

### **II.2.3.2 Des lipides caractéristiques :**

Comme le montre le (**Tableau 3**), les lipides comptent parmi les molécules les plus présentes dans la chair du poisson. Il existe des disparités importantes, avec des quantités moyennes généralement comprises entre 1 et 25% (**annexe1**) et des extrêmes allant de 0,1 à 64% (**Stansby; ME., 1962**). Outre l'alimentation, ces fluctuations sont notamment soumises à des paramètres comme la taille de l'individu, son âge, la saison ou encore la zone géographique de la capture. Néanmoins, les poissons sont habituellement répartis en trois classes en fonction de la part de lipides dans le poids total :

- Poissons gras : taux de lipides supérieur à 5% (hareng, sardine, saumon).
- Poissons semi-gras : taux de lipides compris entre 1 et 5% (bar, plie, turbot).
- Poissons maigres : taux de lipides inférieur à 1% (cabillaud, sole, tacaud).

La chair de poisson est caractérisée par des teneurs en acides gras polyinsaturés (AGPI) et monoinsaturés (AGMI) plus importantes au regard de la chair des animaux terrestres. Les AGPI des poissons présentent un nombre d'insaturations élevé, de quatre à six pour plus de 80% des AGPI, contre deux insaturations en moyenne chez les mammifères. Ainsi en alimentation humaine, les acides gras de la série des omégas 3 (n-3) sont apportés en grande partie par la consommation de poissons (**Tocher; DR., 2003**). Les acides gras principaux dans la chair de poisson sont, pour les omégas 3, l'acide eicosapentaénoïque et l'acide  $\alpha$ -linoléique. Concernant les omégas 6 (n-6), il s'agit de l'acide arachidonique (C20 : 4 n-6) ainsi que de son précurseur l'acide linoléique.

Les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique sont qualifiés d'essentiels car ils ne peuvent pas être synthétisés de novo, ils proviennent uniquement de l'alimentation des poissons.

Les lipides jouent donc un rôle double en ce qui concerne la qualité des poissons : qualité nutritionnelles et organoleptiques via les produits de dégradation.

Les acides gras sont retrouvés sous diverses formes au sein du poisson. Les acides gras libres (AGL) issus de la digestion circulent dans le système lymphatique (Sheridan;MA et Friedlander;JK et al., 1985) et le système sanguin pour être acheminés au foie. Les acides gras peuvent également être sous forme de triglycérides, des molécules de réserves. Ceux-ci sont surtout présents au niveau des tissus adipeux, comme le foie, de la région sous-cutanée et de la paroi abdominale des poissons. C'est sous cette forme qu'est stockée l'énergie des muscles rouges (Huss ; HH., 1999). Les AGL participent également à l'élaboration de molécules de structure, les phosphoglycérides. Il s'agit de molécules amphiphiles composées d'un noyau glycérol estérifié à deux AGL et d'un résidu phosphate comprenant la choline, l'éthanolamine, la sérine ou l'inositol. DHA et EPA sont les AGPI majeurs retrouvés au sein des phosphoglycérides du poisson (Tocher;DR et Harvie;DG., 1988). Pour les poissons maigres, les phospholipides majoritaires sont la phosphatidylcholine (PC) et la phosphatidyléthanolamine (PE) représentant respectivement 69% et 19% des phospholipides (Huss ; HH., 1999). D'autres lipides sont rencontrés au sein de la chair de poissons comme les cérides dans les huiles de poisson et provenant de l'alimentation des poissons, les sphingolipides qui jouent un rôle de communication et reconnaissance cellulaire et enfin le cholestérol impliqué dans la fluidité membranaire (Tocher; DR.,2003) (Voet;D et Voet;J.,2005).

Des variations saisonnières importantes des teneurs en lipides des muscles, de la peau et de la tête sont enregistrées (Lohn ; P., 1976). Ces changements sont susceptibles d'impacter directement les qualités organoleptiques des filets.

**Tableau 3 : Principaux composants (en pourcentage) des muscles de poisson.(Stansby ; ME.,1962) (Love;RM .,1980)**

Constituants	Poisson (filets)		
	Minimum	Intervalle moyen	Maximum
Protéines	6	16-21	28
Lipides	0,2	0,2-25	64
Hydrates de carbone		< 0,5	2
Cendres	0,4	1,2-1,5	1,5
Eau	28	66-81	90

### II.2.3.3 Trois grandes classes de protéines :

Représentant en moyenne 15% de la masse totale du filet (**Tableau 3**), les protéines constituent la troisième famille de molécules après l'eau et les lipides au sein du muscle des poissons. Les protéines du poisson renferment la totalité des acides aminés essentiels (**annexe 2**) qui possèdent une haute valeur nutritionnelle.

Les protéines sont regroupées en trois grandes classes (**Mackie ; I., 1997**), avec par ordre d'importance : les protéines structurelles, sarcoplasmiques et du tissu conjonctif.

Les protéines structurelles sont celles intervenant dans les mécanismes de contraction cellulaire comme l'actine ou la myosine. Elles représentent jusqu'à 80% de la fraction protéique totale. Les industriels, en maîtrisant ces conditions, ont su tirer profit de ces propriétés texturantes des protéines structurelles à des fins technologiques, comme pour l'élaboration de bâtonnets de surimi (**Kanda;K et Hanabusa;K et al., 1993**).

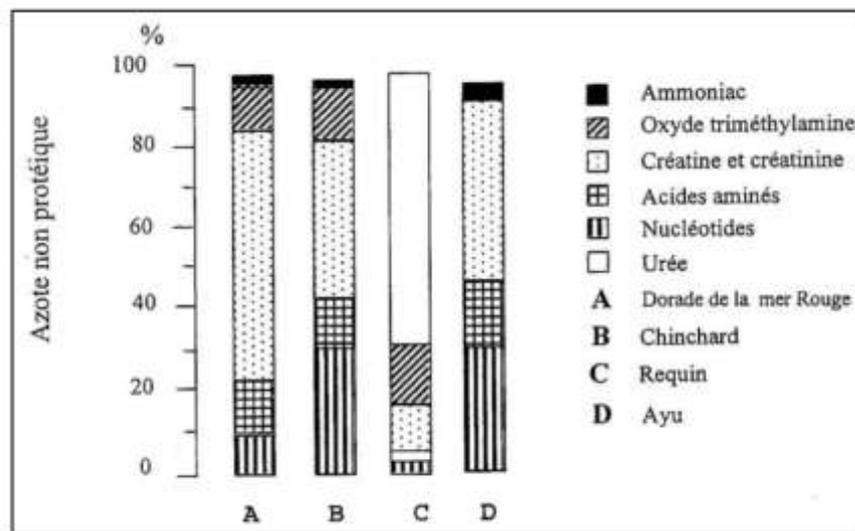
Les protéines sarcoplasmiques comprennent l'ensemble des protéines retrouvées au sein du cytoplasme des cellules et des fluides physiologiques, elles représentent 20 à 30% de la composition totale en protéines. Pendant longtemps, les profils électrophorétiques des protéines solubles dans l'eau ont permis d'identifier les espèces de poisson (**Mackie; I.,1980**), désormais les techniques moléculaires, plus rapides, sont plébiscitées (**Teletchea;F.,2009**).

Les protéines du tissu conjonctif constituent la dernière classe de protéines, il s'agit de molécules de collagènes et correspondent à 3% de la part protéique totale chez les téléostéens et 10% chez les sélaciens (**Huss ; HH., 1999**). Ces protéines sont organisées en réseaux de microfibrilles et très résistantes à la torsion, propriétés conférées par une conformation en triple hélice décrite par (**Bella;J, Eaton;M, Brodsky B et al., 1994**).

Les protéines isolées de co-produits de la pêche et *a fortiori* de poissons sont de plus en plus valorisées suite aux orientations tracées par le parlement européen en matière de non-rejet des poissons capturés accidentellement (**Wisdorff;A et Chaal;N 2013**). Ces protéines trouvent ainsi des débouchés dans différents domaines de l'agroalimentaire (agents texturants, arômes) mais également de l'industrie pharmaceutique (antithrombotiques) (**Kurtovic;I et Marshall;SN., 2013**)

### II.2.3.4 OTMA et autres composés azotés non-protéiques des poissons :

Les composés azotés non-protéiques regroupent toutes les molécules composées d'azote qui sont solubles dans l'eau, de faible poids moléculaire et qui ne sont pas des protéines. Cette fraction d'azote non-protéique (ANP) représente 9 à 18% de l'azote total chez les téléostéens (Huss ; HH., 1999). L'azote non-protéique correspond à des molécules endogènes du poisson ou de molécules issues de la dégradation des tissus (figure 2). Parmi les molécules endogènes sont notamment retrouvées : l'OTMA (oxyde de triméthylamine), la créatine, les acides aminés libres, l'ammoniac et l'urée.

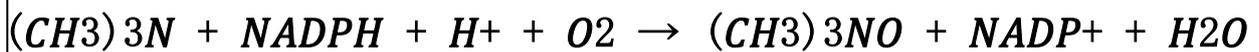


**Figure 2 :** Proportion de six molécules appartenant à l'azote non-protéique dans les muscles de deux poissons téléostéens marins (A et B), d'un sélacien (C) et d'un poisson téléostéen d'eau douce (D). (Suyama;M et Hiran ;T et al.,1977)

L'OTMA est présente dans de nombreuses espèces marines (Hebard;C,Flick;G et al.,1982) à des teneurs allant de 75 à 250 mg pour 100g de chair chez les sélaciens et de 60 à 120 mg pour 100g de chair dans le *cabillaud* (Huss ;HH., 1999). Elle a aussi été retrouvée dans quelques espèces d'eau douce comme la perche du Nil (*Lates niloticus*) et de tilapia provenant du lac Victoria (Anthoni;U, Børresen;T et al., 1990). L'OTMA est de fait reconnu comme une molécule spécifique des espèces marines, comme l'illustre la (figure 2). La présence de cette molécule dans la chair de poisson aurait deux origines selon la littérature : une voie exogène majeure et une voie endogène mineure. La voie exogène correspondrait à la bioaccumulation de la molécule lors de la consommation de zooplancton par le poisson. En effet, le zooplancton oxyderait la triméthylamine (TMA) présent dans les plantes marines, grâce à une TMA monooxydase (Huss ; HH., 1999) selon la réaction décrite sur la (figure 3).

Une synthèse endogène d'OTMA existe, elle a été observée en conditions aseptiques dans le muscle rouge d'espèces pélagiques (**Kawabata ; T., 1953**), cependant sur d'autres espèces comme le cabillaud la voie de synthèse est décrite comme mineure (**Agustsson; I et Strøm; A., 1981**). Cela est dû notamment à une faible spécificité de la mono-oxygénase du foie pour la TMA et une concentration en OTMA stable dans le muscle grâce à l'apport constant de la molécule par l'alimentation. Si l'origine de l'OTMA dans le muscle de poisson est relativement connue, sa fonction au sein du muscle n'est pas réellement comprise, pour cela plusieurs hypothèses ont été formulées (**Sotel ; CG et Rehbein ; H., 2000**) :

- l'OTMA aurait un rôle d'osmorégulation comme cela a été montré sur des téléostéens.
- elle servirait de cryoprotecteur.
- elle n'aurait pas de rôle particulier et serait le fruit de la bioaccumulation.
- elle serait un déchet issu du phénomène de détoxification de la TMA.



**Figure 3** : Equation chimique de l'oxydation de la triméthylamine par action d'une monoxydase NADPH dépendante (**Agustsson; I et Strøm; A., 1981**).

Cette dernière hypothèse est peu probable dans le cas du cabillaud, compte tenu des quantités d'OTMA retrouvées dans la chair de *cabillaud*, alors qu'une très faible activité anabolique endogène a été décrite pour cette molécule (**Agustsson; I et Strøm; A., 1981**).

Au sein de la fraction ANP, d'autres molécules sont retrouvées, comme indiqué ci-dessous

La créatine est le constituant majoritaire de l'ANP (**figure 2**). Elle provient de la dégradation des acides aminés et assure une fonction de réserve en phosphate pour la régénération des molécules d'ATP (**Voet; D et Voet; J., 2005**), sa teneur est associée à celle en créatinine. Leurs teneurs varient en fonction des espèces (**Ikeda ; S., 1980**).

Les acides aminés libres ont également des teneurs variables en fonction des espèces, des tissus et plus particulièrement du type de muscle (**Huss ; HH., 1999**) (**Antoine; F, Wei; C et al., 2001**). La chair des poissons possède des teneurs importantes en histidine, taurine, lysine, glycine et alanine libres (**annexe 3**). La richesse en histidine des tissus est à l'origine du risque d'intoxication à l'histamine.

L'ammoniac et l'urée, son métabolite, sont retrouvées en quantités différentes selon le type de poisson, généralement plus importantes chez les poissons cartilagineux (**annexe 4**). L'urée possède des propriétés osmorégulatrices (**Ip;YK et Chew;SF., 2010**).

La présence de bétaïnes a aussi été décrite, il s'agit de dérivés d'acides aminés, leurs teneurs sont généralement supérieures dans la chair des sélaciens (**Ikeda ; S., 1980**).

En outre d'autres molécules appartenant à la fraction ANP sont retrouvées dans la chair de poisson en cours d'altération : TMA, bases nucléotidiques, amines biogènes. Ces molécules issues de l'ANP auront des conséquences sur la qualité des poissons notamment sur les propriétés organoleptiques et sur la sécurité sanitaire des poissons.

### **II.2.3.5 Vitamines et sels minéraux du poisson :**

Les vitamines sont essentielles pour les organismes vivants, car elles ne peuvent pas être synthétisées de novo. Il existe deux « classes », les vitamines liposolubles comprenant les vitamines A, D, E et K et les vitamines hydrosolubles majoritairement composées des vitamines B et de la vitamine C. La totalité des vitamines est retrouvée dans la chair de poisson, cependant les teneurs varient en fonction des espèces de poisson, de la saison de capture (**Murray;J et Burt;JR ., 1969**) ou du type de tissu. Ainsi, en règle générale, les muscles des poissons gras possèdent des teneurs en vitamines liposolubles plus importantes que celles des muscles du poisson maigre. Des teneurs en vitamines supérieures sont enregistrées dans le foie ou les roques des poissons maigres en comparaison avec celles des muscles ; le foie possédant notamment des teneurs plus importantes en vitamine A et D. Cette forte teneur en vitamines lipophile est expliquée par le fait que le foie est un lieu de réserves lipidiques pour ces espèces. D'un point de vue réglementaire (**The European Parliament et The European Council., 2011**), la chair des poissons, gras notamment, satisfait une grande partie des apports journaliers recommandés (AJR).

La chair de poisson est également composée de minéraux. Ainsi, les cinq minéraux les plus importants au sein de la chair de poisson sont : le calcium, le potassium, le chlore, le soufre et le phosphore. D'autres minéraux comme le zinc, le cuivre ou l'iode sont présents à l'état de traces. En outre, une portion de 100g de poisson couvre les AJR en calcium ou en iode en suivant la réglementation (**The European Parliament et The European Council., 2011**).

Vitamines et minéraux participent donc à la qualité nutritionnelle de la chair de poisson couvrant, notamment dans le cas des poissons gras à une part importante des AJR.

## II.2.4 La flore bactérienne du poisson :

Ce dernier paragraphe sur les aspects biologiques liés aux poissons va s'attacher à étudier la flore bactérienne du poisson vivant. Le premier point à souligner est que, comme tout tissu vivant, le muscle de poisson est complètement stérile grâce à l'action du système immunitaire du tissu musculaire (Huss ; HH., 1999)(Apun ; K, Yusof;AM et al.,1999). Cependant quelques exceptions sont à noter comme les observations de *Vibrio* sontréalisées dans les reins et les foies de turbot (Toranzo ; A et al., 1993) ou de bactéries du genre *Flavobacterium* dans la rate, les reins et le cerveau de saumon (Ekman ; E, Börjeson ; H et al.,1999).

### II.2.4.1.Origine et localisation :

La flore bactérienne du poisson vivant est avant tout issue de son environnement. Laqualité de l'eau de mer a été décrite comme étant un élément influençant la charge microbiennedu poisson notamment à la surface de sa peau (Austin ; B., 2002) ou au sein de l'oeuf etde la larve (Hansen ; G et Olafsen ; J., 1999). Ainsi la qualité microbiologique de l'eau de mer entourantle poisson aura un impact sur la charge bactérienne sur un plan qualitatif et quantitatif.

La flore bactérienne du poisson vivant a fait l'objet d'une revue par (Austin ; B., 2002). Larégion de l'organisme possédant le plus de microorganismes est l'intestin où la charge bactérienne moyenne est d'environ 108 UFC/g pour la flore aérobie et 105 UFC/g pour les anaérobies.Le second tissu le plus colonisé est les branchies ou une charge allant jusqu'à 106UFC/g a été décrite chez les salmonidés (Trust ; T., 1975). Le dernier type de tissus, dans lequelest recensée une flore importante, est la peau des poissons où la charge bactériennemoyenne est de 102 à 104 UFC/cm<sup>2</sup> (Austin ; B., 2002). En outre, des bactéries sont égalementretrouvées au niveau des yeux, des oeufs et des larves de poisson. La colonisation des œufspar les bactéries dès les premiers stades larvaires aurait une influence sur la colonisation etl'établissement d'une flore bactérienne dans l'intestin des poissons (Ringo ; E et Birkbeck ; T., 1999).

Différents paramètres de l'environnement du poisson vont influencer sur la charge microbiennequalitativement et quantitativement.

#### **II.2.4.1.1 La température et la qualité de l'eau :**

Un poisson pêché dans une eau propre et froide aura une charge bactérienne plus faible que dans une eau chaude et polluée (Shewan ; JM., 1977). Ainsi, des charges bactériennes pouvant atteindre 10<sup>7</sup> UFC.cm<sup>-2</sup> ont été mesurées sur la peau de poissons provenant d'eaux chaudes polluées (Huss ; HH., 1999). Shewan a formulé une hypothèse découlant de ces travaux, la charge bactérienne d'un poisson dépendrait plus de la qualité de l'eau environnante que de l'espèce de poisson considérée.

#### **II.2.4.1.2 La profondeur à laquelle le poisson évolue :**

La composition de la flore intestinale de grenadier (*Coryphaenoides*) a montré l'existence d'une flore essentiellement barophile, tolérante des fortes pressions régnant à plus de 3000 m de profondeur (Yano;Y, Nakayama ;A et al.,1995).

#### **II.2.4.1.3 La proximité de la côte :**

Celle-ci induit la présence, au sein de l'eau de mer, de rejets issus de l'activité humaine (domestiques, ruraux et industriels) véhiculés par les eaux fluviales. Ces déchets sont vecteurs d'Enterobacteriaceae qui sont généralement rapidement dissipés (Huss ; HH., 1999). Pour les eaux tropicales, *Escherichia* et *Salmonella* peuvent cependant persister dans l'environnement.

#### **II.2.4.1.4 La saison de pêche :**

La saison de pêche va influencer sur la charge bactérienne du poisson puisque la température de l'eau et l'état physiologique du poisson en dépendent.

## II.2.4.2 Composition de la flore :

Après avoir décrit l'origine et la localisation de la flore bactérienne du poisson, il convient de décrire sa composition. L'étude se focalisera sur la flore bactérienne des poissons issus des mers froides et tempérées. (Shewan ; JM., 1977) a montré que la moitié des poissons étudiés, provenant de mers froides, avaient une flore composée à plus de 80% de bacilles Gram négatifs sur leurs peaux. Comme le montre le (Tableau 4), un consensus existe au sein de la communauté scientifique pour dire que les poissons sont porteurs de bacilles Gram négatifs en grande majorité. Parmi les genres bactériens retrouvés, il y a notamment des *Pseudomonas*, *Moraxella* et *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Shewanella putrefaciens*, ou encore *Aeromonas*.

**Tableau 4 :** Flore bactérienne (Gram négatifs et positifs) retrouvée sur du poisson capturé dans des eaux propres et non-polluées (Huss ; HH., 1999).

Bactéries à Gram négatif	Bactéries à Gram positif
<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Moraxella</i>	<i>Clostridium</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Shewanella putrefaciens</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Coryneformes</i>
<i>Cytophaga</i>	
<i>Vibrio</i>	
<i>Photobacterium</i>	
<i>Aeromonas</i>	

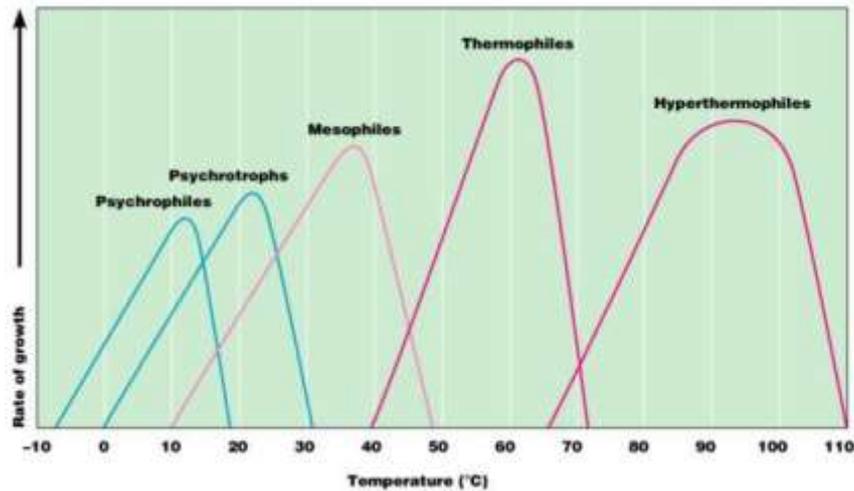
En outre, des bactéries des genres *Vibrio* et *Photobacterium* typiquement marines sont également retrouvées. Avec *S.putrefaciens*, *Vibrio* et *Photobacterium* sont deux genres bactériens nécessitant la présence de sodium pour pouvoir se développer. De façon plus variable des Grams positifs sont également dénombrés sur ces poissons parmi lesquels des *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* ou des *Corynéformes*. La présence de ces organismes semble être le fruit de la pollution de l'eau environnante. Les branchies présentent une flore microbienne sensiblement proche de celle de la peau des poissons, parmi les Grams négatifs et positifs retrouvés (Austin ; B., 2002).

La microflore intestinale est soumise à des variations de sa composition au cours du temps. Ainsi les premiers organismes à coloniser l'intestin des larves de turbot, de dorade et de bar sont majoritairement des membres des genres *Aeromonas* et *Vibrio* (Grisez ; L, Reyniers ; J et al., 1997). Le développement d'une flore intestinale coïncide avec le début de la consommation d'aliments. Il a été montré que la flore intestinale est influencée par le type d'alimentation : la consommation de rotifères et d'artémies ont été respectivement corrélées à *V. anguillarum* et *V. alginolyticus* (Grisez ; L, Reyniers ; J et al., 1997). (Austin ; B., 2002) a recensé au sein du tube digestif des poissons adultes plusieurs genres parmi lesquels *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Carnobacterium*, *Falvobacterium*, *Micrococcus*, *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* et *Vibrio*. Dans l'intestin du poisson des souches probiotiques peuvent également être retrouvées de façon naturelle ou, dans le cas de l'aquaculture, artificiel.

Ainsi une souche de *Carnobacterium inhibens* isolée de saumon a montré une activité antimicrobienne vis-à-vis de *A. salmonicida* et *V. anguillarum* (Jöborn ; A, Dorsch ; M et al., 1999). D'autres souches notamment de *L. rhamnosus* ont également montré des propriétés probiotiques permettant d'augmenter les taux sériques d'immunoglobuline chez la truite arc-en-ciel (Nikoskelainen ; S, Ouwehand ; AC et al., 2003). Le mode de vie du poisson et notamment la migration des poissons peut conduire à une évolution de la flore intestinale (Yoshimizu ; M et Kimura ; T., 1976). Enfin, comme le montre la (figure 4), trois grands types de bactéries sont définis psychrophiles, psychrotrophes et mésophiles, en fonction de leur habilité à croître à des températures plus ou moins faibles. Les psychrophiles sont des organismes adaptés au froid, leur optimum de croissance est proche de 15°C (figure 4), avec une inhibition au-delà de 20°C. Le genre *Photobacterium*, psychrophile, est retrouvé parmi la microflore du poisson. Les psychrotrophes sont des organismes supportant le froid, et capables de se développer à 0°C mais avec un optimum de croissance proche de 25°C (figure 4). La flore des poissons d'eau de mer froide est composée en majorité de psychrotrophes (Huss ; HH., 1999) notamment de *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Vibrio*. Les mésophiles possèdent un optimum de croissance à 37°C avec des extrema de croissance allant de 10°C à 50°C (figure 4). La flore mésophile est généralement présente en proportion plus importante dans les poissons

d'eau chaudes (Huss ; HH., 1999) où elle trouve des conditions thermiques adéquates.

La composition de la flore mais aussi les conditions thermiques favorables à son développement vont influencer sur l'altération des poissons lors de leur conservation.



**Figure 4 :** Classes de microorganismes déterminées par les plages optimales de croissance en fonction de la température.

### III. Evolution post mortem de la chair du poisson :

Après la mort, le tissu musculaire va subir différentes modifications biochimiques liées à l'action autolytique du tissu puis l'action de la flore microbologique.

#### III.1.L'étape de rigor mortis entre changements biochimiques et

##### modifications de la texture :

Le rigor mortis ou rigidité cadavérique est la première modification visible de la chair de poisson observée après sa mort. Cette étape se décompose en trois parties.

La phase de pré-rigor commence dès la mort du poisson, à partir de cette étape plusieurs processus biochimiques s'enclenchent. La rupture de l'approvisionnement en dioxygène conduit à la fin de la régénération des molécules d'ATP par le cycle de Krebs (Campbell ; NA et Reece ; JB., 2004). En anaérobiose, la dégradation du pyruvate conduit à une acidification du tissu suite à la production de lactate conduisant à une baisse de pH du muscle à des valeurs comprises entre 5,4 et 6,1 (Huss ; HH., 1999).

L'installation de la rigor mortis se manifeste au niveau de la tête pour se prolonger ensuite vers la partie caudale du poisson. Une méthode de mesure de l'état de rigor mortis a été développée chez le poisson (Iwamoto ; M, Yamanaka ; H et al., 1987). Selon les conditions de capture, la rigor mortis apparaît d'une à 22 heures après la capture pour se terminer entre 2 et 120 heures après sa prise (Amlacher ; E., 1961). L'installation de la rigor mortis est le résultat de plusieurs facteurs dont l'inhibition des kinases et l'augmentation de la concentration en  $Ca^{2+}$  conduisant à la formation du complexe d'actomyosine (Eckert ; E., 1999). L'apparition de la rigor mortis est soumise à de nombreux facteurs, comme l'état de stress ou le niveau de satiété du poisson, la méthode d'abattage ou encore le type de conservation (Tableau 5).

**Tableau 5 :** Principaux facteurs ayant une influence sur la période écoulée entre la mort du poisson et l'apparition de la rigor mortis (Iwamoto ; M, Yamanaka ; H et al., 1987) (Amlacher ; E., 1961).

Diminution	Augmentation
- Température de conservation élevée pour les poissons non-tropicaux	- Abattage du poisson par administration d'un coup sur la tête
- Poisson affamé	- Poisson reposé
- Poisson fatigué, stressé	- Différence faible entre la température de l'eau et celle de stockage
- Abattage par étourdissement et hypothermie	- Température de conservation élevée pour les poissons tropicaux
- Abattage précédé d'une exposition au monoxyde de carbone ou choc électrique	

A l'issue du rigor, s'ouvre la période de résolution de la rigor conduisant à un ramollissement irréversible de la chair (Mackie ; I., 1997). Ce phénomène résulte vraisemblablement de la libération d'enzymes endogènes comme les cathépsines, calpaïnes et collagénases. Les cathépsines sont des protéases acides thermostables (Ho ; M, Chen ; G et al., 2000), elles interviennent dans la dégradation du complexe d'actomyosine (Jiang ; ST, Lee ; JJ et al., 1996). Les cathépsines B, L et la L-like ont été décrites dans les produits de la mer (Jiang ; ST, Lee ; JJ et al., 1994) (Jiang ; ST., 2000).

Les calpaïnes sont des protéases neutres dépendantes du calcium. Deux calpaïnes principales ont été retrouvées dans le poisson : la  $\mu$ -calpaïne et la m-calpaïne (Chéret ; R, Delbarre-Ladrat ; C et al., 2007).

Cesenzymes ont une action protéolytique sur les myofibrilles, certaines enzymes sarcoplasmiques et les neurofilaments (Ho ; M, Chen ; G et al., 2000)(Jiang ; ST., 2000) conduisant à la formation de polypeptides (Muramoto ; M, Yamamoto ; Y et al., 1989). Enfin les collagénases sont des protéases de pH optimal compris entre 6,5 et 8,0 (Simpson ; BK., 2000). Les collagénases sont de plus petite taille que les cathépsines et les calpaïnes (Park ; PJ, Lee ; SH et al., 2002), elles catabolisent l'assise reliant les fibres musculaires au myocome (Bremner ; HA et Hallett ; IC., 1985).

L'étape de rigor mortis est cruciale dans le déroulement de l'altération. En effet, elle conduit à une modification des conditions biochimiques notamment via la baisse du pH et la rupture de l'intégrité cellulaire. Ceci conduit à l'apparition de nouvelles molécules au sein de la matrice, potentiellement utilisables par la flore d'altération.

### **III.2. Deux voies d'altération conduisant à la dégradation des lipides :**

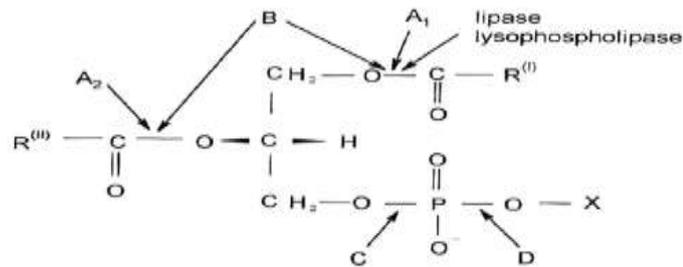
Lors de sa conservation, les lipides du poisson subissent une dégradation via deux processus celui d'hydrolyse enzymatique et celui d'oxydation des AGL.

#### **III.2.1 Dégradation des lipides par hydrolyse enzymatique :**

(Huss ; HH., 1999) a montré l'augmentation d'AGL dans la chair de hareng en cours de conservation, phénomène d'autant plus important chez les poissons non-éviscérés. Ceci a suggéré l'implication d'enzymes intestinales : les phospholipases et les lipases.

Cinq classes de phospholipases ont été décrites (figure 5). Les études concernant la chair de poisson, ayant surtout porté sur les phospholipases A1 et A2. Une activité de la phospholipase A1 a été suggérée dans le muscle de la bonite vraie (*Euthynnus pelamis*) suite à l'augmentation de la teneur en lysophosphatidylcholine dans le muscle (Satouchi ; K, Sakaguchi ; M et al., 1994). Cette enzyme possède une activité maximale pour un pH compris entre 6,5 et 7 et des températures situées entre 20°C et 30°C (Lopez-Amaya ; Cet Marangoni ; A., 2000).

Il convient de noter que de faibles activités ont été enregistrées à températures négatives (**Satouchi ; K, Sakaguchi ; M et al., 1994**). La phospholipase A2 a surtout été étudiée à partir de tissus du système digestif chez plusieurs espèces comme le cabillaud ou encore la truite ((**Lopez-Amaya ; Cet Marangoni ; A., 2000**). Bien qu'une phospholipase A2 isolée de cabillaud active à pH acide ait été décrite (**Aaen ; B, Jessen ; F et al., 1995**), les phospholipases A2 possèdent des caractéristiques identiques selon les espèces de poisson avec une activité optimale entre 30 et 40 °C et un pH entre 8 et 10.

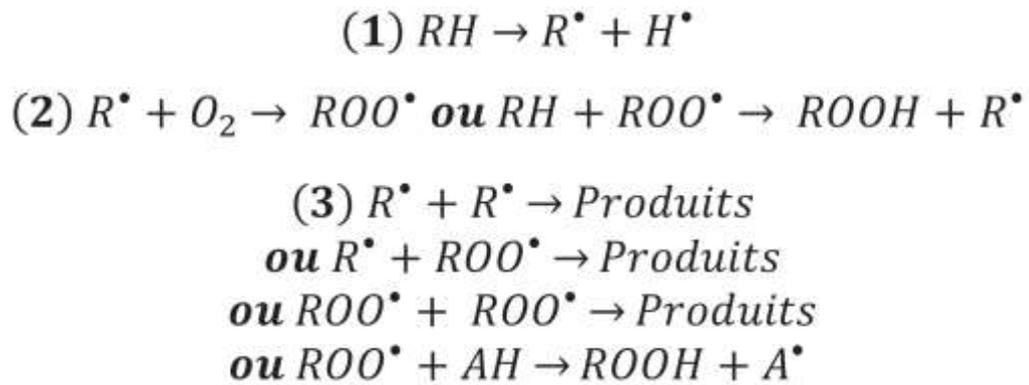


**Figure 5** : Sites d'action potentiels des lipases A1, A2, B, C et D sur une molécule de phospholipide(**Lopez-Amaya ; Cet Marangoni ; A.,2000**).

Les lipases sont quant à elles des enzymes capables d'hydrolyser les triglycérides dont deux types, issus de poissons, ont été décrits : une lipase pancréatique et une enzyme proche de la lipase des mammifères (**Lopez-Amaya ; C et Marangoni ; A., 2000**). Ces lipases ont notamment été isolées dans l'hépatopancréas et le cæcum de truite arc-en-ciel et de sardinelle indienne (*Sardinella longiceps*) pour la première et dans les mêmes tissus d'anchois de Californie (*Engraulis mordax*) ou de saumon rose (*Oncorhynchus gorbuscha*) pour la seconde (**Leger ; C, Bauchart ; D et al.,1977**)(**Leger ; C., 1985**). Comme les phospholipases, ces enzymes sont actives à pH basique avec une activité maximale pour une température supérieure à 30°C, bien qu'une activité ait été décrite pour des températures inférieures à 0°C.

### III.2.2 Autooxydation des acides gras libres :

Les AGPI issus de l'hydrolyse des lipides sont des molécules particulièrement vulnérables à l'oxydation. La présence d'insaturations augmente le potentiel d'autooxydation, proportionnellement au nombre de double liaisons (**Frankel ; F., 2005**). Au contact du dioxygène et en présence de lumière les AGPI s'autooxydent et forment des radicaux libres. Cette réaction est décomposée en trois sous-étapes : initiation, propagation et terminaison (**figure 6**).

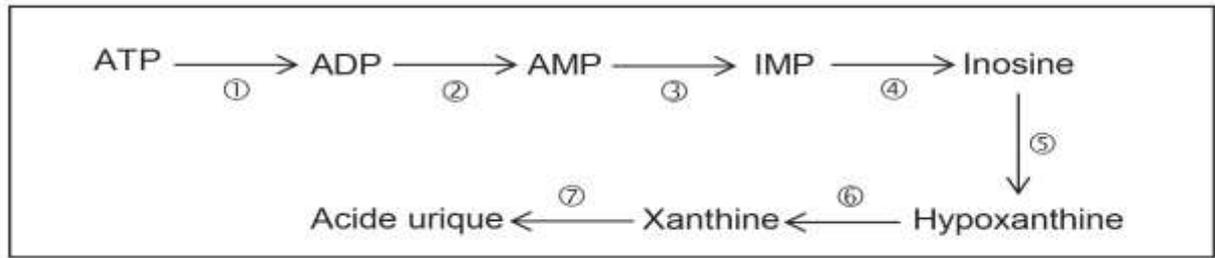


**Figure 6** : Réactions chimiques intervenant dans le processus d'autooxydation. Le processus est divisé en trois étapes d'initiation (1), propagation (2) et terminaison de la réaction (3). (Frankel ; F., 2005)

L'oxydation des lipides conduit à la modification des propriétés organoleptiques, notamment de l'odeur et du goût du poisson, par la production de certains composés qui feront l'objet du Chapitre 3. Enfin les produits d'oxydation des lipides ou les AGL peuvent également influencer sur la qualité du produit via la création de liaison faible avec les protéines et conduire à un brunissement de la chair ou une modification de sa texture (Undeland ; I., 1997).

### III.3. Catabolisme des nucléotides :

Lorsque le terme de catabolisme des nucléotides est utilisé, il sous-entend surtout le catabolisme de l'ATP. Comme vu dans la partie I.1, l'entrée en rigor mortis suit la baisse de concentration en ATP du muscle. Parallèlement à la résolution de la rigor s'engage un processus de dégradation de l'ATP relativement rapide. La chaîne réactionnelle est illustrée sur la (figure 7) et conduit dans un premier temps à l'apparition de deux produits : l'inosine et l'hypoxanthine qui sont les seuls produits retrouvés dans le poisson en cours d'altération. En effet (Henehan ; G, Proctor ; M et al., 1997) notent que la dégradation de l'hypoxanthine et la xanthine sont des processus plus lents, ne survenant que dans les phases avancées d'altération du poisson. Cette voie catabolique s'applique à la plupart des espèces de poissons, mais des essais de modélisation ont montré qu'une partie de l'inosine et de l'hypoxanthine disparaissait dans le muscle, un phénomène de lixiviation pouvant expliquer les pertes (Howgate ; P., 2006).



**Figure 7 :** Représentation schématique des réactions de dégradation de l'ATP et de ses métabolites. Avec 1 : ATPase, 2 : Myokinase, 3 : AMP désaminase, 4 : IMP phosphohydrolase, 5 : Nucléoside phosphorylase ou Inosine nucléosidase, 6 et 7 : Xanthine oxydase (Henehan ; G, Proctor ; M et al., 1997) (Huss ; HH., 1999).

(Henehan ; G, Proctor ; M et al., 1997) rapportent une évolution de la dégradation des nucléotides corrélée à l'état d'altération du poisson, il s'agit donc de marqueurs d'intérêt pour l'évaluation de l'altération du poisson. Ces auteurs indiquent un faible impact de ces catabolites sur les propriétés organoleptiques du poisson, néanmoins une étude menée a montré un lien entre la teneur en hypoxanthine et le développement d'une saveur amère chez le hareng altéré (Hughes ; R et Jones ; N., 1966). De même, il existerait un lien entre la teneur d'IMP, la flaveur de fraîcheur du poisson et la saveur umami (Huss ; HH., 1999) (Kawai ; M, Okiyama ; A et al., 2002).

Plusieurs facteurs influencent les taux de catabolites ainsi que leurs taux de conversion : l'espèce de poisson, la flore bactérienne ou encore les conditions de manutention (Howgate ; P., 2006).

#### III.4. Deux voies de réduction de l'OTMA :

Comme vu précédemment, l'OTMA est une molécule présente dans le muscle du poisson, cette molécule peut être catabolisée selon deux voies métaboliques.

### III.4.1 Décomposition par voie autolytique :

Une première voie de dégradation de l'OTMA vient de l'action d'une enzyme endogène appelée OTMA déméthylase ou OTMAase (EC 4.1.2.32). Cette enzyme catalyse la réaction illustrée sur la **(figure 8)** conduisant à la production de diméthylamine (DMA) et de formaldéhyde en proportions équimolaires (**Nielsen ; GS et Poll ; L., 2004**). Cette réaction est surtout rencontrée lors de la surgélation de poisson à des températures trop élevées, mais elle a également lieu dans le poisson frais, la DMA étant un potentiel marqueur de fraîcheur (**Olafsdottir ; G et Jonsdottir ; Ret al., 2010**). La libération de formaldéhyde au sein du muscle conduit à un durcissement de la chair du poisson et une diminution des capacités de rétention en eau. Cette modification des propriétés du muscle fait suite notamment à la formation de liaisons transversales entre les myofibrilles (**Huss ; HH., 1999**) (**Nielsen ; GS et Poll ; L., 2004**) notent que les niveaux de formaldéhyde ne dépassent que rarement le niveau acceptable de cette molécule pour des denrées alimentaires.



**Figure 8** : Equation chimique de la réduction de l'OTMA en DMA et formaldéhyde par l'action de l'OTMA déméthylase.

La présence de l'OTMA déméthylase au sein de la chair de poisson a été décrite dans de nombreuses espèces de poissons et particulièrement au sein des tissus des Gadiformes (**Sotelo ; CG et Rehbein ; H., 2000**). La présence de l'OTMA déméthylase est loin d'être constante au sein des espèces de poisson et serait soumise à de nombreux facteurs, ainsi le sexe, l'âge, la température ambiante ou l'état de satiété sont autant de facteurs ayant un impact sur la quantité d'enzymes présentes. Certains organes, notamment les reins et la rate, ont été décrits dans la littérature comme ayant une importante activité de l'OTMA déméthylase. D'autres tissus comme les muscles et le sang présentent une activité plus faible (**Sotelo ; CG et Rehbein ; H., 2000**). L'existence d'une activité importante de cette enzyme au sein des reins pose problème lors de l'opération de filetage. En effet, cet organe est situé le long de l'arrête centrale et son intégrité peut être touchée lors du processus de désarêtage libérant l'enzyme au sein du muscle (**Huss ; HH., 1999**).

D'un point de vue biochimique, l'enzyme est dépendante de l'action de plusieurs cofacteurs et inhibiteurs de natures diverses dont une liste non exhaustive est donnée sur le **(Annexe 5)**. Deux systèmes de cofacteurs coexisteraient, l'un nécessitant des conditions d'anaérobiose et utilisant le NADH, le NADPH ou la riboflavine comme cofacteurs et le second indépendant de la présence de dioxygène utiliserait l'ion ferreux et la cystéine comme cofacteurs.

En outre, l'existence de molécules inhibitrices et de cofacteurs rencontrés habituellement dans des réactions d'oxydoréduction suggèrent un mécanisme réactionnel faisant intervenir un transfert électronique **(Sotelo ; CG et Rehbein ; H., 2000)**. La présence de l'OTMA déméthylase dans le milieu fait suite au relargage de l'enzyme après rupture des membranes cellulaires **(Huss ; HH., 1999)**. La particularité de cette enzyme est son excellente thermostabilité à température négative. En effet, plusieurs auteurs ont montré une instabilité jusqu'à  $-29^{\circ}\text{C}$  **(Sotelo ; CG et Rehbein ; H., 2000)**, avec une décroissance de l'activité lors de l'abaissement de la température. Enfin l'enzyme possède une activité maximale dans la zone de pH post-mortem.

### **III.4.2 Réduction via l'activité microbienne :**

Un second type de dégradation de l'OTMA résulte de l'activité microbienne et l'action d'une enzyme microbienne l'OTMA réductase (EC 1.6.6.9). Cette enzyme catalyse comme son nom l'indique une réaction de réduction de l'OTMA présentée sur la **(figure 9)** Cette enzyme est exprimée par de nombreuses bactéries présentes au sein de la flore d'altération du poisson dont notamment les genres *Photobacterium*, *Vibrio*, *Shewanella*. Ces bactéries utiliseraient l'OTMA comme accepteur final d'électron lors de la respiration anaérobie **(Huss ; HH., 1999)** ceci expliquant l'amélioration de leur croissance en conditions anaérobies (Dos Santos et al. 1998). La réduction de l'OTMA conduit à la formation de TMA qui impacte les propriétés organoleptiques par la modification de l'odeur du poisson. En effet, la TMA est responsable de la note ammoniacale caractéristique du poisson altéré **(Olafsdóttir ; G et Fleurence ; J., 1997)**. Concernant les propriétés biochimiques de cette enzyme, l'OTMA réductase nécessite la présence de molybdène qui est son cofacteur. Cette enzyme, synthétisée par des espèces bactériennes psychrophiles et psychrotrophes est active à des températures de réfrigération.



**Figure 9** : Equation chimique de la réduction de l'OTMA en TMA et en eau par l'action de l'OTMA réductase

### III.5 Evolutions microbiologiques :

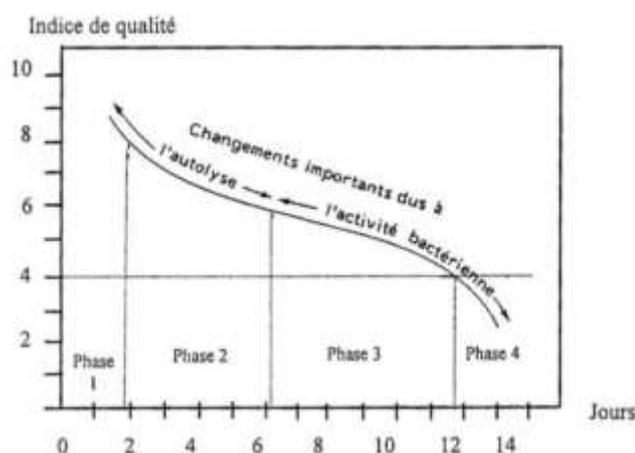
Si les muscles des poissons vivants sont globalement stériles, la mort des poissons va voir se développer une colonisation progressive du muscle par les bactéries notamment celles de la flore commensale du poisson (**Ruskol ; D et Bendsen ; P., 1995**). Ceci est explicable par l'abolition des défenses immunitaires enregistrée au sein du tissu des poissons morts.

#### III.5.1 Une évolution de la microflore soumise à de nombreux facteurs :

Si la microflore environnant le poisson est composée de nombreux genres et espèces bactériennes, tous ne vont pas participer à l'altération du poisson après sa mort. Le premier concept important lors de l'évocation des aspects de microbiologie et de conservation de la chair de poisson, est la notion de flore d'altération. Celle-ci correspond à la communauté bactérienne retrouvée au sein de la chair lors du processus d'altération, plusieurs microorganismes sont retrouvés dont les *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Lactobacillus*, *Photobacterium*, *Carnobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium* et *Vibrio* (**Gram ; L et Dalgaard ; P., 2002**). La composition exacte est soumise premièrement aux variations de facteurs extrinsèques tels que les conditions de transformation, le temps et les conditions de stockage. Dans un second temps, des facteurs intrinsèques vont également influencer la composition de la microflore tels que la qualité initiale des poissons, le pH post-mortem ou la présence de quantités importantes d'azote non-protéique (**Gram ; L et Huss ; HH., 1996**). Une microflore essentiellement bactérienne se développe sur le poisson en cours d'altération, utilisant les ressources de leurs environnements. La microflore a un impact sur deux aspects sensoriels : l'odeur et l'aspect visuel de la chair (**Tableau 6**). Il est reconnu dans la littérature que l'altération du poisson et la diminution de la qualité du poisson sont d'abord dues dans un premier temps au phénomène d'autolyse puis dans une seconde phase à l'activité bactérienne (**figure 10**), qui utilise les molécules issues de l'autolyse comme source de nutriments.

**Tableau 6 :** Récapitulatif des principales activités de la flore microbienne du poisson et de leurs conséquences d'un point de vue sensoriel (Gram ; L et Huss ; HH.,1996).

Activités bactériennes	Conséquences sensorielles
Catabolisme des nutriments	Production de gaz, de mauvaises odeurs.
Production de polysaccharides extracellulaires	Formation d'un mucus
Synthèse de pigments	Présence de colonies visibles
	Décoloration/Coloration de l'aliment



**Figure 10 :** Diminution de l'indice de qualité de cabillaud conservé à 0°C. Les causes majeures de l'altération sont données pour les phases considérées (Huss ; HH., 1999).

D'un point de vue cinétique, une phase de latence très courte est observée pour la flore bactérienne composant les poissons des eaux froides ou tempérées (Huss ; HH., 1999), en effet cette flore, majoritairement psychrophile ou psychrotrophe, n'aurait pas besoin d'une période d'adaptation lors du stockage à froid. Comme le montre la (annexe 6), la charge bactérienne d'un poisson en cours d'altération est de l'ordre de  $10^8$  UFC/g après 10 jours de stockage avec un gain moyen de l'ordre de cinq logarithmes sur cette même période.

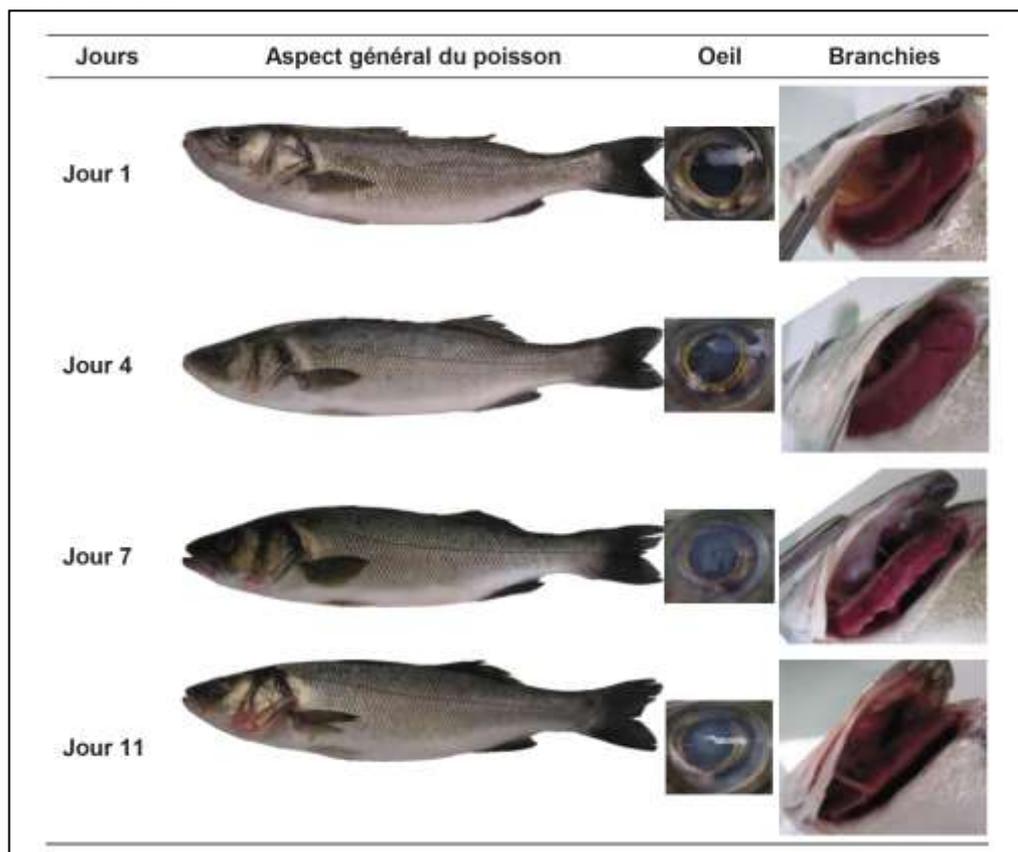
### III.5.2 Importance de la notion d'organisme spécifique d'altération :

Le second concept important dans l'altération du poisson est celui d'organisme spécifique d'altération qui a été décrit dès la fin des années 1980 (Gram ; L, Trolle ; G et al., 1987) et précisé dans le courant des années 1990 (Dalgaard ; P., 1995). Il s'agit d'une fraction de la flore d'altération présente initialement dans le poisson, généralement une seule espèce bactérienne, qui prend de l'importance au sein de la microflore en cours de processus d'altération et, est à l'origine de la synthèse de métabolites d'altération (Gram ; L et Dalgaard ; P., 2002). La caractérisation de ces organismes spécifiques est réalisée en étudiant les corrélations entre des numérations bactériennes et des observations sensorielles ou des mesures de molécules indicatrices d'altération comme la TMA, l'H<sub>2</sub>S, le méthanthiol ou l'ammoniac (Dalgaard ; P., 1995)(Gram ; L et Huss ; HH., 1996)(Gram ; L et Dalgaard ; P., 2002). Plusieurs organismes spécifiques d'altération ont été décrits dont notamment *S. putrefaciens* et *P. phosphoreum* pour les eaux froides et les bactéries lactiques pour les poissons de Méditerranée (annexe 7).

Longtemps décrit comme une espèce, *S. putrefaciens* est plus spécifiquement un groupe bactérien (Ziemke ; F, Höfle ; MG, et al., 1998) ces membres possédant des phénotypes différents alors que des similarités sont observées d'un point de vue génotypique (Helgason ; E, Økstad ; OA et al., 2000). Les membres du groupe *S. putrefaciens* constituent la flore d'altération lors de la conservation du poisson sous glace fondante en conditions aérobies, alors que c'est *P. phosphoreum* qui est surtout retrouvé lors de la conservation en barquette sous atmosphère modifiée. Les membres du groupe *S. putrefaciens* ont également été décrits comme étant les organismes spécifiques d'altération des poissons marins tropicaux (Gram ; L et Huss ; HH., 1996). De façon générale, les poissons d'eau douce et les poissons tropicaux conservés sous atmosphère modifiée seraient surtout altérés par l'action de bactéries lactiques (Gram ; L et Huss ; HH., 1996).

Comme le montre la (figure 11), le seuil de rejet du poisson par les analyses sensorielles est enregistré lorsque la charge d'organisme spécifique d'altération approche les 108 UFC/g en fin de phase exponentielle, composant la quasi-totalité de la flore bactérienne présente sur le poisson. En réalité, selon l'organisme considéré la charge s'étend entre 107 UFC/g pour *P. phosphoreum* et 108 – 109 UFC/g pour *S. putrefaciens* (Dalgaard ; P., 1995). Cette étape marque également le

maximum de production de molécules indicatrices d'altération (TMA, H<sub>2</sub>S, etc.) induisant les changements sensoriels.



**Figure 11** : Evolution visuelle de l'apparence globale de bars communs, de la transparence de leurs rétines et de l'aspect des branchies.

#### IV. ORIGINE DE LA CONTAMINATION :

Le milieu aquatique est susceptible à tout moment d'être pollué (GACHE ; G., 1996). En conséquence, la bactériologie des produits de la pêche est d'abord le reflet de cette pollution. Elle est ensuite fonction des conditions d'entreposage et de conservation des produits depuis leur capture jusqu'à leur commercialisation (CHAUVIN ; JAB., 1960).

Les produits de la mer (poissons et fruits de mer) sont protégés de leur vivant par leur épithélium cutané. Lorsqu'ils meurent, les bactéries envahissent le muscle et peuvent engendrer une détérioration de leur qualité. Cette contamination bactérienne résulte de la présence dans les voies branchiales, digestives et même cutanées de germes nuisibles capables de provoquer des

maladies chez le consommateur et susceptibles d'altérer ces denrées (**DEKINKELIN ; P, MICHEL ; CH et al., 1985**).

Le tube digestif constitue la localisation la plus importante par la quantité et la variété des germes.

Selon (**ROZIER ; J, CARLIER ; Fet al., 1985**), (**BOURGEOIS ; CM et LEVEAU ; JY., 1980**), cette contamination a deux origines :

- une origine primaire ou endogène
- une origine secondaire ou exogène

#### **IV.1 .Contamination primaire ou endogène :**

La contamination primaire est celle qui survient du vivant de l'animal. Elle est essentiellement le fait des bactéries propres aux poissons. Selon (**CHANTEGRELET, FLACHAT ; Ch et al., 1970**), la totalité des tissus, organes est contaminée lors d'infections généralisées ou d'affections localisées accompagnées de réactions générales de l'organisme avec bactériémie.

Selon (**BOURGEOIS ; CM et LEVEAU ; JY., 1980**), les micro-organismes rencontrés dans l'intestin du poisson sont sensiblement les mêmes que ceux isolés dans l'eau où il a été pêché.

##### **IV.1.1 Localisation des bactéries des produits de la pêche :**

La localisation des bactéries des produits de la pêche a une tendance plutôt élective. C'est surtout dans le mucus de la peau, des branchies et dans le tube digestif que se rencontrent les bactéries.

Selon (**DHAOUI ; S**), les charges bactériennes moyennes pour le poisson venant d'être capturé varient de :

- $10^2$  à  $10^5$  germes par  $cm^2$  pour la peau
- $10^3$  à  $10^7$  germes par gramme pour les branchies
- $10^3$  à  $10^8$  germes par gramme pour le contenu intestinal.

Les diverses espèces bactériennes prolifèrent après la mort du poisson vers les tissus les plus fragiles (le sang, le foie puis le rein) mais également vers tous les éléments proches des branchies et du tube digestif.

#### **IV.1.2 Nature de la flore bactérienne du milieu aquatique :**

Le milieu aquatique présente une flore bactérienne très variée que l'on peut regrouper en 3 classes en fonction de sa nature (GUIRAUD ; J et GALZY ; P., 1980).

- germes typiquement aquatiques
- germes telluriques
- germes de contamination humaine et animale

##### **IV.1.2.1 Germes typiquement aquatiques :**

Ce sont des bactéries qui présentent un métabolisme adapté aux conditions de vie de ce milieu.

Les principaux germes rencontrés appartiennent généralement aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*.

En effet, ces constatations rejoignent les travaux réalisés par (BRISOU ; J., 1955), (BILLON ; J., 1976) et (HUSS ; H., 1988) qui ont montré que le milieu aquatique est surtout composé de bacilles psychotropes à Gram -, aérobies ou anaérobies facultatifs avec en particulier les genres *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Vibrio*. Elles représentent 95 % de la flore totale du milieu aquatique.

##### **IV.1.2.2 Germes telluriques :**

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

##### **IV.1.2.3 Germes de contamination humaine et animale :**

Ce sont des germes commensaux de l'intestin de l'homme ou des animaux (ROZIER ; J, CARLIER ; Fet al., 1983).

Cette flore est composée généralement de germes saprophytes (Bactéroïdes, flore lactique) et de germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires (*Salmonelles*, *Clostridium*).

En effet, le milieu aquatique est surtout composé des espèces bactériennes pathogènes provenant de la pollution des eaux en raison du nombre suffisamment élevé de malades, porteurs sains, convalescents ou guéris. (OGER ; C, PHILIPPE ; A *et al.*, 1974), (RENAULT ; GML., 1977) et (GUIRAUD ; J et GALZY ; P., 1980)

## **IV.2 Contamination secondaire ou exogène :**

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

Il en résulte un transfert suffisamment élevé de germes de contamination humaine vers le produit.

Ce transfert fait intervenir deux types de vecteurs selon (ROZIER ; J, CARLIER ; F *et al.*, 1985) :

- Vecteurs animés
- Vecteurs inanimés

### **IV.2.1 Vecteurs animés de la contamination :**

Les vecteurs sont des agents de contamination ou des éléments de transfert des germes de certains sites jusqu'à l'aliment.

#### **IV.2.1.1 Homme :**

C'est le principal agent responsable des contaminations, soit directement ou indirectement par manipulations défectueuses des vecteurs inanimés. Après sa capture, lors des manipulations, le poisson va être colonisé par des contaminants de l'environnement humain (PETIT ; A., 1987).

Selon HOBBS cité par (SEYDI ; Mg., 1982), l'homme constitue la source la plus fréquente de contamination exogène des denrées alimentaires d'origine animale.

(ROZIER ; J., 1986) montre que l'ouvrier dans les industries agro-alimentaires doit être considéré comme le principal réservoir des germes très nocifs.

Parmi ceux-ci figurent les agents de la plupart des toxi-infections, ainsi que d'autres tels que *Escherichia coli*, qui sont faciles à mettre en évidence et de ce fait, sont considérées comme des témoins de contamination fécale, à savoir des manipulations malpropres. Par conséquent, l'homme chargé de la préparation, de la manipulation, de la récolte et de la commercialisation des denrées alimentaires est responsable de ces contaminations directes et indirectes du produit.

Il intervient de 2 manières :

- comme vecteur actif
- comme vecteur passif

#### **IV.2.1.1.1. Homme, vecteur actif :**

Le rôle de l'homme comme vecteur actif s'explique par le fait qu'il est un réservoir abondant de micro-organismes divers. " intervient comme porteur sain, chronique, malade ou convalescent.

Ainsi, les personnes atteintes en particulier, d'affections des voies respiratoires (rhume, angine, sinusite, trachéite, bronchite, pneumonie) et de la peau (plaies suppurées, abcès, furoncles), constituent les principaux vecteurs actifs de la contamination.

Même en dehors de toute maladie apparente, l'homme porte au niveau de sa peau et de ses muqueuses, des agents bactériens qui peuvent souiller les produits alimentaires ; il s'agit le plus souvent de staphylocoques.

Les germes cutanés se réfugient dans les glandes sudoripares et dans les follicules pileux. Même un lavage soigneux à l'aide d'un antiseptique est incapable de les déloger de ces refuges.

#### **IV.2.1.1.2. Homme, vecteur passif :**

Tous les professionnels, qui manipulent le poisson, peuvent jouer le rôle d'agents passifs de souillure de ces produits, par l'intermédiaire de leurs mains sales au contact des matières souillées, par leurs vêtements mal entretenus, par leurs bottes, leurs gants... Ainsi, pour peu que les règles d'hygiène soient négligées, on assiste à un ensemencement des produits sains par des germes provenant d'autres produits (**DEWIT ; JC et KAMPELMACHER ; EH., 1981**).

L'application des règles d'hygiène sur toute la chaîne de production permet de réduire considérablement les proliférations bactériennes dangereuses dans les denrées alimentaires.

#### IV.2.1.2 Animaux :

Selon (SEYDI ; Mg., 1982), à côté de l'homme principal vecteur animé de la contamination, les animaux domestiques (chiens et chats), les rongeurs (rats et souris), les reptiles (lézards et margouillats) ainsi que les insectes (mouches) peuvent constituer des réservoirs pour des germes divers (*Staphylocoques*, *Streptocoques*, *Salmonelles*).

Selon (ROZIER ; J, CARLIER ; F et al., 1985), la peau des animaux est recouverte de  $10^{E3}$  à  $10^{E9}$  germes par  $cm^2$ , ce qui réaôit alors la contamination.

Le rôle des animaux et de l'homme comme agent de la contamination est bien connu de nos jours. C'est ce qui justifie selon (OUTTARA ; B., 1986) la rigueur des règles d'hygiène dans les marchés et dans les industries de traitement des produits de la pêche : lutte contre les mouches, port de gants et de masques.

#### IV.2.1.3 Vecteurs inanimés de la contamination :

Il s'agit des facteurs de l'environnement et de tous les instruments qui entrent en contact avec les produits tout au long de leur vie économique.

- L'air-le sol-l'eau- Les locaux- Le matériel

### V. Conséquences de la contamination des produits de la mer :

#### V.1 Altérations :

L'altération superficielle et profonde associent leurs effets pour transformer les caractères du produit.

Ces effets provoquent des modifications localisées ou généralisées des caractères organoleptiques (aspect, consistance, texture, couleur, odeur et goût), entraînant ainsi une perte de la qualité marchande des poissons. En effet, ces altérations sont généralement à prédominance bactérienne (LEDERER ; J., 1978).

Selon (ROZIER ; J, CARLIER ; F et al.,1985), les filets de poisson subissent au froid une évolution comparativement plus rapide sur la chair que sur les surfaces tégumentaires restantes. Conditionnés sous vide, l'évolution est modifiée et ralentie mais le danger de prolifération de *Clostridium botulinum* type E est accru. Le germe toxigène non-gazogène se multiplie. Pour toute température supérieure à + aoc sans modifications des caractères organoleptiques et sans rupture du vide.

## V.2 Accidents alimentaires :

Les bactéries pathogènes des produits de la pêche et/ou leurs toxines provoquent généralement par ingestion des toxi-infections alimentaires, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*

Les accidents alimentaires sont par conséquent à l'origine de la perte de la sécurité alimentaire.

## Chapitre (II) : Les entérobactéries.

### I. Microorganismes recherchés dans les aliments.

Trois types de microorganismes sont conventionnellement recherchés, lors de l'analyse microbiologique des denrées alimentaires. Il s'agit des microorganismes :

#### I.1 Responsables de l'altération :

Parmi les microorganismes responsables de l'altération des aliments, se trouvent la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) et la Flore Fongique constituée par les Levures et Moisissures.

#### I.2 Des microorganismes indicateurs de la contamination fécale :

Les microorganismes dits indicateurs de contamination fécale sont les Coliformes Totaux et les Coliformes Fécaux.

#### I.3 Des microorganismes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires :

Les microorganismes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires sont les Anaérobies Sulfite-réducteurs (ASR), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus*. (Anonyme.,1978).

### II. Indicateurs de contamination fécale.

Parmi les germes décrits dans les fèces humaines et animales, 3 groupes bactériens ont été rapidement sélectionnés comme indicateurs de contamination fécale en raison de leur omniprésence dans la microflore intestinale et de leur facilité de dénombrement :

-les entérobactéries coliformes d'origine fécale.

-les streptocoques fécaux ;

-*Clostridium pefringens* (remplacé par la suite par les spores d'anaérobies (sulfite-réducteurs).

(POURCHER ; AM., 1991)

### III. Les entérobactéries.

#### III.1 Définition :

La famille des entérobactéries comprend d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces. Ce sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire. Ils sont dépourvus d'oxydase et ont la faculté de fermenter le glucose, mais aussi de réduire les nitrates en nitrites. Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases) (BADRI ; N et NECIB ; T., 2016).

#### III.2 Taxonomie :

Les entérobactéries appartiennent au règne des Bacteria, à l'embranchement des *Protéobacteria*, à la classe des Gamma (-)protéobacteria à l'ordre des *Enterobacteriale* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme et ou génotypiques (ribotypage, hybridation ADN/ADN). Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en 4 tribus *Escherichia*, *Klebsiellae*, *Proteae* et *Yersinia* (Denis ; Fet Ploy ; MC., 2007).

#### III.3 Habitat.

Les Entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive (Drame ; B., 2001).

On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (Gueye ; O., 2007).

### III.4 Classification.

La famille des Enterobacteriaceae comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. Cette classification est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau 7** : les principaux groupes des entérobactéries (Perriere ; G.,1992).

Groupes	Familles	Genre	Espèces
GROUPE I	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
GROUPE II	<i>Escherichieae</i>	<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>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
GROUPE III	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE IV	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

### III.5 Caractères cultureux.

Les entérobactériaceae se développent bien dans un bouillon ou sur gélose ordinaire incubé 18 heures à 37°C. Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

- Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides elles ont 2 à 4 mm de diamètre.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
  - En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
  - Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10 mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi B*.
  - Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leur chaîne métabolique. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (Avril ; JL et al., 2000).

### III.6 Caractérisation antigénique des espèces.

L'identification des entérobactériaceae se fait par l'étude des caractères biochimiques. La détermination du sérotype ne peut être entreprise que pour des souches dont l'identification est certaine. Toute autre façon de faire ne peut qu'entraîner des erreurs du fait d'agglutinations croisées non spécifiques (Avril ; JL et al., 2000).

#### III.6.1 Antigènes O

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide. Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée (Avril ; JL et al., 2000).

### III.6.2 Antigènes H

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

Les réactions d'agglutination se produisent et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation. (Avril ; JL *et al.*, 2000).

### III.6.3 Les Antigènes K

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharide. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines salmonelles ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O ils sont détruits par une ébullition de 2 heures. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99) (Avril ; JL *et al.*, 2000).

### III.6.4 L'antigène Kunitz

Cet antigène commun des *Enterobacteriaceae* n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (Avril ; JL *et al.*, 2000).

## IV. Les entérobactéries coliformes d'origine fécale.

Le terme d'entérobactéries coliformes a été proposé par Breed et Norton en 1937 pour désigner les bactéries fermentant le lactose, recherchées comme indicateurs de pollution fécale. La définition de ce groupe de germes selon les normes ISO (International Organization for Standardization) comprend des bactéries Gram négatives, non sporulées, oxydase négatives, anaérobies ou aérobie facultatives, capables de se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface ayant les mêmes propriétés, capables de fermenter le lactose avec production de gaz et d'acide en 48 heures à une température de 35-37°C (à 0,5°C).

Jusque dans les années 1970, les espèces appartenant à ce groupe et identifiées à l'aide des tests IMViC (indole, rouge de méthyl, Voges Proskauer, citrate) comprenaient principalement *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus* et *Citrobacter amalonaticus*.

Avec les nombreux travaux de (GAVINI ; F, FERRAGUT et al., 1979) (IZARD ; D, GAVINI et al., 1980). Le nombre d'espèces a considérablement augmenté, modifiant la composition des entérobactéries coliformes. Les principales espèces bêta-galactosidase+ (fermentant ou non le lactose) sont reportées dans (annexe 8).

L'analyse des écosystèmes telluriques et aquatiques a révélé la présence d'espèces répondant à la définition des entérobactéries coliformes sans pour autant avoir une origine fécale, aussi, l'intérêt sanitaire de ce groupe de germes dans les eaux a-t-il été remis en question par (OGER ; C., GAVINI ; F., et al., 1981), (LAVOIE ; MC., 1983).

En effet parmi ces bactéries, seules les espèces ayant une origine exclusivement intestinale peuvent être considérées comme indicatrices de pollution fécale. Le groupe des entérobactéries coliformes a donc été réduit aux coliformes dits "fécaux" qui se différencient des entérobactéries coliformes de l'environnement par un test de température puisque les germes d'origine supposée fécale, mésophiles se multiplient à des températures plus élevées que ceux d'origine tellurique ou aquatique, psychrotrophes (OGER ; C., GAVINI ; F., et al., 1981).

Actuellement, la norme AFNOR (Association Française de Normalisation) applicable à l'eau de consommation préconise la recherche des germes se développant à une température de 44°C (dits "coliformes thermotolérants"). Néanmoins, le choix de cette température est controversé (LECLERC ; H., GAVINI ; F et al., 1983) car elle élimine beaucoup de souches d'origine fécale (OGER ; C et LECLERC ; H., 1977). De plus, certaines souches de *K.pneumoniae* provenant de déchets d'usines de papeteries seraient capables de se développer à cette température (DUNCAN ; DW et RAZZELL ; WE., 1972). D'après (LECLERC ; H., GAVINI ; F et al., 1983) une température de 41°C semblerait plus adéquate puisqu'elle permet la culture de toutes les souches fécales.

Finalement, devant ces difficultés à définir les indicateurs parmi les entérobactéries coliformes, certains auteurs (**Dufour ; ap.,1977**), de plus en plus nombreux ont proposé de restreindre la recherche d'indicateurs à *E.coli* dont l'origine fécale est indiscutable et qui représentent plus de 97% et 90% des coliformes isolés respectivement des fèces humaines et animales (**GELDREICH ; EE.,1978**).

Cette espèce est communément caractérisée par la production de gaz d'indole à partir du tryptophane à 0 C (**Dufour ; ap., 1977**) bien qu'il existe certaines souches de *E.coli* (environ 10%) qui ne répondent pas à cette définition (**BUESCHKENS ; D.H et STILES ; ME.,1984**).

## Chapitre III : *Escherichia coli*.

### I. I.GENERLIITE :

#### I.1 . Définition :

*Escherichia coli* appelée aussi colibacille, est une bactérie en forme de bâtonnet, Gram négatif, présente de façon naturelle dans le tube digestif de l'être humain et de nombreux animaux. Elle est en temps normal non pathogène, mais peut le devenir dans certaines conditions. *E. coli* possède un génome à ADN double brin circulaire de 4,6 millions de paires de bases, qui est entièrement séquencé (Université Pierre et Marie Curie., 2003).

#### I.2 Historique :

*E. coli* a été mise en cause pour la première fois dans l'étiologie de l'entérite infantile lorsque Théodore Escherich isola ces micro-organismes lors de cas de diarrhée de nourrissons en 1885. Durant les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques d'*E. coli* responsables des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kauffmann, dans les années 1940, d'un schéma de sérotypes précis (Who ., 1980).

Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles(Kaper ; JB1, Nataro ; JP et al.,2004) (Amadou ; DA.,2013).

#### I.3 Taxonomie et caractères bactériologiques :

*E. coli* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration Gram négatif, mobiles par flagelles péritriches ou immobiles, non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose (généralement avec production de gaz), catalase (+), oxydase (-), réduisent les nitrates en nitrites, une capsule est souvent présente (Université Pierre et Marie Curie., 2003) (Amadou ; DA.,2013).

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. cergnosni*, *E. cermannie*, *E. culneries* et une espèce très rare *E. clattae*. Il s'avère important de souligner que les membres d'une même espèce présentent habituellement plus de 70% d'homologie génomique alors qu'entre espèces différentes, l'homologie est inférieure à 60%.

Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques spécifiques, permettant ainsi de les différencier (**Tableau 8**) (**Vimont ; A.,2007**).

Le premier système permettant la reconnaissance et une classification des souches de l'espèce *E. coli* fut la détermination des sérotypes, c'est-à-dire une combinaison de certains antigènes de surface (**Amadou ; DA., 2013**).

Classification d'*Escherichia* :

- **règne** : *Procaryotae*
- **domaine** : *Bacteria*
- **phylum** : *Proteobacteria*
- **classe** : *Gammaproteobacteria*
- **ordre** : *Enterobacteriales*
- **famille** : *Enterobacteriaceae*
- **genre** : *Escherichia*
- **espèce** : *Escherichia coli*

**Tableau 8 :** Principaux critères différentiels des espèces du genre *Escherichia* (*E. coli*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. fergusonii*) (Vimont ; A., 2007) :

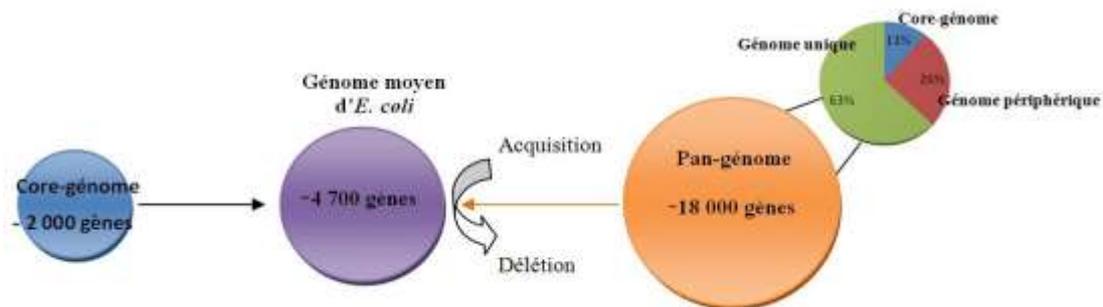
Caractéristiques	<i>E. coli</i> non O157:H7	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>	<i>E. fergusonii</i>
Indole	+	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+/-	-	-	+
$\beta$ -xylosidase	-	-	-	+	-
$\beta$ -glucuronidase	(+)	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	+

(+), positif avec la majorité des souches ; +/-, positif ou négatif selon les souches; LDC, Lysine Décarboxylase ; ODC, Ornithine Décarboxylase

#### I.4 Organisation et dynamique du génome :

*E. coli* est l'espèce bactérienne la plus étudiée à ce jour. C'est au sein de cette espèce qu'il existe le plus de génomes disponibles, entièrement séquencés et annotés : environ 3 690 génomes de *E. coli* étaient disponibles dans GenBank, en Novembre 2015. *E. coli* K12 MG1655, dont le génome a été totalement séquencé en 1997 (Blattner ; FR, Plunkett ; G et al., 1997) est la souche la plus étudiée.

L'ensemble des gènes de l'espèce *E. coli* constitue le pan-génome de cette espèce bactérienne où actuellement plus de 18 000 gènes ont été répertoriés (van Elsas ; JD, Semenov ; AV et al., 2011). Le nombre de gènes présent chez *E. coli* varie d'une souche à l'autre en fonction de l'acquisition ou de la délétion de certains gènes. Le pan-génome de *E. coli* se compose de trois parties (Figure12)



**Figure 12 :** Représentation de la composition du génome moyen de *E. coli* (van Elsas ; JD, Semenov ; AV et al., 2011).

#### I.4.1 Le core-génome :

Ou le génome universel qui regroupe les gènes communs à toutes les souches, c'est la partie stable du génome. Le core-génome code les fonctions vitales de la cellule et il est considéré comme étant la colonne vertébrale de l'information génétique nécessaire pour l'accomplissement des fonctions vitales de la cellule (Dobrindt ; UF, Agerer ; K et al., 2003). Cette partie regroupe environ 2 000 gènes et représente environ 11 % du pan-génome de *E. coli*.

#### I.4.2 Le génome unique :

Regroupe les gènes spécifiques à une souche. C'est une partie variable, non commune à toutes les souches, qui code des protéines impliquées dans l'amélioration de la « fitness » de la bactérie (capacité d'ajuster son métabolisme en fonction des conditions environnementales, afin de survivre et de croître), dans des mécanismes de colonisation et d'adaptation de la bactérie aux différentes conditions environnementales rencontrées. Cette partie variable est considérée comme l'information génétique propre à chaque souche.

Elle est composée pour une grande majorité de régions ORFs (*Open Reading Frame*) sans fonction évidente et est conditionnée par la présence d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les bactériophages ou les îlots de pathogénicité. Ces éléments sont intégrés dans le chromosome bactérien ou bien répliqués de manière indépendante grâce à la machinerie cellulaire (Dobrindt ; UF, Agerer ; K et al., 2003). Cette partie regroupe environ 63 % du pangéome.

### **I.4.3 Le génome périphérique :**

Cette partie regroupe l'ensemble des gènes présents uniquement dans un sous-ensemble de souches. Cette partie est utilisée pour distinguer les souches entre elles et elle est notamment porteuse de l'information concernant les sérotypes. La fonction de la plupart des gènes dans cette catégorie est mal connue. Cette partie représente environ 26 % du pan-géome.

## **II. CLASSIFICATION :**

Malgré la diversité des génomes de *E. coli* et les nombreuses variations dues aux phénomènes d'acquisition et de délétion de gènes, plusieurs approches moléculaires ont permis d'élaborer une signature génétique permettant de classer l'espèce *E. coli* indépendamment des notions de *E. coli* commensal et pathogène.

### **II.1 Classification selon le sérotype :**

Comme toutes les autres entérobactéries, *E. coli* possède trois antigènes majeurs. L'antigène somatique O (Ag O) est un composant du lipopolysaccharide qui entre dans la composition de la membrane externe des bacilles Gram négatif. Les gènes codant les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le cluster de gènes *rfb*. L'antigène flagellaire H (AgH) est de nature protéique et entre dans la construction du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. Il est généralement codé par le gène *fliC*. Cependant, certaines souches perdent leur mobilité et sont classées comme non mobiles (NM ou H-).

L'antigène capsulaire K (Ag K) est une protéine de surface. La méthode généralement utilisée pour la classification des *E. coli* par sérotypage est basée sur le schéma décrit par **(Kauffmann ; F., 1947)**, qui associe ces différents antigènes transmis verticalement par les *E. coli* à la génération suivante **(Nataro ; JP et Kaper ; JP., 1998)**.

La méthode immunologique de typage par agglutination sur lame à l'aide d'immunsérums spécifiques est un moyen rapide mais non exhaustif de typer les souches **(Guinée ; PAM, Jansen ; WH et al., 1981)**. La détection par biologie moléculaire des gènes impliqués dans la biosynthèse de l'AgO (*wzx* et *wzy*) et du gène *fliC* pour l'AgH est un autre moyen d'identifier le sérotype des souches. Selon ce schéma de classification, il existerait plus de 174 sérogroupes O, 80 sérogroupes K et 56 sérogroupes H différents avec plus de 9 000 combinaisons possibles **(Karmali ; MA, Gannon ; V et al., 2010)**.

## II.2 Classification selon les phylogroupes :

Un phylogroupe se définit par l'étude phylogénétique qui s'intéresse à la classification des individus en groupes selon l'identification de critères moléculaires communs. En 1984, les travaux d'Ochman et Selander ont permis de répartir les souches de *E. coli* en quatre grands groupes phylogénétiques (A, B1, B2 et D) par l'analyse du polymorphisme électrophorétique de 11 enzymes métaboliques de 2 600 souches isolées chez l'Homme et des animaux et provenant des différents continents **(Ochman ; H et Selander ; RK., 1984)**. Ces travaux ont été confirmés par la suite avec des techniques de génotypage comme le ribotypage puis affinés par Multi-Locus Sequence Typing (MLST) et le séquençage génomique de nombreuses souches mettant en évidence la présence des quatre groupes phylogénétiques majeurs A, B1, B2 et D précédemment décrits ainsi que trois groupes mineurs nommés C, E et F. **(Jauregui ; F, Landraud ; L et al., 2008)**, **(Escobar-Páramo ; P, Clermont ; O et al., 2004)**. Cette classification ne cesse de s'affiner avec l'apparition de nouveaux sous-phylogroupes (A0, A1, B22, B23, D1, D2) **(Smati ; M, Clermont ; O et al., 2013)** et de clades ou branches (clades I à V) **(Clermont ; O, Christenson ; JK E et al., 2013)**.

La prévalence et la répartition des *E. coli* appartenant aux phylogroupes principaux A, B1, B2 et D chez les mammifères est conditionnée par les caractéristiques de l'hôte (alimentation, morphologie du tube digestif et masse corporelle) et par les facteurs environnementaux (climat et géo-localisation) **(Tenaillon ; O, Skurnik ; D et al., 2010)**.

A partir des études recensées dans le Tableau 4, l'étude de **(Gordon ; DM., O'Brien et al., 2015)** qui porte sur un nombre plus élevé de souches de *E. coli* que les autres, a mis en évidence une majorité de souches de phylogroupe B2 chez l'Homme. En parallèle, la revue de plusieurs études réalisée par **(Tenailon ; O, Skurnik ; D et al., 2010)** a également mis en évidence une prévalence plus marquée des phylogroupes B2 et A chez l'Homme.

Chez les animaux, les phylogroupes B1 et A sont les plus souvent retrouvés au sein du tube digestif des animaux qu'ils soient d'élevage (bovins, porcs, volaille, chèvres, moutons) ou sauvages (oiseaux, sangliers, mouflons) comme il avait déjà été démontré dans l'étude **(Escobar-Páramo ; PA, Le Menac'h ; T et al., 2006)**.

Dans l'environnement (eau, effluents et sols), les phylogroupes B1 et A semblent être les plus fréquemment retrouvés.

L'analyse de l'arbre phylogénétique obtenu lors de l'étude **(Escobar-Páramo ; P, Clermont ; O et al., 2004)** a permis de mettre en évidence la répartition de différents types de *E. coli* commensaux et pathogènes. Dans cette étude, 98 souches de *E. coli* (10 EAEC, 16 DAEC, 11 STEC dont 9 EHEC, 6 EPEC, 8 ETEC, 9 ExPEC, 5 *Shigella*/ETEC et des souches de *E. coli* commensales) ont été analysées par la méthode de typage moléculaire par séquençage des six gènes chromosomiques de ménage *trpA*, *trpB*, *pabB*, *putP*, *icd* et *polB*.

Selon cette étude, les *E. coli* commensaux semblent faire partie préférentiellement du phylogroupe A. Les souches virulentes de *E. coli* responsables d'infection extra-intestinales (ExPEC) semblent majoritairement associées au phylogroupe B2 et en minorité au phylogroupe D. Les souches responsables de diarrhées chroniques légères telles que les EPEC ne semblent pas être classées spécifiquement parmi un phylogroupe bien que certaines études les associent préférentiellement au phylogroupe B1 **(Reid ; SD., Herbelin ; CJ et al., 2000)** **(Wang ; L, Wakushima ; M et al., 2013)**.

Les *E. coli* pathogènes producteurs de toxines comme les EHEC se répartissent préférentiellement entre les phylogroupes A et B1, ce qui est également soutenu par deux études récentes **(Badouei ; MM, Jajarmi ; M et al., 2015)** **(Martins ; FH, Cabilio Guth et al., 2015)**. Toutefois, certaines de ces souches telles que celles de sérotype O157:H7 appartiennent au phylogroupe E **(Girardeau ; JP, Dalmasso ; A et al., 2005)**.

**Tableau 9** : Répartition des principaux groupes phylogénétiques de *E. coli* chez l'Homme, les animaux et dans l'environnement :

Catégories	Genres	Nombre de souches <i>E. coli</i>	Répartition (%)					Phylogroupes dominants	Pays	Références
			A	B1	B2	D	autres			
<b>Homme</b>	Homme	4 957	8,1	13,9	47	23,5	7,5	<b>B2</b>	Australie	Gordon <i>et al.</i> , 2015
	Homme	94	40,4	8,5	12,8	38,3	0	<b>A/D</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Homme	98	31	13	33	21	2	<b>A/B2</b>	France	Smati <i>et al.</i> , 2013
<b>Animaux d'élevage</b>	Bovin	50	28	58	0	14	0	<b>B1</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Bovin	13	46,2	38,5	0	7,7	7,6	<b>A</b>	Iran	Badouei <i>et al.</i> , 2015
	Porc	39	53,8	23,1	5,1	17,9	0	<b>A</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Chèvre	16	18,8	81,3	0	0	0	<b>B1</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Chèvre	12	0	100	0	0	0	<b>B1</b>	Japon	Ishii <i>et al.</i> , 2007
	Mouton	130	5,7	90	0	4,3	0	<b>B1</b>	Brésil	Martins <i>et al.</i> , 2015
	Mouton	18	11,1	88,9	0	0	0	<b>B1</b>	Iran	Badouei <i>et al.</i> , 2015
	Mouton	29	13,8	68,7	0	17,5	0	<b>B1</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Volaille	13	76,9	15,4	7,7	0	0	<b>A</b>	Brésil	Carlos <i>et al.</i> , 2010
	Volaille	363	53,1	19,3	4,4	23,1	0	<b>A</b>	Italie	Pasquali <i>et al.</i> , 2015
	<b>Animaux sauvages</b>	Oiseau	134	8,2	49,2	22,3	20,3	0	<b>B1</b>	Australie
Oiseau		237	17,5	40	17,9	6,9	17,7	<b>B1</b>	Australie	Blyton <i>et al.</i> , 2015
Buse		36	47,2	8,3	13,9	30,5	0	<b>A/D</b>	Portugal	Radhouani <i>et al.</i> , 2012
Renard		22	31	18,2	9,1	41	0	<b>A/D</b>	Portugal	Radhouani <i>et al.</i> , 2013
<b>Animaux aquatiques</b>	Poisson	12	0	91,7	8,3	0	0	<b>B1</b>	Australie	Gordon et Cowling 2003
<b>Batraciens</b>	Grenouille	13	7,7	84,6	0	7,7	0	<b>B1</b>	Australie	Gordon et Cowling 2003
<b>Reptiles</b>	Serpent/Lézard	33	15,1	69,7	6,1	9,1	0	<b>B1</b>	Australie	Gordon et Cowling 2003
<b>Environnement</b>	Sols amendés	85	35,3	49,4	3,5	11,7	0	<b>A/B1</b>	Angleterre	Holden <i>et al.</i> , 2014
	Effluents	62	46,7	46,7	1,61	4,8	0	<b>A/B1</b>	Espagne	Garcia-Aljaro <i>et al.</i> , 2009
	Eaux d'estuaire	120	57	22,9	14,3	5,8	0	<b>B1</b>	Italie	Perini <i>et al.</i> , 2015
	Eaux de mer	875	3,2	70,5	25	1,3	0	<b>B1</b>	Etats-Unis	Hamilton <i>et al.</i> , 2010

### II.3 Classification selon les séropathotypes :

Pour les souches de *E. coli* pathogènes appartenant au pathovar des STEC, en considérant leur niveau de pathogénicité chez l'Homme, les sérotypes ont pu être classés en séropathotypes basés sur leur fréquence d'association avec des infections humaines et leurs implications dans des épidémies ou de graves complications. En (Karmali ; MA, Mascarenhas ; M et al., 2003) ont proposé de classer les sérotypes majeurs en cinq séropathotypes, de A à E ; soit du séropathotype A correspondant aux sérotypes les plus virulents, tel que l'O157:H7, au séropathotype E représentant l'ensemble des sérotypes de *E. coli* non associés à des maladies humaines.

Plusieurs observations récentes remettent en cause cette classification basée sur la fréquence des sérotypes responsables d'infection, leur association avec des épidémies et la sévérité des symptômes engendrés. Les critiques exposées dans un récent rapport publié par (EFSA., 2013) (European Food Safety Authority) montrent que ce système de classification ne semble pas refléter la réalité puisque des sérotypes du séropathotype D (O84, O113, O153, O156) ont été recensés par l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) comme responsables d'infection chez l'Homme.

(Scheutz ; F., 2014) a suggéré récemment de réviser cette classification en se basant sur le phénotype ou le typage moléculaire pour définir les groupes.

### III. Habitat :

#### III.1 Habitat primaire :

*E. coli* appartient à la microflore commensale de l'Homme et de nombreux animaux. C'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) mais également des reptiles (**Gordon ; DM et Cowling ; A., 2003**).

Le tractus digestif constitue son habitat primaire. Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations environ  $> 10^6$  UFC (Unité Formant Colonie) /g de contenu intestinal (**Ducluzeau ; Ret Raibaud ; P., 1985**). *E. coli* se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique propice à son développement de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en nutriment. La flore bactérienne intestinale aérobie-anaérobie facultative est représentée par *E. coli* à hauteur de  $7,9 \pm 0,5 \log_{10}$  UFC/ g fèces chez l'Homme, de  $6,9 \pm 0,5 \log_{10}$  UFC/ g de fèces chez les animaux d'élevages (volailles, porc, mouton, vache) et de  $6,2 \pm 0,8 \log_{10}$  UFC/ g de fèces chez les animaux sauvages (sanglier, cerf, lapin) (**Smati ; M, Clermont ; O et al., 2015**).

#### III.2 Habitat secondaire :

*E. coli* est rejeté dans l'environnement *via* les fèces à une concentration d'environ  $10^8$  UFC/g de fèces (**Smati ; M, Clermont ; O et al., 2015**). Il se retrouve dans les eaux environnementales par le biais des effluents, tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux d'élevage ou par les déjections des animaux d'élevage ou des animaux sauvages.

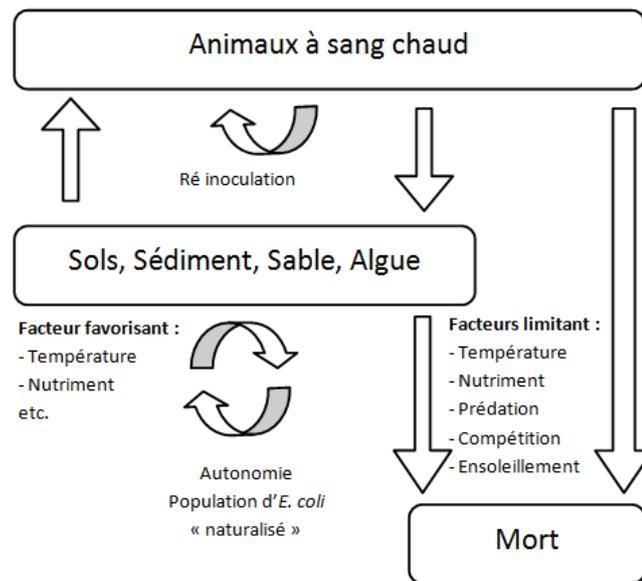
L'environnement qui dans cette étude correspond à tout ce qui est à l'extérieur de l'hôte, constitue l'habitat secondaire des *E. coli*. Il est contrairement à l'habitat primaire plutôt défavorable à leur survie. Dans l'environnement, la bactérie *E. coli* est soumise à plusieurs types de pression, biotiques (prédation et compétition de flore) et abiotiques (lumière, température, oligotrophie et salinité) (**Tableau 10**).

**Tableau 10:** Principaux paramètres influençant la survie des bactéries dans l'environnement (van Elsas ; JD, Semenov ; AV *et al.*, 2011)(Campos ; CJA, Kershaw ; SR *et al.*, 2013)

Facteur	Description
<b>Biotique</b>	
<b>Prédation</b>	Bactéries entériques exogènes utilisées comme source de nutriment par les populations indigènes
<b>Compétition</b>	Compétition pour l'accès aux nutriments avec des populations indigènes
<b>Oligotrophie</b>	Accessibilité aux sources en nutriment, sédimentation
<b>Abiotique</b>	
<b>Radiations solaires</b>	Dépendantes des saisons et de la zone géographique. Niveau de pénétration des rayons dans l'eau conditionné par les paramètres de diffusion et d'absorption du fluide
<b>Température</b>	Variation positive ou négative sur la survie de certains microorganismes. Dépendante des saisons
<b>Pluviométrie</b>	Conditionne le taux d'humidité. Impacte les débits des rivières, conduit à la dilution des polluants drainés, participe à la remise en suspension de la matière organique
<b>Texture du sol</b>	Sableux, vaseux, sec, humide, dur ou mou
<b>pH</b>	Milieu acide dû au compostage, à la fermentation ou aux traitements chimiques
<b>Salinité</b>	Responsable du choc osmotique, surtout observé en eau de mer

*E. coli* perd plus ou moins rapidement sa capacité à être cultivé sur milieu de culture et par conséquent, ne peut plus être détecté par les méthodes classiques de dénombrement des *E. coli*. Il évolue vers un état viable mais non-cultivable (VNC) (Darcan ; C, Ozkanca ; R *et al.*, 2009). Cependant, il peut conserver une certaine activité métabolique (Pommepeuy ; M, Butin ; M *et al.*, 1996). Dans des conditions favorables, il peut retrouver sa capacité à se multiplier (Li *et al.*, 2014).

La population de *E. coli* dans l'habitat secondaire se renouvelle par les apports de bactéries provenant de l'habitat primaire. Une minorité de *E. coli* est capable de coloniser et de persister dans l'environnement hors de son hôte (Walk ; ST, Alm ; EW *et al.*, 2007). Cette population de *E. coli* dite colonisatrice de l'environnement est qualifiée de population naturalisée (Ishii ; S, Ksoll ; WB *et al.*, 2006.) ou de coliformes du microbiote environnemental (Walk ; ST, Alm ; EW *et al.*, 2007). (Figure 13). Si cette population naturalisée s'établit dans le temps, elle devient une nouvelle communauté microbienne autochtone.



**Figure 13 :** Cycle de vie de *E. coli* (Ishii ; S et Sadowsky ; M., 2008)

Ce processus d'adaptation ou de naturalisation dans l'environnement secondaire a été observé au niveau de coliformes fécaux environnementaux avec l'identification de *E. coli* ayant développé la capacité à produire une capsule pour se protéger des agressions extérieures (Power ; ML, Littlefield-Wyer ; J et al., 2005). La présence importante de gènes associés au mécanisme de formation de biofilms dans des souches de *E. coli* environnementales versus les souches fécales suggère également une adaptation des souches de *E. coli* pour une meilleure survie dans l'environnement (Tymensen ; LD, Pyrdok ; F et al., 2015). De même, pour résister à la pression exercée par le manque d'eau dans certains sols et au choc osmotique provoqué par la présence de sel en eau de mer, les souches de *E. coli* ont développé une capacité à produire des solutés organiques type tréhalose pour résister à la dessiccation et à la salinité (Zhang ; Q et Van ; t., 2012).

#### IV. Les pathologies causées par *E. coli* :

Au sein de son pan-génome, *E. coli* possède un nombre incommensurable de facteurs de virulence dont la description dépasse le cadre de ce travail. On retiendra essentiellement les principaux éléments suivants comme autant d'armes permettant une meilleure intégration et résistance à l'hôte : des facteurs d'adhésion (adhésines fimbriaires et afimbriaires, intimine), des toxines cytolytiques (CNF1, hémolysine, shigatoxine, ...), des toxines modifiant les flux hydro-électrolytiques digestifs (entérotoxines ST et LT, ...), des systèmes de sidérophores (aérobactine, ...), des systèmes de masquage antigénique et de résistance au complément (capsule K1 par exemple), des facteurs de mobilité (flagelle). Par ailleurs, de façon singulière (et avec toutes les contraintes phénotypiques que cela impose pour la bactérie) certaines souches sont parfaitement capables de multiplication intracellulaire, au sein des entérocytes ou même des macrophages (souches entéro-invasives des diarrhées invasives et souches adhérentes invasives associées à la maladie de Crohn par exemple) (Kaper ; JB., Nataro ; JP *et al.*, 2004).

##### IV.1 Les pathologies intestinales chez l'homme

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, les diarrhées infantiles constituent la 2<sup>e</sup> cause de mortalité des enfants de moins de 5 ans dans les pays en voie de développement. *E. coli* apparaît comme le pathogène le plus fréquemment en cause après les rotavirus, avec une mortalité touchant plusieurs millions d'enfants chaque année (WHO et UNICEF., 2009). Dans les pays industrialisés, ces pathologies digestives sont plus rares (et associées à une mortalité beaucoup plus faible) mais il est parfois constaté l'explosion de forme épidémique de colites hémorragiques liées à des pathovars particuliers transmis par l'alimentation (cf. ci-dessous). Six pathovars majeurs, dont la traduction clinique commune est le syndrome diarrhéique, sont ainsi identifiés et classés, essentiellement sur la base de leur pathogénie à l'échelle cellulaire (Kaper ; JB., Nataro ; JP *et al.*, 2004) Un 7<sup>e</sup> pathovar, plus rare, est également décrit : il s'agit des souches adhérentes-invasives (AIEC), associées à la maladie de Crohn (Darfeuille-Michaud ; A., 2002) (Negroni ; A et Costanzo ; M *et al.*, 2012).

#### IV.1.1 Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) :

Cause majeure de déshydratation et de mortalité infantile dans les pays en voie de développement, ils agissent quasi exclusivement par un mécanisme toxigène (toxines ST et LT) entraînant une dérégulation des flux sodés trans-épithéliaux (de façon analogue à ce qui est observé avec la toxine cholérique). Les formes cliniques sont essentiellement dominées par des diarrhées aqueuses, sans syndrome dysentérique. (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.2 Les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) :

Ils sont capables de procéder à une invasion muqueuse avec multiplication intracellulaire épithéliale. La lyse de l'épithélium et la réaction inflammatoire associée sont responsables d'un classique syndrome dysentérique. (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.3 Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) :

Ils possèdent, de façon non exclusive, la capacité d'induire des lésions d'attachement-effacement à la surface des entérocytes et détruisent l'architecture micro-villositaire. Ce trait phénotypique, porté par un îlot de pathogénicité appelé LEE (*locus of enterocyte effacement*) peut être partagé par d'autres souches que les EPEC, ce qui aboutit parfois à leur regroupement sous l'acronyme AECC (*Attaching-Effacing E. coli*). Ceci ne doit pas être confondu avec le pathovar suivant (EAEC). (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.4 Les *E. coli* entéro-agrégatifs (EAEC) :

Initialement regroupées au sein des EPEC, ces souches sont capables d'adhérer intensément à la surface de l'épithélium de l'intestin grêle et du colon (phénotype agrégatif-adhérent avec empilement en brique) aboutissant à la formation d'un véritable biofilm épais. Associées à la mise en jeu de toxines, ces souches sont impliquées dans la pathogenèse de diarrhées chroniques avec retard de croissance chez les enfants des pays en voie de développement (Okhuysen ; PC. Et Dupont ; HL., 2010) (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.5 Les *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) :

Également initialement classées avec les EPEC, ces souches sont maintenant bien individualisées. Elles sont capables d'imposer aux entérocytes des modifications anatomiques de leurs bordures en brosse avec formation de microvillosités allongées capables de se relier sur la bactérie, potentiellement dans une optique de protection (Croxen ; McAet Finlay ; BB., 2010). (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.6 Les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC)

Appartenant au groupe des STEC (pour *ShigaToxin-producing E. coli*, ou historiquement VTEC pour (*VeroToxinproducing E. coli*) : ils sont responsables des colites hémorragiques dont les formes les plus graves peuvent aboutir aux tableaux de microangiopathie thrombotiques (syndrome hémolytique et urémique ou purpura thrombotique thrombocytopenique) associés à une lourde morbi-mortalité. Ces souches produisent des shigatoxines (Stx1 et/ou Stx2) qui traversent la barrière épithéliale, diffusent par voie hématogène et vont exercer une cytotoxicité marquée sur les cellules endothéliales, principalement digestives, rénales et cérébrales. L'habitat naturel de ces souches étant principalement le tube digestif des bovins, la contamination de l'homme s'effectue par l'alimentation avec ingestion de produits ayant été en contact direct (viande) ou indirect (graines de fenugrec germées par exemple) avec des matières fécales bovines. Ces souches donnent régulièrement naissance à des bouffées épidémiques (la dernière de taille datant de 2011 en Allemagne, secondaire au sérotype O104 :H4). On notera enfin qu'*E. coli* entéro-hémorragique (EHEC) n'est pas synonyme d'*E. coli* producteur de shigatoxine (STEC) : les EHEC constituent un sous-groupe parmi les STEC (les EHEC sont les souches de STEC pathogènes pour l'homme, la production de shigatoxine étant essentielle mais non suffisante pour la virulence des EHEC) (Caprioli ; A, Morabito ; S et al., 2005) (Kaper ; JB., Nataro ; JP et al., 2004)

#### IV.1.7 Les *E. coli* adhérents-invasifs (AIEC) :

Ces souches, épidémiologiquement associées à la maladie de Crohn, présentent également un phénotype invasif (comme les EIEC) avec la capacité de se multiplier à l'intérieur des entérocytes et des macrophages. Les mécanismes cellulaires à l'origine de l'internalisation de ces souches apparaissent différents des autres souches capables d'invasion (EIEC, *Shigella*, *Yersinia* ou *Listeria*) : pour les AIEC, ce processus est doublement dépendant des microtubules et des microfilaments d'actine alors qu'il n'est qu'actine-dépendant pour les autres souches invasives. Enfin, la pénétration intracellulaire s'effectue par un mécanisme proche de la macropinocytose. Capables de transcytose (entrée au pôle apical, sortie au pôle basal des entérocytes), ces souches peuvent envahir les tissus profonds et ainsi générer une importante activation inflammatoire chronique (Darfeuille-Michaud ; A., 2002).

#### IV.2. Les pathologies extra-intestinales chez l'homme.

Elles sont dominées par les infections du système urinaire chez la femme, séparées cliniquement (et également sur le plan pronostic) en infection urinaire basse touchant la vessie (cystite) et haute affectant le parenchyme rénal (pyélonéphrite). Chez l'homme, les infections urinaires sont dominées par les prostatites, à une fréquence incomparablement plus faible. La cystite constitue l'infection la plus fréquente en médecine ambulatoire avec une incidence chez la femme variant de 0,07 à 0,7 épisode par personne et par an selon l'âge. Le risque de pyélonéphrite est plus faible avec un ratio estimé à 1 cas de pyélonéphrite pour 28 cas de cystite. *E. coli* est le germe occupant de loin le devant de la scène, retrouvé dans 75 à 95% des cystites et pyélonéphrites communautaires non compliquées de la femme, dont l'origine est systématiquement digestive (Hooton ; TM., 2012). Les infections urinaires constituent donc l'expression dominante de la pathogénie d'*E. coli*. En termes de santé publique, le principal problème est l'extrême fréquence de cette pathologie dans la population générale, source d'exposition importante aux antibiotiques et donc facteur de progression de l'antibiorésistance.

Les autres infections causées par *E. coli* chez l'adulte sont essentiellement des pathologies impliquant des infections d'organes intra-abdominaux dont la colonisation s'est faite soit par voie hématogène (à partir du réservoir fécal à la faveur d'une altération locale de la barrière digestive), soit par contiguïté (communication canalaire existante).

Il s'agit des péritonites (effraction physique franche de la barrière digestive), des sigmoïdites diverticulaires, des appendicites, des abcès (principalement hépatiques), des infections de la vésicule biliaire (cholécystites) ou des voies biliaires (angiocholites), des infections des collections nécrotiques accompagnant les pancréatites aiguës. Les pneumonies peuvent survenir plus rarement et font le plus généralement suite à une inhalation à la faveur d'un trouble de conscience chez des patients avec comorbidités (alcoolisme, dénutrition, mauvais état bucco-dentaire). (NICOLAS ; D. ; 2015)

Plus rares en termes de fréquence, comparées aux infections urinaires, mais source d'une morbi-mortalité beaucoup plus lourde, **les infections néonatales** sont indissociables d'*E. coli*. C'est la deuxième bactérie responsable de sepsis néonatal dans les 72 premières heures de vie, la 1<sup>re</sup> bactérie responsable de méningite néonatale et la 1<sup>re</sup> bactérie chez le nouveau-né prématuré de faible poids (Stoll ; BJ, Hansen ; NI et al., 2011).

Dans les infections néonatales tardives (entre 72 heures et 90 jours de vie), *E. coli* occupe encore la première place, principalement par le biais des infections urinaires (Didier ; C, Streicher ; M P et al., 2012)

Concernant son rôle dans les **infections nosocomiales** chez l'adulte, nous avons déjà vu la place d'*E. coli* dans les PAVM (3<sup>e</sup> agent le plus fréquemment rencontré en France) où son implication détaillée est également discutée plus bas. En réanimation, *E. coli* est aussi l'une des bactéries la plus fréquemment isolée au cours des bactériémies (toutes causes confondues). Ainsi, en 2013 (Réa-RAISIN., 2015), les quatre agents infectieux les plus souvent isolés lors des bactériémies (au moins une hémoculture positive) étaient répartis comme suit : *S. aureus* (11,1 %), *E. coli* (10,4 %), *S. epidermidis* (9,6 %), *P. aeruginosa* (9,5 %). Cette répartition est stable lorsqu'on étudie les 5 années précédentes. Abstraction faite de *S. epidermidis* dont l'isolement dans une hémoculture (en dehors de situations particulières telles qu'immunodépression, infection de cathéter, ...) s'avère être la plupart du temps le fruit d'une contamination du prélèvement par la flore cutanée du patient, on retrouve les trois germes pathogènes déjà majoritaires dans les PAVM. Les causes de ces bactériémies sont multiples (infections liées aux cathéters, PAVM, complications du site opératoire, infections urinaires, foyers infectieux intra-abdominal, ...).

Toujours dans le cadre nosocomial mais en dehors de la réanimation, *E. coli* est principalement retrouvé comme agent étiologique des infections sur dispositif d'accès intravasculaire (cathéters, chambre d'accès intravasculaire implantable), des complications du site opératoire, des infections urinaires sur sonde, etc. (NICOLAS ; D. ; 2015).

Enfin, on soulignera un point marquant : sur l'ensemble des hémocultures analysées dans les laboratoires de microbiologie, *E. coli* est systématiquement le germe le plus fréquemment isolé, quel que soit le pays investigué, le plaçant comme l'**agent causal « numéro 1 » des bactériémies dans le monde**. Si l'on s'intéresse à l'origine des patients ayant présenté ces hémocultures positives à *E. coli*, il s'agit dans 53 à 68% des cas de patients venant de leur domicile (infections communautaires) (Laupland ; KB., 2013). Ces bactériémies sont en lien avec l'ensemble des pathologies présentées plus haut et sont le témoin des formes graves septicémiques de ces maladies.

#### IV.2.1 Les pathologies chez l'animal.

Les ETEC constituent la cause la plus importante de diarrhées et septicémies chez les jeunes veaux et porcelets. Parmi les pathologies extra-digestives chez les mammifères, on note également les mammites chez les vaches allaitantes.

Enfin, une entité intéressante pour son éventuel parallélisme physiopathologique chez l'homme est constituée par la colibacillose aviaire, principale cause de pertes économiques dans le secteur avicole. Les souches impliquées dans cette pathologie (APEC, *Avian Pathogenic E. coli*) appartiennent à des sérogroupes bien particuliers (O78, O1, O2 principalement). Les manifestations cliniques sont très polymorphes allant de la mortalité embryonnaire *in ovo* après la ponte à la forme pulmonaire éventuellement septicémique qui représente l'expression principale de la colibacillose aviaire. Dans cette forme pulmonaire, affectant poulets, canards, faisans et dindes, la porte d'entrée principale du pathogène est respiratoire (de façon atypique pour *E. coli*) par inhalation de particules contaminées par des souches APEC excrétées du tractus digestif d'animaux sains (qui constituent le réservoir principal des APEC).

La plupart des études s'accordent à souligner la nécessité d'un facteur fragilisant les défenses locales ou générales pour que les souches APEC puissent initier leur pathogénie respiratoire. Sont retenues principalement les infections à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), les viroses à tropisme respiratoire, une immunodépression (maladie de Gumboro) et la présence d'une atmosphère susceptible de provoquer une agression épithéliale (concentration élevée en poussières ou en ammoniacque générée par la décomposition microbienne de l'acide urique de la litière).

Après une phase de multiplication au niveau du tractus respiratoire, les bactéries colonisent le poumon profond (pneumonie), peuvent envahir par contiguïté les organes voisins (foie, cœur) et provoquer des bactériémies avec métastases septiques. La mortalité est très importante, pouvant atteindre 30 à 50 % (Stordeur ; Pet Mainil ; J., 2002)

## V. Résistance d'*E coli* aux antibiotiques :

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

### V.1 Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose par exemple n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique (Amadou ; DA., 2013).

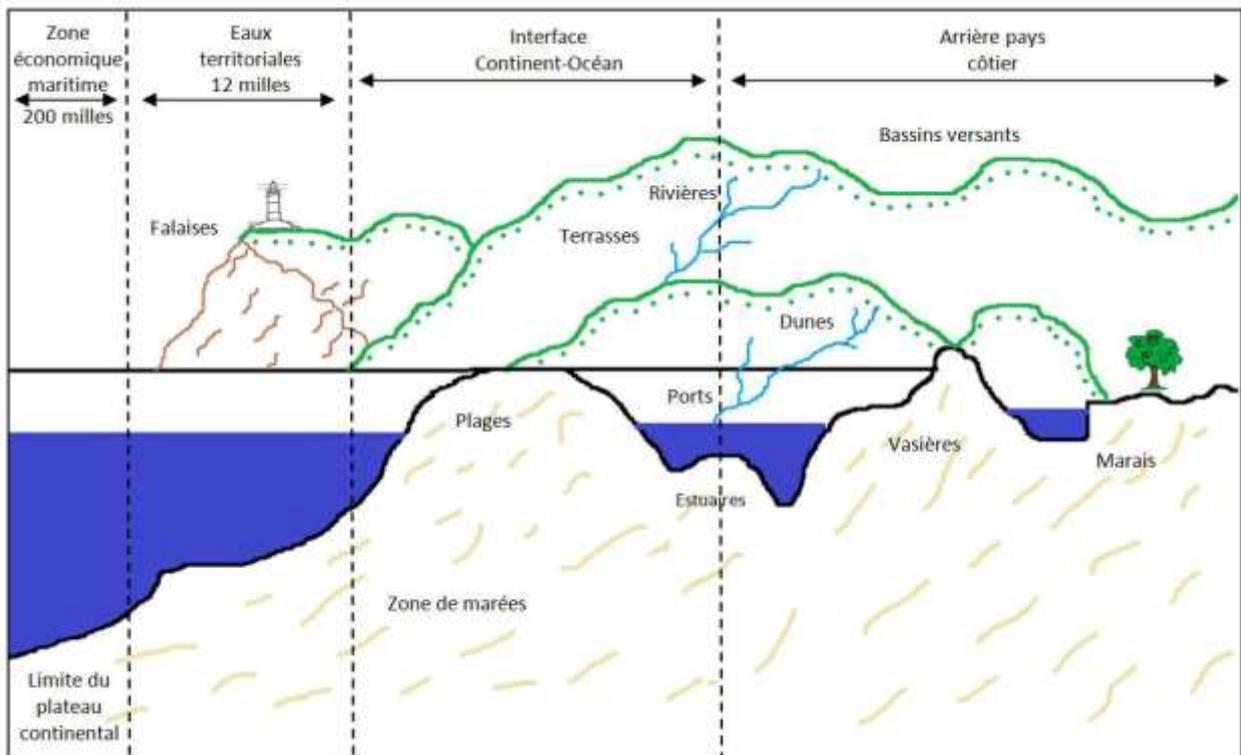
## **V.2 Résistance acquise :**

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ponctuelles ou à l'acquisition de gènes de résistance exogènes par les phénomènes de conjugaison, de transformation ou de Transduction (**Amadou ; DA., 2013**).

## **VI. Escherichia coli dans l'environnement littoral.**

### **VI.1 Définition de l'environnement littoral :**

Le littoral peut être défini par la dénomination « zone entre la mer et le continent ». Il se divise en plusieurs parties ; l'arrière-pays côtier caractérisé par la présence des activités humaines, urbaines, agricoles et industrielles, l'interface entre le continent et l'océan avec la présence des activités humaines maritimes (ports, zones conchylicoles, zones de baignade, zones de pêche récréative) et la pleine mer juridiquement répartie entre les eaux territoriales et la zone économique maritime plus au large (**Figure 14**). La zone côtière et spécifiquement les estuaires et les baies sont à l'interface entre trois types d'environnement : les terres, les rivières et la mer (**Charlotte ; B., 2016**).



**Figure 14:** Représentation schématique de l'environnement littoral (Charlotte ; B., 2016).

De ces activités, découle une forte pression sur le milieu qui fragilise ces espaces où les activités humaines sont très variées (baignade, conchyliculture, pêche récréative). C'est en amont des zones côtières, au niveau des bassins versants, que la qualité de l'environnement est principalement impactée puisque 80 % des pollutions du littoral sont d'origine terrestre (Charlotte ; B., 2016).

Le littoral est un lieu où s'exercent de fortes activités urbaines, économiques et touristiques susceptibles d'apporter des contaminations d'origine fécale. En France, 20,8 % de la population vit à moins de 25 km du littoral. Occupant 4 % du territoire total, les communes littorales représentent 12,5% des surfaces de logements. La pression de construction (surface construite par km<sup>2</sup> de territoire) est 2,5 fois plus forte dans les communes littorales que la moyenne métropolitaine. (Charlotte ; B., 2016).

En été, la population présente peut-être beaucoup plus importante, augmentant ainsi les pressions exercées sur le littoral (Charlotte ; B., 2016).

Enfin au niveau de la zone littorale et des bassins versants en amont, s'exercent de nombreuses activités agricoles. L'agriculture (élevages intensifs, pâturage, culture) est ainsi la principale activité qui occupe 40,2 % des terres des communes littorales (Charlotte ; B., 2016).

## VI.2 Sources et apports d'*E. Coli* dans l'environnement littoral.

La contamination de l'environnement littoral par *E. coli* résulte de la présence de trois principales sources de contamination fécale, provenant essentiellement des bassins versants en amont) les sources d'origine urbaine caractérisées principalement par les eaux usées et les rejets domestiques) les sources d'origine agricole caractérisées par les déjections des animaux tels que les bovins et les ovins en pâturage et les effluents d'animaux d'élevage (lisiers et fumiers) et les sources environnementales caractérisées par la présence d'oiseaux et d'animaux sauvages (Campos ; CJA, Kershaw ; SR et al., 2013).

### VI.2.1 Sources d'origine urbaine :

Les sources d'origine urbaine sont essentiellement représentées par les effluents des stations D'épuration (STEP), traitées ou non et les eaux usées issues des habitats dispersés. L'Homme excrète par jour, via ses fèces, d'importantes concentrations en *E. coli* comprises entre 5 et 8,6 log<sub>10</sub> UFC/g de fèces (Tableau 11). *E. coli* se retrouve ensuite dans les fosses septiques et dans les réseaux d'assainissement puis au niveau des stations d'épuration. (Pfannes ; KR, Langenbach ; KMW et al., 2015)

Les stations d'épuration qui collectent et traitent les eaux usées permettent principalement l'élimination des composés carbonés, l'azote et le phosphore et plus ou moins efficacement, l'élimination des microorganismes entériques. Toutefois, les rejets de ces stations constituent encore une source importante de contamination des eaux environnementales. La France comptait en 2010, 18 637 stations de traitement des eaux usées sur l'ensemble du territoire (métropole et DOM) traitant une charge de pollution de 75 millions Equivalent Habitant (estimation de la quantité de pollution émise par personne et par jour) (Lueddeke ; F, Hess ; S et al., 2015).

Ces stations de traitement permettent de diminuer les concentrations en microorganismes (de 1,6 à 3 log<sub>10</sub> de *E. coli*) par différentes filières de traitement : boues activées, boues activées associées à des membranes filtrantes, lagunage naturel, traitements tertiaires utilisant les rayonnements UV, la température, la chloration ou l'ozone (Tondera ; K, Klaer ; K et al., 2015).

La performance des usines de traitement et leur capacité de stockage ainsi que l'entretien des Infrastructures de transport des eaux usées du domicile à la station d'épuration tels que le fonctionnement des postes de relèvement ou l'état des conduites sont des points critiques qui influencent les rejets de *E. coli* dans l'environnement (**Campos ; CJA, Kershaw ; SR et al., 2013**).

Les boues de STEP épandues dans les champs peuvent aussi constituer un risque de contamination de l'environnement par les bactéries entériques.

**Tableau 11** : Concentrations en *E. coli* présentes au niveau des fèces humaines et de différentes sources urbaines

Sources urbaines	Concentrations en <i>E. coli</i>	Références
Fèces humaines	7,4 - 8,4 log <sub>10</sub> UFC/ g	Smati <i>et al.</i> , 2015
Eaux usées brutes	7 - 7,4 log <sub>10</sub> cellules/100 mL	Wéry <i>et al.</i> , 2008
Eaux usées traitées	2,9-3,7 log <sub>10</sub> UFC/100 mL	Gourmelon <i>et al.</i> , 2010
	4,8-5,8 log <sub>10</sub> <i>E. coli</i> /100 mL	Lueddeke <i>et al.</i> , 2015
Eaux de fosses septiques	4,3-5,3 log <sub>10</sub> NPP/100 mL	Appling <i>et al.</i> , 2013

Les habitations trop dispersées pour être raccordées au réseau d'assainissement collectif (traitement des eaux usées au niveau des STEP) doivent disposer d'un système d'assainissement autonome qui permet l'infiltration des eaux usées dans le sol après une épuration partielle grâce à l'action de microorganismes au niveau des fosses septiques. Si la conformité de l'installation n'est pas respectée ou s'il n'y a pas un bon fonctionnement, ce type d'installation peut être une source de pollution. De plus, la multiplication de *E. coli* dans les fosses septiques a été démontrée dans une étude où la concentration initiale mesurée était de 4,3 log<sub>10</sub> NPP/100 mL et passait à >5,38 log<sub>10</sub> NPP/100 mL (seuil supérieur de détection de la méthode) en deux semaines (**Appling ; DM, Habteselassie ; Y et al., 2013**).

Dans les zones fortement industrialisées, les rejets industriels portuaires peuvent également alimenter la source de contamination urbaine en *E. coli* entre 0,7 et 4 log<sub>10</sub> UFC/ 100 ml d'eau (Servais ; P, Garcia-Armisen ; T et al., 2007).

Les risques de contamination de l'environnement sont souvent augmentés par temps de pluie. Les eaux usées urbaines non traitées dans les STEP, du au débordement des égouts et à l'engorgement des STEP, sont une source potentielle de contamination. Le ruissellement de ces eaux dans l'environnement peut être un apport supplémentaire en *E. coli* à hauteur de 4,5 à 5,5 log<sub>10</sub> UFC/100ml (Parker ; J, McIntyr ; KD et al., 2010).

## VI.2.2 Sources d'origine agricole.

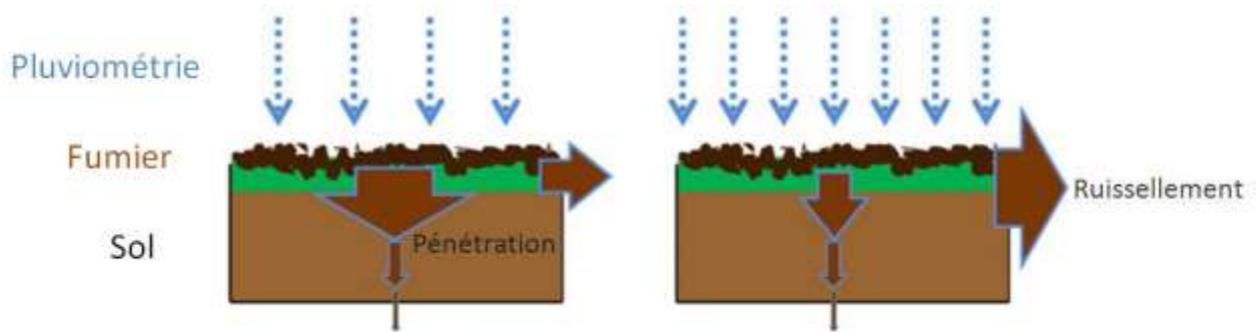
Les sources d'origine agricole sont caractérisées par la présence d'élevages plus ou moins intensifs d'animaux tels que les bovins, les porcs, les ovins et la volaille et l'exploitation des terres pour les cultures. Les animaux d'élevage génèrent une quantité importante de fèces avec des concentrations en *E. coli* variant entre 3,1 et 9,5 log<sub>10</sub> UFC/ g fèces selon l'espèce animale considérée. Ces fèces peuvent être retrouvées dans les pâturages avec les élevages en plein air. (Jensen ; ANC, Storm ; A et al., 2013).

Dans les fermes, les fèces des animaux tels que les porcs et les bovins sont souvent mélangées aux eaux de lavage pour former les lisiers ou à la litière des animaux pour former le fumier. Ces effluents sont ensuite éliminés, par traitement au niveau des exploitations avec des étapes de traitements par boues activées, par centrifugation, par compostage ou par lagunage selon les exploitations, par exportation dans d'autres régions ou par épandage sur les terres agricoles.

Au niveau des zones agricoles, les habitats dispersés et les exploitations agricoles sont aussi des sources de contamination potentielles de l'environnement. (Jensen ; ANC, Storm ; A et al., 2013).

Les effluents porcins, bovins et de volaille non traitée peuvent contenir de fortes concentrations en *E. coli* comprises entre 2,3 et 8,3 log<sub>10</sub> *E. coli*/g de lisier de porcs, entre 4,2 et 9,4 log<sub>10</sub> *E. coli*/g de fumier de bovins et entre 0,1 et 4,3 log<sub>10</sub> *E. coli*/g de litière de volaille. Ces effluents traités ou non sont utilisés pour fertiliser les sols cultivables et des concentrations en *E. coli* entre 3 et 4,5 log<sub>10</sub> UFC/g lisier épandu peuvent alors être mesurées sur le sol cultivé (Jensen ; ANC, Storm ; A et al., 2013).

Les risques de contamination de l'environnement par les sources agricoles sont augmentés par temps de pluie en raison des ruissellements au niveau des sièges des exploitations et dans les champs sur lesquels les effluents sont épandus (Blaustein ; RA, Hill ; RL et al., 2016) (Figure 15).



**Figure 15 :** Influence du niveau de pluviométrie sur la pénétration et le ruissellement de fumier épandu sur le sol (Blaustein ; RA, Hill ; RL et al., 2016).

### VI.2.3 Sources environnementales : les animaux sauvages.

Les animaux sauvages présents dans les forêts et les terres non cultivées (sangliers, cerfs, lapins, oiseaux,) participent à la contamination en *E. coli* de l'environnement (Goto ; DK et Yan ; T., 2011). Les animaux en contact avec les points d'eau et les rivières, participent à la contamination de l'environnement à hauteur de 7,1 log<sub>10</sub> UFC/g de fèces pour les sangliers ou de 6,1 log<sub>10</sub> UFC/g fèces pour les cerfs (Smati ; M, Clermont ; O et al., 2015).

Les oiseaux sauvages comme les goélands, les mouettes ou les canards présents sur le littoral sont également des sources de contamination potentielle en *E. coli* entre 5 et 9 log<sub>10</sub> UFC/g de fèces (Araujo ; S, Henriques ; IS et al., 2014), (Whitman ; RL, Harwood ; VJ et al., 2014).

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

## **I. Objectif :**

Notre travail a pour objectif de contribuer à évaluer le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants des produits de pêche dans les principaux ports de la wilaya d'Alger et Tipaza : la pêcherie d'Alger, la Madrague et Bouharoune ; aussi de déterminer la qualité bactériologique aux coliformes thermotolérants du poisson pour pouvoir nous renseigner sur les éventuels risques encourus par les consommateurs de cette denrée alimentaire.

Ce travail vise aussi à comparer le degré de contamination des trois ports choisis.

Notre recherche s'est articulée autour des étapes suivantes :

- La première étape : collection des échantillons à partir des trois ports.
- La deuxième étape : l'analyse bactériologique.
- La troisième étape : réalisation d'une galerie Api E 20.
- La quatrième étape : traitement des données.

## **II. Matériel et méthodes :**

### **II.1 Durée de l'étude :**

Notre étude expérimentale a été réalisée durant 3 mois de Septembre à Novembre de l'année 2018 en allant du 16 Septembre 2018 jusqu'à 26 Novembre 2018.

### **II.2 Echantillonnage :**

#### **II.2.1 Nature des échantillons :**

Le poisson représente notre échantillon que nous avons prélevé aléatoirement au niveau des ports cités précédemment.

## II.2.2 Sites de prélèvement :

Nous avons prélevé nos échantillons à partir des trois ports (Port de Bouharoun, port de la Madrague, et la pêcherie d'Alger) avec une fréquence de deux fois par port ; à chaque fois nous avons pris 10 échantillons, chaque échantillon a été prélevé d'un pêcheur afin de varier les résultats. En total nous avons 60 échantillons.

La température dans cette période était variée entre 23°C et 30°C.

Nous avons pris nos échantillons dans les premières heures du matin (4H à 5H du matin).

### II.2.2.1 Le port de Bouharoune :

Le port de Bouharoun se situe dans la baie de Bou-Ismaïl. Il est considéré comme le deuxième plus important port de pêche en Algérie

Le port abrite une flotte de 25 chalutiers, 53 sardiniers ; employant 1 425 personnes et produisant environ 9 700 tonnes de poissons par an.



**Figure 16** : Le port de Bouharoune

### II.2.2.2 Le port de la Madrague :

Le port d'El Djamila (ex la Madrague) est implanté à 18Km à l'Ouest d'Alger, il appartient administrativement à la commune d'Ain Beniane dans la wilaya d'Alger.

Le port abrite une flotte de 11 chalutiers, 5 sardiniers, 75 petits métiers.



**Figure 17** : Le port de la Madrague

### II.2.2.3 La pêcherie d'Alger :

Se situe au centre d'Alger, il produit environ 4400 tonnes de poisson par an.



**Figure 18** : La pêcherie d'Alger

**Tableau 12** : La répartition des échantillons par date et par site de prélèvement.

Port	Date de prélèvement	Nombre d'échantillon
<b>Port de Bouharoun</b>	16/09/2018	10
	30/09/2018	10
<b>Port de la Madrague</b>	14/10/2018	10
	28/10/2018	10
<b>La pêcheurie d'Alger</b>	12/11/2018	10
	26/11/2018	10

### II.2.3 Transport des échantillons :

Les échantillons ont été transportés dans une glacière réglée à une température qui ne dépasse pas 4°C jusqu'au laboratoire d'HIDAOA dans un délai qui n'a jamais dépassé trois heures.

### II.3 Lieu de l'étude :

Les analyses microbiologiques ont eu lieu au niveau de laboratoire d'HIDAOA à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.



**Figure 19** : Le laboratoire d'HIDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger (Photo personnelle)

## **II.4 Traitement des échantillons :**

Toutes les analyses et les manipulations des échantillons prélevés se sont déroulées au sein du laboratoire d'HIDAOA.

Durant les manipulations et les préparations toutes les conditions d'hygiène et d'asepsie, ont été mises en œuvre afin de ne pas avoir de faux résultats en contaminant nos échantillons.

Tout le matériel utilisé durant notre étude est mentionné dans la partie annexe (annexe 9).

### **II.4.1 Méthode d'analyse bactériologique :**

Afin de rechercher les coliformes thermotolérants, nous avons appliqué la norme **ISO 21528-1(Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae2017)** qui concerne le dénombrement des coliformes thermotolérants en milieu solide (VRBL).

### **II.4.2 Préparation des échantillons :**

#### **II.4.2.1 La pesée :**

Chaque échantillon est traité séparément de manière stérile tout près du bec bunsen, découpé à l'aide d'un Bistouri stérile. De manière stérile à l'aide d'une pince stérile ; nous avons introduit les morceaux de chair de poisson dans un sac stomacher stérile préalablement taré et identifié pour avoir à la fin un poids de 25g pour chaque échantillon qui va servir à la préparation de la suspension mère.



**Figure 20** : Pesée des échantillons à l'aide d'une balance électronique.

(Photo personnelle)

#### **II.4.2.2 Le broyage :**

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

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.

Enfin le mélange doit être laissé reposer pendant une période qui ne dépasse pas les 30 minutes, le temps de revivifier les bactéries et ne doit pas dépasser ce délai car il peut en résulter une variation de la population bactérienne initiale.

#### **II.4.3 Préparation des dilutions :**

D'abord nous avons préparé et identifié une série de tubes à essai stériles remplis de 9 ml de TSE.

A partir de la suspension mère ( $10^{-1}$ ) nous avons préparé 3 dilutions successives : ( $10^{-2}$ ), ( $10^{-3}$ ), et ( $10^{-4}$ ) ; Procédant comme suit :

1 ml de la suspension mère, préalablement homogénéisé et prélevé à l'aide d'un embout stérile fixé à une micropipette, est transféré dans un premier tube pour obtenir une dilution de ( $10^{-2}$ ).

A partir de ce dernier, 1 ml est extrait puis transféré dans un deuxième tube pour avoir la dilution ( $10^{-3}$ ) et ainsi de suite pour réaliser les autres dilutions.

Le but des dilutions décimales est de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume afin de permettre, après incubation, d'observer les colonies et de pouvoir effectuer leur dénombrement.



**Figure 21** : Les dilutions effectuées

(Photo personnelle)

## **II.5 Protocole de recherche et dénombrement des coliformes**

### **thermotolérants :**

#### **II.5.1 Principe :**

Ce protocole consiste à rechercher et dénombrer les coliformes thermotolérants dans une denrée alimentaire, destinée à la consommation humaine ou l'alimentation animale,

Selon la norme **ISO 21528-1(2017)** Par comptage des colonies sur un milieu solide (VRBL) après une incubation en aérobie à 44°C.

Ce milieu permet le développement des coliformes thermotolérants tout en inhibant la croissance des autres bactéries présentes dans le l'aliment grâce à sa composante (cristal violet et de sels biliaries) qui assure l'inhibition des bactéries Gram positif et toutes autres variétés de bactéries non coliformes.

### II.5.2 Mode opératoire :

Après avoir préparé un milieu VRBL à partir d'un milieu déshydraté comme suit :

- Mettre en suspension 38,5 g de milieu déshydraté (BK152) dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44°C.



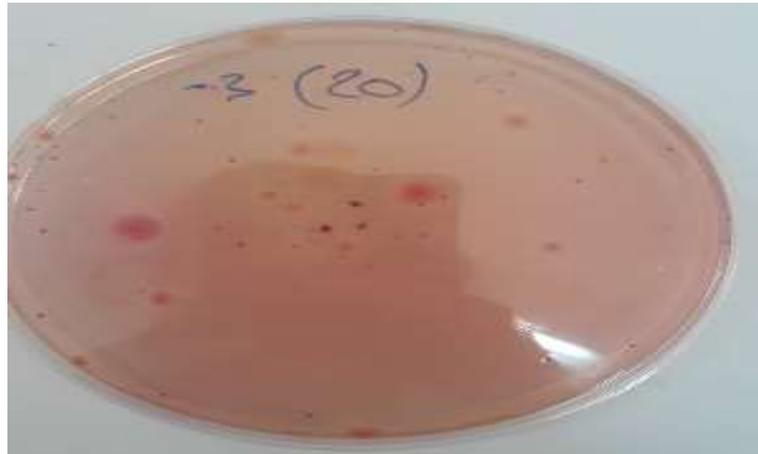
**Figure 22** : Flacon préparé de gélose VRBL  
(Photo personnelle)

Nous avons réalisé un ensemencement en profondeur sur les boîtes de Pétri stériles déjà identifiées. De chaque dilution nous avons transféré 1 ml à l'aide d'un embout stérile fixé sur une micropipette, ensuite nous avons fait couler 10 à 15 ml de la gélose VRBL. Enfin nous avons appliqué des mouvements circulaires (en  $\infty$ ) pour bien homogénéiser la gélose avec l'inoculum.

Les boîtes sont laissées à une température ambiante jusqu'à solidification, ensuite incubées à 44°C pendant 24h puis 48h.

### II.5.3 Lecture :

Après la période d'incubation de 24h, on aura des colonies roses violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, entourées d'un halo violet de sels biliaires précipités. Ayant poussées en masse dans la boîte de Pétri sont comptées à l'aide du compteur de colonies, en retenant celles contenant entre 15 et 150 colonies au niveau de deux dilutions successives ; Un autre comptage est effectué après 48h.



**Figure 23** : Boîte de pétri contenant des coliformes thermotolérants  
(Photo personnelle)

## II.6 Protocole de recherche d'Escherichia Coli :

### II.6.1 La purification des souches :

Cette opération consiste à avoir une culture pure par repiquage successifs des colonies isolées.

Après la lecture effectuée précédemment, nous avons transféré les colonies suspectées sur une gélose nutritive que nous avons préalablement préparé et coulée dans des boîtes de pétri stériles et divisées sur 10 parties. Pour chaque dilution nous avons repiqué 3

colonies ensemencées en stries. Enfin les boites de pétri sont mises à l'incubateur à 37°C pendant 24h.

## II.6.2 Test d'eau peptonée exempte d'indole :

### II.6.2.1 Principe :

L'eau peptonée exempte d'indole permet la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Ce milieu est surtout employé au cours du test de Mackenzie pour l'identification d'*Escherichia coli* par la production d'indole.

En aérobiose, *Escherichia coli* dégrade le tryptophane en indole par l'intermédiaire d'une tryptophanase. L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs.

### II.6.2.2 Méthode :

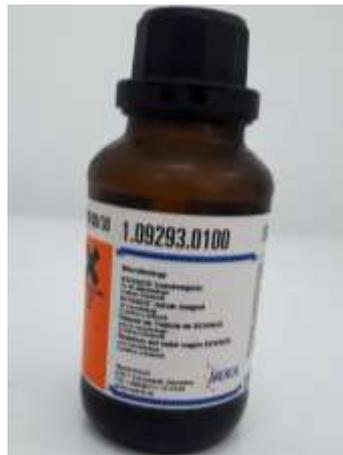
Après la purification des colonies, on prend un ensemble de colonies à l'aide d'une anse de Henlé stérile et on ensemence dans des tubes en verre ou des tubes Eppendorf contenant de l'eau peptonée exempte d'indole, puis on les incube à 44°C pendant 24h.



**Figure 24** : Tube contenant de l'eau peptonée exempte d'indole  
(Photo personnelle)

### II.6.2.3 Lecture :

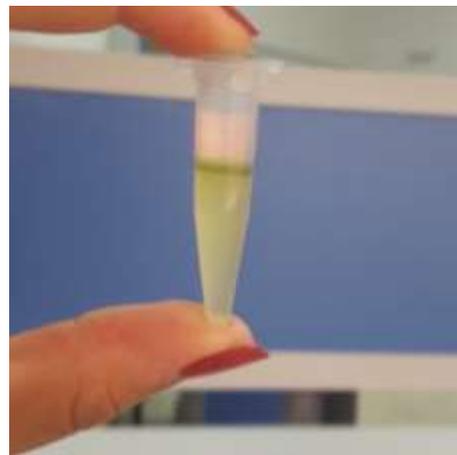
Après 24h d'incubation, on rajoute une goutte (0.5ml) de réactif de kovacs dans chaque tube. La lecture est effectuée une à deux minutes après : l'apparition d'un anneau rouge confirme la présence d'E-Coli.



**Figure 25** : Réactif du kovacs  
(Photo personnelle)



**Figure 26** : résultat positif  
(présence d'anneau rouge)  
(Photo personnelle)



**Figure 27** : résultat négatif  
(absence d'anneau rouge)  
(Photo personnelle)

## II.7 La recherche d'E.Coli par la galerie Api (api 20E) :

### II.7.1 Principe :

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae ; comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.



**Figure 28** : Galerie api 20 E  
(Photo personnelle)

### II.7.2 Mode opératoire :

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés par la suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleurs spontanés ou révélés par l'addition de certains réactifs.

On introduit la suspension bactérienne dans les tubes à l'aide d'une pipette en évitant la formation des bulles au fond des tubes.

- Pour les tests (CIT) ;(VP) et (GEL), les tubes et les cupules sont remplis.
- Pour les autres tests, que les tubes qui sont remplis.
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE ; une anaérobiose est créée en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.

Après la fermeture des galeries, on incube à 37°C pendant 24h.

### II.7.3 Lecture :

Après 24h on ajoute les réactifs individuels (TDA, JAMES, VP1 + VP2, NIT1+NIT2) aux tests (TDA, IND, VP et GLU) successivement. Tableau annexe 10.

### II.8 Méthode de dénombrement :

Le nombre de microorganismes par gramme de produit est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{v \times 1,1 \times d} \text{germes par gramme}$$

Avec :

- $\sum c$  : sommes de colonies comptées de deux boites successives
- v : volume de l'inoculum posé dans chaque boite (v = 0,1 ml)
- d : taux de dilution correspondante à la dilution retenue
- N : taux de germes par gramme

#### II.8.1 Méthode d'interprétation de résultats :

Nous avons interprété nos résultats selon les modalités fixées dans **l'arrêt interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 du journal officiel de la république Algérienne fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires**. Lequel nous a permis de classer nos résultats en trois classes qui sont définies par unité de l'échantillon :

-1er classe : le résultat obtenu est inférieur à m : satisfaisant

-2e classe : le résultat obtenu est compris entre m et M : acceptable

-3e classe le résultat obtenu est supérieur à M : non satisfaisant

Où :

**n** = nombre d'unité constituant l'échantillon

**m** = nombre de germes présents dans un gramme de produit analysé qui correspond la valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante.(10pour les coliformes thermotolérants).

**M** = nombre de germes présents dans un gramme de produit analysé qui correspond la valeur au-dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme non satisfaisante.  
 $M = 10^2$ .

**c**: nombre maximal d'unités d'échantillon de produit analysé qui peut dépasser  $\langle m \rangle$  tout en étant inférieur à  $\langle M \rangle$  sans que le lot ne soit rejeté.

Poissons, céphalopodes et mollusques crus (sauf mollusques bivalves vivants) <sup>(3)</sup>	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 <sup>(4) (5)</sup>	<i>Escherichia coli</i>	5	1	230 NPP*/100g	700 NPP/ 100 g
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

**Figure29** : Tableau des critères microbiologiques (coliformes thermotolérants) dans le poisson selon le journal national (Arrêté interministériel du 28 Moharram 1439 correspondant au 19 octobre 2017)

Dont :

**n= 5**

**c= 2**

**m=10** : seuil en dessous duquel la qualité du produit est considérée comme satisfaisante.

**M =  $10^2$**  : seuil au-dessus duquel la qualité du produit est considérée comme insatisfaisante.

## **II.8.2 Le traitement des résultats :**

Toutes les données ont été saisies dans une base informatique classique (Excel 2010). La vérification et le traitement statistique des données sont effectués sur le logiciel IBM SPSS Statistics Version 20.

L'analyse descriptive a porté sur la détermination de la charge bactérienne moyenne des coliformes thermotolérants des échantillons.

La prévalence de la contamination par les coliformes thermotolérants et *Escherichia coli* globale dans les ports choisis par lot, par espèce, par activité, et d'autres facteurs.... Et l'étude de l'appréciation de la qualité des échantillons selon les mêmes facteurs.

On a utilisé le test non paramétrique Khi-deux d'indépendance et selon facteur port pour l'étude de l'indépendance des taux de contamination enregistrées.

Les représentations graphiques ont pour but d'apprécier l'évolution des paramètres (caractères) étudiées.

Le seuil de signification choisi et d'au moins 5%.

## I. Résultats et discussion :

Dans cette partie d'étude, nous développerons dans un premier temps les résultats concernant le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants au niveau des trois ports choisis ; puis dans un second temps le taux de contamination à *Escherichia Coli* dans les mêmes ports cités ci-dessus. Enfin on va donner le résultat global de contamination aux coliformes thermotolérants et à *E. Coli* dans les trois ports.

## II. Résultats du niveau de contamination aux coliformes thermotolérants :

### II.1 Résultats du niveau de contamination aux coliformes thermotolérants par port :

Les résultats statistiques du taux de contamination aux coliformes thermotolérants sont rapportés dans le tableau 13 et illustrés dans la figure 30.

Dans notre étude nous avons utilisé le test de Khi-deux pour savoir si les résultats sont significatifs ou pas. La valeur Khi-deux est une quantification de l'écart ou la distance entre l'hypothèse nulle (occurrences attendues) et la situation réelle (occurrences observées). Plus la valeur sera élevée, plus l'écart entre l'hypothèse nulle et la situation réelle sera grand.

**Tableau 13** : Tests de Khi-deux de la contamination aux coliformes thermotolérants

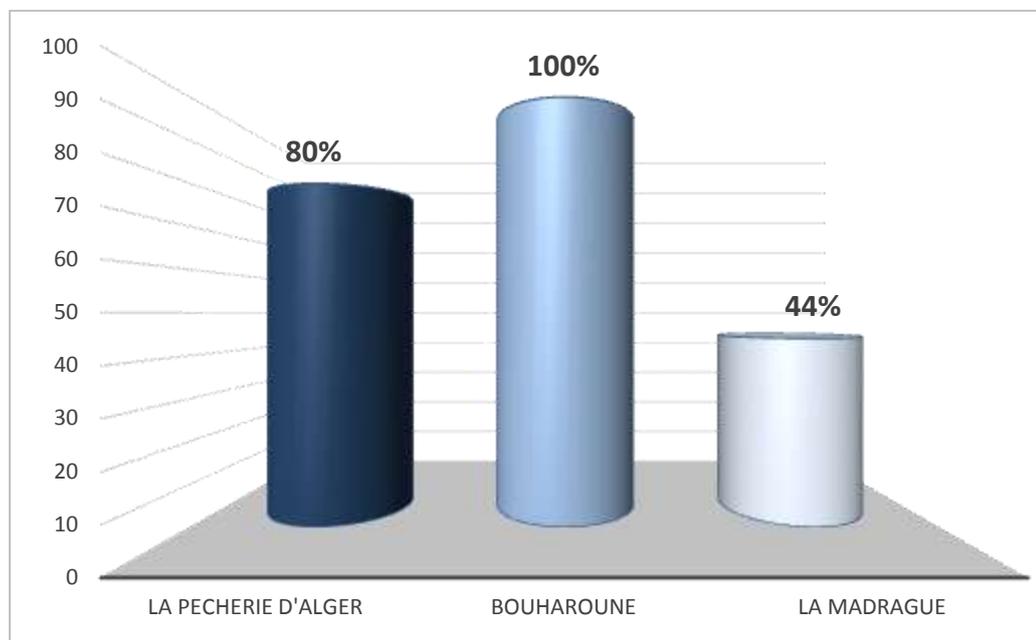
	Valeur	Ddl	Signification asymptotique
<b>Khi-deux de Pearson</b>	24,646 <sup>a</sup>	2	0,00
<b>Rapport de vraisemblance</b>	27,064	2	0,00
<b>Nb.D'observations valides</b>	60		

Dans le tableau 13, on observe que l'écart entre les occurrences attendues et les occurrences observées est de **24,646<sup>a</sup>**, et le degré de signification est très bas (nulle), ce qui indique que les différences entre les occurrences observées et attendues sont **très significatives**. On doit donc **rejeter l'hypothèse nulle**.

Statistiquement parlons, la distribution de coliformes TT est **identique** sur les catégories de port.

**Tableau 14** : Analyses statistiques de la contamination aux coliformes TT dans les trois ports choisis.

Port	Nbe d'Ech contaminés	Fréquence(%)	Moyenne	Ecart type	Minimum de contamination
La pêcheurie	16/20	80	1,31	0,63	<b>2,26</b>
Bouharoune	20/20	100	2,32	2,27	<b>2,69</b>
La Madrague	9/20	44	1,07	1,97	<b>2,59</b>
<b>Total</b>	<b>45/60</b>	<b>75</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Ecart type</b>	<b>1,46</b>



**Figure 30** : Le taux de contamination aux coliformes thermotolérants par port

Dans le tableau 14 nous avons trouvé que dans les **20** échantillons de chaque port, le minimum de contamination est de **0** dans le port de la pêche de la Madrague. Cependant dans le port de Bouharoune est le minimum de contamination était de **1,46**. Contrairement au maximum de contamination qui est rapproché dans la pêche de la Madrague, Bouharoune et la Madrague, les valeurs sont successivement **2,26 ; 2,69 ; 2,59**.

La moyenne de contamination dans le port de la pêche de la Madrague est de **1,31 log<sub>10</sub> ufc/g** dans le port de Bouharoune est de **2,32 log<sub>10</sub> ufc/g** et dans le port de la Madrague est de **1,07 log<sub>10</sub> ufc/g**.

L'écart type est variable allant de **0,63** dans la pêche de la Madrague à **1,97** dans la Madrague jusqu'à **2,27** dans Bouharoune.

En se référant au tableau 14 et la figure 30, nos résultats du niveau de contamination aux coliformes TT dans les trois ports analysés sont statistiquement variables et différents.

Parmi les **60** échantillons analysés, nous avons pu trouver un taux de contamination aux coliformes TT significativement différent où nous avons enregistré par port **16/20** échantillons, au niveau de la pêche de la Madrague (**80%**), et de **9/20** échantillons au niveau de la Madrague (**44%**).

Le plus grand taux de contamination était enregistré au niveau du port de Bouharoune où la totalité des échantillons analysés (**20/20**) étaient contaminés, ce qui nous donne une fréquence de contamination de **100%**.

## **II.2 Résultats du taux de contamination globale aux coliformes**

### **thermotolérants:**

Les analyses statistiques de la contamination globale aux coliformes TT de notre étude sont mentionnées dans le tableau 15.

**Tableau 15** : Analyses statistiques globales de contamination aux coliformes TT

<b>Nombre valide</b>	60
<b>Moyenne</b>	1,57 log <sub>10</sub>
<b>Erreur standard de la moyenne</b>	0,11
<b>Ecart-type</b>	0,87
<b>Minimum</b>	0,00
<b>Maximum</b>	2,69

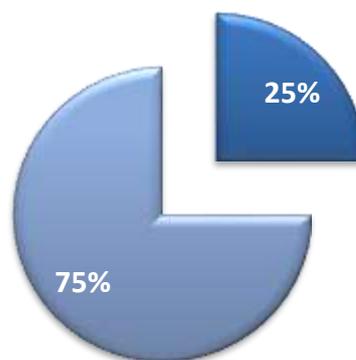
Dans tous les échantillons analysés (**60** Ech.), nous avons trouvé une moyenne de contamination aux coliformes TT égale à **1,57 log<sub>10</sub> UFC/g** ; avec une erreur standard de la moyenne **0,11** ; l'écart type est **0,87** ; avec un minimum de contamination **0** et un maximum de **2,69**.

Les résultats du taux de contamination globale aux coliformes TT sont rapportés dans le tableau 16 et illustrés dans la figure31.

**Tableau 16** : Taux de contamination globale aux coliformes TT.

	<b>Nbre d'éch.</b>	<b>Nbre d'éch. contaminés</b>	<b>Fréquence (%)</b>
<b>Les trois ports</b>	<b>60</b>	<b>45</b>	<b>75 %</b>

■ Ech Non contaminés    ■ Ech contaminés



**Figure 31** : Taux de contamination globale aux coliformes TT

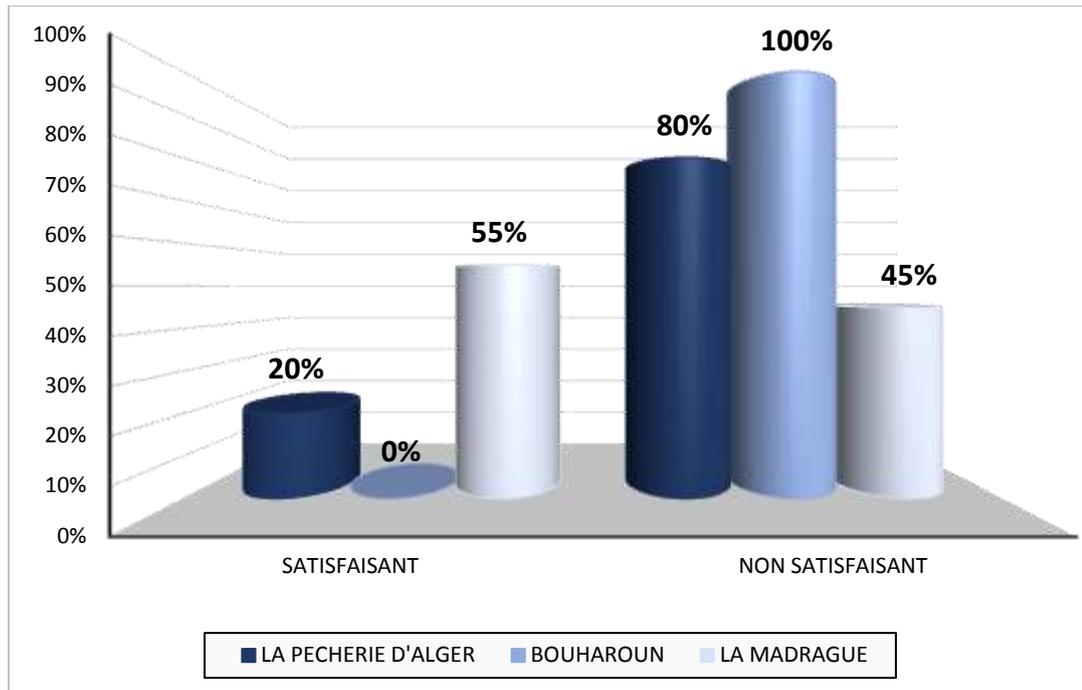
Nos résultats d'étude présentés dans le tableau 14 montrent que dans les **60** échantillons analysés, les trois quart étaient contaminés. Nous avons trouvé au total **45** échantillons contaminés par les coliformes thermotolérants avec un taux de **75%**, contre seulement **25** échantillons non contaminés (**25%**).

### II.3 La qualité bactériologique aux coliformes TT des poissons par port :

Les résultats obtenus au cours de notre étude concernant la qualité bactériologique des poissons dans les ports de la pêche de la Madrague et Bouharoune sont rapportés dans le tableau 17 et sont illustrés dans la figure 32.

**Tableau17** : La qualité bactériologique aux coliformes TT par port.

PORTS	La Qualité bactériologique aux coliformes TT	
	Nbre d'Ech. (%)	
	Satisfaisant (S)	Non Satisfaisant (NS)
La pêche de d'Alger	4/20 (20%)	16/20 (80%)
Le port de Bouharoune	0/20 (0%)	20/20 (100%)
Le port de la Madrague	11/20 (55%)	9/20 (45%)
<b>Total</b>	15/60 (25%)	45/60 (75%)



**Figure 32** : La qualité bactériologique aux coliformes TT par port.

Les résultats d'analyses bactériologiques aux coliformes TT des poissons prélevés au niveau des trois ports ont révélé une très mauvaise qualité bactériologique au niveau du port de Bouharoune, suivie par le port de la pêche d'Alger. Une qualité qui était presque pareil a été enregistrée au niveau du port de la Madrague.

Au niveau du port de la pêche d'Alger, les résultats nous montrent que sur les **20** échantillons analysés, la qualité bactériologique était **satisfaisante** seulement pour **4** échantillons de poisson (**20%**). Les **16** échantillons restants (**80%**) avaient une qualité bactériologique non satisfaisante par rapport aux coliformes TT, avec une moyenne de contamination de l'ordre de **1.31 log<sub>10</sub> UFC/g (> M=10<sup>2</sup>)**

Au niveau du port de Bouharoune, Aucun échantillon de poisson n'a été de qualité **satisfaisante**. La totalité des échantillons (**20, 100%**) avaient une qualité bactériologique **non satisfaisante** par rapport aux coliformes TT, avec une moyenne de contamination de l'ordre de **2.33 log<sub>10</sub> UFC/g (> M=10<sup>2</sup>)**.

Au niveau du port de la Madrague, la qualité bactériologique était **satisfaisante** pour **11** sur **20** échantillons (**55%**). Pour les **9** échantillons restants, la qualité bactériologique

était **non satisfaisante** par rapport aux coliformes TT avec un taux de **44%**. La moyenne de contamination enregistrée au niveau de ce port était de l'ordre de **1.08 log<sub>10</sub> UFC/g** ( $> M=10^2$ ).

Sachant que la contamination aux coliformes TT et principalement à *E. Coli* est un indicateur de contamination fécale et selon nos résultats de l'analyse bactériologique du poisson aux Coliformes TT, qui a révélé des taux significativement différents au niveau du port de Bouharoune (**100%**), suivi par le port de la pêcherie d'Alger (**80%**), et le port de La Madrague (**45%**); des hypothèses peuvent être avancées afin d'expliquer la différence nettement significative entre les trois ports étudiés en ce qui concerne le taux enregistré en Coliformes TT:

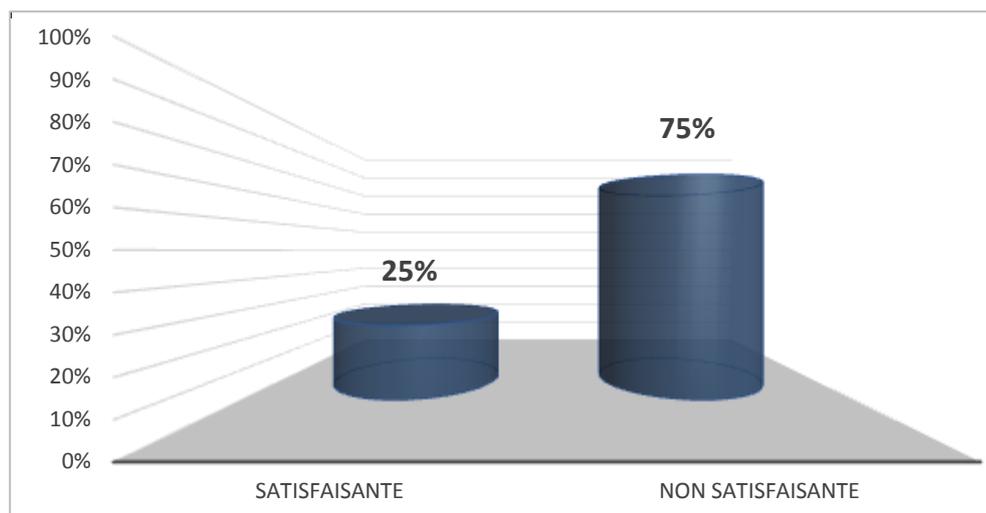
- En premier lieu, la source la plus incriminée est la contamination de l'environnement par les sources agricoles qui sont augmentés par temps de pluie en raison des ruissellements au niveau des sièges des exploitations et dans les champs sur lesquels les effluents sont épanchés (**Blaustein ; RA, Hill ; RL et al ., 2016**) ANX(UFC)
- En deuxième lieu, nous pouvons penser à la pollution des eaux de mer par la source d'origine urbaine, et les sources environnementales. Et ce par le rejet des eaux extrêmement polluées de oued El Harrach dans la mer en ce qui concerne le port d'Alger, qui augmente la fréquence de contamination de cette denrée alimentaire ; il dépasse de 30 fois les normes acceptées et 400 fois les normes de l'OMS (organisation mondiale de la santé). En effet, il traverse sur ses 9 derniers kilomètres, jusqu'à son embouchure, un important tissu urbain et industriel. (**Aroua ; N., 2009**). (**Voir photos annexes 11 et 12**). Nous tenons à préciser que selon **Lueddeke et al., 2015**, la charge des eaux usées en Coliformes TT même après traitement, reste de l'ordre de **4.8-5.8 log<sub>10</sub>/100 ml**. Aussi et selon **Smati et al., 2015**, l'origine urbaine reste parmi les principales sources avec **7.4-8.4 log<sub>10</sub> UFC/g** comme taux d'E.Coli chez l'homme.
- En troisième lieu, nous pouvons émettre l'idée que la différence entre ports peut aussi être expliquée par la différence dans les conditions météorologiques (Pluviométrie, Température et Humidité...), aussi, par les paramètres biochimiques, tels que le pH.

## II.4 La qualité bactériologique globale aux coliformes TT des poissons :

Les résultats globaux concernant la qualité bactériologique des poissons dans les ports de la pêche d'Alger, Bouharoune et la Madrague sont rapportés et illustrés dans le tableau 18 et la figure 33.

**Tableau 18** : Qualité bactériologique globale aux coliformes TT des poissons.

Qualité bactériologique aux coliformes TT	Nbr. d'échantillons	Taux d'échantillons
Satisfaisante	15/60	25%
Non satisfaisante	45/60	75%
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>100%</b>



**Figure 33** : La qualité bactériologique globale aux coliformes TT

De manière globale, nous avons trouvé **15** échantillons de poissons de bonne qualité bactériologique aux coliformes TT faisant un taux de **25%**. Des échantillons qui n'ont pas dépassé la valeur  $m (=10)$  et donc présentent une qualité bactériologique **satisfaisante**. La moyenne de dénombrement était de **0 UFC/g**.

Pour les échantillons de mauvaise qualité, nous avons trouvé **45** échantillons de poisson qui présentent une mauvaise qualité bactériologique aux coliformes TT « **non satisfaisante** » et qui font un taux de **75%**, avec une moyenne de dénombrement de **1.57 log<sub>10</sub> ufc/g**, qui dépasse la valeur M (=100).

D'autres études similaires ont été faites par d'autres auteurs aussi bien en Algérie qu'à l'étranger. Au Maroc, **Ould Abeida ; A, Mennane ; Z et al., 2014** ont trouvé une moyenne de contamination des poissons aux coliformes TT presque similaire à la notre avec **2.07 UFC/g**. Par contre, **Nespolo ; N, Martineli ; T et al ., 2012 (X)** et **Hussein ; M, Merwad ; A et al ., 2018 (Egypt)** ont trouvé des taux supérieurs aux nos résultats avec **2.59 log<sub>10</sub> UFC/g** et **3,6 log<sub>10</sub> UFC/g** respectivement. A noter que **Selidja ; N et SEREIR ELHIRTSI ; O., 2017 (Algérie)** ont enregistré une absence totale de coliformes TT.

### III. Taux de la contamination à *Escherichia Coli* :

#### III.1 Taux de la contamination à *Escherichia Coli* par port :

##### III.1.1 Taux de positivité au test Kovacs par port:

Après avoir effectué le test kovacs, nous avons pu isoler **24** souches kovacs+. Il s'agit de souches qui présentaient un résultat positif à ce test. (Présence d'anneau rouge). Les résultats sont rapportés dans le tableau 20 et illustrés dans la figure 34.

**Tableau 19** : tests de Khi-deux de la contamination à E. Coli

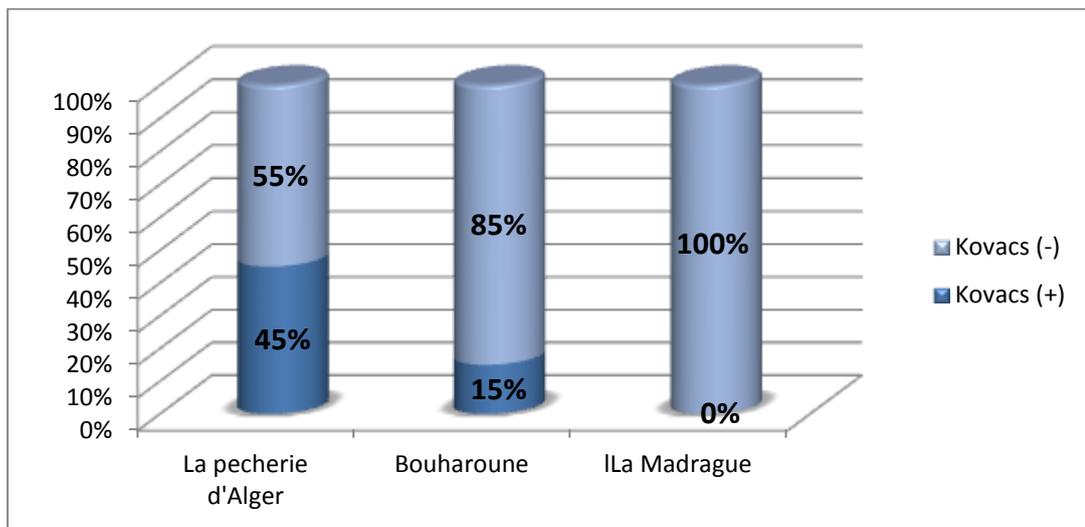
	Valeur	Ddl	Signification asymptomatique (bilatérale)
<b>Khi-deux de Pearson</b>	3,055 <sup>a</sup>	2	0,217
<b>Rapport de vraisemblance</b>	4,509	2	0,105
<b>Nombre d'observations valides</b>	60		

Dans le tableau 19, on observe que l'écart entre les occurrences attendues et les occurrences observées est de **3,055<sup>a</sup>**, et le degré de signification est de **0,217** ce qui indique que les différences entre les occurrences observées et attendues **n'est pas significative**. Donc la différence n'existe pas dans ce cas.

Statistiquement parlons, la distribution de E. Coli **n'est pas identique** sur les catégories de port.

**Tableau 20** : Résultats de positivité au test de Kovacs par souche.

Port (s)	Nb. de souche (Kovacs+)	Nb. D'Ech. (Kovacs+)
La pêcheerie d'Alger	14	9/20 (45%)
Bouharoune	10	3/20 (15%)
La Madrague	0	0/20 (0%)
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>12/60 (20%)</b>



**Figure 34** : Répartition des échantillons par taux de positivité au test Kovacs

Sur les **60** échantillons prélevés, nous avons enregistré un taux de 20% d'échantillons positifs au Kovacs.

La répartition par port était comme suit : Au niveau du port de la pêcheerie d'Alger nous avons trouvé **9** échantillons contaminés à *E. coli* (**45%**); alors qu'au niveau de Bouharoune nous n'avons trouvé que **3** échantillons contaminés (**15%**).

Notre étude n'a révélé aucune souche d'*E. coli* Kovacs+ au niveau du port de la madrague.

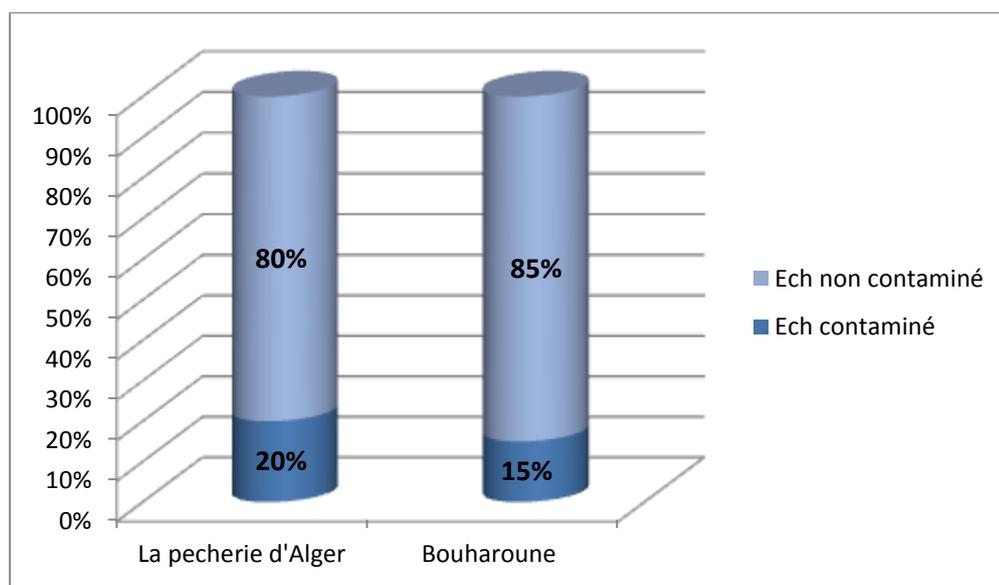
### III.1.2 Taux de la contamination à *Escherichia Coli* par port :

Dans notre étude expérimentale, et après avoir réalisé le test Kovacs, nous n'avons effectué des tests API E20 que sur les souches Kovacs+ afin de pouvoir identifier des souches *Escherichia Coli* préemptives dans nos échantillons analysés. La lecture était faite par un logiciel.

Les résultats sont reportés dans le tableau 21 et illustrés dans la figure 35.

**Tableau 21** : Le taux de contamination à *E. Coli* par port

Port	Nb. d'éch contaminé par E coli
Port de la pêcherie d' Alger	4/20 (20%)
Bouharoune	3/20 (15%)
<b>Total</b>	<b>7/60 (11.66 %)</b>



**Figure 35** : Taux de contamination à *E.Coli* par port.

Le taux de contamination des échantillons au niveau du port de Bouharoune était de **15%** (4/20), un taux presque pareil que celui d'Alger, où le taux enregistré était de **20%**. Un résultat qui nous met devant une fréquence de contamination globale tous ports confondus de **11.66%**. A noter également que tous les échantillons prélevés au niveau du port de la madrague étaient exempt au *E coli*.

Certains auteurs tels **Marin ; C, Fonseca ; C et al., 2006** ont trouvé un taux similaire au notre qui est de **11%**; l'étude **d'OuldAbeida ; A, Mennane ; Z et al., 2014** a aussi enregistré presque la même fréquence avec **15,38%** d'échantillons contaminés par *E. Coli*.

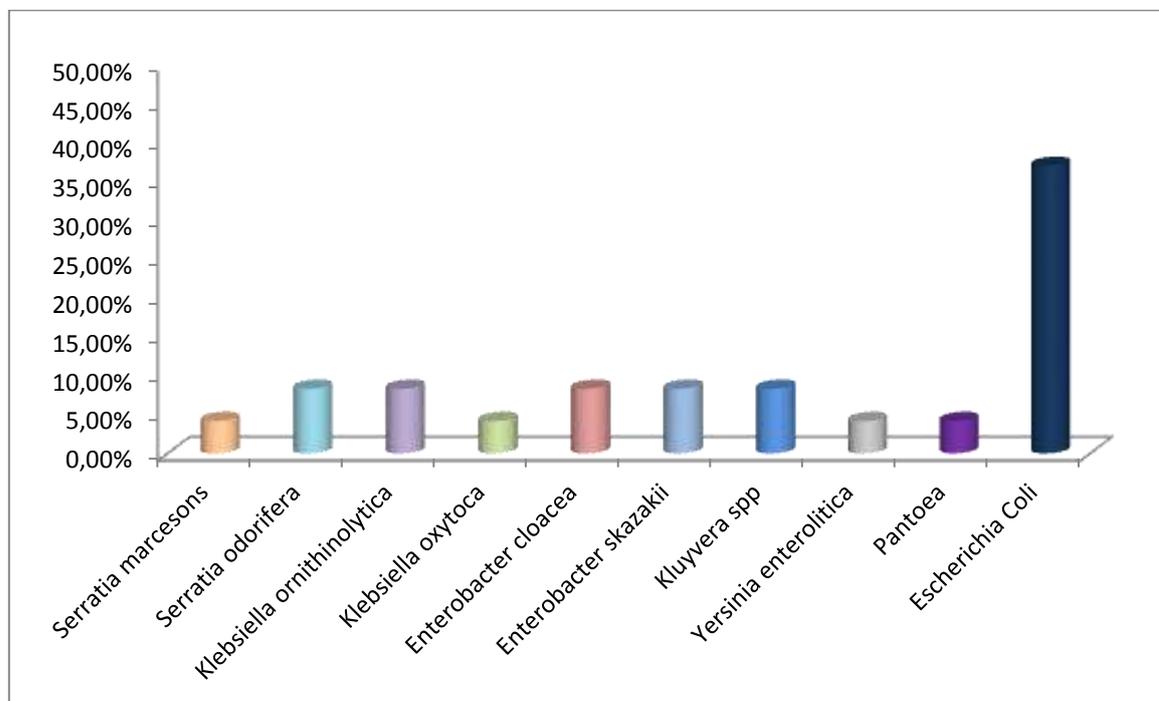
L'étude menée en Algérie (Béjaia) par **Sadou ; H., 2017** a quant à elle trouvé une fréquence de contamination de **51,96%** qui reste très élevée par rapport à nos résultats.

Une différence non significative entre les ports d'Alger et de Bouharoune concernant le taux de contamination à *E. coli*, et une absence totale de cette bactérie au niveau du port de la Madrague, ne peut que venir confirmer l'existence d'un problème réel d'hygiène dans les opérations que subit notre denrée alimentaire dès la sortie du poisson de l'eau jusqu'à l'arrivée aux consommateurs, sans omettre la possible contamination du poisson dans son milieu naturel ; tels que :

- Le manque d'hygiène corporel et vestimentaire du personnel et les matériaux traditionnels utilisés pendant la pêche présentent un principal facteur de contamination du poisson.
- La contamination après la pêche est inévitable non seulement si les conditions d'hygiène étaient inadéquates, mais aussi lors de la commercialisation du poisson qui doit respecter les normes mondiale (arrêté de Décembre 1992) : la température du poisson frais doit être à la température de la glace fondante (entre +0°C et +2°C) en mettant en contact le poisson avec de la glace broyée dans une caisse pour empêcher le développement bactérien.
- L'ensemble de toutes ces lacunes entraînent des risques pour la santé humaine si des actions correctives ne sont pas mises en œuvre.

### III.2 La diversité bactérienne des souches Kovacs+ isolées par API E20

Les résultats du logiciel utilisé ont montré la présence de quelques autres bactéries telles que : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia*... Ces résultats sont illustrés dans la figure 36.



**Figure 36** : La diversité bactérienne des souches Kovacs+ isolées par API E20

**CONCLUSION**

## Conclusion :

Au terme de notre étude, nous avons prélevé **60** échantillons de poissons frais au niveau de quelques ports de la wilaya d'Alger et Tipaza : la pêcherie d'Alger, Bouharoun et la Madrague dans le but d'apprécier leur niveau de contamination aux coliformes thermotolérants et spécifiquement à Escherichia Coli et leur salubrité vis-à-vis ces agents pathogènes.

Pour les trois ports nous avons obtenu des niveaux de contamination variables aux coliformes thermotolérants et à Escherichia Coli qui sont successivement de **75%** et **11,66%** avec une moyenne globale qui vaut **1,57 log<sub>10</sub> UFC/g**.

Soit un taux de présence de coliformes TT par port qui est de **88%** au niveau de la pêcherie d'Alger, **100%** au niveau de Bouharoun, et **44%** au niveau de la madrague.

Concernant la qualité bactériologique au coliformes TT dans le port de la pêcherie d'Alger est comme suit :

- **20%** de poissons sont de bonne qualité bactériologique donc qualité satisfaisante.
- **80%** de poissons ont une mauvaise qualité bactériologique donc qualité non satisfaisante avec une moyenne de dénombrement de **1.31 log<sub>10</sub> UFC/g**.

La qualité bactériologique aux coliformes TT des poissons dans le port de Bouharoun est :

- **0%** de poissons sont de qualité satisfaisante.
- **100%** de poissons sont de qualité non satisfaisante avec une moyenne de dénombrement de **2.33 log<sub>10</sub> UFC/g**.

En outre, la qualité bactériologique aux coliformes TT des poissons au niveau du port de la Madrague est :

- **55%** de poissons sont de qualité satisfaisante
- **45%** de poissons de qualité non satisfaisante avec une moyenne de **1.08 log<sub>10</sub> UFC/g**

De manière globale, **25%** des échantillons de poissons ont une bonne qualité bactériologique aux coliformes TT. Et **75%** des échantillons ont une mauvaise qualité bactériologique.

Et cela selon les modalités et les critères fixés par la réglementation Algérienne.

Concernant Escherichia Coli, le taux de présence de cette bactérie dans les ports sélectionnés est comme suit :

- **20%** au niveau de port de la pêcherie d'Alger.
- **15%** au niveau du port de Bouharoun.
- **0%** au niveau du port de la madrague.

Ces résultats peuvent s'expliquer par les conditions d'hygiène défectueuse du fait que les coliformes TT et E.Coli sont des indicateurs d'hygiène, leur présence dans le poisson frais indique que dans les ports choisis les normes de bonnes pratiques d'hygiène ne sont pas respectées. Ainsi que la pollution d'eaux marines par des eaux usées peut influencer nos résultats.

Faut noter que le risque de présence des coliformes TT et d'E.Coli présentera un problème de santé publique, en absence de contrôle sanitaire et une bonne maîtrise des bonnes pratiques d'hygiène sans négliger la probabilité d'une pollution des eaux marines.

### **Recommandations :**

L'étude du circuit du poisson de la mer jusqu'au plat a permis d'évaluer les risques microbiologiques sur sa qualité. Les résultats des analyses bactériologiques révèlent la présence des coliformes thermotolérants de d'Escherichia coli, dans les échantillons de poisson, avec des teneurs relativement supérieures aux prescriptions normatives Algériennes.

Il apparaît donc nécessaire d'entreprendre des actions visant à réduire le développement de ces germes et de garantir la qualité microbiologique du poisson :

- Renforcement de l'hygiène des lieux, de manipulation et du matériel utilisé.
- Formation du personnel sur les bonnes pratiques d'hygiène.
- Le transport dans un délai raisonnable pour le consommateur.
- De préférence de consommer cette denrée bien cuite.
- Pomper l'eau de mer en dehors des zones de rejets anthropiques (liés à l'activité humaine).

# **ANNEXES**

## ANNEXE 1

Compositions en eau, lipides et protéines de la chair des principaux poissons retrouvés sur les états français. Les valeurs correspondent à la part de l'élément par rapport au poids de chair. (Murray;J et Burt;JR., 1969)

Espèces	Noms scientifiques	Eau (%)	Lipides (%)	Protéines (%)
Merlan	<i>Gadus merlangus</i>	80	0,2 - 0,6	16,4 - 19,0
Cabillaud	<i>Gadus morhua</i>	78 - 83	0,1 - 0,9	15,0 - 19,0
Limande	<i>Limanda limanda</i>	79	0,5 - 1,2	12,8 - 18,2
Eglefin	<i>Gadus aeglefinus</i>	79 - 84	0,1 - 0,6	14,6 - 20,3
Colin	<i>Merluccius merluccius</i>	80	0,4 - 1,0	17,8 - 18,6
Lingue	<i>Molva molva</i>	78	0,1 - 0,4	19,5 - 22,2
Sole	<i>Solea solea</i>	78	1,8	18,8
Plie	<i>Pleuronectes platessa</i>	81	1,1 - 3,6	15,7 - 17,8
Thon	<i>Thunnus sp.</i>	71	1 - 4	25,2
Bar	<i>Morone labrax</i>	77	2,5	19,3
Turbot	<i>Scophthalmus maximus</i>	78	2,1 - 3,9	16,8 - 20,6
Truite	<i>Salmo trutta</i>	70 - 79	1,2 - 10,8	18,8 - 19,1
Saumon	<i>Salmo salar</i>	67 - 77	0,3 - 14,0	21,5
Hareng	<i>Clupea harengus</i>	60 - 80	0,4 - 22,0	16,0 - 19,0
Maquereau	<i>Scomber scombrus</i>	60 - 74	1,0 - 23,5	16 - 20

## ANNEXE 2

Composition moyenne en acides aminés essentiels (en pourcentage) de différentes protéines animales (Huss ; HH., 1999)

Acides Aminés	Poisson	Lait	Bœuf	Œuf
Lysine	8,8	8,1	9,3	6,8
Tryptophane	1,0	1,6	1,1	1,9
Histidine	2,0	2,6	3,8	2,2
Phénylalanine	3,9	5,3	4,5	5,4
Leucine	8,4	10,2	8,2	8,4
Isoleucine	6,0	7,2	5,2	7,1
Thréonine	4,6	4,4	4,2	5,5
Méthionine-Cystéine	4,0	4,3	2,9	3,3
Valine	6,0	7,6	5,0	8,1

## ANNEXE 3

Composition en acides aminés libres des muscles de plusieurs espèces de poissons. Les valeurs affichées correspondent à des milligrammes pour 100 g de chair. Ces données sont issues de plusieurs références : ([1] Suyama & Suzuki 1975, [2] Suyama & Yoshizawa 1973 et [3] Konosuet *al.* 1974).

Espèces de poissons	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Try	Lys	His	Arg	Tau
Requin ( <i>Mustelus kanekonis</i> ) [1]	6	10	9	12	7	28	21	5	5	5	8	2	4	-	4	11	7	35
Requin taupe ( <i>Lamna cornubica</i> ) [1]	7	7	10	12	7	21	19	7	6	5	8	5	4	-	3	8	6	44
Thon albacore ( <i>Neothunnus albacora</i> ) [2]	1	3	2	3	2	3	7	7	3	3	7	2	2	-	35	1220	1	26
Sériole du Japon ( <i>Seriola quinqueradiata</i> ) [2]	1	9	9	12	2	11	24	4	3	3	5	5	3	-	42	1160	1	
Maquereau commun ( <i>Scomber scombrus</i> ) [3]	-	11	6	18	26	7	26	16	2	7	14	7	4	-	93	676	11	84
Dorade japonaise ( <i>Chrysophrys major</i> ) [3]	-	3	3	5	2	12	-	3	-	3	4	2	2	-	11	4	2	138
Cardeau ( <i>Paralichthys olivaceus</i> ) [3]	-	4	3	6	1	5	13	1	1	1	1	1	1	-	17	1	3	171
Poisson globe ( <i>Fugu vermiculare</i> ) [3]	1	10	4	4	13	2	22	2	-	2	3	2	1	-	128	1	20	123

## ANNEXE 4

Teneurs en urée de muscles de plusieurs espèces de poissons appartenant aux élasmobranches et aux téléostéens. Ces données sont issues de plusieurs références : ([1] Suyama & Tokuhiko (1954), [2] Suyama & Suzuki (1975) et [3] Shewan (1951).

Espèces de poissons	Teneur en urée (mg/100g)	Références
<b>Elasmobranches</b>		
Raie ( <i>Raja hollandi</i> )	2167	[1]
Requin ( <i>Mustelus kanekonis</i> )	1820	[2]
Requin ( <i>Mustelus griseus</i> )	1740	[2]
Emissole étoilée ( <i>Mustelus manazo</i> )	1718	[1]
Requi bleu ( <i>Prionace glauca</i> )	1600	[2]
Requin ( <i>Squalus mutsukurii</i> )	1530	[2]
Requin taupe ( <i>Lamna cornubica</i> )	1520	[2]
Requin ( <i>Isuropsis glauca</i> )	1410	[2]
<b>Téléostéens</b>		
Limande ( <i>Limanda sp.</i> )	9,91	[3]
Hareng ( <i>Clupea harengus</i> )	2,9	[3]
Dorade ( <i>Sparus sp.</i> )	2,6	[3]
Cabillaud ( <i>Gadus callarias</i> )	2,3	[3]
Thon ( <i>Germo germo</i> )	2,3	[3]
Eglefin ( <i>Melanogrammus aeglefinus</i> )	1,98	[3]
Saumon ( <i>Salmo salar</i> )	1,3	[3]
Sardine ( <i>Sardina melanosticta</i> )	0,45	[3]

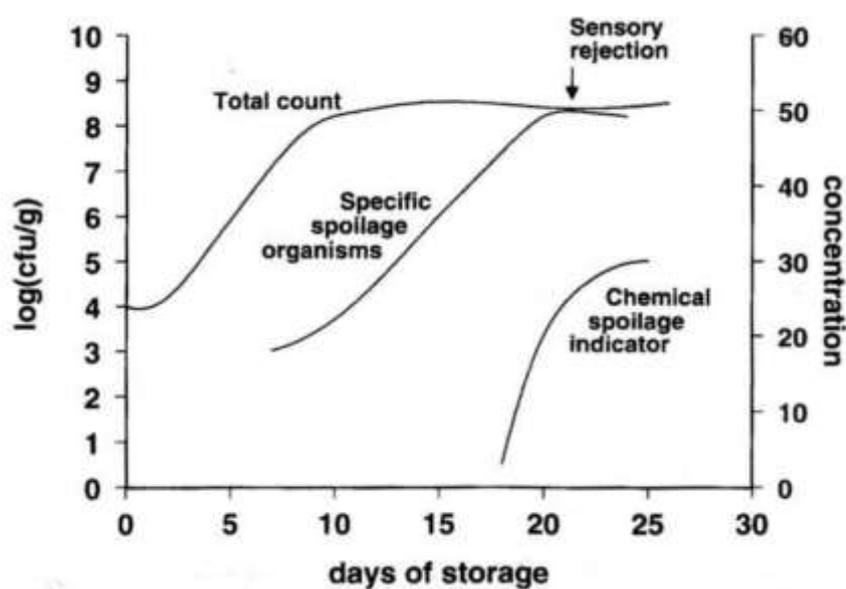
## ANNEXE 5

Exemple de molécules jouant le rôle d'inhibiteur ou de cofacteurs pour l'OTMA déméthylase  
(Sotelo ; CG et Rehbein ; H.,2000).

Cofacteurs	Inhibiteurs
NADPH	EDTA
NADH	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Riboflavine	O <sub>2</sub>
Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>
Cystéine	

## ANNEXE 6

Représentation schématique de la cinétique de la microflore présente au sein de la chair dupoisson, de celle d'un microorganisme spécifique d'altération et d'un catabolite servant d'indicateur d'altération (Gram ; L et Huss ; HH., 1996).



## ANNEXE 7

Exemples d'organismes spécifiques d'altération rencontrés pour différentes conditions de conservation de poisson marins des eaux froides ou tempérées ((Gram ; L et Huss ; HH., 1996) (Gram ; L et Dalgaard ; P., 2002).

Conditions de conservation	Organismes spécifiques d'altération
Aérobie sous glace fondue	<i>S. putrefaciens</i> / <i>Pseudomonas</i> spp.
Sous vide	<i>S. putrefaciens</i> / <i>P. phosphoreum</i>
Sous atmosphère modifiée (enrichie en CO <sub>2</sub> )	<i>P. phosphoreum</i>
Sous vide/ Sous atmosphère modifiée	<i>B. thermosphacta</i> et flore lactique

## ANNEXE 8

Liste des principales espèces **B** galactosidase+ appartenant au groupe des entérobactéries coliformes

Espèces		Origine
<i>Escherichia coli</i>		intestinale
<i>E. hermanii</i>	Brenner <i>et al.</i> (1982)	clinique
<i>E. vulneris</i>	Brenner <i>et al.</i> (1982)	clinique
<i>E. blattae</i>	Grimont (1983)	blatte
<i>E. fergusonii</i>	Farmer <i>et al.</i> (1985)	intestinale, clinique
<i>Citrobacter freundii</i>		intestinale, environnement
<i>C. malonicus</i>	Young <i>et al.</i> (1971)	intestinale, environnement
<i>C. amalonaticus</i>	Young <i>et al.</i> (1971)	intestinale, environnement
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		intestinale, environnement
<i>K. oxytoca</i>		intestinale, environnement
<i>K. mobilis</i>	Izard <i>et al.</i> (1980)	intestinale, environnement
<i>K. terrigena</i>	Izard <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>K. trevisanii</i>	Ferragut <i>et al.</i> (1983)	environnement
<i>K. planticola</i>	Bagley <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>Enterobacter cloacae</i>		intestinale, environnement
<i>E. amigenus</i>	Izard <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>E. intermedium</i>	Izard <i>et al.</i> (1980)	environnement
<i>E. gergoviae</i>	Brenner <i>et al.</i> (1980)	clinique et environnement
<i>E. sakazakii</i>	Farmer <i>et al.</i> (1980)	clinique
<i>E. taylorae</i>	Farmer <i>et al.</i> (1985)	intestinale, clinique
<i>E. absuriae</i>	Brenner <i>et al.</i> (1986)	clinique
<i>E. dissolvens</i>	Brenner <i>et al.</i> (1986)	clinique
<i>E. nimipressularis</i>	Brenner <i>et al.</i> (1986)	végétaux
<i>E. cancerogenus</i>	Dickey et Zummof (1988)	clinique
<i>Serratia marscescens</i>	Grimont <i>et al.</i> (1978)	clinique et environnement
<i>S. liquefaciens</i>	Grimont <i>et al.</i> (1978)	environnement
<i>S. marinorubra</i>	Grimont <i>et al.</i> (1978)	environnement
<i>S. plymuthica</i>	Grimont <i>et al.</i> (1978)	environnement
<i>S. odorifera</i>	Grimont <i>et al.</i> (1978)	clinique
<i>S. fonticola</i>	Gavini <i>et al.</i> (1979)	environnement
<i>S. ficara</i>	Grimont <i>et al.</i> (1979)	environnement

Espèce		origine
<i>Serratia grimesii</i>	Grimont <i>et al.</i> (1982)	clinique
<i>S. proteamaculans</i>		clinique, environnement
<i>Pantaea agglomerans</i>	Gavini <i>et al.</i> (1989)	environnement
<i>P. dispersa</i>	Gavini <i>et al.</i> (1989)	environnement
<i>Hafnia alvei</i>		environnement
<i>Rahnella aquatilis</i>	Izard <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>Buttiauxella agrestis</i>	Ferragut <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>Kluyvera ascorbata</i>	Farmer <i>et al.</i> (1981)	clinique
<i>K. cryocrescens</i>	Farmer <i>et al.</i> (1981)	environnement
<i>Budvicia aquatica</i>	Bouvet <i>et al.</i> (1985)	environnement
<i>Cedecea davisae</i>	Grimont <i>et al.</i> (1981)	clinique
<i>C. lapagei</i>	Farmer <i>et al.</i> (1982)	clinique
<i>C. neteri</i>	Farmer <i>et al.</i> (1982)	clinique
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Tamura <i>et al.</i> (1986)	environnement
<i>Tamumella ptyseos</i>	Hollis <i>et al.</i> (1981)	clinique
<i>Erwingella americana</i>	Grimont <i>et al.</i> (1983)	clinique
<i>Xenorhabdus nematophilus</i> <i>subsp. nematophilus</i>	Thomas et Poinar (1979)	nématode

---

## ANNEXE 9

---

### Matériel de laboratoire

Au cours de notre étude, le matériel de laboratoire utilisé est comme suit :

- Balance électronique de précision
- Bistouri
- Bec bunsen
- Pincés stériles
- Autoclave
- Des sacs Stomacher
- Broyeur
- Des tubes à essai
- Des tubes Eppendorf
- Des boîtes de Pétri
- Micropipette de 1ml
- Une étuve réglée à une température de 44°C, et 37°C
- Vortex
- Galeries API
- Les réactifs de la galerie API (TDA ; VP1 ; VP2 ; NIT1 ; NIT2)
- Les réactifs (l'eau peptonée exemple d'indole ; réactif Kovacs)

Les milieux de culture utilisés :

- La gélose nutritive
- Le TSE (Tryptone sel eau)
- VRBL (Violet Red Bile Lactose) : milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre).

La préparation de ces milieux de culture était à partir de milieux déshydratés pesés puis mélangés avec de l'eau distillée, ensuite chauffés et enfin coulés dans des boîtes de pétri stériles qui sont par la suite incubées afin de s'assurer de l'absence d'éventuelle contamination au cours des étapes de préparation.

## ANNEXE 10

### Lecture de la galerie API(journal de la galerie API)

TESTS	RESULTATS	
	NEGATIF	POSITIF
ONPG	Incolore	Jaune
ADH	Jaune	Rouge-orangé
LDC	Jaune	Rouge-orangé
ODC	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Vert pale / jaune	Bleu vert/ bleu
H <sub>2</sub> S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Jaune	Rouge-orangé
TDA	Jaune	Marron rougeâtre
IND	Incolore/vert pale/jaune	Rose
VP	Incolore/ rose pale	Rose/rouge
GEL	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Bleu/ bleu-vert	Jaune/ jaune gris
MAN	Bleu/ bleu vert	Jaune
INO	Bleu/ bleu vert	Jaune
SOR	Bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	Bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	Bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	Bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	Bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	Bleu/ bleu-vert	Jaune

Les tests en bleu sont des tests que l'on a rajouté des réactifs.

## ANNEXE 11

Sortie de oued El Harrach dans la mer vue de ciel (10 février 2019)



---

## ANNEXE 12

---

La baie d'Alger vu de ciel (10 février 2019)

Le rapprochement de la pêcherie d'Alger de la sortie de oued El Harrach.



 : Sortie de Oued El Harrach

 : Port de la pêcherie d'Alger

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

1. **Amadou Diallo Alpha. (2013).** *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse délivré par l'université Toulouse iii- Paul Sabatier- Discipline ou spécialité : Microbiologie.
  2. - **Appling, D., M. Y. Habteselassie, D. Radcliffe, and J. K. Bradshaw. 2013.** Preliminary Study on the Effect of Wastewater Storage in Septic Tank on *E. coli* Concentration in Summer. *Water*. 5 (3):1141- 1151.
  3. - **Araujo, S., I. S. Henriques, S. M. Leandro, A. Alves, A. Pereira, and A. Correia. 2014.** Gulls identified as major source of fecal pollution in coastal waters: A microbial source tracking study. *Science. of the Total Environment*. 470:84-91.
- **Académie Française 2013,**Définition du mot "poisson". <http://www.academie-francaise.fr> (Accessed October 15, 2013).
- Anthoni U, Børresen T, Christophersen C, Gram L & Nielsen PH (1990)** Is trimethylamine oxide a reliable indicator for the marine origin of fish? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 97: 569–571.
- Agustsson I & Strøm A (1981)** Biosynthesis and turnover of trimethylamine oxide in the teleost cod, *Gadus morhua*. *Journal of Biological Chemistry* 256: 8045–8049.
- **Antoine F, Wei C, Littell R, Quinn B, Hogle A & Marshall M (2001)** Free Amino Acids in Dark- and White- muscle Fish as Determined by O- phthaldialdehyde Precolumn Derivatization. *Journal of food science* 66: 72–77.
- Apun K, Yusof AM & Jugang K (1999)** Distribution of bacteria in tropical freshwater fish and ponds. *International Journal of Environmental Health Research* 9: 285–292.
- **Austin B (2002)** The Bacterial Microflora of Fish. *The Scientific World Journal* 2: 558–572.

- **Amlacher E (1961)** Rigor mortis in fish. Fish as food, Vol. 1, pp. 385–409.
- **Aaen B, Jessen F & Jensen B (1995)** Partial purification and characterization of a cellular acidic phospholipase A2 from cod (*Gadus morhua*) muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 110: 547–554.
- **ANONYME1978**. Micro-organisms in foods (1) ; Their significance and methods of enumeration, 434 pages, University of Toronto Press Editeur, Toronto.
- **Avril, J.L et al. (2000)**. Bactériologie clinique. 2ed .Ellipses, Paris. pp. 171-177
- OGER, C., GAVINI, F., DELATTRE, J.M. & LECLERC , H. 1981. A propos des coliformes et de la colimétrie des eaux d'alimentation. *Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)*. 132 A: 183-189.
- Ahmed Ould Abeid1a , Zakaria Mennane2 , Oudda Hassan3 ,Mohammed Ouhssine2014** ,Etude microbiologique et identification des souches isolés à partir du poisson (*Mugil cephalus*) séché-pilé « Lekhlia » (Microbiological Study and identification of strains isolated from the fish (*Mugil cephalus*) dried-pounded « Lekhlia ») , Received 16 Oct 2014, Revised 9 Dec 2014, Accepted 9 Dec 2014
- Antoine Diagne 2002** dénombrement des coliformes thermotolérants dans les filets de sole: étude comparative des méthodes d'analyse et des résultats des deux laboratoires. » mémoire diplôme d'études profondes de production animale présenté et soutenu publiquement 29 juillet 2002 à 17h à l'EISMV par ANTOINE DIAGNE né le 22 Août 1976 à DOUDAME (Sénégal)

## **B**

4. -**Blattner, F. R., G. Plunkett, C. A. Bloch, N. T. Perna, V. Burland, M. Riley, J. Collado-Vides, J. D. Glasner, C. K. Rode, G. F. Mayhew, J. Gregor, N. W. Davis, H. A. Kirkpatrick, M. A. Goeden, D. J. Rose, B. Mau, and Y. Shao. 1997.** The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*. 277 (5331):1453-1462
  5. -**Badouei, M. A., M. Jajarmi, and A. Mirsalehian. 2015.** Virulence profiling and genetic relatedness of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and ruminants. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 38:15-20.
  6. - **Blaustein, R. A., R. L. Hill, S. A. Micallef, D. R. Shelton, and Y. A. Pachepsky. 2016.** Rainfall intensity effects on removal of fecal indicator bacteria from solid dairy manure applied over grasscovered soil. *Science. of the Total Environment*. 539:583-591.
- **Blyton, M. D. J., H. Pi, B. Vangchhia, S. Abraham, D. J. Trott, J. R. Johnson,**

**and D. M. Gordon. 2015.** Genetic Structure and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* and Cryptic Clades in Birds with Diverse Human Associations. *Applied and Environmental Microbiology*.81 (15):5123-5133.

-**Bockelie T & Fortey RA 1976,** An early Ordovician vertebrate. *Nature* 260: 36–38..

-**Borderias AJ & Sanchez-Alonso I (2011)** First Processing Steps and the Quality of Wild and Farmed Fish. *J Food Sci* 76: R1–R5.

- **Boeuf G & Payan P (2001)** How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130: 411–423.

-**Bella J, Eaton M, Brodsky B & Berman HM (1994)** Crystal and molecular structure of a collagen-like peptide at 1.9 Å resolution. *Science* 266: 75–81.

- **Bremner HA & Hallett IC (1985)** Muscle fiber– connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *Journal of Food Science* 50: 975– 980.

- **BOURGEOIS C.M., LEVEAU J.Y. 1980** Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol 3 : le contrôle microbiologique. Lavoisier, Technique et documentation, APRIA, Paris, 331 p.

- **BRISOU J. 1955** Microbiologie du milieu *marin*. Edition Flammarion : Paris, , 272 p.

- **BILLON J. 1976** Intérêt du froid dans la conservation du poisson et des crustacés: aspect microbiologique. *Bull.Acad.Vét., France*,.

-**Badri Naoual Necib Takoua 2016** Mémoire de master, Thème: Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches des entérobactéries isolée de fromage frais artisanale "Jben" , Université de Larbi Tébessi –Tébessa Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. 29 mai 2016 P 15

-**BUESCHKENS, D.H. & STILES, M.E. 1984.** *Escherichia coli* Variants for gas and indole production at elevated incubation temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*. 48: 601-605.

- **BRENNER, D.J., DAVIS, B.R., STEIGERWALT, A.G., RIDDLE, C.F., McWHORTER, A.C., ALLEN, S.A., FARMER III, J.J., SAITOH, Y. & FANNING, G.R. 1982.** Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermanii* sp.nov. *Journal of Clinical Microbiology*. 15: 703-7 13.

- **BAGLEY, S.T., SEIDLER, R.J. & BRENNER, D.J. 1981.** *Klebsiella planticola* sp.

nov., a new species of *Enterobacteriaceae* found primarily in nonclinical environments. *Current Microbiology*. 6: 105- 109.

**C**

- Clermont, O., J. K. Christenson, E. Denamur, and D. M. Gordon. 2013. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*. 5 (1):58-65.
- Campos, C. J. A., S. R. Kershaw, and R. J. Lee. 2013. Environmental Influences on Faecal Indicator Organisms in Coastal Waters and Their Accumulation in Bivalve Shellfish. *Estuaries and Coasts*. 36 (4):834-853.
- Croxen M. A. and Finlay B. B. (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 8(1): 26-38. PMID: 19966814.
- Caprioli A., Morabito S., Brugere H. and Oswald E. (2005). *Enterohaemorrhagic Escherichia coli: emerging issues on virulence and modes of transmission*. *Vet Res* 36(3): 289- 311. PMID: 15845227.
- Charlotte Balière, 2016. Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC. Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne occidentale - Brest., Français.
- Carlos, C., M. M. Pires, N. C. Stoppe, E. M. Hachich, M. I. Z. Sato, T. A. T. Gomes, L. A. Amaral, and L. M. M. Ottoboni. 2010. *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. *Bmc Microbiology*. 10 (161).
- Campbell NA & Reece JB (2004) *Biologie*. De Boeck Université. De Boeck & Larcier s.a., Bruxelles.
- Collignon J, Dorer G & Jacques F (1984) Le poisson en filets et en tranches. *Science et Pêche* 340: 5– 64.
- Chéret R, Delbarre-Ladrat C, Lamballerie-Anton M de & Verrez-Bagnis V (2007) Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry* 101: 1474–1479.
- CHAUVIN J.A.B. 1960 L'altération du poisson: données actuelles sur la conservation du poisson par le froid et l'auroéomycine. Thèse Méd.Vét. , Toulouse, , 14.
- CHANTEGRELET, FLACHAT Ch., JOUBERT L, SAINT-AUBERT G. 1970 Epidémiologie et prophylaxies générales des maladies infectieuses . transmissibles par les aliments d'origine animale. *Bull. Soc. Sc. Vét. et de Médecine comp~'rée*, , 72 (2) : 217-237

**D**

- Dobrindt, U., F. Agerer, K. Michaelis, A. Janka, C. Buchrieser, M. Samuelson, C. Svanborg, G. Gottschalk, H. Karch, and J. Hacker. 2003. Analysis of genome plasticity in pathogenic and commensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. *Journal of Bacteriology*. 185 (6):1831- 1840
- Dobrindt, U. 2005. (Patho-)Genomics of *Escherichia coli* . *Journal of Medical Microbiology*. 295 (6-7):357-371.
- Dobrindt, U., M. G. Chowdary, G. Krumbholz, and J. Hacker. 2010. Genome dynamics and its impact on evolution of *Escherichia coli* . *Medical Microbiology and Immunology*. 199 (3):145-154.
- Ducluzeau, R., and P. Raibaud. 1985. Microbial ecology of the digestive system. *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression*. 26 (2):161- 163.
- Darcan, C., R. Ozkanca, O. Idil, and K. P. Flint. 2009. Viable but Non-Culturable State (VBNC) of *Escherichia coli* Related to EnvZ under the Effect of pH, Starvation and Osmotic Stress in Sea Water. *Polish Journal of Microbiolog*. 58 (4):307-317.
- Darfeuille-Michaud A. (2002). *Adherent-invasive Escherichia coli: a putative new E. coli pathotype associated with Crohn's disease*. *Int J Med Microbiol* 292(3-4): 185-193. PMID: 12398209.
- Didier C., Streicher M. P., Chognot D., Campagni R., et al. (2012). Late-onset neonatal infections: incidences and pathogens in the era of antenatal antibiotics. *Eur J Pediatr* 171(4): 681-687. PMID: 22134805.
- Dalgaard P (1995) Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology* 26: 319–333.
- DE KINKELIN P., MICHEL Ch., GHITTINO P. 1985 Précis de pathologie des poissons. Paris: INRA, OIE, , 240p.
- DHAOUI S. Aspects sanitaires particuliers des produits de la pêche. Recherche de germes pathogènes dans les aliments. Paris, ENV, Service biologie marine, Aquaculture, 132p.
- Denis F. et Ploy M.-C. (2007). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Masson. p 316-318.
- Drame, B. (2001). *Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques*. Thèse Pharm. Dakar. N° 86.
- DUNCAN, D.W. & RAZZELL, W.E. 1972. Klebsiella biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produces. *Journal of Applied Microbiologie*. 24: 933-.

-**DUFOUR, A.P. 1977.** *Escherichia coli*: the fecal coliform. p. 48-58. In W.W Hoadley and B.J Dutka (ed.), *Bacterial indicators health hazards associated with water*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

## **E**

-**Escobar-Páramo, P., O. Clermont, A. B. Blanc-Potard, H. Bui, C. Le Bouguéneq, and E. Denamur. 2004.** A Specific Genetic Background Is Required for Acquisition and Expression of Virulence Factors in *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution*. 21 (6): 1085-1094.

-**Escobar-Páramo, P., A. Le Menac'h, T. Le Gall, C. Amorin, S. Gouriou, B. Picard, D. Skurnik, and E. Denamur. 2006.** Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. *Environmental Microbiology*. 8 (11):1975-1984.

-**EFSA European Food Safety Authority. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). 2013.** Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA Journal*. 11(4):3138.

-**Eastman JT 2005,** The nature of the diversity of Antarctic fishes. *Polar Biology* 28: 93–107.

- **Ekman E, Börjeson H & Johansson N (1999)** *Flavobacterium psychrophilum* in Baltic salmon *Salmo salar* brood fish and their offspring. *Diseases of aquatic organisms* 37: 159–163.

## **F**

- **FAO (2012)** *The State of World Fisheries and Aquaculture 2012*. Département des pêches et de l'aquaculture de la FAO, Rome.

- **Frankel E (2005)** *Lipid Oxidation*. Second Edition. The Oily Press Lipid Library.

- **FARMER III, J.J., FANNING, G.R., DAVIS, B., O'HARA, C.M., RIDDLE, C., HICKMAN-BRENNER, F.W., ASBURY, M.A., LOWERY III, V.A. & BRENNER, DON J. 1985.** *Escherichia fergusonii* and *Enterobacter taylorae*, two new species of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2 1: 77-8 1.

- **FERRAGUT, C., IZARD, D., GAVINI, F., KERSTERS, K., DE LEY, J. & LECLERC, H. 1983.** *Klebsiella trevisanii*: a new species from water and soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 4: 155-294.

**G**

- Guinée, P. A. M., W. H. Jansen, T. Wadström, and R. Sellwood. 1981.** *Escherichia coli* Associated with Neonatal Diarrhoea in Piglets and Calves. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*. 13:126-162.
- Gordon, D. M., C. L. O'Brien, and P. Pavli. 2015.** *Escherichia coli* diversity in the lower intestinal tract of humans. *Environmental Microbiology Reports*. 7 (4):642-648.
- Girardeau, J. P., A. Dalmasso, Y. Bertin, C. Ducrot, S. Bord, V. Livrelli, C. Verzozy-Rozand, and C. Martin. 2005.** Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different seropathotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 43 (12):6098-6107.
- **Gordon, D. M., and A. Cowling. 2003.** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12):3575-3586.
- **Gourmelon, M., M. P. Caprais, S. Mieszkin, R. Marti, N. Wéry, E. Jardé, M. Derrien, A. Jadas-Hécart, P. Y. Communal, A. Jaffrezic, and A. M. Pourcher. 2010.** Development of microbial and chemical MST tools to identify the origin of the faecal pollution in bathing and shellfish harvesting waters in France. *Water Research*. 44 (16):4812-4824.
- **Goto, D. K., and T. Yan. 2011.** Effects of Land Uses on Fecal Indicator Bacteria in the Water and Soil of a Tropical Watershed. *Microbes and Environments*. 26 (3):254-260.
- **Gordon, D. M., and A. Cowling. 2003.** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12):3575-3586.
- Gordon, D. M., C. L. O'Brien, and P. Pavli. 2015.** *Escherichia coli* diversity in the lower intestinal tract of humans. *Environmental Microbiology Reports*. 7 (4):642-648.
- **Garcia-Aljaro, C., E. Moreno, A. Andreu, G. Prats, and A. R. Blanch. 2009.** Phylogroups, virulence determinants and antimicrobial resistance in *stx(2)* gene-carrying *Escherichia coli* isolated from aquatic environments. *Research in Microbiology*. 160 (8):585-591.
- Glebe B (2012)** L'effet de la photopériode sur la croissance et la maturation du saumon de l'Atlantique (*Salmo salar*) dans la baie de Fundy. *Fiches techniques du Programme coopératif de recherche et développement en aquaculture (PCRDA)* 14.
- **Grigorakis K, Giogios I, Vasilaki A & Nengas I(2010)** Effect of the fish oil, oxidation status and of heat treatment temperature on the volatile compounds of the produced fish feeds. *Animal Feed Science and Technology* 158: 73–84.

- **Grisez L, Reyniers J, Verdonck L, Swings J & Ollevier F (1997)** Dominant intestinal microflora of sea bream and sea bass larvae, from two hatcheries, during larval development. *Aquaculture* 155: 387–399.
- **Gram L & Huss HH (1996)** Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology* 33: 121–137.
- **Gram L, Trolle G & Huss HH (1987)** Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 4: 65–72.
- **Gram L & Dalgaard P (2002)** Fish spoilage bacteria - problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology* 13: 262–266.
- **GACHE G. 1966** Etude de la dispersion des eaux résiduaires aux débouchés des émissaires en mer. Thèse Méd., Paris,.
- **GUIRAUD J., GALZY P. 1980** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'Usine Nouvelle: Paris, 240 p.
- **Gueye, O. (2007)**. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse de pharm. n° 36.
- **GELDREICH, E.E. 1978.** Bacterial population and indicator concepts in feces, sewage, stormwater and solid wastes. p. 51-97. In indicators of viruses in water and food. ed. Berg. G.
- **GRIMONT, P.A.D. 1983.** Apport des hybridations ADN/ADN dans la taxonomie des Enterobacteriaceae. Colloque International de Bactériologie, 25-26-27 Mai 1983, Lille.
- **GRIMONT, P.A.D., GRIMONT, F., RICHARD, C., DAVIS, B.R., STEIGERWALT, A.G. & BRENNER, D.J. 1978.** Deoxyribonucleic acid relatedness between *Serratia plymuthica* and other *Serratia* species, with a description of *Serratia odorifera* sp. nov. (type strain : ICPB 3995) . *International Journal of Systematic Bacteriology*. 28: 453-463.
- **GAVINI, F., FERRAGUT, C., IZARD, D., TRINEL, P.A., LECLERC, H., LEFEBVRE, B. & MOSSEL, D.A.A. 1979.** *Serratia fonticola*, a new species from water. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 29: 92-101.
- **GRIMONT, P.A.D., GRIMONT, F. & STARR, M.P. 1979.** *Serratia ficaria* sp. nov., a bacterial species associated with Smyrna figs and the fig wasp *Blastophaga psenes*. *Current Microbiology*. 2: 277-282.

## H

- **Hooton T. M. (2012).** Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *N Engl J Med* 366(11): 1028-1037. PMID: 22417256.
- **Holden, N. J., F. Wright, K. MacKenzie, J. Marshall, S. Mitchell, A. Mahajan,**

- R. Wheatley, and T. J. Daniell. 2014.** Prevalence and diversity of *Escherichia coli* isolated from a barley trial supplemented with bulky organic soil amendments: green compost and bovine slurry. *Letters in Applied Microbiology*. 58 (3):205-212.
- **Hamilton, M. J., A. Z. Hadi, J. F. Griffith, S. Ishii, and M. J. Sadowsky. 2010.** Large scale analysis of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Avalon Bay, CA. *Water Research*. 44 (18): 5463-5473.
- **Huss HH (1999)** La qualité et son évolution dans le poisson frais. *FAO Doc. Tech. sur les Pêches* 196.
- **Helfman PG, Collette B & Facey D (1997)** *The Diversity of Fishes*. 1st ed. Wiley-Blackwell.
- **Hardy RW (1996)** Alternate protein sources for salmon and trout diets. *Animal Feed Science and Technology* 59: 71–80.
- **Hebard C, Flick G & Martin R (1982)** Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. *Chemistry and biochemistry of marine food products* 149–304.
- **Hansen G & Olafsen J (1999)** Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. *Microbial Ecology* 38: 1–26.
- **Ho M, Chen G & Jiang S (2000)** Effects of mackerel cathepsins L and L-like, and calpain on the degradation of mackerel surimi. *Fisheries Science* 66: 558– 568.
- **Henehan G, Proctor M, Abu-Ghannam N, Wills C & McLoughlin J (1997)** Adenine nucleotides and their metabolites as determinants of fish freshness. *Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness,"* pp. 266–272. Nantes.
- **Howgate P (2006)** A review of the kinetics of degradation of inosine monophosphate in some species of fish during chilled storage. *International journal of food science & technology* 41: 341–353.
- **Hughes R & Jones N (1966)** Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material, with a comment on flavour relations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 17: 434–436.
- **HUSS H.H. 1988** Le poisson frais: sa qualité et altération de qualité. Rome: FAO ; DANIDA,. 132p.
- **Hussein MA , Merwad AMA , Elabbasy MT , Suelam IIA , Abdelwahab AM , Taha MA . 2019** avril; Prévalence de *Staphylococcus aureus* entérotoxigène et d'*Escherichia coli* produisant de la toxine Shiga chez les poissons en Égypte: paramètres de qualité et danger pour la santé publique.

**I**

- Ishii, S., W. B. Ksoll, R. E. Hicks, and M. J. Sadowsky. 2006. Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Applied and Environmental Microbiology*. 72 (1):612-621.
- Ishii, S., and M. Sadowsky 2008. *Escherichia coli* in the Environment: Implications for Water Quality and Human Health. *Microbes and Environment*. 23 (2):101-108.
- Ishii, S., K. P. Meyer, and M. J. Sadowsky. 2007. Relationship between phylogenetic groups, genotypic clusters, and virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains from diverse human and animal sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 73 (18):5703-5710.
- Ifremer (2011) A quelle profondeur évoluent les espèces marines ? <http://goo.gl/ZWAozq> (Accessed March 20, 2013).
- Ikeda S (1980) Other organic components and inorganic components. *Advances in fish science and technology*, pp. 111–124. J.J Connell, Aberdeen.
- Ip YK & Chew SF (2010) Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. *Frontiers in physiology* 1.
- Iwamoto M, Yamanaka H, Watabe S & Hashimoto K (1987) Effect of Storage Temperature on Rigor- Mortis and ATP Degradation in Plaice *Paralichthys olivaceus* Muscle. *Journal of Food Science* 52: 1514– 1517.
- IZARD, D., GAVINI, F. & LECLERC, H. 1980. Polynucleotide sequence relatedness and genome size among *Enterobacter intermedium* sp.nov. and the species *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae*. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene*. 1 Abt. Ong. Cl: 51-60.

**J**

- Jaureguy F., L. Landraud, V. Passet, L. Diancourt, E. Frapy, G. Guigon, E. Carbonnelle, O. Lortholary, O. Clermont, E. Denamu, B. Picard, X. Nassif, and S. Brisse. 2008. Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC Genomics*. 9 (1).
- Jensen, A. N., C. Storm, A. Forslund, D. L. Baggesen, and A. Dalsgaard. 2013. *Escherichia coli* Contamination of Lettuce Grown in Soils Amended with Animal Slurry. *Journal of Food Protection*. 76 (7):1137-1144.
- Johnston IA (1999) Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture* 177: 99–115.
- Jöborn A, Dorsch M, Olsson JC, Westerdahl A & Kjelleberg S (1999)

*Carnobacterium inhibens* sp. nov., isolated from the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 49: 1891–1898.

- **Jiang S-T, Lee J-J & Chen H-C (1996)** Proteolysis of actomyosin by cathepsins B, L, L-like, and X from mackerel (*Scomber australasicus*). *Journal of agricultural and food chemistry* 44: 769–773.

- **Jiang S-T, Lee J-J & Chen H-C (1994)** Purification and characterization of cathepsin B from ordinary muscle of mackerel (*Scomber australasicus*). *Journal of agricultural and food chemistry* 42: 1073–1079.

- **Jiang S-T (2000)** Enzymes and their effects on seafood texture. *Seafood Enzyme: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality* 411–450.

## **K**

**Kaper JB1, Nataro JP, Mobley HL (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:123-140.

-**Karmali, M. A., V. Gannon, and J. M. Sargeant. 2010.** Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary Microbiology*.. 140 (3-4):360-370

-**Karmali, M. A., M. Mascarenhas, S. Shen, K. Ziebell, S. Johnson, R. Reid-Smith, J. Isaac-Renton, C. Clark, K. Rahn, and J. B. Kaper. 2003.** Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 41 (11):4930-4940

- **Kaper J. B., Nataro J. P. and Mobley H. L. (2004).** *Pathogenic Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2(2): 123-140. PMID: 15040260.

- **Kause A, Ritola O, Paananen T, Mäntysaari E & Eskelinen U (2003)** Selection against early maturity in large rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* : the quantitative genetics of sexual dimorphism and genotypeby- environment interactions. *Aquaculture* 228: 53–68.

- **Kestemont P, Micha JC & Falter U (1989)** Les Méthodes de Production d'Alevins de *Tilapia nilotica*. *Département des pêches de la FAO*. <http://goo.gl/F35UTA> (Accessed July 31, 2014).

-**Kauffmann, F. 1947.** The serology of the coli group. *Journal of Immunology*. 57 (1):71-100.

- **Kanda K, Hanabusa K & Takeuchi N (1993)** Surimi manufacturing process. Patent No 5223301.

- **Kurtovic I & Marshall SN (2013)** Potential of fish by- products as a source of novel marine lipases and their uses in industrial applications. *Lipid Technology* 25:

35–37.

-**Kawabata T (1953)** Studies on the trimethylamine oxide-reductase—I. Reduction of trimethylamine oxide in the dark muscle of pelagic migrating fish under aseptic condition. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 19: 505–512.

- **Kawai M, Okiyama A & Ueda Y (2002)** Taste enhancements between various amino acids and IMP. *Chemical senses* 27: 739–745.

## L

**Levine, M. M. (1987).** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis* 155:377-89.

-**Lukjancenko, O., T. M. Wassenaar, and D. W. Ussery. 2010.** Comparison of 61 sequenced *Escherichia coli* genomes. *Microbial Ecology*. 60 (4):708-720.

-**Li, L., N. Mendis, H. Trigui, J. D. Oliver, and S. P. Faucher. 2014.** The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 5 (258).

- **Laupland K. B. (2013).** Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clin Microbiol Infect* 19(6): 492-500. PMID: 23398633.

- **Lueddeke, F., S. Hess, C. Gallert, J. Winter, H. Guede, and H. Loeffler. 2015.** Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water Research*.. 69:243-251.

- **Love RM (1980)** *The Chemical Biology of Fishes (Volume 2)*. Academic Press London.

- **Le Boucher R et al. (2012)** Selection for Adaptation to Dietary Shifts: Towards Sustainable Breeding of Carnivorous Fish. *PLoS one* 7: e44898.

- **Lohne P (1976)** Fettfraskilling-ny kunnskap kan aapne for flere prosessmuligheter. *Inf. SSF (Nor. Oil Meal Ind. Res. Inst.)* 9–14.

- **Lopez-Amaya, C., & Marangoni, A. (2000).** Phospholipases. In N. F. Haard & B. K. Simpson (Eds.), *Seafood Enzymes: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality*, (pp. 91–120): CRC Press.

-**Leger C, Bauchart D & Flanzly J (1977)** Some properties of pancreatic lipase in *Salmo gairdnerii* rich.: Km, effects of bile salts and Ca<sup>2+</sup>, gel filtrations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 57: 359–363.

- **Leger C (1985)** Digestion, absorption and transport of lipids. *Nutrition and feeding in fish* 299– 331.

-**LAVOIE, M.C. 1983.** Identification of strains isolates as total and fecal coliforms and comparison of both groups as indicators of fecal pollution in tropical climates. *Canadian Journal of microbiology*. 29: 689-693  
**OGER, C. & LECLERC, H. 1977.** Essai de nouveaux tests "haute température" pour la mise en évidence des coliformes fécaux ou des E.coli dans les eaux. *Microbia*. 3: 47-55.

-**LECLERC, H., GAVINI, F., IZARD, D. & TRINEL, P.A. 1983.** Les coliformes: mythe et réalité. ed. INSERM. 1 14: 597-617.

## M

-**Martins, F. H., B. E. Cabilio Guth, R. M. Piazza, S. C. Leao, A. Ludovico, M. S. Ludovico, G. Dahbi, J. Marzoa, A. Mora, J. Blanco, and J. S. Pelayo. 2015.** Diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in sheep flocks of Parana State, southern Brazil. *Veterinary Microbiology*. 175 (1):150-156.

- **Medina I, Gallardo JM & Aubourg SP (2009)** Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology* 44: 1467–1479.

-**Murray J & Burt JR (1969)** *The composition of fish*. Torry Research Station.

-**Mackie I (1997)** The effects of post-mortem storage on fish muscle proteins. *Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness,"* pp. 185–189. Nantes.

- **Mackie I (1980)** A review of some recent applications of electrophoresis and isoelectric focusing in the identification of species of fish in fish and fish products. *Advances in fish science and technology*, pp. 444–451. J.J Connell, Aberdeen.

-**Muramoto M, Yamamoto Y & Seki N (1989)** Comparison of calpain susceptibility of various fish myosins in relation to their thermal stabilities. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 55.

-**Mlle Selidja Naouel -Mlle SEREIR ELHIRTSI Oum el kheir** Evaluation Morphométrique et qualité Bactériologique de la Sardine (*Sardina Pilchardus*) Importée de Tunisie et Mis en Conservation en Industrie Algérienne, (SARL CAPTEN, Tènès, Chlef). Mastere en (aGRONOMIE)

-**Marín C , Fonseca C , Arias S , Villegas I , Garcia A , Ishihara H . 2009** mars-juin ,Charge bactériologique des poissons *Cynoscion squamipinnis* et *Lutjanus guttatus* dans la chaîne de commercialisation, Costa Rica.

**N**

- Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 11 (1):142-201.
- **Negrone A., Costanzo M., Vitali R., Superti F., et al. (2012).** Characterization of adherent/invasive *Escherichia coli* isolated from pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 18(5): 913-924. PMID: 21994005.
- nicolas dufour, 2015** thèse de doctorat , de l'université paris7-paris diolerot, P.51,52 ,thème de phagothérapie et pneumonies acquises sous ventilation mécanique a *Escherichia coli* , une approche thérapeutique possible ? ,aspects fondamentaux et éléments de faisabilité.
- **Nelson JS (2006)** *Fishes of the World*. Wiley.
- **Nikoskelainen S, Ouwehand AC, Bylund G, Salminen S & Lilius E-M (2003)** Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish & Shellfish Immunology* 15: 443–452.
- **Nielsen GS & Poll L (2004)** Determination of odor active aroma compounds in freshly cut leek (*Allium ampeloprasum* var. Bulga) and in long-term stored frozen unblanched and blanched leek slices by gas chromatography olfactometry analysis. *Journal of agricultural and food chemistry* 52: 1642–1646.
- Nespolo NM , Martineli TM , Rossi OD Jr .** Qualité microbiologique du saumon (*Salmo salar*) vendue dans les villes de l'État de São Paulo, au Brésil.

**O**

- Ochman, H., and R. K. Selander. 1984.** Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural population. *Journal of Bacteriology*. 157 (2):690-693.
- **Okhuysen P. C. and Dupont H. L. (2010).** *Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance*. *J Infect Dis* 202(4): 503-505. PMID: 20594108.
- Olafsdóttir G & Fleurence J (1997)** Evaluation of fish freshness using volatile compounds classification of volatile compounds in fish. *Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness,"* pp. 55–69. Nantes.
- **OGER C., PHILIPPE A., LECLERC H. 1974** Sur la pollution microbienne des plages de la mer du Nord et de la Manche. *Ann. Microbiol.*, (125): 513-527.

**P**

-Pommeputy, M., M. Butin, A. Derrien, M. Gourmelon, R. R. Colwell, and M. Cormier. 1996. Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 (12):4621-4626.

**Power, M. L., J. Littlefield-Wyer, D. M. Gordon, D. A. Veal, and M. B. Slade. 2005.** Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. *Environmental Microbiology*. 7 (5):631-640.

- **Pfannes, K. R., K. M. W. Langenbach, G. Pilloni, T. Stuhmann, K. Euringer, T. Lueders, T. R. Neu, J. A. Muller, M. Kastner, and R. U. Meckenstock. 2015.** Selective elimination of bacterial faecal indicators in the Schmutzdecke of slow sand filtration columns. *Applied Microbiology and Biotechnology*.

- **Parker, J. K., D. McIntyre, and R. T. Noble. 2010.** Characterizing fecal contamination in stormwater runoff in coastal North Carolina, USA. *Water Research*. 44 (14):4186-4194.

- **Pasquali, F., A. Lucchi, S. Braggio, D. Giovanardi, A. Franchini, M. Stonfer, and G. Manfreda. 2015.** Genetic diversity of *Escherichia coli* isolates of animal and environmental origins from an integrated poultry production chain. *Veterinary Microbiology*. 178 (3-4):230-237.

- **Perini, L., G. M. Quero, E. Serrano García, G.M. Luna. 2015.** Distribution of *Escherichia coli* in a coastal lagoon (Venice, Italy): Temporal patterns, genetic diversity and the role of tidal forcing. *Water Research*. 87:1557 165.

- **Park P-J, Lee S-H, Byun H-G, Kim S-H & Kim S-K (2002)** Purification and characterization of a collagenase from the mackerel, *Scomber japonicus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 35: 576– 582.

-**Pourcher Anne-Marie 1991** pour l'obtention du grade de docteur de l'université spécialité : microbiologie « CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ORIGINE (HUMAINE OU ANIMALE) DE LA CONTAMINATION FECALE DES EAUX DE SURFACE » , l'université des sciences et techniques de Lille Flandres Artois, soutenue le 2 juillet 1991 .

**Perriere, G. (1992)** .Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Thèse Université de Lyon I. France. 14, 77.

**Q**

- **Quéro J-C, Vayne J-J & Monod T (1997)** *Les poissons de mer des pêches françaises*. Delachaux et Niestlé.\*

**R**

- Reid, S. D., C. J. Herbelin, A. C. Bumbaugh, R. K. Selander, and T. S. Whittam. 2000. Parallel evolution of virulence in pathogenic *Escherichia coli*. *Nature*. 406 (6791):64-67.
- Réa-RAISIN (2015). Réseau Alerte Investigation Surveillance des Infections Nosocomiales - Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte, France - Rapport 2013. INVS.
- Radhouani, H., P. Poeta, A. Goncalves, R. Pacheco, R. Sargo, and G. Igrejas. 2012. Wild birds as biological indicators of environmental pollution: antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* and *enterococci* isolated from common buzzards (*Buteo buteo*). *Journal of Medical Microbiology*. 61 (6):837-843.
- Radhouani, H., G. Igrejas, A. Goncalves, R. Pacheco, R. Monteiro, R. Sargo, F. Brito, C. Torres, and P. Poeta. 2013. Antimicrobial resistance and virulence genes in *Escherichia coli* and *enterococci* from red foxes (*Vulpes vulpes*). *Anaerobe*. 23:82-86.
- Réa-RAISIN (2015). Réseau Alerte Investigation Surveillance des Infections Nosocomiales Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte, France - Rapport 2013. INVS
- Ringo E & Birkbeck T (1999) Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research* 30: 73 - 93.
- Ruskol D & Bendsen P (1995) Invasion of *S. putrefaciens* during spoilage of fish.
- ROZIER J., CARLIER F., BOINOT F. 1985 Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris; Ed. SEPAIC, 230p.
- ROZIER J., CARLIER F., BOINOT F. 1983 Dégradation des aliments par les micro-organismes. Cahier de nutrition et de diététique, (4) : 220-226

**S**

- Smati, M., O. Clermont, F. Le Gal, O. Schichmanoff, F. Jauréguy, A. Eddi, E. Denamur, B. Picard, and C. Group. 2013. Real-time PCR for quantitative analysis of human commensal *Escherichia coli* populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (16):5005-5012.
- Scheutz, F. 2014. Taxonomy Meets Public Health: The Case of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*. 2 (4): EHEC-0019-201.
- Gordon, D. M., and A. Cowling. 2003. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12):3575-3586.

- Smati, M., O. Clermont, A. Bleibtreu, F. Fourreau, A. David, A.-S. Daubie, C. Hignard, O. Loison, B. Picard, and E. Denamur. 2015. Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *MicrobiologyOpen*. 4 (4):604-615.
- Stoll B. J., Hansen N. I., Sanchez P. J., Faix R. G., et al. (2011). Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. *Pediatrics* 127(5): 817-826. PMID: 21518717.
- Stordeur P. and Mainil J. (2002). *La colibacillose aviaire*. *Annales de Médecine Vétérinaire* 146: 11-18.
- Servais, P., T. Garcia-Armisen, I. George, and G. Billen. 2007. Fecal bacteria in the rivers of the Seine drainage network (France): Sources, fate and modelling. *Science of the Total Environment*. 375 (1- 3):152-167.
- Stansby ME (1962) Proximate composition of fish. *Fish in nutrition*, Fishing News Books Ltd., pp. 55–61. Heen, E. & Kreuzer, R, Londres.
- Sheridan MA, Friedlander JK & Allen WV (1985) Chylomicra in the serum of postprandial steelhead trout (*Salmo gairdnerii*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 81: 281–284.
- Suyama M, Hirano T, Okada N & Shibuya T (1977) Quality of wild and cultured Ayu 1. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 43: 535– 540.
- Sotelo CG & Rehbein H (2000) TMAO-degrading enzymes. *Seafood Enzyme: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality* 167–190.
- Shewan JM (1977) *The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action*. Torry Research Station
- Simpson BK (2000) Digestive proteinases from marine animals. *Seafood Enzyme: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality* 191–214.
- Satouchi K, Sakaguchi M, Shirakawa M, Hirano K & Tanaka T (1994) Lysophosphatidylcholine from white muscle of bonito *Euthynnus pelamis* (Linnaeus): involvement of phospholipase A1 activity for its production. *Biochimica et biophysica acta* 1214: 303.
- SADOU Hanane 2017 Recherche des bactéries pathogènes contaminant le poisson au cours du circuit de distribution, dans la wilaya de Bejaia ,Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme MASTER

## T

- Tenailon, O., D. Skurnik, B. Picard, and E. Denamur. 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli* . *Nature Reviews Microbiology*. 8 (3):207-217

- Tymensen, L. D., F. Pyrdok, D. Coles, W. Koning, T. A. McAllister, C. C. Jokinen, S. E. Dowd, and N. F. Neumann. 2015. Comparative accessory gene fingerprinting of surface water *Escherichia coli* reveals genetically diverse naturalized population. *Journal of Applied Microbiology*. 119 (1):263-277.
- Tondera, K., K. Klaer, J. Gebhardt, J. Wingender, C. Koch, M. Horstkott, M. Strathmann, L. Jurzik, I. A. Hamza, and J. Pinnekamp. 2015. Reducing pathogens in combined sewer overflows using ozonation or UV irradiation. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 218 (8):731-741.
- Tocher DR (2003) Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 107–184.
- Tocher DR & Harvie DG (1988) Fatty acid compositions of the major phosphoglycerides from fish neural tissues;(n–3) and (n–6) polyunsaturated fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas. *Fish Physiology and Biochemistry* 5: 229–239.
- Teletchea F (2009) Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 19: 265–293.
- The European Parliament & The European Council (2011) Regulation (EU) n° 1169/2011 of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) n° 1924/2006 and (EC) n° 1925/2006 of the European Parliament. *Official Journal of the European Union* L 304: 18–63.
- Toranzo A et al. (1993) Microflora associated with healthy and diseased turbot (*Scophthalmus maximus*) from three farms in northwest Spain. *Aquaculture* 114: 189–202.
- Trust T (1975) Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater. *Journal of Applied Microbiology* 38: 225–233.

## U

- Université Pierre et Marie Curie.(2003).Bactériologie-Niveau DCEM1-2002-2003-Service de Bactériologie-Mise à jour : 24 mars 2003-122 pages(69-70).
- Undeland I (1997) Lipid-protein interactions in fish during cold storage. *Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action “Evaluation of Fish Freshness,”* pp. 12–14. Nantes.

## V

- Vimont A. (2007). Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC)- 29 Mar 2007.

-van Elsas, J. D., A. V. Semenov, R. Costa, and J. T. Trevors. 2011. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The Isme Journal*. 5 (2):173-183.

-Voet D & Voet J (2005) Biochimie. 2nd Edition, Traduction de la 3ème édition américaine. De Boeck Université, Bruxelles (Belgique).

- YOUNG, V.M., KENTON, D.M., HOBBS, B.J. & MOODY, M.R. 1971. *Levinea*, a new genus of the family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 21: 58-63.

## W

**World Health Organization (WHO).**(1980).*Escherichia coli* diarrhoea. Bulletin of the World Health Organization 58:23-36.

-Wang, L., M. Wakushima, T. Aota, Y. Yoshida, T. Kita, T. Maehara, J. Ogasawara, C. Choi, Y. Kamata, Y. Hara-Kudo, and Y. Nishikawa. 2013. Specific Properties of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolates from Diarrheal Patients and Comparison to Strains from Foods and Fecal Specimens from Cattle, Swine, and Healthy Carriers in Osaka City, Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (4):1232-1240.

-Walk, S. T., E. W. Alm, L. M. Calhoun, J. M. Mladonicky, and T. S. Whittam. 2007. Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches. *Environmental Microbiology*. 9 (9): 2274-2288.

- WHO and UNICEF (2009). *World Health Organization and United Nations International Children's Fund - Diarrhoea: why children are still dying and what can be done*.

- Wery, N., C. Lhoutellier, F. Ducray, J.-P. Delgenes, and J.-J. Godon. 2008. Behaviour of pathogenic and indicator bacteria during urban wastewater treatment and sludge composting, as revealed by quantitative PCR. *Water Research*. 42 (1-2):53-62.

- Whitman, R. L., V. J. Harwood, T. A. Edge, M. B. Nevers, M. Byappanahalli, K. Vijayavel, J. Brandao, M. J. Sadowsky, E. W. Alm, A. Crowe, D. Ferguson, Z. Ge, E. Halliday, J. Kinzelman, G. Kleinheinz, K. Przybyla-Kelly, C. Staley, Z. Staley, and H. M. Solo-Gabriele. 2014. Microbes in beach sands: integrating environment, ecology and public health. *Reviews in Environmental Science. and Bio-Technology*. 13 (3):329-368.

- Wisdorff A & Chaal N (2013) Pêche: les députés approuvent l'interdiction du rejet en mer de poissons. <http://goo.gl/tYVv3q> (Accessed August 8, 2013).

## Y

-**Yano Y, Nakayama A & Yoshida K (1995)** Population sizes and growth pressure responses of intestinal microfloras of deep-sea fish retrieved from the abyssal zone. *Applied and environmental microbiology* 61: 4480–4483.

- **Yoshimizu M & Kimura T (1976)** Study on the intestinal microflora of salmonids. *Fish pathology* 10: 243–259.

## Z

-**Zhang, Q., and T. Van. 2012.** Correlation of Intracellular Trehalose Concentration with Desiccation Resistance of Soil *Escherichia coli* Populations. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (20):7407-7413.

## Résumé :

Dans le but d'évaluer la qualité bactériologique et le niveau de contamination aux coliformes thermotolérants et à Escherichia Coli dans le poisson et son impact sur la santé publique, 60 échantillons ont été prélevés des ports d'Alger et de Tipaza : la pêcherie d'Alger, la Madrague et Bouharoune, puis sont soumis à des analyses bactériologiques, dans le mois de septembre, octobre et novembre de l'année 2018. Les résultats ont montrés un taux de contamination au coliformes TT de 75% avec une moyenne de dénombrement de l'ordre de  $1,57 \log_{10} \text{ ufc/g.}$ , soit un taux de présence de coliformes TT par port qui est de 80% au niveau de la pêcherie d'Alger, de 100% à Bouharoune et 44% au niveau de la Madrague. D'une manière globale 25% des échantillons présente la qualité bactériologique Satisfaisante et 75% présente la qualité non satisfaisante. Ces résultats sont probablement liés à deux origines, d'une part, au non respect des bonnes pratiques d'hygiène tout au long des procédures de vente, d'autre part à la pollution des eaux de mer.

**Mot clés :** coliformes thermotolérants, Escherichia Coli, qualité, poisson.

## Abstract :

In order to evaluate the bacteriological quality and level of contamination with thermotolerant coliforms and Escherichia coli in fish and its impact on public health, 60 samples were taken from the ports of Algiers and Tipaza: the Algiers fishery, Madrague and Bouharoune, and are subjected to bacteriological analyzes, in the months of September, October and November of 2018. The results showed a contamination rate with TT coliforms of 75% with an average count in order of  $1,57 \log_{10} \text{ ufc/g}$ , which is a TT coliforms presence rate per port which is 80% at the Algiers fishery, 100% at Bouharoune and 44% at the Madrague level. Globally, 25% of samples have satisfactory bacteriological quality and 74% have unsatisfactory quality. These results are probably related to two origins, on the one hand, the non respect of the good hygiene practices throughout the sales procedures, on the other hand to the pollution of the sea water.

**Keywords :** thermotolerant coliforms, Escherichia coli, quality, fish.

## الملخص:

من أجل تقييم الجودة الجرثومية ومستوى التلوث بالبكتيريا القولونية الحرارية و الايشيريشيا عند الأسماك وتأثيرها على الصحة العامة ، تم أخذ 60 عينة من موانئ الجزائر وتيبازة: ميناء الجزائر ، الجميلة و بوهارون ، وإخضاعها للتحليلات البكتريولوجية في شهر سبتمبر، أكتوبر ونوفمبر من عام 2018. وأظهرت النتائج معدل تلوث للقولونيات TT 75 % مع متوسط تعداد  $1,57 \log_{10} \text{ ufc/g}$  و معدل تواجد في كل ميناء 80 % في مصايد الجزائر و 100 % في بوهارون و 44 % على مستوى مدارج. بصفة عامة 25 % من العينات لديها نوعية البكتريولوجية مرضية و 75 % لديها جودة غير مرضية. ربما هذه النتائج ذات الصلة لاثنتين من المصادر، أولاً، وعدم الامتثال لممارسات النظافة الجيدة في جميع مراحل عملية البيع، وثانياً إلى تلوث مياه البحر.

**الكلمات المفتاحية:** القولونيات الحرارية ، الايشيريشيا ، الجودة ، الأسماك.