

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Intitulé

**Exploration biologique des organes du Barbeau congelé et Tilapia rouge
d'élevage frais.**

Présenté par :

Bouhadja Samir

Laib Yasser

Merghadi Nasereddin

Lassoui Ayoub

Membre de jury :

BASLI M.	M.C.A.	Président	Université 20 aout 1955 Skikda
ABBACI S.	M.A.A.	Directeur de mémoire	Université 20 aout 1955 Skikda
MAACHIA L.	M.A.A.	Examineur	Université 20 aout 1955 Skikda

Année universitaire 2021/2022

Remerciements



Avant tous nous remercions « Allah » qui nous a donné le courage , la volonté et la force pour réussir ce modeste travail , merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous remercions sincèrement et très chaleureusement notre encadreur **Abbací Samah** pour avoir accepté de nous encadrer et de nous accompagner , pas à pas à travers sa disponibilité , ses orientations et ces **conseils** pertinents qui ont grandement facilité ce travail.*

*Nous tenons à remercier également l'ensemble des membres du jury **Dr Abdelkader Basli** et **Mme Machia Leila** examinatrice qui ont accepté d'évaluer notre travail.*

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace



A la lumière de mes jours , la source de mes efforts , la flamme de mon cœur : Mes parents Mechouk Braïkea que dieu lui fasse miséricorde

A mes frères Abderaouf et Wided et leurs enfants.

A toutes ma famille.

A mes chères amis monsieur Bouhadja Samir , laïb yasser , Merghadi Nasereddin et Rezagui Fares

A mes chers enseignant : Dr ghaname maya ,madam enagra ,madam baenzazya madame abacci madame machia, Mr ozal badis, Dr Slimani Souheila , Dr Belambri Sahra Amel , monsieur Alouch , Dr Boudefa , Dr bouleknafed fouzi et mr Satouh .

A mes collègues : prmotion de Biochimie Appliquée 2022.

AYOUB

Dédicace

*A la lumière de mes jours , la source de
mes efforts , la flamme de mon cœur :
Mes parents Abdelaziz et Sihem*



*A mes frères Akram et Amir Abdelrahmen et ma
petite sœur Maram*

A mes grand pères mes source de bonheur dans la vie

A toutes ma famille.

*A mes chères amis monsieur Bouhadja Samir , lassoui
Ayoub , Merghadi Nasereddin , et aussi Rezaoui Fares
, Lahmr takí Eddine qui a nous l'aide dans ce travail.*

*A mes chers enseignant de département SNV . Dr
abbac , Dr ghaname , Dr boudjelab skandar, Dr
machia*

*A mes collègues : prmotion de Biochimie Appliquée
2022.*

Yasser

Dédicace



A la lumière de mes jours , la source de mes efforts , la flamme de mon cœur : Mes parents Merghadi Abd el hake et Mohamed ben Ali Lynda

A ma sœur Imane

A mon ami younes youcef

A mon grand père Mohamed ben Ali djamel que dieu lui fasse miséricorde

A ma Granet mère boufare Nadia que dieu lui fasse miséricorde

A mes chers enseignant de département SNV . Dr abbaci , Dr ghaname , Dr boudjelab skandar,

A mes collègues : prmotion de Biochimie Appliquée 2022.

Nasreddin

Dédicace



Je dédie ce travail. À l'âme de mon père

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma
vie et mon bonheur ; Ma mère*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de
mon parcours Universitaire.*

*A tous mes frères et ma sœur, mes nièces , et mes
neveux.*

*Je dédie ce travail a Ma femme qui ma toujours aidé et
encouragé.*

A mes enfants Serine, Djalal Eddine zakaria.

*A tous mes enseignants université de 20 Aout 1955
Skikda : Dr abbaci , Dr ghaname , Dr boudjelab skandar,
Dr Belambri Sahra Amel Dr benzazya , madame
machia , Dr Slimani ,*

*A tous mes amies , mes collègues d'étude Yesser , Ayoub
, Nasreddine*

*A toute les étudiants Master biochimie appliquée 2021-
2022*

Bouhadja Samir

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer la qualité organoleptique (odeur, couleur, texture et goût), biométrique, parasitologie, bactériologique, activité enzymatique, histologique et métaux lourds de 19 poissons congelés du barbeau *Luciobarbus callensis* originaire du lac Oubeira (wilaya d'EL Taref) échantillonnés en 2020, et un poisson frais *Tilapia sp* comme témoin de la station de la crevetticulture d'El-Marsa (wilaya de Skikda). L'analyse microbiologique nous a permis d'isoler des agents pathogènes (*Enterobacteries, Staphylococcus, Clostridium*) et des bactéries lactiques (*Streptococcus et Lactobacillus*). Cependant, l'évaluation de la qualité organoleptique à travers les méthodes sensorielles des deux espèces de poissons après leur décongélation révèle des changements et des modifications à leur qualité.

Mots clés : Lac Oubeira, Poissons, Qualité organoleptique, Qualité bactériologique.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة الحسية و الطفيلية البكتريولوجية و عمل الانزيمات و تقييم الانسجة و المعادن الثقيلة لنوعي من أسماك المياه العذبة المجمدة (سمك الباربوسمك تيلابيا) لبحيرة أبيرة (ولاية الطارف) التي لها دور مهم في النظام البيئي للمياه العذبة الجزائرية. التقييم عن طريق الوسائل الحسية لنوعي السمك بعد ازالة التجميد الذي اظهر تغيرات في الجودة.

الكلمات المفتاحية : بحيرة ابيرة, سمك, جودة حسية, جودة بكتريولوجية.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the organoleptic quality (smell, color, texture and taste), biometric, parasitology, bacteriology, enzymatic, histological and heavy metal activity of the two species of frozen fish *Luciobarbus callensis* and *Tilapia*.

Originating from lake Oubeira (wilaya of Taref) after the sampling of samples (March 2020)

We will do the study on 19 barbel fish and two tilapia fish as a witness, however the evaluation of the organoleptic quality through the sensory method of the two species of fish after their thawing reveals changes and modifications in their quality.

Keywords: Oubeira lake, fishes, Organoleptic quality, Bacteriological quality.

Liste des figures

N°	Titre	Page
Fig.1	Localisation du lac Obéira (Google earth, 2022).	4
Fig.2	Barbeau Algérien (a) et Tilapia (b) (Photo personnelle, 2022).	5
Fig.3	Présentation des différentes mesures de longueurs (Photo personnelle, 2022).	7
Fig.4	Prise du poids des poissons (Photo personnelle, 2022).	7
Fig.5	Observation par binoculaire du mucus des poissons (Photo personnelle, 2022).	9
Fig. 6	Les différents tissus prélevés au niveau du <i>Luciobarbus callensis</i> issu du lac Oubéira.	9
Fig.7	Observation par binoculaire les Nématodes parasites enkystés dans le tube digestif du barbeau du lac Obéira (photo personnelle, 2022).	10
Fig.8	Schéma représentatif des différents lots de poissons dans différentes conditions.	12
Fig. 9	Préparation d'une solution mère.	13
Fig.10	Schéma représentatif de la préparation des séries de dilution à partir d'une solution mère.	14
Fig.11	Bain marie pour transformer les milieux de culture de l'état solide vers l'état liquide.	14
Fig.12	Les milieux culture gélose nutritive.	15
Fig.13	Milieu de culture Chapman.	15
Fig.14	Milieu de culture Hektoen.	15
Fig.15	Schéma représentatif d'ensemencement des échantillons après dilution dans le milieu de culture gélose nutritive.	16

Fig.16	Schéma représentative d'ensemencement échantillons après dilution dans les milieux de culture Chapman-MRS.	17
Fig.17	Schéma représentatif de l'ensemencement des échantillons dans le milieu viande foie.	18
Fig.18	Schéma représentatif d'ensemencement échantillons après dilution dans le milieu de culture M17-HK.	19
Fig.19	Compteur de colonies utilisé pour dénombrer la FTAM.	20
Fig.20	Schéma représentatif de l'observation macroscopique des colonies.	20
Fig.21	Observation microscopique de l'état frais.	21
Fig.22	Réactifs et lames de la coloration de Gram.	22
Fig.23	Mise en évidence de la catalase.	22
Fig.24	Préparation du milieu gélose au Jaune d'œuf.	23
Fig.25	Préparation du milieu gélose à l'amidon.	24
Fig.26	Méthode de conservation des bactéries lactiques	25
Fig.27	Spectrophotomètre d'absorption atomique UV.	26
Fig.28	Préparation de l'échantillon via HCL 37 %.	27
Fig. 29	Préparation de l'échantillon pour le dosage du fer.	28
Fig.30	Dépôt des tissus dans du formol à 10 % pour la fixation et la mise en cassettes.	29
Fig.31	Dépôt des échantillons dans un automate de l'histologie pendant 16 heures.	30
Fig.32	Réalisation des moules dans le console à l'aide de paraffine.	30
Fig. 33	Réalisation des coupes histologiques très fine à l'aide d'un microtome.	31
Fig.34	Les coupes déposées dans le bain marie pour l'incubation à 140° C pendant 30 min.	31
Fig.35	Coloration Hématoxyline Éosine.	32
Fig.36	Représentation de la régression linéaire.	34

Fig.37	Observation macroscopique après l'ensemencement sur le milieu MRS.	36
Fig.38	Schéma représentatif d'ensemencement des échantillons après dilution dans le milieu de culture VF.	36
Fig. 39	Gélose viande foie qui contient <i>Clostridium</i> .	37
Fig.40	Observation macroscopique des poisson 12 et 13 sur milieu Hektoen	37
Fig.41	Observation macroscopique du milieu M 17 des poissons 12 / 13 / 17.	37
Fig.42	Observations microscopiques après coloration de Gram.	49
Fig.43	Résultat de l'observations macroscopiques d'une bactérie lactique productrice d'EPS.	50
Fig.44	Observation microscopique du muscle du barbeau n°2 (grossissement a :100 ; b : 400).	53
Fig.45	Observation microscopique du cerveau du barbeau n°2 et 6 (grossissement a :100 ; b : 400).	53
Fig.46	Observation microscopique des gonades du barbeau n°6 (grossissement a :40 ; b : 100).	54
Fig.47	Observation microscopique des branchies du barbeau n°5 (grossissement a :40; b : 100 et c :400).	54
Fig.48	Observation microscopique des branchies du barbeau n°6 (grossissement a :40; b : 100 et c :400).	55
Fig.49	Observation microscopique des branchies de Tilapia grossissement 100.	56
Fig.50	Observation microscopique de la chair de Tilapia grossissement 100.	56
Fig. 51	Observation microscopique du cerveau de Tilapia grossissement 100.	57

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
Tab.1	Relation taille poids et indices.	33
Tab.2	Résultat du dénombrement de la flore totale des organes des barbeaux congelés.	35
Tab.3	Résultats représentatifs des organes ensemencés sur différents milieux.	38-39-40
Tab. 4	Résultat de l'observation macroscopique des bactéries isolées.	40
Tab. 5	Observation macroscopique et microscopique des bactéries du poisson parasité N°9.	40-41
Tab.6	Le résultat récapitulatif des bactéries présentes dans les organes des 13 poissons.	41-46
Tab.7	Résultat du barbeau parasité N°9.	46-47
Tab.8	Résultats des poissons 9-11-15-18.	47
Tab.9	Résultat du dénombrement de la flore totale des organes.	47
Tab.10	Résultat des bactéries présentes dans les différents organes.	48
Tab.11	Résultat des observations macroscopique et microscopique des bactéries isolées du M17.	48
Tab.12	Résultat de la coloration de Gram et du test catalase.	48
Tab.13	Résultat des activités enzymatiques des bactéries lactiques.	49
Tab.14	Résultat des observations macroscopique et microscopique des isolats producteurs d'EPS.	49
Tab.15	Représentation du séchage des organes des poissons	51
Tab.16	Concentration des ETM dans les trois organes de barbeaux parasité et non parasité	52

Liste des abréviations

- : caractère négatif
+ : caractère positif
% : pourcentage
°C: degré de Celsius
BB : Blanche bombée
Br : Branchies
C : chair
Cm : centimètre
Cp2k : complexe pétrochimique 2 SKIKDA
Cu : cuivre
EPS : exo polysaccharide
Fe : fer
G⁺ : Gram +
G⁻ : Gram -
G : gonade
g : gramme
Gn : gélose nutritive
H₂O : eau
H₂O₂ : eau oxygéné
H₂S : sulfate d'hydrogène
H : heure
HCL : acide hydrochlorique
HK : Gélose hektoen
JB : jaune bombé
Km : kilomètre
m : mètre
Min : minute
MRS : gélose de Man, Rogosa, Sharpe
N⁰ : numéro
Nm : nanomètre

O₂ : oxygène

Ph : phosphate

ppm : partie pour million

S : seconde

SM : solution mère

T : température

TD : tube digestif

UV : ultraviolet

VF : viande foie

SOMMAIRE :

Liste des figures

Liste des Tableau :

Abréviation :

Chapitre I : Introduction	1
Introduction :	1
Chapitre II : Matériel et Méthodes_	2
1 Site d'étude	Erreur ! Signet non défini.
2 Présentation des espèces	Erreur ! Signet non défini.
3 Évaluation de la qualité des poissons.....	Erreur ! Signet non défini.
3.1 Paramètres biométriques.....	Erreur ! Signet non défini.
3.1.1 L'indice de condition :	Erreur ! Signet non défini.
4 Étude parasitologues	Erreur ! Signet non défini.
4.1 Éviscération	Erreur ! Signet non défini.
5 Analyses bactériologique.....	Erreur ! Signet non défini.
5.1 Identification bactérienne des lot :	Erreur ! Signet non défini.
5.2 Matériels et milieux utilisés.....	Erreur ! Signet non défini.
5.2.1 Préparation des solutions mère	Erreur ! Signet non défini.
5.2.2 Préparations des Série de dilution :	Erreur ! Signet non défini.
5.2.3 Préparation du milieu dans une boîte Pétri :	Erreur ! Signet non défini.
6 Recherche et dénombrement des bactéries	Erreur ! Signet non défini.
6.1 Recherche et dénombrement des bactéries sur gélose nutritive :	Erreur ! Signet non défini.
6.2 Recherche et dénombrement des bactéries lactiques.....	Erreur ! Signet non défini.
6.3 Recherche et dénombrement des bactéries halophiles ...	Erreur ! Signet non défini.
6.4 Recherche et dénombrement des bactéries type respiratoires ...	Erreur ! Signet non défini.
6.5 Recherche et dénombrement des bactéries entérobactéries pathogènes	Erreur ! Signet non défini.
6.6 Recherche et dénombrement des bactéries Streptococcus	Erreur ! Signet non défini.
7 Études macroscopie et microscopie des bactéries	Erreur ! Signet non défini.
7.1 Macroscopique :	Erreur ! Signet non défini.

c'est l'observation à l'œil nue des colonies ce qui permet de décrire la taille, la couleur et la forme.	Erreur ! Signet non défini.
7.2 Microscopique état frais.....	Erreur ! Signet non défini.
7.2.1 Principe :.....	Erreur ! Signet non défini.
7.2.2 Matériel nécessaire :.....	Erreur ! Signet non défini.
7.2.3 Technique :.....	Erreur ! Signet non défini.
7.2.4 L'interprétation :.....	Erreur ! Signet non défini.
7.3 La coloration de Gram :.....	Erreur ! Signet non défini.
8 Identification des bactéries par vois biochimique.....	Erreur ! Signet non défini.
8.1 Test de catalase :.....	Erreur ! Signet non défini.
8.2 Tests des enzymes digestifs.....	Erreur ! Signet non défini.
8.2.1 test lipoprotéines-lipase- Lecithinase.....	Erreur ! Signet non défini.
8.3 Les tests amylase.....	Erreur ! Signet non défini.
8.3.1 Préparation des milieux cultures spécifiques la gélose d'amidon	Erreur ! Signet non défini.
8.3.1.1 Préparation des milieux cultures spécifiques la gélose d'amidon	Erreur ! Signet non défini.
9 La conservation de la bactérie lactique.....	Erreur ! Signet non défini.
9.1 Préparation glycérine végétale à 20 % :.....	Erreur ! Signet non défini.
9.1.1 Préparation du milieu nutritif : on dépose 20 g dans une 0.5l d'eau distillée	Erreur ! Signet non défini.
10 Impacte de la contamination métallique sur les bactéries ...	Erreur ! Signet non défini.
Le cuivre (Cu).....	Erreur ! Signet non défini.
11 Impact de la température sur la qualité des poissons	Erreur ! Signet non défini.
11.1 Echantillons Etudies.....	Erreur ! Signet non défini.
LES GONADES	Erreur ! Signet non défini.
LES BRANCHIES.....	Erreur ! Signet non défini.
11.2 METHODES	Erreur ! Signet non défini.
11.2.1 ENROBAGE.....	Erreur ! Signet non défini.
 Chapitre III : Résultats et discussion	
1 Étude des indices biologiques	Erreur ! Signet non défini.
2 Analyse bactériologique	Erreur ! Signet non défini.
2.1 Impact de décongélation sur les caractéristiques microbiologiques des poissons dulcicoles.....	Erreur ! Signet non défini.
2.2 Macroscopiques	Erreur ! Signet non défini.
2.3 Microscopiques	Erreur ! Signet non défini.

2.4	Caractères physiologiques et biochimiques	Erreur ! Signet non défini.
2.5	Test de la catalase	Erreur ! Signet non défini.
2.6	Lecture après 72 heures sur le milieu MRS	Erreur ! Signet non défini.
2.7	Lecture après 72 heures sur le milieu VF	Erreur ! Signet non défini.
2.8	Lecture après 72 heures sur le milieu HK	Erreur ! Signet non défini.
2.9	Lecture après 72 heures sur le milieu M17	Erreur ! Signet non défini.
2.10	Analyse bactériologie chez le barbeau après culture dans les milieux spécifiques :	Erreur ! Signet non défini.
2.11	Teste biochimique	Erreur ! Signet non défini.
2.12	Résultats d'activité enzymatique pour les Barbeaux 9-11-15-18..	Erreur ! Signet non défini.
2.13	Résultats d'Exopolysaccharide (EPS)	Erreur ! Signet non défini.
3	Évaluation du taux de l'eau dans les organes	Erreur ! Signet non défini.
4	Évaluation des éléments trace métallique dans les organes de barbeaux ..	Erreur ! Signet non défini.
4.1	Effet de la congélation sur les caractéristiques sensorielles des poissons	Erreur ! Signet non défini.
4.2	MONTAGE.....	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre IV : Conclusion.....		43

Chapitre I : Introduction

Les poissons téléostéens sont des modèles d'étude particulièrement intéressants. Les téléostéens sont apparus il y a plus de 600 millions d'années et sont aujourd'hui représentés par plus de 28 000 espèces (Reis *et al.*, 2004), soit près de la moitié des vertébrés (Sullam *et al.*, 2012). Ce groupe est intéressant car différentes parties du corps des poissons peuvent être échantillonnées ; mucus, peau, branchies, intestins, gonades, etc..., et peuvent réagir de manière différentes à une perturbation des conditions environnementales (Sylvain *et al.*, 2016). La plupart des poissons sont abondants et faciles à échantillonnées en nature autant qu'en captivité, ce qui fait d'eux d'excellents sujets d'étude. Sans oublier leur grande importance dans le contexte socio-économique mondial. Effectivement, la FAO (2016) mentionne que 167.2 millions de tonnes de poissons sauvages ont été consommées en 2014 sur l'ensemble de la planète. Toutefois, le poisson en tant que denrée alimentaire est hautement périssable pouvant s'altérer immédiatement après sa capture devenant vite impropre à la consommation et même dangereux pour la santé à cause des proliférations microbiennes, des modifications chimiques et d'une dégradation par des enzymes endogènes.

Les bactéries sont apparues sur la terre 2 milliards d'années avant les premiers signes de vie eucaryote (Lee et Mazmanian, 2010). Depuis plus de 500 millions d'années, les bactéries co-évoluent en symbiose avec des organismes hôtes eucaryotes (Hickman, 2005). Les interactions bactéries–Eucaryotes ont potentiellement joué d'importants rôles dans l'histoire de la vie sur terre. Par ailleurs, la microflore des poissons d'eaux tempérées est dominée par les bactéries psychrotrophes à Gram négatif ; *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella* et *Flavobacterium*. Les membres de la famille des vibrionacés (*Vibrio* et *Photobacterium*) et des *Aeromonodacés* (*Aeromonas* spp.) sont aussi des bactéries courantes de la flore du poisson. Des bactéries à Gram positif comme *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Corynéformes* peuvent être trouvées en quantités variables. Les *Aeromonas* sont typiques des poissons d'eaux douces. Les micro-organismes se trouvent sur toute la surface externe (peau et branchies) et dans les intestins des poissons vivants et fraîchement pêchés. Cependant, le tractus digestif joue d'importants rôles nutritionnels.

Le microbiote intestinal des poissons est impliqué dans la régulation de l'absorption intestinale et du métabolisme des acides gras (Semova *et al.*, 2012), dans la glycolyse (Ni *et al.*, 2014), ainsi que l'assimilation des nutriments, en produisant des vitamines, des acides aminés, des enzymes digestives et des métabolites essentiels (Skrodenyte-Arbaeiauskiene, 2000). Par exemple dans les l'intestins de carpes, certains genres bactériens tels que *Brevundimonas*, *Aéromonas* et *Clostridium*, sont reconnus pour dégrader la cellulose (Ley *et al.*, 2006 ; Wu *et al.*, 2012). Outre, les genres *Acinetobacter* et *Aeromonas* sont des producteurs d'enzymes (Ray *et al.*, 2012). Toutefois, les probiotiques sont des bactéries bénéfiques présentes dans le microbiote intestinal. Elles interviennent

Chapitre I : Introduction

principalement dans le processus de digestion et renforcent le système immunitaire. Les souches de bactéries lactiques capables de réduire l'absorption des substances toxiques par le système gastro-intestinal appartiennent, pour la plupart à l'ordre des *Lactobacillales*, notamment les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Weissella* et *Bifidobacterium*. De plus, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium breve* et *Bifidobacterium lactis* sont capables de se lier et éliminer les métaux lourds en raison de structures spécifiques trouvées sur leur paroi cellulaire qui est composée de peptidoglycane, d'acide teichoïque et lipotéichoïque, une couche S, et des polysaccharides neutres. L'acide teichoïque, les polysaccharides de la paroi cellulaire, les exopolysaccharides, les groupes carboxyles, les groupes phosphate et les groupes phénols permettent l'adsorption des métaux lourds.

Généralement la qualité du produit, concerne les qualités sanitaires, technologiques, nutritionnelles ou diététiques et organoleptiques ou sensorielles. Les métaux lourds dans l'environnement sont des composants naturels de la croûte terrestre. Ils sont trouvés dans le sol à faibles concentrations sous formes solubles ou insolubles et ils peuvent être absorbés par les plantes, les animaux ou retenus par le sol. L'utilisation de cultures contaminées par les métaux est une voie majeure de contamination de la chaîne alimentaire qui expose l'Homme à un risque important. Les bactéries lactiques sont une alternative efficace et économique dans l'élimination des métaux lourds par les processus de bioaccumulation, de biosorption et de détoxification des métaux lourds (**Kirillova et al., 2017**). Cependant, les métaux lourds exercent généralement une action inhibitrice sur les microorganismes. Ils affectent la structure qualitative et quantitative des communautés microbiennes, entraînant une diminution de l'activité métabolique en bloquant les groupes fonctionnels, déplaçant les ions métalliques essentiels, ou en modifiant le site actif des molécules biologiques, mais à faible concentration, certains métaux sont essentiels pour les microorganismes. Le poisson pêché dans des eaux propres et froides a une charge bactérienne plus faible. Selon leurs intervalles de température de croissance les bactéries psychrotrophes (supportant le froid) sont capables de se développer à 0 °C avec un optimum vers 25 °C. Les psychrophiles (aimant le froid) possèdent une température maximale de croissance aux environs de 20 °C. Les mésophiles concernent des poissons des eaux plus chaudes. Dans les eaux polluées, on peut trouver des charges élevées d'*Enterobacteriaceae* (**Fujioka et al., 1988**).

Plusieurs études ont été réalisées chez les espèces couramment consommées en Europe à savoir la truite et le saumon et en Afrique de l'Ouest sur plusieurs espèces. En Algérie, l'ichtyofaune des eaux continentales est diversifiée est relativement riche et variée que celle du Maroc et de la Tunisie (**Kraiem, 1983**). Elle est caractérisée par la prédominance de la famille des Cyprinidae au Nord-est

Chapitre I : Introduction

algérien, avec une abondance et une large distribution d'une espèce autochtone *Luciobarbus callensis* Valenciennes, 1845 (*Barbus callensis*) et l'introduction de nouvelles espèces tel que Tilapia dans nos différents hydrosystèmes. Toutefois, l'étude bactériologique des poissons dulcicoles n'a pas connu un grand essor comme c'est le cas pour les poissons marins ; et ce, pour une raison essentiellement économique. En effet, la valeur marchande des poissons d'eau douce dans notre pays est encore très faible et la consommation est totalement portée sur les poissons marins.

L'objectif principal de cette étude est d'isoler des bactéries lactiques à partir de différents tissus (tube digestif, gonades, chair et branchies) de deux poissons dulcicoles à savoir le barbeau algérien (poissons sauvage indigène) et Tilapia (poisson d'élevage introduit). Cependant, d'autres objectifs ont été tracés en parallèle dans ce modeste travail à savoir :

- ✓ La recherche des germes pathogènes ;
- ✓ Étudier quelques caractéristiques morphologiques, culturelles et biochimiques ;
- ✓ Mettre en évidence les interactions bactéries–parasites ;
- ✓ Mettre en évidence leur capacité à tolérer et à éliminer les métaux.

Cette étude s'articule autour de trois chapitres :

- Le premier chapitre une introduction
- Le deuxième chapitre matériel et méthodes :
 - Un aperçu sur les espèces de poissons étudiées *Luciobarbus callensis* et Tilapia rouge ainsi que le lieu de provenance ;
 - Les paramètres étudiés pour l'isolement et la caractérisation enzymatique des bactéries lactiques ;
- Le troisième chapitre concerne l'interprétation et la discussion des résultats obtenus relatives à l'étude microbiologique du barbeau étant espèce autochtone et de Tilapia espèce introduite ;
- En fin, on clôture cette étude par une conclusion et des perspectives.

1.Site d'étude

Lac Obéira est l'un des plus grands plans d'eau douce situés dans la partie centrale du parc national d'El Kala ($36^{\circ} 50' 695 \text{ N} - 8^{\circ} 23' 272 \text{ E}$) exactement à 3 Km à l'ouest de la ville d'El- Kala, (El-Taraf) au Nord-est de l'Algérie (**Fig.1**) avec une superficie de 2200 ha. Ce lac à une profondeur maximale de 4 m, est caractérisé par une faune et une flore très diversifiées unique en Afrique du Nord (**M.A.D.R.P., 2003**). Ce plan d'eau représente l'une des plus importantes réserves naturelles d'eau douce d'Algérie et referme une ichthyofaune diversifiée marquée par la présence de la famille des Cyprinidés tel que le barbeau, la carpe et le carassin (**Meddour, 2009**).

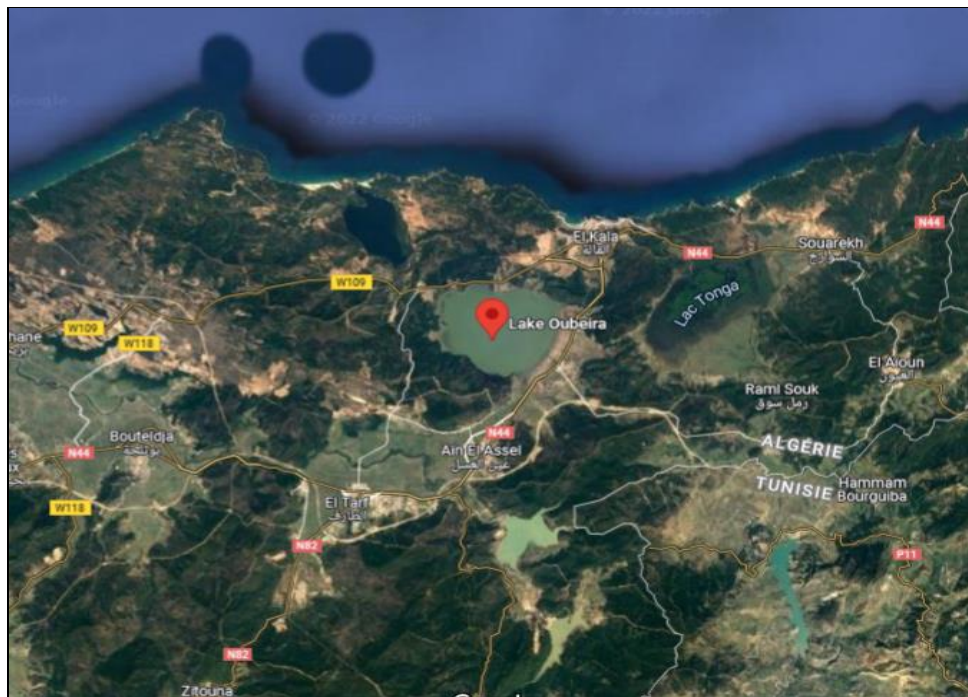


Fig.1 : Localisation du lac Obéira (Google earth, 2022).

2. Présentation des espèces

Dans notre étude le choix de deux espèces de poissons c'est orienté vers une espèce autochtone le *Barbus callensis* (**Fig.2**) appelé aussi *Luciobarbus* (**Valenciennes, 1842**) et une espèce introduite *Oreochromis sp.*, à cause de leur abondance dans nos plans d'eau ainsi que leur intérêt économique. Le barbeau algérien un cyprinidé robuste originaire du lac Oubéira et Tilapia rouge d'élevage, un

Chapitre II : Matériel et Méthodes

hybride obtenu par un croisement de deux espèces de Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) et *Tilapia mossambica* (Peters, 1852) issue des expériences menée au niveau de la station CNRDPA de la crevetticulture d'El-Marssa-Skikda. La position systématique des deux espèces est la suivante :

Règne : Animal

Super Phylum : Cordés

Phylum : Vertébrés

Sous Phylum : Gnathostomes

Super classe : Poissons

Classe : Ostéichthyens

Sous classe : Actinoptérygiens

Infra classe : Téléostéens

Super ordre : Ostariophysii

Ordre : Cyprin formes

Sous ordre : Cyprinidés

Super famille : Cyprinidé

Famille : Cyprinidés

Genre : *Luciobarbus*

Espèce : *L. callensis* (Valenciennes, 1842)

Règne : Animal

Super classe : Poisson

Classe : Ostéichthyens

Sous classe : Tétéostéens

Ordre : Oercifoemes

Famille : *Cichlidés*

Genre : *Oreochromis*



Fig. 2 : Barbeau Algérien (a) et Tilapia (b) (Photo personnelle, 2022).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du « Laboratoire de Microbiologie 217 et Biologie animale 215 » de l'Université 20 aout 55 Skikda » ainsi que l'hôpital de la wilaya Skikda, durant une période s'étalant du mois de novembre 2021 jusqu'au mois de mai 2022. Elle a porté sur 19 barbeaux sauvage congelé à -20°C dans des sacs stériles étiquetés (Obéira, 2020), ramené dans une glacière désinfectée (4 et 6 °C), et déposés au niveau du congélateur personnel de la salle 109 qui se trouve au sein du hall technologique et un individu frais de Tilapia d'élevage.

3. Évaluation de la qualité des poissons

Une fois le poisson mort, il subit un certain nombre d'altérations. La manutention, la température de conservation et les méthodes de conditionnement agissent sur la qualité du poisson. Le risque d'altération possible des poissons par différents microorganismes utiles ou pathogènes nécessite un suivi microbiologique rigoureux. Les premiers changements survenant post mortem dans le poisson sont dus aux enzymes tissulaires et digestives et à l'oxydation des lipides, c'est ensuite le développement bactérien qui est le responsable majeur de la dégradation du poisson (Leduc, 2011). L'altération met en jeu un ensemble de processus microbiologiques, chimiques et physiques. Plusieurs approches permettent d'évaluer le niveau d'altération des poissons. Elles sont d'ordre sensoriel, bactériologique et chimique.

Les interactions bactéries – eucaryotes ont potentiellement joué d'importants rôles dans l'histoire de la vie sur terre. Dans notre étude, les différents organes prélevés (gonades, tube digestif, branchies et chair) sont destinés à l'étude bactériologique, parasitologique, toxicologique et histologique.

3.1. Paramètres biométriques

Au laboratoire de biologie animale, les poissons ont été placés sur un plateau métallique qui est préalablement stérilisé dans l'autoclave. Avant la dissection des poissons, nous avons réalisé des mesures suivantes exprimées en centimètre près à l'aide d'un ichtyomètre (**Fig.3**) :

- La longueur totale (LT) : qui est la longueur du poisson du bout du museau jusqu'à l'extrémité du rayon le plus long de la nageoire caudale ;
- La longueur à la fourche (LF) : qui est la longueur du poisson du bout du museau jusqu'à l'extrémité des rayons médians de la nageoire caudale ;
- La longueur standard (LS) : qui est la longueur du poisson du bout du museau jusqu'au pli articulaire de la nageoire caudale.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Cependant, le poids de chaque individu a été mesuré à l'aide d'une balance (marque SCALTEC SBA61) et les valeurs sont exprimées en gramme (**Fig.4**).

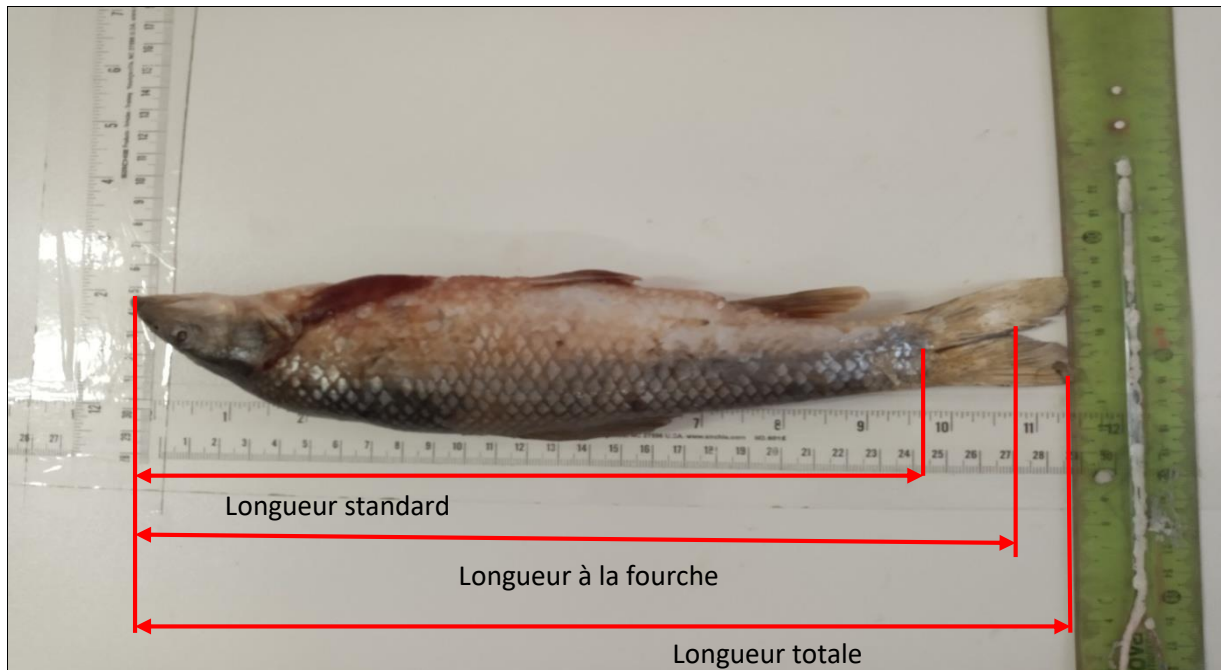


Fig.3 : Présentation des différentes mesures de longueurs (**Photo personnelle, 2022**).



Fig.4 : Prise du poids des poissons (**Photo personnelle, 2022**).

Nous avons calculé par la suite la relation longueur-masse chez les poissons barbeaux pour voir s'il y a une différence dans la relation taille/poids entre les individus. Cette relation est définie par Le Cren (**Kraïem , 1994**) :

$$Pt = a Lt^b$$

Avec ;

Pt : masse du poisson en g.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Lt : longueur du poisson en cm.

a : taux d'allométrie.

b : constante.

Le taux d'allométrie "b" varie de 2,5 à 4 suivant les espèces de poissons. Pour une même espèce il peut varier avec le stade de développement, le sexe, la maturité sexuelle. Généralement "b" est proche de 3 mais rarement égal à 3 (**Goubier, 1975**).

- $b = 3$; isométrie de croissance entre le poids et la longueur.
- $b < 3$; le poids croît moins vite que le cube de la longueur et l'allométrie est minorant.
- $b > 3$; le poids croît plus vite que le cube de la longueur et l'allométrie est majorant.

Nous avons calculé aussi le facteur de condition K et IVS

3.2. L'indice de condition :

Le facteur de condition étant un marqueur de l'état nutritionnel des poissons et leur réserve énergétique.

Cette relation indique que plus le poisson est gros plus il est dans de meilleures conditions environnementales.

Le facteur de condition (K) de **Fulton (1911)** est défini comme suit :

$$K = (Wt/Lt) * 100$$

avec :

K : facteur de condition

Wt : poids total du corps (g)

Lt : longueur total (cm)

b : coefficient d'allométrie

4. Étude parasitologique

Avant la dissection, un examen visuel de l'allure des spécimens a été effectué, afin de détecter des parasites ou des anomalies au niveau des nageoires, des opercules, de la cavité buccale et branchies. Par la suite, avec un bistouri un prélèvement du mucus a été obtenu grâce à un grattage de toute la surface externe du corps, afin de rechercher la présence éventuelle d'ectoparasite (crustacés) susceptibles de se détacher rapidement suite à la mort de l'hôte. En outre, à l'aide d'une paire de ciseaux les branchies ont été séparées précisément de la tête en les coupant de chaque côté de la tête et isolées dans des boîtes de pétri puis rincées à l'eau afin d'éliminer l'excès de mucus et faciliter l'observation (**Fig.5**). Richement vascularisées, les lamelles branchiales sont le siège de diverse

Chapitre II : Matériel et Méthodes

parasitose. En cas de présence d'ectoparasite, ces derniers ont été tout de suite prélevés isolés sur lame et directement observés au microscope puis fixés à l'éthanol.

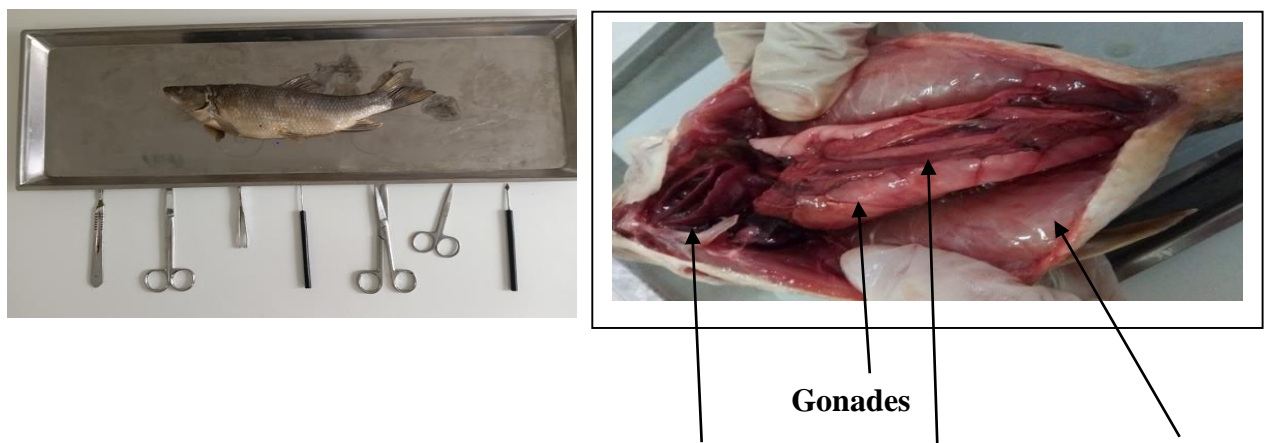
4.1. Éviscération

Une fois examiner, des différents tissus ont été prélevé suite à l'ouverture de la cavité abdominale réalisée par une incision depuis l'anus jusqu'à la tête (**Fig.6**) :

- ✚ Une fois les poissons éviscérés, leur gonade étaient soigneusement observées pour déterminer le sexe selon leur couleur. Cette dernière, chez les mâles est blanchâtre, et rose saumon à orange chez les femelles. Toutefois, un autre critère de choix pour la détermination du sexe qui est la présence ou l'absence d'ovule visible à l'œil nu dans les gonades femelles ou du sperme s'écoulant des gonades mâles chez des poissons adultes mature. Le sexe ainsi déterminer, un examen des viscères a été effectué pour la recherche des endoparasites
- ✚ Le tube digestif a été prélevé par section au niveau supérieur de l'œsophage près de la cavité buccale et de la papille uro-génitale (anus). Le contenu est vidé (sans gratter la paroi) à l'aide d'une spatule ou pince par lavage au-dessus d'une boîte de Pétri. À l'aide de loupe binoculaire, les différentes proies ingérées sont examinées pour la recherche des endoparasites (**Fig.7**).



Fig. 5 : Observation par binoculaire du mucus des poissons (Photo personnelle, 2022).



Branchies

Vessie natatoire

Chair

Fig.6 : Les différents tissus prélevés au niveau du *Luciobarbus callensis* issu du lac Oubéira.

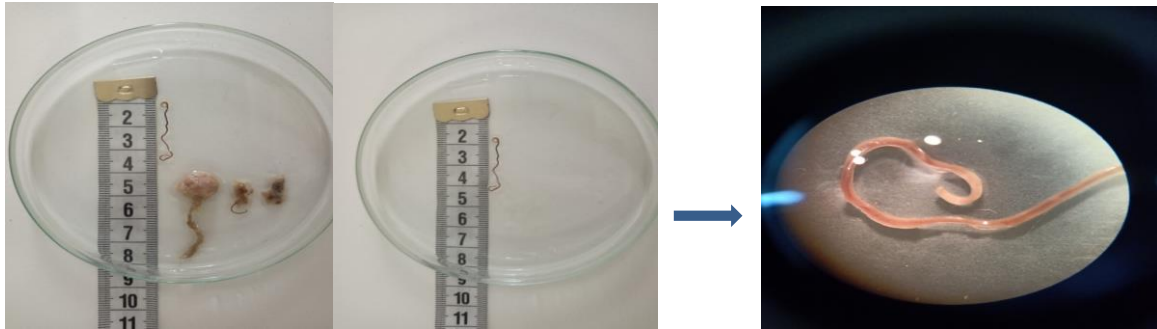


Fig.7 : Observation par binoculaire les Nématodes parasites enkystés dans le tube digestif du barbeau du lac Obéira (Photo personnelle, 2022).

5. Analyse bactériologique

Différentes flores bactériennes ont été recherchées à savoir la flore mésophile aérobie totale (FMAT), indicateur sanitaire qui permet de déterminer l'état de fraîcheur d'un produit ou l'efficacité d'un traitement thermique ou de conservation, les agents pathogènes responsables de toxiinfections alimentaires et enfin la recherche de bactéries lactiques.

5.1. Identification bactérienne des lots :

Au total 20 échantillons de poissons frais et congelés ont été analysés afin de déterminer leurs qualités bactériologiques tout en prospectant les différentes flores microbiennes. L'isolement des bactéries et leur identification au niveau des organes de deux espèces de poissons dulcicoles a été fait par la voie biochimique. Chaque tissu prélevé a été pesé (1 gramme) préalablement à l'aide d'une balance de précision (marque SCALTEC SBA61).

L'isolement des bactéries lactiques et pathogènes des différents tissus à savoir gonades, tube digestif, branchies et la chair, a été effectué sur le Tilapia frais comme poisson de référence et le barbeau congelé. La congélation ou le froid négatif provoque la baisse de l'activité de l'eau suivi d'une diminution de l'eau disponible, ce qui ralentit ou stoppe l'activité des microorganismes et les activités enzymatiques. La congélation des produits facilite le transport et la distribution notamment en prolongeant la durée de vie des poissons.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Selon le temps de décongélation (stade d'altération) nous avons établi le protocole suivant :

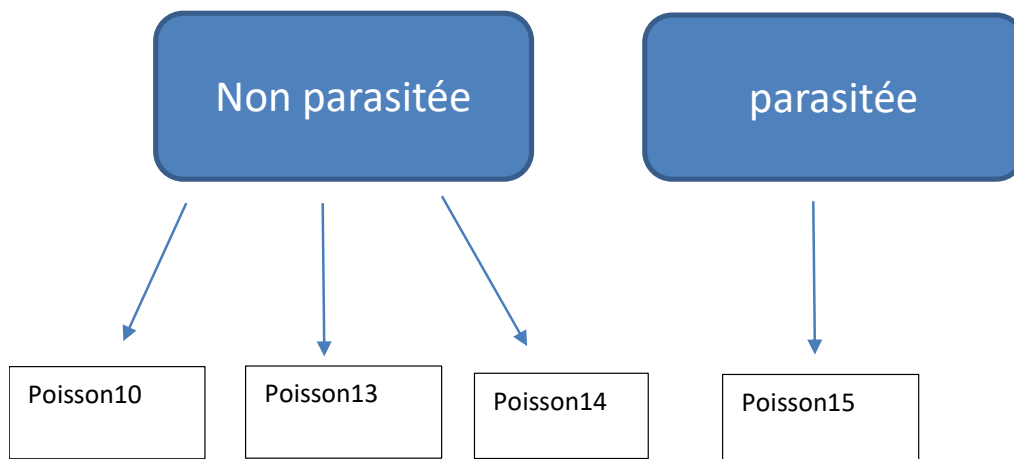
Lot 1 : Décongélation des poissons (N°10/13/14/15) le même jour de manipulation (temps de manipulation 4h) ;

Lot 2 : Décongélation et congélation des poissons (N°12/16/17) ;

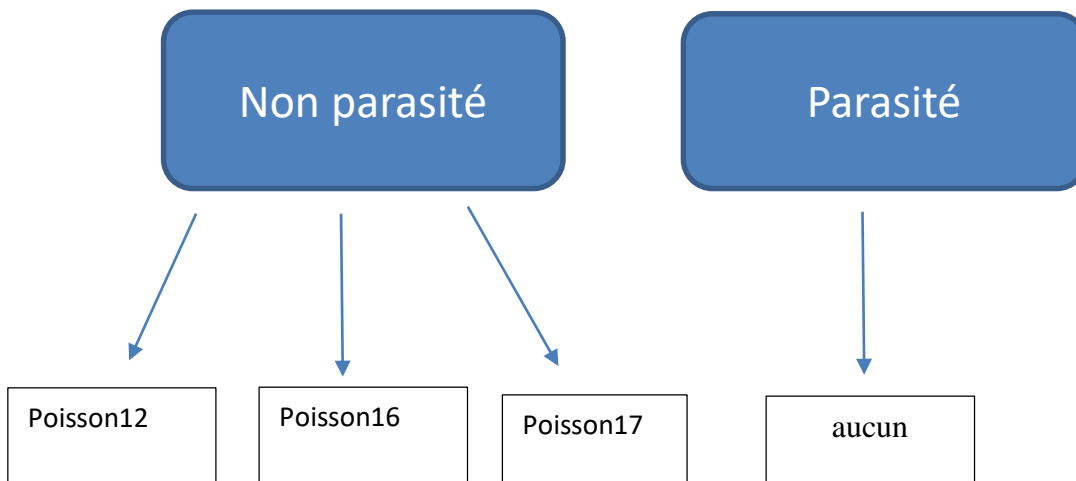
Lot 3 : Décongélation des poissons la veille de manipulation pour une durée 19 heures dans une température ambiante avec la mise en évidence des indicateurs de la contamination (N°07/08/09/18/19) ;

Lot 4 : décongélation jour même poisson N°11 après dissection le poisson les organes reste 20jours dans la température ambiante dans des flacons.

LOT 1 Décongélation le même jours



LOT 2 Décongélation et congélation



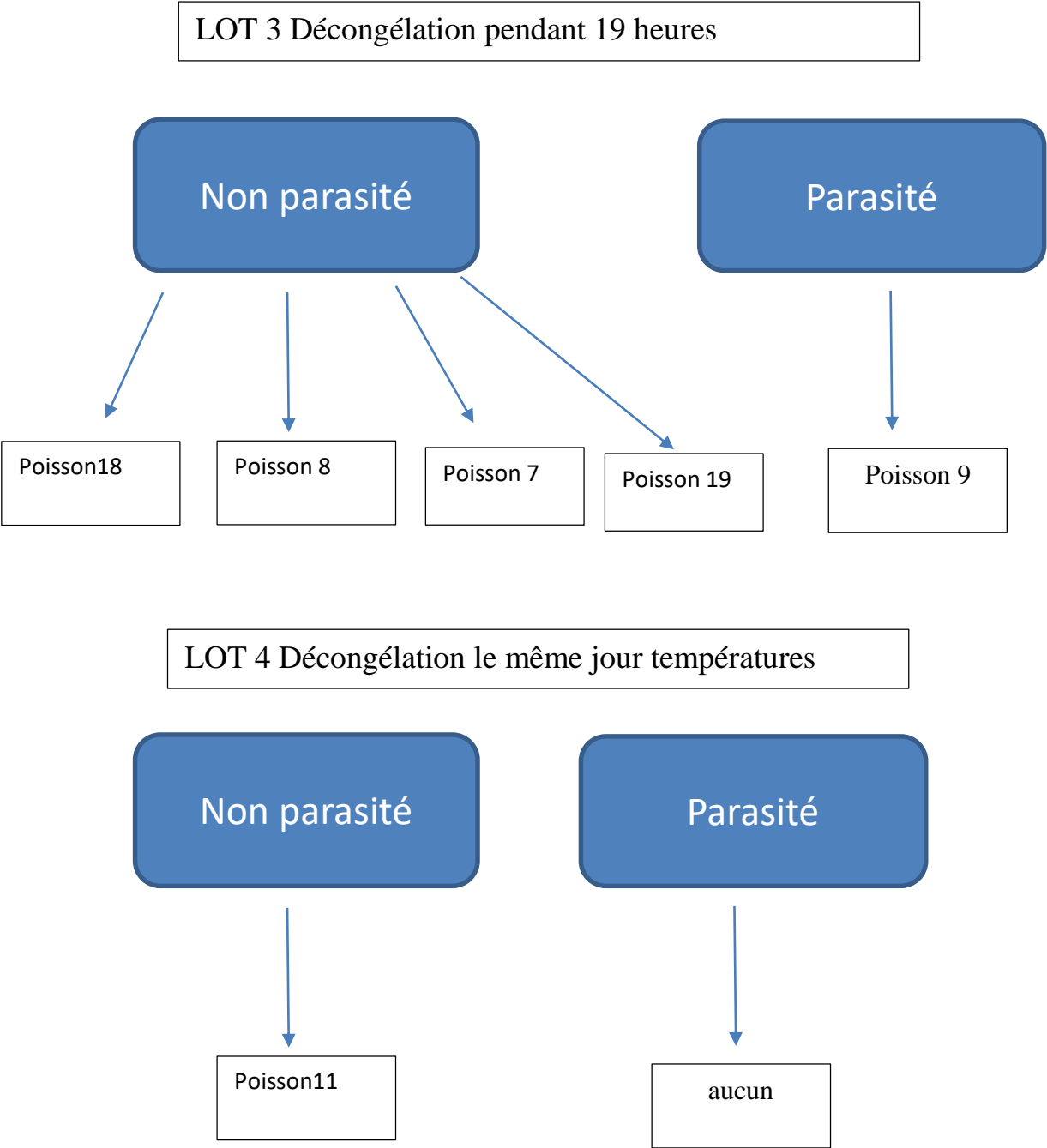


Fig.8 : Schéma représentatif des différents lots de poissons dans différentes conditions.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

5.2. Matériels et milieux utilisés :

L'ensemble des milieux de cultures, réactifs, instruments et appareillages seront cités au fur et à mesure de leur utilisation.

- ✓ **Matériels** : bec bunsen, bain marie, Balance électronique, Agitateur magnétique, Autoclave, Étuve, Réfrigérateur, compteur de colonie, mortier et Microscope optique
- ✓ **Milieux culture** : HK, GN ,VF, MRS , M17 , Chapman.
- ✓ **Verrerie** : boîtes de pétri, tubes à essai, pipettes pasteur, pipettes graduées.
- ✓ **Divers** : pinces, ciseaux, des flacons stériles ...etc.

5.3. Préparation des solutions mère :

Dans un mortier nous avons déposé 1 g de chaque échantillon (tube digestif, gonades, branchies et chair) dans un mortier stérile et nous avons rajouté 9 ml d'eau physiologique (0.9 %) par la suite le tout est broyé jusqu'à dissolution complète.



Fig.9 : Préparation des solutions mères.

5.3.1. Préparation des séries de dilution :

On dépose 1ml de la solution mère dans un tube à essai contient 9 ml d'eau physiologie on obtient dans le premier tube à essai une solution avec une dilution 10^{-1} . Par la suite on mélange 1 ml de la solution dilution 10^{-1} avec 9 ml l'eau physiologie dans 2^{ème} tube à essai on obtient une solution de dilution 10^{-2} , et ainsi de suite jusqu'à l'obtention d'une série de dilution pour chaque organe (**Fig.10**).

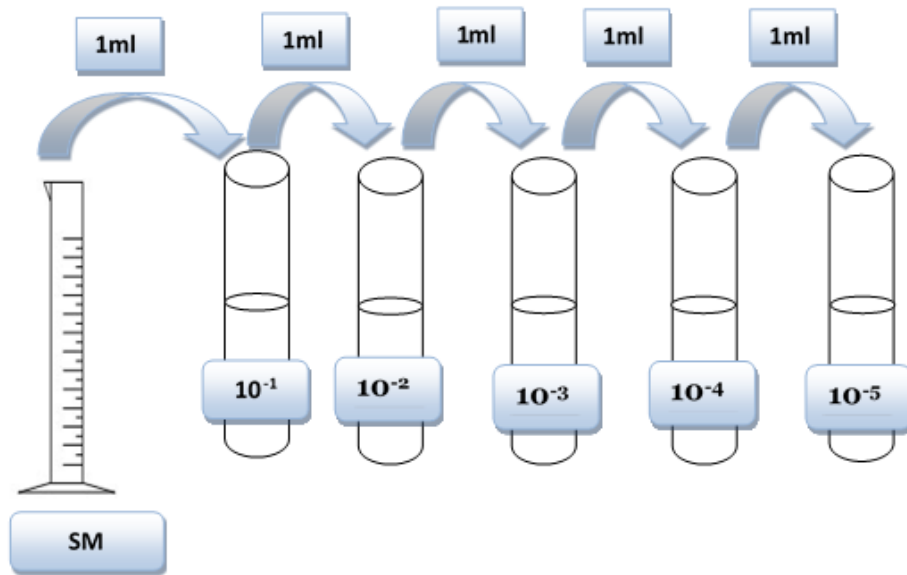


Fig.10 : Préparation des séries de dilution à partir d'une solution mère.

5.3.3. Dissolution des milieux de culture

Nous avons déposé les milieux de culture à l'état solide dans un bain marie à une température de 95 C ° jusqu'à avoir un état liquide, ce qui permet de les couler dans les boîtes de Pétri.



Fig.11 : Bain marie pour transformer les milieux de culture de l'état solide vers l'état liquide.

Une fois liquide en surfusion, les milieux de culture gélose nutritive, Chapman, Hektoen , M17 et MRS sont coulés dans les boîtes de pétri. Cette étape doit être réalisée pour chaque organe et pour chaque poisson.

NB : Pendant toute l'étude microbiologique, la manipulation se fait dans une atmosphère située dans un rayon de vingt centimètres du bec bunsen (**Fig.9**) afin d'assurer des conditions d'asepsie rigoureuses.

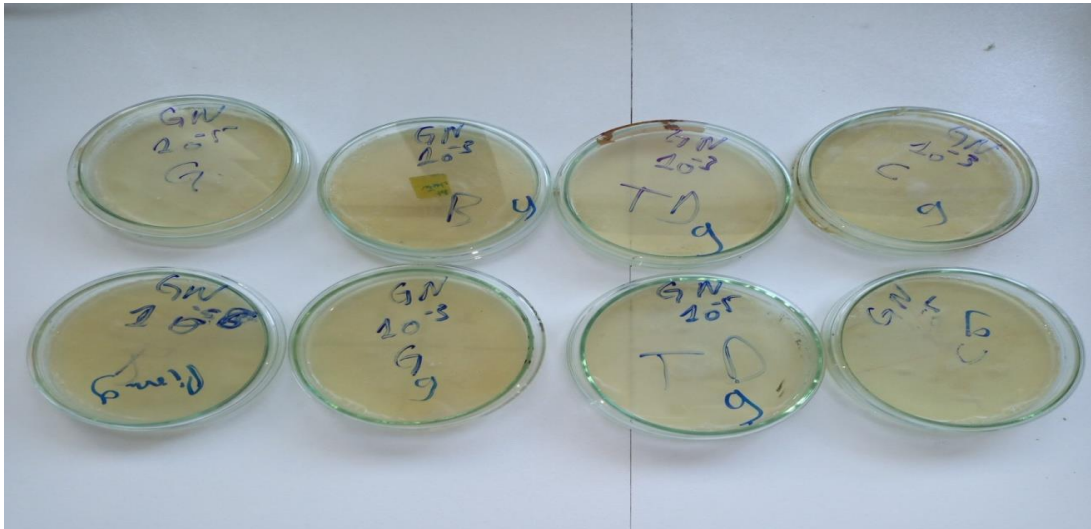


Fig.12 : Milieux de culture gélose nutritive.

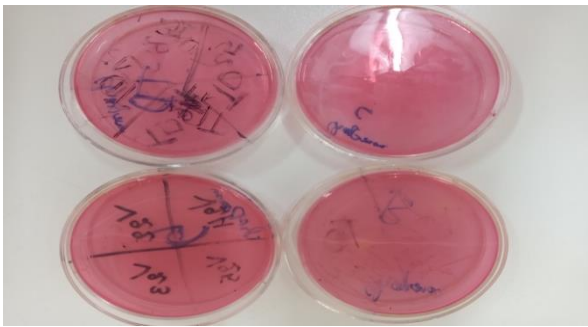


Fig.13 : Milieu de culture Chapman.

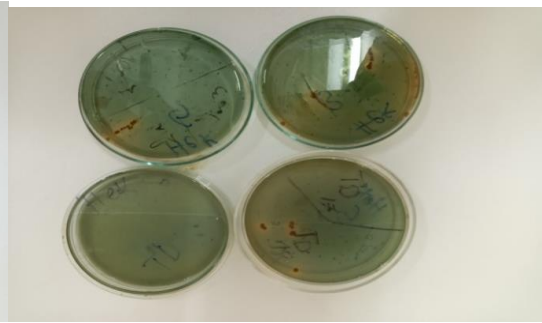


Fig.14 : Milieu de culture Hektoen.

5.4. Recherche et dénombrement des bactéries :

5.4.1. Recherche et dénombrement des bactéries sur gélose nutritive :

Le milieu gélose nutritive est un milieu pour l'isolement non sélectif, il permet la prolifération et le développement des bactéries et le contrôle de la pureté d'une souche. Il s'agit donc du milieu de culture des bactéries.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

On prélève 1ml de chaque solution de dilution 10^{-3} et 10^{-5} des quatre échantillons à savoir le tube digestif, gonades, branchies et chair. On fait un ensemencement dans le milieu de culture gélose nutritif (GN) puis incubation pendant 48h à une température de 30°C puis la lecture et le dénombrement

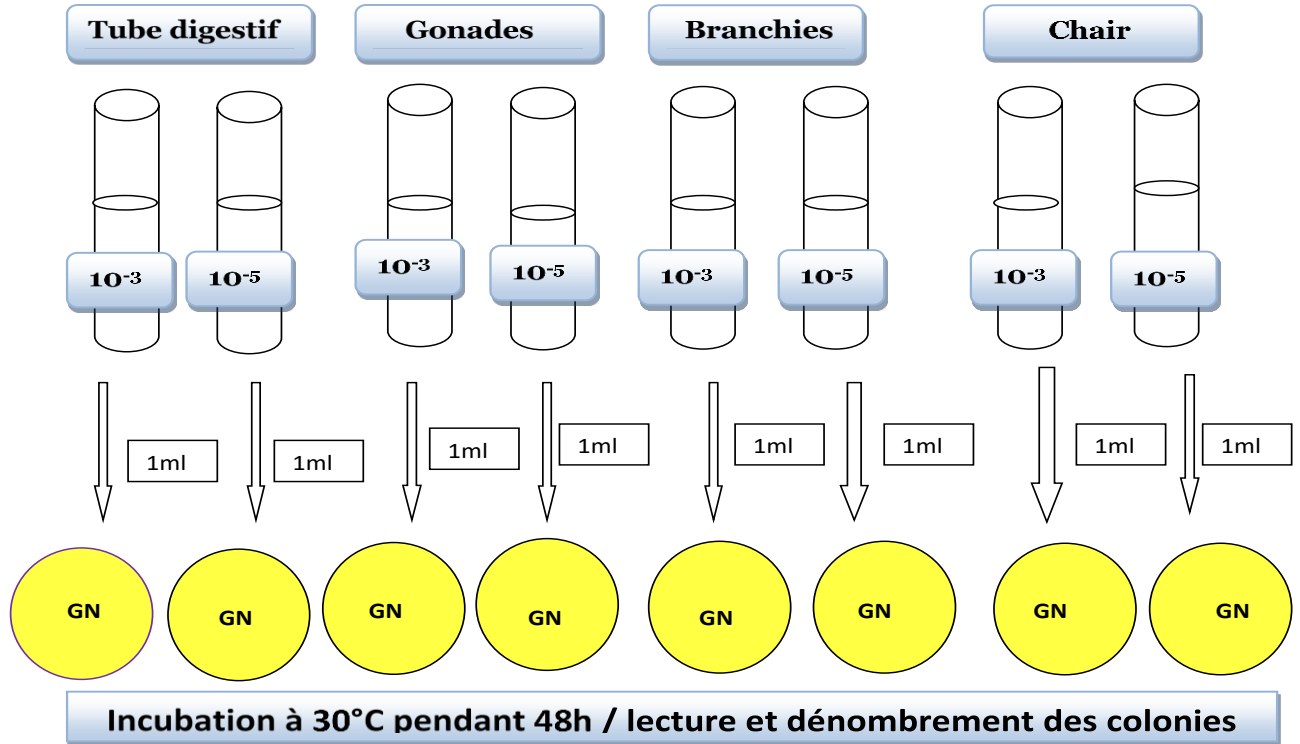


Fig.15 : Schéma représentatif d'ensemencement des échantillons après dilution dans le milieu de culture gélose nutritive.

5.4.2. Recherche des bactéries lactiques

La recherche des bactéries lactiques se fait sur les milieux de culture la gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe) pour identification les bactéries *Lactobacillus*, et le milieu M17 (Terzaghi et Sandine) pour la recherche et dénombrement les bactéries lactiques (particulièrement *Lactococcus lactis*) et de *Streptococcus thermophilus*.

- On prélève 1ml de la solution 10^{-1} chaque échantillons (tube digestif-gonade-branchie-chair) ;
- On le met (ensemencée) dans les milieux M17 et MRS ;

Chapitre II : Matériel et Méthodes

- Incubation dans l'étuve pendant 72h à une température de 37°C puis on fait la lecture.

5.4.3. Recherche des bactéries halophiles

La recherche des bactéries halophiles se fait par la gélose Chapman ; un milieu de culture sélectif et différentiel employé pour les bactéries halophiles et halotolérantes. Grâce à son indicateur coloré qui détecte la consommation du mannitol, il est adapté à la recherche des Staphylocoques.

On prélève quelques gouttes de la solution 10^{-1} de chaque échantillons (tube digestif-gonade-branchie-chair) on le met dans le milieu culture Chapman pour les bactéries halophiles et le milieu culture MRS pour les bactéries lactiques puis incubation pendant 72h à une température de 37 C° puis lecture et dénombrement.

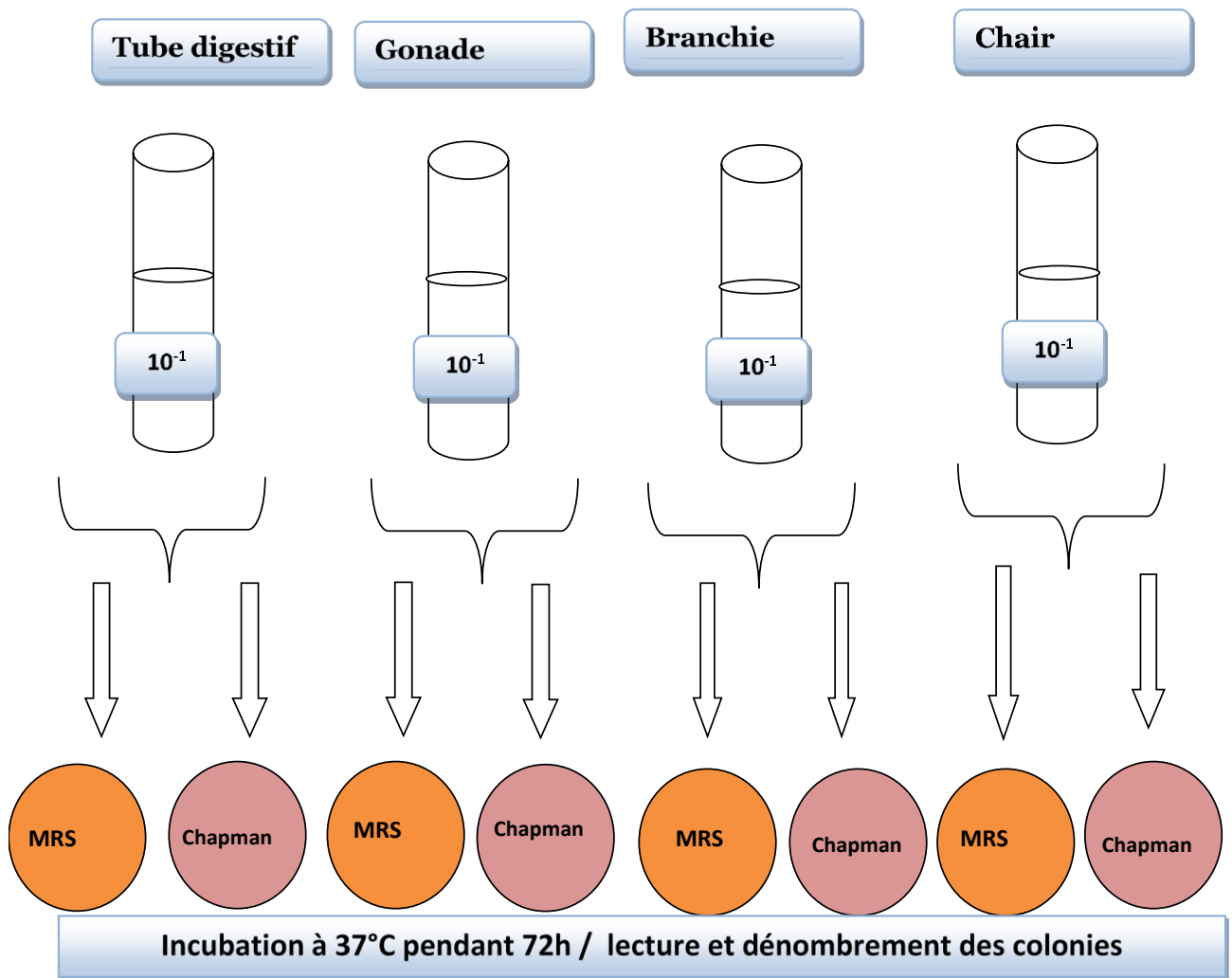


Fig.16 : Schéma représentative d'ensemencement échantillons après dilution dans les milieux de culture Chapman-MRS.

5.4.4. Recherche du type respiratoire des bactéries

Le milieu de culture viande foie est essentiellement utilisé en tube profond pour la détermination du type respiratoire des micro-organismes, mais également pour la culture de germes anaérobies strictes telles que les *Clostridium*. Les anaérobies sulfite-réductrices (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram positif, se développent en 48 heures sur la gélose viande foie (VF) le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire.

On prélève 1ml de la solution 10^{-1} de chaque échantillon (tube digestif-gonade-branchie-chair), on le met dans les milieux viande foie, incubation pendant 72h à température 37 C° puis lecture.

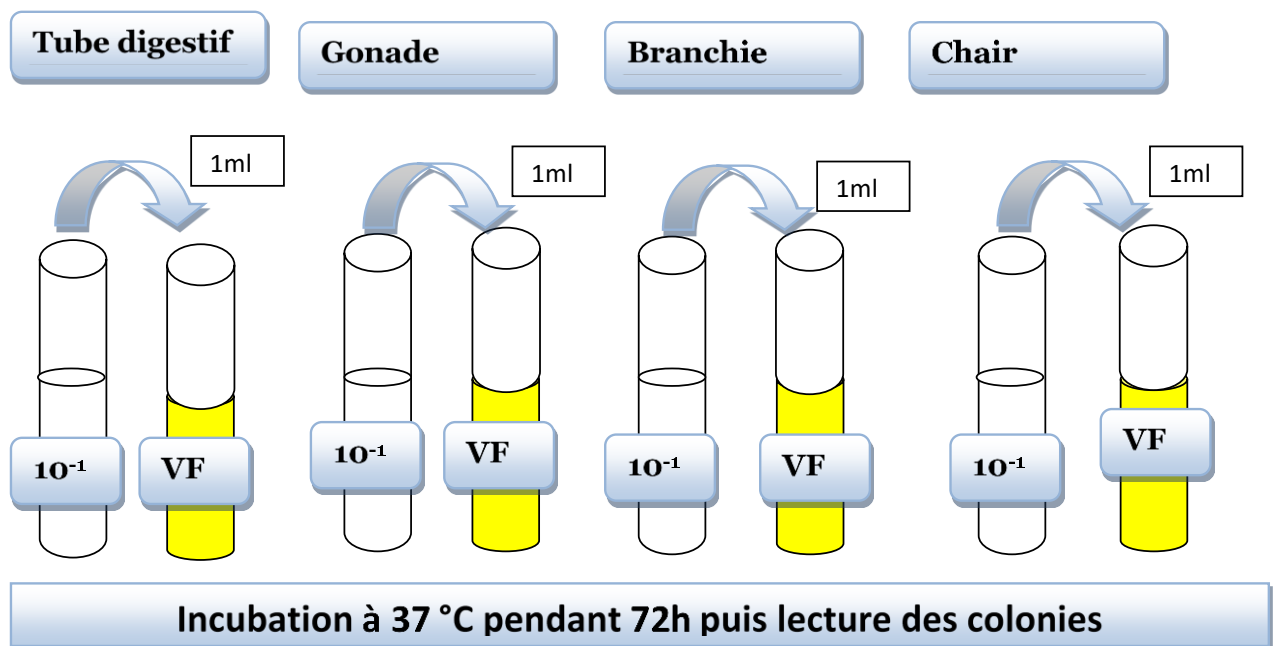


Fig. 17 : Schéma représentatif de l'ensemencement des échantillons dans le milieu viande foie.

5.4.5. Recherche des entérobactéries pathogènes

On utilise la gélose Hektoen (Hk) qui constitue un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, particulièrement de *Salmonella* et de *Shigella*. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentent rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge-saumon) et/ou produisant de H_2S (centre noir).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

On prélève 1ml de la solution 10^{-1} de chaque échantillon (tube digestif-gonade-branchie-chair). On le met dans les milieux Hk , Puis incubation pendant 72h à une température de 37°C .

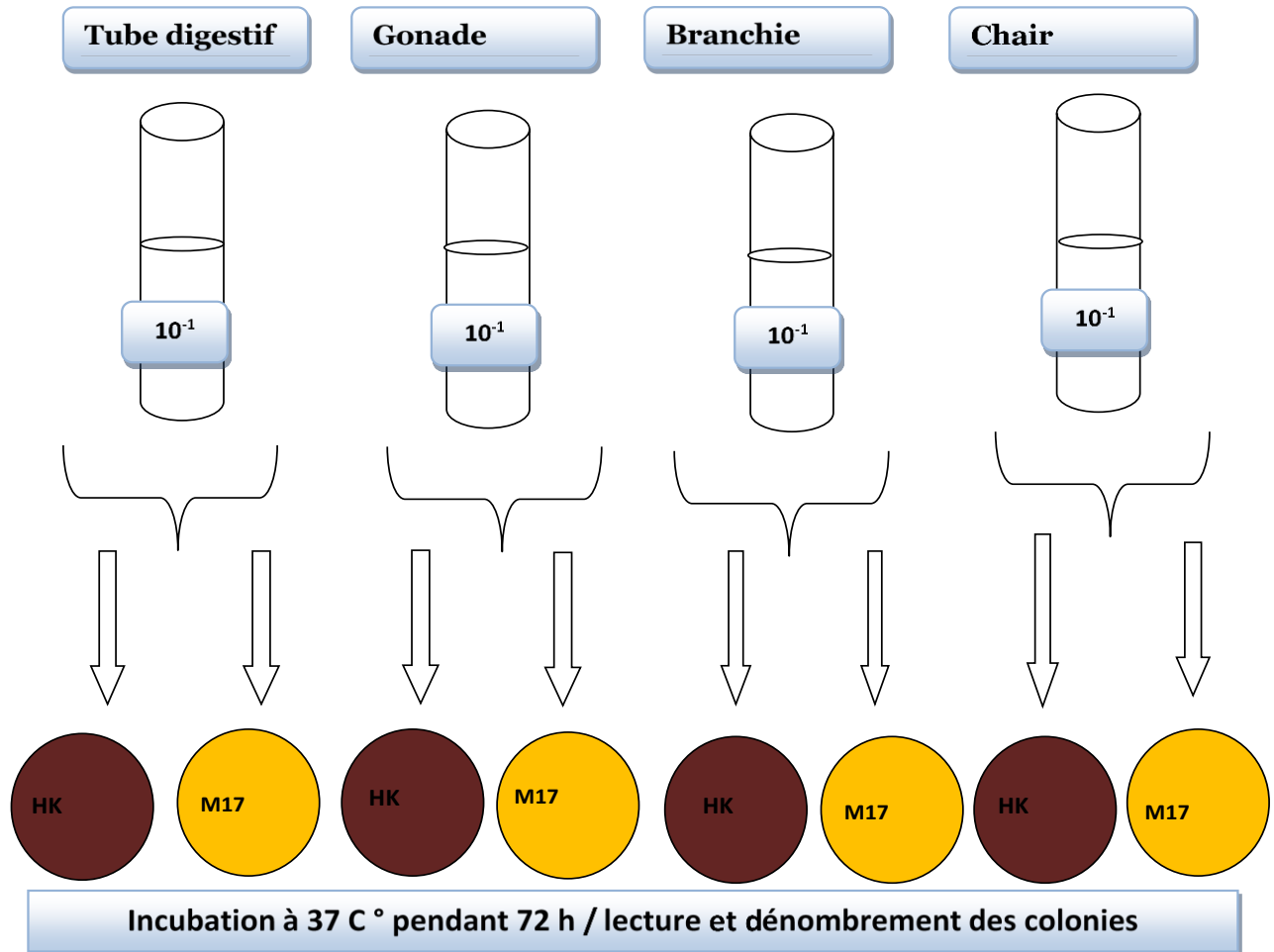


Fig.18 : Schéma représentatif d'ensemencement échantillons après dilution dans le milieu de culture M17-HK.

5.5. Études macroscopique et microscopique des bactéries

5.5.1. Macroscopique :

C'est l'observation à l'œil nu des colonies ce qui permet de décrire la taille, la couleur et la forme.

-La forme : le premier caractère important dans la description des colonies (des colonies rondes, d'autres formes plus ou moins variées ;

-La taille : colonies punctiformes, petites colonies, colonies moyennes, grosses colonies ;

Chapitre II : Matériel et Méthodes

-Le relief ou élévation après la forme générale, il est important de regarder le relief de la colonie (un peu comme si on fait une coupe). Il existe plusieurs types de reliefs (plate , bombée ou convexe).

-L'opacité : des colonies opaques ne laissent pas passer la lumière contrairement aux translucides, qui laissent passer la lumière, certaines sont très transparentes

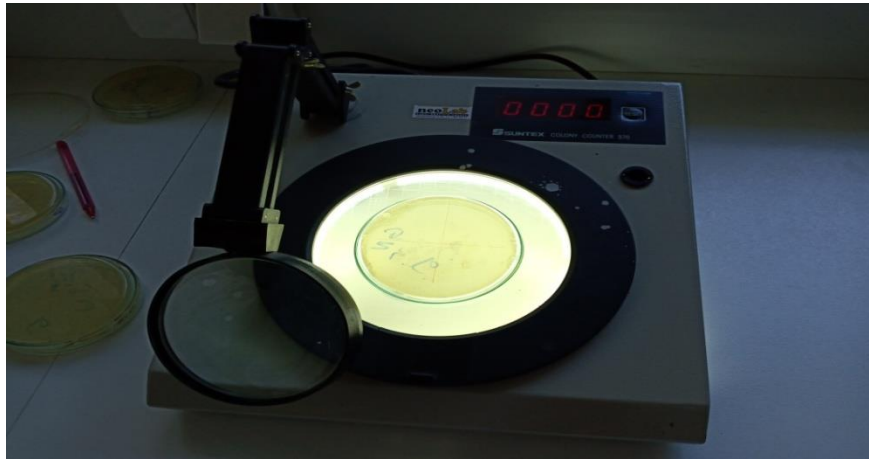


Fig.19 : Compteur de colonies utilisé pour dénombrer la FTAM.

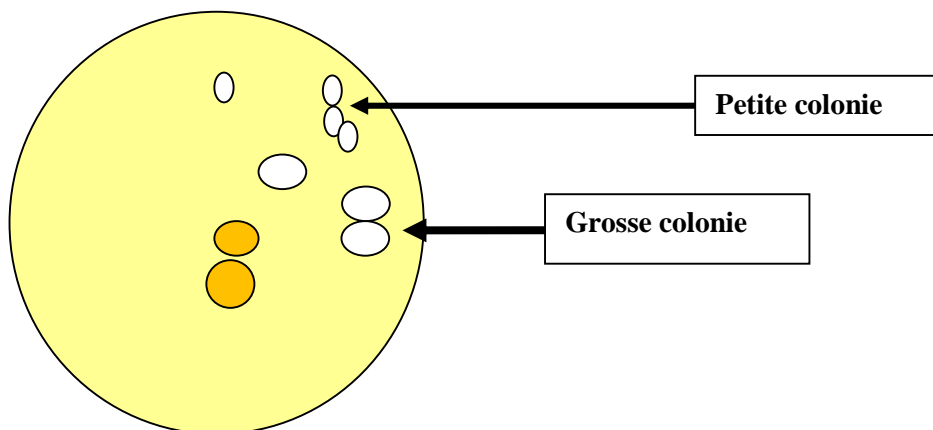


Fig.20 : Schéma représentatif de l'observation macroscopique des colonies

5.5.2. Microscopique

5.5.2.1. Etat frais :

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité, la morphologie et le mode de regroupement des bactéries.

Matériel nécessaire :

- lames
- lamelles
- microscope photonique

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Technique :

➤ Cas d'un bouillon :

Déposer une petite goutte de bouillon au centre d'une lame propre. Puis en dépose lamelle. L'observation rapidement au microscope : en faible luminosité = condenseur en haut, diaphragme fermée, forte intensité lumineuse (lumière grise) à l'objectif x40

➤ Cas des colonies isolées :

Réaliser une suspension dans l'eau physiologique. L'observation sous le microscope avec faible luminosité et diaphragme fermé à l'objectif x10 et x40.

L'interprétation :

Des bactéries sont considérées mobiles lorsque des trajets très différents sont observés



Fig.21 : Observation microscopique de l'état frais.

5.5.2.2. La coloration de Gram :

Permet de différencier entre deux groupes principaux de bactéries ; bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, cette différenciation est basée sur la composition de la paroi des cellules bactériennes

Après la fixation de la lame à l'aide du bec bunsen, on ajoute une goutte de violet de Gentiane pendant 1min puis un rinçage avec l'eau, on ajoute le Lugol pendant 1min puis rinçage, ensuite Alcool pendant 10 -20 s rinçage, à la fin on ajoute une goutte de Fuchsine pendant 1 min rinçage, par la suite on ajoute Huile d'immersion pour l'observation au microscope optique à l'objectif x100 avec un diaphragme ouvert.

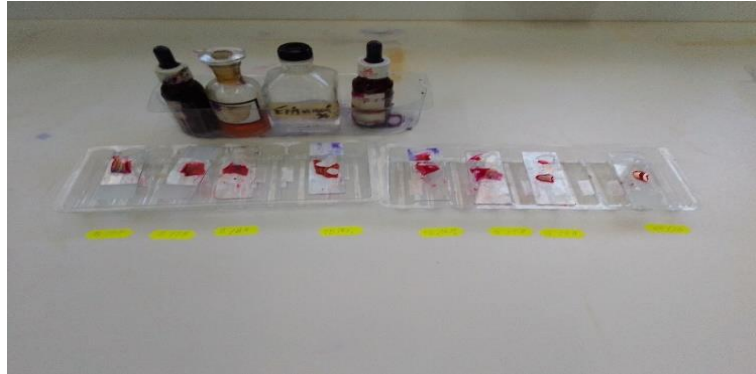


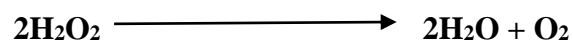
Fig.22 : Réactifs et lames de la coloration de Gram.

5.6. Tests enzymatiques :

Afin de mettre en évidence quelques activités enzymatique, les bactéries lactiques isolées et purifiées sont soumis aux tests suivants :

5.6.1. Test catalase :

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse la réaction suivante :



La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase, en particulier les bacilles Gram négatifs aérobies.

Sur une lame propre et sèche on met une goutte d'eau oxygénée H_2O_2 à 10 volumes. À l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien et on observe immédiatement ; l'apparition de bulles avec dégagement gazeux de dioxygène signifie **catalase positive** et absence de bulles **catalase négative** (Fig.22).



Fig.23 : Mise en évidence de la catalase.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

5.6.2. Test lipoprotéinase – lecithinase – lipase :

Ce test nécessite un milieu de culture enrichi et différentiel à base de jaune d'œuf, pour la préparation, on verse le jaune d'œuf dans une éprouvette stérile avec une quantité équivalente d'eau physiologique puis on mélange la solution, 2 ml de celle-ci est placé dans une boîte de pétri avec



Fig.24 : Préparation du milieu gélose au Jaune d'œuf.

20 ml de gélose nutritive en surfusion, homogénéiser le tout par un mouvement en 8 sur la paillasse.

- On procède à un prélèvement des bactéries provenant d'un milieu M17 puis ensemencement dans la gélose au jaune d'œuf.

- Incubation pendant 24 heures ou plus à 37 C

-Lecture

Halo d'éclaircissement souvent fugace car ensuite il est masqué par l'opacification due à l'activité des autres enzymes, mais son diamètre est presque toujours supérieur au diamètre des zones d'opacification. Sa présence signifie lipoprotéinase (protéase)positive ;

Zone d'opacité nette : parfois avec diamètre peu important, il faut l'observer en retournant la boîte de Pétri. Sa présence signifie lecithinase positive

Zone d'opacité floue (limitée à la surface) signifie lipase positive. Si l'opacification due à la lecithinase est abondante, elle peut masquer l'action de la lipase. On ajoute alors une solution saturée de sulfate de cuivre (CuSO₄) et on place la boîte 20 min à 37°C. La présence d'une lipase se traduit par la formation de savons d'acides gras colorés en bleu.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

5.6.3. Test amylase :

Ce test nécessite un milieu de culture enrichi à base d'amidon, sa préparation consiste à mélanger 10 g d'amidon, 10 g de bouillon nutritif déshydraté et 15 g d'agar agar, complétez avec 1 l d'eau distillée, le tout est placé sur une plaque chauffante avec agitateur jusqu'à ébullition, transvaser ensuite la solution visqueuse dans des flacons pour les stériliser à l'autoclave.

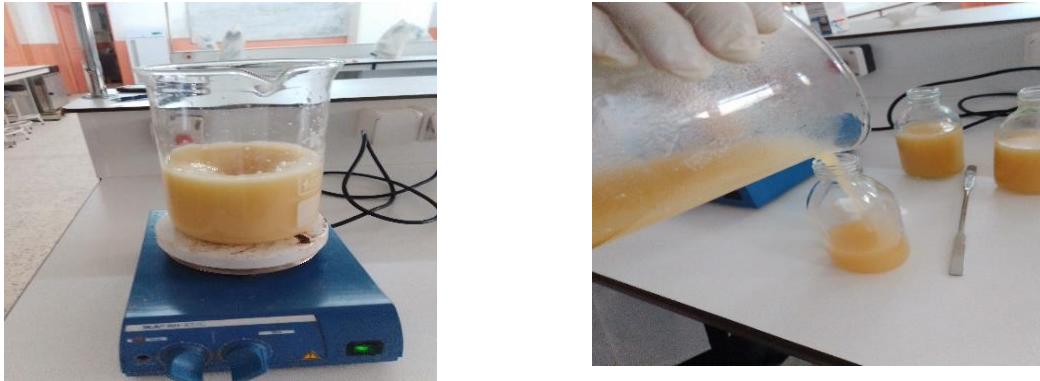


Fig.25 : Préparation du milieu gélose à l'amidon.

Les bactéries lactiques sont ensemencées dans le milieu gélose à l'amidon coulé dans les boîtes de pétri par strie centrale, incubez à 37°C pendant 24h à 72h.

Pour la lecture, on ajoute du lugol, si la couleur jaune persiste la souche est dite amylase positive et si une couleur noire apparaît, la souche est dite amylase négative.

5.7. Mise en évidence des exo polysaccharides (EPS) :

Il existe plusieurs milieux de culture pour le développement d'une meilleure production des EPS sur gélose qui est le milieu HJL et le milieu hyper saccharose. Il existe aussi plusieurs façons de détecter la présence de polysaccharides. Ces derniers peuvent être détectés qualitativement par un examen visuel, par coloration ou par microscopie. La mesure de la viscosité et le dosage des EPS purifiés permet de les détecter quantitativement. Les souches à tester ont été ensemencées en stries sur milieu gélose hyper saccharose et incubé à 37C pendant 24h, la production des EPS se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes (aspect mucoïde) (**Leveau *et al.*, 1991**).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

5.8. La conservation des bactéries lactiques

5.8.1. Préparation de la glycérine végétale à 20 % :

On dépose dans un bécher 80 ml d'eau distillée avec 20ml de glycérine végétale puis on mélange pour obtenir une solution de glycérine à 20%.

5.8.2. Préparation du bouillon nutritif :

On verse 20 g dans une 0.5l d'eau distillée, homogénéisez et stérilisez à l'autoclave.

5.8.3. Conservation :

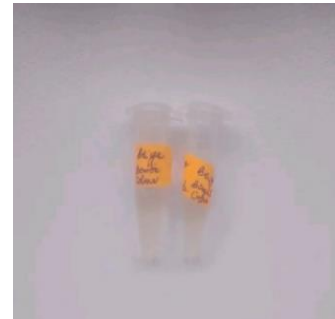
Dans un tube eppendorf , on verse 0.5 ml glycérine végétale à 20 % avec 0.5 ml de bouillon nutritif ensemencé par la bactérie lactique jeune de 24h puis conserver le tube à température -20°C



A : glycérine végétale



B : bouillon nutritif ensemencé



C : tube eppendorf

Fig.26 : Méthode de conservation des bactéries lactiques.

6. Dosage des éléments trace métalliques (ETM)

6.1. Prélèvement des organes et séchage

Après éviscération, les organes prélevés à savoir chair, gonades et branchies de deux poissons parasité et non parasité ont été analysé pour déterminer la teneur en eau et en éléments traces métalliques.

6.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau du poisson est la quantité d'eau présente dans le poisson. Les poissons présentant les mêmes teneurs en eau n'ont pas les mêmes sensibilités d'altération. La teneur en eau du poisson est calculée en appliquant l'équation ci-après:

$$\text{Teneur en eau, g/100g} = \frac{100 \cdot (W_1 - W_2)}{W_1}$$

Chapitre II : Matériel et Méthodes

$$(W_1 - W_s)$$

Le résultat est donné avec un chiffre décimal, ainsi que la longueur et le poids du poisson analysé.

6.1.2. Évaluation des éléments trace métallique dans les organes de barbeaux

Le dosage des métaux aux niveaux de trois organes (branchies, chair et gonades) a été effectué sur les minéralisations après dilution. Le Cu, Fe, Fe⁺⁺, Fe⁺⁺⁺ et le Cr, sont dosés par spectrophotomètre d'absorption atomique UV (**Fig.27**) au niveau du laboratoire CP2K (Sonatrach, Skikda).

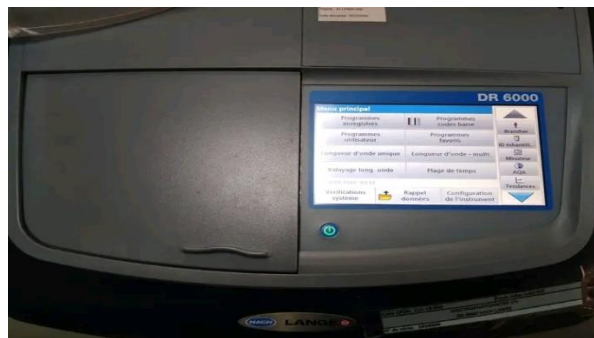


Fig.27 : Spectrophotomètre d'absorption atomique UV.

Matériel utilisé :

- ✓ Balance analytique capacité 110 g
- ✓ 100 ml eau distillé
- ✓ 100 ml HCL 37 %
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Becher
- ✓ Pipette gradué
- ✓ Spectrophotomètre UV DR 6000 HACH LANG

Mode opératoire

L'analyse des métaux s'effectue par spectrophotométrie d'absorption atomique, pour cela nous avons utilisé 1g de chaque échantillon (1 poisson non parasité et 1 poisson parasité) est dissous dans une

Chapitre II : Matériel et Méthodes

solution de l'acide chlorhydrique (HCL : H₂O = 1/1) À 50⁰C pendant 4H sur une plaque chauffante, les cendres obtenues sont filtrées à l'aide d'un papier filtre whatman. Le filtrat obtenue et ajusté à 25 ml par l'acide chlorhydrique 1% et conservé au frais 4⁰C dans des godets étiquetés jusqu'à l'analyse.

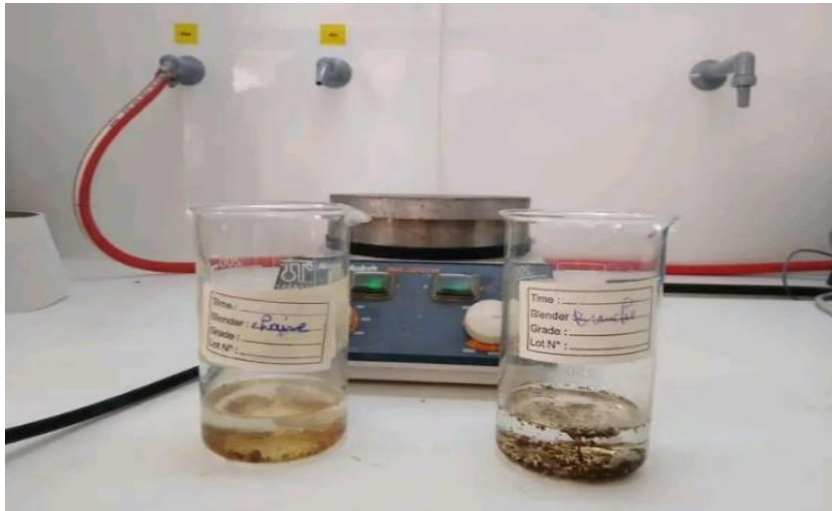


Fig.28 : Préparation de l'échantillon via HCL 37 %.

Méthodes d'analyse :

- **Chrome :** nous mettant 2 ml de chrome pour chaque échantillon d'organes

La fourche de lecture spectrophotomètre par absorption atomique UV la marge entre 0.03-1ppm

Thermostat à 100⁰ C pendant une heure

- **Cuivre :** pour chaque échantillon nous mettant 5 ml puis on ajoute 0.5 ml de la solution A

Après agitation manuelle.

Nous mettons une cuve vide pour le zérotagage de la ligne de base.

- **Fer :** étalonner l'équipement sur 485 nm (longueur d'onde), on met 2 ml d'échantillon avec agitation.

On change les boites qui contiennent une réactive agitation.

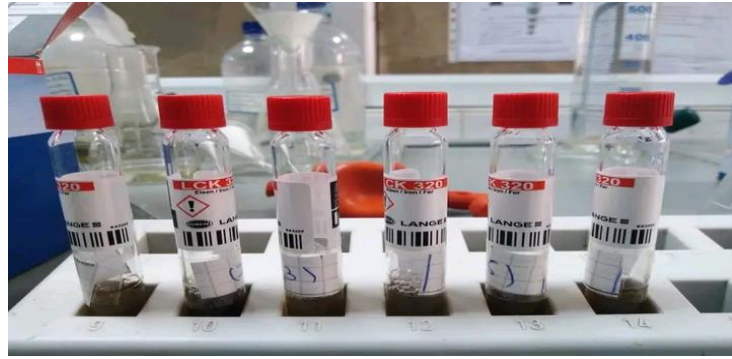


Fig.29 : Préparation de l'échantillon pour le dosage du fer.

- **Phosphate** : on met 0.5 ml de chaque échantillon dans le tube du phosphate pendant 1 heure à une température 100 C° puis 0.2 ml de la solution B.

On change l'ouverture de flacon (qui contient le réactif, après agitation manuelle on laissera pendant 10 min) puis lecture :

- Changement du couleur Bleu c'est-à-dire contient du phosphate ;
- Couleur reste marron c'est-à-dire pas de phosphate.

7.Impact de la température sur la qualité des poissons

Lors de la réfrigération et de la congélation, la texture des poissons est affectée par les cristaux de glace selon leur taille. Les caractéristiques organoleptiques de la chair des poissons qui sont influencées par le mode de congélation sont essentiellement la tendreté, la jutosité et le pouvoir de rétention d'eau. Les gros cristaux qui se forment lors de la congélation, produisent des tensions mécaniques et des cisaillements qui endommagent la texture ce qui entraîne l'apparition de réactions enzymatiques d'altération.

Pendant la congélation, l'abaissement de la température arrête les réactions physico-chimiques, les réactions encore actives sont situées dans les parties du tissu non gelées. Les modifications physiques et chimiques affectent aussi le muscle à travers la détérioration des fibres musculaires.

7.1. Echantillons étudiés :

Poisson n° 2 : Muscle et Cerveau chez barbeau

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Poisson n° 5 : Branchies chez barbeau

Poisson n° 6 : Cerveau, Gonades et Branchies chez barbeau

Poisson n° 1 / 2 : Cerveau, chair , branchie chez Tilapia

8. Etude histologique

8.1. Enrobage :

Dans cette partie on utilise un appareil appelé console constitué de trois parties :

- Première partie : elle est chaude et elle contient de la paraffine en forme liquide, au-dessus on trouve des petits moules et les cassettes plongées dans le paraffine ;
- Deuxième partie : présente une température très élevée et possède un robinet de paraffine.
- Troisième partie : présente une température de -9 à -10°C. les moules contenant les cassettes sont mis au-dessus pour les refroidir et les solidifier.

8.2. Technique :

- En premier, on plonge les cassettes dans la paraffine qui se trouvent dans la première partie, puis on ouvre les cassettes pour mettre les échantillons dans les moules correspondant à leur taille (**Fig.29**) ;
- On pose le moule sous le robinet de paraffine qui s'ouvre automatiquement ;
- Après qu'il soit rempli complètement, on met le moule sur la partie froide pour le solidifier

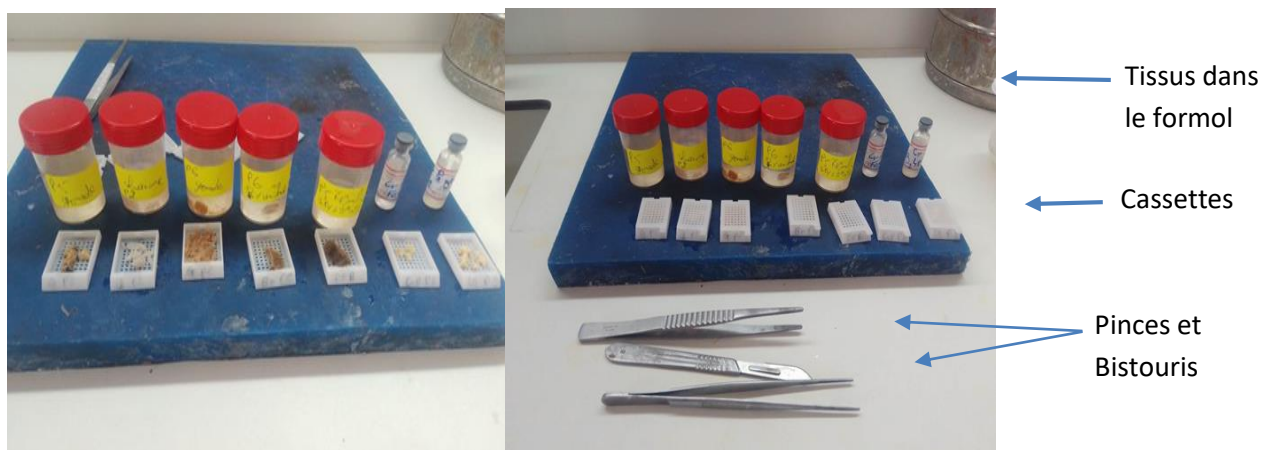


Fig.30 : Dépôt des tissus dans du formol à 10 % pour la fixation et la mise en cassettes.



Fig.31 : Dépôt des échantillons dans un automate de l'histologie pendant 16 heures.



Fig.32 : Réalisation des moules dans le console à l'aide de paraffine.

8.3. Découpage :

- En premier lieu, on place le bloc dans le microtome, puis on tourne les deux bras (droit et gauche) en sens inverse, et comme ça on réalise des coupes très fines (**Fig.33**) ;
- On pose une lame bien rincée sur la plaque chauffante et on met au-dessus 2 à 3 tranches de bloc ;
- On étale bien les coupures pour éviter le plissement, puis on coule l'albumine à l'aide d'une pissette ;
- Enfin, on code les lames.



Fig.33 : Réalisation des coupes histologiques très fine à l'aide d'un microtome.

8.4. Déparaffinage :

Pour déparaffiner les lames préparées, on les met dans une étuve à 250°C. Ensuite on les place dans un portoir émergé dans le xylène pendant 2 minutes.



Fig.34 : Les coupes déposées dans le bain marie pour l'incubation à 140°C pendant 30 min.

8.5. Coloration :

On réalise la coloration « Hématoxyline Éosine(HE) » des échantillons manuellement comme suit (**Fig.35**) :

- Xylène pendant 10 min
- Alcool pendant 15 min
- H₂O pendant 5min
- Hemalun pendant 15 min
- Éosine pendant 45 min
- Alcool passage

Chapitre II : Matériel et Méthodes

- Acétone + xylène
- Xylène



Fig.35 : Coloration Hématoxyline Éosine.

8.6. Montage :

- Il faut nettoyer d'abord les lames par une compresse stérile ;
- On coule le Kit (la colle) sur l'échantillon, puis on l'émerge dans le xylène ;
- On incline la lamelle et on la dépose sur la lame ;
- On met les lames dans l'étuve à 250°C pendant 20 minutes, puis on les nettoie avec une compresse ;
- Il faut dégager les bulles d'air par la technique d'écrasement, puis on les numérote et les classe par ordre croissant dans un plateau et on fait la lecture. Le bloc est archivé dans un autre plateau.

NB : Les lames ne doivent pas sortir du xylène que pour le montage.

Chapitre III : Résultats et discussion

Notre étude a été effectuée sur 20 poissons dulcicole ; le barbeau algérien provenant du lac Obéira (El Kala) et Tilapia provenant du centre. Nous avons réalisé sur chaque poisson des mesures de la taille et du poids et l'estimation du sexe et la maturité.

1. Résultats de l'étude des indices biologiques

Pour évaluer s'il y a une différence dans la relation longueur /poids, K et IVS entre les individus mâles et femelles et leur charge bactériologique il ressort que :

A. La taille des poissons varie entre 26,8 cm et 36,5 cm avec une moyenne de 30.72. Cependant, leurs poids varient entre 263,4 et 509,9 g avec une moyenne de 367.74g. Les résultats sont reportés dans le **Tab. 1**. La relation taille poids montre que $b < 3$; le poids croît moins vite que le cube de la longueur et l'allométrie est minorante.

B. Les résultats obtenus chez les 19 poissons de barbeaux examinés (8 mâles et 11 femelles) montrent que le **facteur de condition K** des femelles est supérieur à celui des mâles respectivement 1.15 et 0.96. Cela est due à une différence d'embonpoint liée au sexe (**Kraiem,1979**). Le facteur de condition étant un marqueur de l'état nutritionnel des poissons et leur réserve énergétique.

C. Pour l'ensemble des spécimens l'**indice viscérosomatique (IVS)** varie entre 0,74 (poisson parasité) et 6,89 %. Cependant, pour les barbeaux sur qui nous avons effectué l'analyse bactériologique ; après décongélation et altération, il est compris entre 0.88 et 3.45 %.

Tab. 1 : Relation taille poids et indices

N° des poissons Barbeaux	Longueur total (cm)	Poids (g)	Sexe et stade de maturité	K (%)	IVS (%)
1	28,7	292,7	Male mature	1,23	4,29
2	31	400,8	Femelle mature	1,34	4,77
3	30,5	427,3	Femelle mature	1,50	6,89
4	30,5	333,5	Femelle mature	1,17	4,82
5	36,5	519,4	Male mature	1,06	/
6	30	342	Femelle mature	1,26	2,94
7	30	433,8	Femelle mature	1,60	3,23

Chapitre III : Résultats et discussion

8	30,1	263,4	Male mature	0,96	/
9 parasité	29,5	362,6	Male mature	1,41	/
10	32,5	385,4	Male mature	1,12	/
11	34	509,9	Male mature	1,29	0,88
12	29	268,1	Male mature	1,09	0,74
13	31	361,8	Femelle mature	1,21	1,16
14	30,5	327,8	Femelle mature	1,15	1,12
15 parasité	31	413	Femelle mature	1,38	0,75
16	31	373,8	Femelle mature	1,25	0,90
17	26,8	231,5	Femelle mature	1,20	0,88
18	28,2	275,8	Male mature	1,22	1,41
19	33	464,5	Femelle mature	1,29	1,72
20			Femelle mature		

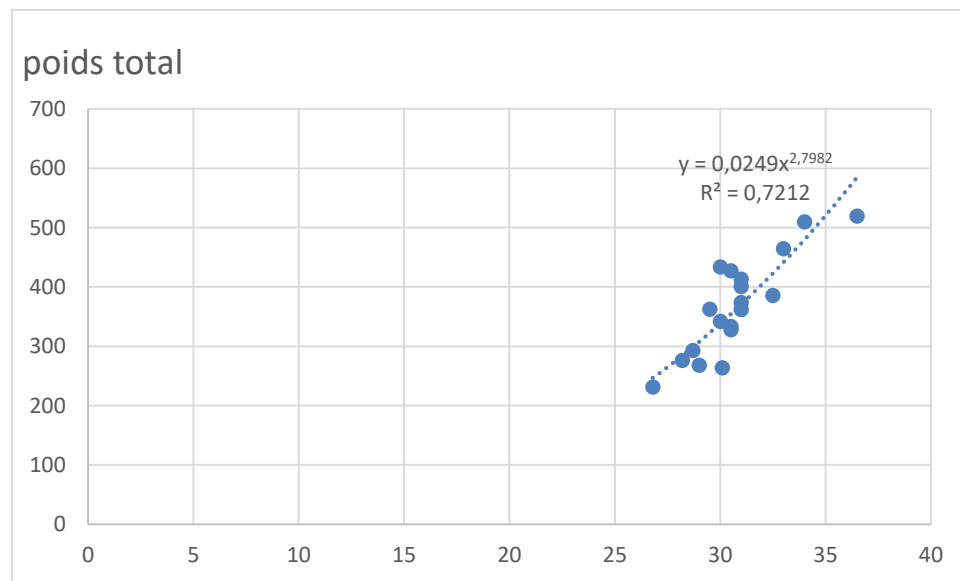


Fig.36 : Représentation de la régression linéaire.

2. Résultats de l'analyse bactériologique

Chapitre III : Résultats et discussion

2.1. Résultat de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) :

Le dénombrement des bactéries a été réalisé sur 14 poissons. Le dénombrement de la flore totale exprimé en UFC chez le barbeau (*Luciobarbus callensis*) et Tilapia (**Tab.2**). Il ressort que la chair est la partie la plus chargée avec une moyenne de 276.692×10^5 UFC, tandis que le tube digestif c'est la partie la moins chargée avec une moyenne de 223.769×10^5 UFC selon les normes algériennes (**J.O.R.A., 2017**).

Les procédés de conservation tel que la congélation, influent sur les charges bactériennes en limitant leur croissance ou en réduisant leur nombre.

Tab.2 : Résultat du dénombrement de la flore totale des organes des barbeaux congelés.

Organes	Dénombrement $\times 10^5$ UFC			
	Tube digestif	Branchies	Chair	Gonades
07	350	350	183	360
08	500	400	> 400	> 400
09 parasité	205	205	300	300
10	270	280	290	180
11	180	300	360	320
12	325	340	320	250
13	180	290	250	390
14	219	124	185	107
15 parasité	161	116	160	123
16	128	138	105	157
17	170	230	130	180
18	117	120	124	104
19	104	102	790	129

Chapitre III : Résultats et discussion

2.2. Résultats des analyses bactériologiques chez le barbeau après culture dans les milieux sélectifs :

L'ensemble des observations macroscopique et microscopique des isolats est récapitulé dans les illustrations et les tableaux suivants :

2.2.1. Lecture après 72 heures sur le milieu MRS :

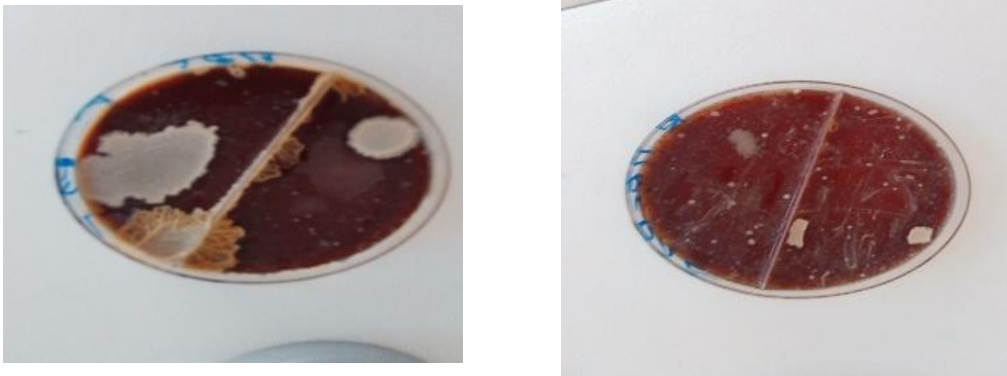


Fig.37 : Observation macroscopique après l'ensemencement sur le milieu MRS.

2.2.2. Lecture après 72 heures sur le milieu VF :

Après incubation pendant 72h à une température 37° C, nous avons observé une couche noire avec présence du gaz (**Fig.39**).

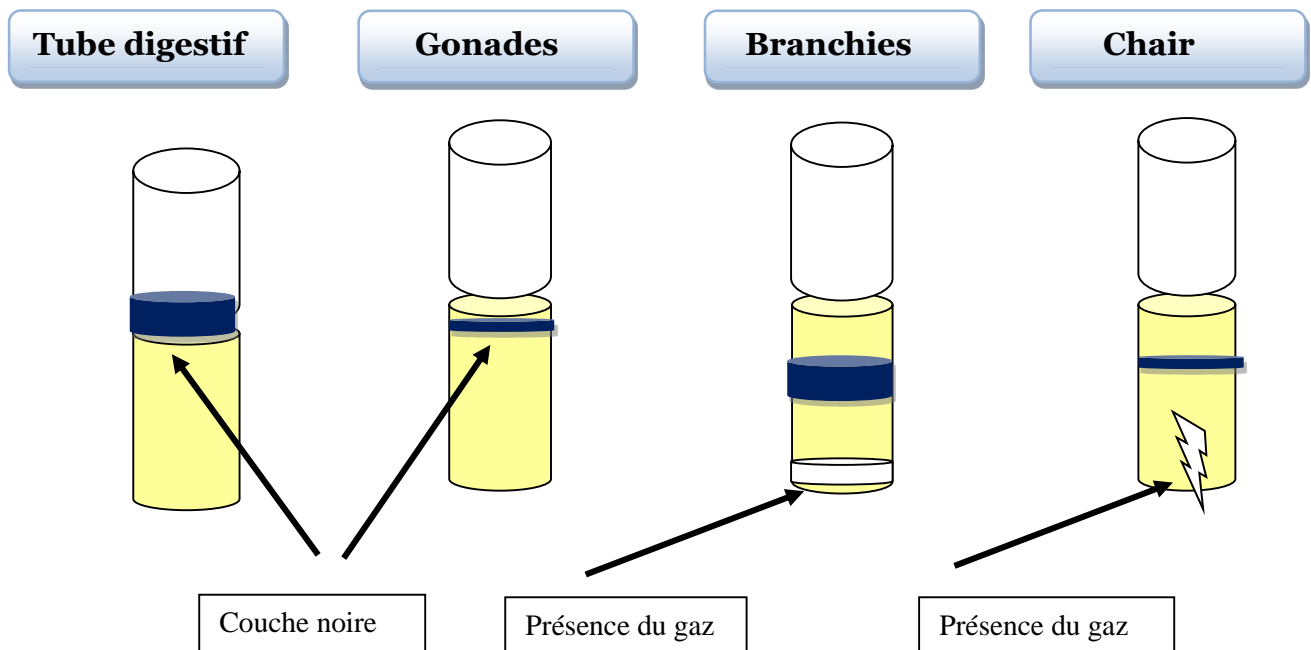


Fig.38 : Schéma représentatif de l'ensemencement des échantillons après dilution dans le milieu de culture VF.

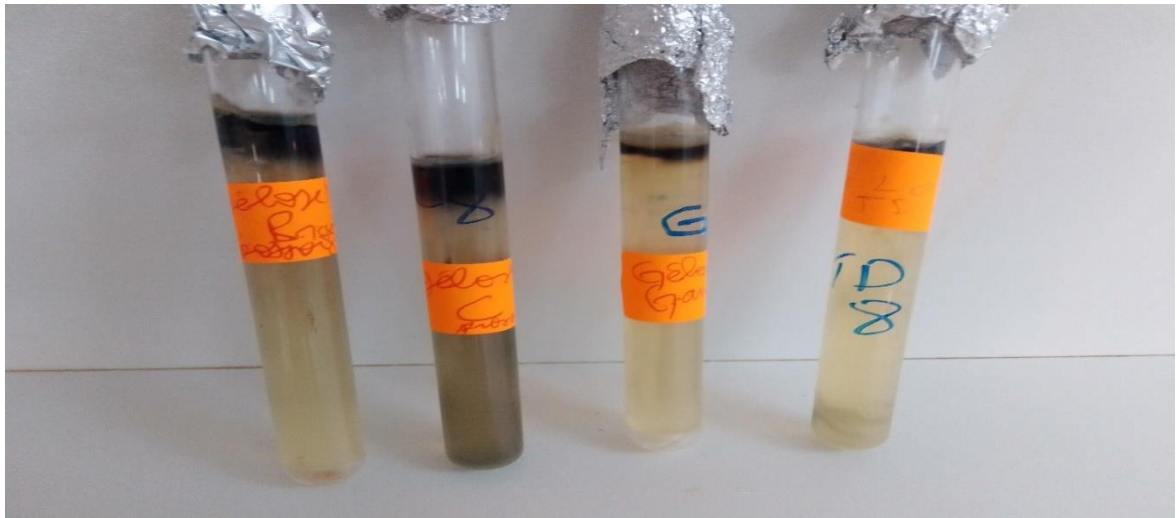
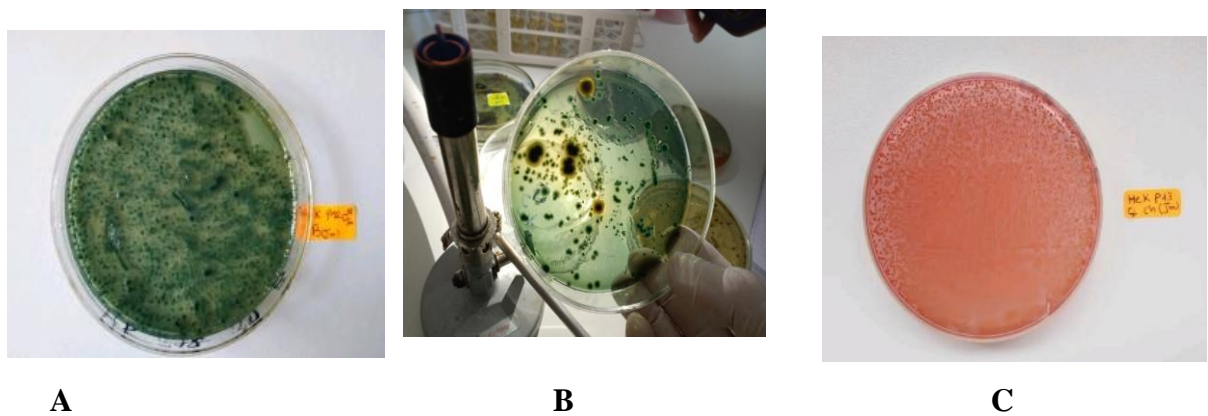


Fig.39 : Gélose viande foie qui contient *Clostridium*.

2.2.3. Lecture après 72 heures sur le milieu HK :



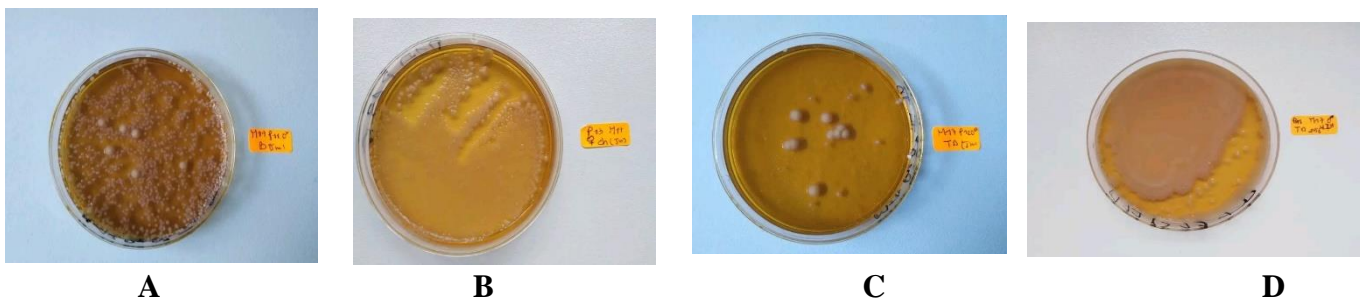
A

B

C

Fig.40 : Observation macroscopique des poisson 12 et 13 sur milieu Hektoen.

2.2.4. Lecture après 72 heures sur le milieu M17 :



A

B

C

D

Fig.41 : Observation macroscopique du milieu M 17 des poissons 12 / 13 / 17.

Chapitre III : Résultats et discussion

A : branchies (Barbeau 12) ; **B** : chair (Barbeau 13) ; **C** : tube digestif (Barbeau 12) ; **D** : tube digestif (Barbeau 17).

Tab.3 : Résultats représentatifs des organesensemencés sur différents milieux.

N° du poisson	Bactéries	<i>Entérobactéries</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>
	Milieu	Hektoen	Chapman	M17	MRS
7	Tube digestif	+	+	+	-
	Chair	+	+	+	-
	Branchies	+	+	+	+
	Gonades	+	+	+	+
8	Tube digestif	+	+	+	-
	Chair	+	+	+	-
	Branchies	+	+	+	-
	Gonades	+	+	+	-
9	Tube digestif	+	+	+	-
	Chair	+	-	+	-
	Branchies	+	-	+	-
	Gonades	+	-	+	-
10	Tube digestif	+	/	+	-
	Chair	+	/	+	-
	Branchies	+	/	+	+
	Gonades	+	/	+	-
11	Tube digestif	+	/	+	/
	Chair	+	/	+	/
	Branchies	+	/	+	/
	Gonades	+	/	+	/
12	Tube digestif	+	/	+	/

Chapitre III : Résultats et discussion

	Chair	+	/	+	/
	Branchies	+	/	+	/
	Gonades	+	/	+	/
13	Tube digestif	+	/	+	/
	Chair	+	/	+	/
	Branchies	+	/	+	/
	Gonades	+	/	+	/
14	Tube digestif	+	/	+	/
	Chair	+	/	+	/
	Branchies	+	/	+	/
	Gonades	+	/	+	/
15	Tube digestif	+	/	+	+
	Chair	+	/	+	+
	Branchies	+	/	+	+
	Gonades	+	/	+	+
16	Tube digestif	/	/	+	/
	Chair	/	/	+	/
	Branchies	/	/	+	/
	Gonades	/	/	+	/
17	Tube digestif	/	/	+	/
	Chair	/	/	+	/
	Branchies	/	/	+	/
	Gonades	/	/	+	/
18	Tube digestif	+	/	+	/
	Chair	+	/	+	/
	Branchie	+	/	+	/
	Gonades	+	/	-	/

Chapitre III : Résultats et discussion

19	Tube digestif	/	/	+	/
	Chair	/	/	+	/
	Branchies	/	/	+	/
	Gonades	/	/	+	/

Tab. 4 : Résultat de l'observation macroscopique des bactéries isolées

Poissons Organes	Barbeau 9 Etat congelé Lot 02 décongélation après 19h	Barbeau 11 Etat congelé Lot 04 décongélation après 19h	Barbeau 15 Etat congelé Lot 01 décongélation même jour	Barbeau 18 Etat congelé Lot 02 décongélation après 19h	Tilapia frais
Tube digestive	Beige plate grande colonie	/	/	Beige bombée Grande colonie	/
Branchies	blanche bombée	/	Beige plate Grande colonie	/	/
Gonades	blanche bombée	/	/	/	/
Chair	/	Colonie orangée	/	/	Beige bombée

Tab.5 : Observation macroscopique et microscopique des bactéries du poisson parasité N°9.

N° de la lame	1	2	3	4	5	6	7	8
Organes	B	B	B	TD	TD	G	G	C
Colonies	JP	JB	BB	BP	BP	JB	BB	JB
Gram	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺

Chapitre III : Résultats et discussion

Catalase	-	+	-	-	+	+	-	+
Etat frais	Cocci Isolé, en Chain ette, DC IM	Cocci Isolé, en Chain ette, DC , TC M	Cocci Isolé, en Chain ette, DC IM	Cocci en chain ette IM	Cocco- bacille M	Cocco- bacille M	Cocci en Amas DC	Cocci

B : Branchies ; TD : Tube digestif ; G : Gonades ; C : Chair ; DC : Diplocoque ; JP : Jaune plate ; JB :Jaune bombée ; BB : Blanche bombée ; BP : Blanche plate ;TC :Tétracoque ; IM : immobile ; M : Mobile.

Tab. 6 : Résultat récapitulatif des bactéries présentes dans les organes des 13 poissons

		Observation macroscopique	Observation microscopique	Catalase	Gram
B 7	C	Beige bombée	Diplocoque	+	+
	TD	Blanche plate	Coccobacille	+	-
	B	Beige bombée	Cocci en chaînette	+	+
	G	Blanche plate	Diplocoque	+	-
B 8	C	Beige bombée	Coccobacille	+	+
	TD	Blanche plate	Diplocoque	+	-
	B	Beige bombée	Coccobacille	+	+
	G	Blanche plate	Diplocoque	+	+
P 9	C	Jaune bombée	Cocci	+	+
	TD	1.Beige plate grande colonie 2.Beige plate petite colonie	Coccobacille Cocci en chaînette	+	+
	B	1.Jaune plate 2.Jaune bombée 3.Blanche bombée	1.Cocci isolé Diplocoque en chaînette	- + -	+ + +

Chapitre III : Résultats et discussion

			2.Cocci isolée Diplocoque en chainette et tétracoque 3.cocci isolé Diplocoque En chainette		
	G	1.Jaune bombée 2.Blanche bombée	1.Cocobacille 2.Diplocoque	+ -	+ +
P 10	C	1.Beige plate 2.Blanche plate 3.Beige bombé	1.Cocci isolé Diplocoque Cocci en chainette 2.Cocobacille isolé 3.Cocci isolé Bâtonnée isolé Diplocoque Cocci en chainette	+ + +	+ + +
	TD	1.Beige plate 2.Jaune plate 3.Blanche bombée	1.Diplocoque Cocci isolé 2-coci isolée bâtonné 3-cocobacile Diplocoque Cocci en chainette	+ +	+ +
	B	1.Beige plate	1-cocobacile	/	/
	G	1.Beige bombé 2.Jaune bombée	1.Cocci en chainette 2-Cocobacille Cocci en amas	+	+
P11	C	1. Orangée 2.Blanche 3. Blanche	1.Cocci isolé 2.Bâtonnet isolé 3.Cocci isolé	- + +	+ - -

Chapitre III : Résultats et discussion

			bâtonnet		
	TD	1. Beige plate grande colonie 2. Beige plate petite colonie	1.Cocci en amas 2. Cocci en amas	+ +	+ -
	B	Beige plate grande colonie	Cocci en amas	+	+
	G	1.Beige plate grande colonie 2.Beige plate petite colonie	1.Cocci en amas 2.Cocci en amas	+ +	+ -
	P12	C	Beige bombé petite colonie	Cocci isolé	+
	TD	1.Beige bombée grande colonie 2.Beige bombée petite colonie	1.Cocci en chaînette 2.Cocci isolé	+ +	+ +
	B	1.Beige bombée grand colonie 2.Beige bombée petite colonie	1.Cocci Diplocoque Cocci en chaînette 2. Cocci isolé	+ +	+ +
	G	1.Beige bombée 2.Beige plate	1.Cocci isolée ; diplocoque 2.Cocci isolée ; diplocoque	+ +	+ +
	P13	C	Beige plate	1.Cocci isolé 2.Diplocoque	+
	TD	Beige bombée	1.Cocci isolé 2.Diplocoque	+	+
	B	Beige bombée	1.Cocci en chaînette	+	+
	G	Beige plate	1.Cocci isolé 2.Diplocoque	+	+

Chapitre III : Résultats et discussion

P14	C	1.Beige bombée Petite colonie 2.Beige bombée grande colonie	1.Cocci isolé 2.Cocci isolé Diplocoque	+	+
	TD	Beige bombée Petite colonie	Cocci en chaînette Cocci isolé Diplocoque	+	+
	B	Beige bombée	Cocci isolé Diplocoque	+	+
	G	Beige plate	Cocci isolé Diplocoque	+	+
P15	C	beige plate grande colonie	Cocci isolé	+	+
	TD	Beige bombée Petite colonie	Bâtonnet isolé Cocci isolée	+	+
	B	Beige plate Grande colonie	Cocci en chaînette Diplocoque Cocci isolé	+	-
	G	Beige plate	Cocc	+	-
P16	C	1.Beige plate 2.Beige bombée	1.Cocci isolé 2.Cocci isolé	+	+
	TD	1.Beige plate 2.Beige bombée	1.Cocci isolé 2.Cocci isolé	+	+
	B	1.Beige plate 2.Beige bombée	1.Cocci isolée 2.Cocci isolée	+	+
	G	1.Beige plate 2.Beige bombée	1.Cocci isolé 2.Cocci isolé	+	+
P17	C	Beige plate	Cocci isolée	+	+

Chapitre III : Résultats et discussion

			Diplocoque Cocci en chaînette		
	TD	Beige bombé petite colonie	Cocci isolé Diplocoque Cocci en chaînette	+	+
	B	Beige plate petite colonie	Cocci isolé Diplocoque	+	+
	G	Beige bombée petite colonie	Cocci isolé Diplocoque Cocci en chaînette	+	+

P18	C	Beige plate grande colonie	Cocci isolé	+	+
	TD	Beige bombée Grande colonie	Diplocoque Cocci isolé Cocci en chaînette	-	+
	B	Beige bombée Petite colonie	Cocci isolé	+	+
	G	Colonie blanche	Cocci isolé Cocci en chaînette	+	+
P19	C	1.Beige plate 2.Blanche plate	1.Cocci en chaînette Diplocoque 2.Cocci isolé Cocci en chaînette	+	+
	TD	Beige plate	Diplocoque Cocci isolé Bâtonnet	+	+

Chapitre III : Résultats et discussion

	B	Blanche bombée	Cocci en amas Diplocoque Bâtonnet	+	+
	G	1.Beige bombée 2.Beige plate 3.lanche plate	1.Cocci en chainette 2.Cocci isolé Diplocoque 3.Cocci en chainette Diplocoque Cocci isolé	+	+

2.2.5. Résultats des activités enzymatiques des bactéries lactiques isolées des organes

Les résultats de l'état frais, de la catalase et de la coloration de Gram nous ont permis de sélectionner les bactéries lactiques ; avec des morphologies en Cocci, Coccobacille, diplocoques et bâtonnet immobiles à Gram positif et catalase négative.

Tab. 7 : Résultat du barbeau parasité N°9

Souche	Lipoprotéase	Lecithinase	Lipase	Amylase
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
4	+	-	+	+
5	+	+	+	+

Chapitre III : Résultats et discussion

7	+	+	+	+
8	+	+	-	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
Observation	Halo claire +	Opacité nette +	Saponification +	Absence de couleur noir +
Type de gélose ensemencée	Gélose au Jaune d'œuf			Gélose à l'amidon

Tab.8 : Résultats des poissons 9-11-15-18

		Lipoprotéase	Lecithinase	lipase	Amylase
Observation		Halo claire +	Opacité nette +	Saponification +	Absence de couleur noire +
9	Chair	ne contient pas de bactéries lactiques			
	Tube digestif	+	-	+	+
	Branchies	+	+	+	+
	Gonades	+	+	+	+
11	Chair	+	+	+	+
15	Branchies	+	+	+	+
18	TD	+	+	+	+

2.3. Résultats de l'analyse bactériologique du poisson frais Tilapia

Tab.9 : Résultat du dénombrement de la flore totale des organes

Organe	10 ⁻³	10 ⁻⁵	UFC
Tube digestif	250	220	220*10 ⁵
Branchies	300	150	150*10 ⁵
Gonades	380	320	320*10 ⁵
Chair	250	200	200*10 ⁵

Chapitre III : Résultats et discussion

Tab.10 : Résultat des bactéries présentes dans les différents organes

Organes \ Bactéries	Branchies	Tube digestif	Gonades	Chair
<i>Entérobactéries</i>	+	+	+	+
<i>Streptococcus</i>	+	+	+	+

Tab.11 : Résultat des observations macroscopique et microscopique des bactéries isolées du M17

Observation macroscopique	Observation microscopique	Gram	Catalase	Bactéries	Organe
Beige bombée	Diplocoque Cocci isolée Immobile	+	+	Non lactique	Tube digestif
Beige bombée	Cocci en chaînette Cocci isolée Immobile	+	-	Lactique	Chair
Beige plate	Cocci en amas Cocci en chaînette Diplocoque Bâtonnet Immobile	+	+	Non lactique	Chair
Beige plate	Coccobacille Cocci isolée Immobile	+	+	Non lactique	Branchies
Blanche bombée	Coccobacille Diplocoque Cocci isolée Bâtonnet Immobile	+	+	Non lactique	Branchies

Tab.12 : Résultat de la coloration de Gram et du test catalase

TD18	C 11	B9	B15	C Tilapia
Gram+	Gram+	Gram+	Gram+	Gram+
Cat ⁻	Cat ⁻	Cat ⁺	Cat ⁻	Cat ⁻

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré que toutes les bactéries lactiques retiennent la couleur violette ce qui confirme qu'on est face à une collection de bactéries à Gram

Chapitre III : Résultats et discussion

positif. Les formes des cellules étaient distinctes ; des Cocci et des bacilles, dont le mode de regroupement varie d'une souche à l'autre : chaînette, diplocoques et en amas (**Fig.42**).

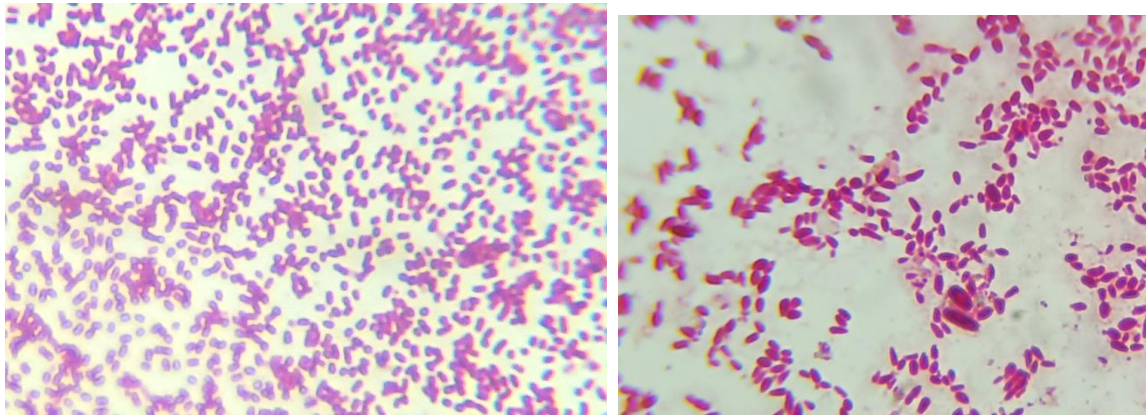


Fig.42 : Observations microscopiques après coloration de Gram.

Tab.13 : Résultat des activités enzymatique des bactéries lactiques :

Enzymes	lipoprotéase	lecithinase	lipase	Amylase
Réaction	+	+	+	+
Observation	Halo claire	Opacité nette	Saponification	Absence de couleur noire

2.4. Résultats des Exopolysaccharides (EPS)

Tab.14 : Résultat des observations macroscopique et microscopique des isolats producteurs d'EPS

Tube digestif du Barbeau 18	Branchies du Barbeau 15	Chair du Barbeau 11	Branchies Du Barbeau 9	Tube digestif du Barbeau 9	Gonades du Barbeau 9	Chair de Tilapia

Chapitre III : Résultats et discussion

Colonie mucoïde +++++	Colonie mucoïde +++++	Colonie mucoïde +++++	Colonie mucoïde +++++	+	Colonie mucoïde +++++	Colonie mucoïde +++++
Diplocoque Cocci isolé Cocci en chainette	Cocci isolé Cocci en chainette	Cocci isolé	Cocci isolé Diplocoque Cocci en chainette	Cocci isolé	Diplocoque en chainette	Cocci en chainette Cocci isolé



Fig.43 : Résultat de l'observations macroscopiques d'une bactérie lactique productrice d'EPS.

3.Résultat de l'évaluation du taux de l'eau dans les organes

On a constaté que les organes du poisson conservent leur quantité d'eau même après une longue durée de conservation.

Chapitre III : Résultats et discussion

Tab.15 : Représentation du séchage des organes des poissons

Organe		avant séchage	après séchage	% de l'eau
Poisson 13	Poids du G	4,5	0,1	97,7777778
	Poids du C	91,8	15,1	83,5511983
	Poids du B	7,8	1,7	78,2051282
	Poids du TD	4,2	1,9	54,7619048
Poisson 14	Poids du G	2,5	0,1	96
	Poids du C	96,8	21,4	77,892562
	Poids du B	4,1	0,4	90,2439024
	Poids du TD	3,7	0,4	89,1891892
Poisson 15	Poids du G	5,9	0,4	93,220339
	Poids du C	149,6	31,1	79,2112299
	Poids du B	6,7	1,2	82,0895522
	Poids du TD	3,1	0,1	96,7741935
Poisson 16	Poids du G	6,2	0,6	90,3225806
	Poids du C	100,6	22,6	77,5347913
	Poids du B	5,1	0,6	88,2352941
	Poids du TD	3,4	0,5	85,2941176
Poisson 17	Poids du G	/	/	/
	Poids du C	48,8	10,3	78,8934426
	Poids du B	/	/	/
	Poids du TD	2,6	0,6	76,9230769
Poisson 18	Poids du G	/	/	/
	Poids du C	47	10	78,7234043
	Poids du B	3,8	1,3	65,7894737
	Poids du TD	3,9	1,7	56,4102564
Poisson 19	Poids du G	/	/	/
	Poids du C	124,4	7	72,5080386
	Poids du B	5,2	/	/
	Poids du TD	8	3,6	55

4. Résultat de l'évaluation des éléments traces métalliques ETM :

Les résultats d'analyse des métaux lourds chez les deux poissons de barbeau parasité et non parasité révèlent la présence des métaux lourds dans les organes.

Tab.16 : Concentration des ETM dans les trois organes de barbeaux parasité et non parasité.

ETM \ Organes	Barbeau non parasité poisson 13			Barbeau parasité poisson 15		
	Chair	Branchies	Tube digestif	Chair	Branchies	Tube digestif
Fe	1.37	3.11	4.71	2.02	3.69	1.92
Fe⁺²	1.39	3.13	4.72	2.03	3.75	1.93
Fe⁺³	0	-0.02	-0.008	0.005	1.67	0.004
Cu	1.25	3.68	2.52	2.04	3.63	2.36
Cr	0.75	2.59	1.08	1.4	1.93	0.457
P	-0.425	-0.325	0.001	-0.338	-0.262	-3.328

4.1. Effet de la congélation sur les caractéristiques sensorielles des poissons

Lors de la réfrigération et de la congélation, la texture des poissons est affectée par les cristaux de glace selon leur taille. Chez Tilapia (frais) la structure musculaire du poisson est bien serrée et l'espace péri-cellulaire est très réduit. Par contre, chez les barbeaux, la congélation a produit des tensions mécaniques et des cisaillements qui ont endommagé la texture ce qui a entraîné l'apparition de réactions enzymatiques d'altération. Au cours de la congélation, le froid provoque la baisse de l'activité de l'eau suivi d'une diminution de l'eau disponible, ce qui ralentit ou stoppe l'activité des microorganismes et les activités enzymatiques.

5. Résultat de l'étude histologique

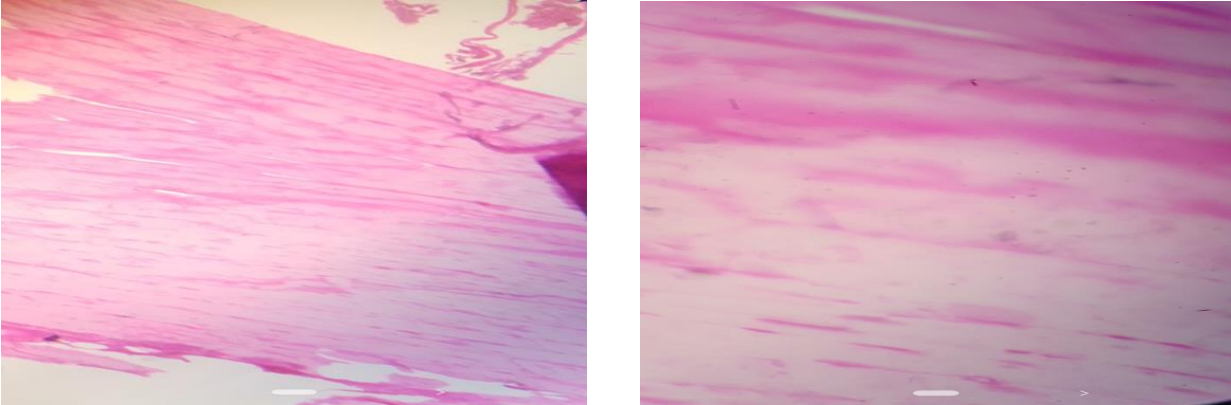


Fig.44 : L'observation microscopique du muscle du barbeau n°2 (grossissement a :100 ; b : 400).

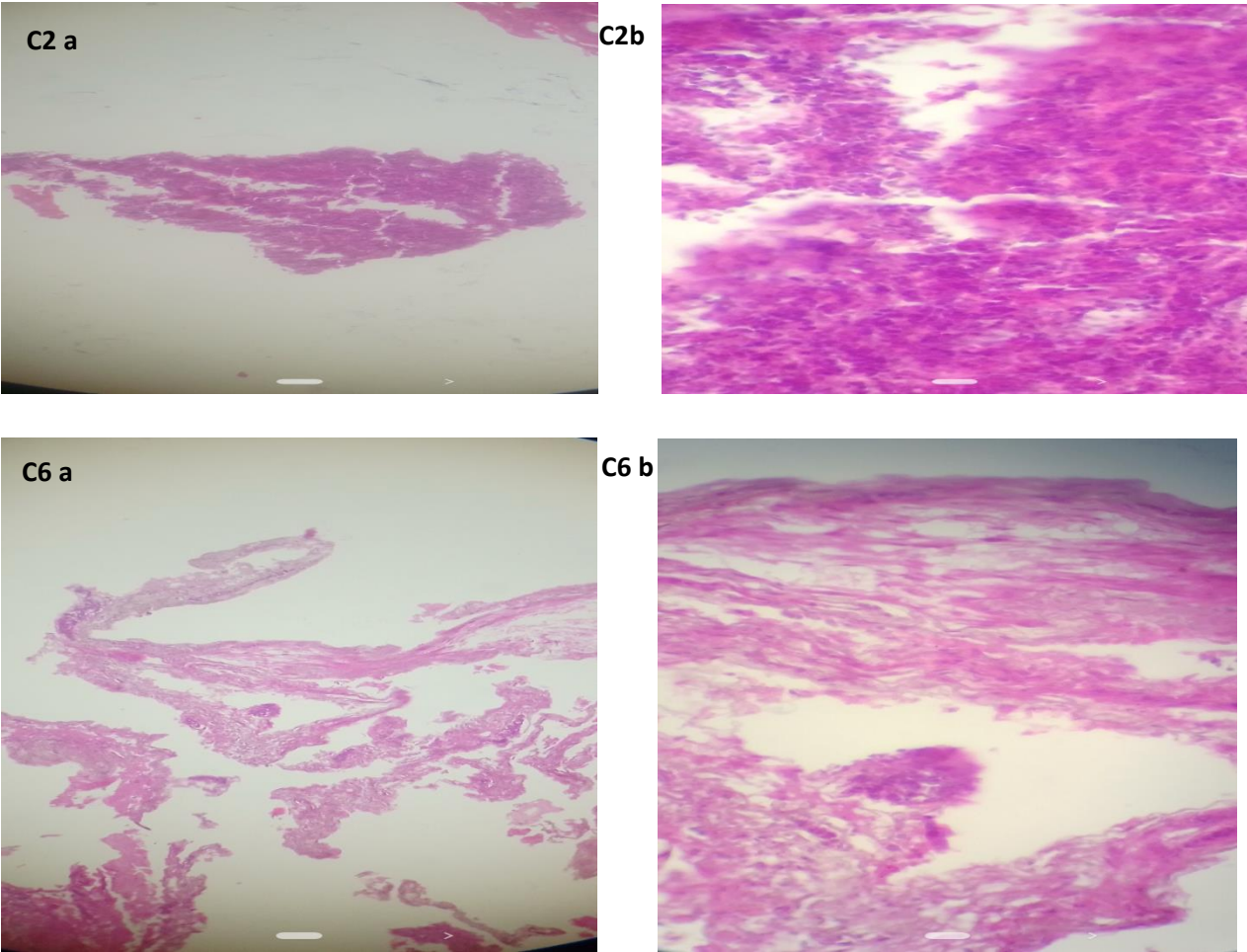


Fig.45 : Observation microscopique du cerveau du barbeau n°2 et 6 (grossissement a :100; b : 400).

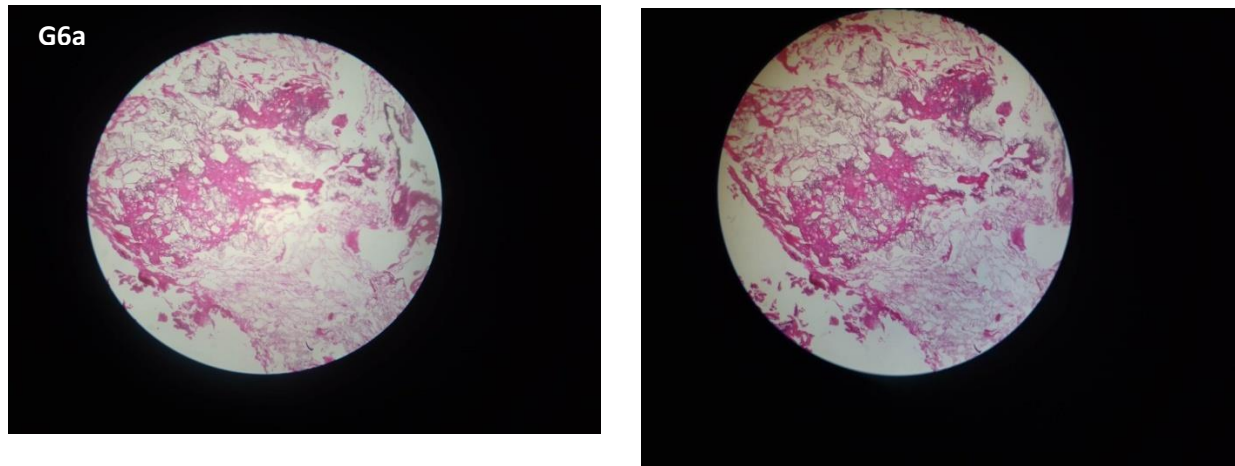


Fig.46: L'observation microscopique des gonades du barbeau n°6 (grossissement **a** :40 ; **b** : 100).

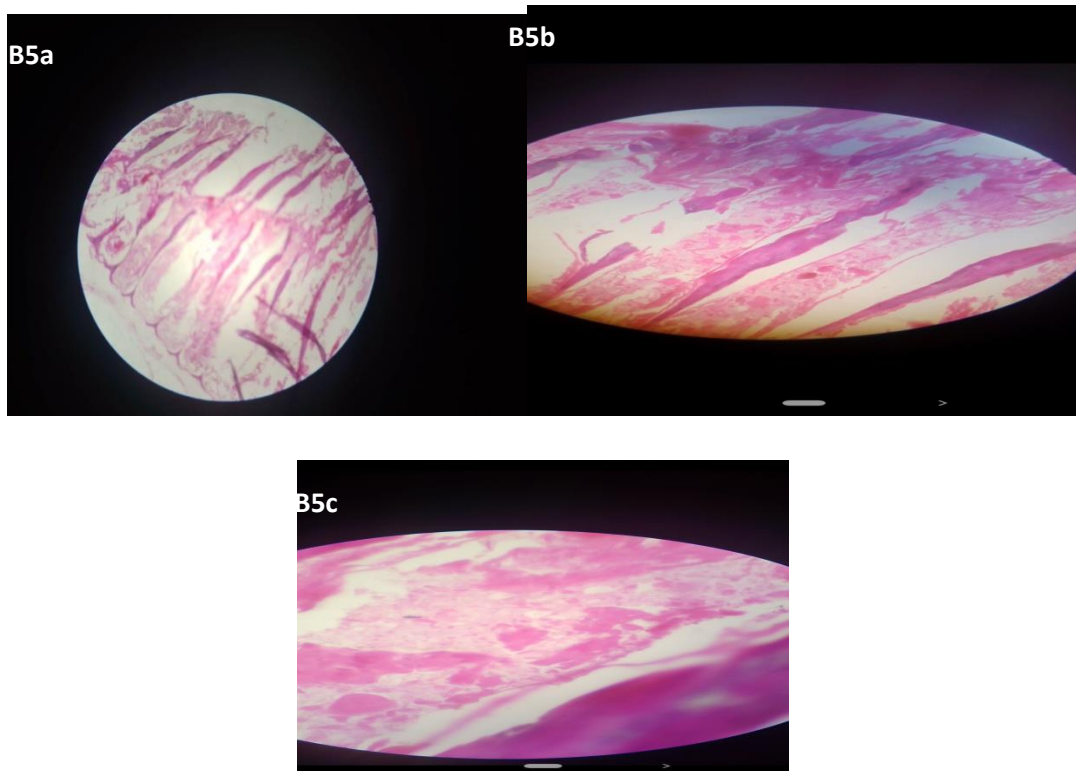


Fig.47: Observation microscopique des branchies du barbeau n°5 (grossissement **a** :40; **b** : 100 et **c** :400).

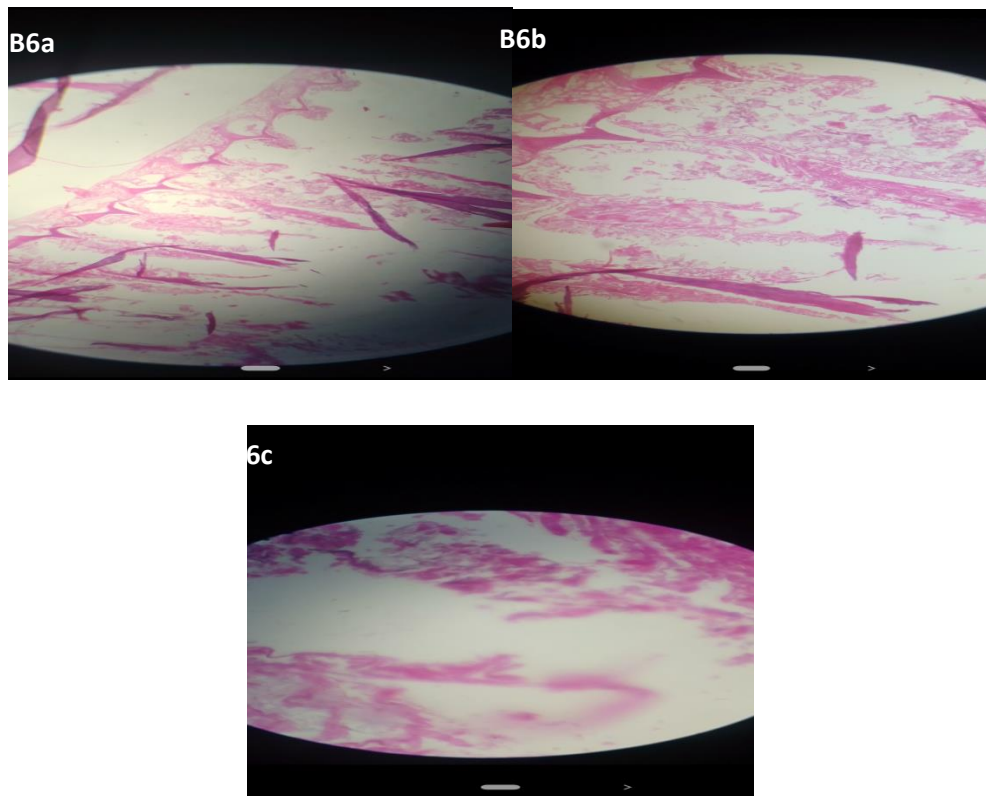


Fig.48 : Observation microscopique des branchies du barbeau n°6 (grossissement **a** :40; **b** : 100 et **c** :400).

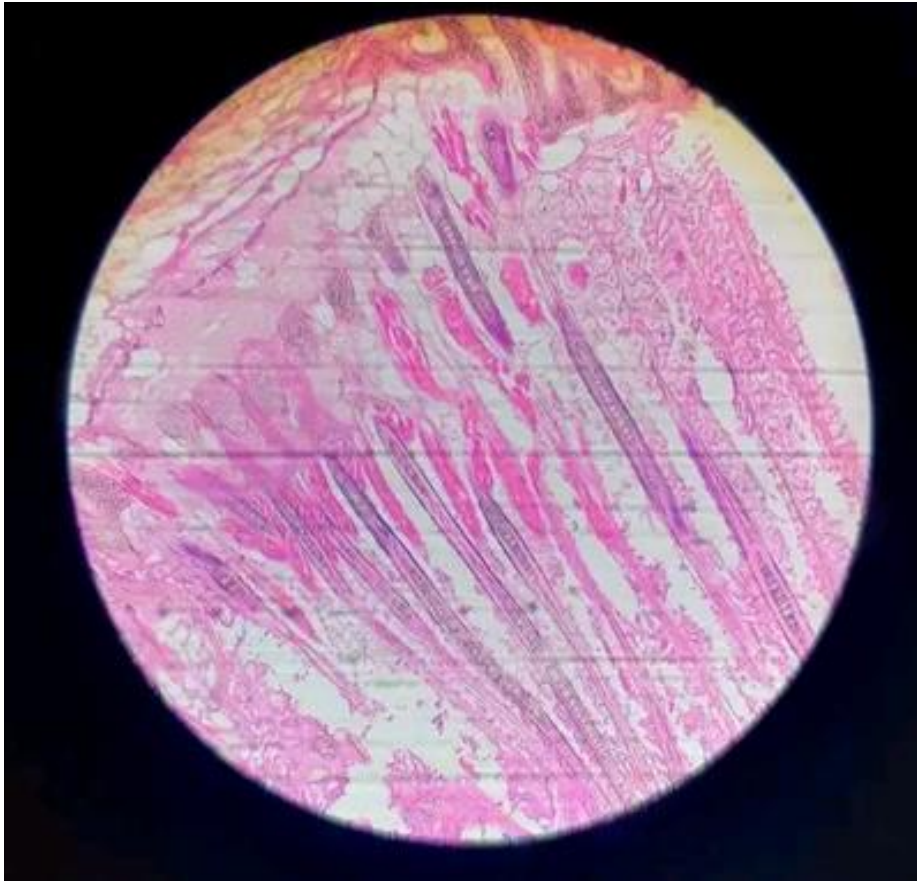


Fig.49 : Observation microscopique des branchies de Tilapia grossissement 100.

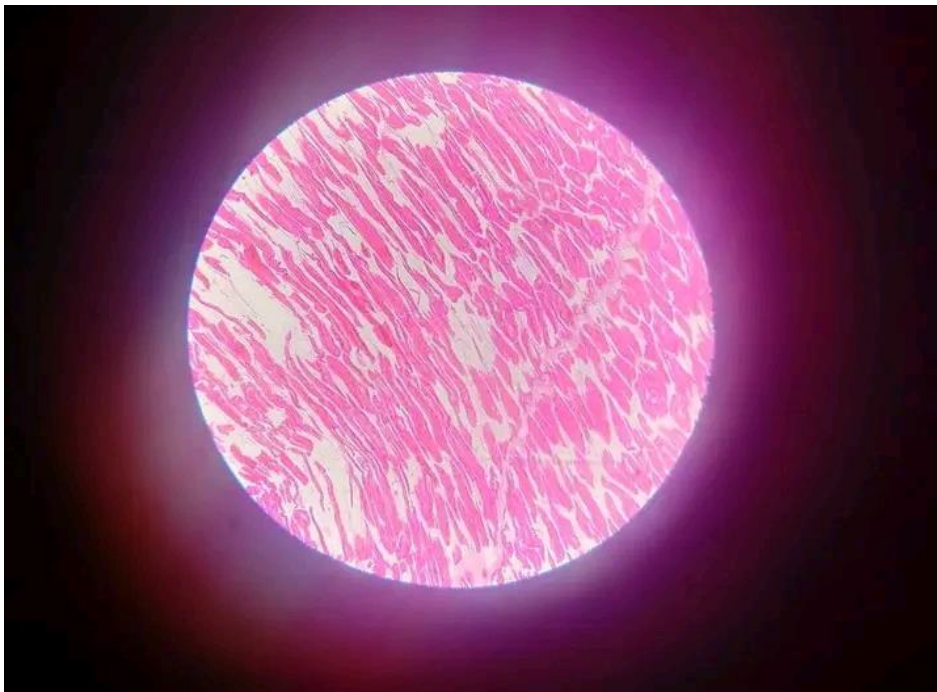


Fig.50: Observation microscopique de la chair de Tilapia grossissement 100.

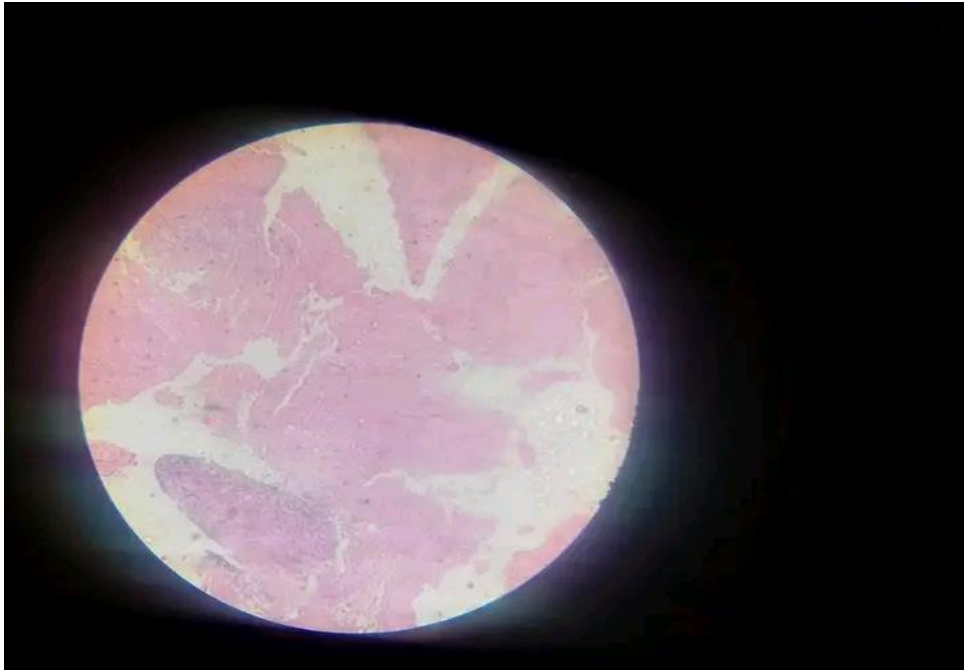


Fig. 51: Observations microscopique du cerveau de Tilapia grossissement 100.

DISCUSSION

Pendant toute sa vie, la longueur et le poids du poisson sont fortement corrélés. Le coefficient b est caractéristique de l'espèce et de la phase de développement (**Mayrat, 1970**).

La taille des poissons varie entre 26,8 cm et 36,5 cm avec une moyenne de 30.72. Cependant, leurs poids varient entre 263,4 et 509,9 g avec une moyenne de 367.74g. Les résultats sont reportés dans **le Tab. 1**. La relation taille poids montre que $b < 3$; le poids croit moins vite que le cube de la longueur et l'allométrie est minorante (**Teissier, 1948**).

Les résultats obtenus chez les 19 poissons de barbeaux examinés (8 males et 11 femelles) montrent que le **facteur de condition K** des femelles est supérieur à celui des males respectivement 1.15 et 0.96. Cela est due à une différence d'embonpoint liée au sexe (**Kraiem, 1979**). Le facteur de condition étant un marqueur de l'état nutritionnel des poissons et leur réserve énergétique.

Pour l'ensemble des spécimens l'**indice viscérosomatique (IVS)** varie entre 0,74 (poisson parasité) et 6,89 %. Cependant, pour les barbeaux sur qui nous avons effectué l'analyse bactériologique ; après décongélation et altération, il est compris entre 0.88 et 3.45 %.

Chapitre III : Résultats et discussion

Selon l'étude de **Bauchot et Bauchot (1978)** porté sur plus de 700 espèces, la valeur du coefficient d'allométrie liant le poids à la longueur, et la validité du coefficient (ou facteur) de condition si fréquemment utilisé dans les études d'ichthyologie appliquée montre que le poids spécifique moyen d'un poisson Téléostéen étant très voisin de l'unité, son poids, et donc son volume, doivent être proportionnels au cube de toute dimension linéaire, tout au long de la croissance, dans la mesure où il conserve des proportions voisines, c'est-à-dire tant qu'il ne change pas de forme ; elle reste toutefois une variabilité soit individuelle, soit saisonnière, qui peut dépendre de la nourriture disponible ou des stades de maturation des gonades, notamment chez la femelle. C'est en vertu de cette permanence des proportions qui affecte la plupart des espèces qu'on a pu définir un facteur (ou coefficient) de condition, ainsi nommé parce qu'il indique si l'individu étudié est en bonne (ou mauvaise) condition par rapport aux normes spécifiques. Un tel coefficient de condition, classiquement représenté par « K », est très fréquemment utilisé par les chercheurs des pêcheries, car il permet une estimation très rapide du poids des poissons pêchés par simple mesure de la longueur (totale ou standard). Il est en effet souvent très difficile de peser rapidement un poisson (et impossible à bord d'un bateau), alors qu'une mesure linéaire peut être rapidement prise. Il existe un nombre considérable de références portant sur ce coefficient de condition, notamment dans les études d'ichthyologie appliquée (**Weatherley, 1972**).

Bougi (1952), indique que chez Téléostéens la reproduction constitue le facteur essentiel agissant sur les variations pondérables du foie et par la suite conditionne le RGS.

Le dénombrement des bactéries a été réalisé sur 14 poissons. Le dénombrement de la flore totale exprimé en UFC chez le barbeau (*Luciobarbus callensis*) et Tilapia (**Tab.2**). Selon la charge bactériologique les poissons barbeau présentent une moyenne 277.64×10^5 UFC et Tilapia 290×10^5 UFC, selon la norme $(30-300) \times 10^5$ UFC les poissons présentent un bon état de santé.

Il ressort que la chair est la partie la plus chargée avec une moyenne de 276.692×10^5 UFC, tandis que le tube digestif c'est la partie la moins chargée avec une moyenne de 223.769×10^5 UFC selon les normes algériennes (**J.O.R.A., 2017**).

Les procédés de conservation tel que la congélation, influent sur les charges bactériennes en limitant leur croissance ou en réduisant leur nombre.

Chapitre III : Résultats et discussion

La composition de la microflore des produits marins dépend d'importants facteurs tel que :

- la flore initiale de la matière première, qui elle-même dépend des conditions environnementales
- la flore de recontamination pendant les différentes étapes du procédé de transformation
- les facteurs environnementaux liés à la matrice et qui vont permettre la croissance bactérienne (pH, température, sel, potentiel redox, interactions microbiennes etc...).

Le muscle du poisson vivant est stérile. Cependant, la peau, le mucus, les branchies et tout le tractus gastro-intestinal contiennent une flore bactérienne importante, dont la composition et la quantité varient en fonction de l'espèce considérée, de l'alimentation, de la température de l'eau, la salinité, la teneur en oxygène dissout, le degré de pollution ... Les bactéries majoritaires des poissons marins d'eaux tempérées sont généralement des bacilles psychrophiles à Gram négatif, appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Flavobacterium*... mais des bactéries à Gram positif comme *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* ou *Clostridium*, peuvent également être présentes dans des proportions variables (**Shewan, 1971 ; Hobbs, 1983 ; Gram et Huss, 1996**). Les charges bactériennes les plus fréquemment rencontrées varient de 10^3 à 10^7 germes/cm² de branchies, 10^2 à 10^5 g/cm² de peau et 10^3 à 10^5 g/cm² de fèces (**Abgrall, 1988**). Chez les poissons tropicaux, la flore a globalement la même composition, mais avec une prédominance de bactéries à Gram positif et d'entérobactéries (**Liston, 1980**).

La flore totale ou la flore mésophile aérobie totale (FMAT) représente, si elle est réalisée par les méthodes traditionnelles, le nombre total de micro-organismes capables de former des colonies visibles sur un milieu de culture à une température donnée. Ce chiffre est rarement un bon indicateur de la qualité sensorielle ou de la durée espérée de conservation du produit (**Huss et al., 1974**). Dans des perches du Nil conservées sous glace, le dénombrement total était de 10^9 UFC/g pendant plusieurs jours avant que le poisson ne soit rejeté (**Gram et al., 1989**) et, dans des semi-conserves légèrement traitées, des numérations élevées prévalent longtemps avant le rejet.

Chapitre III : Résultats et discussion

Si une numération est faite après un échantillonnage systématique et une connaissance parfaite de la manutention du poisson avant l'échantillonnage, des conditions de température, de l'emballage etc., elle peut donner une mesure comparative du degré général de contamination bactérienne et de l'hygiène mise en œuvre. On doit cependant noter qu'il n'y a pas de rapport entre la flore aérobie totale et la présence de bactéries pathogènes.

Les géloses de dénombrement courantes (PCA) sont encore les substrats les plus utilisés pour la détermination de la FMAT. Cependant, en examinant les différents types de produits de la mer, une gélose plus nutritive (Iron Agar ou gélose au fer, Lyngby, Oxoid) donne des numérations nettement plus élevées que les PCA (**Gram, 1990**). De surcroît, la gélose au fer fournit aussi le dénombrement des bactéries produisant du sulfure d'hydrogène, lesquelles, dans certains produits de la pêche, sont responsables de l'altération. Toutefois, des températures d'incubation de 30°C et au-dessus sont inadéquates quand on examine des produits de la mer conservée à des températures de glaçage. Trois à 4 jours d'incubation d'un ensemencement en profondeur à 25°C conviennent pour l'examen de produits où les psychrotrophes sont les organismes les plus importants, tandis que les produits où les psychrophiles *Photobacterium phosphoreum* se manifestent doivent être examinés dans un ensemencement de surface à une température d'incubation de 15°C maximum.

Diverses réactions d'altération peuvent être utilisées pour l'évaluation de l'état bactériologique des produits de la pêche. Tel que décrit plus haut, des géloses de dénombrement d'organismes produisant du H₂S ont été mises au point. Au cours de la dégradation de poissons blancs maigres, une des principales réactions est la réduction bactériologique de l'oxyde de triméthylamine en triméthylamine (**Liston, 1980 ; Hobbs et Hodgkiss, 1982**). Quand l'OTMA est réduit en TMA, plusieurs changements physiques se produisent ; le potentiel redox diminue, le pH augmente et la conductance électrique s'élève. La mesure de tels changements dans un substrat contenant de l'OTMA et inoculé dans l'échantillon peut être utilisée pour évaluer le taux des organismes capables d'altération ; ainsi plus les changements sont rapides, plus le taux d'organismes d'altération est élevé.

Plusieurs bactéries pathogènes peuvent être présentes dans l'environnement ou bien contaminer le poisson au cours de la manutention. Une description détaillée de ces organismes, de leur importance et des méthodes de leur détection est soulignée par **Huss (1994)**.

Chapitre III : Résultats et discussion

Il est bien connu que les activités tant enzymatiques que microbiologique sont très influencées par la température. Cependant, si la température varie de 0 à 25°C, l'activité microbienne est relativement plus importante, et les variations de température ont une plus grande influence sur la croissance microbienne que sur l'activité enzymatique.

De nombreuses bactéries ne peuvent pas se développer à des températures inférieures à 10°C et même les psychrotrophes se multiplient très lentement, avec parfois des phases de latence prolongées quand les températures avoisinent 0°C.

L'activité microbienne est responsable de l'altération de la plupart des poissons frais. La durée de conservation de ces produits est, par conséquent, extrêmement rallongée quand ils sont conservés à basse température. Dans les pays industrialisés, le glaçage du poisson (0°C) est une pratique courante pour le conserver. Dans ce cas, la durée de conservation à différentes températures de stockage (T° C) a été exprimée par la vitesse relative d'altération (VRA) (**Nixon, 1971**).

La microflore responsable de la dégradation du poisson frais change avec les variations de température de conservation. Aux basses températures (0 à 5°C), *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Aeromonas* spp. et *Pseudomonas* spp. sont responsables d'altérations. Cependant, aux températures de conservation élevées (15 à 30°C). Ce sont des espèces de *Vibrionaceae*, *Entérobactériaceae* et des bactéries à Gram positif qui dégradent les produits de la pêche (**Gram et al., 1987 ; 1990 ; Liston, 1992**).

Nous avons remarqué la présence remarquable des bactéries lactiques dans les différents organes caractérisés par leurs activités enzymatiques et leurs production d'EPS. Plusieurs activités enzymatiques liées aux métabolismes des lipides , des glucides et des protéines sont étudiées. Toutes les souches des espèces testées ont exhibé des activités enzymatiques positives

Looijesteijn et al. (2001) ont rapporté qu'au sein d'une même espèce de bactéries lactiques, les résultats peuvent être différents ; ils ont pu identifier des souches productrices d'EPS (voire très fortement) et des souches non productrices sans que ce caractère n'engendre des disparités de croissance.

Chapitre III : Résultats et discussion

On a souvent considéré que les bactéries lactiques avaient un rôle mineur dans l'altération des produits de la mer. Il est vrai que, quel que soit l'emballage, elles ne sont pas très compétitives sur poisson frais réfrigéré. Par ailleurs, elles produisent assez peu de mauvaises odeurs comparées à celles produites par des bactéries Gram- comme *S. putrefaciens*, *P. phosphoreum* ou *Pseudomonas spp.* (Leisner *et al.*, 1992).

Dominantes dans les produits légèrement préservés, leur rôle n'est pas non plus toujours très clair. Plusieurs auteurs ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre la flore lactique et l'altération sensorielle, certains produits ne présentant pas de signes d'altération alors qu'ils contenaient une flore lactique élevée (Leroi *et al.*, 2001). Cependant, Paludan-Müller *et al.*, (1998) ont réussi à augmenter la durée de vie de saumon fumé en inhibant les bactéries lactiques avec de la nisine, suggérant un effet altérant possible de ce groupe bactérien (pour une revue sur les 4 différentes caractéristiques d'altération, les composés responsables et les précurseurs associés consultez Huss *et al.* (1995).

Le rôle des bactéries lactiques dans la transformation des produits de la mer n'est pas aussi important que dans d'autres matrices alimentaires. La chair de poisson n'est en effet pas particulièrement favorable au développement de ce groupe bactérien, et la faible concentration en carbohydrates n'autorise pas une acidification qui permettrait la conservation naturelle du produit. Cependant, le fore lactique peut devenir majoritaire lorsque les conditions environnementales sont modifiées, par exemple quand les poissons ont été salés ou fumés, ou conservés sous atmosphère modifiée. Dans ce cas, les conséquences de la présence des bactéries lactiques peuvent être variables selon les espèces rencontrées. Parfois totalement neutres, elles peuvent cependant dans certains cas être responsables de l'altération organoleptique. Notons enfin que le potentiel bioprotecteur de ce groupe bactérien vis à vis de germes pathogènes a souvent été mis en évidence. Il est possible qu'il puisse s'exprimer naturellement dans certains produits. De plus en plus de travaux visent à exploiter ces capacités et à développer des starters bactériens, dont certains sont déjà commercialisés, pour maîtriser la qualité et la sécurité des produits de la mer (Leroi ,2009).

DISCUSSION

Les résultats de l'étude des indices biologiques permettant d'évaluer s'il y a une différence dans la relation longueur /poids, K et IVS entre les individus mâles et femelles et leur charge bactériologique montrent que :

A. La taille des poissons varie entre 26,8 cm et 36,5 cm avec une moyenne de 30.72. Cependant, leurs poids varient entre 263,4 et 509,9 g avec une moyenne de 367.74g. Les résultats sont reportés dans **le Tab. 1**. La relation taille poids montre que $b < 3$; le poids croît moins vite que le cube de la longueur et l'allométrie est minorante.

B. Les résultats obtenus chez les 19 poissons de barbeaux examinés (8 mâles et 11 femelles) montrent que le **facteur de condition** K des femelles est supérieur à celui des mâles respectivement 1.15 et 0.96. Cela est due à une différence d'embonpoint liée au sexe (kraiem, 1979). Le facteur de condition étant un marqueur de l'état nutritionnel des poissons et leur réserve énergétique.

C. Pour l'ensemble des spécimens l'**indice viscérosomatique** (IVS) varie entre 0,74 (poisson parasité) et 6,89 %. Cependant, pour les barbeaux sur qui nous avons effectué l'analyse bactériologique ; après décongélation et altération, il est compris entre 0.88 et 3.45 %.

Selon l'étude de **Bauchot et Bauchot (1978)** porté sur plus de 700 espèces, la valeur du coefficient d'allométrie liant le poids à la longueur, et la validité du coefficient (ou facteur) de condition si fréquemment utilisé dans les études d'ichtyologie appliquée montre que le poids spécifique moyen d'un poisson Téléostéen étant très voisin de l'unité, son poids, et donc son volume, doivent être proportionnels au cube de toute dimension linéaire, tout au long de la croissance, dans la mesure où il conserve des proportions voisines, c'est-à-dire tant qu'il ne change pas de forme ; elle reste toutefois une variabilité soit individuelle, soit saisonnière, qui peut dépendre de la nourriture disponible ou des stades de maturation des gonades, notamment chez la femelle. C'est en vertu de cette permanence des proportions qui affecte la plupart des espèces qu'on a pu définir un facteur (ou coefficient) de condition, ainsi nommé parce qu'il indique si l'individu étudié est en bonne (ou mauvaise) condition par rapport aux normes spécifiques. Un tel coefficient de condition, classiquement représenté par « K », est très fréquemment utilisé par les chercheurs des pêcheries, car il permet une estimation très

rapide du poids des poissons pêchés par simple mesure de la longueur (totale ou standard). Il est en effet souvent très difficile de peser rapidement un poisson (et impossible à bord d'un bateau), alors qu'une mesure linéaire peut être rapidement prise. Il existe un nombre considérable de références portant sur ce coefficient de condition, notamment dans les études d'ichthyologie appliquée (**Weatherley, 1972**).

Bougi (1952), indique que chez Téléostéens la reproduction constitue le facteur essentiel agissant sur les variations pondérables du foie et par la suite conditionne le RGS.

Le dénombrement des bactéries a été réalisé sur 14 poissons. Le dénombrement de la flore totale exprimé en UFC chez le barbeau (*Luciobarbus callensis*) et Tilapia (**Tab. 2**). Il ressort que la chair est la partie la plus chargée avec une moyenne de 276.692×10^5 UFC, tandis que le tube digestif c'est la partie la moins chargée avec une moyenne de 223.769×10^5 UFC selon les normes algériennes (**J.O.R.A., 2017**).

Les procédés de conservation tel que la congélation, influent sur les charges bactériennes en limitant leur croissance ou en réduisant leur nombre.

La composition de la microflore des produits marins dépend d'importants facteurs tel que :

- la flore initiale de la matière première, qui elle-même dépend des conditions environnementales
- la flore de recontamination pendant les différentes étapes du procédé de transformation
- les facteurs environnementaux liés à la matrice et qui vont permettre la croissance bactérienne (pH, température, sel, potentiel redox, interactions microbiennes etc...).

Le muscle du poisson vivant est stérile. Cependant, la peau, le mucus, les branchies et tout le tractus gastro-intestinal contiennent une flore bactérienne importante, dont la composition et la quantité varient en fonction de l'espèce considérée, de l'alimentation, de la température de l'eau, la salinité, la teneur en oxygène dissout, le degré de pollution ... Les bactéries majoritaires des poissons marins d'eaux tempérées sont généralement des bacilles psychrophiles à Gram négatif, appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Flavobacterium*... mais des bactéries à Gram positif comme *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* ou *Clostridium*, peuvent également être présentes dans des proportions variables (**Shewan, 1971 ; Hobbs, 1983 ; Gram et Huss, 1996**). Les charges bactériennes les plus fréquemment rencontrées varient de 10^3 à 10^7

germes/cm² de branchies, 102 à 105 g/cm² de peau et 103 à 105 g/cm² de fèces (**Abgrall, 1988**). Chez les poissons tropicaux, la flore a globalement la même composition, mais avec une prédominance de bactéries à Gram positif et d'entérobactéries (**Liston, 1980**).

La flore totale ou la flore mésophile aérobie totale (FMAT) représente, si elle est réalisée par les méthodes traditionnelles, le nombre total de micro-organismes capables de former des colonies visibles sur un milieu de culture à une température donnée. Ce chiffre est rarement un bon indicateur de la qualité sensorielle ou de la durée espérée de conservation du produit (**Huss et al., 1974**). Dans des perches du Nil conservées sous glace, le dénombrement total était de 10⁹ UFC/g pendant plusieurs jours avant que le poisson ne soit rejeté (**Gram et al., 1989**) et, dans des semi-conserves légèrement traitées, des numérations élevées prévalent longtemps avant le rejet. Si une numération est faite après un échantillonnage systématique et une connaissance parfaite de la manutention du poisson avant l'échantillonnage, des conditions de température, de l'emballage etc., elle peut donner une mesure comparative du degré général de contamination bactérienne et de l'hygiène mise en œuvre. On doit cependant noter qu'il n'y a pas de rapport entre la flore aérobie totale et la présence de bactéries pathogènes.

Les géloses de dénombrement courantes (PCA) sont encore les substrats les plus utilisés pour la détermination de la FMAT. Cependant, en examinant les différents types de produits de la mer, une gélose plus nutritive (Iron Agar ou gélose au fer, Lyngby, Oxoid) donne des numérations nettement plus élevées que les PCA (**Gram, 1990**). De surcroît, la gélose au fer fournit aussi le dénombrement des bactéries produisant du sulfure d'hydrogène, lesquelles, dans certains produits de la pêche, sont responsables de l'altération. Toutefois, des températures d'incubation de 30°C et au-dessus sont inadéquates quand on examine des produits de la mer conservée à des températures de glaçage. Trois à 4 jours d'incubation d'un ensemencement en profondeur à 25°C conviennent pour l'examen de produits où les psychrotrophes sont les organismes les plus importants, tandis que les produits où les psychrophiles *Photobacterium phosphoreum* se manifestent doivent être examinés dans un ensemencement de surface à une température d'incubation de 15°C maximum.

Diverses réactions d'altération peuvent être utilisées pour l'évaluation de l'état bactériologique des produits de la pêche. Tel que décrit plus haut, des géloses de dénombrement d'organismes produisant du H₂S ont été mises au point. Au cours de la dégradation de poissons blancs maigres, une des principales réactions est la réduction

bactériologique de l'oxyde de triméthylamine en triméthylamine (**Liston, 1980; Hobbs et Hodgkiss, 1982**). Quand l'OTMA est réduit en TMA, plusieurs changements physiques se produisent ; le potentiel rédox diminue, le pH augmente et la conductance électrique s'élève. La mesure de tels changements dans un substrat contenant de l'OTMA et inoculé dans l'échantillon peut être utilisée pour évaluer le taux des organismes capables d'altération ; ainsi plus les changements sont rapides, plus le taux d'organismes d'altération est élevé.

Plusieurs bactéries pathogènes peuvent être présentes dans l'environnement ou bien contaminer le poisson au cours de la manutention. Une description détaillée de ces organismes, de leur importance et des méthodes de leur détection est soulignée par **Huss (1994)**.

Il est bien connu que les activités tant enzymatiques que microbiologique sont très influencées par la température. Cependant, si la température varie de 0 à 25°C, l'activité microbienne est relativement plus importante, et les variations de température ont une plus grande influence sur la croissance microbienne que sur l'activité enzymatique.

De nombreuses bactéries ne peuvent pas se développer à des températures inférieures à 10°C et même les psychrotrophes se multiplient très lentement, avec parfois des phases de latence prolongées quand les températures avoisinent 0°C.

L'activité microbienne est responsable de l'altération de la plupart des poissons frais. La durée de conservation de ces produits est, par conséquent, extrêmement rallongée quand ils sont conservés à basse température. Dans les pays industrialisés, le glaçage du poisson (0°C) est une pratique courante pour le conserver. Dans ce cas, la durée de conservation à différentes températures de stockage (T° C) a été exprimée par la vitesse relative d'altération (VRA) (**Nixon, 1971**).

La microflore responsable de la dégradation du poisson frais change avec les variations de température de conservation. Aux basses températures (0 à 5°C), *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Aeromonas* spp. et *Pseudomonas* spp. sont responsables d'altérations. Cependant, aux températures de conservation élevées (15 à 30°C). Ce sont des espèces de *Vibrionaceae*, *Entérobactériaceae* et des bactéries à Gram positif qui dégradent les produits de la pêche (**Gram et al., 1987; 1990; Liston, 1992**).

Nous avons remarqué la présence remarquable des bactéries lactiques dans les différents organes caractérisés par leurs activités enzymatiques et leurs production d'EPS. Plusieurs activités enzymatiques liées aux métabolismes des lipides , des glucides et des protéines sont étudiées. Toutes les souches des espèces testées ont exhibé des activités enzymatiques positives

Looijesteijn *et al.* (2001) ont rapporté qu'au sein d'une même espèce de bactéries lactiques, les résultats peuvent être différents ; ils ont pu identifier des souches productrices d'EPS (voire très fortement) et des souches non productrices sans que ce caractère n'engendre des disparités de croissance.

On a souvent considéré que les bactéries lactiques avaient un rôle mineur dans l'altération des produits de la mer. Il est vrai que, quel que soit l'emballage, elles ne sont pas très compétitives sur poisson frais réfrigéré. Par ailleurs, elles produisent assez peu de mauvaises odeurs comparées à celles produites par des bactéries Gram- comme *S. putrefaciens*, *P. phosphoreum* ou *Pseudomonas spp.* (**Leisner et al., 1992**).

Dominantes dans les produits légèrement préservés, leur rôle n'est pas non plus toujours très clair. Plusieurs auteurs ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre la flore lactique et l'altération sensorielle, certains produits ne présentant pas de signes d'altération alors qu'ils contenaient une flore lactique élevée (**Leroi et al., 2001**). Cependant, **Paludan-Müller et al., (1998)** ont réussi à augmenter la durée de vie de saumon fumé en inhibant les bactéries lactiques avec de la nisine, suggérant un effet altérant possible de ce groupe bactérien (pour une revue sur les 4 différentes caractéristiques d'altération, les composés responsables et les précurseurs associés consultez Huss et al. (1995).

Le rôle des bactéries lactiques dans la transformation des produits de la mer n'est pas aussi important que dans d'autres matrices alimentaires. La chair de poisson n'est en effet pas particulièrement favorable au développement de ce groupe bactérien, et la faible concentration en carbohydrates n'autorise pas une acidification qui permettrait la conservation naturelle du produit. Cependant, le fore lactique peut devenir majoritaire lorsque les conditions environnementales sont modifiées, par exemple quand les poissons ont été salés ou fumés, ou conservés sous atmosphère modifiée. Dans ce cas, les conséquences de la présence des bactéries lactiques peuvent être variables selon les espèces rencontrées. Parfois totalement neutres, elles peuvent cependant dans certains cas être responsables de l'altération

organoleptique. Notons enfin que le potentiel bioprotecteur de ce groupe bactérien vis à vis de germes pathogènes a souvent été mis en évidence. Il est possible qu'il puisse s'exprimer naturellement dans certains produits. De plus en plus de travaux visent à exploiter ces capacités et à développer des starters bactériens, dont certains sont déjà commercialisés, pour maîtriser la qualité et la sécurité des produits de la mer (**Leroi ,2009**).

Conclusion

Cette étude avait pour but d'isoler des bactéries lactiques de deux poissons dulcicoles le barbeau algérien (congelé) un poisson sauvage issu du lac Obéira et tilapia rouge (frais) un poisson d'élevage procuré du centre de la recherche El Marsa. Les bactéries lactiques sont naturellement présentes dans les milieux riches en nutriments comme le tube digestif, elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire et le domaine médical se basant sur les caractéristiques morphologique, biochimique et physiologique.

Cependant, nous avons dosé certains métaux qui ont une relation avec les bactéries lactique d'un point de vue résistance et tolérance est leur capacité à produire les EPS.

Cependant, la teneur en eau est estimée car le poisson n'a pas la même sensibilité d'altération, toute fois l'évaluation de l'impact de la température (réfrigération et congélation) a été réalisé à travers des coupes histologique chez les deux espèces de poissons afin déterminer le degré de la détérioration des fibres musculaires.

Il ressort de cette étude que :

Selon la charge bactériologique les poissons barbeau présentent une moyenne 277.64×10^5 UFC et Tilapia 290×10^5 UFC, selon la norme $(30-300) \times 10^5$ UFC les poissons présentent un bon état de santé.

Malgré la présence du parasite, des métaux et le degré d'altération, une interaction parasite-bactérie-métaux à explorer en perspective afin d'approfondir les recherches dans les domaines de la biorémediation et la bioconservation.

Annexe

TILAPIA

1-Biologie et aquaculture du tilapia :

On va étudier 2 poissons du tilapia comme une espèce de référence pour avoir et constaté les résultats de la bactériologie et histologie

Les tilapias s'adaptent à des environnements variés et peuvent vivre à des températures comprises entre 9°C et 40°C. Les espèces comme *O. niloticus* et *O. mossambicus* supportent jusqu'à un maximum de 41°C (Allanson et Noble, 1984 ; Denzer, 1968). Néanmoins,

Beaucoup cessent de s'alimenter dès que la température descend en dessous de 16°C, ou ne peuvent se reproduire qu'à des températures supérieures à 22°C. Toutes les espèces pourraient survivre à un taux d'oxygène dissout de 1 mg/L mais cesseraient de s'alimenter quand ce taux descend en-dessous de 1,5 mg/L (Allison et al., 1976). L'adaptation à la salinité diffère selon les espèces. Ainsi, certaines espèces comme *Tilapia.guineensis* ou *O.mossambicus* sont euryhalines (Wokoma et Marioghae, 1996). De même la tolérance au pH est fonction des espèces. Le pH optimal est compris entre 7 et 8, mais les tilapias s'adaptent aux pH très acides des forêts tropicales (Varadaraj et al., 1994).

Le mode alimentaire est caractéristique du genre. Ainsi, les poissons du genre *Tilapia* sont d'abord zooplanctonophages puis deviennent omnivores (Bard et al., 1974). Les poissons des genres *Sarotherodon* et *Oreochromis* consomment essentiellement du phytoplancton et des macrodétritus divers (Bardet al., 1974). Les tilapias sont extrêmement résistants aux maladies. Ils sont d'ailleurs le plus souvent porteurs sains de plusieurs virus



Figure *01 : étape de dissections du Tilapia

2-Systématique :

Les tilapias constituent la sous famille des Tilapiinae, appartenant à la famille des cichlidés et à l'ordre des perciformes dont la particularité la plus apparente est une ligne latérale discontinue. Cette famille comprend quatre genres, regroupés sous le nom courant de tilapia (Trewavas, 1983):

- *Le genre *Tilapia*, constitué de pondeurs sur substrat ;]
- *Le genre *Sarotherodon*, constitué d'incubateurs buccaux chez lesquels la garde de la progéniture est assurée par les deux ou un seul des parents. Le dimorphisme sexuel de croissance est peu marqué ;
- * Le genre *Oreochromis*, composé d'incubateurs buccaux chez lesquels la cellule familiale est] maternelle. Le dimorphisme sexuel de croissance est très marqué, la femelle étant plus petite que le mâle ;
- * Le genre *Danakila*, qui est un genre monospécifique de faible importance économique.]

Selon Günther (1889), la systématique du poisson *Tilapia* est comme suite :

Embranchement : Vertébrés

Embranchement : Vertébrés

Super classe : Poissons

Classe : Ostéichtyens

Sous classe : Téléostéens

Ordre : Perciformes

Famille : Cichlidés

Sous famille : Tilapinés

Genre : Oreochromis Sp

3- Reproduction de Tilapia

Le Tilapia hybride est un Cichlidé fertile ; territorial ; incubateur buccal et est très agressif pendant la saison de reproduction. Medeiros et al. (2007) ont pu démontrer que les comportements de la reproduction du tilapia hybride Oreochromis sp sont identiques à ceux décrits chez l'espèce parentale O. niloticus. Le croisement entre certaines espèces d'Oreochromis conduit à la production d'hybrides à 100% mâles (Levéaqué et Paugy ; 1999). La production aquacole du Tilapia hybride consiste principalement à avoir des populations de mâles qui sont considérés comme des poissons de haute qualité nutritive pour l'homme avec un potentiel de croissance très important.



Figure * 02 : aspect visuelle du poisson Tilapia

4-Cycle de vie du Tilapia

En milieu naturel, la reproduction se caractérise par un comportement parental visant à protéger les œufs dès la fécondation (Fig.02). Les sites de frai sont généralement localisés dans des zones de faible profondeur, sablonneuses (Philippart and Ruwet, 1982). Les Tilapias pondent sur substrat forment des couples stables et défendent un territoire pendant le frai. Les deux parents creusent un trou pour préparer un nid où les œufs sont déposés, puis fécondés. Ensuite, ils surveillent les œufs et les ventilent à l'aide de leurs nageoires. Après éclosion, un des parents prend soin des alevins pendant que l'autre défend le territoire.

5- Répartition dans le monde

Cette espèce est également cultivée, hors de sa zone originelle puisqu'elle a été introduite de par le monde et est couramment cultivée à travers les tropiques et les

sous-tropiques (Fig.03). On la trouve dans les lacs, les fleuves et les piscicultures aussi bien d'Amérique

Centrale (Guatemala, Mexique, Nicaragua, Honduras, Costa Rica, Panama), d'Amérique du Sud (Brésil), d'Amérique du Nord (Etats Unis, etc...) et d'Asie (Sri Lanka, Thaïlande, Bangladesh, Vietnam, Chine, Hong Kong, Indonésie, Japon, Philippines), ce qui lui vaut une distribution actuelle pan-tropicale (Welcomme, 1988 in Al Dilaimi, 2009). Enfin, elle est également cultivée dans les eaux chaudes industrielles en régions tempérées. C'est le cas en Europe, en Allemagne, en 1977 et en Belgique en 1980 (Al Dilaimi, 2009)



Figure 03: Principaux pays producteurs du tilapia du Nil (FAO, 2006)

❖ Résulta de l'analyse bactériologie chez tilabia du poisson N° : 01

organe/bactérie	branchie	Tube digestive	gonade	chaire	milieu
Entérobactérie	+	+	+	+	mac conkey
streptococcus	+	+	+	+	M17

Tableau *01 : mise en culture du poisson tilapia chez poisson 01

Dénombrement :

Organe	10 ⁻³	10 ⁻⁵	UFC
Tube digestive	250	220	220*10 ⁵
Branchie	300	150	150*10 ⁵
Gonade	380	320	320*10 ⁵
Chaire	250	200	200*10 ⁵

Tableau *02 : dénombrement du poisson 01 chez tilabia

L'observation :

Observation macroscopique	Observation macroscopique	Coloration de gramme	Catalase	Bactérie
Tube digestive belge bombée	*diplococ *coci isolée	Gram+	Cat ⁺	Non lactique

	Immobile			
Chaire Beige bombée	*Coci en chente *coci isolée Immobile	Gram+	Cat ⁻	Lactique
Chaire beige plate	*coci en ama *coci en chente *diplococ *batonnée Immobile	Gram+	Cat ⁺	Non lactique
Branchie beige plate	*cocobacille *coci isolée Immobile	Gram+	Cat ⁺	Non lactique
Branchie blanche	*cocobacille *diplococ *Coci isolée *batonnée immobile	Gram+	Cat ⁺	Non lactique

4.2 Mode opératoire

-après avoir préparé le milieu hyperscharosie

L'écoulement des milieux dans les boit de pétrie on procède à un prélèvement de colonie des bactéries lactique on fait l'ensemencement puis l'incubation pendant 24 heures à 37 C ° puis observation macroscopique