

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 EN SCIENCES DE LA MER**

OPTION : AQUACULTURE

Thème :

**Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du
poisson congelé panga (*Pangasius hypophthalmus*)**

Présenté par :

❖ **Sekkal Nesrine Fifi**

Soutenu le 31/10 /2016 devant le jury suivant :

Mme AISSOU-AKROUR C.	Maître de Conférences B	(ENSSMAL)	Présidente.
Mme CHAOU N.	Maître Assistante A	(ENSSMAL)	Examinatrice.
Mr KADA M.	Maître Assistant B	(ENSSMAL)	Examineur.
Mme BOURABAIN F.	Maître Assistante A	(ENSSMAL)	Promotrice.

Année universitaire : 2015-2016

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 EN SCIENCES DE LA MER**

OPTION : AQUACULTURE

Thème :

**Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du
poisson congelé panga (*Pangasius hypophthalmus*)**

Présenté par :

❖ **Sekkal Nesrine Fifi**

Soutenu le 31/10 /2016 devant le jury suivant :

Mme AISSOU-AKROUR C.	Maître de Conférences B	(ENSSMAL)	Présidente.
Mme CHAOU N.	Maître Assistante A	(ENSSMAL)	Examinatrice.
Mr KADA M.	Maître Assistant B	(ENSSMAL)	Examineur.
Mme BOURABAIN F.	Maître Assistante A	(ENSSMAL)	Promotrice.

Année universitaire : 2015-2016

« Tout ce qui se produit commence par un rêve. »

Carl Sandburg

Remerciements

Je remercie en premier lieu le Seigneur tout puissant qui nous accorde sa grâce et nous donne le souffle d'avancer jour après jour.

Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué chacune à sa manière, pour la réalisation de ce modeste mémoire.

Je tiens à remercier madame BOURABAIN F. d'avoir encadré ce travail ainsi que pour sa patience.

Mes remerciements s'adressent également à :

Madame Aïssou -Akrou C. qui a bien voulu présider ce jury, je la remercie également pour son soutien inestimable ainsi que pour ses conseils.

Madame CHaou N. et Monsieur Kada M. d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail ; c'est un honneur de vous avoir parmi les membres de ce jury.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'appui logistique et humain du laboratoire pédagogique de microbiologie. Que toute l'équipe trouve ici l'expression de mes profondes reconnaissances.

A tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour !

SOMMAIRE

Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des abréviations.....	IX
Introduction.....	13
Première partie : synthèse bibliographique	
1. Présentation de l'espèce <i>Pangasius hypophthalmus</i>	16
1.1 Systématique.....	16
1.2 Caractéristiques biologique du <i>panga</i>	17
1.3 Principaux pays producteurs.....	17
2. Congélation des poissons	18
2.1 Les techniques de conservation par le froid.....	18
2.2 L'influence de la congélation sur les aliments.....	19
2.3 Production de filets.....	20
2.4 Qualité du poisson congelé.....	22
3. Microbiologie des poissons	23
3.1 Contamination endogène ou primaire.....	23
3.2 Contamination exogène ou secondaire.....	24
4. Les micro-organismes recherchés	25
4.1 Flore mésophile aérobie totale.....	25
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.3 <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	26
4.4 <i>Escherichia coli</i>	29
4.5 <i>Salmonella</i>	30
4.6 La flore fongique.....	32
Deuxième partie : Matériel et méthodes	
1. Cadre de l'étude.....	35
2. L'échantillon.....	35
3. Préparation de la solution mère et les dilutions.....	35
4. Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) à 30°.....	37
5. Recherche et dénombrement des coliformes et d' <i>Escherichia coli</i>	38
6. Recherche et dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes.....	41
7. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	43

8. Recherche de <i>Salmonella</i>	44
9. Recherche de la flore fongique.....	46
10. Technique d'identification bactérienne.....	47

Troisième partie : résultats et discussion

1. Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	50
2. Recherche et dénombrement des coliformes et d' <i>Escherichia coli</i>	52
3. Recherche et dénombrement des staphylocoques présumé pathogène.....	53
4. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices.....	54
5. Recherche des salmonelles.....	55
6. Recherche et dénombrement de la flore fongique.....	56

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Caractéristiques de l'intoxication causée par <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Tableau 02 :	Caractère de l'intoxication causé par <i>C.perfringens</i> et <i>C.butulinum</i>	28
Tableau 03 :	Caractéristiques d'intoxication causée par <i>E. coli</i>	30
Tableau 04 :	Caractéristiques de la salmonellose.....	32
Tableau 05 :	Résultats de la recherche et du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	50
Tableau 06 :	Résultats de la recherche et du dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	52
Tableau 07 :	Résultats de la recherche et du dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Tableau 08 :	Résultats de la recherche et du dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs...	54
Tableau 09 :	Résultats de la recherche des Salmonelles.....	55
Tableau 10 :	résultats de la recherche et du dénombrement de la flore fongique.....	56

Liste des figures

Figure 01 :	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	16
Figure 02 :	Principaux pays producteurs de <i>Pangasius hypophthalmus</i>	17
Figure 03 :	Diagramme de fabrication des filets de poisson congelé.....	21
Figure 04 :	Diagramme de cause à effet des contaminations dans l'aliment.....	24
Figure 05 :	Echantillon de <i>Pangasius hypophthalmus</i>	35
Figure 06 :	Préparation de la solution mère et les dilutions décimales.....	36
Figure 07 :	Dénombrement de la FMAT à 30°C.....	37
Figure 08 :	Technique de recherche et du dénombrement des coliformes totaux par la méthode NPP : test présomptif.....	39
Figure 09 :	Technique de recherche et du dénombrement des coliformes et d' <i>E. coli</i> par la méthode NPP : test confirmatif.....	40
Figure 10 :	Dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes.....	42
Figure 11 :	Technique de recherche et du dénombrement des germes sulfite-réducteurs....	43
Figure 12 :	Technique de la recherche de <i>Salmonella</i>	45
Figure 13 :	Technique de la recherche et du dénombrement des levures et moisissures.....	46

Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius.
FAO :	Food and Agriculture Organization of United Nations.
SM :	Solution mère.
ENSSMAL :	Ecole National Supérieur des sciences de la Mer et de l'Aménagement du littoral.
EPT :	Eau peptonée tamponée.
EPI :	Eau peptonée exempte d'indole.
PCA :	Plate count agar.
pH :	Potentiel d'hydrogène.
NPP :	Nombre le plus probable.
FMAT :	Flore mésophile aérobie totale.
g :	Gramme.
Kg :	Kilogramme.
ml :	Mililitre.
mn :	Minute.
ISO :	International Organization for Standardization.
BSC :	Bouillon au sélénite et à la cysteine.
A_w :	Activité de l'eau.
AFSSA :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
ANSES :	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire : aliment, environnement, travail.
Gélose SS :	Gélose <i>Salmonella-Shigella</i> .
UFC :	Unité formant colonies.
BVBL :	Bouillon lactosé bilié au vert brillant.
JORA :	Journal officiel de la république algérienne.

Introduction

Introduction

De nos jours, le poisson est considéré comme un produit de luxe. La sardine qui autrefois été considéré comme un poisson bas de gamme aujourd'hui atteint des tarifs élevés. Il y a peu de temps sa disponibilité était quotidienne sur la table des familles algérienne notamment celles habitant les villes côtières. Mais aujourd'hui les choses ont changés, le poisson se fait rare dans certaines zones de pêche et les stocks n'ont pas le temps de se reconstituer, les migrations changent, il faut aller chercher les poissons de plus en plus loin et de plus en plus profond. Donc des coûts d'exploitation plus élevés et les prix de revient qui grimpent. C'est pourquoi face à cette situation, les algériens se rabattent sur l'achat du poisson congelé car il est beaucoup moins cher. (POURCEL, 2012)

En Algérie, la commercialisation du poisson congelé est importée de différentes régions (Vietnam, France, Espagne,...). Avant d'arriver sur la table du consommateur, le poisson est transporté et stocké pendant un temps parfois long, pendant lequel le poisson n'est pas toujours à l'abri des contaminations, de l'exposition à des températures élevées.

De plus, beaucoup de commerçants manquent de connaissance, de compétences et de capacité à s'investir dans de nouveaux équipements cela signifie que les poissons sont souvent manipulés et transformés dans des conditions insalubres qui entraînent par la suite la détérioration, la contamination et la prolifération d'une microflore pouvant héberger des micro-organismes potentiellement pathogènes, exposant ainsi le consommateur aux intoxications alimentaires qui peuvent être mortelles.

Dans notre travail nous nous sommes intéressés à la qualité microbiologique du filet de poisson congelé panga, vendu en Algérie comme étant filet de sole. La question qui se pose est est-ce-que les consommateurs ont une idée sur la qualité microbiologique du produit ou plus précisément sur son état de salubrité ?

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la qualité microbiologique du filet de panga congelé et de la comparer aux normes Algériennes (JORA, 1998).

Ce travail s'articule autour de trois chapitres ;

Introduction dans laquelle nous justifions notre choix pour cette étude,

Premier chapitre ; nous avons fait un tour d'horizon sur la congélation ainsi que la microbiologie des poissons et les micro-organismes,

Deuxième chapitre ; nous exposons les moyens et méthodes qui nous ont permis de réaliser notre étude,

Troisième chapitre ; nous donnons un aperçu des résultats et notre interprétation,

Conclusion.

.

Généralités

1. Présentation de l'espèce *Pangasius hypophthalmus*

Le *Pangasius hypophthalmus* offre l'exemple d'une espèce dont la domestication récente (1995) a permis le développement tout à fait exceptionnel d'une filière de production, de transformation et d'exportation. (LAZARD, 2007)

1.1. Systématique

Règne : Animalia

Embranchement : Chordata

Sous-embranchement : Vertebrata

Super classe : Ostreithyes

Classe : Actinopterygii

Sous-classe : Neopterygii

Infra classe : Teleostei

Super-ordre : Ostariophysii

Ordre : Siluriforme

Famille : Pangasiidae

Genre : *Pangasius*

Espèce : *pangasius hypophthalmus* (VALENCIENNE et VALENCIENNES, 1840)

1.2 Caractéristiques biologiques du *Panga* :

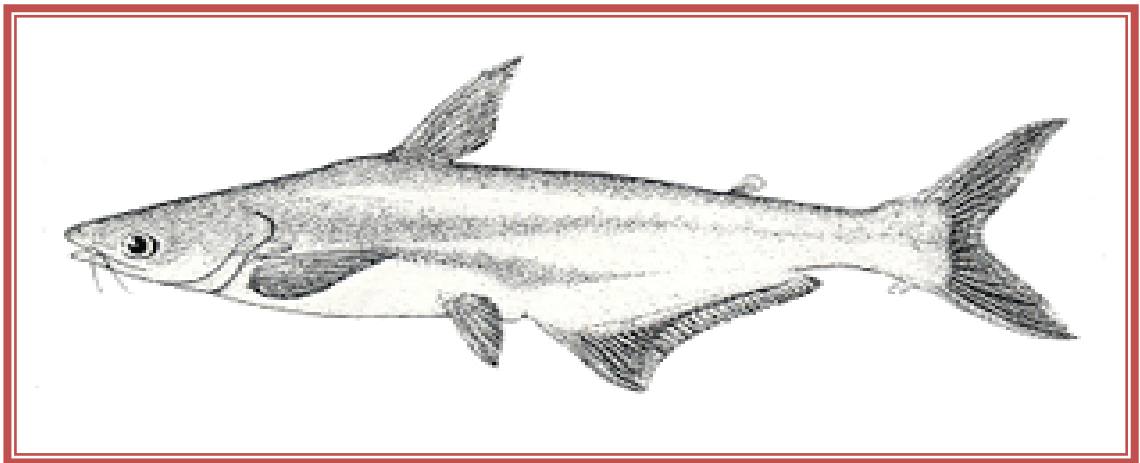


Figure 01 : *Pangasius hypophthalmus* (Photo : Pham Van Khanh) (FAO, 2006)

Le *Pangasius hypophthalmus* est une espèce détritivore/omnivore, elle possède un corps long, aplati sans écailles, tête relativement petite, une bouche large avec de petites dents pointues sur la mâchoire, des yeux relativement grand, deux paires de barbillons, les supérieurs sont plus court que les inférieurs et des nageoires sombres grises ou noirs. Les grands adultes sont uniformément gris mais quelque fois avec une teinte verdâtre et des côtés argentés.

Ils peuvent atteindre une longueur totale maximale de 130 centimètres et pèse jusqu'à 44 kg. C'est une espèce d'eau douce riveraine, benthopélagique, vivant généralement dans une gamme de pH qui varie entre 6,5 et 7,5 et à des températures de 22-26°C. (FAO, 2006).

La composition moyenne des filets de *Pangasius hypophthalmus* est de 82% d'H₂O, 15,5% de protéines et 2% de lipide. (FAO, 2006)

1.3 Principaux pays producteurs

La figure ci-dessous représente les principaux pays producteurs de *pangasius hypophthalmus*.



Figure 02 : Principaux pays producteurs de *Pangasius hypophthalmus* (FAO, 2006)

Le Vietnam est le principal pays producteur, il a produit plus de 95% des *Pangas* sur le marché mondial en 2010-2011, soit 1,5 million de tonnes par an. Sur les 10 premiers mois de l'année 2010, ce pays en a exporté plus de 500 000 tonnes, vers 124 pays et territoires. (JENNIFER, 2012)

2. Congélation des poissons

2.1 Les techniques de conservation par le froid

Les techniques de conservation par abaissement de température des produits et des aliments permet de prolonger leurs durée de vie, et suivant les températures, l'activité cellulaire et prolifération des micro-organismes sont soit ralenties, soit stoppées.

Le froid permet de conserver des aliments suivant les températures de quelques jours à plusieurs mois, tout en gardant leurs propriétés gustatives et nutritives.

On distingue trois techniques de conservation :

- ❖ **La réfrigération** : Terme utilisé pour des températures basses de stockage mais supérieures à 0°C (froid positif). La réfrigération a pour effet de ralentir les réactions enzymatiques et chimiques, et par conséquent la multiplication et le métabolisme des micro-organismes, mais elle permet une conservation relativement courte (quelques jours) (JEANTET et *al*, 2007).
- ❖ **La congélation** : Terme général désignant le changement d'état d'eau liquide en glace, et le maintien du produit à une température négative. La congélation combine donc les effets de la diminution de la température et celle de l'activité de l'eau (a_w), puisqu'une partie de l'eau est sous forme cristallisée. La combinaison de ces deux effets permet de conserver les aliments plusieurs mois à température négative (JEANTET et *al*, 2010).
- ❖ **La surgélation** : Elle ne se distingue de la congélation que par la rapidité de l'abaissement de température, qui permet d'obtenir très vite des températures inférieures aux températures de cristallisation du produit. (JEANTET et *al*, 2010)

2.2 L'influence de la congélation sur les aliments

A. Action de la cristallisation de l'eau sur les aliments

La transition de la phase eau-glace qui a lieu au cours du procédé de congélation a l'avantage de figer la structure du tissu, et d'isoler l'eau sous la forme de cristaux de glace. Selon la vitesse de la pénétration du froid dans la denrée alimentaire ces cristaux peuvent avoir des formes et des tailles différentes. En effet, si la congélation est lente, la cristallisation extracellulaire, qui accroît la concentration locale en solutés, provoque une déshydratation progressive des cellules par osmose. Ce transfert, qui peut avoir des effets irréversibles s'il dépasse un certain niveau, explique en grande partie la baisse de la turgescence, le décollement des tissus et l'exsudation d'eau que l'on observe lors de la décongélation de nombreux aliments ; il est la cause principale de l'amollissement des tissus. De gros cristaux de glace se forment et élargissent les espaces extracellulaires, tandis que les cellules plasmolysées diminuent considérablement de volume. Ces gros cristaux entraînent une compression mécanique tendent à écraser les cellules (NOUT et *al*, 2003).

Au contraire, lorsque la congélation est rapide, la cristallisation se produit simultanément dans les espaces extra et intracellulaire. Le déplacement d'eau est faible et un très grand nombre de cristaux est formé. L'altération de l'intégrité cellulaire et tissulaire est alors beaucoup moins marquée. En outre, les modifications de texture liées à la sortie d'eau des cellules par osmose sont nettement moindres que lors de la congélation lente. Lors de la décongélation, les produits congelés rapidement exsudent beaucoup moins que les produits congelés lentement. La durée de la congélation est donc une phase critique pour la qualité finale du produit qui sera d'autant meilleure que le palier sera court (JEANTET et *al*, 2007).

B. Action de la congélation sur le poisson

➤ Poissons maigres

C'est la structure des protéines musculaires des poissons maigres qui est affecté par le froid. Des réactions auraient lieu aussi entre les protéines cellulaires myofibrillaires et des acides libres dont la concentration s'accroît au cours de la congélation, du fait de l'action d'enzymes encore actives à l'état congelé.

Des réactions de condensation peuvent apparaître entre les produits d'oxydations des acides gras avec le formaldéhyde, résultant du clivage de l'oxyde de triméthylamine présent plus particulièrement dans certaines espèces. Ces modifications structurales n'ont pas de conséquence au niveau nutritionnel. (VIERLING, 2008).

➤ **Poisson gras**

Du fait de la quantité et de la qualité des lipides des poissons gras, le rancissement est important au cours du stockage. Les produits d'oxydations des lipides peuvent donner des ponts covalents inter et intra-protéiques ou oxyder certains acides aminés, ce qui abaisse la valeur nutritionnelle de l'aliment : lysine, tryptophane ou acide aminés soufrés étant rendus indisponibles. On peut limiter le rancissement en entreposant les poissons à une température plus basse (-25°C) et en mettant à l'abri de l'oxygène (VIERLING, 2008).

2.3 Production de filets

a) Définition d'un filet de poisson

Un filet de poisson correspond à chaque morceau de chair prélevé de part et d'autre de l'arête d'un poisson ; il contient peu ou pas d'arête.

b) Technologie de production d'un filet de poisson

La production de filets comprend des opérations dites «souillées» et des opérations dites « propres » qui sont illustrées par la figure N°03.

Les opérations « souillées» sont celles susceptibles d'accroître la contamination des produits. (DAOUDA, 2002)

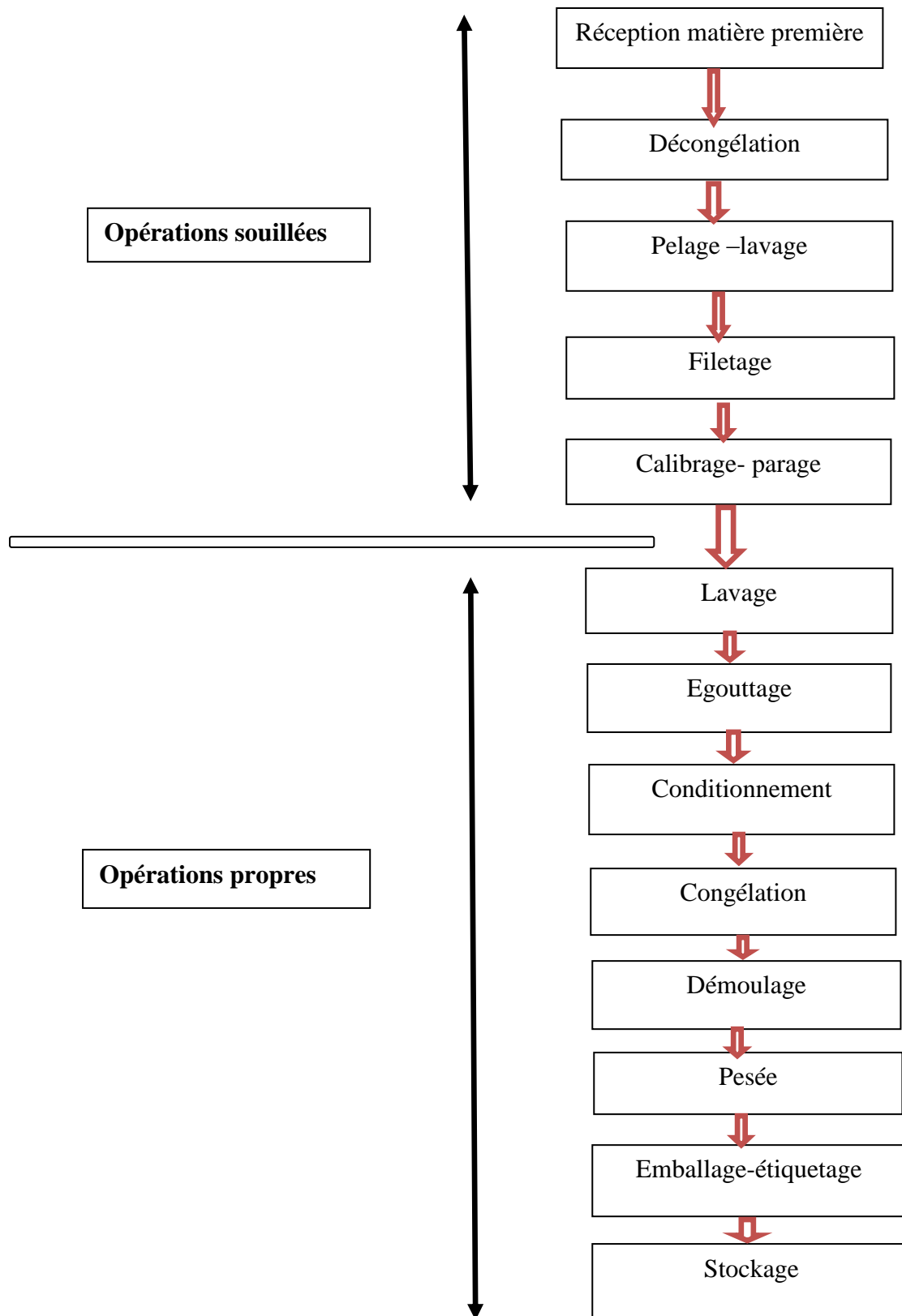


Figure 03 : Diagramme de fabrication des filets de poisson congelé (DAOUDA, 2002).

2.4 Qualité du poisson congelé

A. Qualité organoleptique

De nos jours, le but de la congélation du poisson n'est plus seulement d'assurer sa conservation mais aussi de lui permettre de garder les propriétés du poisson frais et surtout sa valeur nutritionnelle, correspondant à l'évolution du goût des consommateurs ainsi que leur santé (FAO, 2008).

B. Qualité hygiénique

Le poisson congelé doit offrir une sécurité ou une innocuité, c'est-à-dire l'absence de tout risque pour la santé du consommateur. Il ne doit pas renfermer en conséquence de micro-organismes ni de substances chimiques dépassant des normes établies. La qualité hygiénique peut se distinguer en deux : la qualité chimique et la qualité microbiologique (ABOTCHI et SEYDI, 2010).

➤ Qualité chimique

Elle est déterminée par la présence des substances chimiques que renferme la matière première (métaux lourds, micropolluants organiques...), et par celles apportées par le processus de transformation (JEANTET et *al*, 2007).

➤ Qualité microbiologique

La qualité du poisson congelé selon VIERLING (2008) dépend en grande partie de la qualité microbiologique de la matière première (poisson frais) et de l'hygiène de la transformation.

2.5 La durée de congélation

La durée de conservation dépend de la qualité et du type de poisson et éventuellement des conditions de conservation.

3. Microbiologie des poissons

Normalement la chair du poisson est stérile. Les régions contaminées sont le mucus qui recouvre la peau, les branchies et le tube digestif (JOFFIN et JOFFIN, 2010).

La contamination bactérienne de la chair ne survient qu'après la capture. Les sources de cette contamination sont diverses et peuvent être réparties en deux groupes (ABOTCHI et SEYDI, 2010).

- La contamination endogène.
- La contamination exogène.

3.1 Contamination endogène ou primaire

La contamination primaire 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 bactérienne dépend de l'origine, de la température de l'eau, de l'alimentation etc. (DELARRAS, 2007).

Certains travaux ont montré une prédominance des bactéries à gram négatif dans la flore initiale de poissons issus des eaux tempérées (GRAM et DALGAARD, 2002) alors qu'une proportion élevée de coques à gram positif et de *Bacillus sp* est trouvée dans certains poissons provenant des mers chaudes et des eaux tropicales.

Les bactéries d'origine endogène peuvent être subdivisées en 3 classes :

➤ **Germes typiquement aquatiques**

Ils appartiennent généralement aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Halobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Photobacterium*, (GUIRAUD, 2003).

➤ **Germes d'origine tellurique**

Ce sont des bactéries sporulées en particulier les genres *Clostridium* et *Bacillus*. Leur dissémination dans les milieux aquatiques est assurée par les eaux de ruissellement et les eaux de pluie (GUIRAUD, 2003, ABOTCHI et SEYDI, 2010)

➤ **Germes de contamination d'origine humaine et/ou animale**

Ces germes proviennent du tube digestif de l'homme et des animaux. Ils se retrouvent dans les milieux aquatiques à la faveur d'une pollution par les eaux

usées mal ou non traitées (*Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, etc.), (GUIRAUD, 2003).

3.2 Contamination exogène ou secondaire

Après capture, le poisson est sujet à de nombreuses manipulations qui sont à l'origine de la contamination bactérienne (contamination par le personnel, le matériel et l'environnement) figure N°04. Selon HOBBS (1982) l'homme constitue la source la plus importante des contaminations exogènes des denrées alimentaire d'origine animale (*Salmonelles*, coliformes thermo-tolérants, *Staphylococcus aureus*, des bactéries anaérobies sulfito-réductrices, des levures et moisissures, la flore mésophile aérobie totale...).

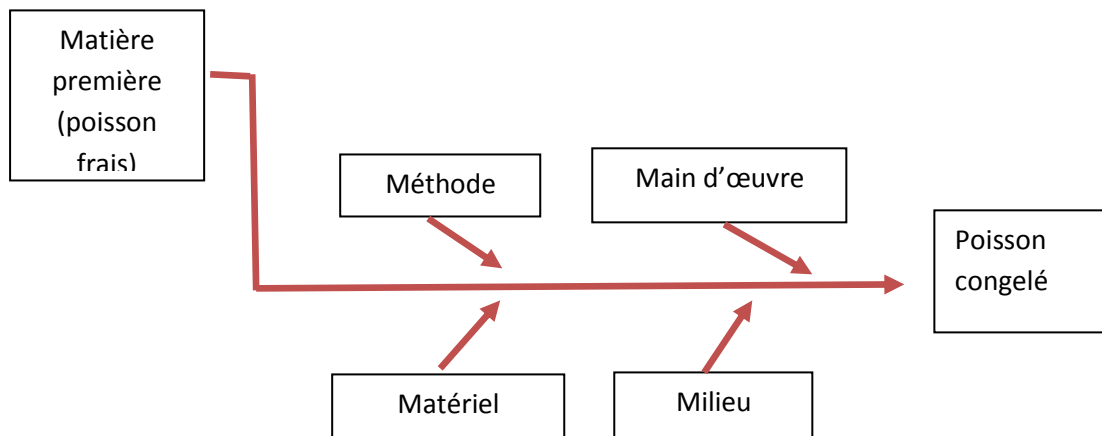


Figure04 : Diagramme de cause à effet des contaminations dans l'aliment (VIERLING, 2008)

4. Les micro-organismes recherchés

4.1 Flore mésophile aérobie totale

Définition

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25°C et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération. (BOURGEOIS et LEVEAU, 1996).

4.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un coque à Gram positive, non sporulé, immobile, aéro-anaérobie facultatif, possède une catalase et une coagulase (BERAUD, 2004). Il produit de nombreuses toxines qui peuvent déclencher les symptômes de l'intoxication et elle peut aussi causer des infections, parfois mortelles (panaris, etc.) (BOURGEOIS, 1996).

A. Habitat

Les *staphylocoques* sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, oiseaux) et en particulier chez l'homme. Ces bactéries sont également de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'homme (cuisine, réfrigérateur) (ANSES, 2011).

B. Voies de transmission

La contamination de l'aliment est le plus souvent d'origine humaine, elle peut avoir lieu par contact direct ou indirect (squames contaminé, gouttelettes issues des voies respiratoires contenant le micro-organisme) et elle peut être d'origine animale (ANSES, 2011).

C. Dose infectante

Le nombre de germes nécessaires pour qu'il y ait danger d'intoxication est de l'ordre de 10^5 à 10^6 germes par g. La quantité de toxine dangereuse pour l'homme varie de 0,1 à 10 µg/kg de poids corporel (GUIRAUD, 2003).

D. Caractéristiques de l'intoxication

Le tableau N°01 ci-dessous représente les principaux symptômes de l'intoxication causée par *S.aureus*.

Tableau 01 : Caractéristiques de l'intoxication causé par *Staphylococcus aureus* (ANSES, 2011) :

Durée moyenne d'incubation	Population cible	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse
30 min – 8 h (3h en moyenne)	Toute la population, toutes classes d'âge confondues	<ul style="list-style-type: none"> • Nausées suivies de vomissement caractéristiques. • Douleurs abdominales. • Diarrhées • Vertiges. • Frissons • Faiblesse générale parfois accompagnée d'une fièvre modérée. • Cas les plus sévères : maux de tête, prostration, hypotension... 	18 -24h Les diarrhées et la faiblesse générale peuvent durer 24 heures de plus.	Entérotoxines non transmissible de personne à personne. Aucune contagiosité.

4.3 *Clostridium* sulfito-réducteurs

Les *Clostridium* correspondent à la famille des Clostridiaceae. Ce sont des bâtonnets sont souvent de grande taille, isolés ou en chaînettes. Ils sont catalase-, anaérobies strictes, mésophiles ou thermophiles et acceptent des variations assez importantes de pH et de températures. Ils sont gram+, généralement mobiles, sporulés dans les

conditions défavorables (DELARRAS, 2007). La spore présente une grande résistance aux facteurs physicochimiques (thermorésistance) (GUIRAUD, 2003).

A. Réservoir, habitat

Les *Clostridium* sont des bactéries très ubiquitaires largement répandue dans tout l'environnement (sol, sédiments, eaux d'égout, lisiers, cadavres, poussières, surface des végétaux, etc.) (GUIRAUD, 1998).

B. Voies de transmission (AFSSA, 2010)

- ***C. perfringens***

La bactérie est transmise à l'homme par l'ingestion des aliments contaminés. Il n'y a pas de transmission directe documentée entre l'animal malade et l'homme, ni entre l'homme malade et l'homme sain.

- ***C. botulinum***

La maladie n'est pas transmissible entre individus, mais résulte le plus souvent d'ingestion d'un aliment contaminé.

C. Conditions conduisant à la contamination des produits

Les produits alimentaires, notamment ceux d'origine animale, peuvent être contaminés soit lors de la phase d'éviscération à l'abattoir, soit à partir de l'environnement souillé (plan de travail, contact avec aliments souillés, poussières, etc.) (ANSES, 2010).

D. Dose infectante

La toxine botulique est à ce jour considérée comme le poison le plus puissant qui existe. La toxine botulique A est la plus active, la dose létale chez un homme adulte est estimée à 100ng – 1µg par voie parentérale et 70µg par voie orale (1 µg par kg) (AFSSA, 2011).

En ce qui concerne *C. perfringens* une charge microbienne au moins égale à 10 germes par gramme est nécessaire pour déclencher la toxi-infection (GUIRAUD, 2003).

E. Caractère de la maladie

Les principaux symptômes causés par *C. perfringens* et *C. botulinum* sont représentés dans le tableau N°02.

Tableau 02 : Caractère de l'intoxication causé par *C.perfringens* et *C.butulinum* (AFSSA, 2011)

	Durée moyenne d'incubation	Population cible	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse
<i>C. perfringens</i>	6 – 24 h (généralement 10 – 12h)	Toute classe d'âge	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrhée • Violent maux de ventre, nausée (parfois) • Vomissement (rare) • Fièvre (rare) 	1 – 3 jours	La phase de portage de <i>C.perfringens</i> dans le tube digestif peut être longue, mais il ne s'agit pas d'une phase contagieuse, car il n'y a pas de transmission directe à un individu sain

<i>C. botulinum</i>	<p>1 -10 jours</p> <p>Le plus souvent 1 – 3 jours</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Troubles digestifs (vomissement, diarrhée) Observés en début d'évolution (environ 30-50%) • Constipation fréquente en fin d'évolution (20-70%) • Paralysie des muscles de l'accommodation : Vision floue, diplopie, mydriase (70-100%) • Paralysie au niveau buccale : sécheresse de la bouche, difficultés déglutition et d'élocution (80-100%) 	<p>Quelques jours à 8 mois</p>	
---------------------	---	---	--------------------------------	--

4.4 *Escherichia coli*

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

A. Voie de transmission

La principale voie de transmission est indirecte par consommation d'aliments d'origine animale ou végétale et d'eau de boisson contaminés par un environnement souillé le plus souvent par les matières fécales d'animaux infectés (AFSSA, 2008).

B. Caractéristiques de la maladie

Les principaux symptômes causés par *E. coli* sont représentés dans la tableau N° 03 ci-dessous:

Tableau 03: Caractéristiques d'intoxication causé par *E. coli* (AFSSA, 2008):

Durée moyenne d'incubation	Population cible	Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Durée de la période contagieuse
3 – 4 jours (variable de 2 à 12 jours)	Toute la population	5 – 12 jours	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrhée banale ou colite hémorragique • Crampes abdominales et diarrhée initialement aqueuse puis sanglante 	Une semaine au moins chez les adultes, mais peut être supérieure chez l'enfant

4.5 *Salmonella*

Salmonella est un type de bactérie particulièrement dangereuse et généralement le premier suspect lors d'une intoxication alimentaire. Sa présence dans l'aliment dénote d'un manque d'hygiène. C'est un bacille à Gram négatif appartient à la famille des Enterobacteriaceae, aéro-anaérobie ou anaérobie facultative, oxydase négatif et catalase positif (DELARRAS, 2007 et ANSES, 2010).

A. Réservoir

Le réservoir principal de *Salmonella* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux. Dans la majorité des cas, les animaux sont considérés comme des porteurs asymptomatiques. Cependant, certains d'entre eux peuvent, dans d'autre cas, exprimer des signes cliniques plus ou moins sévères. Certaines souches de *Salmonella* peuvent également être isolées d'autres sources, telles les animaux à

sang froid (tortues de compagnie) et animaux aquatiques (mollusques, poissons) (ANSES, 2011).

B. mode de transmission

L'aliment en lui-même, principalement les viandes, les œufs et les ovo- produits, ainsi que les fruits de mer crus ou insuffisamment cuits, est responsable de la transmission (ANSES, 2011).

Caractéristiques de l'intoxication

Les principaux symptômes de *Salmonella* sont représentés dans le tableau N° 04.

Tableau 04 : caractéristiques de la salmonellose (ANSES, 2011)

Durée moyenne d'incubation	Population cible	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse
Salmonellose non - typhiques				
6 -72 heures le plus souvent de 12 – 36 heures	Cosmopolite, toute classe d'âge	<ul style="list-style-type: none"> • Nausées • Vomissements • Douleurs abdominales • Diarrhées • Maux de tête • Frissons • Fièvre à 39 – 40°C 	5 – 7 jours	Plusieurs jours à plusieurs semaines. Parfois plusieurs mois : 1% des patients adultes et 5% des enfants de moins de 5 ans peuvent rester excréteurs pendant moins de 12 mois
Fièvre typhoïdes				
3 jours- 1mois le plus souvent de 8 – 14 jours	Cosmopolite, toutes classes d'âge	<ul style="list-style-type: none"> • Fièvre prolongée • Céphalée intenses • Anorexie • Constipation de plus souvent ou diarrhées • Insomnie nocturne 	/	<p>Pendant toute la durée des symptômes et plusieurs semaines après.</p> <p>10% des patients restent excréteurs pendant 3 mois après le début des symptômes.</p> <p>2 à 5% deviennent des porteurs chroniques</p>

4.6 La flore fongique

La flore fongique correspond aux champignons comprenant, en particulier, les levures et les moisissures. Ces champignons sont capables de se développer en milieu acide et au froid (il faut atteindre -18°C pour arrêter leur croissance). En général, leurs croissances est moins rapide que celle des bactéries. Leur dénombrement peut être important en raison, d'une part de la capacité de certains champignons de produire des aflatoxines dangereuses pour les consommateurs, d'autres part de rendre peu attirant l'aliment, ou l'altérer (JOFFIN et JOFFIN, 2010).

Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude :

Notre étude s'est déroulée au niveau du Laboratoire de microbiologie de l'ENSSMAL (LBCM1) du 19 juin au 1 août.

2. L'échantillon :

Notre étude a porté sur 3 échantillons de filets de poissons congelés (filet de *Panga*) achetés dans 03 poissonneries différentes. Les échantillons sont mis dans des sachets hermétiques et sont transportés au laboratoire dans une glacière. La décongélation se fait lentement à 4°C dans un réfrigérateur. La figure N°05 ci-dessous représente l'échantillon de poisson congelé *Pangasius hypophthalmus*.



Figure 05 : Echantillon de *Pangasius hypophthalmus*

3. Préparation de la solution mère et les dilutions :

Au début on déballe les filets de leur emballage devant un bec bunsen et on les pose sur un plateau stérile, puis grâce un scalpel et une pince stérile on prélève et on pèse 25g de chair (la pesée se fait avec une balance de précision) et cela se fait après décongélation du filet, ensuite on broie la chair à l'aide d'un mortier stérile en ajoutant le diluant eau peptonée tamponnée (EPT) préalablement stérilisée jusqu'à l'obtention d'une masse totale de 250 grammes. Ce mélange est homogénéisé au STOMACHER pendant 1 à 2 minutes. La solution obtenue appelée solution mère est laissée au repos pendant 30 minutes pour assurer la revivification des germes stressés par l'homogénéisation. La dilution de cette solution est de 10^{-1} .

La figure N°06 ci-dessous décrit les étapes de la préparation de la SM et les dilutions décimales.

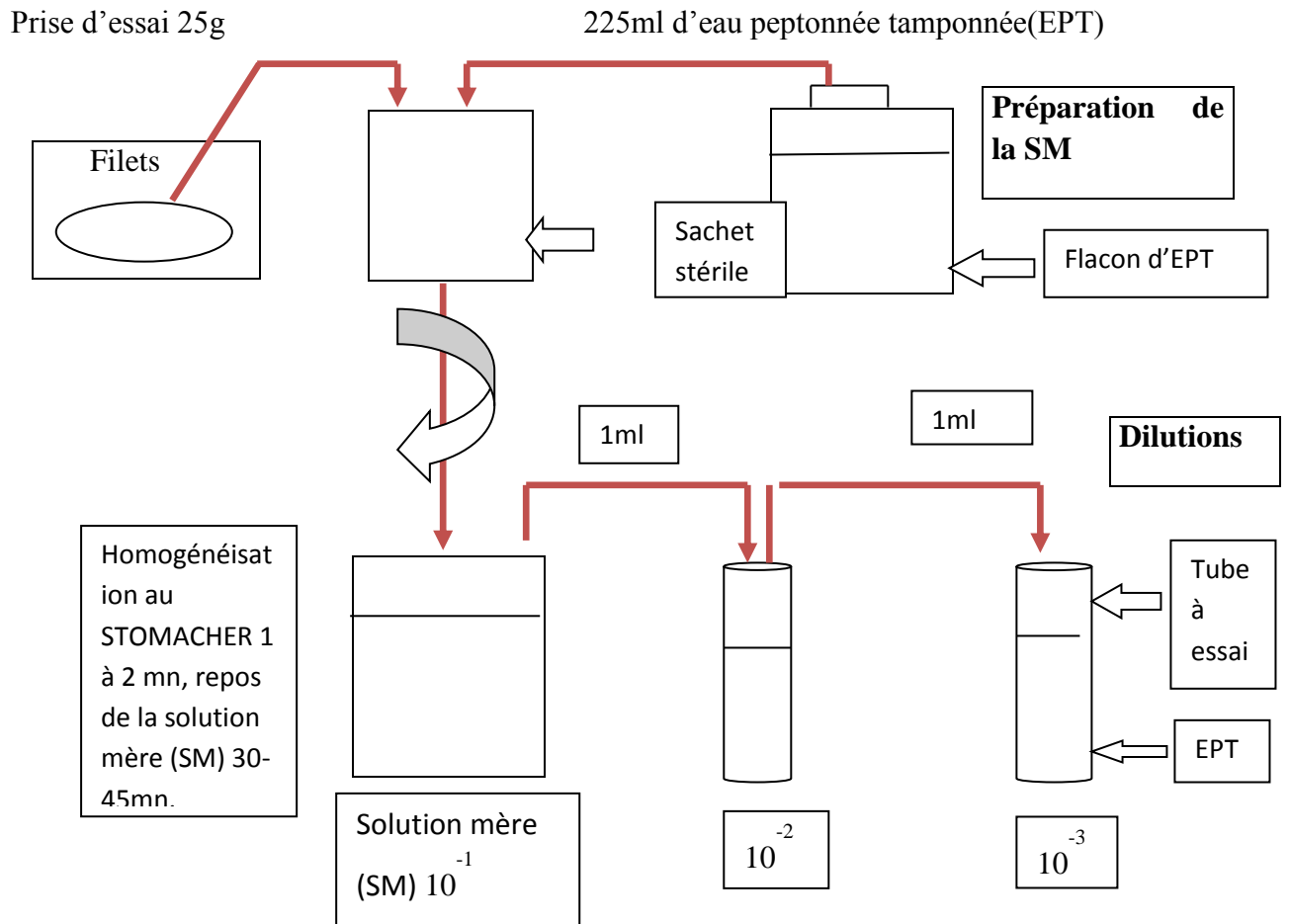


Figure 06 : Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

4. Dénombrement de la flore mésophile aérobie total à 30°C

Il a été réalisé suivant la méthode horizontale de la norme AFNOR (NF ISO 4833, MAI 2003).

a. Mode opératoire : on prélève 1 ml de chaque dilution qu'on introduit aseptiquement dans des boîtes de pétri. On y ajoute 15 ml de milieu PCA (Plate Count Agar) en surfusion. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires des boîtes (mouvement de 8), on ajoute 4ml de PCA ou gélose blanche, les boîtes sont ensuite incubées à 30°C. le comptage se fait après 72h d'incubation.

b. Lecture :

On dénombre les colonies dans les boîtes qui contiennent au moins 15 et moins de 300 colonies. La figure N°07 ci-dessous décrit le protocole pour le dénombrement de la FMAT.

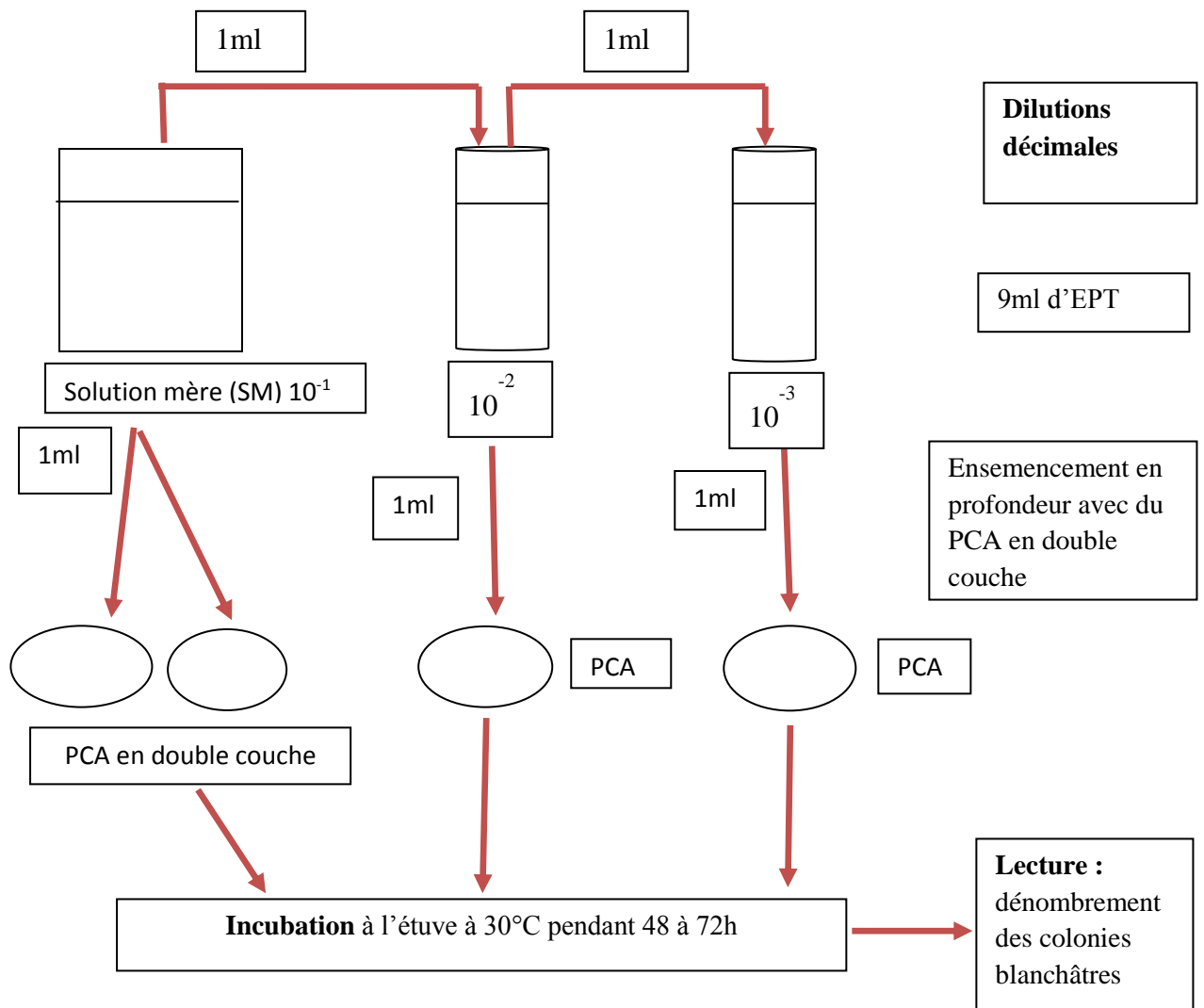


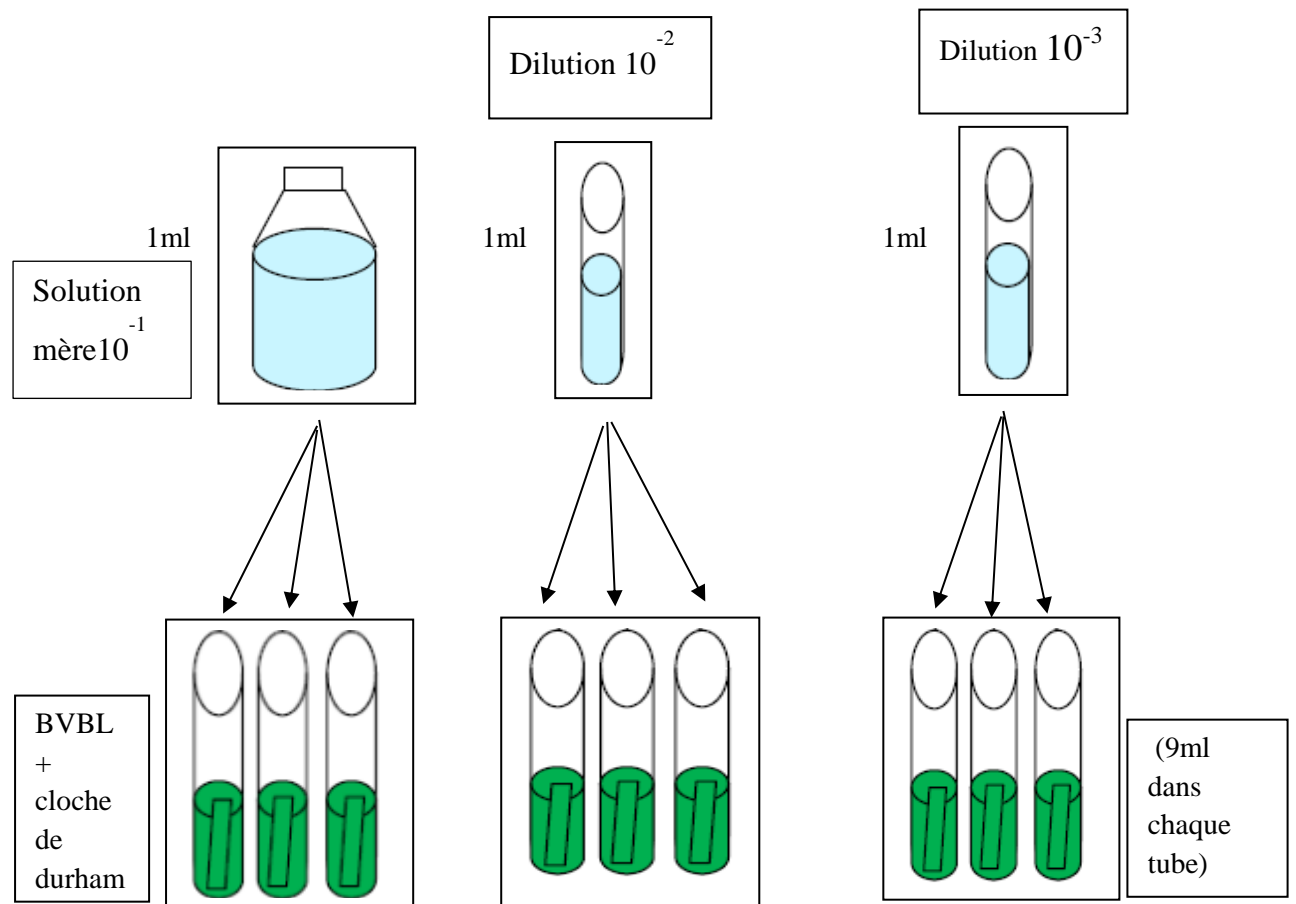
Figure 07 : Dénombrement de la FMAT à 30°C (Norme ISO 4833 ; mai 2003).

5. Recherche et dénombrement des coliformes et d'*Escherichia coli*

Les coliformes ont été recherchés par la méthode du nombre le plus probable (NPP). Cette méthode fait appel à deux tests ; présomptif et confirmatifs (RODIER, 2009 et JOFFIN et JOFFIN, 2010).

Le test présomptif (voir Figure 08 ci-dessous) qui est réservé à la recherche des coliformes totaux. Il est réalisé sur bouillon vert brillant lactosé (BVBL). Sa fermentation se manifeste par un trouble et un dégagement de gaz observé dans la cloche de Durham après une incubation à 37°C pendant 24- 48h.

Le test confirmatif (voir Figure 09 ci-dessous) qui est réservé à la recherche des coliformes fécaux dit coliformes thermo- tolérants et d'*Escherichia coli*. Les tubes sont incubés à une température de 44°C pendant 24-48h à partir des tubes positifs du test présomptif.



Incubation à 37C° pendant 24h à 48h

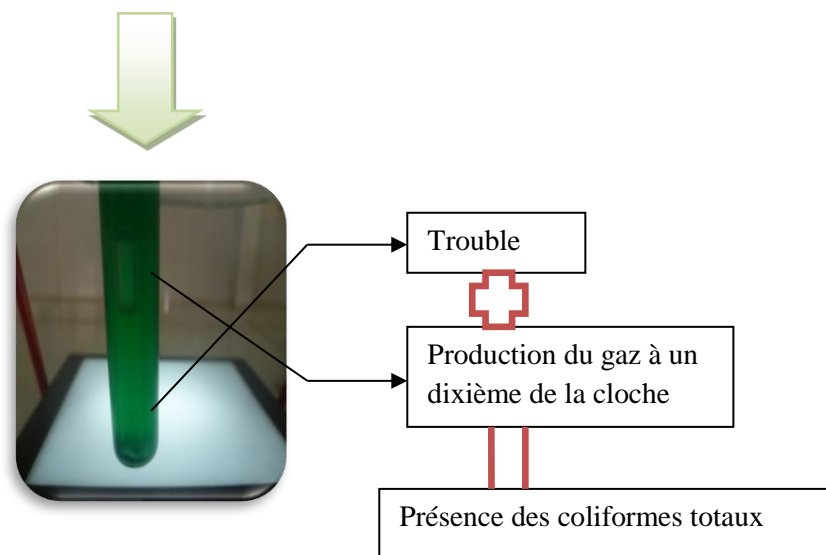


Figure 08 : Technique de recherche et du dénombrement des coliformes totaux par la méthode NPP : test présomptif (RODIER, 2009 et JOFFIN et JOFFIN, 2010 modifié)

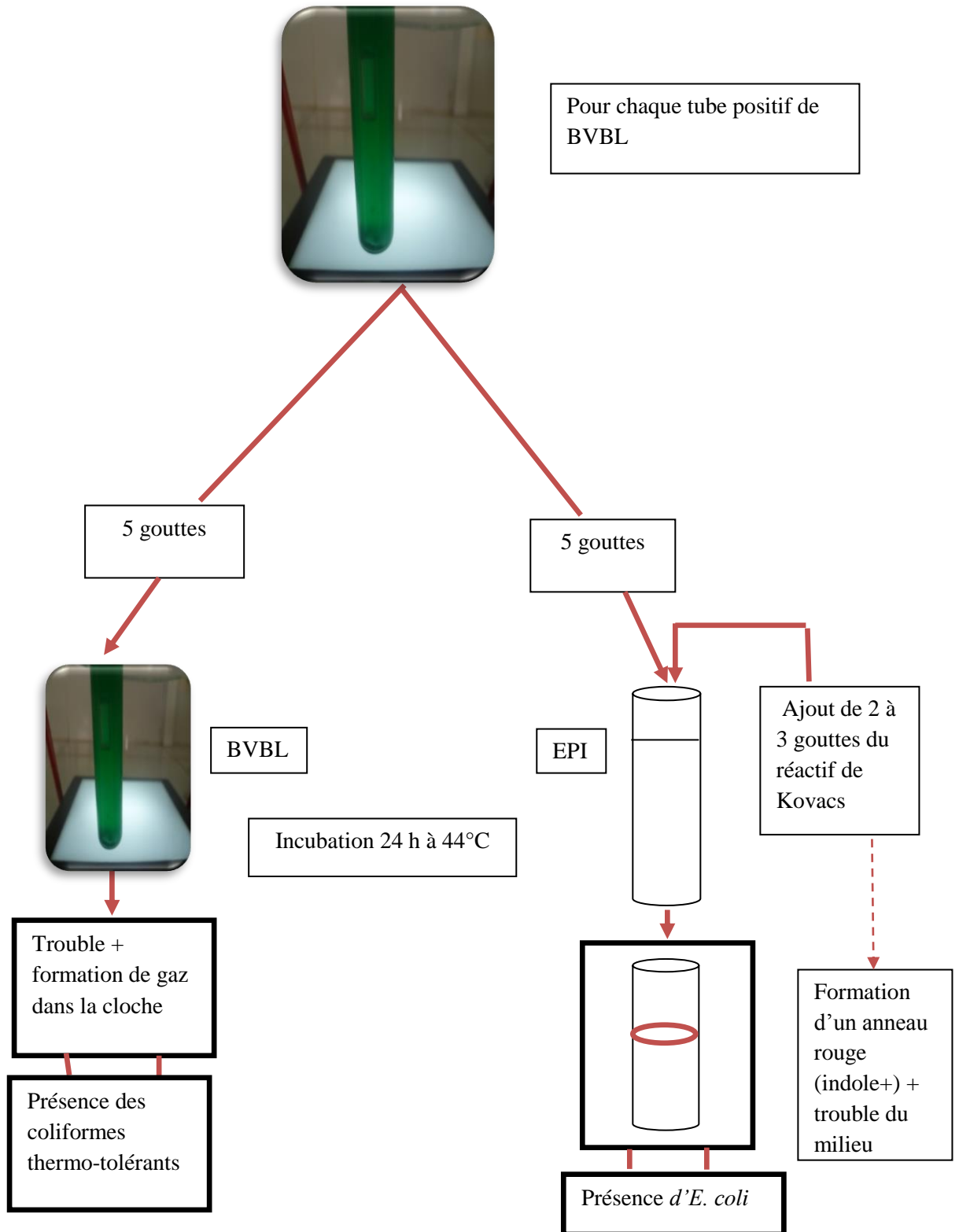


Figure 09 : Technique de la recherche et du dénombrement des coliformes fécaux et d'*E. coli* : test confirmatif (RODIER, 2009 JOFFIN et JOFFIN, 2010 modifié)

6. Recherche et dénombrement des Staphylocoques présumés pathogènes

Réalisé suivant la méthode horizontale de la norme AFNOR (NF V08-057-1,2004)

Milieu de culture utilisé est Baird Parker (BP).

Mode opératoire :

La recherche de *Staphylococcus aureus* se fait sur la gélose Baird Parker additionnée au jaune d'œuf et au tellurite de potassium. Le milieu estensemencé en surface avec 0,1 ml de la suspension mère et les dilutions. L'inoculum est ensuite étalé à l'aide d'un râteau en verre. L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.

Lecture :

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent sur le milieu Baird Parker noires (réduction du tellurite en tellure), bombées, rondes et entourées d'un halo d'éclaircissement, un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras produits par la lécithinase qui hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf).

Identification :

Les colonies noires suspectées, entourées d'un halo clair doivent subir différents tests qui consistent en :

- Une coloration de Gram
- Un test de la catalase
- Un test de la coagulase

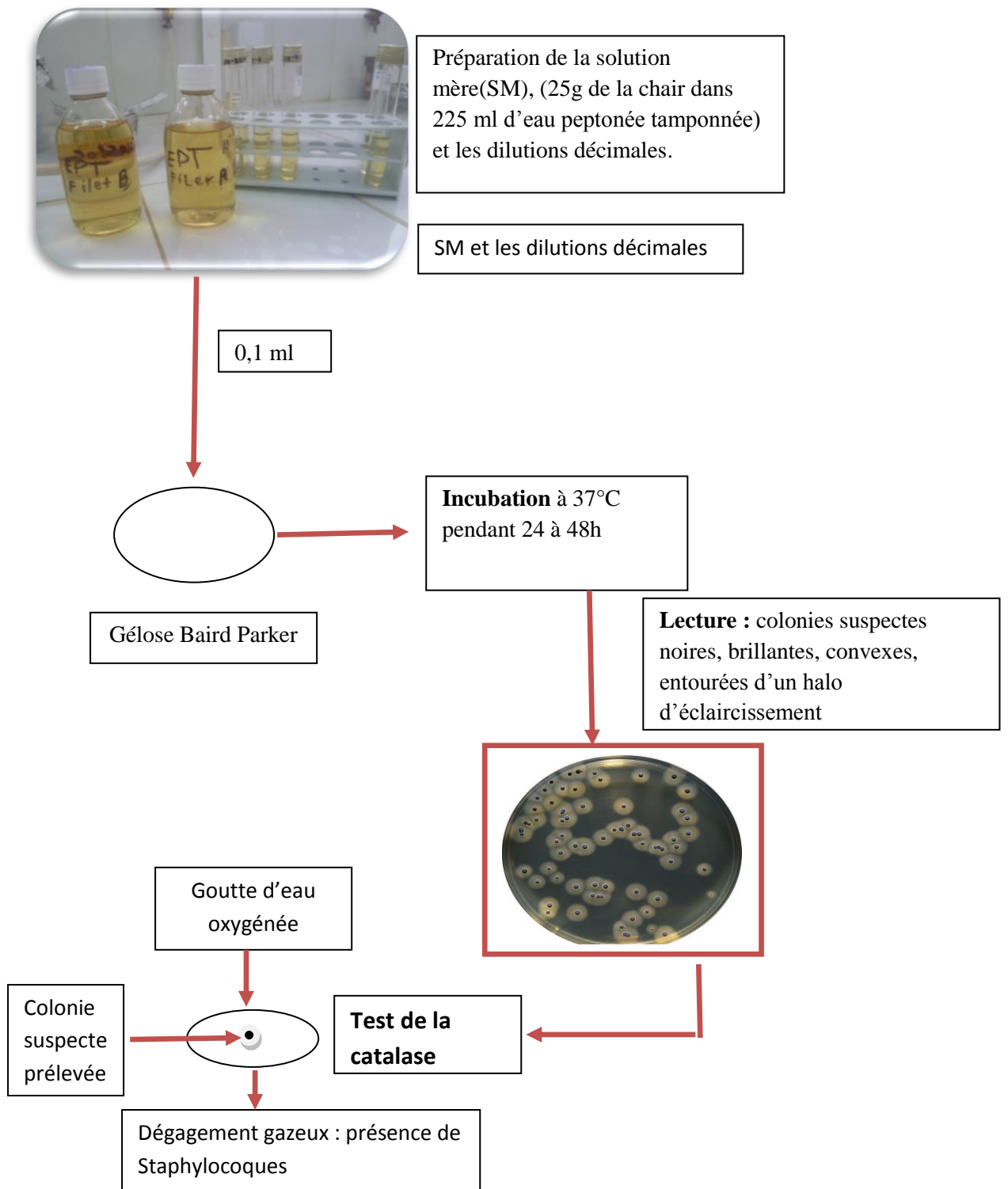


Figure 10 : Dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes AFNOR (NF V08-057-1,2004)

7. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs

Il a été réalisé suivant la norme AFNOR (NF V08-061, Décembre 2009)

Mode opératoire :

- Placer la suspension mère et les dilutions dans un bain marie à 80°C pendant 10 minutes pour éliminer toutes les formes végétatives,
- Refroidir immédiatement les tubes sous l'eau de robinet (faisant un choc thermique),
- Ajouter 15 ml de la gélose viande-foie en surfusion additionnée des additifs sulfites de sodium et alun de fer (20 gouttes pour chacun des additifs),
- Laisser solidifier puis incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture : Dénombrer les colonies noires

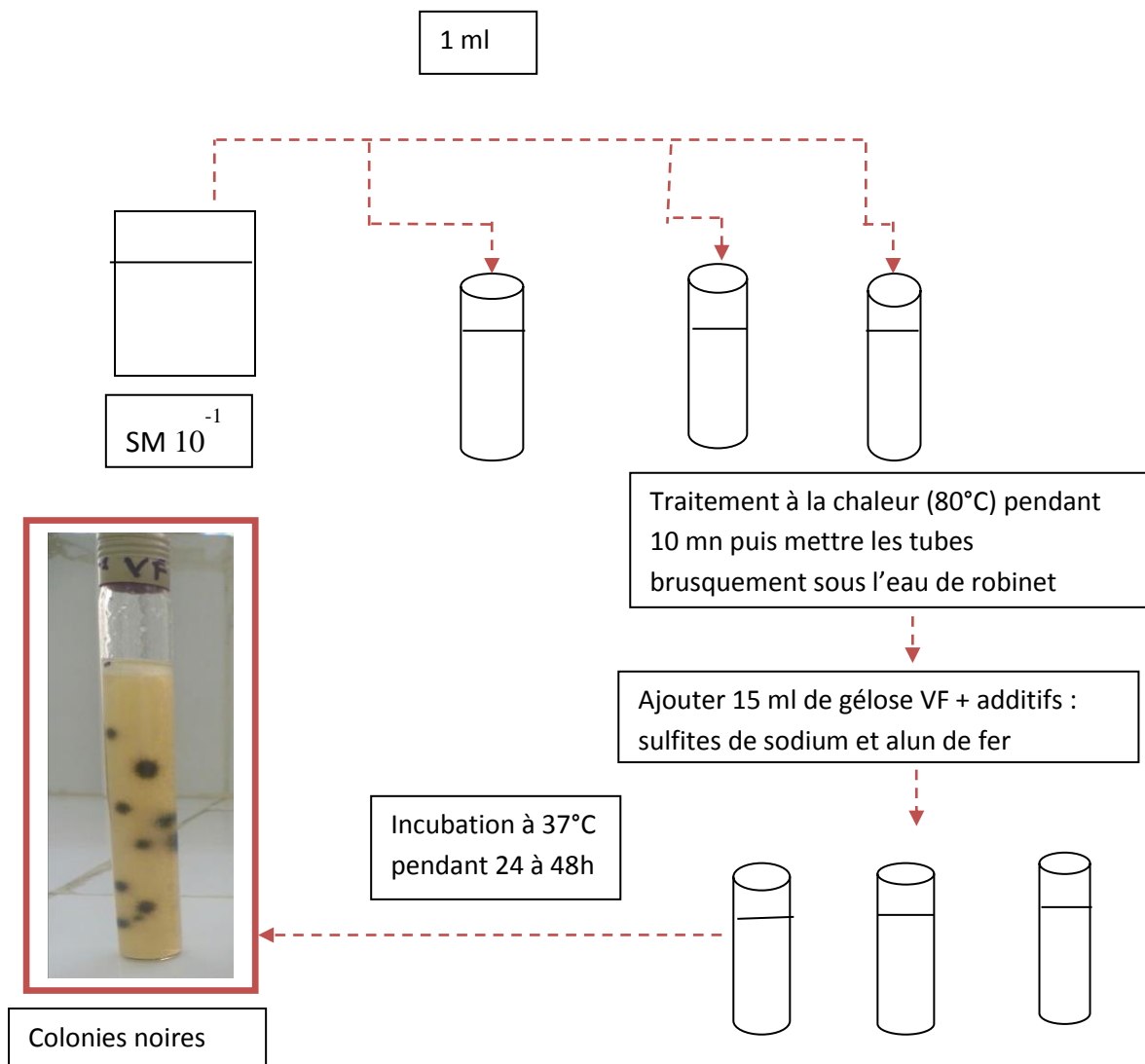


Figure 11 : Technique de recherche et du dénombrement des germes sulfito-réducteurs AFNOR (NF V08-061, Décembre 2009)

8. Recherche de *Salmonella* :

La recherche de *Salmonella* se fait selon plusieurs étapes, elle a été effectuée selon les recommandations de JOFFIN et JOFFIN, 2010 (Voir Figure N°12).

Mode opératoire :

Pré enrichissement :

- Peser 25g de la chair et ajouter 225ml d'eau peptonée tamponnée.
- Broyer le contenu à l'aide d'un robot mixeur stérile pendant 2 mn et le verser aseptiquement dans un flacon stérile, puis incubé à 37°C pendant 24heures.

Enrichissement :

- Pour l'enrichissement sélectif nous avons utilisé le bouillon au sélénite et à la cystéine (BSC),
- Mettre 1 ml de bouillon de pré enrichissement dans un tube contenant 10 ml de BSC, incubé ensuite à 37°C pendant 24h.

Ensemencement :

- Les cultures de BSC sont repiquées sur la gélose Hektoen et sur la gélose SS,
- L'ensemencement du milieu est effectué par stries, et incubé à 37°C pendant 24heures.

Lecture :

Les colonies de *Salmonella* présumées apparaissent vertes ou bleues avec ou sans centre noir sur gélose Hektoen et transparentes avec ou sans centre noir sur gélose SS. La coloration noir est due à la formation de H₂S.

Identification :

Se fait par une identification morphologique et biochimique :

- Aspect des colonies sur milieu sélectif.
- Coloration de Gram (bacille Gram-).
- Test de catalase (catalase+)

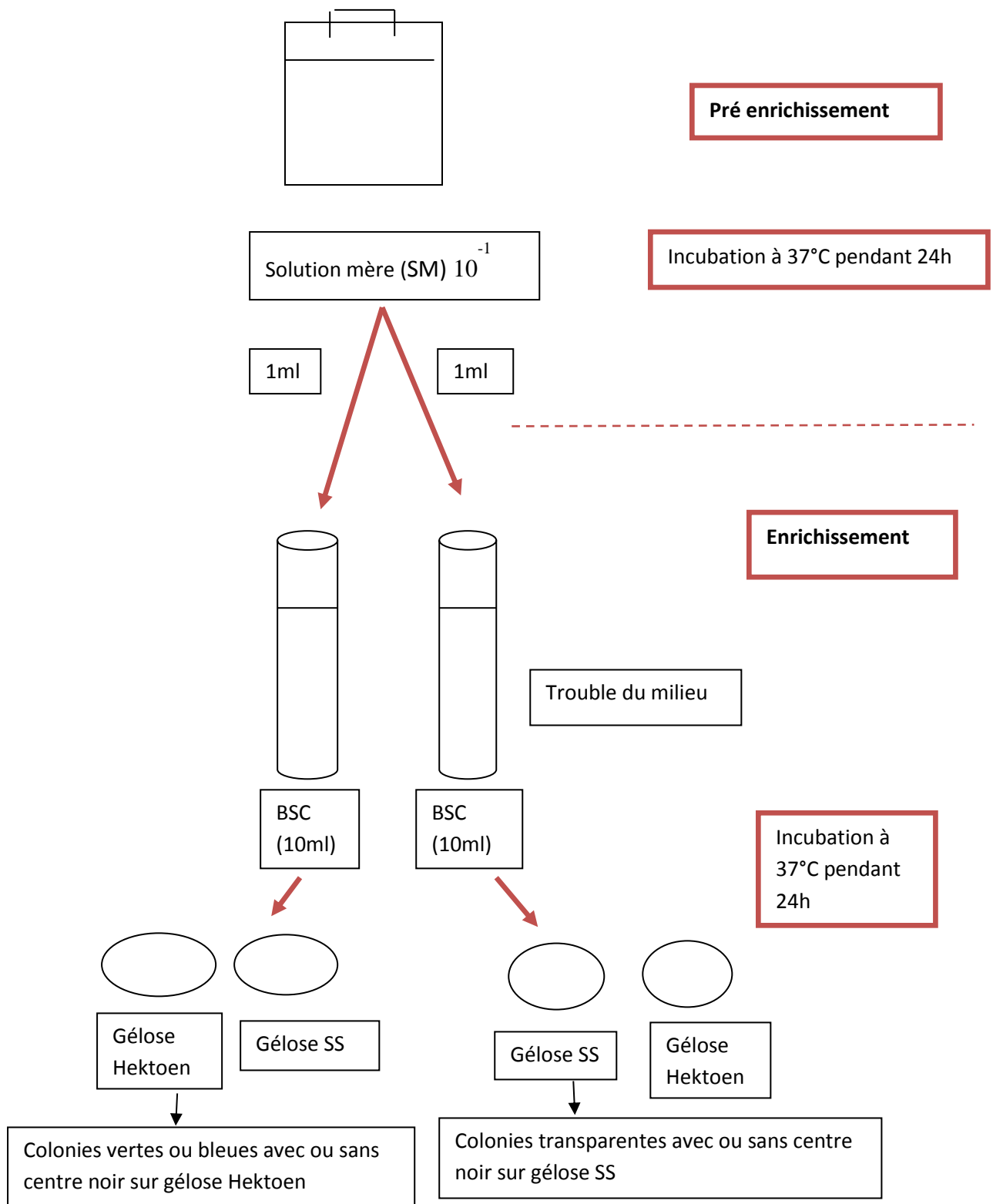
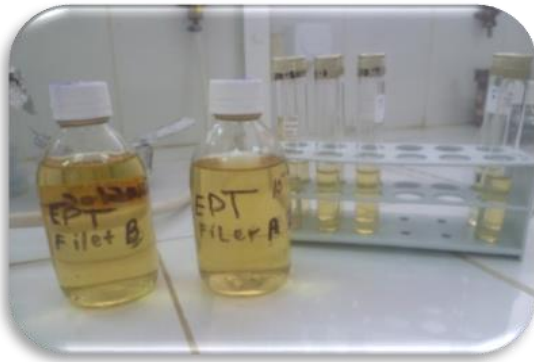


Figure 12 : Technique de la recherche de *Salmonella* (JOFFIN et JOFFIN, 2010)

9. Recherche et dénombrement de la flore fongique :

Le milieu Sabouraud additionnée d'amoxiline a été utilisé pour la recherche et le dénombrement des levures et des moisissures. L'amoxiline est ajoutée au milieu (0,1g/l) en vue d'inhiber la croissance bactérienne. 0,1 ml de chaque dilution sont ensemencés en surface de la gélose. La lecture des cultures se fait après 3 à 5 jours d'incubation à 37°C.



Solution mère (25g de la chair dans 225ml d'EPT)
et les dilutions décimales (10^{-2} , 10^{-3})

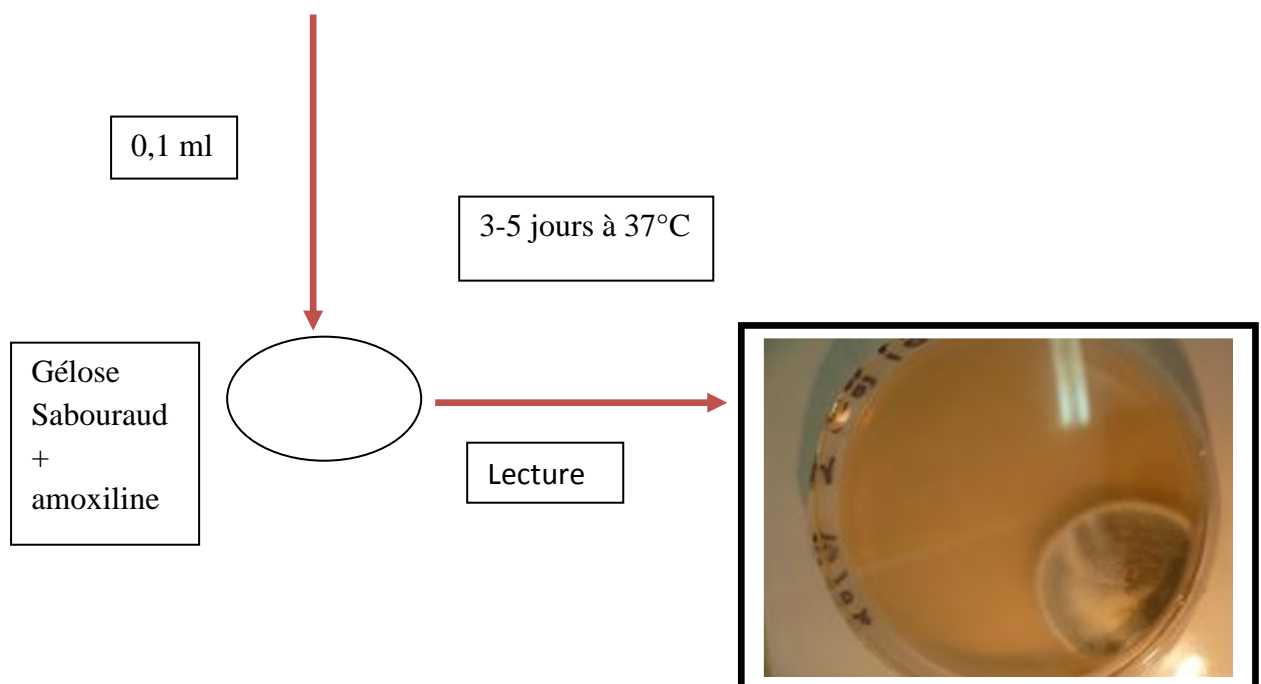


Figure 13 : Technique de la recherche et du dénombrement des levures et moisissures (GUIRAUD, 2003)

10. Technique d'identification bactérienne :

Technique de la coloration de Gram :

a. Préparation du frottis :

- Poser une goutte d'eau distillée sur une lame propre, prélever une parcelle 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.

b. Fixation :

- Tenir la lame avec une pince et la passer trois fois à la flamme.

c. Coloration de Gram :

Coloration primaire :

- Couvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 1 min, jeter l'excès de colorant.

Mordantage :

- Egoutter sans rincer et faire deux bains de lugol dont chacun dure 45 secondes.

Décoloration :

- Egoutter et plonger la lame dans l'alcool durant 15 secondes,
- Rincer doucement et abondamment à l'eau distillée.

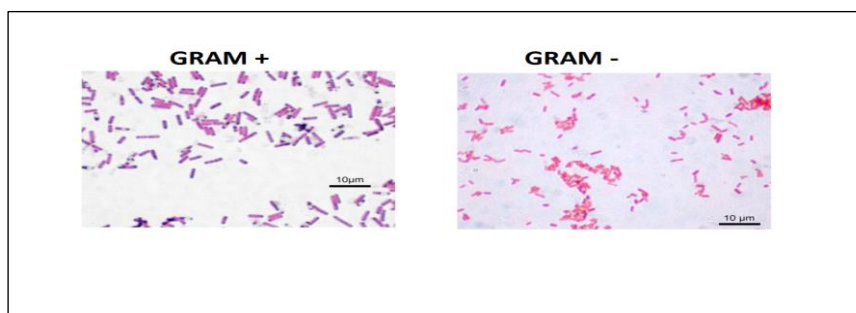
Coloration secondaire :

- recolorer les germes décolorés avec la fuchsine pendant 1 min,
- Laver à l'eau distillée et sécher la lame au-dessus de la flamme.

d. Observation microscopique :

Observer à l'objectif à immersion (G 40 x 100) :

- Les bactéries colorées en violet sont les bactéries à Gram+,
- Les bactéries colorées en rose sont les bactéries à Gram-.



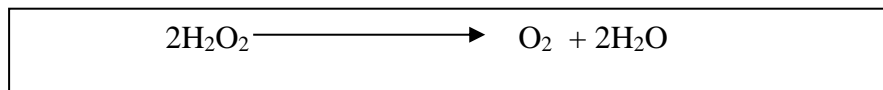
Recherche de l'oxydase :

- Déposer sur une lame porte objet propre, un disque « oxydase » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.
- Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir indique que la bactérie produit une oxydase (DELARRAS, 2007).

Recherche de la catalase :

- **Principe :**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) suivant la réaction suivante :



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

- **Technique :**

- Déposer sur une lame propre, séchée, une goutte d'eau oxygénée,
- Prélever une colonie bactérienne bien isolée à l'aide d'une pipette pasteur,
- Dissocier la colonie dans la goutte.
- L'observation se fait immédiatement :
- ✓ S'il y a un dégagement gazeux : catalase +.
- ✓ Pas de réaction : catalase -.

Résultats et discussion

Les résultats pour l'analyse microbiologiques de nos trois échantillons de filets de *Panga* sont représenté dans la partie qui suie et sont comparé aux NORME JORA 1998.

Expression des résultats :

Pour avoir le niveau de contamination en germes par gramme de produits, on utilise la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \text{ (germes/g)}$$

Σ colonies = Somme des colonies des boîtes.

V = Volume de dilution utilisé (en ml).

n_1 = Nombre de boîtes de Pétri comptées à la 1^{ère} dilution.

n_2 = Nombre de boîtes de Pétri comptées à la 2^{ème} dilution.

d = Facteur de dilution à partir du quel le premier comptage à été fait

Cette formule est valable pour tous les dénombrements des germes précédents.

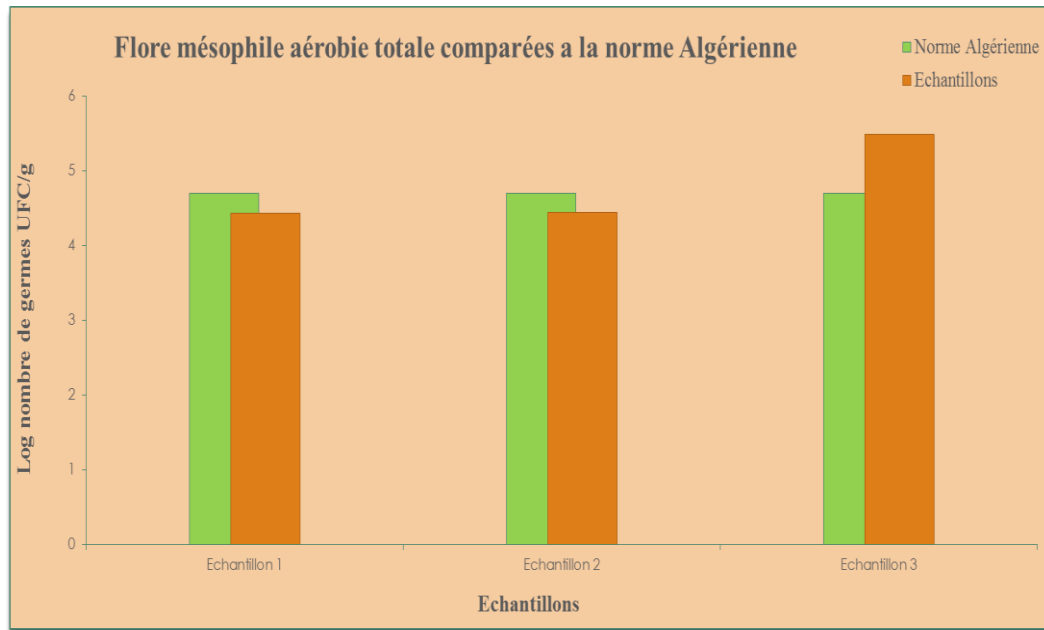
1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Ce germe indique l'état de fraîcheur et l'hygiène générale de l'aliment

Les résultats sont représenté dans le tableau N° 05 ci dessous:

Echantillon	Nombre de germes UFC/g	Normes algériennes (JORA, 1998)	Conclusion
01	2,7. 10 ⁴	5. 10 ⁴	Qualité satisfaisante
02	2,8. 10 ⁴	5. 10 ⁴	Qualité satisfaisante
03	3,1. 10 ⁵	5. 10 ⁴	Mauvaise qualité microbiologique

Tableau 05 : Résultat de recherche et du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale



D'après le tableau N° 05 nous remarquons que l'échantillon de dilution 10^{-1} a une croissance bactérienne très importante, le nombre d'unité formant colonies (UFC) était supérieur à 300 colonies par boîte de pétri (boîtes indénombrable) et donc notre dénombrement a été fait à partir de la dilution 10^{-2} .

D'après l'analyse du tableau N° 05 ; on constate que le premier et le deuxième échantillon de filet de *panga* contiennent un nombre d'UFC/g (respectivement $2,7 \cdot 10^4$ et $2,8 \cdot 10^4$) de poisson inférieur aux normes nationales (JORA, 1998), ceci laisse penser que la qualité du filet est satisfaisante qui est justifié par la maîtrise de bonnes pratiques d'hygiène au cours des différentes opérations ainsi que le respect de la chaîne du froid, par contre on constate que la valeur d'UFC/g de poisson pour le troisième échantillon ($3,1 \cdot 10^5$) est supérieur aux normes nationales (JORA, 1998) ce qui implique que le filet est de mauvaise qualité microbiologique, c'est due soit à une pollution, une contamination importante lors de la transformation soit à une mauvaise conservation(soit la température de conservation est trop élevé et/ou la durée de conservation est trop longue).

2. La recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie intestinale de l'homme, sa présence dans l'aliment indique une contamination fécale.

Le NPP est obtenue à partir de la table Mac Grady.

Le tableau 06 ci-dessous résume les résultats de la recherche et du dénombrement d'*E. coli*.




Echantillon	Observation macroscopique	NPP (<i>E. coli</i> /g)	Résultats
01		<0,30	Absence d' <i>E. coli</i>
	Trouble du milieu de culture et indole-		
02		<0,30	Absence d' <i>E. coli</i>
	Trouble du milieu de culture et indole-		
03		<0,30	Absence d' <i>E. coli</i>
	Trouble du milieu de culture et indole-		

Tableau 06 : Résultats de la recherche et du dénombrement d'*Escherichia coli*

On remarque une absence totale d'*Escherichia coli* dans nos trois échantillons qui peut être expliqué par l'absence de contamination d'origine fécal.

3. La recherche et du dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Les *staphylococcus aureus* sont d'origine humaine (peau, narines, bouche...) et témoignent d'une hygiène insuffisante.

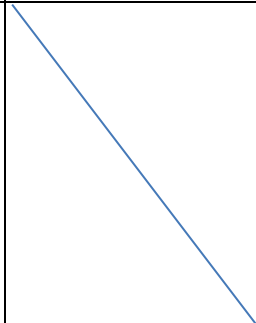

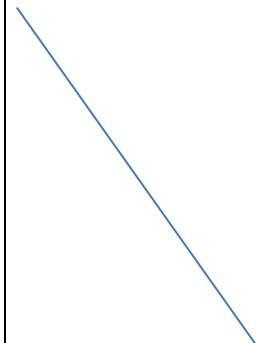
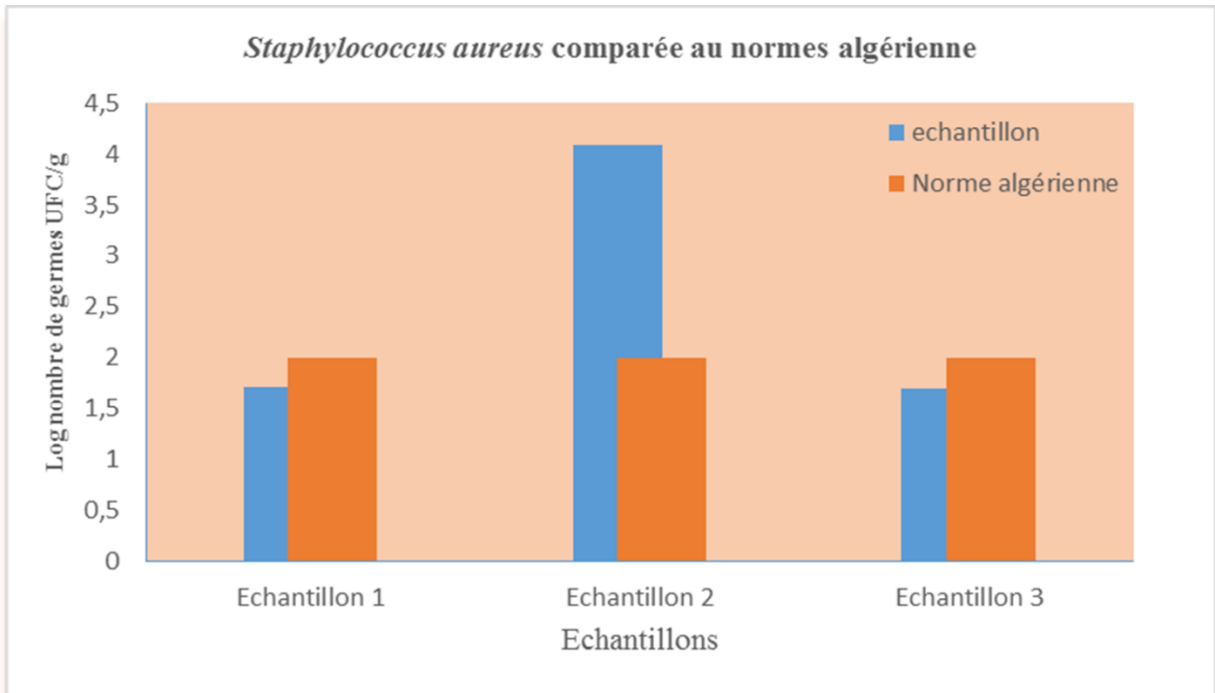
Echantillon	Observation macroscopique	Nombre de germes UFC/g	Identification biochimique	Norme algérienne (JORA, 1998)	Observation
01		52,1	Coques en grappe de raisin Gram+ Catalase +	10^2	Présence des <i>Staphylocoques</i>
02		$1,2 \cdot 10^4$	Coques en grappe de raisin Gram + Catalase +	10^2	Présence des <i>Staphylocoques</i>
03		49.5	Coques en grappe de raisin Gram + Catalase +	10^2	Présence des <i>Staphylocoques</i>

Tableau 07 : Résultats de la recherche et du dénombrement des *Staphylocoques*



Les colonies suspectes apparues noir entouré d'un halo noir ont fait l'objet d'une confirmation par une coloration de Gram, d'un test de catalase. On constate que dans le premier ainsi que dans le troisième échantillon le nombre de germes par UFC/g (respectivement 52,1 et 49,5) est inférieur aux normes nationales (JORA, 1998) qui est interprété par une qualité satisfaisante du filet qui est justifié par une bonne hygiène du personnel, alors que pour le deuxième échantillon on constate que le nombre de germes est de $1,2 \cdot 10^4$ UFC/g supérieur aux normes algériennes qui laisse penser à une qualité insatisfaisante du filet de *panga*, ce résultat est attendu puisque le filet de poisson congelé est exposé à l'air libre et de plus le commerçant a procédé à la pesé à mains nues (contamination d'origine humaine).

4. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

Les résultats sont représentés dans le tableau N°08 ci-dessous :



Nombre d'Echantillon	Observation macroscopique	
01		Absence de colonies noires
02		Absence de colonies noires
03		Présence de colonies noires (indénombrable ; nombre de colonies <15)

Tableau 08 : Résultat de la recherche et du dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs

On constate d'après le tableau N°08 une absence totale des colonies noires dans les deux premiers échantillons qui se traduit par un respect des bonnes pratiques d'hygiène (désinfection des plans de travail...) et une présence de colonies noires dans le troisième échantillon de filet de *Panga* qui peut être due à une contamination lors du conditionnement, du démoulage ou de l'entreposage des produits dans les salles de travail et les entrepôts frigorifiques dont les climatiseurs et les évaporateurs regorgent souvent de la poussière.

5. La recherche des Salmonelles :

Les résultats sont représentés dans le tableau 09 ci-dessous :

Echantillon	Observation macroscopique sur gélose SS et gélose Hektoen
01	Absence de colonies caractéristiques
02	Absence de colonies caractéristiques
03	Absence de colonies caractéristiques

Tableau 09 : Résultat de la recherche des Salmonelles

On constate d'après le tableau N°09 une absence totale des colonies caractéristiques de *Salmonella* dans les trois échantillons en comparant avec les normes nationales (JORA, 1998) qui exigent l'absence totale de Salmonelle dans 25g de la chair, on peut dire que les filets de *Panga* sont de qualité satisfaisante, cela peut être expliqué par le respect des conditions d'hygiène lors des opérations (éviscération, filetage..) et de commercialisation ainsi que la bonne hygiène du personnel.

6. La flore fongique

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 10 ci-dessous :

Troisième chapitre : Résultats et discussion


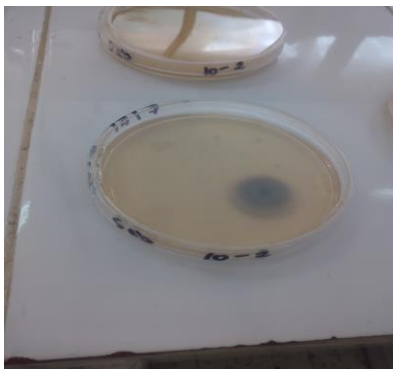

Echantillon	Observation macroscopique	UFC/g	Norme	Interprétation
01		Non dénombrable (le nombre de colonie est < 15)	5.10^2	Prédominance des moisissures
02		Non dénombrable (le nombre de colonie est < 15)	5.10^2	Prédominance des moisissures
03		$0,52. 10^2$	5.10^2	Prédominance des moisissures

Tableau 10 : Résultats de la recherche et du dénombrement de la flore fongique

Troisième chapitre : Résultats et discussion

Les deux premiers échantillons révèlent une faible contamination par rapport au troisième échantillon. On constate une contamination importante d'une valeur de $0,52 \cdot 10^2$ UFC/g au troisième échantillon par une prédominance de moisissure. Cela peut être dû à l'atmosphère humide des locaux où s'effectue la vente des aliments. On peut incriminer également l'inefficacité des méthodes de conservation des aliments.

Conclusion

Conclusion

Notre étude a consisté à évaluer la qualité microbiologique des filets de *panga* congelés vendus dans les poissonneries. En effet, au niveau de ces lieux, il est probable, que pour des raisons survenues accidentellement et/ou intentionnellement, telles que la rupture de la chaîne de froid, et surtout le non-respect des règles élémentaires de l'hygiène, soient l'origine des contaminations des filets de *panga*.

Nous avons constitué trois échantillons pris au hasard au niveau des commerces Ardis, Bab Ezouar et un magasin. Après analyse et étude, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Présence d'une flore mésophile totale et fongique,
- Présence de *Staphylococcus aureus*,
- Absence totale de *Salmonella*, d'*Escherichia coli*, de germe sulfito-réducteurs sauf dans le troisième échantillon.

Après comparaison de nos résultats avec les normes Algériennes (JORA, 1998). Nous avons constaté que le troisième échantillon était de qualité insatisfaisante, compte tenu de la présence de *staphylococcus aureus*, des germes sulfito-réducteurs ainsi que d'une flore mésophile aérobie totale abondante.

En conséquence, la présence de ces germes dans ce dernier échantillon nous informe clairement sur deux éventualités à l'origine de la mauvaise qualité à savoir :

- Exposition du poisson à l'air.
- Manipulation du poisson à main nu par les commerçants.

Nous conformons que le non respects des règles d'hygiène est à l'origine de la mauvaise qualité du poisson, ce qui mérite de poursuivre ce travail sur une période plus longue et sur une autre variété de poisson congelé.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **ABOTCHI, K., SEYDI, M. (2010).** *Evaluation de la qualité microbiologique des poissons fumés artisanalement au Togo.* Mémoire de master II. Qualité des aliments de l'homme. Sénégal : Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire, 30 p.
- **BARTHE, C., WEAVER, K., TREMBLAY, D. (2007).** *Préparation des échantillons par l'analyse microbiologique.* Document non publié. Québec : direction du laboratoire d'expertises et d'analyses alimentaires.
- **BERAUD, J. (2004).** *Les techniciens d'analyse biologique.* Paris : Lavoisier, 2081 p.
- **BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F., ZUCCA, J. (1996).** *Microbiologie alimentaire.* Tome 1. Paris : Lavoisier, 672 p.
- **CHRISTIAN, S., (2007).** *Contribution à l'étude de la qualité bactériologique des aliments vendus sur la voie publique de Dakar.* Thèse doctorat. Vétérinaire. Sénégal : Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires, 42 p.
- **COLAS, B., LE MESTRE, M., (1990).** *L'eau dans les procédés de transformation et la conservation des aliments.* Paris : Lavoisier, 288 p.
- **DAOUDA, G. (2002).** *Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les filets de sole.* Mémoire de diplôme approfondie de production animale. Sénégal : Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire, 40 p.
- **DELARASS, C. (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire.* Paris : Lavoisier, 476 p.
- **DELARASS, C. (2014).** *Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures.* Paris : tec & doc. p. 741-755.
- **GRAM, L., DALGAARD, P. (2002).** *Fish spoilage bacteria problems and solution.* Current opinion in biotechnology. Vol 13. p. 262-266.
- **GUIRAUD, J.P., ROSEC. J.P. (2004).** *Pratique des normes en microbiologie alimentaire.* Paris : AFNOR, 304 p.
- **GUIRAUD, J-P. (1998).** *Microbiologie alimentaire.* Dunod, 652 p.
- **GUIRAUD, J-P. (2003).** *Microbiologie alimentaire.* Paris : Dunod, 652 p.
- **HOBBS, G. (1982).** Changes in fish after catching. In : Aitken, A., Mackie, I.M., Merritt, J.H., Windsor, M.L. Ed. fish handling and processing Torry research station. Edinburgh : HMSO. p. 20-27.

- **JEANTET, R., CROGUENNEC, T., SCHUCK, P., et al. (2007).** *Science des aliments : biochimie, microbiologie, procédés et produits*. Paris : Lavoisier, 479 p.
- **JOFFIN, C., JOFFIN, J.N. (2010).** *Microbiologie alimentaire*. 6^e éd. France : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, 292 p.
- Journal officiel de la République Algérienne. N°35, 27 mai 1998. Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologique et certains denrées alimentaires (les poissons et produit de la pêche).
- **LAZARD, J., CACOT, P. (2004).** *Domestication des poissons chats du Mékong de la famille des Pangasiidae*. France : CIRAD, p. 195-198.
- **NOU, R., HOUNHOUGAN, J.D., BOEKEL, T.V. (2003).** *Les aliments : transformation, conservation et qualité*. France : Backhuys Publisher et CTA, 268 p.
- **RODIER, J., MERLET, N., COLL. (2009).** *L'analyse de l'eau. Chapitre A : Analyse microbiologique des eaux*. 9^e éd. Paris : Dunod, p. 719-823.
- **VIERLING, E., (2008).** *Aliments et boissons : filières et produits*. 3^e éd. Bordeaux : SCEREN CRDP AQUITAINE, p. 91-109.
- **FAO (2006).** *Cultured Aquatic Species Information Programme*[en ligne]. (consulté le 1 août 2016). Disponible sur le web : www.FAO.org.
- **ANSES (2011).** *Agence Nationale de Sécurité Sanitaire : aliment, environnement, travail* [en ligne]. (consulté en juin 2016). Disponible sur le web : www.anses.fr
- **AFNOR.** Agence française de normalisation [en ligne]. (consulté en juin 2016). Disponible sur le web : www.afnor-validation.org.
- **ASEF (2012).** *Association santé environnement France* [en ligne]. (consulté en Août 2016). Disponible dur le web : www.asef-asso.fr.
- **POURCEL (2012).** *Food & santé* [en ligne]. (consulté en Août 2016). Disponible sur le web : www.pourcel-chefs-blog.com.

Annexes

Annexe I

1. Technique de préparation d'un milieu de culture

La préparation classique d'un milieu de culture passe par les étapes suivantes :

- La culture et l'interprétation de la formule de préparation.
- Rassembler les différents constituants.
- La pesée.
- Dissolution avec ajustement du volume exact.
- Ajustement du pH.
- La répartition.

La stérilisation du milieu de culture se fait à l'autoclave 120°C pendant 15 min,

2. Composition des milieux de cultures :

Formules indiquées en gramme par litre d'eau distillée.

Eau peptonée tamponnée (E.P.T)

Formule :

- Mélange de peptones : 10,0
- Chlorure de sodium : 5,0
- Di-sodium hydrogénophosphate : 3,5
- Dihydrogénophosphate de potassium : 1,5

pH final=7,2 à 25°C

Autoclaver 20 min à 120°C

Eau peptonée exempte d'indole (E.P.I)

Formule :

- Peptone exempte d'indole : 15

pH= 7,2 à 25°C

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

Bouillon lactosé

Formule :

- Hydrolysat pancréatique de gélatine : 5,0
- Extrait de viande : 3,0
- Lactose : 5,0

pH= 6,9 à 25°C

Répartir en tube à essais (9ml), ajouter éventuellement une cloche de Durham et autoclaver 15min à 120°C.

Bouillon lactosé bilié au vert brillant (VBL)

Formule :

- Peptone de viande : 10,0
- Lactose : 10,0
- Bile de bœuf desséchée : 20,0
- Vert brillant : 0,0133
- Eau permutée : 1000

pH= 7,2 à 25°C

Répartir dans des tubes à essais et autoclaver 15min à 120°C

Bouillon sélénite-cystine

Formule :

- Tryptone : 5,0
- Lactose : 4,0
- Sélénite acide de sodium : 4,0
- Phosphate disodique : 10,0
- Cystine : 100mg

pH final= 7,0 à 25°C

Répartir en tubes à essais (10ml). Stériliser par ébullition 10 min(ne pas autoclaver).

Gélose Baird-Parker

Formule :

- Mélange de peptone : 15
- Extrait de viande : 5,0
- Extrait de levure : 2,0

- Pyruvate de sodium : 7,5
- Glycine : 7,5
- Chlorure de lithium : 3,0
- Gélose A (RM 10) : 17

pH= 6,8 à 25°C

Autoclaver à 121°C pendant 15 min

Préparation : ajouter aseptiquement le supplément Baird-Parker. Emulsion de jaune d'œuf au tellurite de potassium à 1% (50ml).

Gélose Hektoen

Formule :

- Mélange de peptone : 13,8
- Extrait de levure : 2,0
- Lactose : 12,0
- Saccharose : 12,0
- Salicine : 1,0
- Chlorure de sodium : 5,0
- Tauroglycocholate de sodium : 6,5
- Thiosulfate de sodium (anhydre) : 1,25
- Citrate d'ammonium ferrique : 1,25
- Bleu de bromothymol : 0,065
- Fuschine acide : 0,1
- Agar : 14

pH= 7,6 à 25°C

Autoclaver à 120°C pendant 15 min

Gélose pour dénombrement ou Plate Count Agar (P.C.A)

Formule :

- Tryptone : 5,0
- Extrait de levure : 2,5
- Glucose : 1,0
- Agar A (RM 10) : 12,0

pH final = 7,2 ± 2 à 25°C

Autoclaver à 120°C pendant 15min

Gélose Salmonella-shigella (SS)

Formule :

- Peptone : 5,0
- Extrait de viande de bœuf : 5,0
- Sels biliaires : 4,2
- Citrate de sodium : 10,0
- Thiosulfate de sodium : 8,5
- Citrate de fer : 2,0
- Lactose : 10,0
- Vert brillant : 0,3mg
- Agar : 12,0

pH final= 7,3 ± 0,2 à 25°C

Gélose Sabouraud Biomérieux®

Formule :

- Peptone de viande (bovin ou porcin) : 3,0
- Peptone de caséine (bovin) : 3,0
- Peptone de soja : 3,0
- Extrait de levure : 2,0
- Extrait de malt : 1,0
- Glucose : 19,0
- Phosphate monopotassique : 0,5
- Phosphate disodique : 0,5
- Agar : 13

pH=6,4 à 25°C

Autoclaver 20 min à 120°C. Additionner un antibiotique (Amoxiline 0,5g/l)

Gélose Viande-foie

Formule :

- Base viande-foie : 30
- Glucose : 2,0

- Amidon : 2,0
- Sulfite de sodium : 2,5
 - Sels de fer : 0,5
 - Agar : 11

pH= $7,7 \pm 0,1$ à 25°C

Autoclaver à 121 °C pendant 15min.

Annexe II

(Journal officiel de La République Algérienne N°35, 27 mai 1998)

Arrêté interministériel du 25 ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (les poissons et produit de la pêche).

Tableau IV			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES POISSONS			
PRODUITS	n	c	m
1. Poissons tranches panés ou non et filets de poissons frais réfrigérés			
<ul style="list-style-type: none"> • Germe aérobie à 30°C • Coliformes fécaux • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs à 46°C • <i>Salmonella</i> 	5 5 5 5 5	3 3 3 3 0	10 ⁵ 10 10 ² 10 Absence
2. Poissons tranches panés ou non, filets de poisson congelés ou surgelés			
<ul style="list-style-type: none"> • Germes aérobie à 30°C • Coliformes fécaux • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs à 46°C • <i>Salmonella</i> 	5 5 5 5 5	3 3 3 3 0	5. 10 ⁴ 10 10 ² 2 Absence
3. Poissons frais et congelés			
<ul style="list-style-type: none"> • Germes aérobie à 30°C • Coliformes fécaux • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Salmonella</i> 	5 5 5 5	3 3 3 0	10 ⁶ 4 10 ³ Absence

Contribution à l'étude des filets de poissons congelés vendus dans les poissonneries

Résumé

Notre étude a consisté à évaluer la qualité microbiologique des filets de *panga* congelés vendus dans les poissonneries. Nous avons pris trois échantillons achetés dans des commerces différents. Les résultats ont été comparés aux normes algériennes (JORA, 1998).

Les résultats de notre étude ont montrés que la contamination des filets de poisson congelé du *panga* est globalement de qualité satisfaisante ; avec présence d'une flore mésophile totale et fongique, présence de *Staphylococcus aureus*, absence totale de *Salmonella*, d'*Escherichia coli*, de germe sulfito-réducteurs sauf dans le troisième échantillon, qui est de qualité insatisfaisante.

Nous conformons que le non respects des règles d'hygiène est à l'origine de la mauvaise qualité du poisson, ce qui mérite de poursuivre ce travail sur une période plus longue et sur une autre variété de poisson congelé.

Mots clés : *Pangasius hypophthalmus*, poisson congelé, qualité microbiologique, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*.

ABSTRACT

Our study was to evaluate the microbiological quality of frozen *pangasius* fillets sold in fish markets. We took three samples purchased in different shops. The results were compared with the Algerian standards (JORA 1998).

The results of our study showed that contamination of frozen fish fillets of panga is globally satisfactory quality; with presence of a total mesophilic and fungal flora, presence of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* total absence of *Escherichia coli*, sulphite-reducing germ except in the third sample, which is unsatisfactory.

We conform that respects no rules of hygiene is the cause of poor quality fish, which deserves to continue this work over a longer period and another variety of frozen fish.

Key word : *Pangasius hypophthalmus*, frozen fish, microbiological quality, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*.

ملخص

وكانت دراستنا لتقييم الجودة الميكروبيولوجية من فيليه بنغاسيوس المجمدة التي تباع في أسواق السمك. اخذنا ثلاث عينات التي تم شراؤها في المحلات التجارية المختلفة. وتمت مقارنة النتائج مع المعايير الجزائرية (الجورة (1998).

وأظهرت نتائج هذه الدراسة أن تلوث شرائح الأسماك المجمدة من بانغا على المستوى العالمي نوعية مرضية، مع وجود النباتات مجموع متوسطة الحرارة والفطرية، وجود المكورات العنقودية الذهبية والسالمونيلا الغياب التام لللاشريكية القولونية، الجرثومية إلا في العينة الثالثة، والتي هي غير مرضية.

نحن نتفق أن يحترم أي قواعد النظافة هي سبب من الأسماك ذات نوعية رديئة، والذي يستحق أن يستمر هذا العمل على مدى فترة أطول وصنف آخر من الأسماك المجمدة.

الكلمات الرئيسية: بنغاسيوس، الأسماك المجمدة، الجودة الميكروبيولوجية، المكورات العنقودية الذهبية، السالمونيلا.