

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
D'INGENIEUR ET DE MASTER EN SCIENCES DE LA MER

OPTION : Biotechnologie marine

Thème :

**Evaluation de la qualité microbiologique et niveau des
éléments trace métalliques dans les poissons comestibles et
risque sur la santé de l'homme**

Présenté par :

ARROUSSI Islem

BOUNAB Youcef

Soutenu le 06/11/2021 devant la commission de jury :

M. BOUGHRIRA A	Maître-assistant A	ENSSMAL	Président
Mme. ALOUACHE S	Maître de conférences A	ENSSMAL	Examinatrice
M. KADA M	Maître-assistant A	ENSSMAL	Promoteur

Année universitaire : 2020 / 2021

Dédicaces

A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière... mon très cher père

'Toufik'

A la plus belle perle du monde... ma très tendre mère 'Meriem'

*A ceux qui m'ont toujours soutenu avec leurs prières et invocations ... mes grands
parents*

À mon oncle 'Yazid' qui m'a aidé durant ce travail

A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé

A toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie...

A tous mes collègues de ma promotion

Sans oublier tous les professeurs, du primaire jusqu'à l'université

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie,
que je dédie cet humble travail...*

REMERCIEMENTS

Nous sommes très heureux de pouvoir exprimer notre gratitude à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Aux membres de jury, pour le grand honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail :

***M. Boughrira A.** Maitre-Assistant à l'ENSSMAL, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, en dépit de ses responsabilités professionnelles. Nous apprécions sa disponibilité bienveillante. Nous tenons à le remercier pour tout ce qu'il nous a apporté tout au long de nos études.*

***Mme. Alouache.**, Maitre de conférence à l'ENSSMAL pour avoir accepté d'examiner ce travail, Qu'elle trouve également dans ces lignes le témoignage de notre respectueuse reconnaissance. Je salue sa rigueur scientifique qui attribuera de l'importance à ce mémoire.*

***M. Kada M.** Maitre-Assistant à l'ENSSMAL, nous tenons à lui exprimer toutes nos reconnaissances et nos gratitude ; il nous a fait le très grand honneur de diriger ce travail et de nous guider tout au long de son élaboration. Nous sommes reconnaissants pour son appui, sa disponibilité, sa patience, sa rigueur et ses précieux conseils.*

Enfin, nous tenons à exprimer nos gratitude à tout le personnel de la bibliothèque, trouve par le biais de ces remerciements, l'expression de notre respect le plus profond.

Nous remercions aussi nos parents, nos frères et nos sœurs pour leurs soutiens.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Sources anthropiques de quelques métaux dans l'environnement (Dixit et al., 2015).....	13
Tableau 2: Toxicité de plomb et de cadmium (Chaban, 2016).....	16
Tableau 3: Résultat de dénombrement de la flore mésophile aérobie.....	34
Tableau 4: Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants.....	35
Tableau 5: La recherche d' <i>E. coli</i>	36
Tableau 6: Le dénombrement des staphylocoques.....	36
Tableau 7: Test de confirmation (Oxydase et Catalase).....	37
Tableau 8: La recherche de Salmonella.....	38
Tableau 9 : Résultats des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons.....	39

Liste des figures

Figure 1 : Mullus barbatus (Fischer, 1987)	4
Figure 2 : Caractéristique morphologique de l'allache <i>Sardinella aurita</i>	6
Figure 3 : Caractéristique morphologique de la saurel <i>Trachurus trachurus</i>	8
Figure 4 : Le prélèvement de la chair.....	18
Figure 5 : Résultat de coloration de Gram	22
Figure 6 : Résultat du test oxydase	22
Figure 7 : Galerie API 20E.....	24
Figure 8 : Mesure de la taille et du poids des individus.....	25
Figure 9 : Lyophilisateur de type CHRIST BETA 1-8.	26
Figure 10 : Minéralisation à blanc des godets.....	27
Figure 11 : Minéralisation des échantillons de biote.	28
Figure 12 : Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (Agilent AA Duo 240 FS)	30
Figure 13 : Résultat de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	34
Figure 14 : Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants.....	35
Figure 15 : Coloration de Gram négatif (-)	37
Figure 16 : Comparaison des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons.....	39

Liste des Acronymes

AACC : American Association for Clinical Chemistry.

AIEA : Agence Internationale de l'Énergie Atomique.

ATP : Adénosine triphosphate.

C° : Degré Celsius.

Cd : Cadmium ; **Cd²⁺** : Forme ionique du cadmium ; **CdCO₃** : Carbonate de Cadmium.

CE : Commission européenne.

CGDD : Commissariat général au développement Durable.

cm : centimètre.

COI : Commission océanographique intergouvernementale de l'UNESCO et le développement durable.

Cr : Chrome.

CRAPC : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques.

Cu : Cuivre.

DGPA : Direction Générale de la Pêche et d'Aquaculture.

ENSSMAL : Ecole National Supérieur des sciences de la Mer et de l'Aménagement du littoral.

EPI : Eau peptonée exempte d'indole.

ETM : Les éléments traces métalliques.

FAO : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture.

FMAT : Flore mésophile aérobie totale.

g : Gramme.

Gélose SS : Gélose *Salmonella-Shigella*.

h : heures

Hg : Mercure Hg⁺

CH₃ : Méthylmercure ; **HgCl₄⁻²** : TetraChloromercure.

JORADP : Journal officiel de la république algérienne.

Kg : Kilogramme.

LBCM1 : *Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire 1.*

M : masse molaire.

mg : milligramme.

ml : Millilitre.

mn : Minute.

Ni : Nickel.

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

Pb : plomb ; **PbCl⁺** : l'ion de chlorure du plomb ; **PbCO₃** : Carbonates de plomb ; **PbCl₂** : Chlorure de plomb.

PCA: Plate count agar.

pH: Potentiel d'hydrogène.

SFB: Selenite F Broth

SM : Solution mère.

SSA : la spectrométrie d'absorption atomique.

UFC: Unité formant colonies.

UK: United Kingdom.

UNCLOS : La Convention des Nations unies sur le droit de la mer

µm : Micromètre.

JEFCA : Le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (Food safety and quality).

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1. Généralités	4
I. Présentation des espèces de poissons ciblées	4
I.1. <i>Mullus barbatus</i>	4
I.2. <i>Sardinella aurita</i>	6
I.3. <i>Trachurus trachurus</i>	8
I.2. Qualité microbiologique des poissons frais	9
I.2.1. Contamination endogène ou primaire	9
I.2.2. Contamination exogène ou secondaire	10
I.2.3. Paramètres microbiologiques de qualité des poissons frais	10
I.2.3.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	10
I.2.3.2. Les coliformes thermotolérants	11
I.2.3.3. Les staphylocoques	11
I.2.3.4. Les Salmonelles	12
I.3. Les éléments traces métalliques	12
I.3.1. Origine des éléments traces métalliques	13
I.4. Risques des métaux sur la santé humaine	16
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	18
II.1. Echantillonnage de poissons frais	18
II.2. Analyse de la qualité microbiologique	18
II.2.1. Préparation de la solution mère et ses dilutions	18
II.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants	19
II.2.4. Les staphylocoques à coagulase positif	20
II.2.5. Recherche de Salmonelle	20
II.2.6. Identification bactérienne	21
II.2.6.1. Coloration de Gram	21
II.3. Analyse des éléments trace métalliques	25
II.3.1. Conditionnements du matériel	25
II.3.2. Prétraitements des poissons	25
II.3.3. Lyophilisation	26
II.3.4. Broyage et homogénéisation	26
II.3.5. La minéralisation	26
II.3.5.1. La minéralisation à blanc	27

II.3.5.2. La minéralisation des échantillons	27
II.3.6. Analyse par Spectroscopie d’Absorption Atomique (SAA)	28
II.3.6.2. Loi de Beer – Lambert	29
La loi de Beer-Lambert décrit le phénomène comme suit :.....	29
II.3.6.4.3 Evaluation des risques des ETM sur la santé de l’homme	31
Chapitre 3 : Résultats et discussions	34
III.1. Analyse de la qualité microbiologique	34
III.1.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	34
III.1.2. Dénombrement des coliformes thermotolérants et présence d’ <i>Escherichia coli</i> ..	35
III.1.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants	35
III.1.3. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positif.....	36
III.1.4. Recherche et identification de <i>Salmonella</i>	37
III.2. Résultats d’analyse des Eléments de trace métalliques	38
III.2.1. Comparaison des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons.....	40
III.2.2. Résultats obtenues pour le risque des ETM sur la santé de l’homme	41
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	
Les Annexes	

Introduction

Dans de nombreuses parties du globe, les produits de la pêche constituent la première source de protéines animales pour les populations (**Diop et al., 2010**).

Les poissons offrent près de 60 % des protéines consommées par les populations humaines, surtout en milieux ruraux (**Adekoya et Miller., 2004**).

Ils constituent une denrée alimentaire de haute valeur nutritive, mais aussi un complément précieux dans les régimes alimentaires pauvres en protéines, en vitamines et en sels minéraux essentiels (**OULAÏ et al., 2007**). Cependant, en dépit de leur haute valeur nutritive, les poissons sont très périssables, s'altèrent vite entre 25-30°C en moins de 12 heures dans les pays tropicaux (**FAO, 2016**).

L'environnement aquatique est une source de contamination importante ; les pathogènes peuvent y survivre et parfois s'y multiplier (**Bernardet, 2006**). Cette situation entraîne une contamination en bactéries pathogènes au niveau des poissons.

Elles constituent les principales sources de contamination des poissons qui, crus ou insuffisamment traités, sont une voie épidémiologique importante de transmission des maladies microbiennes pouvant entraîner des cas de toxi-infections alimentaires (**Sylla, 2000**). Ces infections ont des conséquences particulièrement graves dans les pays en voie de développement et posent donc un problème de santé publique (**Kaferstein, 1997**).

D'autre part, le milieu marin est le réceptacle final de nombreux produits chimiques tel que les éléments métalliques issus de l'industrie, de l'agriculture et des communautés urbaines (**Pons et al., 1988 ; Casas, 2005**). Ces micropolluants non biodégradables peuvent affecter la salubrité du milieu marin et s'accumuler dans les différents maillons des chaînes trophiques à des concentrations toxiques dans les organismes marins (**Neathery et Miller, 1975**).

De nombreuses études ont été récemment développées en Algérie pour l'évaluation quantitative et qualitative de différents agents polluants minéraux et organiques, bioaccumulés chez certains organismes marins, (moules, oursins, crustacés, poissons et cétacés) provenant de plusieurs sites de la côte algérienne (**Dermache, 2010**).

L'objectif principale de notre étude est de contrôler la salubrité des trois espèces de poissons comestibles à savoir le rouget de vase, l'allache et le saurel d'une part, et d'autre part, évaluer le degré de contamination en éléments traces métalliques et leur effet potentiel sur la santé de l'homme.

Ce travail s'articule autour :

- D'une synthèse bibliographique, englobant la présentation des espèces étudiés (*Mullus barbatus*, *Trachurus trachurus* et *Sardinella aurita*), notions de contrôle de qualité microbiologique des poissons et un aperçu sur les éléments traces métalliques (propriétés et effets)
- D'une exposition de moyens et méthodes qui nous ont permis de réaliser cette étude.
- D'illustration de nos résultats et discussions.
- Et enfin, des conclusions et perspectives.

Chapitre 1

Généralités

Chapitre 1. Généralités

I. Présentation des espèces de poissons ciblées

I.1. *Mullus barbatus*

Mullus barbatus est un poisson de petite taille avec un corps légèrement comprimé. L'œil est situé près du profil dorsal, les proportions relatives des yeux et du museau changent au cours de la croissance, ce dernier est court et très pentue avec deux barbillons épais sur le menton pouvant se replier sur la gorge dans un sillon médian (Fischer, 1987).

Il a deux nageoires dorsales bien séparées, la première à 7-8 épines, la seconde à 1 épine et 7-8 rayons mous. Les écailles sont grosses et légèrement cténoïdes et très caduques. Ainsi que la présence de 3 écailles sous-orbitaires ; chez les adultes le maxillaire dépasse le niveau du bord antérieur de l'œil (Fischer, 1987).

En général, la coloration est de ton brunâtre, parfois rosé et plus clair sur le ventre et il n'y a pas aucune tache sur le corps ou les nageoires (Figure1).

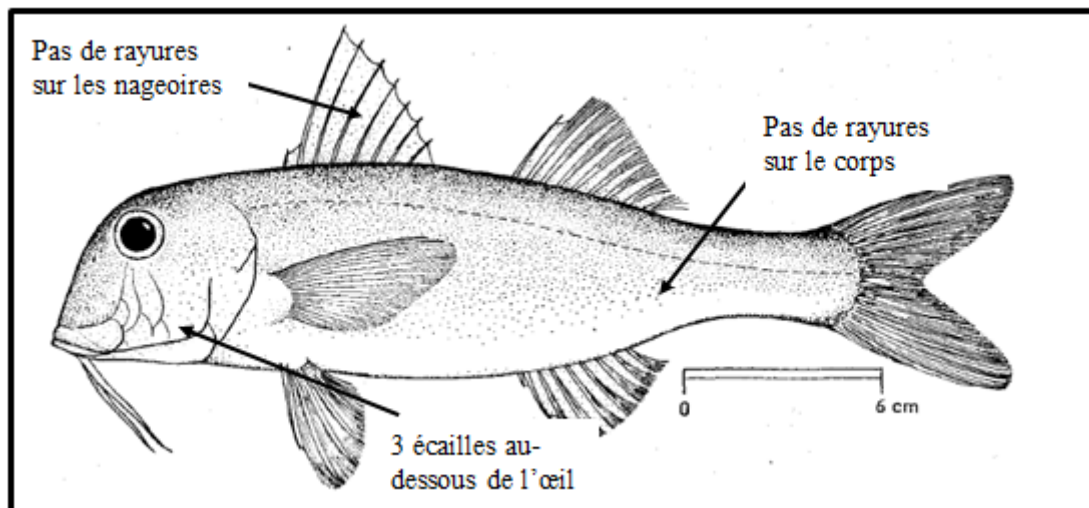


Figure 1 : *Mullus barbatus* (Fischer, 1987)

I.1.1. Position systématique

Selon *Linnaeus* (1758), sa position est comme suit :

Règne : **Animalia**

Embranchement : **Chordata**

Sous-embranchement : **Vertebrata**

Super classe : **Ostreichthyes**

Classe : **Actinoptérygiens**

Ordre : **Perciformes**

Famille : **Mullidés**

Genre : **Mullus**

Espèce : *Mullus barbatus*

I.1.2. Reproduction

La reproduction se reproduit du mois d'Avril au mois d'Août sur des fonds sableux ou vaseux de 10 à 55 m, les larves pélagiques et les larves tardives peuvent atteindre jusqu'à 4 cm (**Fischer, 1987**).

La période de reproduction varie d'une zone à une autre. En Algérie, elle se situe entre avril et juin, tandis qu'au Maroc, c'est entre avril et septembre (**Layachi et al., 2007**). La première maturité sexuelle est constaté après 2 ans, chez les femelle avec une taille de 15cm, alors que chez les mâles, c'est à partir de 1 an (longueur de 14 cm) (**Fischer, 1987**).

Dans la côte oranaise, la taille à la première maturité sexuelle pour les males est estimée à 13,6 cm et 14,5 pour les femelles, avec une période de ponte entre avril et juillet (**Hebbar, 2012**).

I.1.3. Régime alimentaire

Mullus barbatus se nourrissent principalement de petits invertébrés benthiques (crustacés, vers, échinodermes, mollusques, etc.) (**Fischer, 1987**).

Sur les côtes algériennes, il présente une préférence pour les crustacés, et ses proies secondaires sont représentées par les mollusques et les vers, les restes de foraminifères, Ophiures, des larves de décapodes, des siponeuliens, des spicules de spongiaires, des gorgones, d'alevins et de poissons constituent des proies inattendues (**Aissat, 2010**).

I.1.4. Habitat et la répartition géographique

C'est un poisson démersal sur fonds de vase, de sable ou de gravier du plateau continental, de 10 à près de 500 m de profondeur (Fischer, 1987). Du point de vue géographique, *M. barbatus* présente une large distribution, cette espèce est présente dans la partie Est de l'océan Atlantique des côtes sénégalaises jusqu'aux côtes françaises, sans oublier tout le bassin méditerranéen (Fischer, 1987).

I.2. *Sardinella aurita*

Sardinella aurita ou l'allache, est caractérisé par une tache noire sur le bord postérieur de l'opercule lisse, pas de taches noires à l'origine de la nageoire dorsale et possède une nageoire pelvienne à 9 rayons (Fischer et al., 1987). Ce poisson a également une ligne dorée claire à mi-hauteur des flancs qui a tendance à disparaître après la mort. Le devant de cette ligne est précédé par une tache dorée en arrière de l'opercule (Whitehead, 1985).

La tête de *S. aurita* est suffisamment forte et aplatie en dessous. La bouche est grande mais le museau est mince (Bouderel, 1948). Les yeux sont grands et protégés par une paupière adipeuse. *S. aurita* se distingue facilement des autres espèces car son corps n'est pas si plat, sa partie antérieure visible, de sa langue se présentant comme une lame large, ovale ou fuselée, garnie de dents très fines (Maurin et al, 1977).



Figure 2 : Caractéristique morphologique de l'allache *Sardinella aurita*

I.2.1. Position systématique

La systématique est donnée comme suit (**Valenciennes, 1847**) :

Règne : **Animalia**

Embranchement : **Chordata**

Sous-embranchement : **Vertebrata**

Super classe : **Ostreichthyes**

Classe : **Actinoptérygiens**

Sous-classe : **Neopterygii**

Infra-classe : **Teleostei**

Super-ordre : **Clupeomorpha**

Ordre : **Clupeiformes**

Sous-ordre : **Clupeoidei**

Famille : **Clupeidae**

Genre : **Sardinella**

Espèce : *Sardinella aurita* (**Valenciennes, 1847**)

I.2.3. Habitat, régime alimentaire et reproduction

L'allache est un poisson pélagique, rencontré dans les zones côtières près de la surface des eaux superficielles littorales, jusqu'à une profondeur de 350 m, au-delà du plateau continental (**Fischer et al, 1987**).

Cette espèce se nourrit de zooplancton, surtout de copépodes, des alevins de poissons et des larves mais aussi de phytoplancton (**Hadji, 2017**).

Concernant la période de ponte, elle a lieu du mois de juin au mois de septembre sur toute la côte algérienne (**Djabali et al, 1993**). En effet, en Méditerranée, la ponte s'effectue en été où les eaux sont à leur optimum thermique (**Mortet, 1989**).

I.3. *Trachurus trachurus*

T. trachurus ou le saurel est caractérisé par un dos gris vert bleuâtre, un flanc à reflet violace, un ventre argente et nageoire caudale blanchâtre (Figure3). La longueur commune est de 15 à 30 cm et peut atteindre jusqu'à 60 cm de longueur à la fourche. La ligne latérale s'infléchit à mi-corps (Gherram, 2019).

Le saurel est recouverte sur tout son trace de grandes écailles losangiformes et scutelles variant entre 66 et 75 dont 31 à 36 scutelles sont rangées sur la partie rectiligne (Gherram, 2019).

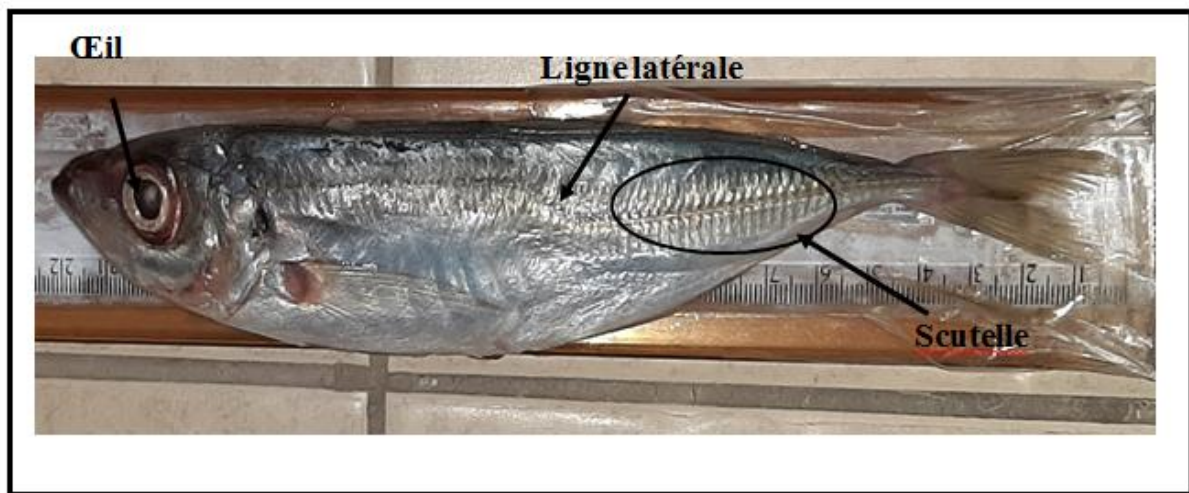


Figure 3 : Caractéristique morphologique de *Trachurus trachurus*

I.3.1. Position systématique

Selon **Dieuzeide et al (2011)**, sa position est comme suit :

Règne : Animalia

Embranchement : Chordata

Sous-embranchement : Vertebrata

Super classe : Gnathostomata

Classe : Actinoptérygii

Ordre : Perciformes

Famille : Carangidae

Genre : *Trachurus*

Espèce : *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758)

I.3.2. Habitat, régime alimentaire et reproduction

Le saurel est un poisson pélagique vivant en bancs et se trouve couramment sur des fonds sableux de 100 à 200 m, mais parfois dans des eaux plus profondes allant jusqu'à environ 600 m. Les jeunes cherchent à s'abriter sous les méduses et se mélangent souvent avec des groupes de jeunes harengs.

La reproduction a lieu de janvier à avril. Les poissons juvéniles et adultes se nourrissent d'une variété de poissons, ainsi que de crustacés et de calmars (**Fischer, 1987 ; Gherram, 2019**).

I.2. Qualité microbiologique des poissons frais

La chair du poisson sain, vivant ou fraîchement capturé, est stérile, de sorte que les microorganismes ne se rencontrent que sur les surfaces internes et externes du poisson. Cependant, les muqueuses, les branchies, les intestins et la peau contiennent des bactéries importantes. Les germes rencontrés sont essentiellement des germes d'altération ou indicateurs d'une contamination d'origine fécale récente (**Hanane et al., 2017**).

La contamination bactérienne de la chair ne se produit qu'après la capture. Les sources de cette contamination sont diverses et peuvent être divisées en deux groupes : endogènes et exogènes (**Bourgeois et Leveau, 1980 ; Rozier, 1985**).

I.2.1. Contamination endogène ou primaire

Cette contamination est celle qui survient du vivant de l'animal. Elle se fait via la respiration, l'alimentation et lors des déplacements. La composition et la quantité de cette flore dépendent de la source, de la température de l'eau et du régime alimentaire (**Abotchi, 2010**).

Certaines études ont montré que les bactéries à Gram-négatif sont prédominantes dans la flore initiale des poissons issus des eaux tempérées (**Gram et Dalgaard, 2002**), tandis qu'une forte proportion de coques à Gram-positif et de *Bacillus spp.* a été trouvée chez certains poissons des mers chaudes et des eaux tropicales.

Les bactéries d'origine endogènes peuvent être divisées en trois classes :

- Germes typiquement aquatiques, qui englobent généralement les genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Aeromonas* et *Moraxella* (**Billon, 1976**).
- Germes d'origine tellurique, qui sont des bactéries sporulées, en particulier les genres *Clostridium* et *Bacillus*. Les eaux de ruissellement et de pluie assurent leur dissémination dans le milieu aquatique.
- Germes de contamination d'origine humaine ou animale, qui proviennent du tube digestif de l'homme et des animaux. Ils sont charriés en milieux aquatiques via les eaux usées mal ou non traitées (**Abotchi, 2010**).

I.2.2. Contamination exogène ou secondaire

Après capture, le poisson doit subir de nombreuses manipulations qui sont à l'origine de la contamination bactérienne (contamination causée par le personnel, le matériel et l'environnement). Selon **Hobbs (1982)**, l'homme constitue la source la plus importante des contaminations exogènes des denrées alimentaires d'origine animale. Les germes apportés par cette contamination secondaire sont des salmonelles, des coliformes thermotolérants, des staphylocoques présumés pathogènes, des bactéries anaérobies sulfite-réductrices, des levures et moisissures, la flore mésophile aérobie totale.

I.2.3. Paramètres microbiologiques de qualité des poissons frais

Les analyses microbiologiques ont porté sur la recherche de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes thermotolérants, les Staphylocoques à coagulase positif et les salmonelles, selon la réglementation algérienne fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (**JORADP n°39, 2017**).

I.2.3.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes capables à se multiplier à l'air aux températures moyennes, en particulier celles situées entre 25°C et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération (**Bourgeois et Leveau, 1996**). Elle correspond à des bactéries indicatrices d'hygiène dont le dénombrement permet d'apprécier la qualité microbiologique du poisson et l'application des bonnes pratiques d'hygiène. Une flore mésophile dénombrée en grande quantité indique un début du processus d'altération (**Abotchi, 2010**).

I.2.3.2. Les coliformes thermotolérants

Les coliformes thermotolérants sont des microorganismes en bâtonnets, ne formant pas de spores, Gram négatif, oxydase négatif, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires, ou autres agents de surface ayant des propriétés inhibitrices de croissance analogues et capables de fermenter le lactose avec production d'acide (ou d'aldéhyde) et de gaz en 48 heures à la température de 44 °C (**Gourmelon et al., 2002**).

Ce sont des bactéries commensales de l'intestin de l'homme et des animaux. Elles jouent le rôle d'un témoin d'une contamination fécale. Leur recherche dans les poissons permet de suivre l'hygiène observée par les manipulateurs (**Abotchi, 2010**).

I.2.3.2.1. *Escherichia coli*

C'est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, catalase positif, mesurant de 2 à 4µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6µm (**Delarras, 2007 ; Rodier et al, 2009**).

Les *Escherichia coli* sont des coliformes thermotolérants produisant de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C. Ils donnent un résultat positif à l'essai au rouge de méthyle. Ces bactéries ne peuvent pas produire de l'acétyl-méthyl-carbinol ni utiliser le citrate comme unique source de carbone (**Gourmelon et al., 2002**).

C'est une bactérie commensale de la microflore bactérienne normale du tube digestif de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud, c'est un germe indicateur de la contamination fécale récente dans les eaux et les aliments (**Delarras, 2007**).

I.2.3.3. Les staphylocoques

Ils appartiennent à la famille des *Micrococcaceae*. Les Staphylocoques apparaissent comme des cocci Gram positif de 0,5 à 1µm de diamètre. Ils peuvent être isolés, en diplocoques, en courtes chaînettes ou en amas. Ce sont des germes aéro-anaérobie facultatifs (**Béraud, 2004**).

Ils sont immobiles, non sporulés, non capsulés et catalase positif. Ce sont des germes ubiquitaires que l'on retrouve dans l'air, le sol et les eaux et ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont souvent thermorésistants (mais ne survivent pas à la pasteurisation), halophiles, peu exigeants de point de vue nutritif. Ils sont inhibés par un pH acide (pH<4 pour la croissance, pH<5 pour la toxinogénèse) (**Guiraud, 1998**).

Les Staphylocoques sont capables de produire des enterotoxines (pathogènes) (**Bourgeois, 1990**). La principale espèce de staphylocoques est *S. aureus*, qui est un pathogène humain le plus ubiquitaire et dangereux, du fait de sa virulence et de sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques (**Béraud, 2004**).

Leur présence dans l'aliment témoigne d'une contamination d'origine humaine et par conséquent de l'existence de porteur sain dans la chaîne de production (**Abotchi, 2010**).

I.2.3.4. Les Salmonelles

Les salmonelles sont des bacilles de la famille des entérobactéries, asporulées, Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche, oxydase négatif, aéro-anaérobies facultatives, lactose négatif, uréase négatif, indole négatif, H₂S positif et citrate positif (**Guiraud, 1998**).

La plupart des salmonelles sont hébergées dans le tube digestif des animaux. Seules les espèces *S. Typhi* et *S. Paratyphi* sont strictement adaptées à l'homme. La contamination de l'homme se fait par voie buccale (**Béraud, 2004**).

Leur présence dans l'aliment témoigne d'une contamination d'origine humaine et par conséquent de l'existence de porteur sain dans la chaîne de production (**Abotchi, 2010**).

I.3. Les éléments traces métalliques

Les éléments traces métalliques (ETM) correspondent aux éléments métalliques qui sont présents dans la croûte terrestre à des concentrations inférieures à 0,1% soit 1000 mg.kg⁻¹ et une masse volumique supérieure à 5 g.cm⁻³. La plupart des ETM sont très faiblement volatiles et ne sont pas biodégradables, ce qui leur confère un grand pouvoir d'accumulation dans tous les compartiments de la biosphère (**Casas, 2005 ; Lamprea-Maldonado, 2009**).

Les éléments traces métalliques retiennent l'attention des scientifiques et gestionnaires en raison de leur persistance dans l'environnement et le danger qu'ils présentent pour les écosystèmes aquatiques et la santé humaine (**Imane et Dounia, 2019**).

La place des poissons comme importante composante du régime alimentaire humain, engendre des préoccupations relatives aux risques sur la santé (**Imane et Dounia, 2019**).

I.3.1. Origine des éléments traces métalliques

Les éléments traces métalliques qui entrent dans l'environnement marin proviennent soit de sources naturelles soit de sources anthropogènes.

Les sources naturelles les plus importantes sont l'altération des minéraux, l'érosion et l'activité volcanique. Tandis que les sources anthropiques dépendent de l'activités humaines telles que l'exploitation minière, la galvanoplastie, l'utilisation de pesticides, les rejets d'engrais phosphatés, les effluents d'élevage et les boues issues des stations d'épuration, ainsi que les dépôts atmosphériques (**Dixit et al., 2015**).

Les activités humaines sont les principales sources des éléments de traces métalliques. Le tableau 3 en résume les principales sources.

Tableau 1 : sources anthropiques de quelques métaux dans l'environnement (**Dixit et al., 2015**)

Eléments métalliques	Origines anthropiques
Chrome (Cr)	Industrie du fer et de l'acier, Tanneries
Nickel (Ni)	Instruments chirurgicaux, batteries automobiles
Cadmium (Cd)	Peintures et pigments, stabilisants des plastiques, galvanoplastie, engrais phosphatés
Plomb (Pb)	Émissions aérienne de la combustion de l'essence au plomb, piles de déchets, insecticides et herbicides
Mercure (Hg)	Pesticides, les engrais, exploitation des gisements et traitement des minerais
Cuivre (Cu)	Pesticides, les engrais, traitement des minerais

I.3.2. Eléments de traces métalliques étudiés

I.3.2.1. Plomb (Pb)

Le plomb existe sous trois formes : dissoute, colloïdale et particulaire. Les espèces dissoutes dans l'eau de mer sont les carbonates de plomb (PbCO_3) et chlorures de plomb (PbCl_2).

Dans l'eau de mer, le plomb se trouve principalement sous forme de complexes organiques labiles, le plomb présente une forte affinité pour la matière particulaire, il n'y a qu'environ 10% de plomb sous la forme particulaire dans l'océan. (Casas, 2005).

L'adsorption du plomb sur la matière particulaire est en fonction du pH et augmente avec ce dernier, les concentrations minimales en plomb inorganique provoquant des phénomènes sub létaux chez les invertébrés et vertébrés marins sont de l'ordre du mg. L^{-1} (Cossa *et al.*, 1993).

Les doses létales du plomb, sous la forme de sel minéral, sont souvent supérieures à sa limite de solubilité dans l'eau de mer, c'est à dire 4 mg. L^{-1} . Le plomb inorganique peut donc être considéré comme toxique (concentration létale de 1 à 10 mg. L^{-1}) ou modérément toxique (concentration létale de 10 à 100 mg. L^{-1}) (Casas, 2005).

Les effets nocifs du plomb sur la santé sont corrélés à l'importance de l'imprégnation dans l'organisme. Toutefois, il est aujourd'hui établi que le plomb est toxique pour les enfants, les femmes enceintes et les adultes, même à de faibles concentrations (American Association for Clinical Chemistry, 2016).

Chez les poissons, les concentrations élevées du plomb perturbe l'osmorégulation par la diminution de l'activité Na^+/K^+ ATPase au niveau branchiale (Pelletier *et al.*, 2004).

I.3.2.2. Cadmium

Dans le milieu marin, le cadmium présent soit à l'état organique soit à l'état minéral sous plusieurs formes différentes : dissoute, colloïdale et particulaire.

- ✓ Les formes dissoutes ($< 1\text{nm}$) : du cadmium en milieu aquatique sont des espèces libres (Cd^{2+}) et formées par des associations de cadmium avec des composés minéraux ou organiques.
- ✓ Les formes colloïdales : lorsqu'il se fixe à des oxydes de fer, de manganèse, des hydroxydes, des carbonates, des argiles ou de la matière organique colloïdale.

- ✓ Les formes particulaires ($> 0,45 \mu\text{m}$) : se font par intégration du cadmium dans la structure cristalline de minéraux détritiques, par liaison à une fraction d'origine organique et minérales (carbonates, restes d'organismes, pelotes fécales, phosphates, oxydes et hydroxydes de fer ou de manganèse, sulfures), ainsi que l'adsorption sur des phases de différentes natures (argiles, matière organique) (**Casas, 2005**).

La précipitation du CdCO_3 , ou des complexes organiques de cadmium, de poids moléculaires élevés est susceptible de former des colloïdes, Cependant, la présence de cadmium sous forme colloïdale est aussi le fait de l'adsorption de ce métal à la surface des colloïdes.

Les organismes planctoniques fixent une quantité significative de cadmium qui est transféré le long de la chaîne alimentaire, qui peut également être absorbé à chaque échelon de cette chaîne, via les interactions avec de nombreux ligands biologiques.

De plus, en raison de ses similitudes atomiques avec le zinc, le cadmium peut perturber le fonctionnement d'enzymes utilisant le zinc comme cofacteur, et peut également désorganiser la structure de l'ADN (**Verge et Petit, 2009**).

L'absorption du cadmium dans l'eau de mer par les organismes aquatiques est très variable et dépend de l'espèce et de diverses conditions telles que : la salinité, la température et pH. Chez les poissons, le cadmium provoque une hypocalcémie, probablement par inhibition de l'absorption du calcium de l'eau.

Ce taux d'absorption et l'impact toxique du cadmium sur les organismes aquatiques est fortement affectée par des facteurs physico-chimiques tels que la température, la concentration ionique et la teneur en matière organique (**World Health Organization, 1992**).

Dans les écosystèmes aquatiques, le cadmium peut être accumulé en quantité très importante par certains mollusque bivalves (moules, huîtres) qui doivent filtrer l'eau pour collecter leur nourriture (**Damy, 2011**).

Il présente également une très forte toxicité sous ses formes sulfures et oxyde de cadmium. Cet élément se concentre principalement dans le foie, le cortex des reins, le pancréas et la thyroïde avec un temps de demi-vie de vingt ans environ (**Casas, 2005**).

Après passage à l'homme, le cadmium présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées (Casas, 2005)

I.4. Risques des métaux sur la santé humaine

Les métaux lourds sont dangereux pour la santé de l'ensemble de population, parmi les plus toxiques, on trouve le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) (Baba Ahmed, 2012). La toxicité d'un élément est directement liée à la forme chimique sous laquelle l'élément existe (et donc à sa spéciation chimique) (Kabata-Pendias et Pendias, 2001 ; Ettler et al, 2005).

Tableau 2: Toxicité de plomb et cadmium (Chaban, 2016).

Espèce	La forme la plus toxique	Voies de pénétration	Organe cibles	Effet possible sur l'homme
Plomb (Pb)	Forme organique	Voie respiratoire (70%) Voie digestive (10%)	Système nerveux, reins,	Bioaccumulation Saturnisme (atteinte neurophysiologique, trouble rénaux, cardiovasculaires) Hématopathie, anémie.
Cadmium (Cd)	Forme inorganique (chlorure /oxyde de Cd)	Respiratoire Digestive	Foie et les reins	Lésions rénales (néphropathies) et pulmonaires, fragilisation des os, anémies, cancérogène groupe B1 (prostate, foie), gastro-entérites.

Matériel

et

Méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

II.1. Echantillonnage de poissons frais

Nos échantillons de rouget de vase, de l'allache et de saurel sont collectés à l'état frais, le 26 mai 2021 vers 4^h et demi, au niveau de la pêcherie d'Alger. Une fois prélevés, ils sont acheminés directement dans une glacière (4°C) vers le laboratoire de l'ENSSMAL pour analyse. Le choix est porté sur ces trois espèces, du fait de leur grande consommation et accessibilité sur le marché.

II.2. Analyse de la qualité microbiologique

II.2.1. Préparation de la solution mère et ses dilutions

Les poissons sont déposés sur un plateau stérile devant un bec bunsen. La prise d'essai, destinée à la préparation de la suspension mère et ses dilutions décimales, porte sur la partie profonde après cautérisation de la surface du produit (**Provenant *et al.*, 2012**).



Figure 4 : Le prélèvement de la chair

A l'aide d'un scalpel et d'une pince stérile, 25g de chair de chaque espèce est prélevée et pesée avec une balance de précision. Ensuite, à l'aide d'un mixeur stérile on broie la chair en ajoutant 225ml ajoutant le diluant eau peptonée tamponnée (EPT) préalablement stérilisée pour l'obtention d'un volume totale de 250 ml.

Le mélange obtenu est la solution mère de dilution 10^{-1} . Des dilutions décimales de dilution 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} ont été préparées par la suite.

II.2.2. La flore mésophile aérobie total à 30°C

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale reste la meilleure méthode pour évaluer la qualité microbiologie des aliments (Marchal *et al*, 1991).

II.2.2.1. Mode opératoire

On prélève 1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) et le met aseptiquement dans des boites de pétri vide. On y ajoute 10 à 15 ml de milieu PCA (Plate Count Agar) en surfusion (45°C).

Le mélange est homogénéisé par des mouvements horizontaux et circulaires des boites (mouvement de 8). Les boites de Pétri sont incubées à 30°C et le comptage des colonies se fait après 24h à 48h d'incubation.

II.2.2.2. Lecture

Le dénombrement se fait dans les boites qui contiennent au moins 30 et au plus 300 colonies de forme lenticulaire. Le résultat est exprimé comme suit :

$$N = \frac{\Sigma \text{colonies}}{V * (n1 + 0,1n2) * d1} \dots (1)$$

Avec :

- N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.
- Σ : somme des colonies des boites interprétables.
- V : volume de solution déposé (1ml).
- n1 : nombre de boites considérées à la première dilution retenue.
- n2 : nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue.
- d1 : facteur de la première dilution retenue.

Selon le journal officiel de la république algérienne, la norme à respecter des FMAT ne doit pas dépasser 10^6 à 10^7 UFC/g.

II.2.3. Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants

II.2.3.1. Mode opératoire

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève 0,1 ml de chaque dilution sur des boites de pétri contenant le milieu Tergitol, puis on a étalé soigneusement l'inoculum sur la surface gélosée de chaque boite avec un râteau stérile (préparée à l'aide d'une pipette pasteur). L'incubation a été réalisée à 44°C pendant 24h.

II.2.3.2. Lecture

Le dénombrement se fait dans les boîtes qui contiennent au moins 15 et au plus 300 colonies. Le résultat est exprimé avec la formule (1).

II.2.4. Les staphylocoques à coagulase positif

En bactériologie alimentaire, les staphylocoques sont dénombrés le plus souvent sur le milieu Chapman ou Baird-Parker (**Marchal *et al*, 1991**).

Dans des conditions aseptiques, on a coulé le milieu Chapman dans des boîtes de pétri et on a laissé se solidifier. Par la suite, le milieu est ensemencé en surface avec 0,1 ml de la suspension mère et ses dilutions. L'inoculum est ensuite étalé à l'aide d'un râteau en verre. L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.

Les colonies jaunes suspectées doivent subir des **tests de confirmation** :

- Test d'oxydase (oxydase positif)
- Test de catalase (catalase positif)
- Test de coagulase (coagulase positif)

II.2.5. Recherche de Salmonelle

La recherche de Salmonella est réalisée en 4 étapes selon la norme **internationale ISO 6579**. La mise en évidence de salmonelles passe obligatoirement par le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et enfin l'identification.

II.2.5.1. Pré-enrichissement

Il permet la revivification des bactéries et la récupération de l'ensemble de leurs potentialités au terme de leur incubation (**Jean-Louis, 2004 ; Navoun, 2005**). Il est réalisé comme suit :

- Une quantité exacte de 25 g de chair de poisson est pesée à l'aide d'une balance de précision est mélangée à 225 ml de milieu SFB (bouillon au Sélénite) + 4 disques SFB.
- Broyage du mélange à l'aide d'un mixeur stérile pendant 2 mn et le verser aseptiquement dans un flacon stérile. Ce mélange est placé dans une étuve à 37°C pendant 24h.

II.2.5.2. Enrichissement

Après 24h d'incubation, 1 ml de bouillon de pré-enrichissement est transférée dans un tube contenant 10 ml de milieu SFB + 1 disque SFB, et incubé à 37°C pendant 24h.

II.2.5.3. Isolement et lecture

Les cultures de SFB sont repiquées sur la gélose S-S en stries. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Les colonies apparaissent transparentes avec ou sans centre noir (coloration noir due à la production de H₂S). Une identification biochimique est entamée, par la suite, avec une coloration de Gram (bacille Gram négatif), application d'un test d'oxydase (oxydase positif) et enfin une identification bactérienne sur **galerie Api 20E**.

II.2.6. Identification bactérienne

II.2.6.1. Coloration de Gram

Elle est réalisée suivant ces étapes :

- Sur une lame propre, on pose une goutte d'eau distillée et on prélève une portion d'une colonie bactérienne isolée et l'étaler sur la lame.
- Sécher en approchant la lame de 15-20 cm au-dessus de la flamme du bec bunsen.
- Réaliser une fixation, en tenant la lame avec une pince et la passer trois fois à la flamme.
- On dépose quelques gouttes de **violet de gentiane** sur le frottis fixé et laisser agir 1 min (Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries).
- Jeter l'excès de colorant et rincer brièvement avec l'eau distillée.
- Déposer quelques gouttes de **lugol** sur le frottis (le lugol permet de fixer le violet de gentiane) et laisser agir 1 min.
- Jeter l'excès et rincer brièvement avec l'eau distillée.
- Égoutter et plonger la lame dans l'alcool pendant 15 secondes puis rincer doucement avec l'eau distillée.
- Décolorer en faisant couler la fuchsine sur la lame durant 1 min.
- Laver à l'eau distillée et sécher la lame au-dessus de la flamme.

L'observation microscopique est réalisée sous microscope à l'objectif à immersion (100 x avec ajout de l'huile de paraffine). La coloration en violet et les forme Cocci indiquent les bactéries à Gram⁺, tandis que la couleur rose et la forme bacille est typique des bactéries à Gram⁻ (Figure 5).

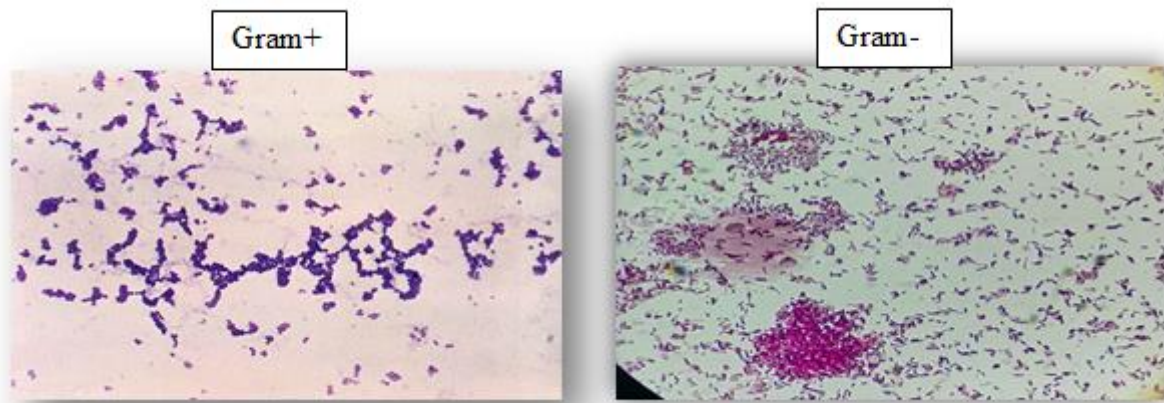


Figure 5 : Résultat de coloration de Gram

II.2.6.2. Test de l'oxydase

A l'aide d'une pince, on place un disque oxydase sur une lame porte objet et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée.

Prélever une partie d'une colonie, bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester, à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque d'oxydase.

La réaction positive donne une coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes (indique que la bactérie est oxydase positive), alors que la réaction négative se traduit par l'absence de coloration ou coloration au-delà de 30 secondes.

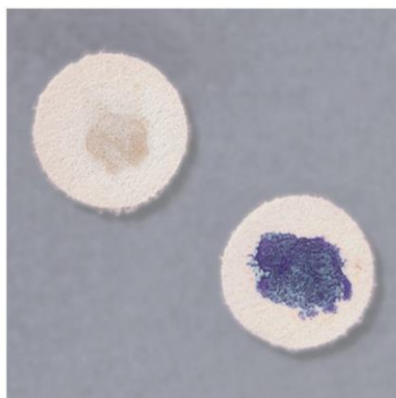
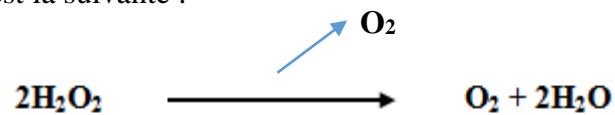


Figure 6 : Résultat du test oxydase

II.2.6.3. Test de catalase

L'enzyme catalase favorise la neutralisation de l'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène (Wheelis, 2008). Cette enzyme accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. Cette réaction est évidente par la formation rapide des bulles (Clarke et al., 2000 ; MacFaddin, 2000).

La réaction catalysée est la suivante :



On place une lame sur une boîte petri vide (l'utilisation de boîte petri est pour travailler dans des conditions propre). Ensuite, on dépose une goutte d'eau oxygénée et à l'aide d'une pipette pasteur et on prélève une colonie bactérienne bien isolée et la dissocie dans la goutte.

Les réactions positives se manifestent par une effervescence immédiate (formation de bulles), donc la catalase est positive, et en absence d'effervescence c'est catalase négative.

II.2.6.4. Test de la Coagulase

La détection de cette coagulase s'effectue en mélangeant dans un tube 0,3 ml de plasma de lapin et 0,1 ml d'une culture de BHIB qu'on a déjà ensemencé et incubé à 37°C pendant 24h.

Le mélange est incubé à 37° pendant 4 à 24h. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum.

II.2.6.5. Galerie API 20E

C système d'identification API 20E d'entérobactéries et autre bacilles à Gram négatif qui se développent facilement, se compose de 20 microtubes contenant un substrat déshydraté.

Ces microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui a été préparé précédemment avec une colonie de la bactérie a étudiée, l'incubation se fait pendant la nuit et ensuite interprétés (koumba, 2007).



Figure 7 : Galerie API 20E.

La préparation de la galerie se fait selon ces étapes :

- Combiner le fond d'une boîte d'incubation avec le couvercle et verser environ 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Étiqueter la galerie sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage et la déposer dans la boîte d'incubation.

L'inoculum bactérien est préparé à partir d'une colonie jeune et pure qu'on met dans 5 ml d'eau distillée stérile.

L'ensemencement de la galerie suit la démarche suivante :

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on commence par introduire la suspension bactérienne dans chaque microtube, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.
- Les tubules des symboles soulignés : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE sont ensemencés par la suspension bactérienne et les cupules par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés : VP, CIT, et GEL, l'ensemencement des tubules et cupules est fait par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés, inoculer uniquement le tubule par la suspension.
- Refermer la Galerie et la placer dans une étuve à 37°C pendant 24h.

II.3. Analyse des éléments trace métalliques

II.3.1. Conditionnements du matériel

Afin d'éviter les contaminations, le matériel utilisé sont minutieusement nettoyés et conditionnés avant chaque utilisation selon le protocole suivant :

- Lavage aux détergents commerciaux ;
- Rinçage avec de l'eau courante (eau du robinet) ;
- Rinçage à l'eau bidistillée obtenue sur un système MILLI Q (MILLIPORE) et ayant une résistivité de $18M\Omega$;
- Séchage à l'étuve à $70^{\circ}C$ pour le matériel en verre et en téflon et à $40^{\circ}C$ pour le matériel en polyéthylène et en matière plastique ;
- Rinçage à l'eau acidulée à 10% préparée à partir d'acide nitrique (HNO_3) concentrée à 68% ;
- Rinçage à l'eau bidistillée ;
- Séchage a l'étuve.

II.3.2. Prétraitements des poissons

Après la décongélation des poissons, les mesures biométriques de longueur (LT) et poids ont été réalisées, à l'aide d'un ichtyomètre et d'une balance de précision.



Figure 8 : Mesure de la taille et du poids des individus

Les poissons sont disséqués, puis la chair, le foie et les gonades ont été prélevés et mise dans des piluliers en verre. Après la récupération des organes cibles, les échantillons sont mis au congélateur à $-20^{\circ}C$ jusqu'à la lyophilisation.

II.3.3. Lyophilisation

Les échantillons des poissons congelés ont été passés au lyophilisateur de type CHRIST (Figure 9), pendant 48 heures sous vide (10^{-1} bar) et à très basse température (-50 C° à -60 C°). Cette méthode évite la perte des métaux les plus volatiles en particulier le mercure (Charlou *et al.*, 1983).



Figure 9 : Lyophilisateur de type CHRIST BETA 1-8.

II.3.4. Broyage et homogénéisation

Les échantillons lyophilisés sont broyés à l'aide d'un broyeur automatique en acier inoxydable jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière est récupérée dans des piluliers en verre et stockée dans un dessiccateur. L'homogénéisation se fait par agitation manuelle.

II.3.5. La minéralisation

L'étape de minéralisation est réalisée avec une attaque acide à chaud, en utilisant l'acide nitrique HNO_3 d'une pureté de 69%, pour faire passer les métaux lourds associés à la matière organique en solution. Cette étape est divisée en une minéralisation à blanc (conditionnement des godets) et une minéralisation proprement dite.

La minéralisation est effectuée au niveau du laboratoire de Sidi Fredj, suivant le protocole décrit par l'AIEA (2001), la minéralisation a lieu sous hotte aspirante dans un godet en téflon.

II.3.5.1. La minéralisation à blanc

Avant l'utilisation des godets, on procède à une minéralisation à blanc (figure 10). Un volume de 4 ml d'acide nitrique (HNO_3) à 69% est mis dans chaque godet à téflon, puis ce dernier est fermé hermétiquement.

Les godets sont mis sur une plaque chauffante à 120°C pendant 2h 30min. Après refroidissement des échantillons, la soupape de sécurité est ouverte doucement, les godets sont rincés à l'eau bidistillée et séché à l'étuve.



Figure 10 : Minéralisation à blanc des godets

II.3.5.2. La minéralisation des échantillons

Une masse de 0,5g de chaque organe lyophilisé (chair, foie et gonade) a été pesé et mis dans le godet en téflon. Un volume de 5ml d'acide nitrique (HNO_3) à 69% est rajouté puis les godets sont fermés hermétiquement avec des pinces.

Les échantillons sont laissés à température ambiante pendant une nuit, Par la suite les godets ont été placés sur une plaque chauffante à 120°C pendant 2h30min. Avant d'ouvrir la soupape de sécurité, les échantillons sont laissés refroidir doucement.

Les minéralisât sont transposés dans des tubes coniques en polypropylène de 50 ml, les godets sont rincés à l'eau bidistillée plusieurs fois, en récupérant les rinçages toujours dans les tubes puis le volume est complété jusqu'à 50 ml avec de l'eau bidistillée (Figure 11).

Un blanc d'analyse est inséré avec chaque série d'échantillons biologiques, On ajout 5ml d'acide nitrique (HNO_3) concentré à 69% dans un godet en téflon.

Pour éviter toute perte et contamination, Les séries sont conservés dans un réfrigérateur à 4 C° jusqu'au moment d'analyse.



Figure 11 : Minéralisation des échantillons de biote.

II.3.6. Analyse par Spectroscopie d’Absorption Atomique (SAA)

L’analyse des ETM a été réalisée au centre de recherche scientifique et technique de l’analyse physico-chimique (CRAPC) à Bou-Ismaïl, wilaya de Tipaza, le 31/10/2021.

II.3.6.1. Principe

La spectrophotométrie d’absorption atomique est une technique d’analyse quantitative, basée sur le phénomène d’absorption de radiations lumineuses par des atomes libre (**Förstner et Salomons, 1980**).

L’absorption atomique est un processus qui se produit lorsqu’un atome appartenant à l’état fondamental passe à l’état excité par l’absorption d’une énergie, sous la forme d’un rayonnement électromagnétique, qui correspond à une longueur d’onde spécifique.

Les transitions entre l’état fondamental et l’état excité se produisent uniquement lorsque le rayonnement incident, provenant d’une source lumineuse, est exactement égale à la fréquence d’une transition spécifique. Une partie de l’énergie de la radiation incidente I_0 est absorbée, le reste est transmise I . La proportionnalité entre l’absorbance et la concentration permet de calculer les teneurs dans les échantillons (**Audigie et al., 1985**).

II.3.6.2. Loi de Beer – Lambert

La loi de Beer-Lambert décrit le phénomène comme suit :

$$I = I_0.e^{-k.I.C} \dots (2)$$

La lecture s'effectue en absorbance (A) ou en densité optique (DO) :

$$A = DO = \log I/I_0 = \epsilon.L.C \dots (3)$$

Où :

I : Intensité de l'énergie lumineuse transmise (émergente).

I₀ : Intensité de l'énergie lumineuse émise (incidente).

ε : Coefficient d'absorption atomique (constante).

L : Longueur du trajet optique (constante).

C : Concentration de l'élément absorbant (analyte).

II.3.6.3. Appareillage

L'appareil utilisé est un Agilent AA Duo 240 FS (figure 12), le système 240 FS (Fast Sequential) de la gamme AA d'Agilent est le système AA flamme rapide et productif, caractérisé d'une injection automatisée avec Segment Flow Star, et en déterminant des éléments chimiques de l'ordre de ppm (mg/l).

Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique comporte quatre parties principales :

- Une source génératrice de photons ; une lampe à cathode creuse
- Une source d'atomisation, flamme ou four à graphite
- Un sélecteur de radiations ; monochromateur à prisme ou à réseau
- Un dispositif de mesure comprenant un détecteur associé à l'ensemble électronique de mesure.



Figure 12 : Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (Agilent AA Duo 240 FS)

II.3.6.4. Détermination des concentrations en ETM

II.3.6.4.1. Poids corrigé de l'échantillon biologique

Après lyophilisation, les échantillons piègent une certaine humidité à la période qui sépare la lyophilisation et l'analyse, par conséquent, les poids pesés ne sont pas les vrais poids secs, Pour cela, on doit le corriger par le calcul du taux d'humidité pour avoir les poids secs réels.

Le calcul se fait par l'application de la formule suivante (Rodier *et al.*, 2009) :

$$A = \frac{P1-P2}{P1} \times 100... (4)$$

Où :

A : Taux d'humidité (%),

P1 : Poids de la coupelle vide + le poids de l'échantillon dans la coupelle (g),

P2 : Poids de l'échantillon dans la coupelle après 24 heures à 105 °C (g).

A la fin, les poids secs corrigés sont obtenus comme suit :

$$P_c = P - \left(\frac{A}{100} \times P\right) \dots (5)$$

Où :

P_c : Poids de l'échantillon corrigé (g),

P : Poids de l'échantillon pesé pour la minéralisation (g),

A : Taux d'humidité (%).

II.3.6.4.2. Expression des résultats

La concentration du métal dans l'organisme est calculée selon la formule suivante (A.I.E.A, 2001) :

$$C_{ps} = \frac{(C_c - C_b) \times F \times V}{P_c} \dots (6)$$

Où :

C_{ps} : Concentration du métal en poids sec ($\mu\text{g/g}$).

C_c : Concentration du métal présent dans l'analyte ($\mu\text{g/ml}$)

C_b : Concentration du métal présent dans le blanc ($\mu\text{g/ml}$).

P_c : Poids sec corrigé de l'échantillon biologique minéralisé (g).

F : Facteur de dilution.

V : Volume de la solution finale après minéralisation (50 ml).

Les concentrations du métal présent dans l'analyte ($\mu\text{g/ml}$) est déterminé à partir des courbes d'étalonnage de chaque métal.

II.3.6.4.3 Evaluation des risques des ETM sur la santé de l'homme

Dans le cadre d'évaluation des risques potentiels, pouvant découler de la consommation de rouget de roche, de l'allache et de saurel., on a calculé la consommation maximale sûre (CMS) qui est défini comme étant la quantité maximale de consommation de produits de la pêche qui n'ayant aucun effet nocif sur la santé de l'homme (Metian *et al.*, 2013). Elle est exprimée en fonction des concentrations moyennes en poids humide.

Les résultats obtenus à travers cette étude sont exprimés en poids sec. Afin de les transformer en valeurs exprimées en poids humide, on a utilisé la formule de **Cresson et al. (2017)** donnée par l'équation suivante :

$$C_{P.h} = C_{P.s} \times \left(\frac{100 - A}{100} \right) \dots (7)$$

Avec : $C_{P.h}$: Concentration en poids humide ;

$C_{P.s}$: Concentration en poids sec ;

A : Pourcentage d'humidité (%).

D'après le comité mixte d'experts des additifs alimentaires (JECFA), la consommation maximale sûre est évaluée sur la dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP). Elle est de 0,025 et mg/kg et de 0.007 mg/kg de poids corporel (p.c) /semaine pour le Pb et le Cd, respectivement.

Un individu mature de 70 Kg est utilisé pour le calcul de la CMS suivant la formule donnée par **Metian et al (2013)** :

$$CMS = \frac{(p.c \times DHTP)}{C} \dots (8)$$

Où :

CMS : consommation maximale sûre (Kg) ;

P.C : poids corporel de l'individu (70Kg) ;

DHTP : Dose hebdomadaire provisoire tolérable de chaque élément (mg/kg) ;

C : Concentration moyenne de l'élément dans la chair en poids humide (mg/kg)

Resultats
et
Discussions

Chapitre 3 : Résultats et discussions

III.1. Analyse de la qualité microbiologique

Les résultats de notre analyse microbiologique pour les trois espèces des poissons sont représentés dans la partie qui suit et sont comparé à la règlementation algérienne fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (**JORADP n°39, 2017**)

III.1.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Le dénombrement a été fait à partir de la dilution 10^{-3} pour l'échantillon de l'Allache et 10^{-4} pour le rouget de vase et le saurel. Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Résultat de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

Echantillon	Nombre de germes UFC/g	Normes	Conclusion
Saurel	$7,9 \cdot 10^5$	10^6 à 10^7	Qualité satisfaisante
Rouget de vase	$6,8 \cdot 10^6$	10^6 à 10^7	Qualité satisfaisante
Allache	$7,4 \cdot 10^4$	10^6 à 10^7	Qualité satisfaisante

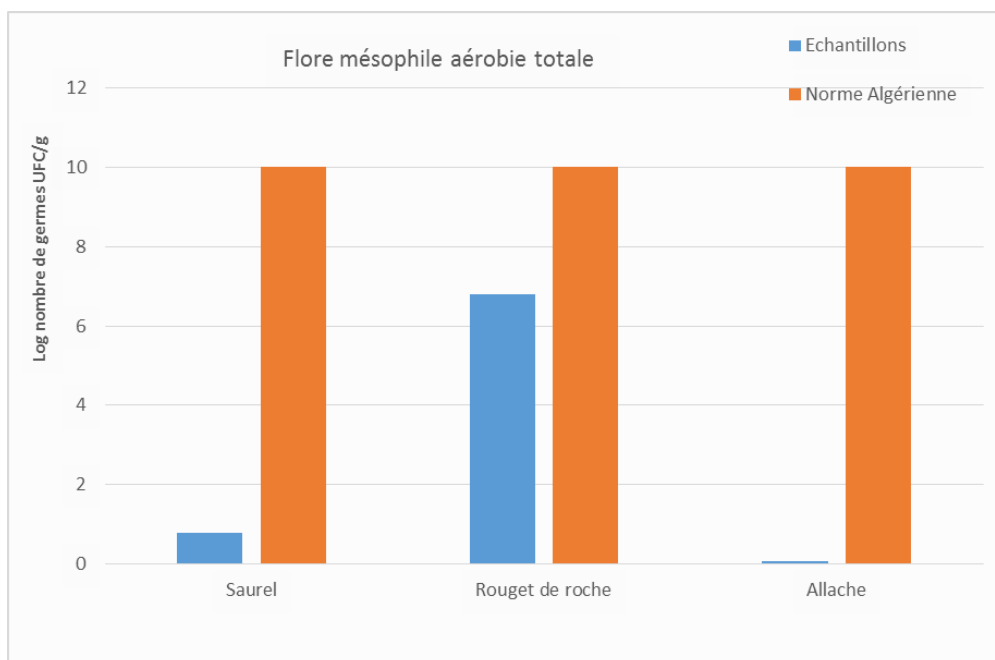


Figure 13 : Résultat de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

On constate que les échantillons de saurel, de rouget de vase et de l'allache contiennent respectivement un nombre de $7,9 \cdot 10^5$, $6,8 \cdot 10^6$ et $7,4 \cdot 10^4$ UFC/g, ce qui est inférieur aux normes Algériennes. Ceci indique que la qualité des trois espèces de poissons est satisfaisante, ce qui est expliqué par la bonne pratique d'hygiène au cours des différentes opérations (Sekkal, 2016).

III.1.2. Dénombrement des coliformes thermotolérants et présence d'*Escherichia coli*

III.1.2.1. Dénombrement des coliformes thermotolérants

Les résultats dénombrement des coliformes thermotolérants sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants

Echantillon	Nombre de germes UFC/g	Normes	Conclusion
Saurel	$7,1 \cdot 10^5$	$10 \text{ à } 10^2$	Qualité non satisfaisante
Rouget de vase	$5,7 \cdot 10^6$	$10 \text{ à } 10^2$	Qualité non satisfaisante
Allache	$6,5 \cdot 10^5$	$10 \text{ à } 10^2$	Qualité non satisfaisante

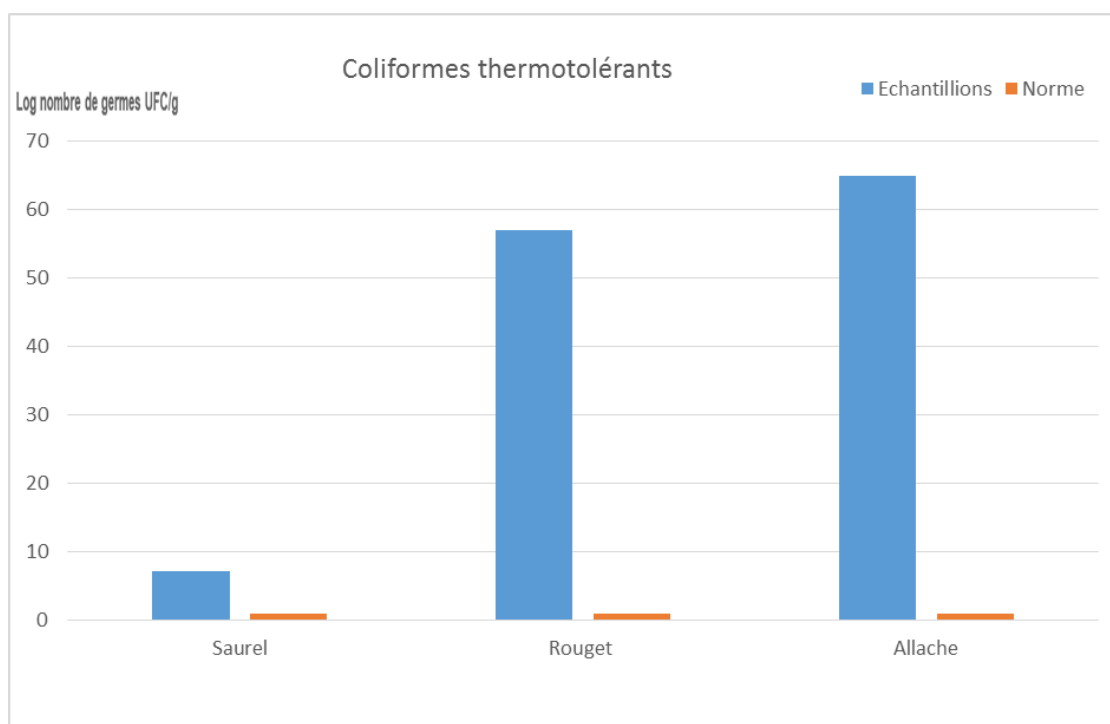


Figure 14 : Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants

III.1.3. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positif

Les résultats dénombrement des staphylocoques à coagulase positif sont représentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Le dénombrement des staphylocoques

Echantillon	Nombre de germes UFC/g	Normes	Test de coagulase	Conclusion
Saurel	$1,3 \cdot 10^5$	10 à 10^2	Négatif	Qualité satisfaisante
Rouget de vase	$2,2 \cdot 10^5$	10 à 10^2	Négatif	Qualité satisfaisante
Allache	$7,5 \cdot 10^4$	10 à 10^2	Négatif	Qualité satisfaisante

La réaction vis à vis des tests de catalase et d'oxydase est donnée dans ci-dessous.

Tableau 7 : Test de confirmation (Oxydase et Catalase)

Espèce	Rouget de vase		Saurel		Allache	
Test	Oxydase	Catalase	Oxydase	Catalase	Oxydase	Catalase
Résultat	+	+	+	+	+	+

Après dénombrement des colonies, une confirmation par des tests de catalase, d'oxydase et de coagulase, ce qui est indiqué dans le tableau n°7 et 8.

D'après nos résultats, on remarque que le nombre de staphylocoques est très important au niveau des trois espèces de poissons étudiés, avec des valeurs supérieures aux normes. Mais un résultat négatif pour le test de coagulase indique que les souches sont des staphylocoques à coagulase négative ce qui implique une qualité satisfaisante de la chair des trois espèces de poissons.

III.1.4. Recherche et identification de *Salmonella*

Les résultats de recherche et d'identification de *Salmonella* sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : La recherche de Salmonella

Echantillon	Nombre de germes UFC/g	Normes	Conclusion
Saurel	Absence des colonies caractéristiques	Absence dans 25g	Qualité satisfaisante
Rouget de vase	Absence des colonies caractéristiques	Absence dans 25g	Qualité satisfaisante
Allache	Présence des colonies transparente avec centre noir.	Présence dans 25g	Qualité non satisfaisante

D'après les résultats donnés dans le tableau n°9, on a noté l'absence de salmonelle chez le saurel et le rouget de vase, par contre nous avons remarqué des colonies transparentes avec centre noir chez l'échantillon de l'Allache qui signifie la présence de salmonelle. Les tests de confirmation et de coloration de Gram (Figure 15) ont donné le résultat suivant :

- Bacille Gram négatif (-)
- Oxydase négatif (-)
- Catalase négatif (-)

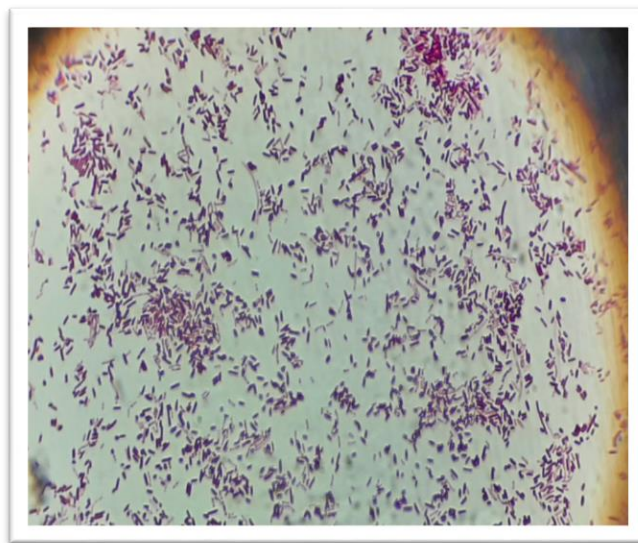


Figure 15 : Coloration de Gram négatif (-)

L'identification bactérienne sur galerie API 20E a été faite après plusieurs repiquages des colonies suspectées sur milieu Gélose S-S. Une seule espèce a donné une excellente identification avec une probabilité de 99,7%. Elle appartient à *Salmonella Choleraesuis spp arizonae*.

III.2. Résultats d'analyse des Eléments de trace métalliques

Les résultats de dosage du plomb et de cadmium au niveau des trois compartiments biologiques de l'allache, saurel et le rouget de vase, à savoir la chair, les gonades et le foie, sont illustré dans le tableau (9) et l'histogramme de la figure 17.

Tableau 9 : Résultats des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons

Espèces	Plomb (µg/g)				Cadmium (µg/g)			
	chair	Foie	Gonades male ♂	Gonades femelle ♀	Chair	Foie	Gonades male ♂	Gonades femelle ♀
Rouget	0,0768	0,2081	0,3594	0,2679	0	0,0910	0,0770	0,5486
L'allache	0,0501	N.D	N.D	N.D	0	N.D	N.D	N.D
Saurel	0,0608	0,0972	N.D	N.D	0	0,4027	N.D	N.D

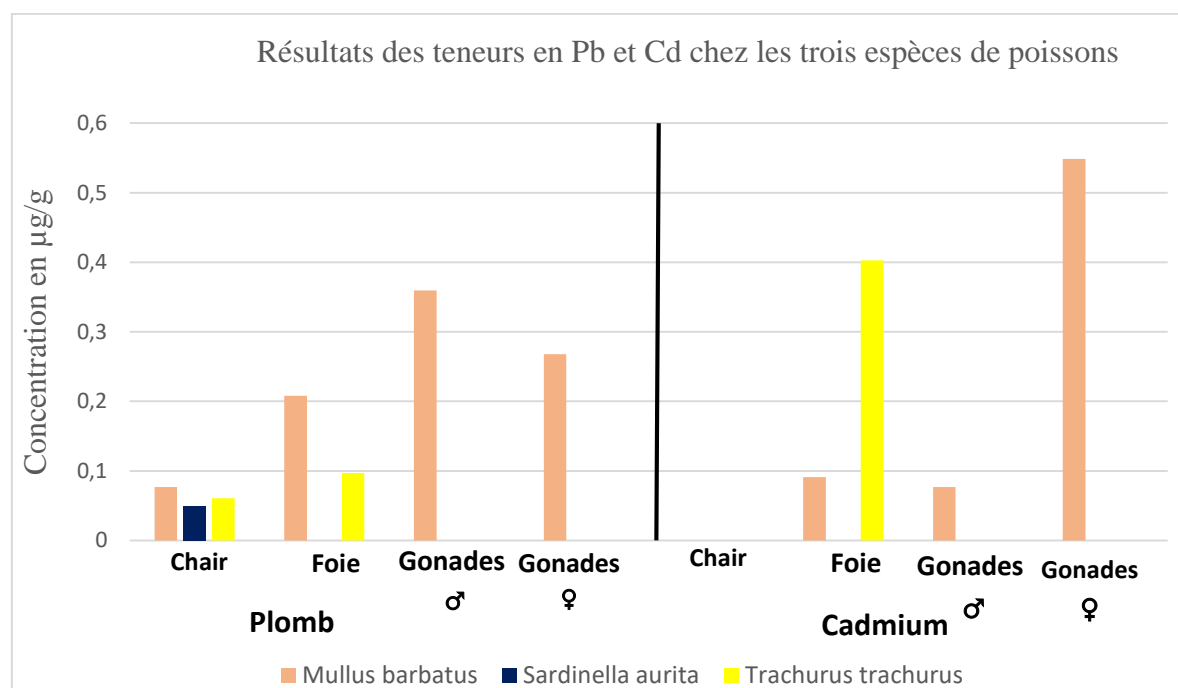


Figure 17 : Comparaison des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons.

- **Résultats obtenues chez *M. barbatus***

Les concentrations moyennes des éléments de traces métalliques (Pb et Cd) retrouvés dans les différents organes de *M. barbatus* au cours de cette étude confirment les divers degrés d'accumulation des ETM par ces derniers.

Pour le plomb sa concentration dans les gonades et spécifiquement les gonades mâles est plus important que celle retrouvée dans le foie et la chair.

Chez *M. barbatus*, le plomb semble être mieux accumulé dans les gonades mâle et femelle que dans le foie et la chair, ceci est dû vraisemblablement au phénomène d'accumulation des réserves nutritives durant la vitellogénèse (Mortet, 1989).

La concentration en Pb est assez élevée au niveau des gonades mâles que les gonades femelles. Ceci pourrait être dû à la taille des individus mâle et selon l'activité et la période de la reproduction.

Les éléments métalliques se concentrent dans les organes de la manière suivante : **gonades male > gonades femelles > foie > chair.**

Concernant le Cd, l'accumulation du métal est plus importante chez les gonades femelles que chez les mâles. Selon Mortet (1989), la vitellogénèse est accompagnée par une accumulation de réserves pour l'accroissement des œufs, mais en même temps, par celle des polluants métalliques qui se trouvent dans le biotope.

- **Résultats obtenues chez *S. aurita***

Les concentrations du plomb sont importantes dans la chair de l'allache, par contre on remarque que la chair ne contient pas le cadmium.

La chair est considérée comme étant l'organe où le plomb se bioaccumule et réside le plus longtemps chez les poissons, et révèle être un bon indicateur de pollution.

La cause de ces concentrations élevées en Pb est que l'allache est un poisson pélagique, rencontré dans les zones côtières près de la surface des eaux superficielles littorales.

En effet les facteurs biologiques tels que la taille, l'âge, la croissance et la perméabilité des membranes externes, les habitudes alimentaires contribuent énormément dans la bioaccumulation en Pb.

- **Résultats obtenues chez *T. trachurus***

En ce qui concerne le plomb, l'ordre de grandeur des concentrations en plomb est bien évident dans les deux organes puisque les valeurs en Pb sont presque deux fois plus élevées dans le foie que dans la chair.

Pour le cadmium il est légèrement plus élevé dans le foie, par contre la concentration en Cd dans la chair est nulle.

En effet le foie est considéré comme le principale organe responsable de la détoxification, le transport et le stockage des substances toxiques d'où sa considération comme un site actif d'effets pathologiques induits par la contamination (**Adeyeye et Ayoola, 2013**).

Le taux du plomb dans la chair du *T. trachurus* est enregistré en deuxième position juste après le foie. Selon **Cossa et al. (1993)**, dans des conditions de milieu peu contaminé, les concentrations en plomb dans la chair du poisson ont tendance à diminuer avec l'augmentation en taille et l'inverse est observé dans les milieux très contaminés.

III.2.1. Comparaison des teneurs en Pb et Cd chez les trois espèces de poissons

Les concentrations les plus importantes sont retrouvées dans les gonades mâles, femelles et le foie du *M. barbatus*, cette espèce présente des concentrations hautement élevées en Pb par rapport à d'autres espèces.

Ainsi, bien que *M. barbatus* soit une espèce de poisson démersale vivant à proximité du sédiment, nous pouvant considérer que c'est un poisson qui accumule le plus de contaminants.

Si nous comparons entre les concentrations métalliques de la chair des poissons ciblés, on constate qu'il n'y a pas une différence significative entre les concentrations en Pb.

Les teneurs en Cd sont assez élevées dans les gonades femelles du *M. barbatus* et le foie du *T. trachurus*, mais elles sont presque similaires au niveau du foie et des gonades mâles du *M. barbatus*. Par contre, ce métal est nul dans la chair chez les trois espèces étudiées.

III.2.2. Résultats obtenues pour le risque des ETM sur la santé de l'homme

La consommation maximale sûre de la chair pour l'allache, saurel et le rouget de vase vis-à-vis le plomb est de 0,68 kg, 0,55 kg et 1,45 kg, respectivement par semaine.

La **DGPA (2018)** a évalué la consommation moyenne en termes de produits de pêches en Algérie à 5kg/an.

Compte tenu de l'espèce de poisson, la consommation moyenne, la maturité du consommateur et les éléments à analyser, les résultats obtenus dans notre étude, sont tous inférieurs aux limites tolérables par le JECFA, et donc on déduit que cela n'engendre aucun effet sur la santé humaine.

Les résultats obtenus dans notre étude pour la présence du Pb dans la chair de trois espèces étudiés. Des résultats similaires sont observés chez le pageot **Attaf (2020)**.

Conclusion et Perspective

Conclusion

Cette étude nous a permis de déterminer la qualité microbiologique et les teneurs des ETM pouvant être présent au niveau des poissons comestibles, ainsi que de connaître le risque pour la santé de l'homme.

La chair de rouget, saurel et l'allache est de mauvaise qualité microbiologique, ceci est dû à la présence en excès des coliformes thermotolérants pour les trois espèces, et présence de salmonelle en plus chez l'allache.

Le plomb et le cadmium sont détectés dans les trois organes d'espèces étudiées à l'exception de Cd dans la chair du rouget de vase, avec des concentrations sont plus importants dans les gonades par rapport au foie et la chair. Ceci est en liaison avec la période de prélèvement qui coïncide avec le début de la période de reproduction. Alors que pour le foie, les concentrations observées sont expliquées par la fonction de ce dernier comme organe de détoxification.

Le rouget de vase a présenté les concentrations élevées des deux métaux étudiées par rapport au saurel et l'allache. Ceci est en liaison avec le mode de vie démersal et pélagique de chaque espèce d'une part et d'autre part avec la position de chaque espèce dans la chaîne trophique où les processus de bioaccumulation et bioamplification ont un effet majeur sur le taux d'accumulation des ETM.

L'effet probable sur la santé de l'homme après consommation de chair de ces poissons, n'est pas observé. Du fait les taux de consommation faibles de poissons et le régime alimentaire du citoyen algérien.

En perspective :

- Il faut réaliser l'analyse de qualité microbiologique sur une large gamme d'échantillons.
- Réaliser un échantillonnage annuel afin de mettre en évidence l'effet biologique sur l'accumulation des ETM
- Utiliser des méthodes pointues pour l'analyse des métaux traces métalliques, afin de caractériser les concentrations réelles dans chaque espèce et organe cible pour une meilleure estimation d'effet sur la santé de l'homme.

Références bibliographiques

Références

Références bibliographiques

A.I.E.A, (2001). Training workshop on the analysis of trace metals in biological and sediment samples. Laboratory Procedure Book. 45 p.

Abotchi, K., seydi, M. (2010). 'Evaluation de la qualité microbiologique des poissons fumes artisanalement au Togo'. Mémoire de Master. Qualité des aliments de l'homme. Sénégal. 'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV). 25 p.

ADEYEYE, AYOOLA, B. (2012). Heavy metal concentration in some organs of african catfish (*clarias gariepinus*) from Eko-Ende dam, Ikirun, Nigeria. *Continental journal of Applied Sciences (Nigeria)* Vol. 7(1): P.P 14 – 18.

Adekoya, B. B., Miller, J. W. 2004. Fish cage culture potential in Nigeria-An overview. *National Cultures. Agriculture Focus*, 1(5). p 10.

Aissat, F. (2010). 'Ecologie biologie et exploitation de rouget de vase *Mullus barbatus* Linnaeus, 1758 de la région algéroise. Mémoire de Magister. Ecologie et environnement marin. Alger : USTHB. p 67.

Attaf, B. (2020). Evaluation de l'activité du polonium-210 et niveau des éléments de trace métalliques (Hg, Pb et Cd) dans le biote (poissons comestibles et fruits de mer), risque sur la santé de l'homme. Mémoire d'ingénieur. Biotechnologie marine. Alger : ENSSMAL, P.P 72.

Audigie, C., Dupont, G., Zonszain, F. (1985). Principes des méthodes d'analyse biochimique. France : Doin, Tome 1, p 190.

Baba Ahmed, A. (2012). Etude de contamination et d'accumulation de quelques métaux lourds dans des céréales, des légumes et des sols agricoles irrigués par des eaux usées de la ville de hammam boughrara. Thèse de Doctorat. Agronomie. Tlemcen : Université abou bekr belkaid – tlemcen. P.P 12.

Beraud, J. (2004). Le technicien d'analyses biologiques. Ed. Paris : Lavoisier. p 2081.

BILLON, J. (1976). Intérêt du froid dans la conservation du poisson et des crustacées : aspects microbiologiques. *Bul. Acad. Vétérinaire de France*, 49. P.P 333-334.

Bornert, G. (2000). Intérêt et limites des analyses microbiologiques des denrées dans une stratégie de maîtrise de la sécurité des aliments : cas de la restauration collective. *Bulletin Vét. France*, 153. P.P 433-442.

Références

BOURGEOIS C.M., LEVEAU J.Y. (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol 3 : le contrôle microbiologique. - 2ème éd. Paris : Lavoisier. Tech. Doc. p 454.

Cadmium, L. E., Marin, M. (1989) 'Rapports scientifiques et techniques de l ' IFREMER Rapports scientifiques et techniques de l ' Ifremer biogéochimie et ecotoxicologie'.

Casas, S. (2005). Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat. France : Université du Sud-Toulon-Var. p 314.

Chaban, W. (2016). Risques des métaux lourds et des produits phytosanitaires sur la santé humaine. Mémoire de Magister. Substances Naturelles et Innovation Thérapeutique. Mascara : Université de Mostapha Stambouli de Mascara. p 39.

Charlou, J., Joanny, M. (1983). Dosage du mercure et d'autres métaux (Pb, Zn, Cu, Co, Ni, Cr, Mn) dans les sédiments marins par absorption atomique in Aminot, A., et Chaussepied, M. (Ed) : Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest : CNEXO. P.P 285-295.

Cossa, D. et al. (1993). 'Le plomb en milieu urbain'. *Repères Océan. France* : institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer). Plouzane.

Cresson, P., Travers-Trolet, M., Rouquette, M., Timmerman, C. A., Giraldo, C., Lefebvre, S., Ernande, B. (2017). Underestimation of chemical contamination in marine fish muscle tissue can be reduced by considering variable wet: dry weight ratios. *Marine pollution bulletin*, 123(1-2), P.P 279-285.

Damy, P. (2011). 'Synthèse des connaissances sur l'origine et la disponibilité du cadmium dans les eaux continentales'.

DELARASS, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Paris: Lavoisier, p 476.

Dixit, R. et al. (2015). 'Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment: An Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes', (February). doi: 10.3390/su7022189.

Djabali, F., Mehailia, A., Koudil, M., & Brahmi, B. (1993). Empirical equations for the estimation of natural mortality in Mediterranean teleosts. *NAGA, the ICLARM quarterly*, 16(1), P.P 35-37.

Références

- Ettler, V.; Johan, Z et al (2005)** Mineralogy of Air-Pollution-Control Residues from a Secondary Lead Smelter: Environment Implications. *Environmental Science and Technology*.
- Fischer, W. (1987)**. 'Mediterranee et Mer Noire (Zone de peche 37).', 2, P.P 1–174.
- Förstner, U. et Salomons, W. (1980)**. 'Trace metal analysis on polluted sediments', *Environmental Technology Letters*, 1(11), P.P 494–505. doi : 10.1080/09593338009384006.
- Gherram, M (2019)**. Ecologie de trois taxons de Saurel, *Trachurus trachurus* (L, 1758), *Trachurus mediterraneus* (S, 1868) et *Trachurus picturatus* (B, 1825) de la baie d'Oran : dynamique de population et diversité génétique. These de doctorat. Oran : Univ Oran. p 252.
- Gourmelon, M. et al. (2002)**. 'Dénombrement des coliformes thermotolérants ou des *Escherichia coli* dans des sédiments côtiers vaseux', p 75. Available at : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00081/19213/#.X7Y17XuSj5c.mendeley>.
- GRAM L. et DALGAARD P., (2002)**. Fish spoilage bacteria problems and solution. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 13 : P.P 262 – 266.
- Guiraud JP., (1998)**. Microbiologie alimentaire. France : Ed Dunod. p 652.
- Hadji, A., Flih, M., (2017)**. 'Contribution à l'étude de quelques paramètres de la reproduction (RGS, RHS et la sex-ratio) chez la *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) pêchée dans la baie de Mostaganem'. Memoire de Master. Exploitation et protection des ressources vivantes marines. Mostaganem : Département des sciences de la mer et de l'aquaculture. P.P 4.
- Hanane, S. et al. (2017)**. Recherche des bactéries pathogènes contaminant le poisson au cours du circuit de distribution dans la wilaya de Bejaia'. Mémoire de Master. Biochimie et microbiologie. Bejaia : Université abderrahmane Mira. p 4.
- Hebbar C., Kerfouf, A., Boutiba, Z. (2012)**. Contribution à l'étude de la reproduction du rouget barbet de vase *Mullus barbatus* (linnéen, 1758) de la baie d'Oran(Algérie) j. *Sci. Halieute- Aquat* ; 5 : P.P 144-151
- Hobbs, G. & Hodgkiss, W. (1982)**. The Bacteriology of Fish Handling and Processing. In *Developments in Food Microbiology I* (ed. R. Davies). P.P 71-117.

Références

Houma - Bachari, F. (2009). Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire. Thèse de doctorat : Sciences de l'Univers et Environnement, p 272.

Imane, S., Dounia, K. (2019). 'Niveau de contamination par les éléments traces métalliques cadmium, cobalt, cuivre et zinc de deux cyprinidés et des sédiments du barrage Koudiet Medouar (Batna, Algérie)', P.P 14606–14621.

ISO 6888, (1999). « Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) -- Partie 2 : Technique utilisant le milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène ».

Jean-Louis C. (2004). Microbiologie alimentaire : Contrôle microbiologique des aliments.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39 (2017). Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (les poissons et produit de la pêche).

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (2001). Trace elements in soils and plants. France : CRC Presse. p 403.

Koumba, k. (2010). Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel tour de 2002 à 2007. these de Doctorat en pharmacie. Mali : Université de Bamako. p 53.

Lamprea-Maldonado, D. K. (2009). 'Caractérisation et origine des métaux traces, hydrocarbures aromatiques polycycliques et pesticides transportés par les retombées atmosphériques et les eaux de ruissellement dans les bassins versants séparatifs péri-urbains'. (Consulté le 12/08/2021). Disponible sur le web : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00596847>.

Layachi, M, et al. (2007). Contribution à l'étude de la reproduction et de la croissance du Rouget-barbet de vase (*Mullus barbatus* L., 1758) de la zone littorale méditerranéenne de Nador (Maroc). Rabat : Bulletin de l'Institut Scientifique, section Sciences de la Vie. P.P 43–51.

MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. Philadelphia: 3rd ed, Lippincott Williams & Wilkins. p 912.

Références

Marchal, N., Bourdon, J.L., Richard, CL. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed. Paris : Doin éditeurs. p 508.

Maurin, C. et al. (1977). Poissons des côtes nord-ouest africaines (campagnes de la thalassa 1962, 1968, 1971 et 1973) clupéiformes, scopélistiformes et cétomimiformes. *Rev. Trav. Int. Pêches. Marit.*, vol. 41 n° 1, P.P 5-92.

Metian, M. et al. (2013). 'Trace element bioaccumulation in reef fish from New Caledonia: Influence of trophic groups and risk assessment for consumers', *Marine Environmental Research*, P.P 87–88, P.P 26–36.

Mortet, Y., (1989). Contribution à l'étude du cycle sexuel et de la fécondité des sardinelles *Sardinella aurita* dans le baie d'Oran. Oran : Univ d'oran. p 80.

Navoun S. (2005). Thermorésistance de trois serotypes de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. [Mémoire de DEA : Biotechnologie]. Abidjan : Université Cocody d'Abidjan. p 28.

Pelletier, E. et al. (2004). Ecotoxicologie moléculaire. Principes fondamentaux et perspectives de développement. Canada : Presse de l'université de Québec. P 499.

RODIER, J., MERLET, N., COLL. (2009). L'Analyse de l'eau. Paris : 9^e édition. Entièrement Mise À Jour Dunod.

Sekkal, N. (2016). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du poisson congelé panga (*Pangasius hypophthalmus*). Mémoire de Master. Alger : ENSSMAL. p 50.

Verge, G. and Petit, C. (2009). 'Contamination des organismes marin du littoral français par le Cadmium : évaluation et gestion du risque', *Revue de Medecine Veterinaire*, 160(10),P.P 484–490.

Wheelis, M. (2008). Principles of modern microbiology. University of California: 1st edition. p 528.

Whitehead, P. J. P. (1985). Clupeoid fishes of the world (suborder clupeoidei). Anannotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings. Part 1 - chirocentridae, clupeidae and pristigasteridae. *Fao- fish. Synop.* 125 (7/1): P.P 1-303.

Références

World Health Organization. (1992). *Cadmium: environmental aspects*. World Health Organization, (135), P.P 1–156.

Annexes

Annexe 1. Composition des milieux de cultures et réactifs utilisés**❖ Gélose pour dénombrement ou Plate Count Agar (P.C.A)**

Composition	Quantité (g/L)
Tryptone	5,0
Extrait de levure	2,5
Glucose	1,0
Agar A (RM 10)	12,0

pH final : $7,2 \pm 2$ à 25°C.

Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

❖ Gélose lactosée au TTC et au Tergitol :

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	10,0
Extrait de levure	6,0
Extrait de viande	5,0
Lactose	20,0
Bleu de bromothymole	0,05
Agar	12,75

pH : $7,2 \pm 0,2$. Autoclaver à 115 pendant 15 minutes.

❖ Gélose Chapman :

Composition	Quantité (g/L)
Extrait de viande de bœuf	1,0
Peptone de caséine et de viande	10,0
Chlorure de sodium	75,0
D Mannitol	20,0
Agar	15,0
Rouge de phénol	0,025

pH : 7,5. Stériliser à l'autoclave : 15 minutes à 121°C.

❖ Gélose Salmonella-shigella (S-S)

Composition	Quantité (g/L)
Peptone	5,0
Extrait de viande de bœuf	5,0
Sels biliaires	4,2
Citrate de sodium	10,0
Citrate de fer	2,0
Lactose	10,0
Rouge neutre	0,025
Vert brillant	0,3 (mg)
Thiosulfate de sodium	8,5
Agar	12,0

pH : $7,3 \pm 0,2$ à 25°C. Ne pas autoclaver.

❖ **Bouillon au sélénite de sodium (SFB) :**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone de viande	5,0
Lactose	4,0
Sélénite de sodium	4,0
Phosphate dipotassique	3,5
Phosphate monopotassique	6,5

pH : 7,0±0,2 à 25°C. Ne pas autoclaver.

❖ **Eau peptonée exempte d'indole (E.P.I)**

Composition	Quantité (g/L)
Peptone exempte d'indole	15,0

pH= 7,2 à 25°C

Répartir en tubes à essais (9ml) et autoclaver 15min à 120°C.

Composition des réactifs utilisés

❖ **Réactifs de Kovacs**

Composition	Quantité (ml)
p-diméthyl-amino-benzaldéhyde	10,0
Acide chloridique	50,0
Alcool amylique	150,0

❖ **Réactifs de Griess (NR1 et NR2)**

- NR1

Composition	Quantité (ml)
Acide sulfanilique	0.8
Acide acétique 5N	100,0

- NR2

Composition	Quantité (ml)
Diméthyl amine	0.6
Acide acétique 5N	100,0

Annexe 2



Trachurus trachurus
(Saurel)



Mullus barbatus Linné., 1758
(Rouget de vase)



Sardinella aurita
(Latcha)



Matériel de la dissection



Dissection des spécimens



Broyage des échantillons



Dessiccateur utilisé pour le refroidissement des coupelles

Résumé

L'objectif de ce travail d'une part, est d'évaluer la qualité microbiologique des trois espèces de poissons comestibles (*Mullus barbatus*, *Sardinella aurita* et *Trachurus trachurus*) par rapport à la norme algérienne (**JORADP n°39, 2017**), et d'autre part pour l'évaluation du niveau de contamination de ces trois espèces par deux éléments traces métalliques (ETM) à savoir le Plomb et le Cadmium ainsi qu'estimer leur risque sur la santé de l'homme.

Les résultats d'évaluer la qualité microbiologique ont montrés que la contamination des trois espèces de poissons est globalement de qualité non satisfaisante, ceci est dû à la présence massive des coliformes thermotolérants dans les trois espèces et présence de salmonelle dans *Sardinella aurita*.

Pour la variation des éléments trace métalliques, trois ETM ont été dosés au sein de trois compartiments biologiques (Chair, Foie et Gonades) qui a été récupéré de la pêcherie d'Alger. Le dosage des ETM a été effectué par la Spectroscopie d'Absorption Atomique (SAA).

A partir des concentrations obtenues pour le Plomb enregistrés au niveau de la chair des trois espèces de poissons, nous pouvons confirmer qu'elles ne peuvent engendrer un risque sur la santé de l'homme.

Mots clés :

Qualité microbiologique, éléments traces métalliques, risques, *Mullus barbatus*

Abstract

The aim of this work is to assess the microbiological quality of the three species of edible fish (*Mullus barbatus*, *Sardinella aurita* and *Trachurus trachurus*) compared to the Algerian standard, and the evaluation of contamination level by two metallic trace elements, lead and cadmium their potential risk on human health.

The results of evaluating the microbiological quality showed that the contamination of the three species of fish is overall of unsatisfactory quality, this is due to the massive presence of thermotolerant coliforms in the three species and the presence of salmonella in *Sardinella aurita*.

For the variation of the metallic trace elements, three ETMs were assayed within three biological compartments (Flesh, Liver and Gonads) which was recovered from the Algiers fishery. The ETM assay was performed by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS).

From the concentrations obtained for lead recorded in the flesh of the three species of fish, we can confirm that they cannot pose a risk to human health.

Key word

Microbiological quality, metallic trace elements, risks, *Mullus barbatus*

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية لثلاثة أنواع من الأسماك القابلة للاستهلاك *Mullus sardiniensis*، *Sardinella aurita* و *Trachurus trachurus barbatus* من ناحية، حيث تتم مقارنة النتائج بالمعايير الجزائرية ومن ناحية أخرى تقييم مستوى التلوث لهذه الأنواع الثلاثة من قبل اثنين من العناصر المعدنية النزرة (ETM) وهما **Plomb** و **Cadmium** وكذلك لتقدير مخاطرها على صحة الإنسان.

أظهرت نتائج تقييم الجودة الميكروبيولوجية أن تلوث الأنواع الثلاثة من الأسماك بشكل عام ذو جودة غير مرضية، ويرجع ذلك إلى الوجود الهائل للكوليفورم المتحملة للحرارة في الأنواع الثلاثة ووجود السالمونيلا في *Sardinella aurita* في ثلاث حجرات بيولوجية (اللحم والكبد والغدد التناسلية) والتي تم استردادها من مصايد الجزائر.

تم إجراء اختبار ETM بواسطة مطيافية الامتصاص الذري (AAS)

من التركيزات التي تم الحصول عليها من الرصاص المسجلة في لحم الأنواع الثلاثة من الأسماك، يمكننا أن نؤكد أنها لا يمكن أن تشكل خطراً على صحة الإنسان.

الكلمات الدالة:

الجودة الميكروبيولوجية، العناصر المعدنية، المخاطر، موليس بارباتوس.