

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

N°...../SNV/20

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KADDOUR CHRIF mahdjouba et BENAHMED racha

Pour l'obtention du diplôme de

Master

En Hydrobiologie Marine et Continentale

**Spécialité: EXPLOITATION ET PROTECTION DES RESSOURCES
MARINES VIVANTES**

THÈME

Etude de la contamination microbiologique des produits de la
pêche (sardina pilchardus) stocké dans entreposage (bois et
plastique) en niveau de port de Mostaganem .

Soutenue publiquement le 09 /06/ 2016 DEVANT LE JURY

Président	Mm. BORSALI .Safia	MCB U. Mostaganem
Encadreur	Mr. GHOMARI Mohamed	MCA U. Mostaganem
Examineur	Mr. BELBACHIR Nor-eddine	MAA U. Mostaganem
Co- encadreur	Mm .TERBACHE Moufida	MAA U.Mostaganem

Dedicaces

Je dédie ce modeste travail a :

- Mes parents, bien aimés pour leur amour et leur soutien
 - Mes frères, **Younes et abdelileh**

- Mes oncles **Abdelkader et Mansour** et ma chère tante **Djamila**

- Mes cousines **Fatiha et Sarah et Iness et Kheira** et mes cousins **Djilali, Mansour, Charef, Mohamed, Riad.**

- Tous mes amis de près et de loin sans exception
Surtout **Slimane et Amin et Sofien** et la fille que je l'aime beaucoup et je l'admire Mahdjouba.

RACHA

Dedicaces

Je dédie ce modeste travail a :

○ *Ma mère Zohra, bien aimés pour leur amour et leur soutien et*

Mon père Mohamed qui est sous la miséricorde de Dieu

○ *A Mes frères : Hamdid, Adda , Mourad , hadj , Molay .*

○ *A mes sœurs : Khadidja , Yamina*

○ *Ames neveux : Morad et Slimane et Abde-nour et Nasro et Amir et Djamel et Ilyas .*

○ *A mes nièces : Fatiha et Imane et Ikram et kanza et Amina et Nora .*

Toute ma famille KADDOUR CHRIF

○ *Tous mes amis de prés et de loin sans Surtout senoune et Sabrina et Amina et Halima et Khaira et la fille que je l'aime beaucoup et je l'admire Racha.*

○ *Tous mes amis d'étude de 1ère année biologie jusqu'au 2ème année Master EPRMV.*

Mahdjouba

Remerciements

Ce travail a été réalisé au département de science de la mer

*Je souhaite avant tout d'adresser mes plus sincères remerciements à **Mr. GHOMARI**. Maître assistant à l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'encadrer ce modeste travail.*

Qu'il me soit permis d'adresser mes vifs et sincères remerciements à

***Melle . BORSALI safia**. Maître assistant à l'université de Mostaganem qui a bien voulu me faire l'honneur de présider mon jury*

*A **Mr Belbachir Nor-addin**. Maître assistant de l'université de Mostaganem de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de l'examiner.*

Un grand merci à tous les travailleurs dans laboratoire de l'université de Mostaganem et plus spécialement à Mm. Hafida et Amina et Amel.

Enfin, il ne m'est pas possible de conclure sans rendre un vibrant hommage à toutes les personnes connues ou anonymes qui ont bien voulu m'apporter leur soutien moral et matériel dans l'élaboration de ce travail.

Remercîments

Dédicaces

Résumé

Abstract

Résumé en langue arabe

Liste des figures, des tableaux et des abréviations

Sommaire

Introduction générale..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la sardine

. Généralité sur la sardine (<i>Sardina pilchardus</i>).....	2
1. biologie de la sardine.....	2
1.1. Classification et position systématique... ..	2
2. Description et caractères distinctifs	4
3.1. Morphologie	4
3.2. Coloration	5
3.3. Taille.....	5
3.4. Nutrition	6
3.5 La croissance	6
4. Reproduction	6
-Degré de la maturation	7
5. la migration.....	7
6. composition physique et chimique	7

6.1 Les lipides	8
6.2 Les Protéines	9
6.3 Les glucides	10
6.4 Les Vitamines et les sels minéraux	10
7. Microbiologie du muscle de sardine	11
8. changement post mortem de la sardine	11
9. profil santé.....	12

Chapitre II : Mode de conservation des produits de la pêche

Présentation.....	13
Monographie de wilaya de Mostaganem.....	13
1. produit de pêche... ..	15
1.1 La qualité de la pêche	15
1.1.1 Les facteurs naturels	15
2. le traitement après la pêche.....	15
2.1 équipement améliorés pour la manutention et la conservation du poisson	
Frais et de la glace	16
3. présentation des modes de conservation	17
3.1 la réfrigération	17
3.1.1. Equipement améliorés pour la réfrigération du poisson frais et des fruits	
De Mer	19
.a. Bac en plastique	19
b. Bec en bois	20

Chapitre III : l'altération des poissons

1. Altération du poisson.....	21
1.1. Altération microbiologique	21

1.2. Altération autolytiques	21
1.3. Altération chimique (oxydation)	22
2. Changements intervenants après la mort du poisson	22
2.1. Changements sensoriels	22
2.2. Changements bactériologiques.....	22
2.2.1. Avant la pêche	22
2.2.2. Après sa pêche	22
2.2.3. Bactéries de l'altération	23
2.2.3.1. Germes dangereux pour la santé	23
2.2.3.2. Micro-organismes transmis lors de la réparation	23
2.3. Changement chimique	23
2.3.1 Production de l'ABVT	23
2.3.2. Production d'indole	24
2.3.3. Production d'H ₂ S.....	24
2.4. Changement physique	24
2.4.1. Variation de pH	24
2.4.2. Changements autolytiques.....	25
2.5 changement organoleptique.....	25
3. Les enzymes protéolytiques	25
4. Oxydation et hydrolyse des lipides	26
4.1. Oxydation	26
4.2. Hydrolyse.....	26
5. Evaluation de la qualité du poisson	26
5.1. Principales méthodes d'évaluation de la chair du poisson.....	26
5.1.1. Méthodes sensorielles	26
5.1.2. Méthodes chimiques.....	27
5.1.3. Méthodes microbiologiques	27
5.1.4. Méthodes physiques	28
6. Contamination des produits de la mer.....	28

6.1. Contamination des eaux de pêche	28
6.2. Contamination postérieure à la pêche	29

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. L'objectif	30
2. Protocole expérimental	30
2.1. Echantillonnage	30
2.2 Choix de station	30
2.3 Choix de l'espèce.....	31
3. Réalisation des analyses	31
4. Matériel de prélèvement.....	31
5- Analyse microbiologique	31
5.1. Préparation des dilutions	32
6. recherche les germes pathogènes et nom pathogènes	32
6.1Recherche de la FTAM (flore totale aérobie mésophile)	32
6.2 Recherche et dénombrement des coliformes.....	33
6.2.1 Coliformes totaux (CT)	33
6.2.2. Coliformes fécaux	33
6.3 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	33
6.4. Recherche et dénombrement du vibron cholérique.....	34
6.5 Recherche de la Staphylococcus aureus	35
6.6 Recherche de la Clostridium sulfite-réducteurs	35
6.7 Recherche et dénombrement des levures et moisissures	36
6.8. Salmonelles	36

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Analyses bactériologiques	38
------------------------------------	----

Sommaire

1.1. Flore aérobie mésophile totale.....	38
1.2.coliforme totaux et coliforme fécaux.....	39
1.3 Streptocoque fécaux,	41
1.4 Vibron cholérique.....	41
1.5 Clostridium sulfito-réducteur	41
1.6 Staphylococcus aureus	42
1.7 Levure et moisissure.....	44
1.8 Salmonelle.....	44
Discutions.....	45
Conclusion	47
Références bibliographiques	
Annexe	

Abréviations

Symbole	Signification
°C	degré Celsius.
F.A.O	Food and agriculture : organisation pour l'alimentation et l'agriculture
N	Nombre
FTAM	Flore totale aérobie mésophile
CF	Coliforme fécaux
CT	Coliforme totaux
SFB	Bouillon au sélénite acide sodium
kg	Kilo gramme
Mm	Matière minérale
Mo	Matière organique
MO	Microorganisme.
TSE	Tryptone sel eau
g	gramme
Ph	potentiel hydrogène
AG	Acide Gras.
GN	Gélose nutritive
U.F.C /g	Unité formant colonie par gramme.
VRBL	Milieu lactose biliée au cristal violet et au rouge neutre
SM	Solution mère
L	litre
OGA	Milieu d'agar a l'oxtétracycline au glucose

Liste des figures

Titre des figures	Page
Figure 01 : morphologie de sardina pilchardus (walbaum.1792)	2
Figure 02 : Morphologie de la Sardina pilchardus externe et interne.	5
Figure 03 : carte géographique de port de Mostaganem	13
Figure 04 : Situation géographique de la baie de Mostaganem (DPRH 2014)	14
Figure 05 : Bac en plastique emboitables et poissons arrimés dan la glace	20
Figure 06 : Dénombrement de la FTAM	40
Figure 07 : dénombrement du coliforme total et fécal	41
Figure 08 : dénombrement de staphylococcus	45
Figure 09 : Graphe de tous les germes	48

LISTE DES TABLEAUX

Titre des Tableaux	Page
Tableau 1 : classification des poissons (Bonde,1994) .	3
Tableau 2 : Classification systématique de <i>Sardina pilchardus</i> (Walbaum 1792).	3

Résumé

La matière vivante constitue un excellent support de mesure pour l'évaluation de la contamination bactérienne.

Notre espèce cible *sardina pilchardus* très abondante dans les eaux de Mostaganem haute valeur économique, et très appréciée par le consommateur a été utilisée pour une étude microbiologique lors de son débarquement et son transport vers les étalages.

Ce travail estime l'état microbiologique de cette espèce qui est débarquée souvent en quantités dans emballage type plastique ou bois, les analyses ont été entreprises aussi bien sur le bois que sur le plastique.

Les techniques d'analyses microbiologiques ont montré la présence d'une charge microbienne chez *sardina pilchardus* achetée au port de Mostaganem au cours du stockage dans les caisses du bois et plastique.

La flore fongique est plus présente dans les caisses en plastique que dans les caisses en bois, il est à signaler la suspicion de salmonelles dans les caisses en bois que les caisses en plastique.

Mot clés : *sardina pilchardus*, analyses microbiologique, qualité nutritionnelle, Mostaganem.

ملخص:

المادة الحية هي عبارة عن حامل أو دعامة ممتازة للقياسات أو لتقييم نسبة انتشار العدوى أو انتشار البكتريا.

النوع المستهدف في الدراسة هو *Pilchardus*، وهو نوع منسمك السردين متوفر في مياه البحر لمدينة مستغانم، كما يعتبر ذو قيمة اقتصادية كبيرة، و هو النوع المفضل من الأسماك لدى سكان المدينة.

وقد قمنا بدراستها من الجانب الميكروبيولوجي ففي عملية إخراجها من البحر و في عملية نقلها و تعبئتها.

وهذا البحث كان يركز على دراسة *Pilchardus* من أجل التحليل الميكروبيولوجي عند عملية التعبئة في الصناديق المصنوعة من البلاستيك و المصنوعة من الخشب طريقة التحليل المتبعة في الدراسة الميكروبيولوجي و هذا بإظهار الشحنة الميكروبيين عند السردين من نوع *Pilchardus* التي تم شراؤها في الميناء عند عملية التعبئة و التخزين في الصناديق المصنوعة من الخشب و البلاستيك.

النباتات الفطرية الموجودة بكثرة في الصناديق المصنوعة بالبلاستيكية منها في الصناديق المصنوعة بالخشب، و للتنبه هناك وجود بكتيريا *Salmonelle* في الصناديق الخشبية أكثر منالصناديقالبلاستيكية.

الكلمات المفتاحية: السردين من نوع *pilchardus*، تحليلات الميكروبيولوجية، الجودة الغذائية، مستغانم

Abstract

Living matériel is an excellent measure of support for the assessment of bacterial contamination.

Our target species pilchardus very abundant in the waters of Mostaganem high economic values, and much appreciated by the consumer has been used for microbiological study during its landing and transporting it to the shelves. This work estimate the microbiological state of this species is often landed in quantities in plastic packaging or timber type analyzes were business as well on the wood on plastic. The techniques of microbiological analysis showed the presence of microbial load in pilchardus purchased at the port of Mostaganem in storage in boxes of wood and plastic.

The fungal flora is present in the plastic boxes in crates, he is to report suspicion of salmonella in wooden crates that plastic crates.

Key word: pilchardus, microbiological analyzes, nutritional quality, Mostaganem.

Introduction

Le poisson est essentiellement consommé à l'état frais. En effet, le poisson frais est l'élément le plus important aussi bien sur les marchés locaux qu'internationaux. Il est impossible d'obtenir un produit sain et de qualité si l'opérateur n'applique pas des mesures adaptées pour la conservation du poisson frais comme matière première. Ce concept de base est nécessaire pour que les marchés en produits de la mer soient approvisionnés en produits de bonne qualité.

Les poissons sont caractérisés par une diversité d'espèces très importante. Pour comprendre la complexité des mécanismes d'altération, il faut ajouter à cette variabilité des substrats de contact et l'hétérogénéité des microflore bactériennes dont la composition est essentiellement liée à l'origine des poissons et à leur environnement. Généralement les premiers changements surviennent dans le poisson en phase post mortem. Ils sont dus aux enzymes tissulaires et digestives et à l'oxydation des lipides, c'est ensuite le développement bactérien qui est le responsable essentiel de la dégradation du muscle. L'altération met en jeu un ensemble de processus microbiologiques, chimiques et physiques. Plusieurs approches permettent d'évaluer le niveau d'altération ou de fraîcheur du poisson. Elles sont d'ordre sensoriel, microbiologique et chimique. La fraîcheur reste le paramètre déterminant de la qualité sanitaire du poisson, son évaluation objective est essentielle.

Nous avons choisi le poisson le plus accessible par la population de l'ouest algérien qui est la sardine.

Le poisson est accumulé dans deux catégories d'entreposage : les caisses de plastique et les caisses de bois. Il est à signaler qu'il existe plusieurs facteurs qui contribuent à la contamination du poisson, néanmoins sa tendance périssable provoque toujours des problèmes de santé publique suite à la prolifération microbienne.

Dans ce contexte, La présente étude porte sur la mise en valeur de la qualité de la sardine lors de son entreposage depuis le point de déchargement jusqu'à la mise en vente sur les étalages par des analyses bactériologiques afin d'identifier le degré de contamination ainsi que la flore microbienne qui s'y développée.

Généralité:

La sardine (*Sardina pilchardus*) appartient à la classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Clupeiformes et à la famille des Clupeidae. La sardine commune évolue en Atlantique-Nord, est de la Norvège à l'Écosse jusqu'au Sénégal et en Méditerranée (Forest, 2001). C'est un poisson pélagique qui vit entre la surface et le fond dans les eaux côtières jusqu'à 120m de profondeur.

La sardine vit en bancs parfois importants, près de la surface la nuit et le plus profondément le jour. Sa taille moyenne est de 10-20 cm, avec une taille maximale de 25 cm les périodes de pontes varient selon la répartition géographique. Les sardines adultes se nourrissent de crustacés planctoniques, des larves de crabes. Elle est consommée fraîche, salée, parfois fumée, mais principalement en conserve. (Eymard, 2



Figure 2 : photo original de sardina pilchardus

(2016)

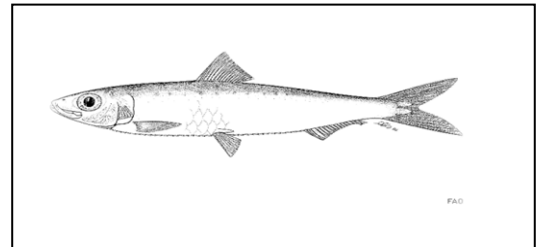


Figure 1 : Morphologie de *Sardina pilchardus* (Walbaum 1792).

1/- Biologie de la sardine :

1-1/- Classification :

Les poissons sont les plus nombreux des vertèbres avec au moins 20 000 espèces connues et plus de la moitié (58%) vivent dans le milieu marin. Ils sont plus répandus dans les eaux chaudes et tempérées des plateaux continentaux (quelques 8000 espèces). Dans les eaux froides polaires on trouve environ 1100 espèces.

Dans l'environnement pélagique des océans, bien loin de l'effet des terres, on ne trouve que 225 espèces. Curieusement, dans la zone mésopélagique plus profonde du milieu pélagique (entre 100 et 1000m de profondeur) le nombre des espèces augmente (Thurmanet Weber, 1984). Par ailleurs les poissons peuvent être divisés en espèces grasses ou maigres mais ce type de classification se fonde sur des caractéristiques biologiques et technologiques comme le montre le (tableau 1) (Diouf, 1993).

Tableau 1: Classification des poissons (Bonde, 1994).

Croupe scientifique	Caractères biologiques	Caractères technologique	exemples
Chondrichthyes	Poissons cartilagineux	Teneur en urée élevée dans le muscle.	Requin, raie.
Téléostéens ou poissons osseux	pélagiques	Poissons gras(emmagasinant des lipides dans tissus).	Sardine, thon.
	Dèmersaux .	Poissons maigres (blancs) (emmagasinant des lipides dans le foie seulement.	Merlu, morue.

Position systématique de *Sardina pilchardus*:

Tableau 2 : Classification systématique de *Sardina pilchardus*(Walbaum 1792).

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Chordata</i>
Sous embranchement	<i>Vertebrata</i>
Super – classe	<i>Osteichthyes</i>
Classe	<i>Actinopterygii</i>
Sous – classe	<i>Neopterygii</i>
Infra-classe	<i>Teleostei</i>
Super-ordre	<i>Clupeimorpha</i>
Ordre	<i>Clupeiformes</i>
Sous – Ordre	<i>Clupeoidei</i>
Famille	<i>Clupeoidae</i>
Genre	<i>Sardina</i>
Espèce	<i>Pilchardus</i>
Nom binominal	<i>Sardina pilchardus</i>

2-Répartition géographique :

La sardine (*sardina pilchardus*) est un espèce de l'atlantique du Nord, est son aire de répartition s'étend de la Norvège et l'Écosse jusqu'à Sénégal et méditerranée (**Forest, 2001**) elle vit au dessus du plateau continental jusqu'à des fond de 150 m (**Quero, 1984**). Elle est totalement grégaire, se déplace en bancs très importants, d'où sa capture facile pour les pêcheurs professionnels. On reconnaît deux sous espèces, une méditerranéenne (*sardina pilchardus sardina*) et l'autre atlantique (*sardina pilchardus pilchardus*)

3-Description et caractères distinctifs :**3-1-Morphologie :**

Sardine pilchardus est un poisson migrateur pélagique (**Carries, 1976**). Corps à section transversale ovale, carène ventrale peut développer mais visible de la gorge à l'anus, nageoire dorsale débutant de l'origine des nageoires pelviennes, opercule présente des stries rayonnantes très prononcées mâchoire supérieure dépourvue d'échancrures médianes, mâchoire inférieure n'atteignant pas le bord postérieur de l'œil. (**Clofman, 1984**).

Les branchies comportent de 70 à 100 branchiopodes, avec présence de paupières adipeuses en avant et en arrière de l'œil (**Fao, 1983**).

Il y a environ 80 grandes écailles minces, caduques argentées et fragiles recouvrent une autre couche d'écailles plus petites (**Musset al., 1998**). Elles forment deux ailettes en fin du pédoncule caudale Conférence général des points et mesures (**Gray, 1980**). Une longue écaille est modifiée sur chacun des lobes de la nageoire caudale (**Fao, 1996**).

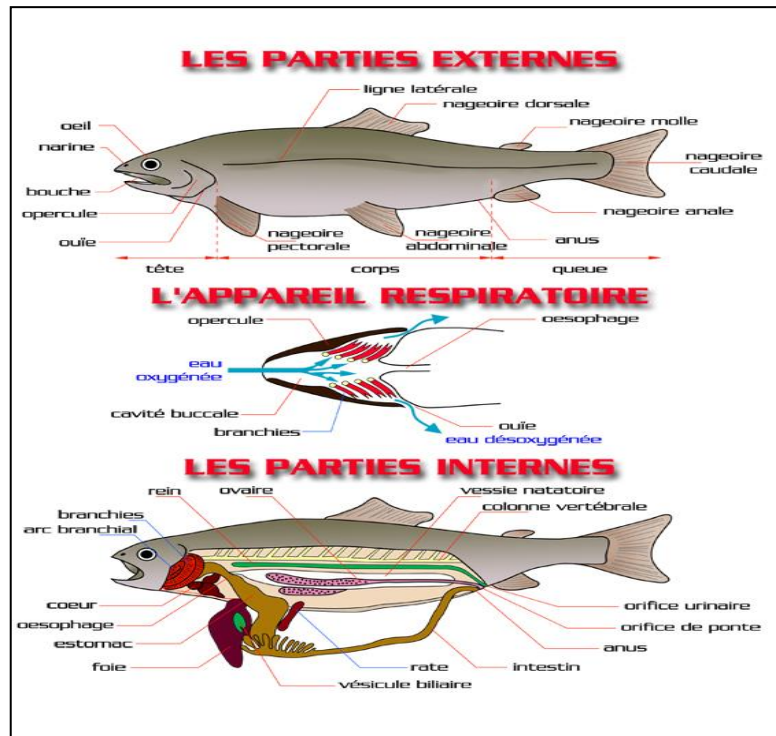


Figure 3 : la morphologie externe et interne de la sardina pilchardus.

3-2- Coloration :

Le dos de la sardine est bleu – vert, les flancs brillants et argentés sont marqués d'une bande longitudinale aux reflets dorés, le ventre caréné est d'un blanc argenté. Souvent, à l'arrière de l'opercule se dessine quelques points noirs mais aucune ligne latérale ne marque les flancs (Josiane, 2006).

3-3- Taille :

- Maximum : 22cm en Méditerranée
17cm en mer noire.
25 cm dans l'atlantique
- Commune : 10 à 25cm en Méditerranée
06à08 cm en mer noire. (Fao,1983). D'après les travaux de (Mouhoub,1986). La croissance en taille des sardines de la région méditerranée et qu'aucun Individu n'excédait la taille de 20cm.

3-4-La nutrition :

Les poissons planctophages effectuent des migrations verticales entre la nuit et le jour, suivant exactement celles du plancton animal dont ils se nourrissent (**Pedro,1984**).En période de pleine lune, cette migration est réduite par le risque d'exposition aux prédateurs qui peuvent profiter de la brillance des poissons, facilement repérable à partir des couches d'eaux inférieures.

Les adultes se nourrissent de zooplanctons, alors que les jeunes stades se nourrissent de phytoplanctons, qui contiennent des diatomées (**Cepede, 1907 ;Demirhendi,1960**) La sardine s'alimente activement surtout au crépuscule (**Vucetic, 1955 ;Larannatta,1960**).

3- 5-La croissance :

La durée de vie de la sardine est d'environ 15ans, la maturité sexuelle est atteinte à 2ans, d'après les travaux récents de**Djabali et Mohoub, (1986)**.

La croissance en taille des sardines de la région d'Alger est comparable à celle d'autres régions méditerranéennes et qu'aucun individu n'excédait la taille de 20cm.

4-Reproduction :

La reproduction a lieu en haute mer ou près des côtes à différentes époques de l'année suivant la localité. Les alevins retrouvent près des côtes et y restent jusqu'au début de l'hiver, la sardine femelle pond 50.000 à 60.000 œufs pélagiques mesurant environ 1,5mm. (**Musset *al.*, 1988**).

Les œufs éclosent après deux à quatre jours. Les larves mesurant 4 mm de longueur, ils deviennent mûrs après deux années, atteignant une longueur de 20 cm et 26 cm au maximum à 15ans. (**Pedro,1984, 1986 ; Alvarez, 1992 ; Morales *et al.*, 1980**).

4-1-Degré de la maturation sexuelle :

Bouchereau (1981) a déduit les observations suivantes sur l'état de maturité sexuelle de la sardine de la baie d'Oran : Une période de repos sexuel qui dure 6 mois,d'avril à Septembre.une période d'activité durant l'automne et l'hiver, correspond à la

maturation des gonades en même temps qu'une période de ponte avec un plateau de 3 mois en Décembre, janvier et février.

5-La migration :

Elles ont fait l'objet de nombreuses études (**Hoek, 1914 ; Lee, 1961 ; Aldeber et Carries , 1976**) et se caractérisent essentiellement par déplacement se faisant de la cote vers le large et inversement .

Deux grands phénomènes vitaux commandent ces migrations :

-La reproduction.

-La nutrition.

Outre ces déplacements qui sont saisonniers, la sardine effectue des mouvements quotidiens : elle tend à se disperser la nuit, quand elle recherche sa nourriture (le crépuscule et l'autre étant des moments de grande activité), et à se rassembler en bancs plus ou moins compacts le jour.

Selon (**Picot et Aldebert ,1978**), ces déplacements dépendent de divers facteurs tels que l'influence du cycle lunaire (phase de pleine lune) et les conditions de milieu. Ainsi lorsque s'établit une forte thermocline, les bancs de poissons ont tendance à se maintenir au-dessous de celle – ci, dans les eaux les fraîches dont la température voisinant généralement 13°C.

6- Composition physique et chimique du poisson :

La composition globale dans la plupart des poissons et crustacés est principalement de l'eau, des protéines et des lipides. Dans la chair du poisson, ces constituants représentent environ 98%, et les autres constituants mineurs comprennent les glucides, les vitamines et les minéraux (**Sikorski et Lolakowska., 1990**). Cependant, la composition chimique du poisson varie généralement selon les saisons, les zones géographiques, les stades de maturité et la taille. La composition spécifique du poisson lui donne une qualité nutritionnelle et apprécie les consommateurs.

6-1- les lipides :

Les lipides de poisson se distinguent des lipides d'autres animaux ou de végétaux par leur forte teneur en acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série des oméga 3, notamment les acides eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Ces acides gras possèdent des propriétés nutritionnelles recherchées et sont impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancéreuses et inflammatoires (**Rose et Connolly, 1999; Kamal-Eldinet Yanishlieva, 2002**).

Sites des dépôts lipidiques Chez le poisson : il existe plusieurs sites de dépôts lipidiques dont les principaux sont le foie, le muscle, le tissu adipeux péri viscéral et le tissu adipeux sous cutané (**Sheridan, 1988**). Cette répartition peut varier selon les espèces. La composition en lipides est un critère pratique de distinction des poissons.

Les poissons maigres stockent principalement la matière grasse dans le foie (40 à 70%) les muscles de ces poissons sont pauvres en lipides (5 %). Les poissons gras stockent une forte quantité des lipides au niveau musculaire. La teneur la plus élevée se situe vers la tête et diminue vers la queue et inversement pour les poissons maigres. En effet, la part de lipides présente dans les muscles, plus de 10% des lipides totaux, est supérieure à celle trouvée dans le foie. Les graisses sont sous forme de globules gras extracellulaires dans les muscles et forment des couches sous la peau et dans la cavité abdominale (**Corraze et Kaushik, 1999**). Les poissons à teneur en lipides intermédiaire sont généralement des poissons plats qui accumulent leurs graisses dans le foie mais aussi dans leurs muscles et dans d'autres tissus tels que le tissu adipeux périviscéral. La teneur en lipides des muscles dépend de la nature du muscle considéré. Pour les poissons maigres, les muscles rouges contiennent environ deux fois plus de lipides que le muscle blanc. Pour les poissons gras comme le maquereau (*Scomber australicus*), la teneur en lipides du muscle rouge atteint 19,6g de lipides pour 100g de muscle et celle du muscle blanc est de 3,9 g pour 100g de muscle (**Body et Vlieg, 1989**).

La peau peut contenir de fortes quantités de graisses selon les espèces, jusqu'à 50 g de lipides pour 100 g de peau chez le maquereau. Les poissons gras, selon la saison, peuvent également présenter une importante couche de graisse sous-cutanée. La partie ventrale entourant la cavité viscérale et les tissus abdominaux sont généralement riches en lipides.

La teneur et la composition lipidique des poissons varient avec l'âge, le cycle sexuel, l'alimentation et les facteurs environnementaux tels que la température et la salinité de l'eau (**Corraze et Kaushik, 1999**).

6-2- Les protéines :

Les protéines des tissus musculaires du poisson peuvent être divisées en trois groupes: les protéines structurelles (actine, myosine, tropmyosine et actomyosine), qui constituent de 70 à 80% de la teneur totale en protéines (comparée à 40% chez les mammifères). Ces protéines sont solubles dans des solutions salines de force ionique relativement élevée (0,5M), les protéines sarcoplasmiques (myoalbumine, globuline et enzymes) qui sont solubles dans des solutions salines neutres de force ionique faible (< 0,15M). Cette fraction représente de 25 à 30% des protéines, les protéines du tissu conjonctif (collagène) qui constituent environ 3% des protéines chez les téléostéens et environ 10% chez les sélaciens (comparé à 17% chez les mammifères). Les protéines structurelles constituent le système contractile responsable du mouvement des muscles. La composition en acides aminés est approximativement la même que pour les protéines correspondantes dans le muscle des mammifères bien que les propriétés physiques puissent être légèrement différentes. La majorité des protéines sarcoplasmiques sont des enzymes participant au métabolisme de la cellule, comme la transformation anaérobie de l'énergie du glycogène en ATP. Si les organites à l'intérieur des cellules musculaires sont rompus, cette fraction de protéine peut également contenir les enzymes métaboliques situées à l'intérieur du réticulum endoplasmique, des mitochondries et des lysosomes.

Les protéines dans la fraction sarcoplasmiques conviennent pour différencier entre espèces de poisson car chacune développe un profil électrophorétique caractéristique quand elle est séparée par électrophorèse. La méthode a été présentée par Lundstrom (1980) et a été utilisée par de nombreux laboratoires et pour de nombreuses espèces de poissons. Les propriétés chimiques et physiques des protéines de collagène sont différentes dans les tissus tels que la peau, la vessie natatoire et le myocomme dans le muscle (**Mohr, 1971**).

En général, les fibrilles de collagène forment une structure délicate en réseau avec une complexité variable dans les tissus conjonctifs suivant un schéma similaire à celui trouvé chez les mammifères. Cependant dans le poisson, le collagène est bien plus instable à la chaleur et contient moins de liaisons croisées que le collagène des vertébrés à sang chaud. Le taux d'hydroxyproline est en général plus bas chez les poissons que

chez les mammifères, bien que l'on ait pu observer une variation totale de 4,7 à 10 % du collagène (**Braekkan, 1976; Sato et Yoshinaka, 1989**). Les protéines du poisson renferment tous les acides aminés essentiels et comme les protéines du lait, des œufs et de la viande, ont une très haute valeur biologique.

6-3- Les glucides :

Les glucides peuvent aussi être divisés en trois groupes: les sucres (mono-et disaccharides), les oligosaccharides (3 à 9 monosaccharides), et les polysaccharides (plus de 9). La teneur en glucides dans le muscle du poisson est faible (**Mendel, Kemp et al.1954; Schulz, Liese et al.2005**) et est influencée par les conditions de capture, qui peut conduire à l'épuisement des réserves de glycogène et ainsi à une diminution du niveau de glucide. Dans les conditions anoxiques post mortem, le glycogène continu d'être métabolisé, résultant de l'augmentation de l'acide lactique avec l'abaissement du pH. 184. Les extraits azotés non protéiques Les extraits azotés peuvent être définis comme étant des composés de nature non protéique, solubles dans l'eau, de poids moléculaires faibles et renfermant de l'azote. Cette fraction ANP (azote non protéique) constitue de 9 à 18% de l'azote dans les téléostéens. Les composants principaux de cette fraction sont des bases volatiles telles que l'ammoniaque et l'oxyde de triméthylamine (OTMA), la créatine, les acides aminés libres, les bases nucléotides et bases puriques et, dans le cas des poissons cartilagineux, l'urée.

6-4- Les vitamines et sels minéraux :

La teneur en vitamines et sels minéraux est spécifique aux espèces et peut, de plus, varier selon la saison. En général, la chair du poisson est une bonne source de vitamines B et également, dans le cas des espèces grasses, de vitamines A et D. Quelques espèces d'eau douce comme la carpe ont une grande activité thiamines et, de ce fait, leur teneur en thiamine est généralement basse. En ce qui concerne les éléments minéraux, la chair du poisson est considérée comme une source appréciable de calcium et de phosphore en particulier mais également de fer, cuivre et sélénium. Les poissons d'eau de mer ont une forte teneur en iode.

La teneur en vitamines est comparable à celle des mammifères Sauf pour les vitamines A et D que l'on trouve en grandes quantités dans la chair des espèces grasses et en abondance dans le foie de certaines espèces comme le cabillaud et le flétan.

Dans le poisson d'aquaculture, les taux de vitamines et de sels minéraux sont censés refléter la composition en éléments entrant dans la nourriture du poisson bien que les

données relevées doivent être interprétées avec beaucoup de précautions (**Maage, Julshamn et al.1991**). Pour protéger les acides gras polyinsaturés oméga 3, considérés comme très importants pour la santé tant du poisson que de l'homme, la vitamine E a été ajoutée dans l'aliment du poisson en tant qu'antioxydant. Il a été démontré que le niveau de vitamine E dans les tissus du poisson correspondait à sa concentration dans son alimentation (**Waagbø, Sandnes et al.1993**).

7-Microbiologie du muscle de sardine :

Dans son milieu naturel, le poisson porte sur lui des micro- organismes avec lesquels il vit en symbiose (fusion plus ou moins intime de deux être vivant d'espèces différentes) ou des parasites (organisme vivant qui se nourrit, s'abrite ou se reproduit aux dépens d'un autre). Normalement, la chair du poisson est stérile les organes contaminées sont les branchies. La flore intestinale est constituée de bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas* , *Vibrio* , *Achrobacter* , *Aeromonas flavobacterium* , *Serratia* , *Sarcine* , *Proteus* . on en rencontre sur toutes les surfaces externes (peau et branchies) et dans les intestins . Toliara (1997) estime les chiffres à :

- Sur les branchies 10³ à 10⁹ germes/g
- Dans les viscères 10³ à 10⁹ germes/g
- Sur la peau 10² à 10⁷ germes /g

Cependant, les muscles du poisson vivant ou fraîchement capturé sont indemnes de micro- organismes, et les germes endogènes ne les détériorent pas. Mais le muscle du poisson reste un milieu propice au développement de microorganismes car il est très riche en éléments nutritifs.

8- Changement post mortem dans la sardine :

Après la mort du poisson, plusieurs réactions entrent en jeu dans son système protéique musculaire. Les phénomènes d'apparition et de résolution de la rigidité cadavérique sont rapides et interviennent en moyenne respectivement 5 à 22 heures après la mort lors de l'entreposage immédiat à 0°C (**Linden et Lorient,1994**).

9-Profil santé :

La sardine est un poisson gras qui contient certains principes actifs ayant des effets intéressants sur la santé, le principal étant assurément son contenu en acides gras oméga-3. Sans oublier les nutriments contenus dans ce poisson, tels que le calcium, le sélénium,

Le phosphore, la vitamine D et des vitamines du groupe B, ce qui en fait un aliment à intégrer plus souvent à notre alimentation(**Bouchenak, 2012**).

Présentation :

Monographie de la Wilaya de Mostaganem :

La Wilaya de Mostaganem se caractérise par un littoral qui s'étend sur une distance de 124,5Km de l'embouchure de la Macta à l'Ouest au CAP NEGRAWA à l'Est. Caractérisé par :

- La zone de pêche est de **2679 Km²**.
- Le Nombre de ports : **03**
 - Ports dont un mixte à Mostaganem (pêche / commerce),
 - Port de pêche à Sidi Lakhdar
 - Un nouveau port réceptionné à la Salamandre.
- Le Nombre de sites d'échouages : **09 sites**.
- La Flottille de la Wilaya : **216** unités de pêche dont :
 - **41** Chalutiers,
 - **83** Sardiniers,
 - **92** Petits métiers
 - La Wilaya compte **403** plaisanciers.
- Nombre total du collectif marin est de **4451**. (Source Bilan annuel DPRHM)

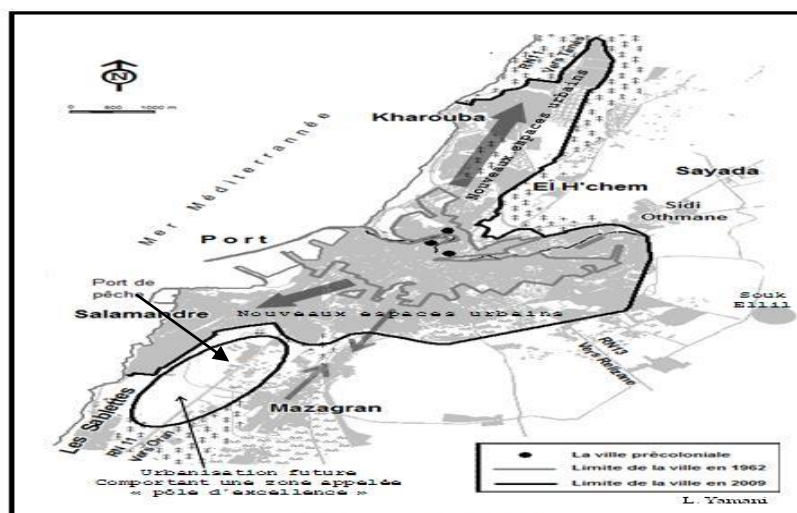


Figure 4 : carte géographique des ports de Mostaganem

Port de Mostaganem :

La Wilaya de Mostaganem dispose pour son activité portuaire d'un port mixte (pêche, commerce), une partie du 2^{ème} bassin est affectée à la pêche. Elle comporte :

Un quai de : 250 ml

Un appontement de : 180ml

Terre plein: 2 Ha

Plan d'eau: 4 Ha

Une Capacité d'accueil: 155 unités

Chalutiers: 33

Sardiniers: 37

Petits métiers: 85

-Actuellement le port de Mostaganem est saturé à 100%.

- Superstructures existantes:

- Bâtiments administratifs
- Halle de vente
- Fabrique de glace
- Entrepôt frigorifique
- Station-gasoil
- Cale de halage

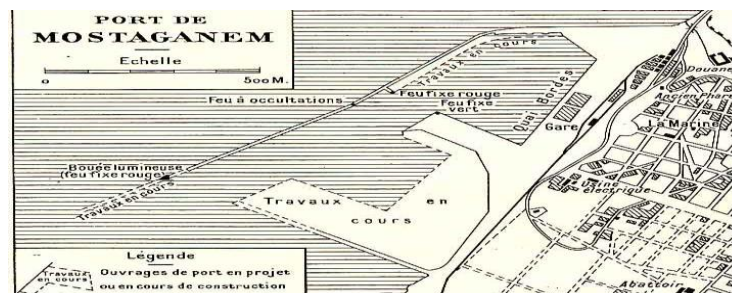


Figure 5 : Situation géographique de la baie de Mostaganem. (Dprh, 2004).

1-Produit de la pêche :

La pêche est pratiquée par les pêcheurs, comme profession ou loisir. Les techniques et engins de pêche sont nombreux, dépendant de l'espèce recherchée, du milieu, ou encore du bateau utilisé. La pêche est le plus souvent encadrée par une réglementation qui tend à renforcer et de protéger au mieux la biodiversité, l'environnement et les ressources halieutiques.

1-1 La qualité de la pêche :

La détérioration enzymatique et la pénétration bactérienne sont souvent plus élevées si les poissons pêchés en mauvais état, écrasés, tissus déchirés (pêché au chalut).

La vitesse de détérioration dépend aussi de l'état post mortem du poisson : il apparaît que la chair s'altère plus vite lorsque le poisson est épuisé (**Bailly et Bragère 2014**).

1-1-1 Les facteurs naturels :

La flore initiale de contamination dépend de la zone de pêche du poisson, de son alimentation, de la saison de pêche.

Les poissons pêchés dans les eaux non polluées, ne portent que très rarement des bactéries pathogènes pour l'homme, hormis *Clostridium botulinum* et *Vibrioparahaemolyticus*, qui sont des contaminants naturels du poisson (**Liston, 1980**).

La saison influe sur la nature de la flore. Les bactéries ayant une activité protéolytique sont plus abondantes en hiver. Les variations saisonnières de température entraînent des dénombrements différents entre *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, plus ou moins grande en conformité avec les températures optimales de croissance de chaque espèce (**shwan, 1961**).

2- Le traitement après la pêche :

Le temps nécessaire pour arriver au port influence le développement microbien qui peut être accentué par une exposition prolongée au soleil (ceci est souvent le cas dans les pays non industrialisés).

L'éviscération est souvent utilisée pour réduire l'autolyse (liquéfaction de la cavité abdominale mais aussi éliminer une source de contamination (**shewan, 1962-scott et coll, 1986**).

Lorsque l'éviscération est effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène, il est possible de réduire la charge microbienne d'environ 80 à 90% (**georgala (1957) cité par shewan, 1961**).

Evidemment, si le travail est effectué dans de mauvaises conditions d'hygiène, il est alors possible d'augmenter cette charge.

Castel (1954) (cité par shewan, 1961) a montré que 80 à 90% de contamination des filets est issue des plans de travail. Quantitativement, la flore des filets est celle des surfaces de travail, on note une incidence plus grande des bactéries mésophiles. Liées à la contamination d'origine humaine (Coliformes, Entérocoques, Staphylocoques). À ce stade, les mésophiles représentent de 1 à 20% de la flore - contre 0 à 5% seulement sur le poisson entier frais (**shewan, 1962**).

2-1 Équipements améliorés pour la manutention et la conservation**Du poisson frais et de la glace :**

La conservation du poisson est une course contre la montre qui commence dès la capture, à bord des embarcations de pêche; l'utilisation de la glace est le meilleur moyen pour ralentir l'altération du poisson. Néanmoins, cela n'est pas toujours économiquement justifié et pratiquement faisable, par exemple pour certaines espèces comme les petits pélagiques, capturées en grande quantité et dont le prix de vente reste très faible dans certaines zones, ce qui n'exclut pas que des mesures doivent être prises pour éviter l'échauffement du poisson.

L'utilisation de la glace augmente considérablement la durée de conservation du poisson et devrait être une pratique systématique à bord de même qu'à toutes les étapes de la manutention après le débarquement. La chaîne du Froid ne doit pas être interrompue. Par conséquent, le refroidissement doit être continu et maintenu jusqu'au dernier maillon de la distribution du produit au consommateur/client. En vue d'optimiser l'utilisation de la glace, il est essentiel, d'utiliser un conteneur isotherme bien étanche.

Pour satisfaire aux règles d'hygiène, les caisses ou conteneurs ainsi que le petit matériel utilisés pour la manutention, le transport ou le stockage du poisson, à bord des embarcations comme à terre, doivent être faits d'un matériau de qualité alimentaire, imperméable, inoxydable, facile à nettoyer et à désinfecter (**Kitiriofa et Kader, 1998**).

3-Présentation des modes de conservation :**3.1 La réfrigération**

La réfrigération est le processus permettant de refroidir le poisson ou les produits de la pêche pour les amener à une température proche de celle de la glace en fusion. Elle a pour but de prolonger la durée de vie du poisson en ralentissant l'action des enzymes et des bactéries ainsi que les processus physico-chimiques qui altèrent sa qualité. Le poisson frais est une denrée hautement périssable qui se dégrade très rapidement à température normale. En abaissant la température à laquelle le poisson est conservé, on réduit le taux d'altération. La réfrigération fait chuter la température à celle de la glace en fusion, soit 0 °C ou 32 °F pratiques d'entreposage.

Généralement, on réfrigère à (0°C / 32°F) souvent les poissons entiers (dont on a retiré les viscères et les branchies) ou les filets en les recouvrant de glace. On remplit un

contenant avec des couches alternées de poisson et de glace, la dernière couche étant une couche de glace. Il faut utiliser au moins autant de glace que de poisson. La quantité de glace utilisée, est fonction de la température ambiante et de la qualité du contenant.

Lorsque la glace est fondue, il faut la remplacer pour maintenir le poisson à 0°C. Le poisson gras surtout doit être réfrigéré rapidement pour ralentir l'oxydation de la graisse. Le poisson peut aussi être stocké en cellules de réfrigération : comme la température est juste au-dessus de 0°C, la glace fond et le poisson reste frais. Le poisson ne gèle donc pas.

L'utilisation de la glace augmente considérablement la durée de conservation du poisson et devrait être une pratique systématique à bord, de même qu'à toutes les étapes de la manutention après le débarquement. La chaîne du froid ne doit pas être interrompue. Par conséquent, le refroidissement doit être continu et maintenu jusqu'au dernier maillon de la distribution du produit au consommateur/client.

Le taux de réfrigération est fonction des facteurs suivants:

- la taille, la forme et l'épaisseur du poisson.
- le mode d'entreposage.
- le respect des proportions du mélange de glace, d'eau et de poisson (dans les coulis de glace).
- un bon contact entre la glace et le poisson.
- La taille des particules de glace.

La méthode de réfrigération la plus commune repose sur l'utilisation de la glace. Le poisson est mis en contact avec de la glace en paillette, en écaille ou adéquatement concassée à partir de blocs/barres de glace. Les morceaux de glace trop gros risquent d'endommager physiquement le poisson et de plus le contact poisson/glace est faible, conduisant à un refroidissement lent et non homogène. Les couches de poissons alternent avec les couches de glace; une épaisse couche de glace est disposée au fond, sur le dessus et le long des parois du conteneur car ces surfaces sont plus exposées aux radiations solaires. Le poisson ne doit pas être trop tassé dans le conteneur car il risque d'être écrasé et endommagé.

On a aussi recours à l'eau froide, aux coulis de glace (d'eau douce et d'eau salée) et à l'eau de mer réfrigérée (EMR). Pour que la réfrigération soit pleinement efficace, il est essentiel de maintenir la température de réfrigération durant toutes les phases de manutention du poisson. Bien que le glaçage permette de préserver le poisson pendant un certain temps, la durée de conservation reste relativement brève par rapport aux résultats obtenus, par exemple, par la congélation, la mise en conserve, le salage ou le séchage. Un bon glaçage permet de garder le poisson frais et présentable jusqu'à sa mise en vente.

L'utilisation de la glace pour préserver le poisson et les produits de la pêche à bord des navires de pêche s'est avérée efficace pour les raisons suivantes:

- On peut acheter de la glace dans de nombreux ports ou localités de pêche.
- Les achats peuvent être effectués en fonction des besoins (on trouve souvent des blocs de glace de tailles différentes ainsi que de la glace broyée plus ou moins finement, vendue au poids).
- La glace a un très fort pouvoir réfrigérant.
- Elle est sans danger et relativement bon marché.
- Elle permet de maintenir des températures très précises.
- Elle conserve l'humidité du poisson et le débarrasse des bactéries en fondant.
- Elle peut être transportée d'un endroit à un autre et ses propriétés réfrigérantes peuvent être amenées là où on en a besoin.
- Enfin, elle peut être fabriquée à terre et utilisée en mer

Il demeure que le conditionnement du poisson sous glace à bord des petits bateaux de pêche, que ce soit en caisses, sur des étagères ou dans des parcs, requiert une main-d'œuvre importante et d'autres méthodes ont été mises au point pour réduire le temps et la main-d'œuvre nécessaires. Les plus fréquentes sont l'eau de mer refroidie à la glace (EMRG) et l'eau de mer réfrigérée (EMR).

L'EMR qui nécessite peu de personnel et constitue une bonne méthode de réfrigération exige cependant de disposer à bord d'équipements de réfrigération, de pompage et de filtrage. C'est également un système relativement coûteux. La méthode EMRG consiste à embarquer suffisamment de glace pour la sortie de pêche, et à la mélanger à de l'eau de mer pour obtenir un coulis de glace dans lequel on dépose le poisson. Ces deux méthodes offrent une réfrigération rapide, limitent les meurtrissures du

poisson et permettent une manutention plus rapide avec moins de main-d'œuvre. Elles exigent cependant de disposer d'installations spécialisées à bord, et ne conviennent généralement que lorsque des quantités importantes de poisson doivent être manipulées en peu de temps, comme c'est le cas des petits poissons pélagiques ramenés capturés par les senneurs (Berkelet *al.*, 2015).

3-1-1 Équipements améliorés pour la réfrigération du poisson frais et des fruits de mer :

a. Bac de plastique :

Le matériel plastique doit être privilégié par rapport au matériel en bois car son nettoyage est facile et les risques de contaminations moindres. La conception technique de ces bacs est classique, les parois extérieures et la cuve intérieure sont moulées d'un seul tenant. Les bacs emboîtables vides sont empilés les uns dans les autres, ce qui permet de réduire d'environ 80% le volume de stockage. Ces bacs facilitent la manutention à bord comme à terre et permettent de glacer précocement le poisson et de le stocker en cale réfrigérée au fur et à mesure de sa capture. Le poisson n'est pas endommagé. Le souci principal est de préserver la qualité du poisson.

Dans des conditions d'utilisation et d'entretien optimales, leur durée de vie est en moyenne de trois (3) ans selon les utilisateurs (Crepuy et Mailliard, 1965).



Figure 6:Bacs en plastique emboîtables et Poissons arrimés dans la glace

dans des bacs .

b- Bac en bois : le bac est composé de pièces de bois assemblées, fixés par des clous de fer, laissant entre elles des espaces permettant l'écoulement de l'eau de fusion et le transfert de l'air froid.



Figure 7 : Bac en bois emboîtable et poisson arrimés dans le bac.

1. Altération du poisson :

Parmi les poissons frais qui tous subissent des phénomènes enzymatiques très fragilisant, la sardine se détériore encore plus rapidement à cause de sa fragilité musculaire, la moindre pression suffit à l'abîmer la rendant impropre à la consommation (FAO, 2000).

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

Dès la mort du poisson, il se met en place un processus d'altération qui fait intervenir largement l'autolyse. Les enzymes digestives du poisson détruisent la barrière intestinale, et permettent la dissémination des germes présents (Bourgeois *et al.* 1980). Les enzymes tissulaires sont représentés par les catépsines provoquant la catéolyse, les lysosymiques, et les lipases (Sainclivier, 1983).

D'après (Parigi, 1996), la chair du poisson s'altère plus rapidement que la viande des autres mammifères à cause de multiples raisons dont :

- ❖ La teneur en eau très élevée.
- ❖ La qualité réduite du tissu conjonctif.
- ❖ La concentration importante d'azote extractible.
- ❖ La présence de lipides fortement insaturés.

Il a été établi, depuis de nombreuses années, qu'il existe au moins deux types d'altérations du poisson : bactérienne et enzymatique (Huss, 1999).

1.1. Altération microbiologique :

La perte initiale des espèces de poissons frais (non conservés) maigres ou non gras, qu'ils soient ou non réfrigérés, est due à des modifications autolytiques alors que l'altération est principalement due à l'action des bactéries.

Les organismes spécifiques de l'altération produisent les métabolites responsables des saveurs et des odeurs désagréables liées à l'altération (Huss, 1998) .

1.2. Altération autolytiques :

L'altération autolytiques est responsable d'une perte très rapide de la qualité du poisson frais mais ne contribue que très peu à l'altération des poissons et autre produit de la pêche réfrigérés. La seule exception est l'apparition rapide d'odeurs et de colorations anormales dues à l'action des enzymes présents dans les intestins de certains poissons non éviscérés (Huss, 1998) .

1.3. Altération chimique (oxydation) :

Les processus d'altération chimique les plus importants sont les modifications qui se produisent dans la fraction lipidique des poissons. Les processus d'oxydations, ou auto-oxydation, sont des réactions où interviennent que l'oxygène et les lipides insaturés (Huss, 1998).

2. Changements intervenants après la mort du poisson :

2.1. Changements sensoriels :

Les changements sensoriels sont ceux perçus par les sens, c'est-à-dire : Apparence, odeur, texture, et gout (FAO, 2000).

Les mauvaises odeurs traduisent les altérations biochimiques d'un produit et sont souvent de très bons indicateurs d'altérations (Jacobsen, 1999). L'analyse sensorielle permet de détecter et d'identifier des odeurs résultant des dégradations lipidiques (Frankel, 1998).

2.2. Changements bactériologiques :

2.2.1. Avant la pêche :

La contamination des animaux aquatiques met en cause très peu de germes qui sont par ailleurs moins fréquemment communs entre les humains et les poissons. Les agents microbiens seraient essentiellement des grams négatifs, légèrement sporogène. (Ghiraud, 1998).

Dans l'eau le muscle est à priori stérile car les germes se trouvent soit à l'extérieur (sur la peau), soit dans les organes digestifs (les viscères) (Montassier, 1998).

La charge microbienne, très variable, est de l'ordre de 10^2 à 10^7 germes /cm² sur la peau, et de 10^3 à 10^9 germes/g sur les branchies ou les intestins (Shewan, 1962).

Cette grande variabilité reflète l'effet de l'environnement. Ainsi des charges microbiennes réduites (de 10 à 100 germes /cm² de peau) se rencontrent chez les poissons provenant d'eaux froides et propres (Liston, 1980 a ; Huss *et al* ; 1988) poissons capturés dans des zones pollués ou des eaux chaudes (Shewan, 1977) .

2.2.2. Après sa pêche :

La mort du poisson fait disparaître la notion de stabilité entre l'intérieur et l'extérieur du spécimen. Les tissus n'arrêtent plus les échanges profonds qui facilitent toutes les migrations (élévation de température, déplacements microbiens). Le climat chaud et les saisons ensoleillées renforcent cela s'il reste du sang dans les cavités circulatoires (Jouve, 1996).

2.2.3. Bactéries de l'altération :

Bien que la flore totale du poisson frais soit parfois très abondante, le nombre de ces bactéries joue un rôle insignifiant aux fins de l'altération. Les bactéries qui en sont responsable ne représentent qu'une faible proportion de la flore totale mais donnent lieu à des odeurs et goûts désagréables (Huss, 1988) .

2.2.3.1. Germes dangereux pour la santé :

Le poisson capturé dans les zones non polluées ne contient normalement aucun germe pathogène. Toutefois, il existe deux exceptions à cette règle : *Clostridium botulinum* et *Vibrio parrelyticus* qui font partie de la flore commensale du poisson et les produit de la pêche. (Huss, 1998).

Généralement, dans les régions tropicales, on trouve les mésophiles (agent de choléra) et dans les régions tempérées on trouve des psychrotrophes (agent du botulisme, de la listériose...) (Montassier, 1998).

2.2.3.2. Micro-organismes transmis lors de la réparation :

Les stades de la manipulation (déparquement, triage, calibrage...) sont les points critiques où l'homme peut contaminer la matière première. (Montassier, 1998).

❖ **Les salmonelles :** Ce sont des bactéries intestinales. Ce genre est composé d'environ 2000 sérotypes dont la plupart sont pathogènes pour l'homme. (Huss, 1998).

❖ **Escherichia coli :** sont aérobies survivent très longtemps aussi bien dans des eaux sales froides que des eaux chaudes propres. Le pêcheur peu de la sorte très facilement souiller sa capture. (Montassier, 1998).

❖ **Shigelles :** viennent de tout porteur de germes qui ne se lave pas les mains.

❖ **Staphylocoques dorés :** Se trouvent dans le nez, gorge et peau ; ils peuvent donc facilement contaminer les aliments. Ils peuvent aussi provenir de porteurs ou de personnes atteintes d'infections pyogènes (Abscess, plaie, septicémies...)(Peiffer, 1999) . Le caractère mésophile du germe n'autorise sa prolifération qu'à partir de 10°C à 15°C (Montassier, 1998).

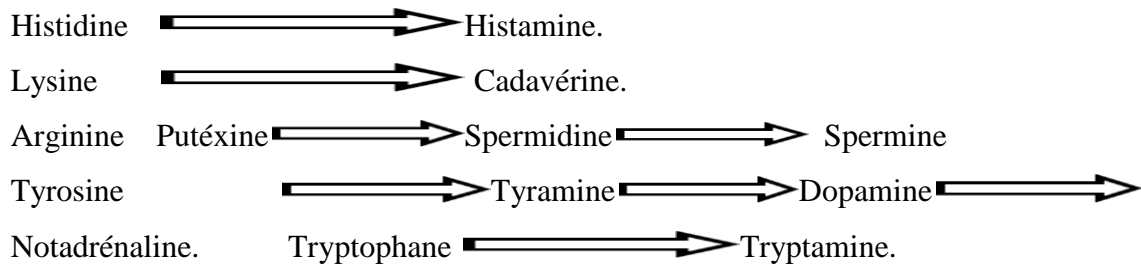
2.3. Changement chimique :

Les processus d'altération chimique les plus importants sont les modifications qui se produisent dans la fraction lipidique des poissons

2.3.1. Production de l'ABVT :

C'est sous l'action enzymatique des bactéries, que les protéines sont dégradées en peptides puis en acides aminés. La désamination qui forme l'ammoniaque qui sent

mauvais, et la décarboxylation forme des substances volatiles (amines) dont les réactions les plus importantes sont : selon (Ghiraud, 1998).



La formation conjointe d'ammoniacque et de substances volatiles aboutit à la production de triméthylamine (TMA) et d'azote basique volatile totale (ABVT). En l'absence totale ou partielle d'oxygène, la croissance des bactéries capables de réduire l'oxyde de triméthylamines (OTMA) est favorisée, et la production de TMA est de ce fait intensifiée (Huss, 1972 et Jensen, 1980).

2.3.2. Production d'indole :

L'indole qui est issue de l'hydrolyse de Tryptophane, peut être le signe d'une altération mais il n'est pas constant dans le phénomène de pétrification du poisson (Boury, 1985).

2.3.3. Production d'H₂S :

La dégradation bactérienne des acides aminés soufrés conduit à la formation de sulfure d'hydrogène (H₂S) à partir de la cystéine. il se forme à des faibles doses ne dépassant pas quelques millièmes de mg par 100g de chair (Huss, 1988).

2.4. Changement physique :

2.4.1. Variation de pH :

Pour les espèces marines, la nature du muscle influe sur son pH initial. Il est de 6,25 pour la chair rouge et de 6,85 pour la chair blanche. Suite à mort de l'animal, le muscle est privé d'oxygène. Alors une glycolyse anaérobie se met en place et produit l'acide lactique. Cet acide contribue à diminuer le pH jusqu'à une valeur considérée comme ultime. (Cheret *et al*, 2005).

Le pH du muscle du poisson est proche de la neutralité, mais il diminue normalement pendant le premier jour qui suit la mort en donnant formation d'acide lactique en anaérobiose, puis se stabilise ou augmente légèrement par la suite de l'accumulation des composés basiques (Huss, 1988).

Après la mort le pH constitue le facteur qui a le plus d'incidence sur la texture de la chair du poisson et le degré de rupture du tissu conjonctif. La résistance de celui-ci

est quatre fois plus grande à pH 7,1 qu'à pH 6,2. Ce problème devient plus prononcé quand le poisson est congelé (Love, 1980).

2.4.2. Changements autolytiques :

A la mort du poisson, les systèmes normaux de régulation de l'organisme cessent de fonctionner, et l'apport d'oxygène ainsi que la production d'énergie s'arrêtent (Les cellules amorcent alors de nouveaux processus caractérisés par la dégradation du Glycogène (Glycolyse) et des produits riches en énergie.

Les premiers processus autolytiques dans le muscle du poisson concernent les hydrates de carbone et les nucléotides (Huss, 1988). Les processus autolytiques se font de la même manière dans tous les poissons, mais à une vitesse qui varie énormément d'une espèce à l'autre (Huss, 1988). Sans oublier le rôle important des enzymes digestives (tractus intestinal) dans l'autolyse. Ces enzymes sont responsables de la dégradation des protéines en polypeptides qui seront à leur tour dégradés en peptides par les exopeptidases (Huss, 1988).

2-5 –Changement organoleptique :

Les premières modifications pouvant se manifester concernant l'apparence, la texture, et la rigidité cadavérique (Bourgois et Leveau, 1991). La longueur de chacune des étapes de la rigidité cadavérique à savoir son apparition, sa durée et sa fin, dépend de plusieurs facteurs tel que : espèce, taille, méthodes de la pêche, manutention, température et état physique

3. Les enzymes protéolytiques du poisson (Huss, 1988) :

Les changements enzymatiques post-mortem, dus aux enzymes tissulaires et digestives, aboutissent à la formation d'un grand nombre de molécules de faible poids moléculaire qui, avec les autres composés extractibles de la chair, constituent les premiers substrats de croissance bactérienne (Shewan, 1997).

▪ Cathepsines :

Les cathepsines font partie d'un group majeur d'enzymes protéolytiques du muscle. L'activité des cathepsines est la plus souvent citée et s'implique dans les dégradations post-mortem du muscle du poisson (Jiang, 1998). Les cathepsines sont pour la plupart inactives dans les tissus vivants mais sont libérées dans les jus des cellules à la suite d'accidents physiques ou de congélation/ décongélation post-mortem du muscle (FAO, 1996).

▪ Calpaines :

Un second groupe de protéases intracellulaires appelées calpaines a récemment été associé à l'autolyse du muscle du poisson (FAQ, 1996). De plus, la stimulation électrique peut permettre aussi l'activation du système enzymatique des calpaines accélérant la dégradation de protéines myofibrillaires. Ceci est dû à un changement du rapport post-mortem pH/température ou à l'effet lié à une augmentation significative de calcium libre grâce à cette stimulation. (Hwang *et al.*, 2003).

4. Oxydation et hydrolyse des lipides :

L'hydrolyse et l'oxydation sont les principales voies d'altérations des lipides au cours de la conservation et de la transformation des poissons, ces modifications affectent la qualité physico-chimique et sensorielle du poisson (Corraze, 1995).

4.1. Oxydation :

Les lipides sont très sensibles aux réactions d'oxydation qui produisent des composés contribuant à la dégradation des propriétés sensorielles du produit (Jacobsen, 1999). L'oxydation peut être déclenchée et accélérée par la chaleur, la lumière (et notamment les rayons UV) et plusieurs substances organiques et minérales (par exemple le cuivre et le fer) (Huss, 1998).

4.2. Hydrolyse :

Au cours du stockage une quantité considérable d'acides gras libres s'accumule. Le phénomène est plus sensible dans le poisson non éviscéré que dans le poisson éviscéré sans doute à cause de l'action d'enzymes digestives. (Huss, 1988). Les produits résultants de l'hydrolyse enzymatique des lipides sont des acides gras libres, des mono glycérides, des diglycérides et des lysophospholipides. (Chéret *et al.*, 2005).

5. Evaluation de la qualité du poisson :

La plupart du temps le mot « qualité » se réfère à l'aspect esthétique et à la fraîcheur ou au degré d'altération que le poisson a subi. (Huss, 1999). Les méthodes d'évaluation de la qualité du poisson frais se divisent en deux catégories : sensorielles et instrumentales. Le consommateur étant, en fait, le juge final de la qualité. (Huss, 1999).

5.1. Principales méthodes d'évaluation de la chair du poisson :

5.1.1. Méthodes sensorielles :

Les méthodes sensorielles reposent sur l'évaluation de critères d'aspect, d'odeur, de texture, et de goût des produits. Plusieurs échantillons sont soumis à un group de personnes entraînées (juges) qui doivent donner leur avis sur des caractéristiques précis

(Ifremer, 2009) L'évaluation sensorielle du poisson frais sur les marchés et aux débarcadères se fait en vérifiant l'aspect, la texture et l'odeur. (Huss, 1999).

La plupart des caractéristiques sensorielles peuvent seulement être mesurées de manière subjective par les humains (Nanto *et al*, 1993).

5.1.2. Méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques reposent sur le dosage d'un ou plusieurs composés reflétant l'altération du produit. Plusieurs molécules ou groupes de molécules peuvent servir d'indicateur d'altération (Afnor, 1999).

- **Azote Basique volatil Total (ABVT) :NH₃, TMA, DMA, amines volatiles :**

Les azotes basiques volatiles Total résulte de la dégradation de l'OTMA (oxyde de triméthylamine) et des protéines par l'action de bactéries ou d'enzymes présentes dans le poisson. Il est utilisé pour évaluer l'altération de la chair de poisson cru (Ifremer, 2009).

- **Amines biogènes :**

Ces molécules sont produites par la décarboxylation d'acides aminés suite à l'action de certaines bactéries en milieu acide. Malgré la bonne corrélation entre teneur en amines biogènes et altération sensorielle, elles ne sont pas utilisées en routine pour évaluer la qualité des produits de la mer. Par contre, pour des raisons de sécurité sanitaire, les teneurs en histamine dans certains produits de la mer sont réglementées. (Ifremer, 2009).

- **Autres indicateurs chimiques :**

Il existe d'autres indicateurs chimiques (éthanol, indole, produits d'oxydation des lipides...) Mais ils sont peu ou pas employés en routine, (Ifremer, 2009).

5.1.3. Méthodes microbiologiques :

Les méthodes microbiologiques reposent sur le dénombrement de germes d'altération. Les bactéries recherchées diffèrent en fonction des groupes considérés (poissons, coquillages ou crustacés) (Afnor, 1999).

Le but des examens microbiologiques du produit de la pêche est d'évaluer la présence possible de bactéries ou d'organismes pouvant avoir des conséquences sur la santé publique et de donner une idée de la qualité hygiénique du poisson incluant la rupture de la chaîne du froid et l'hygiène au cours de la manutention et du traitement. (Huss, 1999).

5.1.4. Méthodes physiques

Les méthodes physiques reposent sur la mesure des changements physiques du muscle après la mort du poisson.

- **Mesures de texture**

La texture peut être mesurée par différentes méthodes, par exemple :

- Résistance au cisaillement : force nécessaire pour couper un échantillon en deux par exemple.
- Aptitude à la déformation par compression : compression d'un échantillon avec un piston et obtention de la courbe de relation contrainte/ tension.

- **Test de pénétration**

Enfoncement d'un piston dans la chair jusqu'à la rupture ou perforation (**Ifremer, 2009**).

- **Mesure des propriétés électriques :**

Après la mort du poisson, la résistance électrique (R) et la capacité des tissus (C) diminuent suite à la destruction des membranes cellulaires. La mesure de la combinaison de C et de R donne, par exemple, de très bonne corrélation avec les indices de fraîcheur. Plusieurs types d'outils commerciaux permettent de mesurer ces propriétés électriques sur le poisson entier (**Ifremer, 2009**).

- **pH**

La connaissance du pH de la chair du poisson peut donner des informations intéressantes sur son état. (**Huss, 1999**).

- Les méthodes physiques sont objectives et rapides mais la standardisation des échantillons est problématique car les propriétés physiques ne sont pas homogènes au sein d'un même filet (**Ifremer, 2009**).

6- Contamination des produits de la mer :

La rencontre de microorganismes de contamination dans les produits de la mer peut avoir deux origines principales

6.1. Contamination des eaux de pêche :

La microbiologie du milieu aquatique va conditionner de façon importante celle des poissons. L'eau des rivières, des lacs et des mares contient une flore importantes, ces eaux peuvent être extrêmement polluées par les rejets humains et animaux donc des germes pathogènes (Salmonella, shigella, vibrio, clostridium...) (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Les zones littorales sont soumises à une pollution qui peut être assez importante. Les pathogènes apportés par cette voie sont généralement des organismes à transmission fécale. **(Bourgeois et Leveau, 1991).**

Chez les poissons, les germes contaminants se rencontrent généralement dans les branchies, dans l'intestin, et sur la peau. **(Bourgeois et Leveau, 1991).**

6.2. Contamination postérieure à la pêche :

Un produit non contaminé à l'origine peut avoir été souillé lors des divers stades qui précèdent sa mise sur le marché **(Bourgeois et Leveau, 1991).**

La contamination peut déjà avoir lieu à bord du bateau, par contact avec du matériel souillé (caisses, glace de mauvaise qualité bactériologique). Le lavage par des eaux contaminées peut parfois expliquer l'apport de germes dangereux.

Le fait plus marquant est la rupture de la chaîne du froid dont les répercussions sur la qualité sont très importantes. Les poissons déglacés au débarquement ne seront à nouveau mis sous glace qu'en fin de ressuyage **(Bourgeois et Leveau, 1991).**

1 – Objectif

Le but de ce travail à étudier la contamination bactérienne des produits de la pêche (*Sardina pilchardus*) provenant de deux caisses emballages différents en niveau de port de Mostaganem.

2 -Protocol expérimental

2-1-Echantillonnage :

Une prise d'environ 500g a été prélevé pour chaque échantillon de caisse de bois et de plastic, la fréquence d'échantillonnage été hebdomadaire et en fonction de la disponibilité en poisson.

L'échantillonnage a été sélectif car les poissons qui ont été prélevé sont en contacte directe avec les caisses.

2-2-Choix de la station

La station choisie se trouve au niveau du port de Mostaganem lieu de débarquement de produits halieutiques.



Figure 8 : Photo original de port de Mostaganem 2016

2-3 Choix de l'espèce

L'étude a porté sur la sardine *Sardina pilchardus* compte tenu de son importance commerciale et sa disponibilité. Cette espèce est largement répandue et abondante dans la région de Mostaganem, elle se vend quotidiennement à la pêche et son apport est importante. La sardine est le poisson le moins cher par rapport aux autres poissons et source de protéines telles que les viandes.

3- Réalisation des analyses :

Les analyses microbiologiques sont effectuées au laboratoire de microbiologie de l'université de Mostaganem.

4-Matériel de prélèvement :

Le matériel d'échantillonnage est composé de sacs de congélation, du coton-tige et des gants stériles.

Le matériel de traitement des échantillons utilisé dans les laboratoires bactériologiques de produits alimentaires comprend :

- ✓ Matériel de stérilisation et d'incubation
- ✓ La balance de précision pour la pesée
- ✓ La stomacher ND, pour le broyage et l'homogénéisation
- ✓ La verrerie : tubes, erlenmeyer, flacon de 500ml, boîtes de pétri, béchers, pipettes, étaleur.
- ✓ Le bain-marie pour la régénération des milieux
- ✓ Les milieux de culture et les réactifs
- ✓ Les boîtes de pétri.

5- Analyse microbiologique :

Les analyses effectuées dans le laboratoire de microbiologie sont les suivantes :

- La recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).
- La recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux
- La recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.
- La recherche des staphylocoques.

- La recherche et le dénombrement de vibrions cholérique.
- La recherche et le dénombrement des levures et moisissures.
- La recherche de la Clostridium Sulfito-réducteurs.
- La recherche de salmonelle.

5.1-Préparation des dilutions :

On pèse 25g de la *Sardina pilchardus* déjà éviscérée pour éliminer la principale cause d'altération du poisson cette dernière est lavée à l'eau de robinet pour éliminer les germes qui peuplent les téguments et ceux restant au niveau central. Un lavage soigneux peut faire disparaître 40 pour cent de ces germes (**Lemorvan, 1994**).

On introduit cette chair dans un sachet stérile (STOMACHER) qui contient 225ml de TSE (Tryptone, Sel, Eau) et on fait passer dans un broyeur type Stomacher, pour obtenir une suspension qui constitue alors la solution mère (SM).

Avant de procéder à ces étapes il faut préparer une zone bien stérile avec le bec benzène.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1 ml de la solution mère est introduite dans des tubes à vis contenant 9 ml d'eau distillée, cette dilution, est alors au 10^{-1} , et ainsi de suite jusqu'à la dilution.

6- Recherche les germes pathogènes et non pathogènes :

6-1- Recherche de la FTAM (flore totale aérobie mésophile) :

A partir des dilutions, prendre aseptiquement 1 ml de 10^{-4} et 10^{-3} dans une boîte de pétri vide et compléter ensuite avec 20 ml de GN préalablement fondue puis refroidie, puis agiter lentement par mouvement circulaire et va et vient.

Le dénombrement est réalisé par la culture prise de dilution sur le milieu PCA ou GN à 30°C pendant 72 heures (**Jean Noel, 2001**) (**Annexe 1**)

Lecture :

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en multipliant le nombre par l'inverse de sa dilution.

- On ne dénombre que les boîtes ayant des colonies entre 15 et 300 colonies.

6-2- Recherche et dénombrement des coliformes :

6-2-1- Coliformes Totaux (CT) :

A partir des dilutions décimales, prendre aseptiquement 1 ml de 10^{-4} et 10^{-3} dans des boîtes de pétri vide et compléter ensuite avec 20 ml de milieu VRBL préalablement fondue puis refroidie, puis agiter lentement par mouvement circulaire et va et vient.

-le dénombrement est réalisé par la culture d'une prise de dilution de l'échantillon sur le milieu VRBL incubé à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Il s'agit de compter toutes les colonies rouges ayant poussées sur les boîtes en multipliant le nombre par l'inverse de sa dilution.

6-2-2-Coliformes fécaux (CF)

- On met dans chaque boîte pétri, 1ml de nos dilutions 10^{-1} à 10^{-3} et on complète avec 20ml de VRBL fondue puis refroidie, bien homogénéisé en faisant des mouvements circulaires.

- Le dénombrement est réalisé par la culture d'une prise de dilution d'échantillon sur milieu VRBL on laisse refroidir, puis on incube à 44°C pendant 24 heures. (**Jean Noel ,2001**)(Annexe 2)

Lecture

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussées sur les boîtes en multipliant toujours par l'inverse des dilutions.

6-3-Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.

Les streptocoques du groupe D sont généralement pris en compte des témoins de pollution fécale, et cela quelques soit l'espèce mise en évidence. Les méthodes d'analyse proposées visent donc à dénombrer avec le plus de sensibilité et de spécificité possible.

➤ **Test présumptif**

Préparer une série de 2 tubes de Rothe s/c et les numéroter de la façon suivante :

- 2 tubes de Rothe à 10^{-1}
- 2 tubes de Rothe à 10^{-2}
- 2 tubes de Rothe à 10^{-3}
- 2 tubes de Rothe à 10^{-4}

Chaque série de 2 tubes sera ensemencé avec 1 ml de la dilution décimale correspondante.

Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après la période d'incubation les tubes de Roth présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs.

➤ **Test de confirmation**

Chaque tube trouvé positif sera repiqué (3 gouttes) sur un tube d'EVA Lytski.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, seront considérés comme positifs les tubes d'EVA présentant un trouble microbien

Il y'a donc présence de streptocoques fécaux, et le résultat sera exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

6.5- Recherche de la vibration cholérique

Dans les pays où le choléra a pratiquement disparu, il est rare que la recherche de la vibration cholérique dans les eaux d'alimentation présente un intérêt. Par contre, quand une épidémie risque de se propager par suite de la présence de malades ou de porteurs de germes en provenance de l'étranger, il est utile de procéder à des contrôles dans les eaux usées (eau d'égouts) souillées par les selles de ces malades.

➤ **Test présumptif**

- faire fondre un flacon de GNAB.

- mettre environ 15 ml de ce milieu dans une boîte de pétrie.

- Laisser le solidifier sur une paille.

➤ **Ensemencement**

A l'aide d'une pipette pasteur, prendre 2 gouttes d'échantillon à analyser, les bien étaler sur le milieu sélectif.

➤ **Incubation**

A 37°C pendant 24 heures.

➤ **La lecture**

Les colonies de vibration cholérique ont un diamètre de 1,5 mm, elles sont transparentes, fines, d'aspect légèrement bleuté.

6.4-Recherche de *staphylococcus aureus*

Le dénombrement est réalisé par l'ensemencement à la surface du milieu de culture Baird Parker, additionner une solution de jaune à d'œuf mélanger au tellurate de potassium. On ensemence en surface 0.1 ml de chaque dilution puis on incube à 37°C pendant 48 heures. (Jean Noel, 2001) (Annexe 3)

➤ **Lecture**

On dénombre les colonies noires entourées d'un halot transparent.

6-6- Recherche de la *Clostridium Sulfito-Réducteurs*

A partir des dilutions, on porte aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes, puis on ajoute 7.5 ml de gélose viande foie (VF) à laquelle on rajoute 0,5 ml sulfite de sodium et une ampoule d'alun de fer gouttes.

Après l'ensemencement, on couvre le milieu avec une couche de huile de vaseline afin d'empêcher l'introduction de l'Oxygène, les tubes seront incubés à 46°C pendant 24 à 48 heures. (Jean Noel, 2001) (Annexe 4).

➤ **Lecture**

La première lecture doit se faire impérativement à 24 heures, car d'une part les colonies sont envahissantes et on se trouvera en face d'un tube complètement noir, alors l'interprétation deviendra impossible, d'autre part, il faut repérer toutes colonies ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieure à 0,5 mm

6-7-Recherche et dénombrement des levures et moisissures

- Cette recherche nécessite la préparation des boites de pétri de la façon suivante :
- Peser 0,5 mg d'oxytetracycline en poudre puis les dissoudre dans 100 ml d'eau distillée stérile.
- Récupérer 15 ml de cette solution dans un flacon d'OGA préalablement fondue puis refroidit à 45°C.
- Couler le flacon d'OGA en boite de pétrie et laisser solidifier sur la palliasse ensuite on effectue l'ensemencement.
- Incuber à 20°C pendant 5 jours.

6.8-Recherche salmonelles

La recherche s'effectue à partir de 25 gr de produit en passant par les étapes suivantes :

1^{er} jour : pré-enrichissement : les 25 gr de chair broyés dans 225 ml d'eau tryptone sel (TSE),

On incube à 37°C pendant 24 heures.

2^{eme} jour : Enrichissement

L'ensemencement dans un milieu liquide spécifique.

-On introduit aseptiquement 1 ml du pré-enrichissement dans un milieu liquide SFB + additif SFB. Puis on incube les tubes à 37°C pendant 24 heures.

3^{eme} jour : isolement

Ensemencement sur milieu sélectif (SS + additif SS) à partir du bouillon d'enrichissement. Incubation à 37°C pendant 24 heures. (**Jean noel,2001**) (**Annexe 5**).

➤ **Lecture**

Apparition des colonies :

- Jaune saumon : E.coli, Entérobactérie. Klebsiella..
- Jaune saumon à centre noire : Proteus vulgaris, Citrobacter.
- Bleues ou vertes à centre noire : Salmonelle, Proteus mirabilis.

1-Analyses bactériologiques :

Les résultats relatifs aux dénombrements et à l'identification des germes se trouvent regroupés dans les graphes ci-dessous.

1-1-Flore aérobie mésophiles total (FTAM) :

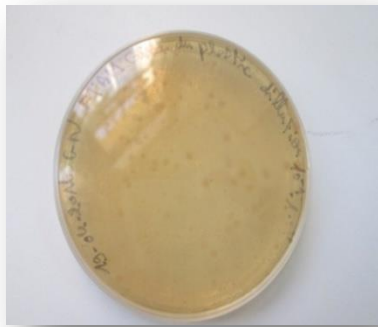


Figure 9 : FTAM (Caisse en bois)



Figure 10 : FTAM (Caisse en plastique)

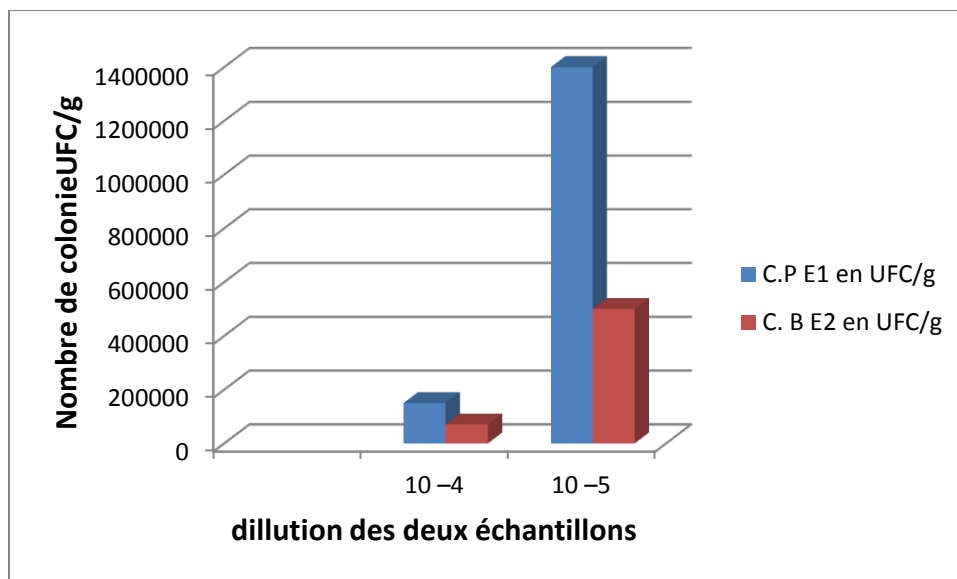


Figure 11 : Dénombrement de la FTAM

E1=C.P : (caisses en plastique).

E2=C.B : (caisses en bois).

Dans ce graphe nous observons que le dénombrement des FTAM a montré l'existence d'une différence de charge microbienne entre les deux entreposages (caisses en plastique et

bois). Pour des dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-5} , la charge bactérienne varie entre 15.10^4 et 14.10^5 pour les caisses en plastique par contre elle est de l'ordre de 5.10^4 et 7.10^5 pour les caisses de bois.

Les valeurs en nombre de la flore aérobie mésophile totale trouvée chez les échantillons sont nettement supérieures aux normes fixées par **ICMSF (1986)**, qui sont de l'ordre de 10^5 à 5.10^5 UFC/g.

D'après **Huss, (1988)**, la flore totale du poisson frais bien qu'elle soit très abondante, le nombre de ces bactéries joue un rôle insignifiant dans l'altération. La flore bactérienne du poisson fraîchement pêché dépend de l'environnement dans lequel il a été capturé, plus que de l'espèce de poisson.

Le poisson pêché dans les eaux propres et très froides a la charge microbienne la plus faible alors que celle du poisson pêché dans les eaux chaudes est légèrement plus élevée. (**Shewan, cité par FAO, 2000**).

1-2-les coliformes totaux et fécaux :



Figure 12 : coliforme totaux
(Caisse en bois)



Figure 13: Coliforme totaux
(Caisse en plastique)



Figure 14 : coliformes fécaux
(Caisse en plastique)

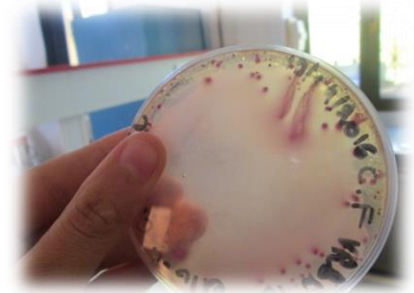


Figure 15 : coliformes fécaux
(caisse en bois)

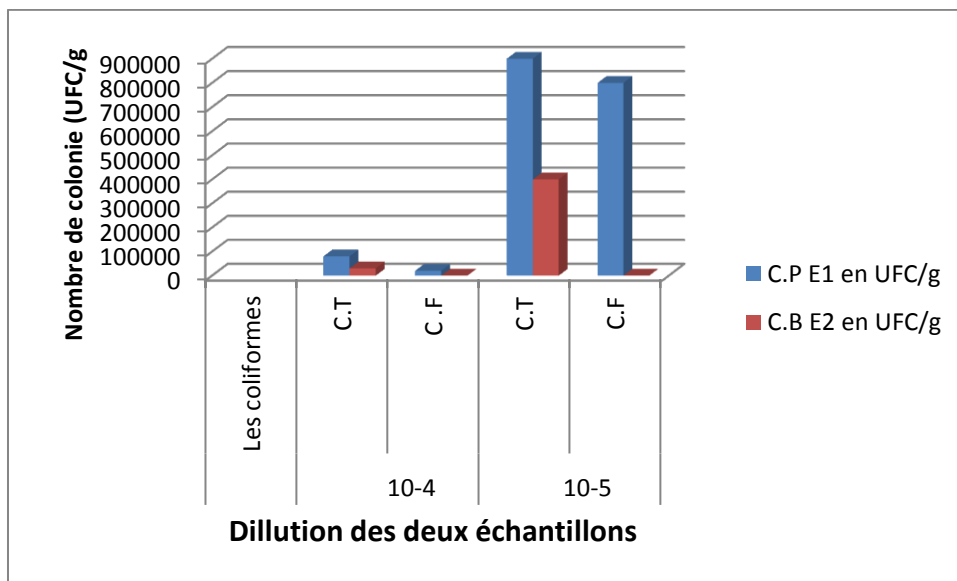
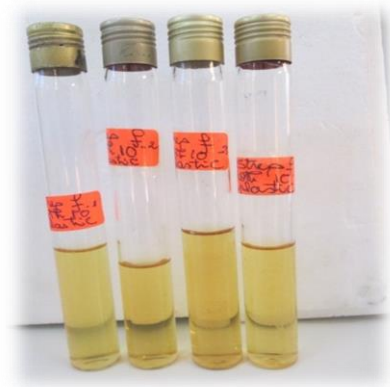


Figure 16 : Dénombrement des coliformes.

Dans la figure 16, nous observons que le dénombrement de coliformes totaux a montré l'existence d'une différence de charge microbienne entre les deux entreposages (caisses en plastique et en bois). Pour des dilutions allant de 10^{-4} à 10^{-5} , la charge bactérienne varie entre 9.10^4 et 2.10^5 pour les caisses en plastique par contre elle est de l'ordre de 1.10^4 et 4.10^5 pour les caisses en bois, par contre pour le dénombrement de coliformes fécaux présence d'une charge microbienne dans les caisses en plastique par rapport au bois elle varie entre 1.10^4 et 8.10^5 pour les caisses en bois absence totale de microbes.

En générale, d'après Afnor, (1985), il est recommandé de ne pas dépasser une moyenne de 10 UFC/g. et d'après **Blancher (1993)** la présence de coliformes fécaux traduit une contamination fécale récente.

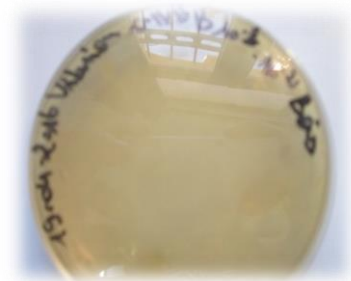
Des travaux assez récents ont montré que les coliformes fécaux se rencontrent dans les eaux de mer sujette aux rejets d'eaux usées polluées (Gomez, Leary, 1999). Puisque ce groupe (Coliformes) a été toujours utilisé pour mettre en évidence le manque d'hygiène, on peut en conclure que l'espèce débarquée au port et pendant cette période était impropre à la consommation, voir dangereuse pour la consommation

1-3-streptocoque fécaux :**Figure 17** : streptocoques fécaux

Il y'a absence totale de streptocoque fécaux dans les deux cas (bois et plastique), et les résultats négative pour les deux échantillons.

1-4- Vibriion cholérique :**Figure 18** : Vibriion cholérique

Caisse en plastique

**Figure 19** : vibriion cholérique

caisse en bois

Il y'a absence totale de vibron cholérique dans les deux cas (bois et plastique), et les résultats sont négatifs.

1-5- *Clostridium* sulfito-réducteur

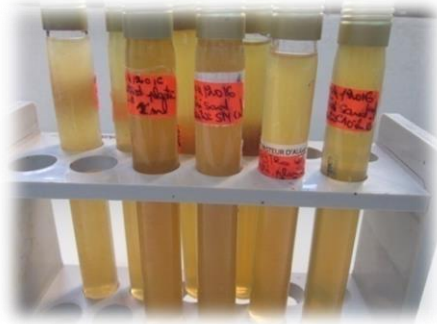


Figure 20 : *Clostridium* - sulfite réducteur (caisse de plastic)

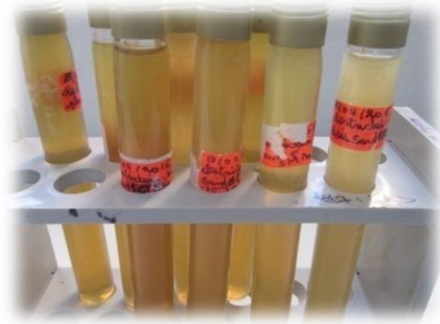


figure 21 : *Clostridium* sulfite réducteur (caisse de bois)

La recherche de ces germes a montré leur absence totale dans les deux échantillons (bois et plastique), des résultats négatifs pour l'échantillon ayant une dilution de 10^{-1} à 10^{-5}

Selon **Joffin (1992)**, la présence de *Clostridium* sulfite-réducteurs est un indice de contamination fécale ancienne à cause de leur spore résistante dans l'environnement.

1-6- *Staphylococcus aureus* :



Figure 22 : *Staphylococcus aureus*

Caisse en plastique



Figure 23 : *Staphylococcus aureus*

Caisse en bois.

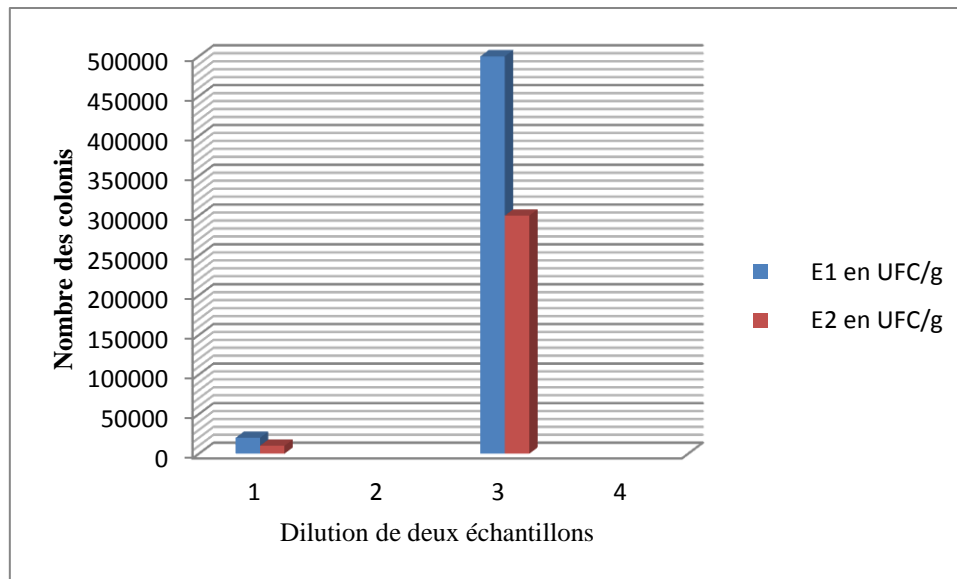


Figure 24 : Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Nous observons que le dénombrement de *Staphylococcus aureus* a montré l'existence d'une différence de charge microbienne entre les deux entreposages (caisses en plastique et en bois). Pour des dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-5} , la charge bactérienne varie entre $5 \cdot 10^4$ et $3 \cdot 10^5$ pour les caisses plastics par contre elle est de l'ordre de $3 \cdot 10^4$ et $5 \cdot 10^5$ pour les caisses de bois.

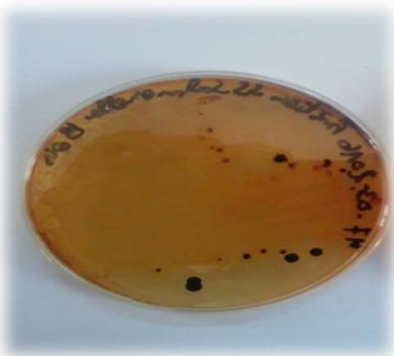
Il convient de signaler que *Staphylococcus aureus* est généralement inhibée en présence d'une flore compétitive importante. Pour cette raison, la recherche de *Staphylococcus aureus* ne revêt de signification que dans le cas des produits de la pêche qui ont reçu un traitement bactéricide, voire un traitement thermique en cours de fabrication. (Huss, 1998).

- Ces germes sont considérés comme étant des « germes tests » pour l'appréciation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires.

1-7-levure et moisissure :**Figure 25 :** levure et moisissure

(Dans les deux échantillons)

Il y'a une absence totale de levure et moisissure dans les deux cas (bois et plastique), résultats négative

1-8-Salmonelle :**Figure 26:** changement de couleur sur milieu SFB (cas de bois).**Figure 27:** colonies noire pour les caisses en bois

Nous suspectons la possibilité d'existence des salmonelles parce qu'au bout du 2^{ème} jour de la manipulation, nous avons pu observer un changement de la couleur du milieu qui est devenu trouble dans le cas des échantillons prélevés de la caisse de bois, par la suite nous avons vu une émergence d'un anneau ou colonie noirs.

Pour les échantillons prélevés des caisses de plastic il y'a une absence totale de *salmonelle* parce que ne change pas le milieu de SFB dans 2^{ème} jour de la manipulation.

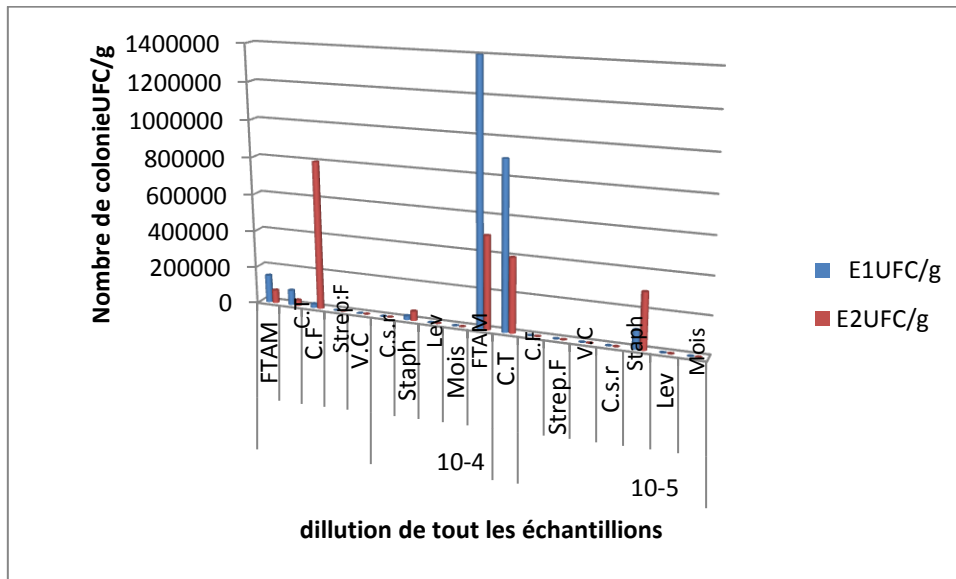


Figure 28 : graphe de tous les germes

Discussion :

L'ensemble des données retenues suite aux analyses microbiologiques effectuées sur la chair de la sardine *Sardina pilchardus* nous permettent de montrer que le dénombrement de la flore bactérienne fluctue pour l'ensemble des échantillons (*sardina pilchardus*) qui ont été prélevé sont en contact directe avec les caisses en bois et plastique au niveau de port de Mostaganem. On a constaté quelque groupe bactérien tel que la Flore aérobie mésophile totale (FTAM) . Et les coliformes (fécaux et totaux) et *Staphylococcus aureus* tandis que pour d'autre germes on constaté une absence totale comme les levures et moisissures et des *Clostridium* sulfito-réducteur et vibriion cholérique.par contre nous suspectons la possibilité d'existence des salmonelles sauf Pour les échantillons prélevés des caisses en bois.

La fore aérobie mésophile retrouvée chez *Sardina pilchardus* peut être considérées comme une flore d'altération, car la présence de ces germes revivifiables, indique un processus de dégradation en cours (Guiraud 1998).

Les concentrations des coliformes totaux sont respectivement plus importantes de la chair que les concentrations fécales. En générale l'évolution de nombre de bactéries chez le poisson semble suivre celle de population bactérienne du milieu ou ils évolue (**Elliot,1964, Bourgeois et al.,1988,1996**).

On peut dire que tous ces paramètres sont des facteurs importants pour la prolifération bactérienne chez une espèce pélagique telle que *Sardina pilchardus*.

La stabilité des valeurs qu'on a trouvé au niveau de notre espèce et l'évolution du nombre de bactérie qui suit celle de la population bactérienne du milieu ou elle évolue peut être un bon signe de bonne santé du milieu, et on peut rajouter que le dénombrement ne dépasse pas les normes pour la consommation selon les valeurs prescrites par la réglementation algérienne (**journal, officiel, 1998**). Il n'y a de risque pour la santé du consommateur que si la flore totale mésophile est supérieure ou égale à 10^5 microorganisme/gramme.

Conclusion :

La sardine *Sardina pilchardus* constitue une source importante de protéines animales. Il est caractérisé par une diversité d'espèces très importante et une hétérogénéité des microflore autochtones dont la composition est essentiellement liée à l'origine des poissons et à leur environnement.

La présente étude a consisté à étude de la Contamination microbiologique de entreposage de poisson (plastique et bois) utilise pour le stockage des poissons frai dans région de Mostaganem.

Sur le plan des analyses microbiologiques, les résultats obtenus ont démontré que la sardine subi une charge bactérienne au cours du stockage dans les caisses du bois et plastique. La présence des FTAM, les coliformes fécaux et totaux dans la sardine conservée dans les caisses de plastique plus que en les caisses en bois .et la présence de *Staphylococcus aureus* dans les deux cas. Et absence totale de *Clostridium sulfito – réducteur* , *vibrion cholérique*, *levure et moisissure* .Une probables contamination par la *salmonelle* au niveau des caisses en bois.

Toutefois, ces résultats semblent inferieures aux normes préconisées par la réglementation, ce qui n'empêche pas d'être plus vigilant en matière de salubrité et contrôle sanitaire.

Références bibliographiques

- AFNOR, 1985 ; association Française de normalisation Aliments des animaux, méthodes d'analyse françaises et communautaires. 2^{ème} Edition, 200p.
- AFNOR, 1999
- Aldbert, Y; and Carries, C. 1976. Premiers résultats d'une étude quantitative de la reproduction de la sardine dans le golfe de Lion XXV congrès C.I.E.S.M, Split.
- Alvarez, F ;and B.Morales, Nim. 1992. An attempt to determine growth and birth date of juvenile (*Sardina pilchardus*, Walb). In western Mediterranean Sea..Marine biology 144:199-203
- Amanatidou, A ;Schliiter, O, Lemkau, Gorris L.G.M, SMID , E .J and Atchill températures. In B.
- Bailly de Brugère H(2014) qualité des produits de la pêche, p115
- Berkel-BM , Boogaard BV, Heijnen C (2014) la conservation du poisson et de la viande, p835
- Bouchenak M (2012). Société Algérienne de nutrition ; nutrition et santé, 01 : 1-110.
- Bouchereau J.L , 1981. contribution à l'étude de la biologie et de la dynamique de la population exploitée de *Sardina pilchardus* (Walb, 1792) dans la baie d'Oran (Algérie). thèse de 3^{ème} cycle , uni ; Aix Marseille, Fasc.i&II , P 168.
- Bourgeois, C AFNOR.M et Lerou , J.y. 1991 technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol 3.
- Bourgeois, C. M et Lerou, J. Y. 1980-1981. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol 3.
- Boury, M. 1985. L'altération du poisson *Rév, Trav., Ins, Pêche, Marit.* 8(3), 31, p : 282-332.
- Braekkan , O.R.(1976). denemaeringstriessige betydning av fisk.fiskets gang, 35, 1976.
- Brébier,(2001). le poisson le facteur nutritionnel de prévention des maladies cardiovasculaires .
- Carries, 1976 Morphologie de la sardine *pilchardus* .
- CGPM, (1980). Groupe de travail sur l'évolution des ressources et les statistiques de pêche. Rapport de la consultation technique pour l'évolution des stocks dans les divisions statistiques Baléares et Golfe du Lion .In Bouchereau, J.L ; 1981
- Chauvet .C , 1986. Exploitation des poissons en milieu lagunaire méditerranéen. Dynamique du peuplement Ichtyologique et la lagune de Tenis de populations

exploitées par des boulingues (Mge, Loups, Dauades) Thés.Doc .etat .uni perpignan : 555p.

- Clofman, 1984. Poisson de l'atlantique Nord-est et de la Méditerranée. In; WHITEHEAD P.G.P. BAUCHOT M.L.NIELSON J & TORTONESE (Eds)
- Corraze, 1995. Choefel J.C. et Cheftel H.,(1976), (septième tirage 1992), *introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*, Tome I, Tech & Doc Lavoisier, Paris 381 pp.
- Corraze G et Kaushik S. (1999). Les lipides des poissons marins et d'eau douce oléagineux, *Corps gras, lipides*, 6(1), 111-115
- Corraze, G. and Kaushik, S. (1999) Les lipides des poissons marins et d'eau douce. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 6 (1), 111-115.
- Crepey JR et Mailliard J(1965) science et pêche ,marit p138.
-
- Demirhindi, V. 1960. Nutrition of sardine (*Sardina pilchardus*, Walb). *Cons. Gen. Peche. Méditerranéenne.* (6), Doc. Tech; (36), 9p.
- Diouf J-N (1993) .étude taxonomique ultra structurale et biologique des coccidies (protozoaires, aricouplex) parasites de poissons des cotes sénégalaises thèse de doctora,p157
-
- DPRH, 2004 .direction de la pêche et des ressources halieutique de la wilaya de Mostaganem.

et l'Agriculture. Perspective de l'alimentation SMIAR : système Mondial d'information et d'alert

- F.A.O (1983) .Codex alimentaires , code d'usage international recommandé pour le poisson frais F.A.O/O.M.S CAC/RCP/19/1976 , Rome :45 p
- F.A.O (1996) .Organisation des nations Unis pour l'Alimentation

FAO , (2013). La production mondiale de poisson et de produits de la pêche .

- FAO ,(2005) . situation mondiale des pêches et de l'aquaculture .
- FAO fisheries département -2004. Situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. *SOFIA*,
- FAO STAT,(2010) . *Division de statistiques* de la FAO

Références bibliographiques

- FAO , (2008) . Production et consommation du poisson .
- FAO, (1996). Organisation des Nation Unis pour l'Alimentation et l'Agriculture. Perspective de l'alimentation. SMIAR : Système Mondial d'information et d'Alerte Rapide sur l'Alimentation et l'Agriculture. N° 6/7/8, 1996- Rome, juillet/ Aout, septembre, 1996.
- FAO, 1983. Codex Alimentaires, code d'usage international recommandé pour le poisson frais.F.A.O/O.M.S.CAC/RCP/19/1976, Rome,
- FAO, 1996. Organisation des unis pour l'Alimentation et Agriculture. Perspective de l'alimentation.SAMIAR :Système Mondial d'information et d'Alerte Rapide sur l'Alimentation et l'Agriculture.
- FAO, 2000.département de pêche de la FAO. Profil de pêche par pays. Morroco 1-6p.
- FAO, 2013
- Fisher, W. (1973) .Fishes FAO d'identification des espèces pour les besoins de la peche . Méditerranée et Mer Noire (zone de peche 37) . Vol 2.761.1530.
- Frankel, E.N .1998. Lipid oxidation. *The Oily Press (vol. 10)*. Dundee, Scotland. 1
- Ghiraud J. 1998. Microbiologie alimentaire, ed. Dunod, Paris ; PP : 149-150.
- Guide des poissons de mer et peche . 5^{ème} édition, Delachaux et Niestlé S.A Lausanne (Swit-zeland) –Paris : 395 p .
- Gray 2(1980)16^e conférence générale, comptes rendus des séances paris P :8_12
- Huss H.H ., and Asenjo I., 1976 Strorage life of gutted and ungutted white Fish . annual report , Technological Laboratory . Ministry off isheries , Denmark : 32-37
- Huss, 1999 HUSS H. H. 1999. La qualité et son évolution dans le poisson frais. FAO Documents Techniques sur les Pêches- T348. Rome :196 p.
- Huss, H.H. 1988. Le poisson frais : qualité et altération de la qualité. Manuel de formation préparé pour le programme de perfectionnement FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le contrôle de qualité. Collection FAO : Pêches, N°29.
- Huss, H.H. 1998. Assurance de qualité des produits de la mer. FAO Document technique sur les pêches. N°334, Rome, FAO.1995.186p.
- HUSS,H.H . (1988). Le poisson frais : qualité et altération de la qualité .Manuel de formation préparé pour le programme de perfectionnement FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le contrôle de la qualité. Collection FAO :Peches ,N°29
- Hwang et al 2003

- Hwang, K.T. and Regeinstein, J.M. (1993) Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis. *Journal of Food Science*. 58 79-83.
- Ifremer, 2009)
- Jacobsen, C. 1999. Sensory impact of lipid oxidation in a complex food systems. *Fett/Lipid* 101 484-492.
- Jensen, M. H et al. 1980. Storage of chilled cod under vacuum and at various concentrations of carbon dioxide. In *Advances in fish science and technology*, p.294-297, éd. J.J. Connell. Farnham, Surrey, Uni-Royaume Fishing News (Books) .Ltd.
- Jiang , 1998 P19
- Josiane Cyr. (2006) .Attention de la nutrition –Article Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF)
- Josiane Cyr, 2006. Attention de la nutrition- Article – Institut des nutraceutique et des nutraceutique et des aliments fonctionnels (INAF).
- Jouve, J. L. 1996. La qualité microbiologique des aliments. CNERNA. 2^{ème} édition, ISBN, 2-84054-040-1, Paris : 563p.
- Kitinaja let Kader AA (1998) méthode de manutention-RRécueil pour petits exploitants ;un manuel pour les cultures horticoles, etas-unis 221.
- Knorr, D. (2000). Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmosphere on the shelf life of fresh Atlantic salmon. *Innovative food science & Emerging technologies*. 1:87-98. **Kawabata, T. (1953)**. Studies on the trimethylamine oxidoreductase. 1. Reduction of trimethylamine oxide in the dark muscle of pelagic migrating fish under aseptic conditions. *Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries* 19: 505-512
-
-
- Lall et Lewis-McCrea , (2007). Role of nutrition in skeletal metabolism and pathology in fish-An overview .aquaculture , 2007 *Chemistry* 35 295-314 review . *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 27 220-229.37. *Development Program, Rome –X-Y-Z – Bibliographie* 210 *Communication* 220 996-1001 .
- Lall S., Parazo M.P .,(1995). In "Fish and Fishery Products " , ed Ruitter A.pp 157-186. CAB International , Oxon UK .

- Larranetta G, 1960. Exposé synoptique des données biologiques sur *Sardina pilchardus* de la méditerranée et des mers limitrophes. Species synopsis n°4,FAO.Fish Biol Synop n° 9 p :137-173.
- Linden G., lorient D., (1994). *Biochimie agro-industrielle : Valorisation alimentaire de la production agricole* , Masson SA , Paris , 37 pp
- Liston J . 1980 . Microbiology in fishery science . in : Advance in fish Science and Technology . Ed .J.J.Connell ,Fuhsing News Book Ltd Fareham ,Surrey , England .
- Liston, J. 1980. Microbiology in fishery science. In advances in fishery science and Technology (ed. Connell. J. J) Fishing News Books.
- Love, R. M. 1980. The Chemical Biology of Fishes. Vol 2. Londres Academic Press.
- Montassier, C. 1998. Les poissons et le milieu marin, Arti. Paris, 8p.
- Mouhoub, R., 1986. Contribution à l'étude de la biologie et la dynamique de la population exploitée de la sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) des cotes Algéroises (Algérie). Thèse de Magistère en halieutique, USTHB .pp163
- Muss , B.,J ; NIELSON , J.G ; DAHLSTROM , P& OLESEN NYSTROM , B.(1998).
- Muss, B.J; Nielson, J.G; Dahlstrom, P ET Olesen Nystrom, B. 1998. Guide des poissons de mer et pêche.5^{ème} édition, Delachaux et Nestlé S.A. Lausanne (Swaziland)-paris: 395p
- Peiffer, 1999.Toxi-infections alimentaire à *Staphylocoques*.(PEIFFER@Club internet.fr).
- Rapide sur l'Alimentation et l'Agriculture . N°6/7/8 , 1996-Rome , Juillet/Aout , Septembre , 1996 .
- Sainclivier, M. 1983. Les industries alimentaires halieutiques : poisson et matière première. Bull. Tech. De l'école nationale de Rennes.263p.
- Selectivity in mobilisation of stored fatty acids by maturing cod , *Gadus morchua* .L.Comp Biochem .Phsicol. SOB, 713-718
- Shewan , J.M .(1974) . The boideterioration of certain proteinaceous foodstuffs
- Shewan J.M ., 1962. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes .Recent Adv . Food Sei . 1 : 167-193 .
- Shewan, 1974. Manuscript du 20 juin 1990 biochemical characteristics of tropicale fish p.17-117.
- Shewan, J.M. 1962. The bacteriology of fresh and soiling fish and some related chemical changes. In recent advances in food science, Vol. 1: 167-193, éd. J.

Références bibliographiques

- Shewan, J.M. 1977 The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In handling, processing and marketing of tropical fish, p. 51- 66. Londres, Tropical Products Inst. Shewan J.M. , 1961. The microbioilogy of sea-weater fish . in :fish as food and food 1 , Acadmie press ,New – York . : 487-560
- Southgate D.A.T et Greenfield .H (2007) , Food composition data Production . Managements and Use , second ed FAO.Rome .
- Stansby . M.E.(1962) .Proximate composition of fish In E Heen and R Kreuzer (ed) *Fish in nutrition* , Fishing News Books Lid , London , 55-60 .
- Suzuki , T .(1981) . *Fish an Krill Protéine : Processing Technology* . Applied Science Pubi , Ltd , London , 62-147 . Takama , K R.M Love and G.L Smith (1985)
- Thurman , H.V. and H.H. Webber (1984) . *Marine Biology* . Charles E Merrill Publishing C.A. Bell and Howell Co .Columbus Ohio .
- Toliara M., (1997) .*Guide pour le trainement et la Valorisation du poisson – Torolalana Momba ny Fikarakarana ny fia*, projet Intégré de la peche traditionnelle sur la cote sud Disponible sur : www.fao.org/docrep/field/379683.html (consulté le 16 septembre 2007)
- Walbaum , (1792) . FishBase : espèce *Sardina Pilchardus* , (en) {PDF} christopher Dudley sardines May Prevent Toxic Gas Eruptions off the California and African Coasts {archive} , October 18 , 2004, (conslté 2009/06/18)

Annexes n° 1 : Flore totale Aérobie Mésophile (FTAM)

A partir des dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-3} , on porte aseptiquement 1ml

Dans chaque boîte pétri vide, préparée et numérotée.

- On met dans chaque boîte pétri 1ml de nos dilutions.
- On complète avec 25ml de GN ou PCA fondue puis refroidie et bien agitée en faisant des mouvements circulaires et horizontaux.
- Laisser refroidir, puis incuber à 30C° pendant 27heures

Lecture :

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en multipliant toujours par l'inverse de la dilution.

Annexe n°02 : Coliformes fécaux

- On met dans chaque boîte pétri 1 ml de nos dilutions.
- On complète avec 25 ml de VRBL fondue puis refroidie et bien homogénéisée en faisant des mouvements circulaires et horizontaux.
- Laisser refroidir, puis incuber à 44C° pendant 24 heures.

Lecture :

Il s'agit de compter toutes les colonies rouges d'un diamètre au moins de 0.5 mm ayant poussé sur les boîtes en multipliant toujours par l'inverse de la dilution.

Annexe n°03 : staphylococcus aureus

On fait fondre le milieu Baird Parker, on additionne à ce dernier un additif.

Préparation de l'additif de Baird Parker.

Milieu	Quantité
Glycocolle à 12%	25ml
Tellurite de potassium à 20%	2.5ml
Emulsion stérile du jaune d'œuf	12.5ml
Sulfaméthazine à 0.2%	1ml
Pyruvate de sodium à 20%	12.2ml

- Pour préparer l'émulsion de jaune d'œuf dans la haute, on introduit 15ml de l'eau physiologique dans un flacon stérile puis on ajoute avec une pipette stérile 7ml du jaune d'œuf.
- On incube à 37C° pendant 24heures.

Lecture :

Après 24heures, on détecte des colonies noires entourée d'un halo clair.

Annexe n°4 : clostridium sulfito-réducteurs

A partir des dilutions, on met aseptiquement 1 ml dans chaque boîte pétrie numérotée puis on ajoute 15ml de milieu TEC basse à le quel on ajoute 0.2ml d'additif perfringens et 1ml de l'émulsion du jaune d'œuf. On met les boîtes de pétri dans la jarre pour créer l'anaérobiose à ces germes.

Les boîtes seront incubées à 46C° pendant 24heures.

Lecture :

Après 24heures, on détecte des colonies noires poussées en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5mm.

Annexe n°05 : Salmonella sp

La recherche s'effectue à partir 25g de produit en passant par les étapes suivantes :

1^{er} jour : pré enrichissement

Les 25g de chaires broyées dans 255ml d'eau tryptamine sel(TSE), on incube à 37C° pendant 24heures.

2^{ème} jour : Enrichissement

L'ensemencement dans deux milieux liquides, on introduit aseptiquement 1ml du pré enrichissement dans un lieu SFB simple concentration puis on ajoute 2disques d'additif (sélénite de sodium). On incube le tube à 37C° pendant 24heures.

Dans le deuxième tube, on utilise 0.1ml du pré enrichissement, on le met dans un milieu rapport vassiliadis puis dans un bain marie à 42C° pendant 24heures.

3^{ème} jour : Isolement

Ensemencement d'un milieu sélectif solide (gélose Hectoén) à partir du bouillon d'enrichissement et incubation à 37C° pendant 24heures.

Lecture :

Apparition des colonies :

- Jaunes saumon : E Coli, Enterobacter, Klebsiella.
- Jaune saumon à centre noir : Salmonelle, proteus mirabilis.
- Annexe n°6 : Evolution des différents germes durant la conservation de la sardine par le froid .**Viande Foie (VF)** :

Extrait viande-foie	30g
Glucose	2g
Amidon	2g
Gélose	12g
Eau	1000ml

Ph =7.6 .autoclave 20 ml a 115 °C.

SOLUTION DE SULFITE DE SODIUM :

Sulfite de sodium pur	01g
Eau distillé	qsp 09ml

Stériliser par chauffage pendant 10 min

BAIR-PARKER :

Tryptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	1g
Chlorure de lithium	5g
Gélose	20g
Sulphamézathine de sodium	25g

PH=7. Autoclave 15 minutes a 120 °C.

Ajouter au moment de l'emploi a 100ml de milieu en surfusion.

Glycocolle a 120/	10ml
Tellurite de potassium a 10/	1ml
Pyruvate de sodium a 20/	5ml
Emulsion stérile de jaune d'œuf	5ml

TRYPTONE-SEL-EAU (BOUILLON) :

Tryptone	1g
Chlorure de sodium	8.5g
Eau	1000ml

PH=7. autoclaver 20 minutes a 120 °C.

MILIEU ROTH S/C :

Peptone	20g
Glucose	05g
Chlorure de sodium	05g
Monohydrogénophosphate de potassium	2.7g
Dihydrogénophosphate de potassium	0.2g
Eau distille	qsp 1000ml

Ajuster le PH a 6.8-7

Milieu de Peptone	20g
Glucose	05g
Chlorure de sodium	05g
Monohydrogénophosphate de potassium	2.7g
Dihydrogénophosphate de potassium	0.2g

Eau distille qsp 1000ml

Ajuster le PH a 6.8-7

ROTH (D/C) :

Peptone	40g
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	05g
Chlorure de sodium (NaCl)	05g
Monohydrogénophosphate de potassium (K ₂ H ₂ PO ₄)	2.7g
Dihydrogénophosphate de potassium (K ₂ H ₂ PO ₄)	0.2g
Eau distille	qsp 1000ml

Aside de sodium (Na N₃)

Ajuster le PH a 6.8-7

MILIEU LITSKY :

Peptone	20g
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	05g
Chlorure de sodium (NaCl)	05g
Monohydrogénophosphate de potassium (K ₂ H ₂ PO ₄)	2.7g
Dihydrogénophosphate de potassium (K ₂ H ₂ PO ₄)	2.7g
Eau distille	qsp 1000ml

Solution d'éthyle violet 05ml

Azide de sodium (Na N₃) 2.3g

Ajuster le PH a 6.8-7

Stériliser a l'autoclave à une température de 121°C pendant 20 ml

CRITERES MICROBIOLOGIQUE DES POISSONS ET DES PRODUITS DE LA PECHE**(JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DU 27 MAI 1998.N°35):**

<u>PRODUIT</u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>M</u>
Germes aérobies à 30°C	5	3	$5 \cdot 10^6$
Coliforme totaux	5	3	10^3
<i>Escherichia coli</i>	5	3	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	10^3
Streptocoques fécaux	5	3	10^3
Salmonella	5	0	absence

n : nombre d'unité composant l'échantillon.

m : seuil au- dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisant.

C : nombre d'unité composant l'échantillon donnant des valeurs situées entre m et M.

M : seuil limite d'acceptabilité au- delà du quelle les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisant.