

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université Moulay Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Evaluation de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie : Analyse, Prévention et Impact sur la Santé Publique.

Présentée par :

Mlle : Khelif Bayane

Mlle : Hamidi Bakhta

Devant le Jury composé de :

Président Mr.Bellil Yahia

Examinateur Mr.Ghellai .Lotfi

Rapporteur Mr. Halla Noureddine

Aide Rapporteur Mlle. Djebori Asmaa

Année Universitaire : 2023/2024

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université Moulay Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Evaluation de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie : Analyse, Prévention et Impact sur la Santé Publique.

Présentée par :

Mlle : Khelif Bayane

Mlle : Hamidi Bakhta

Devant le Jury composé de :

Président Mr.Bellil Yahia

Examinateur Mr.Ghelli Lotfi

Rapporteur Mr. Hala Noureddine

Aide Rapporteur Mlle. Djebouri Asmaa

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicaces

Ceux qui disent : "je la veux l'obtiennent". Et nous, nous la voulions, et même si elle refusait, nous l'aurions obtenue malgré elle.

Nous n'avons atteint les débuts que grâce à sa direction, nous n'avons atteint les fins que grâce à sa réussite et nous n'avons atteint les objectifs que grâce à sa grâce. Louange à Dieu qui nous a permis de valoriser cette étape de notre parcours éducatif.

Le voyage n'était pas court et il ne devait pas l'être, le rêve n'était pas proche et le chemin n'était pas facile, mais nous l'avons fait et nous l'avons atteint.

A ceux qui ont orné notre nom des plus beaux titres, de ceux qui nous ont soutenus sans limites et nous ont donné sans contrepartie, à ceux qui nous ont appris que la vie est un combat et que son arme est la connaissance et le savoir, à ceux qui ont instillé dans notre âme les nobles valeurs morales, nos premiers soutiens dans notre cheminement, notre pilier, notre force et notre refuge après Dieu, à notre fierté et notre gloire (Nos pères, que Dieu les protège).

A celle que Dieu a placées au Paradis sous ses pieds, qui nous ont embrassés avec leurs coeurs avant leurs mains et nous ont facilité les épreuves par leurs prières, au cœur tendre et à la bougie qui nous éclairés dans les nuits sombres, la lampe de notre chemin et la lumière de notre vie (Nos mères, que Dieu les protège).

A notre côté stable et à la sécurité de nos jours, à l'inspiration de notre succès, à ceux qui nous ont fortifiés et qui ont été pour nous des sources dont nous nous sommes abreuvés, aux meilleurs jours de notre vie et à sa quintessence, à la prunelle de nos yeux (Nos frères et sœurs).

Et à celles qui ont tendu la main dans les moments de faiblesse, qui ont parié sur mon salut et mon succès, qui m'ont rappelé ma force et mes capacités, qui ne me découragent jamais et croient en mon courage, peu importe ma faiblesse et mon découragement, se tenant derrière moi comme mon ombre, et peu importe mes erreurs, ma tante qui est comme une deuxième mère pour moi (Mme. Aouad Hamidi Fatima Zohra) et ma sœur que ma mère n'a pas enfantée et la compagne de mon cœur (Aouad Linda).

À la plus belle coïncidence parmi mille choix d'amies d'université et d'enfance :Kaouther, Khadija, Fatiha, Halima, et Chaimaa.

A mon bras droit et mon soutien qui ne fléchit pas Omar.

À ceux qui voulaient nous briser, Dieu a fait d'eux un pont pour nous mener vers le meilleur.

Dédicace

Louange à Dieu, amour, gratitude et reconnaissance. Nous n'aurions pas pu le faire sans la grâce de Dieu. Louange à Dieu au début et à la fin.

Que Dieu vous récompense et vous accorde la meilleure récompense.

Khelif Bayane & Hamidi Bakhta.

Remerciements

C'est avec un immense plaisir que nous écrivons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance envers tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail, ainsi qu'à toutes les personnes présentes autour de nous en ce moment.

Avant toute chose, nous remercions ALLAH, le Tout-Puissant, de nous avoir donné la force et la volonté d'arriver à la finalité de ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à M. Bellil Yahia pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. Nous remercions également M. Ghellai Lotfi pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promoteur, M. Halla Noureddine, pour avoir accepté de diriger ce travail avec gentillesse et bienveillance.

Nous remercions également Mlle Djebouri Asmaa, co-encadreur, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, ses conseils avisés, et la confiance accordée dans le laboratoire.

Nos remerciements vont également aux ingénieurs de laboratoire du département de biologie pour leur aide et leur soutien, en particulier M. Ahmed.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous nos enseignants de la faculté, qui nous ont accompagnés tout au long de notre formation, notamment M. Bellil.

Liste des abréviations

PIB : Produit Intérieur Brut

E.coli : Escherichia coli

PH : Potentiel Hydrogène

CT : Coliformes Totaux

CF : Coliformes Fécaux

FTAM : Flore Aérobie Mésophile Totale

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ELIZA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

PCR : Polymerase Chain Reaction

TIAM : Toxi-Infection Alimentaire Marine

VHA : Virus Hepatite A

EPT : Eau Péptonnée Tamponnée

E.ph : Eau Physiologique

BN : Bouillon Nutritif

GN : Gélose Nutritif

BP : Baird-Parker

VRBL : Violet Red Bile Lactose

SM : Solution mère

FAO : Food Agriculture Organisation

NPP : Nombre Plus Potable

PCA : Plate Count Agar

µl : Microlitre

UFC : Unité Formant de Colonie

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Tableau 1: Tableau récapitulatif des vitamines et minéraux présent dans les poissons et produits de la pêche.	7
Tableau 2: Composition nutritionnelle moyenne des poissons (100g).....	8
Tableau 3: Principaux groupes de micro-organismes de la flore naturelle des poissons.	11
Tableau 4: Principaux groupes de micro-organismes de la flore d'altération de poisson.....	13
Tableau 5: Classification des micro-organismes présents sur les poissons et les produits de la pêche.....	13
Tableau 6: Méthodes d'analyses microbiologiques des poissons et des produits de la pêche.	28
Tableau 7: Agents pathogènes responsables des TIAM et leurs symptômes.	32
Tableau 8: Les milieux de culture étudiée pour les bactéries (FTAM,CF,CT Staph,Levure et moisissure , Salmonella et Shigella).	44
Tableau 9: Les résultats de dénombrement des : FTAM,CF,CT,SCP,Salmonelle.	59
Tableau 10: Les résultats d'identification biochimique et microbiologique des germes.....	65
Tableau 11: Les résultats de la Galerie API20E.....	66

Liste des figures

Figure 1: Poisson riche en acide gras Oméga-3-.	7
Figure 2:Vue microscopique des bactéries sur la peau d'un poisson.	10
Figure 3: Vue microscopique des bactéries dans le tube digestif d'un poisson.	11
Figure 4: Vue microscopique des bactéries psychrotropes et bactéries lactiques.	12
Figure 5: Vue microscopique de levure sur la peau de poisson.....	13
Figure 6: Contamination des poissons par l'eau polluée (pollution des eaux marines).	14
Figure 7: Congélation rapide à -18°C ou moins.....	16
Figure 8:Cuisson à cœur à une température interne de 70°C ou plus.....	16
Figure 9: Exemple de comptage manuel des colonies.....	23
Figure 10: Exemple de comptage automatique des colonies.	24
Figure 11: Exemple de réalisation de test biochimique (Galerie API20E).	24
Figure 12: Exemple de test ELIZA.	26
Figure 13: Exemple de test immunochromatographie.....	27
Figure 14: L'espèce commercialisée sur le marché de Saida (Sardina pilchardus).	39
Figure 15: Plan approuvé avec les différentes analyses appliquées.	40
Figure 16: Chaine de fabrication de milieu de culture.	43
Figure 17: Préparation de milieu de culture.	44
Figure 18: Préparation de la zone d'asepsie.	45
Figure 19: Préparation de la solution mère.	46
Figure 20: Préparation de la zone d'asepsie (Photo personnelle).	47

Liste des figures

Figure 21: Diagramme représente la méthode de recherche FTAM, CF, CT, SCP.....	48
Figure 22: L'étape de l'incubation.....	49
Figure 23: Le protocole utilisé pour la recherche des germes (Photo personnelle).	50
Figure 24: Méthode de repiquage.	52
Figure 25: Photo personnelle montrent quelques résultats de coloration de Gram.....	53
Figure 26: Test de Catalase.....	54
Figure 27: Les étapes d'ensemencement de la galerie API20E.....	56
Figure 28: La lecture des résultats de la galerie.	57
Figure 29: Histogramme des résultats de dénombrement des FTAM.....	62
Figure 30: Histogramme des résultats de dénombrement des Coliformes.	63

Résumé

Résumé

Les produits de la pêche jouent un rôle très important dans le régime alimentaire par ce qu'il est considéré comme une source de nourriture riche en protéines, lipides et les vitamines.

Les wilayas de l'ouest de l'Algérie, dépourvues d'accès à la mer, telles que la wilaya de Saïda, souffrent d'un manque dans les ressources marines .Ainsi, les poissons sont conservées sous glace pour être transportés des régions côtières vers la Wilaya de Saida.

A cet effet, l'objectif de notre étude consiste à évaluer la qualité microbiologique de l'espèce Sardina commercialisées sur le marché de Saida.Les résultats montrent que :

Flore aérobie mésophile totale (FTAM) : Les valeurs pour les poissons frais (193,07 UFC/g) et congelés (94,06 UFC/g) sont inférieures aux valeurs pour les poissons contaminés (18000 UFC/g et 16500 UFC/g).

Coliformes fécaux : Les poissons frais ne contiennent aucun coliforme fécal ou total, tandis que les poissons contaminés présentent des valeurs supérieures au seuil de 10^3 UFC/g.

En conclusion, ces résultats indiquent que le non-respect des règles d'hygiène contribue à la prolifération de ces germes pathogènes, posant un risque pour la santé publique.

Mots clés : Qualité microbiologique, Sardina, Wilaya de Saïda, Hygiène, Germes pathogènes, Régime alimentaire.

Abstract

Abstract

Fishery products play a crucial role in the diet as they are considered a rich source of proteins, lipids, and vitamins. The wilayas in the west of Algeria, such as the wilaya of Saïda, which lack access to the sea, suffer from a shortage of marine resources. Consequently, fish are preserved on ice to be transported from coastal regions to the Wilaya of Saïda.

The objective of our study is to evaluate the microbiological quality of the sardine species sold in the Saïda market.

Total Aerobic Mesophilic Flora (TAMF): The values for fresh fish (193,07 CFU/g) and frozen fish (94,06 CFU/g) are lower than the values for contaminated fish (18000 CFU/g and 16500 CFU/g).

Fecal Coliforms: Fresh fish contain no fecal or total coliforms, while contaminated fish show values exceeding the threshold of 10^3 UFC/g.

These results indicate that non-compliance with hygiene rules contributes to the proliferation of these pathogenic germs, posing a risk to public health.

Keywords: Microbiological quality, Sardina, Wilaya of Saïda, Hygiene, Pathogenic germs, Diet.

ملخص

تلعب منتجات الصيد دورا هاما للغاية في النظام الغذائي لأنها تعتبر مصدرا غنيا بالبروتين والدهون والفيتامينات .

تعاني الولايات الغربية في الجزائر التي لا يوجد بها بحر ، مثل ولاية سعيدة من نقص في الموارد البحرية ، لذلك يتم حفظ الأسماك في الثلج لنقلها إلى من المناطق الساحلية إلى ولاية سعيدة.

في هذا الاطار ، تهدف دراستنا إلى تقييم الجودة الميكروبيولوجية لنوع السردين المتداول في سوق سعيدة.

الفلورا الهوائية المتوسطة الكلية: القيم للأسماك الطازجة (193.07) والأسماك المجمدة (94.06) أقل من قيم الأسماك المجمدة (16500 و 18000).

البكتيريا القولونية البرازية : الأسماك الطازجة لا تحتوي على بكتيريا برازية قولونية او كلية ، بينما (10⁸³) الأسماك الملوثة تظهر قيما تتجاوز الحد المسموح به وهو (

في الختام، لا شك ان عدم الامتثال لقواعد النظافة يساهم في انتشار هذه الجراثيم المسيبة للأمراض.

الكلمات المفتاحية: الجودة الميكروبيولوجية، السردين، ولاية سعيدة، النظافة، الجراثيم، النظام الغذائي.

Table des matières

Table des matières

Dédicaces.....	4
Remerciements	6
Liste des abréviations	7
Liste des tableaux	9
Liste des figures	10
Résumé	12
Abstract	13
ملخص.....	14
Introduction Général	1
Partie I : Partie Bibliographique	4
Chapitre I : la qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.	5
Introduction	6
Rôle nutritionnel et contribution à la sécurité alimentaire :.....	6
Source de nutriments essentiels :	6
Protéines de haute qualité :	6
Acides gras oméga-3 :.....	6
Vitamines et minéraux :.....	7
Altération des poissons et produits de la pêche :	8
Microbiologie des poissons et produits de la pêche :.....	10
Flore naturelle :.....	10
Flore d'altération :	11
Micro-organismes pathogènes :	13
Conclusion	16
CHAPITRE II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.	17
Introduction	18
Techniques d'échantillonnage et de prélèvement :.....	18
Échantillonnage :	18
Prélèvement :	21
Méthodes de détection et de quantification des micro-organismes :.....	22
Méthodes culturales :	22
Méthodes non culturales :	25
Normes et réglementations :	27

Table des matières

Algérie :.....	27
International :	28
Conclusion	29
Chapitre III : Prévention et Impact de la contamination microbienne sur la santé publique.	
.....	30
Introduction	31
Toxi-infections alimentaires d'origine marine (TIAM) :.....	31
Agents pathogènes responsables :	31
Symptômes et conséquences :	32
Méthodes de surveillance et d'épidémiologie :	33
Risques spécifiques liés à la consommation de poissons et produits de la pêche :	33
- Poissons scombroïdes et histamine :	33
- Bio toxines marines :	33
Contaminants chimiques :.....	34
Conclusion	34
Partie II : Partie Expérimentale.....	35
Chapitre IV : Matériel et Méthodes	36
Objectif :	37
Matériels et Méthodes :	37
Matériels et Verreries :.....	37
Milieux de Culture :.....	37
Matériels de Stérilisation :	38
Matériels de conservation et d'incubation :	38
Matériels de pesée et d'homogénéisation :	38
Réactifs :	38
Période et Lieu de Stage :.....	38
Choix d'espèce :	39
Echantillonnage :	39
Transport et conservation :.....	40
Analyses microbiologiques :	41
Protocole d'analyse bactériologique :	41
Mode de prélèvement :	41
Milieu de culture :	42
Préparation de la prise d'essai et les dilutions :	44
Repiquage :.....	51

Table des matières

Chapitre V : Résultats et Discussion	58
Les résultats obtenus montrent différents niveaux de contamination microbienne selon le type de poisson (Frais, Congelé, Contaminé) et les types de bactéries analysées.	61
La flore aérobie mésophile totale :	61
Les coliformes fécaux et totaux :	62
Les staphylococcus :	64
Les salmonelles :	64
Conclusion et Perspective.....	67
Annexes	68
Références Bibliographiques.....	68

Introduction Général

L'industrie de la pêche en Algérie occupe une place prépondérante dans l'économie et la culture du pays. En 2020, elle a contribué à hauteur de 2,5% au PIB national et a employé environ 120 000 personnes (**Ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques, 2020**)¹. La pêche constitue également une source importante de sécurité alimentaire, fournissant environ 30% des besoins en protéines animales du pays (**FAO, 2023**)². En effet, le poisson est un aliment riche en nutriments essentiels tels que les acides gras oméga-3, les vitamines D et B12, et le sélénium (**ANSES, 2021**)³. Sa consommation régulière est associée à de nombreux bienfaits pour la santé, notamment la réduction du risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et de la dépression (**EFSA, 2014**)⁴.

Malgré son importance capitale, l'industrie de la pêche en Algérie est confrontée à un défi majeur : la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche. Cette contamination peut avoir des conséquences néfastes sur la santé publique, car elle est susceptible de causer des maladies d'origine alimentaire, à l'instar de la salmonellose, l'*Escherichia coli* (E. coli) et la vibriose (**OMS, 2023**)⁵. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies d'origine alimentaire constituent un problème de santé publique majeur, touchant chaque année environ 600 millions de personnes dans le monde (**OMS, 2023**)⁶. En Algérie, les données épidémiologiques relatives aux maladies d'origine alimentaire sont peu disponibles et fragmentées. Néanmoins, une étude réalisée en 2018 par le Ministère de la Santé a révélé que les salmonelloses et les toxi-infections alimentaires figuraient parmi les principales causes d'hospitalisation et de décès liés à l'alimentation (**Ministère de la Santé, 2018**)⁷.

¹ Ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques. (2021). *Statistiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie*. Alger: Ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques.

² FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2023). Profil des pêches et de l'aquaculture en Algérie.

³ ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). (2021). Poisson : un aliment de choix pour la santé et l'environnement.

⁴ EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments). (2014). Scientific opinion on dietary reference values for fats, fatty acids and carbohydrates. EFSA Journal, 12(7), e1462.

⁵ OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2023). Maladies d'origine alimentaire.

⁶ OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2023). Maladies d'origine alimentaire.

⁷ Ministère de la Santé. (2018). Situation épidémiologique des maladies transmissibles en Algérie.

Introduction Générale

L'évaluation et la surveillance de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie s'avèrent essentielles pour plusieurs raisons :

- **Protection de la santé publique :** La contamination microbienne peut causer des maladies graves, voire mortelles, pour les consommateurs. Il est donc crucial de garantir la sécurité microbiologique des produits de la pêche afin de protéger la santé de la population.
- **Sécurité alimentaire :** La contamination microbienne peut réduire la qualité et la durée de conservation des produits de la pêche, ce qui peut entraîner des pertes économiques importantes. L'amélioration de la qualité microbiologique des produits de la pêche permettra de réduire ces pertes et de garantir la sécurité alimentaire.
- **Développement durable :** La contamination microbienne peut nuire à l'environnement et aux écosystèmes marins. La mise en place de mesures de contrôle de la contamination microbienne contribuera à préserver l'environnement et à garantir la durabilité de l'industrie de la pêche.

Ainsi, cette étude se penche sur la question cruciale de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie. Nous évaluerons la qualité microbiologique des poissons et des produits de la pêche en Algérie. Nous examinerons les sources, les agents, ainsi que les facteurs de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie, nous mesurons le niveau de contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche selon les espèces, les lieux et les modes de conservation. De plus, nous évaluerons les risques pour la santé publique liés à la consommation de poissons et de produits de la pêche contaminés, et ont Proposées des recommandations pour améliorer la qualité microbiologique des poissons et des produits de la pêche en Algérie.

Pour guider cette recherche, nous formulons les hypothèses suivantes :

H1 : Les pratiques de manipulation, de conservation et de transformation des produits de la pêche influencent directement le niveau de contamination microbienne. Une mauvaise manipulation et un stockage inadéquat augmentent le risque de contamination.

H2 : La consommation de poissons et de produits de la pêche contaminés est une source significative d'infections alimentaires chez la population algérienne, avec des impacts notables sur la santé publique, incluant des maladies gastro-intestinales et des intoxications alimentaires.

H3 : La sensibilisation et la formation des pêcheurs, des transporteurs, et des vendeurs sur les bonnes pratiques d'hygiène et de manipulation réduiront les taux de contamination microbienne.

Introduction Générale

H4 : Les poissons et produits de la pêche en Algérie sont fréquemment contaminés par des microorganismes pathogènes tels que les bactéries coliformes, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, et *Vibrio* spp.

La contamination microbienne des produits de la pêche peut également avoir des implications économiques importantes. Les pertes post-récolte dues à la contamination microbienne peuvent atteindre 20 à 30% de la production totale ([FAO, 2018])⁸. De plus, la contamination peut entraîner des rejets de produits sur les marchés nationaux et internationaux, nuisant à la réputation de l'industrie de la pêche algérienne et à ses exportations.

Finalement, L'évaluation de la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche en Algérie est une nécessité urgente pour garantir la sécurité alimentaire, la santé publique et le développement durable de l'industrie de la pêche nationale.

⁸ FAO. (2018). *Fish and food safety: A global overview*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Partie I : Partie Bibliographique

**Chapitre I : la qualité microbiologique et
la contamination microbienne des
poissons et des produits de la pêche.**

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Introduction

Le poisson et les produits de la pêche constituent une source importante de protéines et d'autres nutriments essentiels pour l'alimentation humaine. Ils contribuent à la sécurité alimentaire mondiale en fournissant des aliments riches en acides gras oméga-3, en vitamines et en minéraux. Cependant, la sécurité et la qualité microbiologique des poissons et produits de la pêche peuvent être compromises par divers micro-organismes, tels que des bactéries, des virus et des parasites. La contamination microbienne peut avoir des conséquences graves sur la santé publique et la qualité des produits.

Ce chapitre explore les différents aspects de la qualité microbiologique des poissons et produits de la pêche.

Rôle nutritionnel et contribution à la sécurité alimentaire :

Source de nutriments essentiels :

Les poissons et les produits de la pêche constituent une source importante de protéines, d'acides gras oméga-3, de vitamines et de minéraux essentiels pour la santé humaine ([FAO, 2018])⁹. Ils contribuent à la sécurité alimentaire en fournissant des aliments nutritifs et abordables à une grande partie de la population mondiale.

Protéines de haute qualité :

Les poissons et les produits de la pêche sont riches en protéines de haute qualité, facilement digestibles et contenant tous les acides aminés essentiels nécessaires à l'organisme humain ([Sidwell, 2014])¹⁰.

Acides gras oméga-3 :

Les poissons gras, tels que le saumon, le thon et les sardines, sont riches en acides gras oméga-3, qui ont des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire, le développement cérébral et la vision ([Kris-Etherton et al., 2002]¹¹).

⁹ FAO. (2018). *Fish and food safety: A global overview*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

¹⁰ Sidwell, V. D. (2014). *Handbook of seafood and fish processing*. Oxford: John Wiley & Sons.

¹¹ Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., & Appel, L. J. (2002). *Fish consumption, fish oil, and omega-3 fatty acids*. Circulation, 106(21), 2747-2757.

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

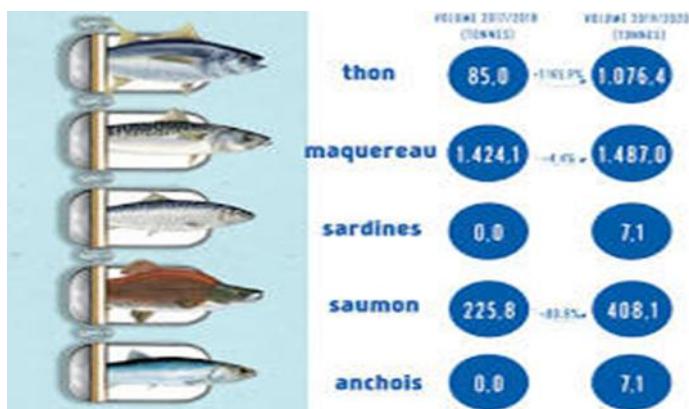


Figure 1: Poisson riche en acide gras Oméga-3.

Vitamines et minéraux :

Les poissons et les produits de la pêche sont également une bonne source de vitamines A, D, E et B12, ainsi que de minéraux tels que le calcium, le fer, le zinc et l'iode ([FAO, 2018])¹².

Tableau 1: Tableau récapitulatif des vitamines et minéraux présent dans les poissons et produits de la pêche.

Vitamine/ Minéral	Fonction	Sources alimentaires	Apport journalier recommandé (AJR)
Vitamine A	Vision,croissance, système immunitaire	Saumon, sardines, thon	900 µg (hommes) /700 µg (femmes)
Vitamine D	Absorption du calcium, santé des os	Saumon,sardines, maquereau	15 µg (adultes)
Vitamine E	Antioxydant, protection des cellules	Saumon,truite, sardines	15 mg (hommes) / 11 mg (femmes)
Vitamine B12	Production de globules rouges,fonction nerveuse	Saumon, sardines, truite	2,4 µg
Calcium	Production de globules rouges,fonction nerveuse	Sardines (avec arêtes), saumon	1000mg (hommes)/1200 mg (femmes)

¹² FAO. (2018). *Fish and food safety: A global overview*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Fer	Transport de l'oxygène dans le sang	Moules,sardines, huîtres	8mg(hommes)/18mg (femmes)
Zinc	Système immunitaire, cicatrisation des plaies	Huîtres,crabes, homards	11 mg (hommes) / 8 mg (femmes)
Iode	Fonction thyroïdienne	Saumon, morue, sardines	150 µg

Tableau 2:Composition nutritionnelle moyenne des poissons (100g).

Nutriments	Quantité
Calories	100-200 Kcal
Protéines	15 - 25 g
Lipides	1 - 20 g
Acides gras Oméga-3-	0,5 – 2g
Vitamines A, D, E	Bonnes sources
Minéraux (Fer, Calcium, Phosphore)	Bonnes sources

Altération des poissons et produits de la pêche :

L'altération des poissons et produits de la pêche représente un problème majeur pour l'industrie halieutique et la santé publique. En effet, elle entraîne non seulement une dégradation de la qualité des produits, mais également des risques sanitaires importants pour les consommateurs (**OMS, 2023**)¹³.

Facteurs influençant l'altération :

Plusieurs facteurs influencent l'altération des poissons et des produits de la pêche, notamment :

¹³ OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2023). Maladies d'origine alimentaire.

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

La température : La température ambiante est un facteur important pour la croissance des micro-organismes. Une température élevée favorise la multiplication des bactéries et la détérioration des produits (FAO, 2019)¹⁴.

Le pH : Le pH est un indicateur de l'acidité ou de l'alcalinité d'un produit. Un pH bas (acide) favorise la croissance des bactéries lactiques, tandis qu'un pH élevé (alcalin) favorise la croissance des bactéries putrescentes (ANSES, 2012¹⁵).

La teneur en eau: Une teneur en eau élevée favorise la croissance des micro-organismes (FAO, 2001)¹⁶.

La présence d'oxygène: L'oxygène est nécessaire à la croissance des bactéries aérobies (ANSES, 2019)¹⁷.

La composition du poisson: La composition du poisson en acides gras, en protéines et en glucides influence la vitesse d'altération (FAO, 2016)¹⁸.

Signes d'altération :

Les signes d'altération des poissons et des produits de la pêche incluent :

Changement de couleur : Le poisson frais a une couleur vive et brillante. Une couleur terne ou grise indique une détérioration (ANSES, 2020)¹⁹.

Changement d'odeur : Le poisson frais a une odeur agréable et fraîche. Une odeur désagréable, putride ou aigre indique une détérioration (IFREMER, 2017)²⁰.

Changement de texture : Le poisson frais a une texture ferme et élastique. Une texture molle ou visqueuse indique une détérioration (ANSES, 2016)²¹.

Conséquences de l'altération :

L'altération des poissons et des produits de la pêche peut avoir plusieurs conséquences :

¹⁴ FAO. (2019). Guide sur la qualité du poisson frais.

¹⁵ ANSES. (2012). L'expertise collective ANSES relative à l'hygiène des poissons et produits de la pêche frais.

¹⁶ FAO. (2001). Prévention de la dégradation post-récolte des fruits et légumes.

¹⁷ ANSES. (2019). Les bactéries lactiques : des actrices majeures de la transformation des aliments.

¹⁸ FAO. (2016). La composition du poisson.

¹⁹ ANSES. (2020). Guide pratique pour la vente de poissons frais entiers.

²⁰ IFREMER. (2017). Qualité des produits de la pêche : comment les reconnaître ?.

²¹ ANSES. (2016). Qualité des produits de la pêche : à quoi faut-il faire attention ?

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Perte de valeur nutritive: La dégradation des nutriments par les micro-organismes diminue la valeur nutritive des produits (**FAO, 2013**)²².

Développement de saveurs et d'odeurs désagréables: Les micro-organismes produisent des composés responsables de saveurs et d'odeurs désagréables (**ANSES, 2014**)²³.

Risques pour la santé: La consommation de poissons et de produits de la pêche contaminés par des micro-organismes pathogènes peut causer des maladies alimentaires (**ANSES, 2016**)²⁴.

Microbiologie des poissons et produits de la pêche :

La microflore des poissons et des produits de la pêche est complexe et diversifiée. Elle est composée de différents types de micro-organismes, dont :

Flore naturelle :

La flore naturelle est composée de micro-organismes présents naturellement sur les poissons et dans leur environnement. Cette flore est généralement non pathogène et peut même jouer un rôle positif dans la conservation des produits.

Micro-organismes de la peau et des branchies: La peau et les branchies des poissons sont colonisées par des bactéries, des levures et des moisissures.

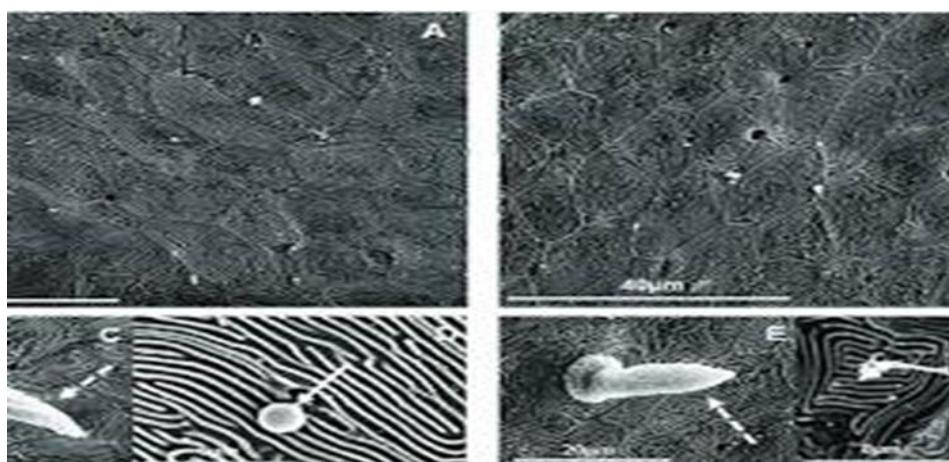


Figure 2:Vue microscopique des bactéries sur la peau d'un poisson.

²² FAO. (2013). Les pertes et gaspillages alimentaires : un défi majeur pour la sécurité alimentaire et l'environnement.

²³ ANSES. (2014). Les composés responsables du goût et de l'odeur des poissons.

²⁴ ANSES. (2016). Les toxi-infections alimentaires d'origine microbiologique : Synthèse des recommandations de l'Agence.

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Micro-organismes du tube digestif: Le tube digestif des poissons contient une grande variété de micro-organismes, dont des bactéries, des levures et des protozoaires.

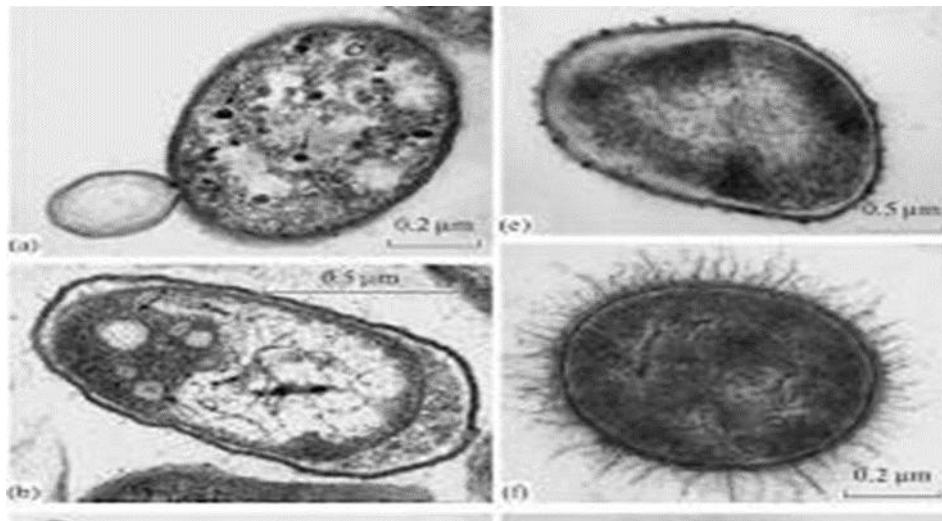


Figure 3: Vue microscopique des bactéries dans le tube digestif d'un poisson.

Tableau 3: Principaux groupes de micro-organismes de la flore naturelle des poissons.

Groupe de micro-organismes	Exemples
Bactéries	Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Flavobacterium
Archées	Halobacterium, Methanobacterium
Levures	Debaryomyces, Candida, Rhodotorula
Champignons	Penicillium, Aspergillus

Flore d'altération :

Bactéries: Les bactéries sont les principaux micro-organismes responsables de l'altération des poissons et des produits de la pêche. Les types de bactéries les plus les incluent:

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

- **Bactéries psychrotropes:** Elles peuvent se développer à des températures basses et sont responsables de la détérioration des poissons frais conservés au réfrigérateur.
- **Bactéries lactiques:** Elles produisent de l'acide lactique, ce qui peut donner aux poissons un goût aigre.
- **Bactéries putrescentes:** Elles produisent des composés malodorants responsables de la décomposition des poissons.

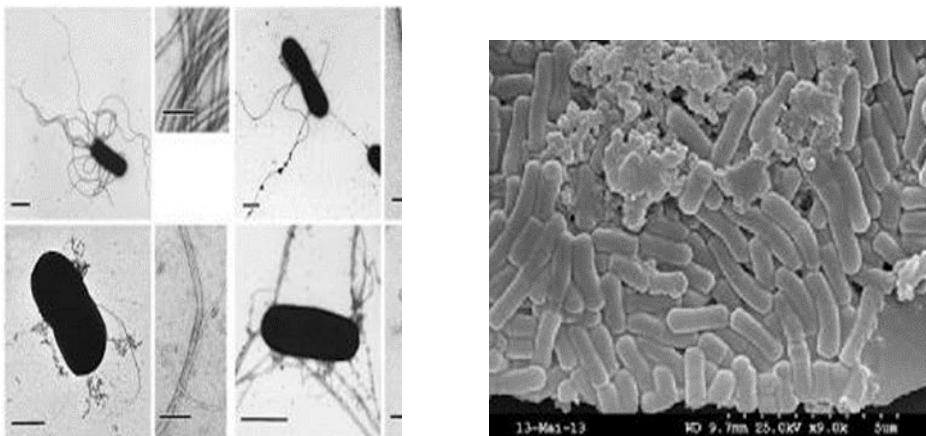
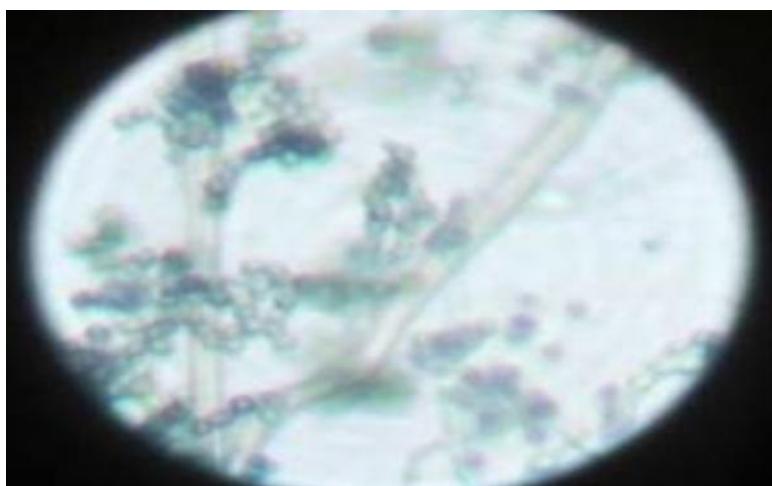


Figure 4: Vue microscopique des bactéries psychrotropes et bactéries lactiques.

Levures et moisissures: Les levures et les moisissures peuvent également contribuer à l'altération des poissons et des produits de la pêche, en particulier ceux qui ont une teneur en eau élevée.



Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Figure 5: Vue microscopique de levure sur la peau de poisson.

Tableau 4: Principaux groupes de micro-organismes de la flore d'altération de poisson.

Groupe de micro-organismes	Exemples	Rôle dans l'altération
Bactéries	Pseudomonas, Shewanella, Alteromonas, Brochothrix thermosphacta	Production de composés malodorants, dégradation des protéines et des lipides
Levures	Candida, Rhodotorula	Dégénération des glucides
Champignons	Mucor, Rhizopus	Développement de moisissures

Micro-organismes pathogènes :

Les micro-organismes pathogènes sont des micro-organismes qui peuvent causer des maladies chez l'homme. Les principaux micro-organismes pathogènes présents dans les poissons et les produits de la pêche incluent :

Salmonella spp.: responsable de la salmonellose.

Escherichia coli: responsable de toxi-infections alimentaires.

Vibrio cholerae: responsable du choléra.

Listeria monocytogenes: responsable de la listériose.

Staphylococcus aureus: responsable d'intoxications alimentaires.

Tableau 5: Classification des micro-organismes présents sur les poissons et les produits de la pêche.

Type de micro-organisme	Rôle	Exemples
Flore naturelle	Neutre	Pseudomonas, Flavobacterium, Moraxella
Flore d'altération	Altération des poissons	Shewanella, Photobacterium,

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

		Achromobacter
Micro-organismes pathogènes	Contamination fécale	Escherichia coli, Salmonella spp., Vibrio cholerae
	Contamination de l'eau	Vibrio parahaemolyticus, Listeria monocytogenes
	Contamination du sol	Clostridium botulinum

Contamination fécale :

La contamination fécale est l'une des principales sources de contamination des poissons et des produits de la pêche. Elle peut se produire par le biais des eaux usées, des rejets d'animaux d'élevage ou des pratiques de pêche inappropriées.

Contamination de l'eau :

Les poissons peuvent être contaminés par des micro-organismes pathogènes présents dans l'eau. Cette contamination peut se produire en raison de la pollution des eaux marines ou continentales.



Figure 6: Contamination des poissons par l'eau polluée (pollution des eaux marines).

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.

Contamination du sol :

Les poissons peuvent être contaminés par des micro-organismes pathogènes présents dans le sol. Cette contamination peut se produire lors de la manipulation des poissons après la capture ou lors de l'élevage en aquaculture.

Sources de contamination microbienne :

Les poissons et les produits de la pêche peuvent être contaminés par des micro-organismes à différentes étapes de la chaîne de production, notamment :

L'environnement aquatique: Les poissons peuvent être contaminés par des micro-organismes présents dans l'eau où ils vivent.

La capture: La manipulation et le transport des poissons peuvent les contaminer par des micro-organismes provenant des mains des pêcheurs, des engins de pêche et des bateaux.

La transformation: Les opérations de transformation, telles que le nettoyage, l'éviscération, le filetage et la conservation, peuvent également être des sources de contamination.

La distribution: La contamination peut également se produire pendant la distribution et la vente des produits.

Méthodes de contrôle de la contamination microbienne :

Il existe plusieurs méthodes pour contrôler la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche, notamment :

Bonnes pratiques d'hygiène: L'application de bonnes pratiques d'hygiène tout au long de la chaîne de production est essentielle pour prévenir la contamination microbienne.

Refroidissement: Le refroidissement rapide des poissons après la capture est essentiel pour limiter la croissance des micro-organismes.

Congélation: La congélation peut tuer les micro-organismes et prolonger la durée de conservation des poissons.

Chapitre I : La qualité microbiologique et la contamination microbienne des poissons et des produits de la pêche.



Figure 7: Congélation rapide à -18°C ou moins.

Cuisson: La cuisson à une température adéquate est le moyen le plus efficace de tuer les micro-organismes présents dans les poissons.



Easily monitor the temperature on your phone even you are **50M** away from the grillthermometer



Figure 8:Cuisson à cœur à une température interne de 70°C ou plus.

Conclusion

La qualité microbiologique des poissons et des produits de la pêche est essentielle pour la sécurité alimentaire. La maîtrise de la contamination microbienne tout au long de la chaîne de production est indispensable pour garantir la sécurité des consommateurs.

**CHAPITRE II : Méthodes
d'évaluation de la contamination
microbienne.**

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

Introduction

La qualité microbiologique des poissons et produits de la pêche est un facteur crucial pour garantir leur sécurité et leur salubrité (**FAO/OMS, 2008**)²⁵. En effet, la contamination microbienne peut altérer la qualité du produit, le rendre impropre à la consommation et même entraîner des maladies d'origine alimentaire (**ICMSF, 2011**)²⁶. Il est donc essentiel de mettre en place des méthodes efficaces pour évaluer la contamination microbienne des poissons et produits de la pêche afin de protéger la santé des consommateurs.

Ce chapitre abordera les différentes techniques d'échantillonnage et de prélèvement, les méthodes de détection et de quantification des micro-organismes, ainsi que les normes et réglementations en vigueur en Algérie et au niveau international concernant la contamination microbienne des produits de la pêche.

Techniques d'échantillonnage et de prélèvement :

Le choix de la technique d'échantillonnage dépend de plusieurs facteurs, tels que le type de produit de la pêche, l'objectif de l'analyse et les exigences réglementaires.

Échantillonnage :

L'échantillonnage est une étape cruciale pour l'évaluation de la contamination microbienne des produits de la pêche. Il permet de prélever une portion représentative du lot à analyser.

Différentes méthodes d'échantillonnage peuvent être utilisées:

Échantillonnage probabiliste :

L'échantillonnage probabiliste est une méthode essentielle pour évaluer la contamination microbienne des poissons et produits de la pêche. Il permet d'obtenir des résultats représentatifs de la qualité microbiologique de l'ensemble du lot, ce qui est crucial pour garantir la sécurité et la salubrité des produits.

²⁵ FAO/WHO. (2008). Fish and Fishery Products: Safety and Quality.

²⁶ ICMSF. (2011). Microbiological Guidelines for Food. International Commission on Microbiological Safety for Foods.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

Échantillonnage aléatoire simple ([FAO/OMS, 2011])²⁷ :

L'échantillonnage aléatoire simple est une méthode dans laquelle chaque unité de l'échantillon a une chance égale d'être sélectionnée. Cela permet d'obtenir une représentation impartiale de la population étudiée.

Méthode:

- **Tirage au sort:** Chaque unité de la population est attribuée à un numéro, puis des numéros sont tirés au hasard pour sélectionner les échantillons.
- **Utilisation de nombres aléatoires:** Un logiciel ou une calculatrice peut être utilisé pour générer des nombres aléatoires qui correspondent aux unités de la population.

Échantillonnage systématique ([ICMSF, 2011]):

L'échantillonnage systématique est une méthode dans laquelle les unités de l'échantillon sont sélectionnées à intervalles réguliers. Cela permet de simplifier la mise en œuvre de l'échantillonnage tout en conservant une certaine représentativité.

Méthode:

- **Choisir un intervalle régulier:** Déterminer le nombre d'unités à prélever (n) et la taille de la population (N). Ensuite, calculer l'intervalle de sélection en divisant N par n .
- **Prélever des échantillons à cet intervalle:** Déterminer un point de départ aléatoire ou systématique. Ensuite, prélever des échantillons à intervalles réguliers en partant de ce point de départ.

Échantillonnage stratifié ([Codex Alimentarius, 2023])²⁸:

L'échantillonnage stratifié est une méthode dans laquelle la population est divisée en groupes (strates) et des échantillons sont prélevés dans chaque strate. Cela permet de mieux cibler les zones de la population qui sont les plus susceptibles d'être contaminées.

Méthode:

- **Définir les strates:** Diviser la population en groupes homogènes en fonction de critères pertinents, tels que le type de poisson, la zone de capture ou la méthode de traitement.

²⁷ FAO/OMS. (2011). *Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

²⁸ Codex Alimentarius. (2023). *Manual on the Hygiene and Quality Control of Frozen Fish*.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

- **Déterminer la taille de l'échantillon pour chaque strate:** La taille de l'échantillon pour chaque strate doit être proportionnelle à la taille de la strate.
- **Prélever des échantillons dans chaque strate:** Utiliser une méthode d'échantillonnage probabiliste (aléatoire simple ou systématique) pour prélever des échantillons dans chaque strate.

Échantillonnage non probabiliste :

L'échantillonnage non probabiliste est une méthode alternative à l'échantillonnage probabiliste pour évaluer la contamination microbienne des poissons et produits de la pêche. Il permet de cibler des unités spécifiques de la population qui présentent un intérêt particulier, même si elles ne sont pas représentatives de l'ensemble de la population.

Échantillonnage dirigé ([FAO/OMS, 2011])²⁹:

L'échantillonnage dirigé est une méthode dans laquelle les unités de l'échantillon sont sélectionnées en fonction de leur accessibilité ou de leur importance. Cela permet de se concentrer sur les unités qui sont les plus faciles à obtenir ou qui sont les plus susceptibles d'être contaminées.

Méthode:

- **Définir les critères de sélection:** Identifier les caractéristiques qui rendent une unité intéressante pour l'étude.
- **Sélectionner les unités de l'échantillon:** Choisir les unités qui répondent aux critères de sélection.

Échantillonnage par quotas ([ICMSF, 2011])³⁰:

L'échantillonnage par quotas est une méthode dans laquelle un nombre prédéterminé d'unités est sélectionné dans chaque catégorie de la population. Cela permet de s'assurer que toutes les catégories sont représentées dans l'échantillon, même si elles ne le sont pas proportionnellement à leur taille réelle dans la population.

Méthode:

- **Définir les catégories de la population:** Diviser la population en groupes homogènes en fonction de critères pertinents, tels que le type de poisson, la zone de capture ou la méthode de traitement.

²⁹ FAO/OMS. (2011). *Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

³⁰ ICMSF. (2011). *Microbiological Guidelines for Food*. International Commission on Microbiological Safety for Foods.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

- **Déterminer les quotas pour chaque catégorie:** Déterminer le nombre d'unités à prélever dans chaque catégorie.
- **Prélever des échantillons dans chaque catégorie:** Utiliser une méthode d'échantillonnage probabiliste (aléatoire simple ou systématique) pour prélever des échantillons dans chaque catégorie jusqu'à atteindre le quota.

Prélèvement :

Le prélèvement est une étape cruciale dans l'évaluation de la contamination microbienne des poissons et produits de la pêche (**[FAO/OMS, 2011]**)³¹. Il consiste à collecter un échantillon représentatif du produit qui sera analysé en laboratoire. La qualité du prélèvement est essentielle pour obtenir des résultats fiables et précis (**[U.S. Food and Drug Administration, 2023]**)³².

Matériels :

Les matériaux utilisés pour le prélèvement des échantillons doivent être stériles et adaptés au type d'analyse à effectuer. Cela permet d'éviter la contamination croisée et de garantir l'intégrité de l'échantillon (**[Codex Alimentarius, 2023]**).

Exemples de matériels ([Codex Alimentarius, 2023]**) :**

- **Écouvillons:** Utilisés pour prélever des micro-organismes sur la surface des produits.
- **Pinces:** Utilisées pour prélever des échantillons de chair de poisson.
- **Gants stériles:** Portés pour éviter la contamination de l'échantillon par les mains du préleur.
- **Sacs stériles:** Utilisés pour transporter et conserver les échantillons.

Méthodes de prélèvement :

Les méthodes de prélèvement varient en fonction du type de produit de la pêche et de l'analyse à effectuer. Il est important de choisir une méthode qui permet de collecter un échantillon représentatif de la contamination microbienne du produit (**[FAO/OMS, 2011]**).

Exemples de méthodes de prélèvement ([Codex Alimentarius, 2023]**) :**

- **Prélèvement de surface:** Utilisé pour les produits entiers ou les filets. Il consiste à prélever un échantillon de la surface du produit à l'aide d'un écouvillon stérile.

³¹ FAO/OMS. (2011). *Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

³² U.S. Food and Drug Administration. (2023). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

- **Prélèvement en profondeur:** Utilisé pour les produits entiers. Il consiste à prélever un échantillon de la chair du poisson à l'aide d'une pince stérile .
- **Prélèvement de l'eau de conservation:** Utilisé pour les produits emballés dans de l'eau ou une saumure. Il consiste à prélever un échantillon de l'eau de conservation.

Bonnes pratiques de prélèvement ([Codex Alimentarius, 2023]³³) :

- **Respecter les règles d'hygiène:** Se laver les mains soigneusement avant et après le prélèvement. Porter des gants stériles et une blouse propre.
- **Utiliser des matériaux stériles:** Les écouvillons, pinces, sacs et autres matériels doivent être stériles pour éviter la contamination croisée.
- **Identifier les échantillons:** Chaque échantillon doit être étiqueté clairement avec des informations telles que le type de produit, la date de prélèvement et l'identification de l'échantillon.
- **Conserver les échantillons à froid:** Les échantillons doivent être conservés à une température de 4°C ou moins pour limiter la croissance des micro-organismes.
- **Transporter les échantillons rapidement:** Les échantillons doivent être transportés au laboratoire le plus rapidement possible pour éviter une dégradation de la qualité.

Méthodes de détection et de quantification des micro-organismes :

Méthodes culturelles :

Milieux de culture ([ICMSF, 2011]³⁴):

Les milieux de culture sont utilisés pour la culture des micro-organismes présents dans un échantillon. Ils fournissent aux micro-organismes les nutriments dont ils ont besoin pour se développer. Il existe trois principaux types de milieux de culture :

- **Milieux sélectifs :** Ils permettent la croissance de certains types de micro-organismes tout en inhibant la croissance d'autres. Par exemple, un milieu sélectif pour les bactéries Gram positif contiendra des antibiotiques qui tuent les bactéries Gram négatif.
- **Milieux différentiels :** Ils permettent de différencier les micro-organismes en fonction de leur capacité à métaboliser certains composés. Par exemple, un milieu différentiel pour les entérobactéries contiendra un indicateur qui changera de couleur en fonction du type d'entérobactérie présente.
- **Milieux enrichis :** Ils contiennent des nutriments supplémentaires qui favorisent la croissance de certains types de micro-organismes. Par exemple,

³³ Codex Alimentarius. (2023). Manual on the Hygiene and Quality Control of Frozen Fish.

³⁴ ICMSF. (2011). Microbiological Guidelines for Food. International Commission on Microbiological Safety for Foods.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

un milieu enrichi pour les anaérobies contiendra un agent réducteur qui éliminera l'oxygène du milieu.

Comptage des colonies ([FAO/OMS, 2011])³⁵:

Le nombre de colonies formées sur un milieu de culture est utilisé pour quantifier les micro-organismes présents dans l'échantillon. Le comptage des colonies peut être effectué manuellement ou à l'aide d'un compteur automatique de colonies.

- **Comptage manuel :** Les colonies sont comptées à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe. Cette méthode est simple et rapide, mais elle peut être subjective.



Figure 9: Exemple de comptage manuel des colonies.

- **Comptage automatique de colonies :** Un compteur automatique de colonies utilise un système optique pour compter les colonies sur un milieu de culture. Cette méthode est plus précise et moins subjective que le comptage manuel.

³⁵ FAO/OMS. (2011). *Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.



Figure 10: Exemple de comptage automatique des colonies.

Identification des micro-organismes ([ICMSF, 2011])³⁶ :

Une fois que les micro-organismes ont été cultivés et dénombrés, ils doivent être identifiés. L'identification des micro-organismes est importante pour déterminer leur rôle dans un écosystème ou leur potentiel pathogène. Il existe deux principales méthodes d'identification des micro-organismes :

- **Tests biochimiques :** Les tests biochimiques permettent d'identifier les micro-organismes en fonction de leur capacité à métaboliser certains composés. Par exemple, un test biochimique pour identifier les entérobactéries peut déterminer si l'entérobactérie fermente le lactose.



Figure 11: Exemple de réalisation de test biochimique (Galerie API20E).

³⁶ ICMSF. (2011). Microbiological Guidelines for Food. International Commission on Microbiological Safety for Foods.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

-Séquençage de l'ADN : Le séquençage de l'ADN est une méthode plus récente et plus précise d'identification des micro-organismes. Elle consiste à déterminer la séquence des bases nucléotidiques de l'ADN du micro-organisme. La séquence de l'ADN peut ensuite être comparée à une base de données de séquences d'ADN connues pour identifier le micro-organisme.

Méthodes non culturelles :

PCR (Polymerase Chain Reaction) ([FAO/OMS, 2011]³⁷):

La PCR est une technique d'amplification d'ADN qui permet de multiplier un fragment d'ADN spécifique en millions de copies. Cette technique repose sur l'utilisation d'une enzyme appelée Taq polymérase, qui est capable de synthétiser de l'ADN à partir d'un brin matrice.

Étapes de la PCR:

- **Dénaturation:** L'ADN est dénaturé à haute température (environ 95°C), ce qui permet de séparer les deux brins de la double hélice.
- **Hybridation:** Des amorces, qui sont de courtes séquences d'ADN complémentaires des séquences cibles, sont hybridées aux extrémités des brins d'ADN dénaturés.
- **Élongation:** La Taq polymérase synthétise un nouveau brin d'ADN à partir de chaque brin matrice et des amorces.
- **Amplification:** Les cycles de dénaturation, hybridation et élongation sont répétés plusieurs fois, ce qui permet d'amplifier le fragment d'ADN cible en millions de copies.

Applications:

- **Détection de pathogènes:** La PCR peut être utilisée pour détecter la présence de pathogènes dans les aliments, tels que *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*.
- **Identification d'espèces microbiennes:** La PCR peut être utilisée pour identifier les espèces microbiennes présentes dans un échantillon alimentaire.
- **Quantification des micro-organismes:** La PCR peut être utilisée pour quantifier le nombre de micro-organismes présents dans un échantillon alimentaire.

³⁷ FAO/OMS. (2011). *Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

Méthodes immuno-enzymatiques ([*Codex Alimentarius*, 2023])³⁸ :

Les méthodes immuno-enzymatiques sont des techniques de détection des antigènes microbiens basées sur l'utilisation d'anticorps spécifiques. Ces anticorps peuvent être couplés à une enzyme, qui produit un signal mesurable, tel qu'une coloration ou une luminescence, lorsqu'elle est mise en contact avec son antigène cible.

Types de méthodes immuno-enzymatiques:

- **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay):** L'ELISA est une méthode couramment utilisée pour la détection d'anticorps ou d'antigènes dans un échantillon. L'anticorps ou l'antigène est fixé à un support solide, puis un anticorps secondaire conjugué à une enzyme est ajouté. L'enzyme produit un signal mesurable après l'ajout d'un substrat spécifique.

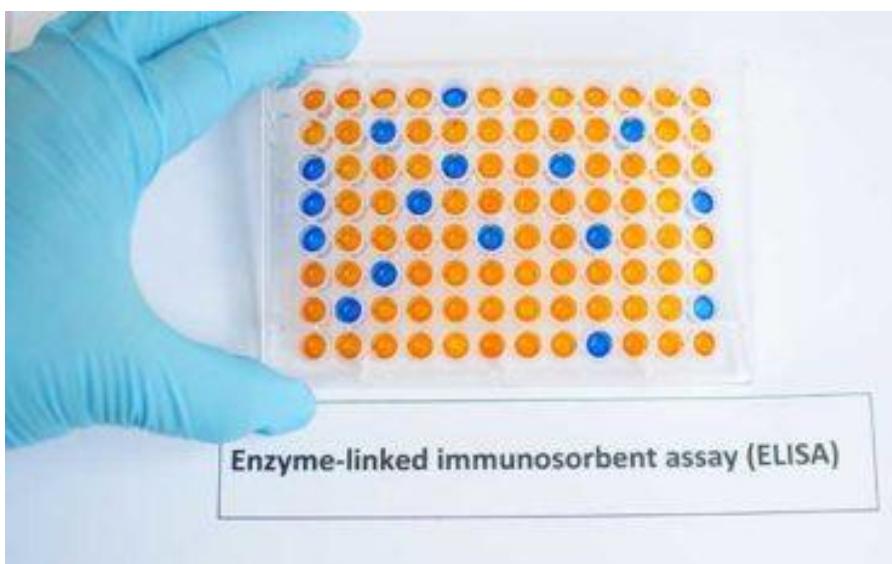


Figure 12: Exemple de test ELIZA.

- **Tests immunochromatographiques:** Les tests immunochromatographiques sont des tests rapides et faciles à utiliser qui reposent sur le principe de l'ELISA. Ces tests utilisent des bandelettes réactives sur lesquelles sont fixés des anticorps spécifiques. L'échantillon à tester est ajouté à la bandelette, et le signal est visible en quelques minutes.

³⁸ Codex Alimentarius. (2023). Manual on the Hygiene and Quality Control of Frozen Fish.

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

Principe d'action du test immunochromatographique

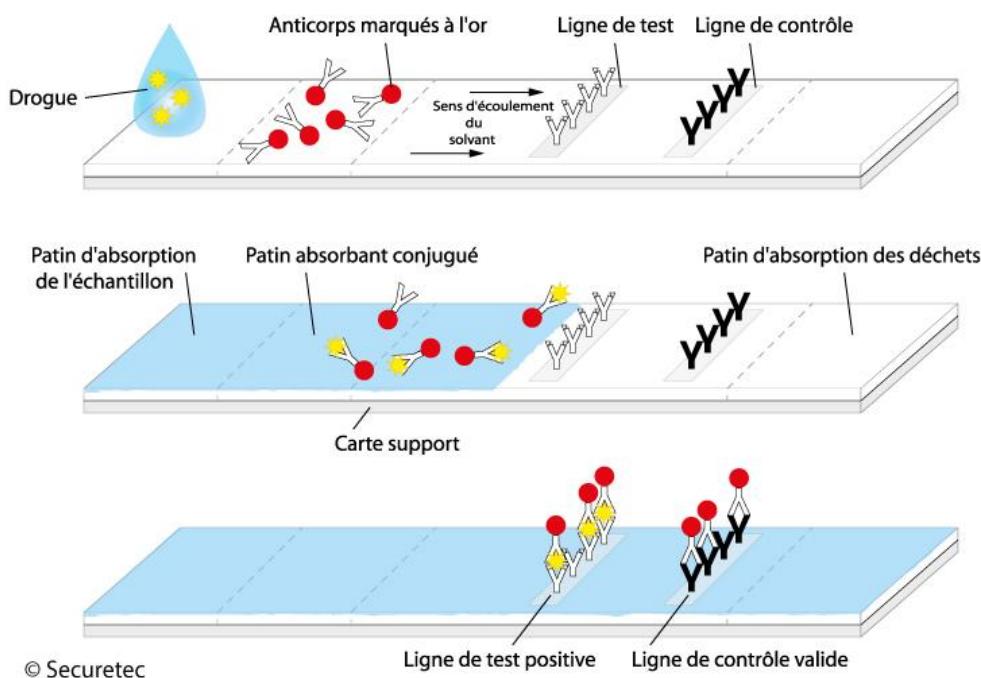


Figure 13: Exemple de test immunochromatographie.

Applications:

- **Détection de pathogènes:** Les méthodes immuno-enzymatiques peuvent être utilisées pour détecter la présence de pathogènes dans les aliments, tels que *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*.
- **Dosage des toxines:** Les méthodes immuno-enzymatiques peuvent être utilisées pour doser les toxines produites par certains micro-organismes, telles que les aflatoxines et les mycotoxines.
- **Surveillance de l'environnement:** Les méthodes immuno-enzymatiques peuvent être utilisées pour surveiller la présence de micro-organismes dans l'environnement, tels que les bactéries indicatrices de contamination fécale.

Normes et réglementations :

Algérie :

- **Norme NF V01-004:** Méthodes d'analyse microbiologique des denrées alimentaires ([Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire, 2003]).
- **Décret n° 98-234 du 24 août 1998:** Fixant les conditions d'hygiène et de salubrité applicables aux produits de la pêche et de l'aquaculture ([Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire, 1998]).

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

- **Arrêté du 24 août 2003:** Fixant les limites microbiologiques applicables aux produits de la pêche et de l'aquaculture ([**Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire, 2003**])³⁹.

International :

- **Codex Alimentarius:** Recueil de normes internationales pour les denrées alimentaires.
- **Codex Alimentarius CAC/RCP 52-2003:** Code d'usages international pour l'inspection et la certification des produits de la pêche ([**FAO/OMS, 2011**]).
- **Codex Alimentarius CXC 5-1987:** Principes généraux d'hygiène alimentaire ([**Codex Alimentarius, 2023**]).
- **Règlement (CE) n° 2073/2005:** relatif aux critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- **Annexe I:** Critères microbiologiques applicables aux produits de la pêche ([**Journal officiel de l'Union européenne, 2005**]).
- **ISO 17025:** Norme internationale pour les laboratoires d'essais et d'étalonnage ([**International Organization for Standardization, 2017**]⁴⁰).

Tableau 6: Méthodes d'analyses microbiologiques des poissons et des produits de la pêche.

Méthode	Principe	Application
Dénombrement total des bactéries	Numération des colonies sur milieux de culture	Estimation de la charge microbienne globale
Recherche de micro-organismes spécifiques	Milieux de culture sélectifs, PCR, séquençage	Détection de micro-organismes pathogènes ou d'altération
Tests de sensibilité aux antibiotiques	Détermination de la sensibilité des micro-organismes aux antibiotiques	Evaluation de l'efficacité des traitements antibiotiques

³⁹ Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire, 2003

⁴⁰ International Organization for Standardization. (2017). ISO 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: International Organization for Standardization..

Chapitre II : Méthodes d'évaluation de la contamination microbienne.

Conclusion

L'évaluation de la contamination microbienne des produits de la pêche est une étape essentielle pour garantir la sécurité sanitaire des aliments. Les différentes techniques d'échantillonnage, de détection et de quantification des micro-organismes permettent de garantir la qualité des produits de la pêche et de protéger la santé des consommateurs.

**Chapitre III : Prévention et Impact de la
contamination microbienne sur la
santé publique.**

Chapitre III : Prévention et Impact de la contamination microbienne sur la santé publique.

Introduction

La contamination microbienne des poissons et produits de la pêche est un problème de santé publique majeur qui touche toutes les régions du monde (**OMS, 2023**). En effet, la consommation de produits contaminés peut entraîner des toxicoinfections alimentaires d'origine marine (TIAM), qui peuvent avoir des conséquences graves, voire mortnelles (**FAO/OMS, 2011**)⁴¹.

Ce chapitre abordera les différents aspects de la contamination microbienne des poissons et produits de la pêche, en mettant l'accent sur les agents pathogènes responsables, les symptômes et les conséquences des TIAM, les méthodes de surveillance et d'épidémiologie, ainsi que les risques spécifiques liés à la consommation de certains types de poissons et produits de la pêche.

Toxi-infections alimentaires d'origine marine (TIAM) :

Les TIAM sont des maladies d'origine alimentaire causées par la consommation de poissons et produits de la pêche contaminés par des micro-organismes ou leurs toxines. Les agents pathogènes responsables des TIAM peuvent être des bactéries, des virus ou des parasites.

Agents pathogènes responsables :

Les TIAM peuvent être causées par divers agents pathogènes, dont :

Bactéries:

- **Vibrio cholerae:** responsable du choléra ([**OMS, 2023**])⁴².
- **Salmonella spp.:** responsable de salmonellose ([**FAO/OMS, 2011**]).
- **Listeria monocytogenes:** responsable de la listériose ([**CDC, 2023**])⁴³.
- **Escherichia coli (E. coli):** responsable de différentes pathologies (syndrome hémolytique urémique (SHU), gastro-entérite) ([**OMS, 2023**]).

Virus:

- **Norovirus:** responsable de la gastro-entérite virale ([**CDC, 2023**]).
- **Virus Hepatite A (VHA):** responsable de l'hépatite A ([**OMS, 2023**]).

⁴¹ Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) & World Health Organization (WHO). (2011). Seafood safety and quality.

⁴² OMS. (2023). *Chemical hazards in food*. Genève: Organisation mondiale de la Santé.

⁴³ CDC. (2023). *Foodborne Illnesses*. Centers for Disease Control and Prevention.

Chapitre III : Prévention et Impact de la contamination microbienne sur la santé publique.

Parasites:

- **Anisakis simplex**: responsable de l'anisakiase ([FAO, 2018]).
- **Giardia lamblia**: responsable de la giardiase ([CDC, 2023]).

Symptômes et conséquences :

Symptômes:

Les symptômes des TIAM varient selon l'agent pathogène responsable, mais peuvent inclure :

- Diarrhée.
- Vomissements.
- Douleurs abdominales.
- Fièvre Nausées.
- Céphalées.
- Frissons.

Conséquences:

- Déshydratation.
 - Fatigue.
 - Troubles digestifs.
 - Complications plus graves dans certains cas (hospitalisation, décès).
- La défaillance rénale et le syndrome de Guillain-Barré.

*Dans certains cas, les TIAM peuvent être graves, voire mortelles, en particulier chez les personnes fragiles comme les jeunes enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées.

Tableau 7: Agents pathogènes responsables des TIAM et leurs symptômes.

Agent pathogène	Symptômes
<i>Vibrio cholerae</i>	Diarrhée aiguë, vomissements, déshydratation
<i>Salmonella spp.</i>	Fièvre, diarrhée, douleurs abdominales
<i>Escherichia coli</i>	Diarrhée, douleurs abdominales, nausées
<i>Listeria monocytogenes</i>	Méningite, septicémie, avortement
Norovirus	Gastro-entérite

Chapitre III : Prévention et Impact de la contamination microbienne sur la santé publique.

Rotavirus	Gastro-entérite
Hepatitis A virus	Hépatite

Méthodes de surveillance et d'épidémiologie :

La surveillance des TIAM est essentielle pour identifier les sources de contamination et prévenir de nouvelles épidémies. Les méthodes de surveillance comprennent :

La surveillance des cas de TIAM par les systèmes de santé publique.

Le prélèvement et l'analyse d'échantillons de poissons et produits de la pêche.

Les enquêtes épidémiologiques pour identifier les sources de contamination.

Risques spécifiques liés à la consommation de poissons et produits de la pêche :

Certains types de poissons et produits de la pêche présentent des risques spécifiques pour la santé publique.

- Poissons scombéroïdes et histamine :

Les poissons scombéroïdes, tels que le thon, le maquereau et le bonite, peuvent contenir des niveaux élevés d'histamine s'ils ne sont pas réfrigérés ou congelés rapidement après la capture. La consommation de poisson scombéroïde contaminé par l'histamine peut entraîner une intoxication histaminique, qui se caractérise par des symptômes tels que des démangeaisons, des rougeurs cutanées, des maux de tête, des nausées et des vomissements ([EFSA, 2023]).

Symptômes:

- Picotements et rougeurs de la peau.
- Maux de tête.
- Hypotension.
- Difficultés respiratoires.
- Troubles digestifs.

- Bio toxines marines :

Les bio toxines marines sont des toxines produites par des algues microscopiques. Ces toxines peuvent s'accumuler dans les poissons et produits de la pêche qui consomment ces algues.

Types de bio toxine:

- Paralytiques
- Diarrhéiques
- Amnésiantes

Chapitre III : Prévention et Impact de la contamination microbienne sur la santé publique.

- Neurotoxiques

Symptômes:

- Diarrhée.
- Troubles de la mémoire.

- Troubles neurologiques.

* Certaines algues marines produisent des biotoxines qui peuvent être accumulées par les poissons et les crustacés. La consommation de ces produits contaminés peut causer des intoxications alimentaires graves, voire mortelles.

Conséquences :

.La paralysie amnésique à mollusque

(PSP).

.La ciguatera et l'empoisonnement à la scombrotoxine.

Contaminants chimiques :

- **Métaux lourds:** mercure, plomb, cadmium ([OMS, 2023]).
- Dioxines et furannes ([EFSA, 2023]).
- Polychlorobiphényles (PCB) ([OMS, 2023]).

Risque:

- Troubles neurologiques.
- Troubles du développement.

- Cancer.

*Les poissons et produits de la pêche peuvent également être contaminés par des polluants chimiques, tels que les dioxines et les furannes, qui peuvent avoir des effets néfastes sur la santé à long terme.

Conclusion

La contamination microbienne des produits de la mer représente un enjeu majeur de santé publique. Des mesures de prévention et de surveillance sont essentielles pour garantir la sécurité des aliments et protéger la santé des consommateurs.

Partie II : Partie Expérimentale

Chapitre IV :

Matériel et

Méthodes

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Objectif :

Le but de ce travail est d'évaluer la qualité microbiologique des poissons Sardina connu sous le nom de Sardina pilchardus commercialisés dans la ville de Saida.

Matériels et Méthodes :

Pour effectuer le travail, nous avons utilisé le matériel suivant :

Matériels et Verreries :

- Flacons Stériles
- Tubes à vise stériles
- Lames
- Boites de Pétri
- Pipettes Pasteur
- Micropipette (0,1-1ml)
- Chauffe-Ballon électrique
- Ustensiles stériles (Cuillères, Ciseaux, Pinces, Couteaux)
- Portoirs
- Des gants stériles
- Allumettes ou briquet
- Anses de Platine
- Embouts
- Bain Marie

Milieux de Culture :

- Gélose PCA (Plate Count Agar)
- Gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose)
- Gélose Baird Parker
- Gélose Hektoen
- Gélose Saboroud
- Gélose Chapman
- Gélose Nutritive (GN)
- Bouillon Nutritif (BN)

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

- Saboroud liquide
- Eau Péptonée Tamponnée (EPT)
- Eau Physiologique
- L'eau distillée stérile pour préparer les milieux

Matériels de Stérilisation :

- Bec bunsen
- Autoclaves
- Four Pasteur

Matériels de conservation et d'incubation :

- Incubateurs (30°C, 37°C, 42°C, 44°C)
- Réfrigérateur
- Glacière

Matériels de pesée et d'homogénéisation :

- Balance de précision
- Agitateur en plaque chauffante
- Vortex

Réactifs :

- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool à 75%
- Fuchsine
- TDA
- Kovac
- VPI, VPII
- L'eau Oxygénée
- Disques Oxydase
- Bleu de méthylène

Période et Lieu de Stage :

La période d'étude s'est étalée du 14 Avril au 4 Juin, l'étude et Analyse microbiologique sont réalisées aux niveaux de Laboratoire de l'Université de Saida.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Choix d'espèce :

L'espèce de poisson a été sélectionné c'est *Sardina* (*Sardina pilchardus*) pour sa consommation par la population et sa disponibilité au moment d'étude.

Sardina pilchardus, le nom vernaculaire Sardine ont un corps ovale allongé et comprimé avec une nageoire dorsale située un peu en avant du milieu du corps, ce dernier a des nageoires pelviennes sous la base et la surface du corps est recouverte de grandes écailles faciles à faire tomber et il y a des taches noires sur le dessus des deux côtés (**Berramdan et Kaddouri, 2021**).



Figure 14: L'espèce commercialisée sur le marché de Saida (*Sardina pilchardus*).

Echantillonnage :

Afin avoir défini le plan d'échantillonnage et préparé le matériel, nous avons procédé à des prélèvements aseptiques par commodité.

Le processus d'échantillonnage s'est déroulé à la 1^{er} fois ; les échantillons utilisés pour l'analyse microbiologique collectés le 16/04/2024 environ 10 :30 le matin de façon aléatoire hasard placés dans des sacs à fermeture stérile et transportés dans une glacière remplie par des glaces au laboratoire d'analyse.

L'étude repose sur l'analyse microbiologique et biochimique, la figure illustre le plan d'étude.

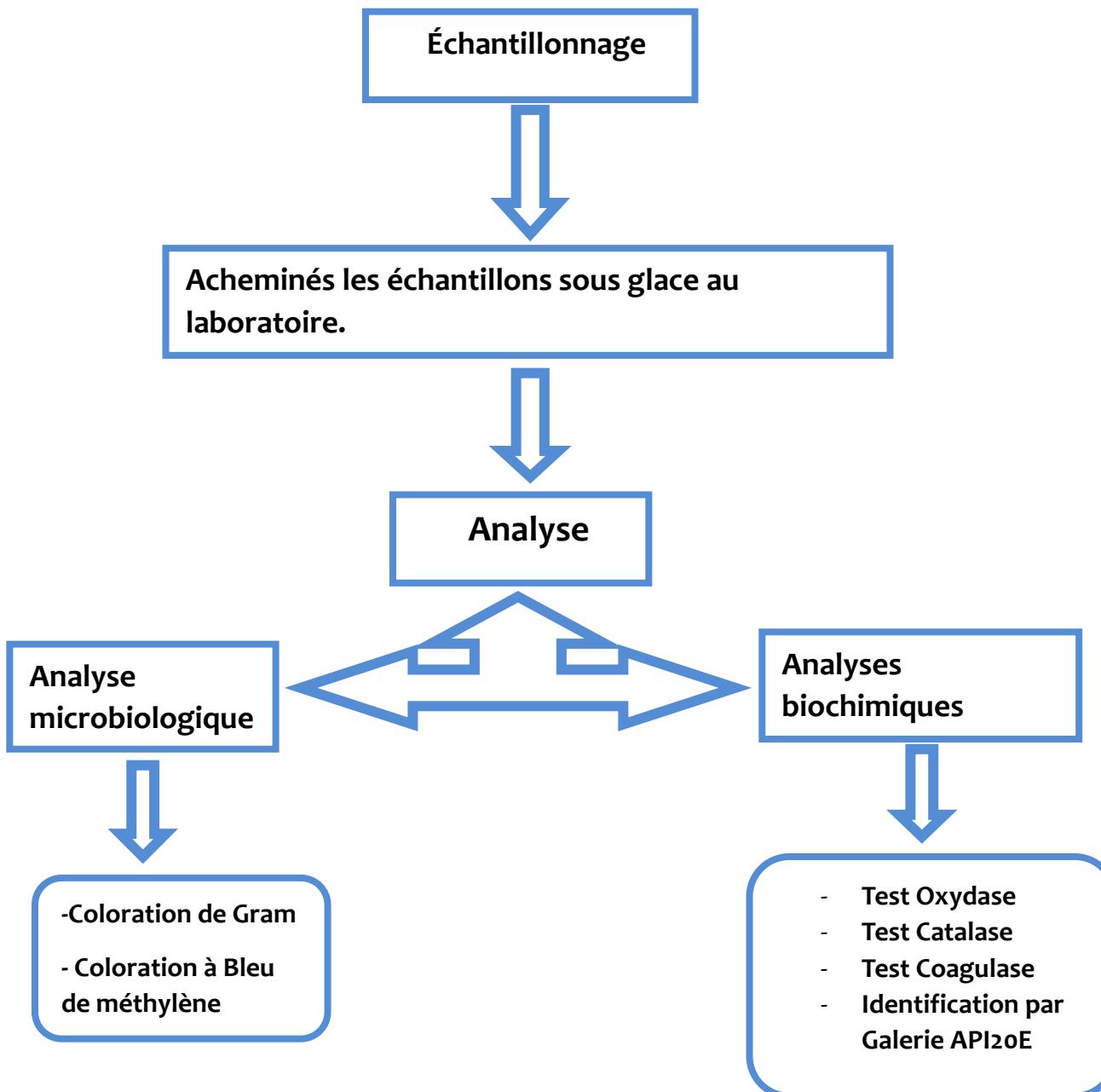


Figure 15: Plan approuvé avec les différentes analyses appliquées.

Transport et conservation :

Pour stabiliser qualitativement et quantitativement la flore présente au moment du prélèvement et aussi depuis le prélèvement jusqu'au traitement de l'échantillon, nous avons pris les précautions suivantes : immédiatement après le prélèvement, les échantillons ont été placé dans un contenant (Glacière) à mettre au congélateur assurant une conservation entre 0°C et 4°C. Les échantillons ont été alors acheminés directement au laboratoire PFE de la faculté SNV de l'Université de Dr. Moulay Tahar, Saida.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Analyses microbiologiques :

Un critère microbiologique est « un ensemble d'éléments qualitatifs et quantitatifs définissant les caractéristiques essentielles attendues d'un produit donné et qu'il est possible d'atteindre par des interventions appropriés".

Protocole d'analyse bactériologique :

Le but principal de présent travail est d'évaluer le niveau de contamination microbiologique des poissons commercialisés dans la ville de Saida.

Selon la réglementation Algérienne en vigueur, les germes recherchés lors de l'évaluation des critères microbiologiques des poissons et de leurs produits dérivés sont :

- La flore aérobie mésophile totale (FTAM) .
- Coliformes Fécaux et Totaux (CF, CT).
- Staphylocoques.
- Salmonelle.

Mode de prélèvement :

Le résultat d'analyses microbiologiques repose essentiellement sur les techniques de prélèvement. Le prélèvement se fera alors avec un double souci :

- **Le souci statistique :** de faire un prélèvement représentatif de la denrée étudiée.
- **Le souci bactériologique :** de ne pas modifier la microflore des produits étudiés.

Matériels d'étude :

Les matériels et équipements utilisés pour ces analyses sont :

Matériels de prélèvement :

- Gants stériles.
- Sacs stériles.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Matériels de laboratoire :

Sont classés en trois catégories :

- **Les verreries** (ballon, tube à essais, pipette, boite de Pétri... etc).
- **Les petits matériels** (Bec bunsen, vortex, balance de précision... etc).
- **Les gros matériels** (étuve, autoclave , bain marie... etc).

Milieu de culture :

Les microorganismes ont besoin d'apport nutritionnel indispensable à leur développement, il existe de nombreux milieux de culture qui permettent ce développement ainsi que la conservation, l'isolement et la sélection de ces microorganismes, les milieux utilisés sont tous des milieux solides classés en deux grands groupes :

- a) **Les milieux électifs** : milieu de culture qui favorise la croissance de micro-organismes particuliers en limitant celle de micro-organismes indésirables ou en avantageant seulement celle des micro-organismes recherchés.
 - EPT (Eau peptonée Tamponnée), PCA (Plate Count Agar).
- b) **Les milieux sélectifs** : milieu de culture qui favorise la croissance de micro-organismes particuliers en excluant celle des autres micro-organismes.
 - Hektoën Enteric Agar (HEA), Violet Red Bile Lactose (VRBL), Baird Parker (BP), Chapman.

Préparation des milieux de culture utilisée :

Choisir le type de milieu de culture adapté aux micro-organismes que l'on souhaite cultiver.

- Utiliser une balance de précision pour obtenir une mesure exacte.
- Peser soigneusement la quantité de poudre de milieu de culture.

Dissoudre la poudre de milieu de culture dans l'eau distillée.

- Mélanger vigoureusement à main jusqu'à obtenir une solution homogène.
- A l'aide d'une plaque chauffante et un barreau magnétique chauffer légèrement jusqu'à voir la vapeur.

- Répartir le milieu dans des flacons stériles.
- Stériliser le milieu de culture par autoclavage.
- Il est important de vérifier la stérilité du milieu de culture après la stérilisation.

Figure 16: Chaine de fabrication de milieu de culture.



Figure 17: Préparation de milieu de culture.

Tableau 8: Les milieux de culture étudiée pour les bactéries (FTAM,CF,CT Staph,Levure et moisissure , Salmonella et Shigella).

Les milieux de cultures	Les germes étudiés
PCA (Plate Count Agar)	Flore aérobie mésophile totale
VRBL (Violet Red Bile Lactose)	Les coliformes fécaux et totaux (CF, CT)
Chapman Baird-Parker	Staphylocoques(Staph)
Sabouraud	Levure et moisissure
Hektoen	Salmonella et Shigella

Préparation de la prise d'essai et les dilutions :

- Préparation des quantités (6 échantillons) d'espèce *Sardina pilchardus* .
- Six sardines ont été prélevées de manière aléatoire avec des gants stériles.
- Chaque paire de sardine a été placée dans un sac stérile hermétiquement fermé distinct.

Traitement des échantillons:

- **Sac 1:** Les sardines ont été laissées fraîches et utilisées immédiatement pour les isolements et les tests.
- **Sac 2:** Les sardines ont été congelées à -18°C pendant 24 heures, puis décongelées et utilisées pour l'isolement.
- **Sac 3:** Les sardines ont été laissées à température ambiante (environ 25°C) pendant 48 heures pour qu'elles se contaminent, puis utilisées pour l'isolement.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

- La procédure de pesée a été réalisée dans des conditions d'asepsie, nous avons pesé une quantité de 20 g de poisson puis on le broyé et mélanger dans 180 ml d'eau peptonée tamponnée stérile (EPT).
- La suspension obtenue constitue la dilution mère.
- Nous avons transféré aseptiquement 1 ml de la solution mère dans un nouveau tube contenant 9 ml de diluant (Eau physiologique) stérile, cette dilution constitue alors la dilution 10-1, mélangée soigneusement à l'aide d'un vortex.
- De la même façon, nous avons transféré aseptiquement 1 ml de la dilution 10-1 dans un nouveau tube contenant 9 ml de diluant (Eau physiologique) stérile pour obtenir la dilution 10-2.
- Nous avons donc une dilution mère et deux dilutions décimales contenant chacune les bactéries en suspension, qui ont servi aux recherches et dénombrement des différentes flores.

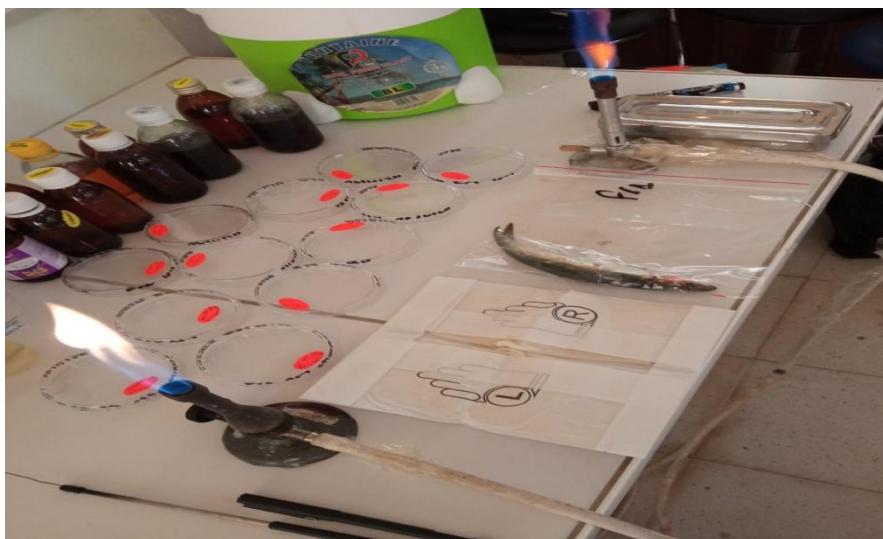


Figure 18: Préparation de la zone d'asepsie.



Figure 19: Préparation de la solution mère.

L'étape de l'ensemencement :

Inoculation en microbiologie : introduire un inoculum bactérien dans un milieu de culture stérile (bouillon ou gélose, etc.). À l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse de platine .Les étapes sont suivante :

- Préparer une zone stérile en plaçant autour du bec bunsen le matériel nécessaire : boites de Pétri, pipettes stériles, gélose en surfusion, Solution mère et les 2 dilutions décimale.
- Laisser le milieu refroidir à 45°C.
- Ensemence sur les milieux dans une boîte de Pétri.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes



Figure 20: Préparation de la zone d'asepsie (Photo personnelle).

Méthodes d'ensemencement :

Nous avons représenté la méthode de la recherche des germes : FTAM, CF, CT, Staph dans le diagramme suivant :

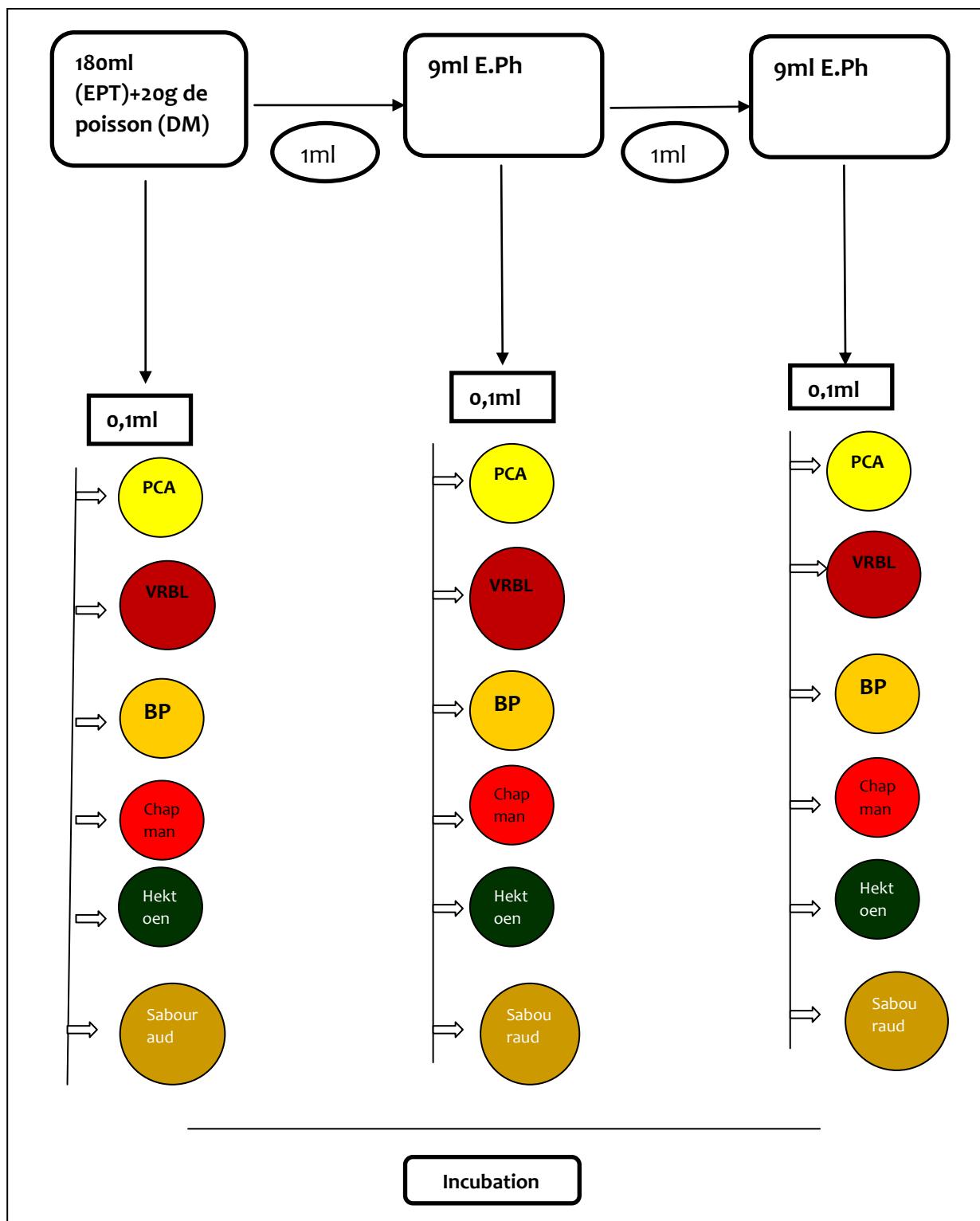


Figure 21: Diagramme représente la méthode de recherche FTAM, CF, CT, SCP.

L'étape de l'incubation :

- Placer les boîtes à l'étuve à 37°C (incuber les boîtes couvercle vers le bas pour que la condensation s'accumule dans le couvercle)

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

- Retirer 22 à 24 heures après.

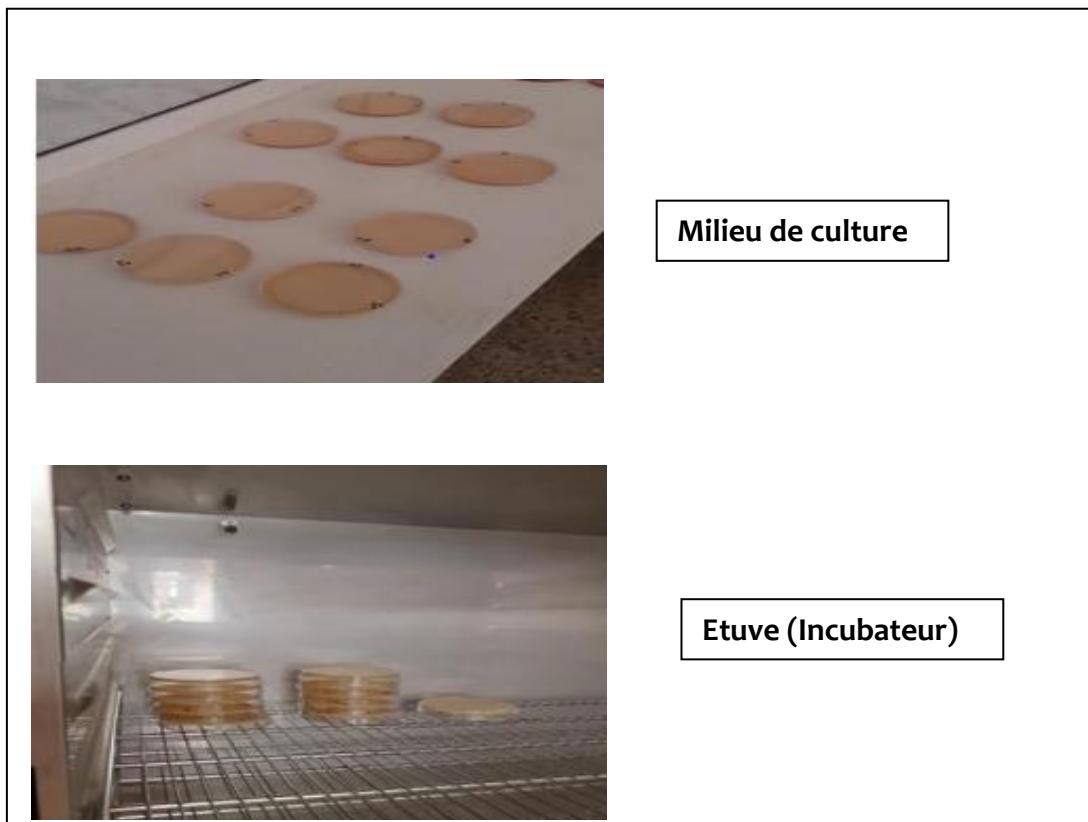


Figure 22:L'étape de l'incubation.

Recherche et dénombrement de la Flore aérobie mésophile totale :

La recherche de la flore aérobie mésophile totale est réalisée dans la zone d'asepsie. Le milieu de culture utilisé pour la recherche est la gélose P.C.A (Plate Count Agar). Les ensemencement sont effectués en surface à partir de la Solution mère et dilution 10-1 et dilution 10-2. Ainsi 0,1ml de chaque dilution est prélevé puis introduit dans les boîtes de pétri pré-coulées. Ensuite, l'inoculum est soigneusement étaler le plus rapidement possible à la surface de la gélose. L'incubation se fait à l'étuve (incubateur) à 30°C pendant 72 heures et les germes apparaissent sous forme de colonies de tailles et formes différentes.

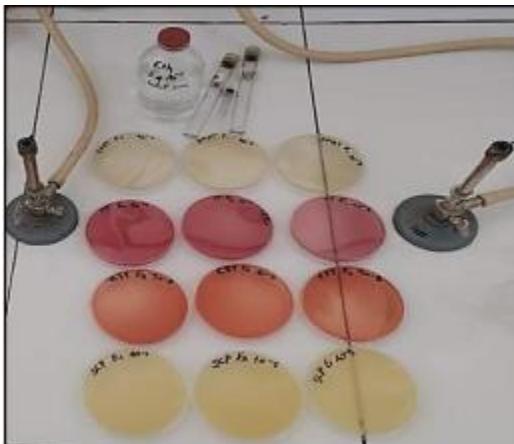


Figure 23: Le protocole utilisé pour la recherche des germes (Photo personnelle).

Mode de calcul NPP(Dénombrément des germes) :

Le dénombrement des bactéries repose sur le principe selon lequel une colonie se forme par divisions d'un seul micro-organisme. Pour la lecture des résultats, il faut retenir 2 dilutions successives (plus fortes dilutions) où le nombre de colonies dénombrées est compris entre 30 et 300 colonies. Pour le calcul nous avons utilisé la formule mathématique suivante:

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1+n_2, 0, 1) d}$$

- N : nombre d'UFC par gramme de produit.
- $\sum C$: Sommes des colonies des boîtes comptabilisées.
- V : volume de l'inoculum utilisé (0,1ml).
- n₁ : Nombre de boîtes de pétri considérées à la première dilution retenue.
- n₂ : Nombre de boîtes de pétri considérées à la deuxième dilution retenue.
- d : facteur de la première dilution retenue.

Ceci est valable pour tous les autres dénombremnts.

Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et thermo tolérants(Fécaux) :

Les coliformes totaux et thermo tolérants possèdent la propriété de fermenter le lactose en présence de sels biliaires avec dégagement de gaz. Le milieu de culture utilisé pour la recherche des CT, CF est le VRBL (**Violet Red Bile Lactose**).

L'ensemencement se fait en surface. Nous avons prélevé aseptiquement 0,1 ml de chaque dilution et nous les avons déposés dans les boîtes pré-coulées et ensemencé l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile (Anse de platine). Puis nous avons placé les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 44°C pendant 48 heures.

Recherche et dénombrement des Staphylococcus :

Le milieu de culture utilisé pour la recherche des SCP, à partir des produits alimentaires est le Baird Parker (c'est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à l'énumération des SCP) avec l'incubation à 37°C pendant 48 heures. Nous avons

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

préparées le milieu Baird Parker mais sans additionnement de ; j'aune d'œuf qui est un (élément nutritif et révélateur enzymatique) et de tellurite de potassium qui est un agent sélectif et indicateur de réduction. La préparation de cette milieu est très difficile alors on a préparées d'autre milieu qui s'appel Chapman mais l'ensemencement se fait avec les deux milieux.

L'ensemencement se fait en surface, nous avons ajouté à l'aide d'une micropipette, 0,1 ml de la solution mère et des dilutions décimales successives (10-1, 10-2) et étale soigneusement l'inoculum à la surface de gélose sans toucher les bords avec un étaleur stérile (Anse de platine). Ensuite les boîtes sont transférées à l'incubateur (étuve) à 37°C pendant 48 heures.

Recherche et dénombrement des Salmonelles :

Les Salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Elles peuvent provoquer de très graves toxi-infections alimentaires d'où l'intérêt de leur recherche dans les poissons.

L'analyse de la recherche de *Salmonella* dans le poisson Sardina est effectuée en utilisant 20g d'aliment homogénéisé dans 180ml de diluant de pré-enrichissement : Eau Péptonée Tamponnée, puis on prépare la solution mère et des dilutions décimales successives (10-1, 10-2). Ensuite, nous avons ensemencé à l'aide d'une micropipette 0,1ml de la solution mère et des dilutions sur un milieu sélectif qui est la gélose Hektoen. Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

Recherche des levures et moisissures :

Les levures et les moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur un milieu inhibiteur pour les bactéries aérobies (gélose Sabouraud), forment des colonies après une incubation à 20 °C pendant 5 jours.

Méthodes :

- Couler trois boites de Pétri par la gélose Sabouraud et laisser solidifier, prélever une prise d'essai de 0,1 mL de l'échantillon à analyser et ensemencer en surface par étalage en surface des boites.
- Incuber les boites à 20 - 25 °C pendant 7 jours.
- Après l'incubation, nous avons obtenues des cultures mélange (dans une même boite de pétri nous avons observés plus que de 3 espèces), alors il faut purifier les souches contaminés.
- Pour purifier les souches qu'on a obtenues il faut faire : **Le repiquage (La purification).**
- Avant de faire le repiquage on a codée toutes les souches qu'on a obtenues.
Repiquage : Réensemencement de culture pure dans un milieu de culture neuf. Le repiquage des bactéries est nécessaire pour obtenir un nombre de bactérie correcte pour les analyses, cette méthode se fait par la culture de bactéries dans un milieu nutritif à 30°C- 37°C pendant 24 heures.

Méthodes :

Stérilisation des tubes à essais :

La stérilisation des tubes se fait dans un matériel appelée **Four pasteur**. C'est un four - étuve à air chaud et sec. Il est utilisé pour la stérilisation de la verrerie vide (tubes à essai, boîtes de Pétri, tubes à culture et bouchons, pipettes Pasteur et récipients divers).

- Les tubes à stériliser doivent être propres et parfaitement sèches, éventuellement emballées dans du papier solide. Elle est alors disposée à l'intérieur du four et subit un chauffage de : 30 minutes à 180°C. Les tubes ainsi stérilisés seront laissés dans l'étuve jusqu'à son refroidissement complet, puis stockés.

Préparation de Bouillon Nutritif(BN) et Sabouraud liquide :

Le temps de stérilisation des tubes ont été préparés le BN pour les souches qui cultives sur les milieux (PCA, Chapman, Hektoen , Baird-Parker, VRBL) et Sabouraud liquide pour les souches qui cultives sur le milieu (Sabouraud).

- Après préparation des milieux ont ramené les tubes stériles et ont réensemencé chaque souche (on a étiqueté chaque code de souche dans chaque tube à essai).

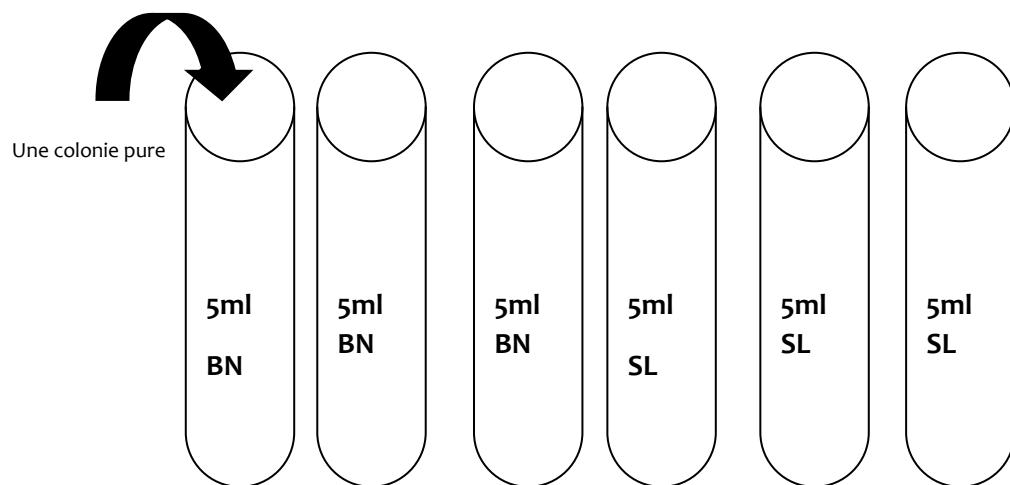


Figure 24:Méthode de repiquage.

- Après réensemencement de chaque souche à l'intérieur de chaque tube on agite bien à l'aide d'un agitateur (Vortex), puis on incube les tubes de milieu BN à 37°C pendant 24h, et les tubes de milieu Sabouraud liquide à 30°C pendant 24h dans un incubateur.
- Après l'incubation, on prépare le milieu GN (Gélose nutritive) et on stérilise dans un autoclave, puis on laisse refroidir à 45°C pour réensemencer les souches cultiver dans des boîtes Pétri à l'aide d'un ensemenceur stérile (Anse de platine).
- Après cette étape on incube les boîtes dans un incubateur à 37°C pendant 24 à 48h pour les souches de milieu BN et à 30°C pendant 3 jours pour les souches de milieu Sabouraud.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Identification :

Identification microbiologique (Etude microscopique) :

Coloration de Gram :

La coloration de gram permet de distinguer 2 grands groupes de bactéries qui se différencient par la nature de leur PAROI. Est réalisée selon le protocole suivant:

- Séchage et fixation des frottis.
- Coloration au Violet de Gentiane. Pendant 1 minute.
- Rinçage.
- Fixation au Lugol. Pendant 1 minute.
- Rinçage.
- Décoloration à l'alcool (Alcool). Pendant 30 secondes.
- Rinçage.
- (Coloration à la Fuchsine). Pendant 15 - 30 secondes.
- Rinçage.
- Observation des résultats (objectif x100 en mettant une goutte d'huile à immersion sur la lame).

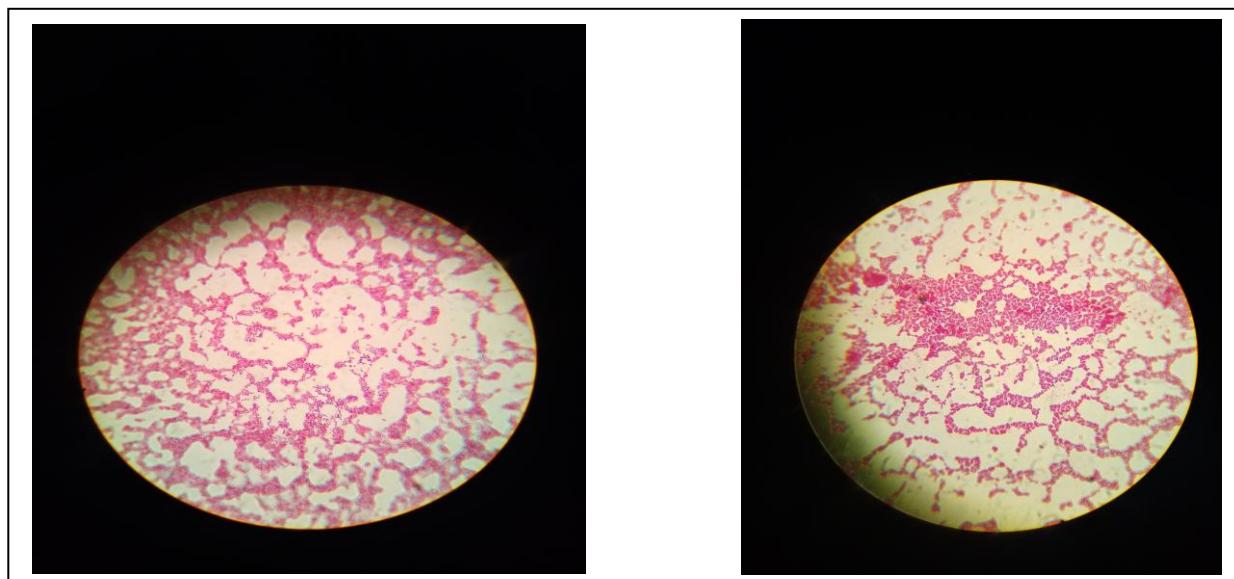


Figure 25:Photo personnelle montrent quelques résultats de coloration de Gram.

Coloration simple (à Bleu de méthylène) :

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons. Les étapes de cette coloration pour observés les champignons sont :

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

Identification biochimique :

Test de Catalase :

Nous avons placé séparément deux gouttes d'eau oxygénée sur une lame de microscope auxquelles nous avons ajouté les souches testées dans une des deux gouttes et l'autre est un témoin, nous avons remarqué après cinq secondes s'il y a ou non des bulles d'oxygène (teste + /-).

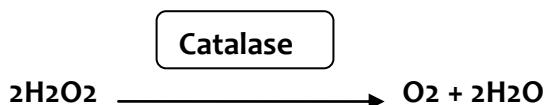


Figure 26: Test de Catalase.

Test Oxydase :

Test de détection du cytochrome oxydase. Ce test permet une identification présumptive de certaines bactéries à Gram (-) qui produisent cette enzyme.

Utilisation :

A l'aide de pince placer un disque d'oxydase sur une lame de microscope, et humidifier à l'aide d'une goutte d'eau physiologique stérile. Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Prélever la colonie choisie à l'aide d'une Anse de platine. Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Test coagulase :

C'est un test biochimique qui détermine si un micro-organisme produit la coagulase d'enzyme de coagulation (d'agglutination). Utiles pour distinguer les différentes espèces de bactéries staphylococcus.

- On prend sang humain hépariné . on centrifuge à l'aide d'une centrifugation pour séparer plasma au sang.
- Puis, on prend 1ml du plasma et on introduire dans des tubes à essais.
- A l'aide d'une Anse de platine stérile on prend une colonie et on met dans le tube et on agit bien à l'aide du vortex.
- Incuber les tubes dans une étuve pendant 24heures à 37°C.

Galerie API20E :

Le système API (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 21 tests biochimiques.

- Après l'identification microbiologique microscopique (Coloration de Gram), on prend tous les bactéries Bacille Gram négative et on réalise l'identification biochimique par la galerie API20E.

Technique :

Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum :

- Prélever à l'aide d'une Anse de platine une colonie pure bien isolé sur milieu gélosé.
- Introduire la colonie dans 5ml d'eau physiologique pour réaliser une suspension bactérienne.

Inoculation de la Galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles
- Pour certains caractères:
- Remplir de suspension le tube et la cupule : CIT, VP, GEL.
- Remplir le tube de suspension et recouvrir d'huile de paraffine : ADH, LDC, ODC, H₂S,URE.

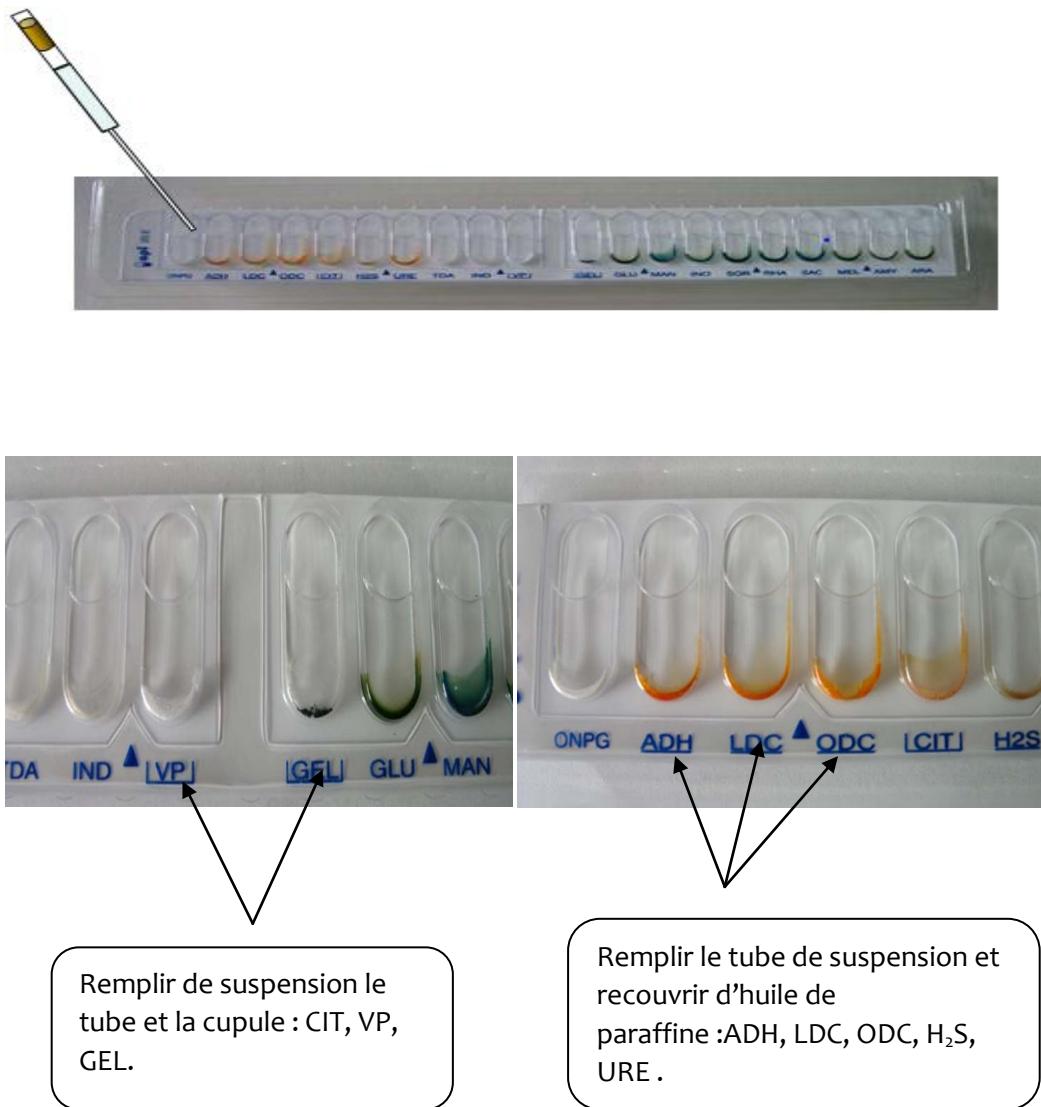


Figure 27: Les étapes d'ensemencement de la galerie API20E.

Identification de la souche :

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

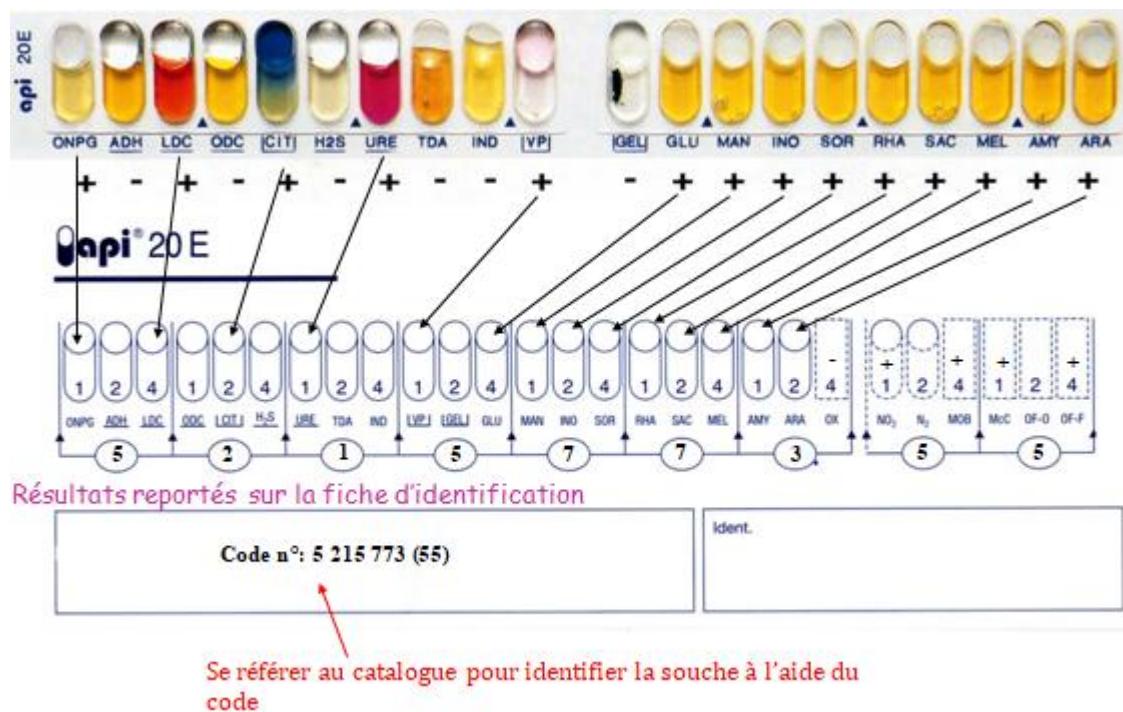


Figure 28: La lecture des résultats de la galerie.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 9:Les résultats de dénombrement des : FTAM,CF,CT,Staph,Salmonelle.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Code	Milieu de culture	Type de poisson	Nombre de colonie compté		Facteurs de dilution	Volume	UFC/g
			10-1	10-2			
D1	PCA (FTAM)	Frais	110	85	10 ²		193,07
D2		Frais	>300	180	10 ²		18000
D3		Congelé	60	35	10 ²		94,06
D4		Contaminé	10	6	/		/
D5		Contaminé	>300	165	10 ²	0,1ml	16500
C1	VRBL (Coliformes)	Frais	10	8	/		/
C2		Contaminé	210	95	10 ²	0,1ml	301,98
C3		Contaminé	40	36	10 ²		75,24

Chapitre V : Résultats et Discussion

B1		Frais	70	30	101		990,09
B2(B)	Chapman (Staphulococcus)	Contaminé	40	25	101		400
B2(J)		Contaminé	35	10	101	0,1ml	350
A1		Congelé	28	18	/		/
A2		Congelé	230	160	102		386,13
A3	Baird-Parker (Staphylococcus)	Contaminé	50	25	101		500
A4		Contaminé	130	56	102	0,1ml	184,16
E1	Hektoen	Contaminé	4	1	/	0,1ml	/

Les résultats obtenus montrent différents niveaux de contamination microbienne selon le type de poisson (Frais, Congelé, Contaminé) et les types de bactéries analysées.

La flore aérobie mésophile totale :

D'après les résultats du dénombrement des Flores mésophiles aérobies totales (**Tableau 9**) montrent les valeurs des FATM des 6 six échantillons pour l'espèce Sardine (Frais, contaminé, congelé). Nous avons trouvées que les valeurs des FTAM pour les poissons frais (193,07 UFC/g) et congelés (94 ,06 UFC/g) sont inférieurs à celle des poissons contaminés(18000UFC/g et 16500UFC/g). Ces résultats indiquent que la contamination augmente considérablement lorsque les poissons ne sont pas stockés correctement ou sont exposés à des conditions insalubres.

Comparés aux normes du Journal Officiel Algérien (entre $10^3 - 10^5$ UFC/g), les poissons frais et congelés se situent bien de ça des limites acceptables, tandis que les poissons contaminés dépassent largement ces seuils, indiquant un risque pour la santé publique.

Chapitre V : Résultats et Discussion

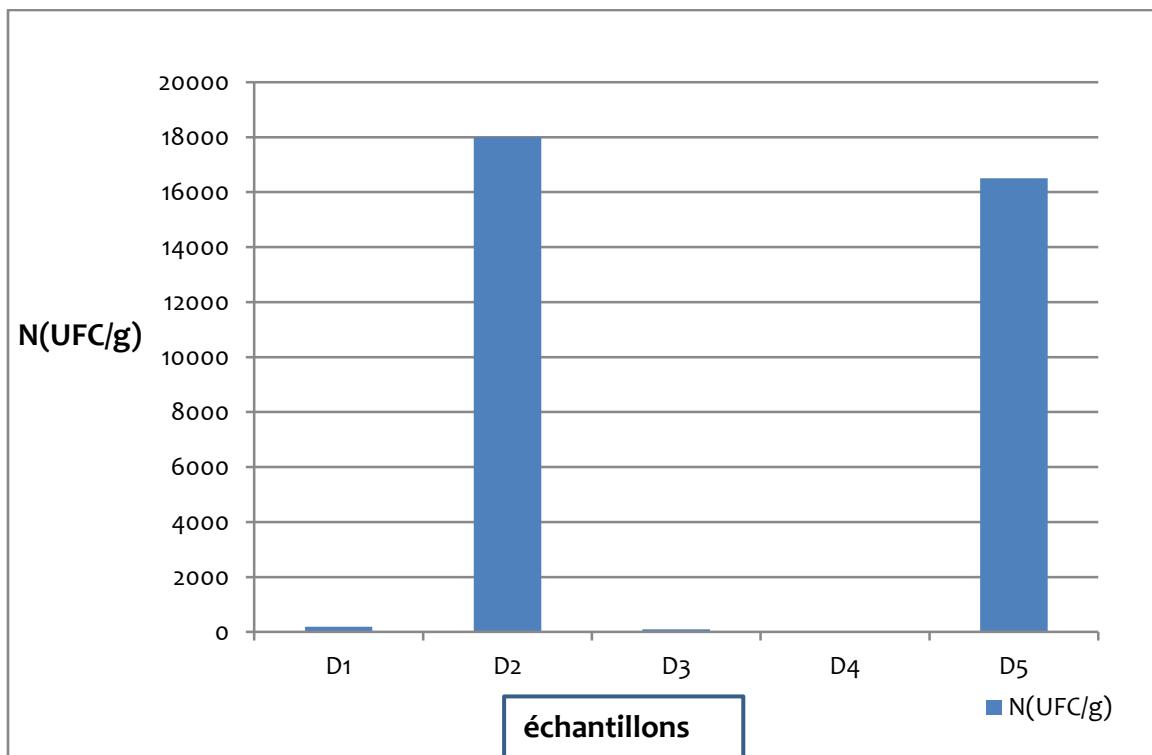


Figure 29: Histogramme des résultats de dénombrement des FTAM.

Les coliformes féaux et totaux :

Selon Blancher (1993), les coliformes féaux sont trouvés dans les eaux usées contaminées, il montre une contamination fécale récente.

- Les résultats montrent que les poissons frais ne contiennent aucun coliforme fécal ou total, ce qui indique une absence de contamination fécale et des conditions de manipulation et de stockage adéquates. Alors, les poissons frais respectent les normes de sécurité alimentaire et ne posent pas de risque significatif pour la santé publique en ce qui concerne les coliformes.
- Pour les poissons congelés, les coliformes féaux et totaux n'ont pas été spécifiquement mentionnés dans les tableaux fournis, mais en général, la congélation est une méthode efficace pour réduire la charge microbienne, y compris les coliformes. Cependant, une surveillance continue est nécessaire pour s'assurer que la chaîne du froid est maintenue de manière rigoureuse. Alors, on comprend que les poissons congelés, s'ils sont manipulés correctement, respectent généralement les normes de sécurité et présentent un risque réduit de contamination par les coliformes.
- Les poissons contaminés présentent des niveaux significatifs de coliformes (301,98UFC/g-75,24UFC/g), ces niveaux sont préoccupants car ils dépassent les seuils acceptables pour les produits de la mer. Selon les normes du Journal Officiel

Chapitre V : Résultats et Discussion

Algérien, la présence de coliformes dans les aliments doit être minimale, généralement bien en dessous de 100UFC/g pour garantir la sécurité alimentaire. La présence de coliformes indique un risque potentiel de contamination par des pathogènes entériques, qui peuvent causer des infections gastro-intestinales graves. Les niveaux trouvés (301,98UFC/g- 75,24UFC/g) dépassent largement les seuils acceptables et représentent un danger pour les consommateurs.

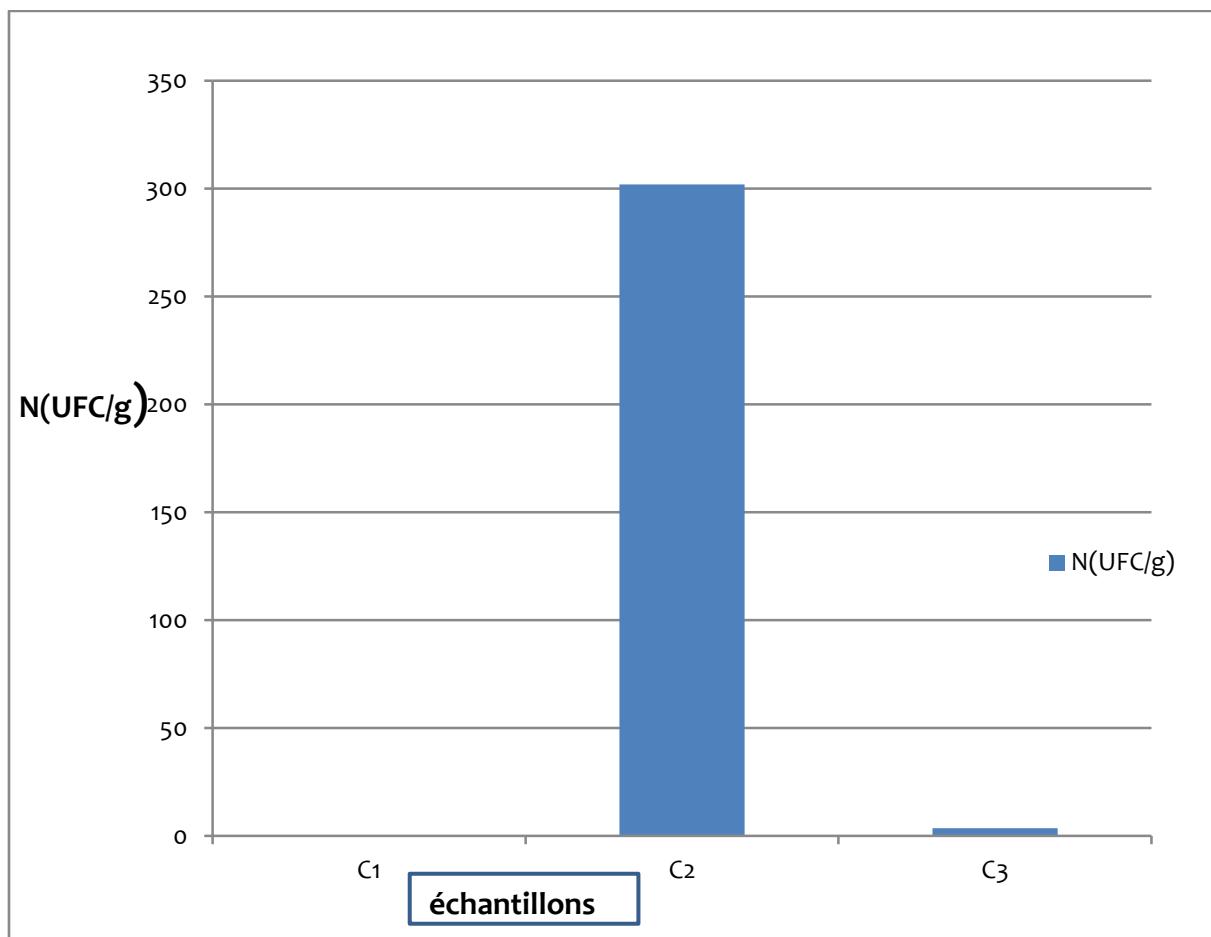


Figure 30: Histogramme des résultats de dénombrement des Coliformes.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Les staphylococcus :

Les analyses ont montré des niveaux de contamination significativement élevés dans les poissons contaminés, atteignant 500UFC/g et 184,16UFC/g . Les *Staphylococcus* spp. Peut produire des toxines potentiellement dangereuses qui, si intégrées par les humains, peuvent provoquer des intoxications alimentaires sévères. Les symptômes incluent des nausées, des vomissements, des crampes, abdominales et parfois même des infections plus graves.

Les niveaux de contamination observés dépassent souvent les limites acceptables définies par les normes de sécurité alimentaire, ce qui souligne l'urgence de mettre en place des mesures préventives rigoureuses.

- En résumé, la détection de niveaux élevés de *Staphylococcus* spp. Dans les poissons souligne la nécessité de mesures préventives strictes pour garantir la sécurité alimentaire et prévenir les risques pour la santé publique.

Les salmonelles :

Les salmonelles sont des bactéries mésophiles, entéro-invasives (**HARIZI, 2009**). Elles sont responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et de toxi-infections alimentaires (TIA) qui se manifestent le plus souvent par des gastro-entérites (**LEZZAR, 2019**).

Le seuil critique « m » fixé par la législation en vigueur pour *Salmonella* est absence dans 25g (**JORADP, 2017**).

Les résultats de contamination des échantillons analysés de Sardine par les salmonelles montrent que tous les échantillons analysés étaient Conforme.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 10: Les résultats d'identification biochimique et microbiologique des germes.

Code	Aspect	Coloration de Gram	Catalase	Oxydase	Coagulase
D1	Cocci	Gram+	+	+	-
D2	Cocci	Gram-	+	-	-
D3	Bacille	Gram-	+	+	-
D4	Cocci en amas	Gram-	+	-	-
D5	Cocci	Gram-	+	-	-
C1	Diplocoque	Gram-	+	-	-
C2	Cocci	Gram-	+	+	-
C3	Cocci	Gram+	+	-	-
B1	Bacille	Gram-	+	+	-
B2(B)	Bacille	Gram-	+	+	-
B2(J)	Cocci	Gram-	-	+	-
A1	Cocci	Gram+	+	+	-
A2	Diplocoque	Gram-	+	-	-
A3	Bacille batonnet	Gram-	-	+	-
A4	Cocci	Gram-	+	-	-
E1	Cocci	Gram-	+	+	-

Le tableau présente les résultats des tests d'identification biochimiques et microbiologiques pour un certain nombre d'isolats bactériens. Les isolats sont identifiés par un code. Les tests effectués incluent : **La coloration de Gram, le test à la catalase, le test à la coagulase et le test à l'oxydase.**

Les résultats des tests d'identification peuvent être utilisés pour identifier les espèces de bactéries présentes dans un échantillon, et peut également être utilisé pour déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Dans l'ensemble, le tableau fournit des informations précieuses sur les bactéries présentes dans un échantillon. Ces informations peuvent être utilisées pour guider le traitement des infections et prévenir la propagation des maladies.

Chapitre V : Résultats et Discussion

Tableau 11: Les résultats de la Galerie API20E.

Référence de la souche	Code	Nomenclature
BA1	1305327	E.coli
E1	3204527	Serratia mercescens
A2	3204063	Klebsiella pneumonia
C1	1205363	Klebsiella oxytoca
B2(J)	7305777	Klebsiella oxytoca
D3	1204024	Salmonella enterica
B2(B)	3217737	E.coli

Conclusion et Perspective

Conclusion et Perspective

La consommation des poissons est très importante; car il se caractérise par une teneur très élevée des micronutriments.

Notre étude nous a permis d'évaluer la qualité microbiologique des poissons Sardine frais connu sous le nom *Sardina pilchardus* est commercialisés dans la ville de Saida selon les critères microbiologiques décrits par l'arrêté interministériel du 2017.

Sur la base des différentes analyses microbiologiques que nous avons faites sur l'espèce sardine commercialisées au niveau du marché de Saida.

L'inventaire montre que le marché d'Adrar est riche en plusieurs espèces comme Merlan, Latcha, Sardine, Bogua, et d'autres espèces.

Sur le plan microbiologique on trouve que la qualité hygiénique du produit étudié et commercialisé n'est pas satisfaisante en raison de la présence des niveaux élevés de bactérie Coliformes dans les échantillons collectés et les résultats incohérents avec l'énorme d'archivage approuvé.

Afin d'obtenir des sardines de meilleure qualité bactériologique, il est crucial de mettre en place les mesures suivantes:

- D'une meilleure hygiène corporelle et vestimentaire des manipulateurs,
- D'une meilleure hygiène des locaux et du matériel utilisé,
- Du respect de la chaîne de froid tout en maintenant le poisson à une température de réfrigération comprise entre 0°C et +4°C.

En conclusion, il est important de préciser les conditions de pêche, le matériel utilisé, les casiers, les sols, les chaînes du froid et les ouvriers sont aussi des sources de contamination. De ce fait, la maîtrise des points clés assure une bonne qualité du poisson. Nous recommandant aussi de changer nos habitudes culinaires et de consommer obligatoirement les produits de la mer dans une période courte après l'achat.

Annexes

Annex A

Tableau : Etude macroscopique des germes.

Milieu	Forme	Contour	Taille	Surface	Couleur	Codage
PCA	Ronde	Irrégulier	1mm	Plat	Blanc avec point noir au centre	D1
PCA	Ovale	Brillante et Irrégulier	0,6mm	Plat	Blanc	D2
PCA	Ronde	Lisse	0,4mm	Plat	Blanc	D3
PCA	Ronde	Régulier et Matte	0,3mm	Pat	Blanc avec point noir au centre	D4
PCA	Ronde	Irrégulier	1mm	Plat	Blanc et crème au centre	D5
VRBL	Ronde	Irrégulier	1,4mm	Plat	Blanc au centre noir	C1
VRBL	Ronde	Régulier	1mm	Plat	Blanc	C2
VRBL	Ronde	Irrégulier	1mm	Plat	Blanc au centre rouge	C3
Chapman	Ronde	Irrégulier	0,3mm	Plat	Blanc	B1
Chapman	Ronde	Régulier	0,1mm	Bombé	Blanc	B2(B)
Chapman	Ronde	Régulier	0,1mm	Bombé	Jaune	B2(J)
Baird-Parker	Ronde	Irrégulier	0,8mm	Plat	Blanc avec centre jaune	A1
Baird-Parker	Ovale	Dentelé	1mm	Botonné	Crèmeuse	A2
Baird-Parker	Ronde	Régulier	1mm	Bombé	Blanc avec centre jaune	A3
Baird-Parker	Ronde	Régulier	0,4mm	Plat	Blanc	A4
Hektoen	Ronde	Régulier	0,3mm	Plat	Verte	E1

Annex B : Photo personnelle



Figure 1.Incubateur (Photo personnelle)



Figure 2.Autoclave (Photo personnelle)



Figure 3. Agitateur en plaque chauffante
(Photo personnelle)



Figure 4. Balance de précision
(Photo personnelle)



Figure 5.Les résultats de recherche et dénombrement des SCP, CT, CF (Photos personnelle)



Figure 6. Les résultats de recherche et dénombrement des FTAM (Photos personnelle)

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- 1) ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). (2021). Poisson : un aliment de choix pour la santé et l'environnement.
- 2) Arrêté interministériel du 2 juillet 2017, publié au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire n° 39 du 8 Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017, fixe les critères microbiologiques des denrées alimentaires.
- 3) Berramane, S et Kaddouri, A.2021. Inventaire des poissons débarqués au niveau du port de BOUZEDJAR (Ain Témouchent). Mémoire de MA. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.
- 4) Blancher, 1993. Microbiologie industrielle et technique documentation .Lavoisier paris
- 5) CDC. (2023). Foodborne Illnesses. Centers for Disease Control and Prevention.
- 6) Codex Alimentarius. (2023). Codex Alimentarius - Food Hygiene. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- 7) EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments). (2014). Scientific opinion on dietary reference values for fats, fatty acids and carbohydrates. EFSA Journal, 12(7), e1462.
- 8) EFSA. (2023). Contaminants in the food chain. European Food Safety Authority.
- 9) FAO/OMS. (2011). Microbiological risk assessment series 17: Microbiological criteria for fish and fishery products. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- 10) FAO. (2018). Fish and food safety: A global overview. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- 11) FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2023). Profil des pêches et de l'aquaculture en Algérie.
- 12) HARIZI K., 2009 – Recherche et Identification des Bactéries Pathogènes Salmonella et Listeria dans les aliments. Mém. Master en Biologie Appliquée. Univ. Gabès, Médenine, 46p.
- 13) ICMSF. (2011). Microorganisms in food 7: Microbiological testing in food safety management. New York: Springer Science & Business Media.
- 14) International Organization for Standardization. (2017). ISO 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: International Organization for Standardization..
- 15) Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). Modern food microbiology. New York: Springer Science & Business Media.
- 16) Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire. (1998). Décret n° 98-234 du 24 août 1998 fixant les conditions d'hygiène et de salubrité applicables aux produits de la pêche et de l'aquaculture.
- 17) Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire. (2003). Arrêté du 24 août 2003 fixant les limites microbiologiques applicables aux produits de la pêche et de l'aquaculture.
- 18) Journal officiel de l'Union européenne. (2005). Règlement (CE) n° 2073/2005 du 15 novembre 2005 relatif aux critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- 19) Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., & Appel, L. J. (2002). Fish consumption, fish oil, and omega-3 fatty acids. Circulation, 106(21), 2747-2757.
- 20) LEZZAR A., KAOUECHE O., ACHAT A., LAOUAR H., BENKHEMISSE M., BENTCHOUALA C. and BENLABED K., 2019 – Les toxi-infections alimentaires

Références Bibliographiques

- collectives. *Journal Algérien de Médecine*, XXVII (4) : 94-98.
- 21) Ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques. (2021). *Statistiques de la pêche et de l'aquaculture en Algérie*. Alger: Ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques.
- 22) Ministère de la Santé. (2018). Situation épidémiologique des maladies transmissibles en Algérie.
- 23) OMS. (2023). *Chemical hazards in food*. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- 24) OMS. (2023). *Toxi-infections alimentaires d'origine marine*. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- 25) Sidwell, V. D. (2014). *Handbook of seafood and fish processing*. Oxford: John Wiley & Sons.
- 26) U.S. Food and Drug Administration. (2023). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*.
- 27) WHO. (2020). *Food safety and foodborne illness*. Geneva: World Health Organization.

Références Bibliographiques