

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 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 : Microbiologie appliquée

Intitulé

**Dépistage de résidus d'antibiotique dans la
chair de Tilapia (*Oreochromis ssp*)
« Méthode microbiologique »**

Présenté par :

El Mokli Nour El Houda & Soualhi Rayene

Examiné par :

Pr. Zaidi Nedjouda	Université 20 août 1955 Skikda	Prof	Président
Dr. LAIB Imène	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Examineur
Dr. BOUCETTA Sabrine	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Promoteur
Dr MAHMOUDI Abdelghani	Université 20 août 1955 Skikda	MCA	Co-promoteur

Année universitaire 2021/2022

Avant-Propos

Avant tout, nous remercions en premier lieu Allah le tout puissant de nous avoir illuminés et ouvert les voies du savoir, et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

*Au terme de ce modeste travail nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur **Dr Boucetta sabrine (MCA, université 20 août 55, Skikda)**, d'avoir dirigé ce travail et de nous faire partager ses connaissances qui ont été très utiles et pour ses précieux conseils et orientations.*

*Toute notre gratitude et reconnaissance à **Mme. Maachia Leila (Enseignante chercheur, Université de Constantine)** qui nous a aidé pour effectuer toutes nos manipulations. Sans les moyens matériels mis à notre disposition, ce travail n'aurait jamais vu le jour. C'est l'occasion pour moi de lui rendre un grand hommage.*

*Nous remercions et saluons vivement nos membres de jury, Melle. **Pr Zaidi Nedjoua (Professeur, université 20 août 55, Skikda)** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Mes vifs remerciements s'adressent à **Dr. Laïb Imène (MCA, université 20 août 55, Skikda)**, qui à bien voulu examiner ce travail. Ces critiques et remarques nous seront d'une grande utilité.*

*A l'ensemble des enseignants-chercheurs du département de
Biologie.*

Enfin, nous remercions tous ceux et celles de près et/ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail en signe de respect et d'amour à mes très chers parents qui ont partagés mes joies et mes peines, qui ont été toujours à mes cotés, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu les garde toujours en bonne santé.

A mon mari

A mes chères sœurs.

A toutes ma famille

A tous ceux qui me sont chers

NOUR

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma chère mère OUICHAOUI Nacira,

A mon cher père Salah,

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir
et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

A mes frères Tadj eddine et Charaf eddine,

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère grand-mère, Qui je souhaite une bonne santé.

A mes adorables copines

BOULEKROUCHE IlhEm , RABIA Lina , BOUGUEDAH Hind .

Merci d'être là, je vous dédiez mon humble travail.

Rayene

Résumé

La présente étude consiste à un **dépistage de résidus d'antibiotique** dans les tissus de Tilapia du Nil (*Oreochromis ssp*) et **l'évaluation la qualité microbiologique** du poisson et de l'eau des aquariums expérimentaux.

Globalement, les individus d' *Oreochromis ssp* ont un poids totale (Wt) qui varie ($19 \leq Wt$ (g) ≤ 89) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt(\text{cm}) \leq 16,4$). Ces Tilapias ont suivi une antibiothérapie par baignade avec cinq (05) doses référentielles de l'érythromycine pendant dix (10) jours et une dose orale d'ordre 0,1g/j(pendant trois(03) jours » avec les sulfamides.

Les résultats des analyses macroscopiques des poissons, ont montré la présence de diverses altérations tant sur l'état morphologique. Des poissons ont manifesté des : exophtalmie, perte d'œil, érosions, déformations.

Les résultats de dénombrement de tous les groupes bactériens présents dans les tilapias et l'eau d'aquarium étudiés, font apparaître que dans l'ensemble des sites échantillonnés, les teneurs en bactéries relevées révèlent l'existence de niveaux de contamination par les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants , les FTAM .Notons l'absence totale des staphylocoques et salmonelle.

Le dépistage de résidus « méthode des quatre (04) boites » d'antibiotique dans le foie d'*Oreochromis ssp*. Déclare que ces Tilapias sont **IMPROPRE** à la consommation humaine. En revanche, L'indice d'altération indique que Ces poissons Sont **FRAIS**-propre à consommer !!. **Ce résultat** constitue un réel problème de santé publique, non seulement en raison de la présence de résidus d'antimicrobiens dans les tissus comestibles, qui peuvent provoquer des réactions allergiques chez les personnes hypersensibles, mais aussi en raison **de l'émergence de résistances bactériennes**.

Mots clés : dépistage de résidus d'antibiotiques, *Oreochromis ssp*, érythromycine, sulfamide anomalies macroscopiques, qualité microbiologique (eau et poisson).

ملخص

تتمثل الدراسة الحالية من فحص بقايا المضادات الحيوية في أنسجة البلطي النيلي (*Oreochromis ssp*) وتقييم الجودة الميكروبيولوجية للأسماك والمياه في الأحواض التجريبية.

بشكل عام ، يمتلك أفراد *Oreochromis sp* وزناً إجماليًا (Wt) يختلف (Wt (g) $\leq 89 \geq 19$) بطول متغير (Lt (cm) $\leq 16.4 \geq 10.5$). خضع هذا البلطي للعلاج بالمضادات الحيوية عن طريق الاستحمام بخمس (05) جرعات مرجعية من الإريثروميسين لمدة عشرة (10) أيام وجرعة فموية من أجل 0.1 جرام / يوم (لمدة ثلاثة (03) أيام) مع السلفوناميدات. أظهرت نتائج التحليلات العيانية للأسماك وجود تغييرات مختلفة في كل من الحالة المورفولوجية. أظهرت الأسماك: جحوظ ، فقدان العين ، تآكل ، تشوهات.

أظهرت نتائج إحصاء جميع المجموعات البكتيرية الموجودة في البلطي ومياه الأحواض المدروسة أنه في جميع المواقع التي تم أخذ عينات منها ، كشفت مستويات البكتيريا المسجلة عن وجود مستويات تلوث بواسطة القولونيات الكلية ، القولونيات المقاومة للحرارة ، FTAM. لاحظ المجموع. عدم وجود المكورات العنقودية والسالمونيلا.

فحص بقايا المضادات الحيوية "أربعة (04) صندوق" في كبد *Oreochromis ssp*. تعلن أن أسماك البلطي هذه هي UNFIT للاستهلاك الأدمي. من ناحية أخرى ، يشير مؤشر التلف إلى أن هذه الأسماك طازجة للأكل !! تشكل هذه النتيجة مشكلة صحية عامة حقيقية ، ليس فقط بسبب وجود بقايا مضادات الميكروبات في الأنسجة الصالحة للأكل ، والتي يمكن أن تسبب ردود فعل تحسسية لدى الأشخاص مفرطي الحساسية. شديدة الحساسية ، ولكن أيضًا بسبب ظهور المقاومة البكتيرية.

الكلمات الأساسية: فحص بقايا المضادات الحيوية ، *Oreochromis sp* ، الإريثروميسين ، التشوهات العيانية السلفوناميد ، الجودة الميكروبيولوجية (الماء والأسماك).

Abstract

The present study consists of screening for antibiotic residues in the tissues of Tilapia of the Nile (*Oreochromis ssp*) and the evaluation of the microbiological quality of fish and water experimental aquaria.

Overall, *Oreochromis sp* individuals have a total weight (Wt) that varies ($19 \leq Wt \text{ (g)} \leq 89$) with varying length ($10.5 \leq Lt \text{ (cm)} \leq 16.4$). These Tilapias have undergone antibiotic therapy by bathing with five (05) reference doses of erythromycin for ten (10) days and an oral dose of about 0.1g/d (for three (03) days" with sulfonamides.

The results of the macroscopic analyzes of the fish showed the presence of various alterations both in the morphological state. Fish have shown: proptosis, loss eyes, erosions, deformations.

Enumeration results for all bacterial groups present in tilapia and aquarium water studied, show that in all of the sites sampled, the levels of bacteria recorded reveal the existence of levels of contamination by total coliforms, thermotolerant coliforms, FTAM. Note the total absence of staphylococci and salmonella.

Screening for residues "method of four (04) boxes" of antibiotic in the liver of *Oreochromis ssp*. Declare that these Tilapias are **UNFIT “ Not safety food”** for human consumption.

On the other hand, the spoilage index indicates that these fish are FRESH-food safety to consume!!. This result constitutes a real public health problem, not only in due to the presence of antimicrobial residues in edible tissues, which may cause allergic reactions in hypersensitive people but also due to the emergence of bacterial resistance.

Keywords: antibiotic residue screening, *Oreochromis ssp*, erythromycin, sulfonamide, macroscopic anomalies, microbiological quality (water and fish).

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Chapitre I : Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques

1. Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques.....	05
2. Méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques.....	05
2.1 Méthode de détection biologique microbiologique.....	05
2.1.1 Méthode alternatives(Premitest)	05
2.1.2 Méthodes de référence (méthodesdes4boites)	05
2.2 Méthodes biochimiques.....	06
2.2.1 Méthodes enzymatique(Penzym test)	06
2.2.2 Méthodes sur tiges (le test beta star)	06
2.3 Méthodes immunologiques.....	06
2.3.1 Test RIA et du test RRA.....	06
2.3.2 Test ELISA.....	07
3. Méthodes de confirmation et de quantification.....	07
3.1 Méthodes Chromatographiques.....	07
3.1.1 Chromatographie.....	07
3.1.2 Buts de la chromatographie.....	08
3.1.2.1 Objectif Analytique.....	08
3.1.2.2 Objectif Préparatif.....	08
3.2 Méthodes spectrométrique spectrométrie de masse(SM)	08
3.2.1 Principe de la SM.....	08

Chapitre II : Matériels et Méthodes 10

1 Origine et Échantillonnage des poissons vivants « Tilapia »	10
2 Travaux réalisés au laboratoire.....	10
2.1 Aquari- expérimentale.....	10
2.2 Caractères morphométriques & évaluation de la mensuration.	12
2.3 Caractère pondérale.....	13

2.4	Examen macroscopique des poissons.....	13
2.5	Évaluation de la fraîcheur des poissons.....	14
2.6	Contrôle de qualité microbiologique alimentaire.....	18
2.6.1	Matériel de laboratoire.....	18
2.6.2	Méthodes d'analyses	19
2.6.2.1	Protocole d'analyse.....	19
2.6.3	Interprétation des résultats de la qualité microbiologique.....	22
2.7	Les analyses bactériologiques de l'eau d'aquarium.....	22
2.7.1	La recherche et dénombrement des coliformes totaux, coliforme fécaux et Escherichia.....	22
2.7.2	Les streptocoques fécaux ou thermotolérants(ISO7899-1)	24
3	Méthode de détection des résidus d'antibiotiques.....	25
3.1	Principe.....	25
3.1.1	Familles d'antibiotiques recherchées.....	26
3.1.2	L'application.....	27
3.1.2.1	Remise en activité des microorganismes tests (revivification de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Micrococcus luteus</i>)	27
3.1.2.2	Préparation de l'inoculum des souches tests.....	27
3.1.2.3	Préparation des boîtes de Pétri.....	29
3.2.3.2	Préparation des solutions d'antibiotiques témoins	31
3.2.3.3	Mode opératoire.....	32
	Chapitre III : Résultats & Discussions	35
1.	Résultats morphométriques et pondérale.....	35
2.	Résultats des Examens macroscopique des anomalies externes.....	36
3.	Évaluation de la fraîcheur du poisson	38
4.	Résultats de Contrôle de qualité microbiologiques alimentaire (Poisson congelé)	40
4.1.	Flore totale aérobie mésophile (FTAM)	40
4.2.	Coliformes thermotolérants (CTT)	41
4.3.	Staphylocoques présumés pathogènes.....	42
4.4.	Salmonella.....	43
5.	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau des aquariums.....	44
5.1.	Avant l'antibiothérapie	44

5.2. Après l'antibiothérapie (érythromycine et Sulfamide)	45
6. Résultats Méthode de détection des résidus d'antibiotiques.....	46
6.1. Résultats selon les familles d'antibiotiques recherchées.....	47
6.1.1. Résidus d'érythromycine avec la bactérie pathogène(<i>Bacillus subtilis</i>)	47
6.1.2. Résidus de sulfamide avec la bactérie pathogène (<i>Micrococcus luteus</i>)	49
Conclusion et perspectives.....	52

Références Bibliographique

Annexes

Liste des abréviations

BLBVB : Bouillon lactosé bilié au vert brillant

CEE : communauté économique européenne

CTT : Coliformes thermotolérants

EP : Eau physiologique.

EPT: Eau peptonée tamponnée.

F.A.O: Food and Agriculture Organization.

FTAM: Flore totale aérobie mésophile.

IA : l'Indice d'altération

ISO : Organisation Internationale de Standardisation.

LT : Longueurs totale.

NPP : Nombre le plus probable.

PCA: Plate count agar.

S/C: Simple concentration.

SFB : Bouillon au selenite de Sodium

SM : Solution mère

TIAC : Toxi-infection Alimentaire Collective

TSE: Tryptone sel eau.

UFC : Unité formant colonie.

VRBL : Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.

WT : Poids totale

Liste des Figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 1	L'arrivée des échantillons au laboratoire (SNV-université du 20 août 1955-Skikda)	10
Figure 2	aqua-expérimentale au laboratoire (SNV-université du 20 août 1955-Skikda).	11
Figure 3	Conservation des spécimens dans des sacs stériles (Laboratoire université de Skikda).	11
Figure 4	Détails des différentes mensurations faites sur tilapia <i>Oreochromis ssp</i> (à droite cliché personnelle)	12
Figure 5	Mesure pondérale de <i>oreochromis ssp</i> vivant(clichés personnel au laboratoire SNV-université du 20 août 1955-Skikda).	13
Figure 6	Le milieu BCPL et les différentes concentration (10ml , 1ml, 0,1 ml de l'eau des 06 aquariums expérimentaux).	23
Figure 7	Virage de couleur de milieu BCPL vers le jaune.	24
Figure 8	Milieu Roth simple concentration (10ml, 1 ml , 0,1 ml de l'échantillon des eaux des aquariums expérimentaux.)	25
Figure 9	Préparation de l'inoculum des souches tests.	28
Figure 10	Préparation des boîtes de Pétri.	30
Figure 11	Technique des 4 boites (Mode opératoire pour la souche test Bs).	33
Figure12	Technique des 4 boites (Mode opératoire pour la souche test MI).	34
Figure 13	Résultats des FTAM chez <i>Oreochromis ssp</i> (Poissons congelé).	40
Figure 14	Résultats des FTAM chez <i>Oreochromis ssp</i> (Poissons Frais).	41
Figure15	Résultats des Coliformes thermotolérants (CTT) UFC/ g chez <i>Oreochromis ssp</i> .	42
Figure16	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau d'aquarium avant antibiothérapie(Aq 1 ; Aq 2 ; Aq3 ; Aq 4;Aq5 et Aqt).	44
Figure17	:Résultats des analyses microbiologiques de l'eau d'aquarium après antibiothérapie(Aq 1 ; Aq 2 ; Aq3 ; Aq 4;Aq5 et Aqt)..	45
Figure18	Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « érythromycine » dans le foie et les intestins des Bio-essais <i>Oreochromis ssp</i> traités.(après 48 h d'incubation).	47
Figure19	Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « SULFAMIDE » dans le foie et les intestins des Bio-essais <i>Oreochromis ssp</i> traités.(après 48 h d'incubation).	49

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre	page
Tableau 1	Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes physico-chimique et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale Stoltz, 2008).	9
Tableau 2	Barème de cotation de la fraîcheur de poisson selon la méthode de la France (Ifremer, 2009).	15
Tableau 3	Evaluation de la fraîcheur du poisson selon la méthode de l'Union Européenne	16
Tableau 4	Familles d'antibiotiques recherchées en fonction du micro- organisme, du pH du milieu, et de la solution d'antibiotique témoin.	26
Tableau 5	Préparation des solutions d'antibiotiques témoins.	31
Tableau 6	Résultats Morpho métrique et pondérale d' <i>Oreochromis ssp</i> (LT : Longueur totale ; WT : Poids totale).	35
Tableau 7	Résultat de l'examen pathologique des individus de O.ssp	36
Tableau 8	Barème de cotation de la fraîcheur d' <i>Oreochromis ssp</i> selon la méthode française	39
Tableau 9	Résultats de résidus d'antibiotiques « érythromycine » (méthodes microbiologique).	47
Tableau 10	Résultats de résidus d'antibiotiques « Sulfamide » (méthodes microbiologique).	49

INTRODUCTION

Nos océans et nos masses d'eaux continentales constituent une source vitale d'aliments nutritifs partout dans le monde. Les produits alimentaires d'origine aquatique comprennent un ensemble divers d'animaux, de plantes et de micro-organismes, chacun présentant des qualités et offrant des nutriments uniques, comme le fer, le zinc, le calcium, l'iode, les vitamines A, B12 et D, et les acides gras oméga 3. Les micronutriments apportés par la consommation d'animaux aquatiques présentent aussi l'avantage d'être hautement biodisponibles (WHO, 1985). De surcroît, certains micronutriments d'origine végétale – le fer et le zinc, par exemple – sont mieux assimilés lorsque les produits végétaux sont consommés en même temps que des produits animaux aquatiques (Barré et al., 2018). Enfin, la consommation de produits alimentaires aquatiques offre une plus grande durabilité, car la production de ces aliments a un impact sur l'environnement bien moindre que celle de la plupart des aliments issus d'animaux terrestres (Hilborn et al., 2018).

Depuis l'introduction de la notion de sécurité alimentaire en 1974, celle-ci a évolué, délaissant ses composantes quantitatives (qui mettent en avant la production et la quantité de nourriture) au profit de composantes qualitatives (qui insistent sur la qualité nutritionnelle et la sécurité sanitaire des aliments), intégrant des questions d'équité, à l'instar de précédents travaux sur l'accès et le droit humain à une nourriture suffisante (Sen, 1981) et sur les éléments d'agencité et de durabilité (HLPE, 2020). Jusqu'à récemment, les recommandations nutritionnelles de consommation d'aliments d'origine aquatique insistaient principalement sur le compromis entre les bienfaits nutritionnels et les préoccupations relatives à la sécurité sanitaire des aliments et à la bioaccumulation de contaminants et de polluants.

Le poisson est une denrée alimentaire très appréciée pour sa valeur gustative et nutritive. Il constitue une source précieuse de protéines aisément digestibles à valeur biologique élevée. Il est aussi un excellent vecteur d'oligo-éléments et de vitamines. Ce produit aquatique est une source riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne de la série n-3 et n-6 qui sont fortement recommandés en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Fiorella et al., 2018).

L'aquaculture mondiale est un secteur dynamique en plein essor. Contrairement à la pêche qui stagne autour de 90 millions de tonnes par an, l'aquaculture connaît une croissance annuelle de près de 8,6 %, ce qui est bien supérieur à la croissance de la production animale terrestre (FAO & WHO, 2020). L'Algérie se distingue parmi les pays méditerranéens par sa très faible production en produits de la pêche (< 3 million de tonnes).

Parmi les espèces de poissons dulcicoles introduites en Algérie, le Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) représente l'espèce de choix pour promouvoir l'aquaculture et prévoir un développement durable. Grâce à ses attributs, à savoir la rusticité, une reproduction facile et rapide en captivité, un régime alimentaire basique au niveau le plus bas de la chaîne alimentaire (phytoplancton et détritus) et une valeur gustative et nutritive intéressante (El-Sayed, 2006 ; Lazard, 2009). En outre, les filets du tilapia sont quasiment dépourvus d'arêtes, ce qui devrait séduire davantage les consommateurs. Cette espèce de poisson a fait ses preuves dans plusieurs pays du monde. Le groupe des tilapias se classe au deuxième rang après le groupe des carpes avec une production mondiale dépassant les 3,5 millions de tonnes en 2020 (FAO & WHO, 2020)

La tilapiculture a recourt aux médicaments vétérinaires à savoir les antibiotiques et les hormones. L'antibiothérapie demeure incontournable dans les élevages aquacoles et piscicoles pour limiter l'impact économique des bactérioses (Hernandez Seranno, 2014 ; Kümmerer, 2009). Les antibiotiques sont utilisés à titre préventif pendant les phases critiques (stades précoces, transferts des poissons) mais aussi chez des animaux en croissance (Nicolas et al., 2007). Il a été démontré que quelques antibiotiques, tel que la flavomycine, l'oxytétracycline et le florfenicol, ont été également utilisés comme des promoteurs de croissance chez le tilapia (He et al., 2010 ; Reda et al., 2013)

L'antibiothérapie est incriminée dans l'émergence de nouvelles souches bactériennes très résistantes en influençant la flore intestinale et en modifiant sa composition par inhibition sélective de composants déterminés, ou par sélection des micro-organismes résistants (Maghuin-Rogister, 2002).

Le secteur aquacole génère une antibiorésistance croisée, ce qui alarme et préoccupe les thérapeutes humains (Rolain, 2013). Les résidus d'antibiotiques peuvent aussi présenter des risques technologiques au niveau de la production alimentaire

(Sanz et al., 2010) et avoir un impact polluant sur l'environnement (Armstrong et al., 2005 ; Eurin et al., 2005).

Le poisson a la particularité d'être une denrée alimentaire hautement périssable (Gram & Huss, 1996). Immédiatement après sa mort (*post mortem*), le poisson subit un processus naturel et complexe de décomposition. Il est le résultat de la superposition de réactions chimiques, enzymatiques et bactériennes (Huss, 2004). Ce processus affecte la fraîcheur du poisson et entraîne une rapide altération des propriétés organoleptiques, une réduction de la valeur nutritive et la formation de substances toxiques.

Chez le tilapia, la charge bactérienne en surface (peau et branchies) ou dans les intestins d'un poisson fraîchement capturé est assez importante. Cependant, le système immunitaire maintient le muscle stérile chez le poisson vivant ou frais. Juste après la mort, ce système défensif s'effondre laissant place à l'invasion bactérienne (Leduc, 2011). Les bactéries pathogènes et l'altération envahissent les alvéoles des écailles avant de se proliférer dans les fibres musculaires. Le critère microbiologique de sécurité alimentaire ($6 \log_{10} \text{ cfu g}^{-1}$) (ICMSF, 1986) peut être rapidement dépassé en fonction de la durée et de la température de conservation.

À ce jour, à travers le monde, l'innocuité et la qualité des aliments constituent un sujet de préoccupation pour le consommateur.

Cependant les mesures de contrôle appliquées diffèrent d'un pays à l'autre. En effet, la prévalence des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale est inférieure à 1 % en Europe, alors qu'elle atteint 94 % dans certains pays africains (Mensah et al., 2014).

En Algérie, contrairement au contexte européen, la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale a rarement fait l'objet d'une attention sérieuse et peu de contrôles sont réalisés sur les circuits de distribution. La recherche de résidus n'a jamais été intégrée dans un véritable programme de surveillance jusqu'à l'avènement en 2013 d'un nouveau programme dénommé Programme algérien de surveillance des contaminants et des résidus dans les aliments (PASCRA) lancé par le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche et financé par l'Union européenne (Kebir, 2016).

En l'état actuel des connaissances, il n'y a pas de données nationales officielles disponibles sur la prévalence des résidus d'antibiotiques, leur consommation et leur usage ni sur les facteurs de risque au niveau des élevages. Cependant, de nombreuses études récentes ont fait état de résistances multiples aux antibiotiques chez les souches bactériennes isolées à partir des différentes espèces animales de production ([Guessoum, 2016](#), [Benamour et al 2018](#)).

Dans ce contexte, Le présent travail a pour objectif principal, l'évaluation de la qualité microbiologique de tilapia Hybride exposé à deux antibiotiques (érythromycine et sulfamide en premier lieu. La recherche et la quantification des résidus d'antibiotiques dans la chair des bio-essais traités en second.

1 Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques

La présence des résidus d'antibiotiques dans les denrées pose donc un véritable problème de santé. D'où la nécessité d'instaurer des plans de surveillance et de contrôle des denrées alimentaires d'origine animale. Des méthodes de leur détection, existent à cet effet et sont sans cesse améliorées pour les rendre plus fiables (Kantati, 2011). Ces méthodes peuvent être regroupées en deux catégories que sont les tests de dépistage et les tests de confirmation. (Tab.1).

2 Méthodes de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques

2.1 Méthode de détection biologique microbiologique

2.1.1 Méthode alternatives (Premitest)

Le Premitest est basé sur l'inhibition de la croissance du *Bacillus stearotherophilus*, bactérie très sensible à de nombreux antibiotiques et aux sulfamides. Des spores standardisées sont incluses dans de la gélose additionnée de nutriments sélectionnés. Couvrant une large gamme d'antibiotiques, le Premitest est un test rapide, sensible, fiable donne un résultat fiable en moins de quatre heures, prêt à l'emploi et d'un bon rapport coût/performance. Il permet de déterminer rapidement le devenir de la viande. (Anonyme3 f, 2006).

2.1.2 Méthodes de référence (méthodes des 4 boîtes)

Elle est basée sur l'inhibition de la croissance de bactéries du genre *Micrococcus luteus*, Bacilles subtilis. Elle est réalisée au moyen de boîtes de Pétri contenant une géloseensemencée avec la souche *Micrococcus luteus* ou la souche *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôts des échantillons (morceau de rein ou papier filtre imbibé d'exsudat de cortexrénal) sont révélatrices de la présence potentielle d'antibiotiques (Scippo, Maghuin-Rogister, 2006 ; Bertheet al, 2007).

2.2 Méthodes biochimiques

2.2.1 Méthodes enzymatique (Penzymtest)

L'enzyme (DD carboxypeptidase) ajouté dans l'échantillon, réagit lors de l'incubation avec les antibiotiques pour former un complexe stable.

L'excès d'enzyme libre toujours présent dans l'extrait de viande hydrolyse un substrat de type R-D-Ala-DAla. La D-Ala ainsi formée est oxydée en acide pyruvique par une D-amino-acide oxydase avec formation simultanée d'eau oxygénée. Cette dernière est utilisée pour oxyder, sous l'action d'une peroxydase, un indicateur organique redox non coloré (l'o-dianisidine) qui évoluera en un composé de couleur rose orange, (Maghuin Rogister *et al.*, 2001).

2.2.2 Méthodes sur tiges (le test beta star)

C'est un test du type Récepteur Assay. Il est basé sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il est très spécifique des Béta-lactamines (pénicillines et céphalosporines). Par contre, les concentrations élevées en résidus d'antibiotiques autres que les Béta-lactamines ont donné dans tous les cas des résultats positifs, (Maghuin-Rogister *et al.*, 2001 ; Scippo, 2008).

2.3 Méthodes immunologiques

2.3.1 Test RIA et du test RRA

Le test RIA est basé sur la compétition qui existe entre l'antibiotique marqué par un isotope et ce même antibiotique non marqué présent dans l'échantillon à doser, pour un récepteur bactérien. C'est à dire des bactéries porteuses de sites de liaisons spécifiques vis-à-vis de ces antibiotiques. Une variante du RIA est le RRA (Radiorécepteur Assay) qui recourt à des récepteurs pour la famille d'antibiotiques envisagée au lieu d'anticorps dans le RIA.

Les seuls récepteur assays qui sont couramment utilisés pour l'analyse des résidus d'antibiotiques, sont ceux développés par CHARM SCIENCES. Le kit appelé Charm II Receptor Assays permet de détecter les β -lactames, les stéತ್ರacyclines, les macrolides, les aminoglycosides et le chloramphénicol dans les échantillons de lait, de viandes, dans les œufs et dans les fluides biologiques. En général, les tests RRA sont spécifiques à

certaines familles d'antibiotiques et sont reproductibles mais ce type de test nécessite l'utilisation d'un compteur de rayons bêta ou gamma, (Maghuin-Rogisteret *al*, 2001).

2.3.2 Test ELISA

Le test ELISA, quant à lui, se base sur le même principe que le RIA mise à part le fait que le marquage est enzymatique au lieu d'être radioactif. Les tests ELISA disponibles dans le commerce sont entre autres : le LacTek β -lactam, le Cite Probe et le Delvo test. Les résultats finaux obtenus sont basés sur un changement de couleur (Maghuin-Rogisteret *al*, 2001).

3 Méthodes de confirmation et de quantification

3.1 Méthodes Chromatographiques

3.1.1 Chromatographie:

La chromatographie repose sur une succession de cycles d'adsorption/désorption (équilibres dynamiques de concentration) des divers solutés présents dans le mélange entre deux phases non miscibles, (Anonyme1 c, 2007).

- Une phase stationnaire fixe (Stat): particules solides finement divisées modifiées en surface contenues dans une colonne, ou molécules greffées directement sur la paroi interne de la colonne.
- Une phase mobile (Mob): phase liquide ou phase gazeuse, qui entraîne les solutés au travers de la phase stationnaire.
- Les solutés migrent au travers de la colonne sous des effets antagonistes, (Anonyme7b, 2008):
- Effet d'entraînement des solutés par la phase mobile qui s'écoule au travers de la phase stationnaire.
- Effet de rétention des solutés par la phase stationnaire (adsorption réversible, interactions moléculaires, polaires, ioniques, diffusion).

En fonction de l'affinité de chacun des solutés vis-à-vis des phases mobiles et stationnaires, chaque soluté aura une vitesse de migration différente lors de son passage au

travers de la colonne. Les solutés du mélange sont donc progressivement séparés, (Lavallaz Et Délétroz,1994 ; Anonyme1 b, 2007).

3.1.2 Buts de la chromatographie:

On peut distinguer deux objectifs principaux:

3.1.21 Objectif Analytique

Il s'agit d'identifier des solutés qualitativement et/ou quantitativement, l'opération se faisant par le seul processus chromatographique, au quel peuvent être associées, en passage direct, d'autres techniques analytiques chimiques ou physico-chimiques destinées à faciliter l'analyse qualitative (on qualifie cela de couplage). Les quantités analysées doivent être extrêmement minimales afin de ne pas s'écarter des règles d'idéalité de la thermodynamique (le coefficient de partage n'est autre qu'une constante d'équilibre thermodynamique, où les activités intervenantes ne sont égales aux concentrations que si elles sont très faibles). Les systèmes de détection devront donc être très sensibles, (Anonyme3 b, 2006).

3.1.2.2 Objectif Préparatif

Les concentrations des solutés sont ici importantes et on travaille hors des règles d'idéalité thermodynamiques. Les quantités produites demeurent cependant faibles (de l'ordre du μg / jour) et le procédé ne sera utilisé que pour préparer des substances rares, sensibles à la chaleur (protéines, etc.), (Anonyme3 b, 2006).

3.2 Méthodes spectro métrique (spectro métrie de masse (SM))

3.2.1 Principe de la SM

Le spectrographe de masse consiste à ioniser par des électrons une molécule A. Celle-ci va donc donner une entité A^+ ayant perdu un électron. A^+ va pouvoir se scinder en plusieurs groupements (chargé + ou non) plus petits, ou bien se réarranger. On accélère alors ces particules par un champ électrique, puis elles sont déviées par un champ magnétique.

Un spectrographe de masse dans le quel on ne modifie aucun paramètre ne va pouvoir être étalonné. Il sera étalonné en masses molaires, puisque est constant. Le nombre de molécules aura une incidence sur la plaque sensible du détecteur: plus nombreux sont les ions d'un type donné, plus intense sera la tache obtenue. Actuellement, les détecteurs informatisés permettent d'obtenir directement un spectre étalé, (Anonyme8,2001).

Tableau 1: Comparaison entre les méthodes bactériennes et les méthodes physico-chimique et immunologiques pour la recherche des résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale (Stoltz, 2008).

	Méthodes bactériennes	Méthodes physico-chimiques et immunologiques
Principe	-Mise en évidence du pouvoir d'inhibition de la croissance des Souches sélectionnées	Dosage des molécules(résidus)
Les différentes méthodes	Méthode officielle des quatre boîtes Méthode des trois boîtes Le«Fast antibiotics creentest» Le PremiTest Le Delvotest Le CopantestPetS100 LeValioT101	Spectrométrie de masse Chromatographie en phase liquide Chromatographie en phase gazeuse Chromatographie en couche mince La méthode E.L.I.S.A Tests enzymatiques: exemple: le Penzym Tests immuno-enzymatiques
Particularités	-Large spectre de recherche de molécule antibiotique -Première étape des plans de contrôle -Utilisées quand l'antibiotique est Inconnu	-Grande variabilité des seuils de détection -Utilisées pour doser un antibiotique connu

1 Origine et Échantillonnage des poissons vivants « Tilapia »

Le travail a été réalisé sur des poissons pêchés au niveau de la ferme aquacole AQUA IZAK wilaya de Biskra, Algérie.

Les individus de Tilapia (60 individus) ont été récupérés vivants en mois de février 2022. Nous avons identifié l'espèce et le sex-ratio à l'aide des clés d'identification (FAO, 2000). Les spécimens de *Oreochromis ssp* sont majoritairement des mâles. (Fig.1)



Figure 1: l'arrivée des échantillons au laboratoire (SNV-université du 20 août 1955-Skikda)

2 Travaux réalisés au laboratoire

2.1 Aquari- expérimentale

À l'arrivée des poissons au laboratoire (SNV- université du 20 août 1955-Skikda), les poissons sont conservés vivants dans deux (02) aquariums remplis d'eau du lac (photo-période) pour une acclimatation et anti-stress des bio-éssais pendant 24h, en assurant l'oxygénation continue à l'aide des barboteurs électriques. (Fig.2).



Figure 2 : Aqua-expérimentale au laboratoire (SNV-université du 20 août 1955-Skikda).

Après l'acclimations des individus nous avons adopté une méthode (Écotoxicologie Microbienne), ou nous avons soumis nos individus à une antibiothérapie, en premier lieu par l'érythromycine en cinq doses (0,3, 1,7,10, 60et 300ug/l)par balnéation pendant dix (10) jours, par la suite les sulfamides par voie orale de l'ordre de 0,1 g/jours pendant trois (03) jours, tout en gardant un aquarium témoin, notre équipe s'intéresse uniquement aux analyses microbiologiques :

1. Un contrôle macroscopique quotidien des poissons d'aquarium
2. Un prélèvement quotidien des paramètres physico-chimiques de l'eau des aquariums
3. Après euthanasier, un contrôle de qualité microbiologique alimentaire des individus et un dépistage des résidus d'antibiotiques des 06 aquariums. Tous les individus sont conservé dans des sac stérile (**Fig3**).

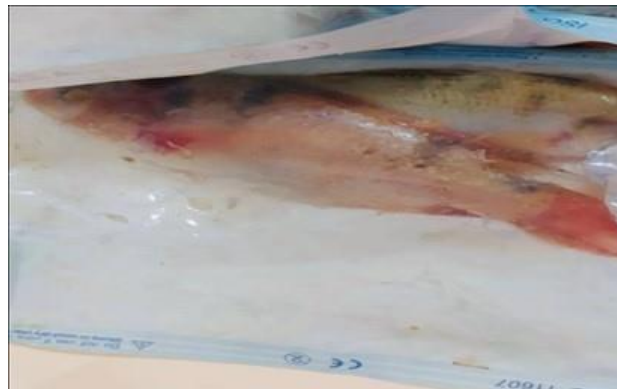


Figure 3:Conservation des spécimens dans des sacs stériles (Laboratoire université de Skikda).

2.2 Caractères morphométriques & évaluation de la mensuration

Les mesures ont été prises à l'aide d'un Ichthyomètre. Les mesures suivantes ont été prises pour chaque animal (**Fig. 4**):

- Longueur Totale (LT) : mesure de la distance entre l'extrémité crâniale du museau et l'extrémité caudale de l'un des lobes de la nageoire caudale. Pour cette mesure, la carpe doit être disposée en extension, appareil buccal pro tracteur en extension ;

- Longueur Standard (LS) : mesure de la distance entre l'extrémité crâniale du museau et l'extrémité du pédoncule caudal ;

- Hauteur Maximale du corps (HM) : mesure entre le contour dorsal et le contour ventral du corps. La carpe est disposée de profil et la mesure se réalise perpendiculairement à l'insertion du premier rayon de la nageoire dorsale ;

- Hauteur minimale du corps (Hm) : mesure de la largeur du pédoncule caudal de l'animal

- Tronc (TRC) : mesure entre la base de l'opercule jusqu'aux papilles génitales. Un ensemble de mensuration sur les caractères morphologiques et de prises de poids ont été effectuées.

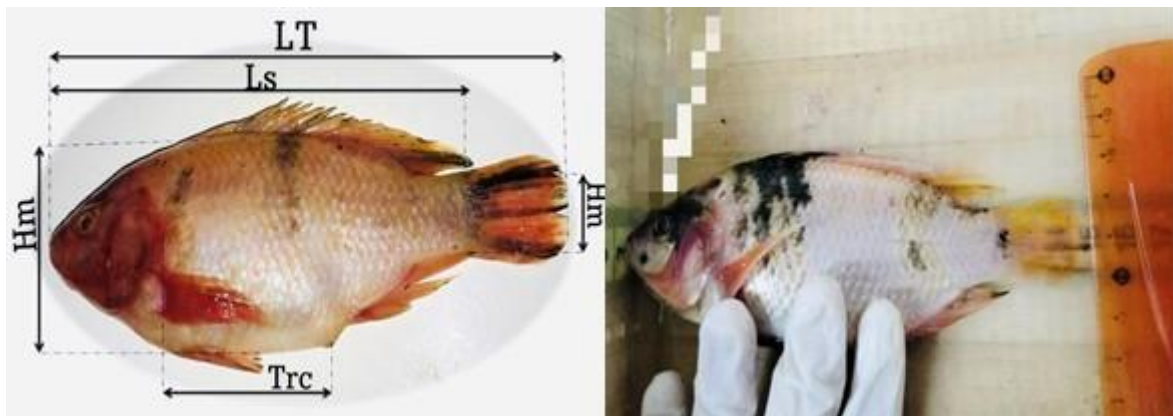


Figure 4: Détails des différentes mensurations faites sur tilapia *Oreochromis ssp* (à droite cliché personnelle)

2.3 Caractère pondérale

Les pesés ont été effectués par une balance de précision, Il s'agit du Poids total (Wt) (**Fig. 5**).



Figure 5 :Mesure pondérale de *oreochromis* vivant(clichés personnel au laboratoire SNV- université du 20 août 1955-Skikda).

2.4 Examen macroscopique des poissons

L'observation des anomalies externes s'effectue déjà sur le milieu au moment de la campagne, en tenant compte d'en oublier aucune partie du corps, telles que : la couleur du corps, l'exophtalmie, les écailles, présence ou non d'hémorragie, les lésions...etc. En parallèle, des photographies de chaque cas d'anomalies ont été prises, à l'aide d'un téléphone de marque Redmi note 8 avec une caméra arrière d'une résolution de 48 méga pixels.

Cette opération est indispensable pour éviter les processus inflammatoires qui rendent le diagnostic incertain ou impossible, c'est d'ailleurs pourquoi nous avons veillé au transport des poissons vivants jusqu'au laboratoire.

Une fois arrivée au laboratoire, un deuxième examen des anomalies citées plus haut se réalise afin de s'assurer des notes prises et de l'état réel des individus transportés. Cependant, comme le poisson est examiné juste après l'avoir sacrifié, alors aucun changement d'état n'a été enregistré durant la période d'étude.

2.5 Évaluation de la fraîcheur des poissons

L'examen organoleptique chiffrés ou objectifs. La méthode organoleptique chiffrée a été mise au point sur les bases de l'examen organoleptique simple et de l'exploitation statistique des résultats d'observation. Elle résume une série d'appréciations subjectives par une note chiffrée qui reflétera l'état d'altération ou de fraîcheur du poisson observe.

Par le nombre élevé de caractères appréciés, elle assure une bonne objectivité des résultats (signification indépendante des espèces).

a) Le principe est le suivant : Décrire l'évolution des caractères les plus représentatifs dont le nombre varie en fonction des pays et de la présentation du poisson. Ex : France: 13 caractères (Tableau 2) ; CEE : 10 caractères (**Tab 2**).

b) Coter ou attribuer une note chiffrée (1 à 5 sauf pour la pigmentation, 0 à 6 pour l'odeur et la saveur) à chacun de ces caractères correspondant à un degré :

☉ L'altération croissante dans le système français (0 = frais ; 6 = altéré) ;
soit une échelle de 0 à 6

☉ Fraîcheur croissante dans le système de l'Union Européenne avec une
échelle de 0 à 3 (0 = altéré ou non admis, 3 = Extra).

Au Canada, l'échelle va aussi de 0 à 3 ; au Danemark de 0 à 10 ; en Norvège de 0 à 5.

c) Calcul de la moyenne arithmétique des notes attribuées (côtes d'appréciation ou barème de cotation) qui résumera l'examen organoleptique ou sensoriel portant sur l'ensemble des caractères observés à un moment donné. La valeur moyenne correspond à l'indice (I) :

☉ L'altération (France) :

- Poissons frais : $0 < I < 1,5$
- Poissons en bon état : $1 < I < 2,3$
- Poissons à consommer dans la journée : $2,5 < I < 3$

☉ Ou de fraîcheur (Union Européenne), Règlement 33 / 89 du 05.01. 1989

- Poisson extra: $I = 3$ (cote 3) ($I > 2, 7$)
- Poisson A: $I = 2$ (cote 2) ($2 > I > 2, 7$)
- Poisson B: $I = 1$ (cote 1) ($1 > I > 2$)
- Poissons non admis : $I = 0$ (cote 0) ($I < 1$)

Pour être plus fiable, l'examen organoleptique chiffré doit être réalisé au moins par deux personnes (optimum 5 à 10 poissons) et que celles-ci soient toujours les mêmes.

Le barème de cotation rend plus objective la méthode organoleptique simple. Elle est facilement mise en œuvre par un personnel entraine ([Boucharel, 2012](#)). (**Tab.03**).

Tableau 2: Barème de cotation de la fraîcheur de poisson selon la méthode de la France(Ifremer, 2009).

Caractères observés sur les poissons		N° des caractères	Appréciation organoleptiques des caractères et cotation									
			0	1		2	3	4	5	6		
Examen à l'état cru	Examen externe	Peau	Mucus	I	Transparent coté 1		Laiteux	Opaque	Grumeleux	Jaunâtre coté 5		
			Pigmentation	II	Irisée	Couleur chatoyante	Couleurs vives	Couleurs ternies	Terne	Décoloré	Grisâtre	
	Œil	Teinte	III	Pupille noire brillante coté		Pupille plus terne cornée transparente	Cornée opalescente	Pupille grise cornée laiteuse	Blanchâtre coté 5			
		Affaissement	IV	Bombé coté 1		Un peu affaissé	Plat	Concave au centre	Très concave coté 5			
	Branchies	Teinte	V	Colorée brillante coté 1		Moins colorée mate	Se décolore	Jaunâtre	Grisâtre coté 5			
		Odeur	VI	Spécifique	Neutre	Douceâtre	Faiblement rance	Légèrement putride	Putride (Sulfatée ou ammoniacale)	Fétide		
	Rigidité	Chair	VII	Ferme coté 1		Elastique	Souple	Molle	Flasque coté 5			
		Paroi abdominale	VIII	Intacte coté 1		Détendue	Molle	Fragile	Perforée coté 5			
	Examen interne	Péritoine		IX	Adhérent coté 1		Non adhérent	Déchiré	Détérioré	Lysé coté 5		
		Colonne vertébrale	Couleur de la chair	X	Même teinte que la chair avoisinante coté 1			Rose	Rouge	Brune coté 5		
			Adhérence à la chair	XI	La colonne se brise au lieu de se détacher coté 1		Nettement adhérente	Non adhérente coté 4		Colonne se détache facilement coté 5		
Examen après cuisson	Odeur		XII	Algue marine ou spécifique	Neutre	Faible ou désagréable	Aigre (Acide lactique)	Plus ou moins sulfateuse	Ammoniacale		Putride	
	Saveur		XIII	spécifique	spécifique renforcée	spécifique atténuée	Papier mâché	Douceâtre un peu amère	Amère, sulfurée ou ammoniacale		Nauséuse	

Tableau 3: Évaluation de la fraîcheur du poisson selon la méthode de l'Union Européenne

CATEGORIE DE FRAICHEUR				
1. <u>Aspect</u>	EXTRA (cote3)	A (cote2)	B (cote 1)	Non admis (cote0)
1.1 Peau	Pigmentation vive Chatoyante, pas de décoloration Mucus aqueux, transparent	Pigmentation vive mais sans lustre Mucus légèrement trouble	Pigmentation en voie de décoloration et ternie Mucus opaque	Pigmentation terne Mucus laiteux
1.2 œil	Convexe (bombé) Corné transparent Pupille noire, brillante	Convexe légèrement affaissé Cornée légèrement opalescente Pupille noire, ternie	Plat Cornée opalescente Pupille opaque	Concave au centre * Cornée laiteuse Pupille grise
1.3 Branchies	Couleur brillante, pas de mucus	Moins colores, traces légères de mucus clair	Mucus opaque	Mucus laiteux
1.4 chair (coupe dans l'abdomen)	Bleuâtre, translucide, lisse brillante sans aucun changement de coloration originale	Veloutée, cireuse, feutrée Couleur légèrement modifiée	Légèrement Opaque	Opaque *
1.5 couleur le long de la C.V	Pas de coloration	Légèrement rose	Rose	Rouge*
1.6 Organes	Reins, résidus d'autres organes rouge-brillants, de même que le sang à l'intérieur de l'aorte	Reins, résidus d'autres organes mats, sang se décolorant	Reins, résidus d'autres organes et sang rouge Pâle	Reins, résidus d'autres organes et sans brunâtre
2. Etat 2.1 chair	Ferme et élastique Surface lisse	Elasticité, diminuée	Légèrement flasque (molle), élasticité diminuée. Surface cireuse (veloutée) et Ternie	Molle (flasque)* Ecailles se détachant de la peau, surface Granuleuse
2.2 C.V	Se brise au lieu de se détacher	Adhérente	Peu adhérente	Non adhérente
2.3 Péritoine	Adhérent totalement à la chair	Adhérente	Peu adhérente	Non adhérente
3. Odeur 3.1 Branchies, peau, cavité abdominale	Algue marine	Ni d'algue, ni mauvaise	Légèrement putride, aigre	Putride, aigre*

Dès l'arrivée des bio-essais, nous avons réalisé l'évaluation de la fraîcheur du poisson. Nous avons adopté la méthode chiffrée ou objective utilisant le barème de cotation de la méthode française pour déterminer l'indice d'altération.

Dans l'examen 8 caractères sont considérés, chaque caractère est examiné puis une note est attribuée selon le barème de cotation de la France. La moyenne arithmétique des notes attribuées donne l'indice d'altération (I). (équation 1).

$$\text{Donc : } I = \frac{(\text{Sigma des } i)}{(N)}$$

Avec :

i= note attribué pour chaque caractère

N= nombre de caractères

La pièce peut être considérée comme fraîche, si elle réunit des critères typiques. Dans la pratique, l'inspection du poisson se fait macroscopiquement en étudiant les divers caractères qui intéressent l'aspect, le corps et les sécrétions, l'état des écailles, de la peau, de l'œil, de l'opercule, des branchies, de l'abdomen, du péritoine, des côtes, l'odeur dégagée.

☉ **Le corps** : rigide, le tissu musculaire ferme et en même temps élastique (ne garde pas l'empreinte du doigt).

☉ **L'odeur** : légère et agréable caractéristique de l'espèce, rappelant algues marine ou vase pour poisson de l'eau douce

☉ **L'aspect général** : révèle un éclat métallique, brillant et généralement de couleur vive.

☉ **Les sécrétions cutanées** : les sécrétions cutanées le rendent légèrement humide mais elles ne sont pas visibles, et le mucus est transparent.

☉ **La peau** : la peau est adhérente au tissu sous-jacent, pas de déchirure.

☉ **Les écailles** : brillantes, bien réunies les unes aux autres, adhèrent fortement à la peau.

☉ **L'œil** : l'œil est clair, vif, brillant, il remplit bien l'orbite, la cornée est convexe et transparente, la pupille est noire et ne doit jamais être tachée de sang.

☉ **Les branchies** : elles sont humides, luisantes, rose ou rouge brillant.

☉ **L'abdomen** : ne doit pas être gonflé, ni tendu, ni perforé.

Ⓢ **Le péritoine** : adhère bien à la cavité abdominale, les viscères sont lisses et brillants.

Ⓢ **Les côtes et la colonne vertébrale** : sont adhérentes, la colonne vertébrale ne doit pouvoir se détacher qu'avec difficulté, il ne doit pas y avoir de sang extravasé autour de l'arête médiane, dans la région comprise entre les reins et la queue.

2.6 Contrôle de qualité microbiologique alimentaire

Cette opération s'est effectuée au laboratoire privé d'essai et d'analyse de qualité de la wilaya de Skikda

2.6.1 Matériel de Laboratoire

Il s'agit du matériel classique des analyses microbiologiques du laboratoire, Il comprend plusieurs éléments :

Ⓢ **Milieux de culture et réactifs** : milieux de culture (Chapman, Hektoen, Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre(VRBG), viande foie(VF), Giolitti Contoni, Plate Count Agar (PCA), gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), eau physiologique(EP), eau peptoné tamponnée(EPT), bouillon SFB, alun de fer et sulfite de sodium.

Ⓢ **Matériel de stérilisation** :four Pasteur, incubateurs à 30°C, 37°C et 44°C, autoclave, bec bunsen.

Ⓢ **Matériel de broyage** :Stomacher et mixeur.

Ⓢ **Verrerie**: boîtes de pétri, tubes à hémolyse, tubes à essais, pipettes pasteur, éprouvettes, bécher.

Ⓢ **Matériel pour la coloration de Gram** :lame, lamelle, violet de Gentiane, la fushine, Lugol,alcool, eau distillée.

Ⓢ **Test catalase** :eau oxygénée et lame.

Ⓢ **Divers**: balance de précision, pinces, ciseaux, microscope optique, anse de platine ...etc.

2.6.2 Méthodes d'analyses :

Les analyses microbiologiques ont été effectuées dans des conditions aseptiques avec un matériel stérile conforme à la norme (ISO 7218) de microbiologie alimentaire. La prise d'essai des produits de la mer est conforme à ce qui est préconisé dans la norme ISO 6887 pour la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

2.6.2.1 Protocole d'analyse

L'analyse microbiologique est basée sur les techniques d'isolement et l'identification (aspect qualitatif) et de dénombrement (aspect quantitatif).

☉ **Prise d'essai**

De chaque unité et à l'aide d'un scalpel, on prélève 10 g de la masse musculaire. Ce prélèvement est placé immédiatement dans un sac en plastique ligaturé, auquel est ajouté 90 ml de la solution tryptone-sel-eau (TSE).

Après avoir homogénéisé nos échantillons à l'aide d'un agitateur « Stomacher », on passe ensuite au temps de revivification qui est de 20 à 30 mn à la température ambiante (J.O.R.A., 2017).

☉ **Préparation des dilutions :**

La préparation des dilutions allant de 10⁻¹ à 10⁻³ en procédant au changement des pipettes à chaque dilution se fait comme suit :

On prélève 1 ml de l'échantillon pour essai à l'aide d'une pipette, et est ajouté 9 ml de diluant(TSE). Après agitation, on prend 1 ml de la première dilution à 10⁻¹ auquel on ajoute 9 ml de(TSE) pour obtenir la dilution à 10⁻² et on répète l'opération pour la dernière dilution à 10⁻³.

Selon l'arrêté interministériel du 08 Chaoual 1438 correspondant au 02 juillet 2017 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ([JORADP 2017](#)), les germes recherchés chez : les Poissons crus sont les suivants : coliformes fécaux : E. coli, Salmonella, germes aérobies à 30°C, Staphylococcus aureus.

Cet arrêté nous incite à dénombrer toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes (utilisation des milieux de culture solides) en multipliant toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution et l'inverse de la solution mère. Le résultat est exprimé alors en nombre de germes/gramme.

☉ **Dénombrement des germes**

a) **Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C (FTAM)**

À partir des dilutions décimales de 10⁻³ à 10⁻¹ ; 1 ml est déposé dans chaque boîte de Pétri numérotée successivement, auquel on joute 20 ml du milieu Agar glucose à la peptone de

caséine et à l'extrait de levure (PCA). Après l'homogénéisation, on laisse le milieu se solidifier puis on rajoute 5 ml de la même gélose, et on incube les boîtes à 30°C pendant 3 jours.

🌀 **Lecture** :Après la période d'incubation spécifiée, on procède, à l'aide du compteur, à la numération des colonies pour chaque boîte. Une première lecture se fera à 24 h, une seconde à 48 h et une dernière à 72 h (les colonies se présentent sous forme lenticulaire en masse).

b) Recherche et dénombrement des Coliformes Thermotolérants

On Inoculer aseptiquement les boîtes de pétri avec 1 ml des différentes dilutions (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), l'inoculum est déposé gouttes à gouttes sur toutes la surface de la boîte. On y coule deux couches de VRBL. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires des boîtes. Les boîtes sont incubées à couvercle en bas à 44c°.

🌀 **Lecture** : Le comptage se fait après 48 heures, les colonies de coliformes fécaux apparaissent rouges foncées.

c) Recherche de *Staphylococcus aureus*

À partir des trois dilutions on porte 1 ml dans des tubes contenant 15 ml du milieu d'enrichissement GIOLITTI CANTONI ensuite on incube à 37°C pendant 48h.

La présence d'un noircissement conduit à un isolement sur milieu CHAPMAN à l'aide d'un ose, l'incubation se fait à 37°C pendant 48h, et la confirmation de pathogénicité par la recherche de la coagulase.

🌀 **Lecture** :

○ **Sur CHAPMAN** *Staphylococcus aureus* se présente sous forme de colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune.

○ **Sur BAIRD PARKER**, elle se caractérise par la formation de colonies noires, brillantes convexes, entourées d'un halo d'éclaircissement.

La confirmation de la présence de *Staphylococcus aureus* isolés est mis en évidence par le test de la catalase, la coloration de Gram et de la coagulase.

d) Recherche de *Salmonella* :

La recherche de Salmonelles s'effectue classiquement selon un schéma comportant trois étapes : Le pré-enrichissement, l'enrichissement, et l'isolement. Dans le cas où les résultats sont positifs on passe à l'identification biochimique.

Ⓢ **Pré-enrichissement** La préparation de la solution mère s'effectue à l'aide d'eau peptonée tamponné (EPT) :

Un volume de 225 ml d'EPT est versé dans le sac de Stomacher stérile contenant 25 g de l'échantillon, le sac est placé dans l'appareil Stomacher pour effectuer l'étape de broyage pendant 1 minute, cette étape permet de faire passer les microorganismes en solution. La solution ainsi obtenue est versée précautionneusement dans un flacon stérile qui sera mis à incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Cette phase vise à permettre aux bactéries lésées (ou stressées) de récupérer leur stabilité.

Ⓢ **Enrichissement**

Après cette première étape, 100 ml de la solution mère sont ensemencés un bouillon SFB double/concentration additionné de 20 disques de sélénite. Le tube est ensuite incubé pendant 24 heures à 37°C.

Ⓢ **Isolement**

Nous allons donc ensemencer le milieu Hektoen à partir des bouillons d'enrichissement. L'ensemencement se fait d'après la méthode des cadrans. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. (Norme ISO 6579/A1 : juillet 2007).

Ⓢ **Lecture**

Avec le milieu Hektoen les salmonelles prennent une couleur bleu-vert pouvant avoir un centre noir. Si on obtient ces résultats on doit passer à la quatrième étape confirmative car le milieu d'isolement n'est pas totalement sélectif et on peut trouver aussi d'autres germes.

Ⓢ **Dénombrement** des UFC colonies :

Après la période d'incubation mentionnée dans la norme spécifique à chaque germe, on procède au comptage des colonies caractéristiques pour chaque boîte contenant moins de 300 colonies et 15 colonies au minimum ou tout autre nombre indiqué dans la norme concernant chaque germe.

Le nombre N de germes présents dans l'échantillon analysé et considéré comme une moyenne pondérale de dilution successive est donné par la formule suivante :

$$N = \frac{(C1 + C2)}{(V \times (n1 + 0,1 \times n2) \times d)}$$

N : Nombre de germes en UFC/ml.

C1 : Nombre de colonies sur la 1^{ère} boîte retenue.

C2 : Nombre de colonies sur la 2^{ème} boîte retenue.

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en ml.

n₁ : Nombre de boîtes retenues à la 1^{ère} dilution.

n₂ : Nombre de boîtes retenues à la 2^{ème} dilution.

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

2.6.3 Interprétation des résultats de la qualité microbiologique

L'interprétation des résultats a été effectuée selon la réglementation en vigueur (*Journal Officiel de la république Algérienne*, n°39, 2017) (Voir annexe), qui nous a permis de fixer trois classes de contamination, à savoir :

- ☉ **Classe 1** : Celle inférieure ou égale au critère « m » ;
- ☉ **Classe 2** : Celle comprise entre le critère « m » et le seuil « M » ;
- ☉ **Classe 3** : Celle supérieure au seuil « M ».

Tout en sachant que :

☉ « m » est le seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants ;

☉ « M » est le seuil limite d'acceptabilité, au-delà duquel les résultats ne sont pas considérés comme satisfaisants, selon le mode de calcul suivant :

$$M = 10 \times m : \text{lors du dénombrement effectué en milieu solide .}$$

2.7 Les analyses bactériologiques de l'eau d'aquarium

Nous avons effectué l'étude des paramètres bactériologique de l'eau d'élevage dans les cas de mortalités par la méthode du nombre le plus probable (NPP, série de trois tubes) pour la recherche des germes de contamination (coliforme totaux, les coliformes thermotolérants, streptocoque fécaux, *Escherichia coli*).

2.7.1 La recherche et dénombrement des *coliformes totaux*, *coliformes fécaux* et *Escherichia*

☉ Mode d'emploi

La numération des coliformes totaux et des coliformes fécaux a été réalisée par la méthode ISO 9308-2 de détermination du nombre le plus probable (NPP) par inoculation de tubes en milieux liquides. Dans la première phase d'inoculation, neuf tubes remplis (9ml) avec

le milieu bouillon lactose pourpre de bromocrésol (BCPL) à différentes concentrations ont été utilisés. Neuf tubes étaient à simple concentration. 10 ml, 1 ml, 0,1 ml de la solution mère ont été additionnés, respectivement, aux neuf tubes à simple concentration, de la 2eme série et aux trois tubes à simple concentration restante. (Fig.6).

Les tubes ont été ensuite homogénéisés, le gaz a été chassé dans les cloches de Durham et par la suite ils ont été incubés 37 C° du 24 h à 48h (ISO 9308-2).



Figure 6:Le milieu BCPL et les différentes concentration (10ml , 1ml, 0,1 ml de l'eau des 06 aquariums expérimentaux).

🌀 Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement de gaz (recueilli dans les cloches).
- Un virage de couleur du milieu au jaune (témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation de lactose dans les conditions opératoires décrites. La lecture finale se fait selon la prescription de la table de Mac grady.(Fig.7).



Figure 7: Virage de couleur de milieu BCPL vers le jaune..

⊗ Test de confirmation

La numération des coliformes fécaux (désigne aussi les coliformes thermotolérants) est une étape subséquente à la précédente (repiquage sur milieu de confirmation). À partir des tubes positifs du test précédent, 1ml a été prélevé,ensemencé dans 9ml de milieu Schubert stérile et incubé 24 heures à 44 C°.

⊗ lecture

Ils sont considérés comme positifs les tubes présentant un anneau rouge en surface du tube qui témoigne de la production d'indol dans le milieu après ajout de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs. Le tube de Mac Gradey a été utilisé pour le dénombrement des troubles formant colonies ou TFC.

2.7.2 Les streptocoques fécaux ou thermotolérants (ISO7899-1)

⊗ Test de présomption

Ils ont été dénombrés selon la méthode ISO 7899-1. Dans un premier test présomptif, 1ml de la suspension mère et des dilutions décimales ont été ensemencé dans 9ml du milieu de Roth (tubes contenant de l'azoture de sodium (NaN₃) qui inhibe la plupart des microorganismes) et incubés à 37 C° pendant 24heures à 48 heures.(Fig.8)



Figure 8: Milieu Roth simple concentration (10ml, 1 ml , 0,1 ml de l'échantillon des eaux des aquariums expérimentaux.)

🌀 **lecture**

Les tubes positifs se manifestent par un virage de couleur et un trouble bactérien.

🌀 **Test de confirmation**

Les tubes positifs sont repiqués sur le milieu EVA LITSKY et incubé à 37°C pendant 24 heures.

🌀 **lecture**

Les tubes sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble bactérien avec parfois formation de culot violet. Les résultats ont été exprimés par le NPP dans 100ml selon la table de Mac-Grady.

3 Méthode de détection des résidus d'antibiotiques

La Méthode utilisée pour la détection des résidus des substances à activité antibiotique dans les muscles est la méthode microbiologique des quatre boîtes. Elle est applicable aux muscles d'animaux de boucherie et volailles, foie et palmipède des gras (Gaudinet *al.*,2006).

3.1 Principe

La méthode des quatre boîtes nécessite l'application d'une technique de diffusion sur gélose. Principales étapes de cette méthode sont:

L'ensemencement d'un microorganisme test sensible aux substances à activité antibiotique dans un milieu nutritif solide coulé en boîte de Pétri (*Bacillus subtilis* à Ph 6.0-7.2- 8.0et *Micrococcus luteus* à pH8.0).

On incorpore du triméthoprimé dans le milieu à pH 7.2 pour augmenter la sensibilité du test en ce qui concerne la détection de résidus des sulfamides.

Le dépôt sur la surface du milieu ensemencé, d'une rondelle de muscle congelé, suivi d'une incubation à la température optimale de développement du micro-organisme test.

Les substances à activité antibiotique éventuellement présentes, inhibent la croissance du microorganisme test .Il en résulte une zone d'inhibition autour de l'échantillon. Sont considérés comme contenant des résidus de substances à activité antibiotique, les échantillons trouvés positifs par l'une au moins des quatre familles recherchées (Gaudinet *al.*,2006).

3.1.1 Familles d'antibiotiques recherchées

Les deux microorganismes tests permettent la détection des résidus d'antibiotiques selon le pH du milieu et l'antibiotique témoin (Tableau 4).

Tableau 4: Familles d'antibiotiques recherchées en fonction du micro- organisme, du pH du milieu, et de la solution d'antibiotique témoin.

Famille d'antibiotique recherchée	Microorganisme test	pH du milieu	L'antibiotique témoin
B-lactamines tétracyclines	<i>Bacillus subtilis</i>	6,0	Pénicilline G sodique
Sulfamides		7,2	Sulfadimérazine triméthoprimé
Aminosides		8,0	Dihydro- sterptomycine
B-lactamines macrolides	<i>Micrococcus luteus</i>	8,0	Erythromycine

3.1.2 L'application

3.1.2.1 Remise en activité des microorganismes tests (revivification de *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*)

A fin de revivifier les micro-organismes test on inocule le BHIB contenu dans 2 tubes à vis avec *Bacillus subtilis* ou *Micrococcus luteus* puis on incube:

- À 30°C pendant 18 à 24h pour *Bacillus subtilis*.
- À 37°C pendant 18 à 24h pour *Micrococcus luteus*.

Il faut une suspension fraîche à chaque fois que l'on prépare de nouvelles boîtes de pétri.

3.1.2.2 Préparation de l'inoculum des souches tests

La préparation de la série des dilutions pour les souches tests est effectuée à partir du BHIB ensemencé avec la souche test.

On prend 7 tubes à vis et à l'aide d'une pipette graduée stérile on verse 4.5 ml d'eau physiologique dans chaque tube. **(Fig.09)**.

On prélève, à l'aide d'une pipette graduée stérile, 0.5ml de l'une des 2 cultures précédentes qu'on verse dans un tube à vis pour obtenir une dilution de 10^{-1} , à partir de ce tube on prélève 0.5ml qu'on verse dans le deuxième tube à vis afin d'obtenir la dilution de 10^{-2} et on répète l'opération jusqu'à l'obtention de la dilution de 10^{-7} .

On prélève de chaque dilution 1 ml qu'on verse dans une boîte de Pétri sur laquelle on a mentionné : le milieu de culture, la dilution, la température d'incubation, le microorganisme test utilisée et l'antibiotique témoin.

On verse le milieu de culture MH préalablement fondu dans ces boîtes de Pétri

Puis on incube:

- à 30°C pendant 18 à 24h les boîtes contenant *Bacillus subtilis*.
- à 37°C pendant 18 à 24h les boîtes contenant *Micrococcus luteus*.

Après incubation, on procède à la comparaison des résultats obtenus. La dilution qui nous a permis de mettre en valeur les zones d'inhibitions des solutions d'antibiotiques témoins est la dilution 10^{-2} , Cette dilution est la culture d'épreuve qui servira à inoculer les géloses est agar (Fig9).

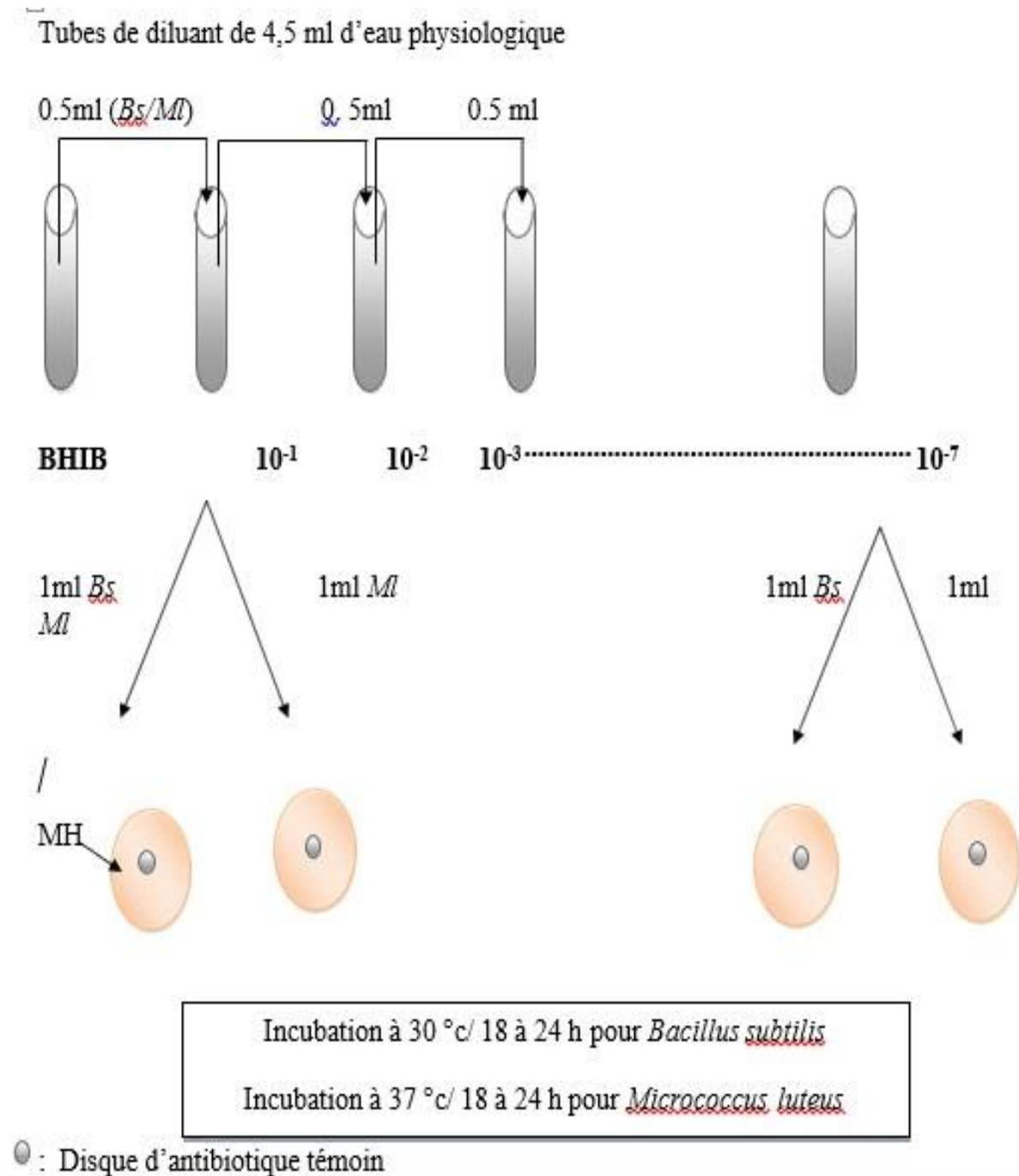


Figure 9:Préparation de l'inoculum des souches tests.

3.1.2.3 Préparation des boîtes de Pétri

Faire fondre dans un bain-marie les milieux gélosés suivants: test agar à pH 6.0; à pH 7.2 et à pH 8.0.

Faire refroidir ces milieux à 44°C et ensemercer les géloses test agar de la manière suivante:

Test agar pH 6.0: mettre 1 ml de la suspension *Bacillus subtilis* dans les boîtes de Pétri vides. Test agar pH 7.2: mettre 1 ml de la suspension *Bacillus subtilis* dans les boîtes de Pétri vides et on ajoute 1 ml de la solution de triméthoprime permettant ainsi la détection des sulfamides dans le muscle grâce à la synergie triméthoprime-sulfamide.

Test agar pH 8.0: mettre 1 ml de la suspension *Bacillus subtilis* ou *Micrococcus luteus*(Séparément) dans les boîtes de Pétri vides.

-Répartir les milieux de culture(test agar à pH 6.0;7.2et8.0)dans les boîtes.

-Laisser solidifier les milieux sur une surface froide et horizontale(**figure10**).

NB: Ces boîtes ainsi préparées peuvent être conservées au réfrigérateur pendant maximum 3 jours.

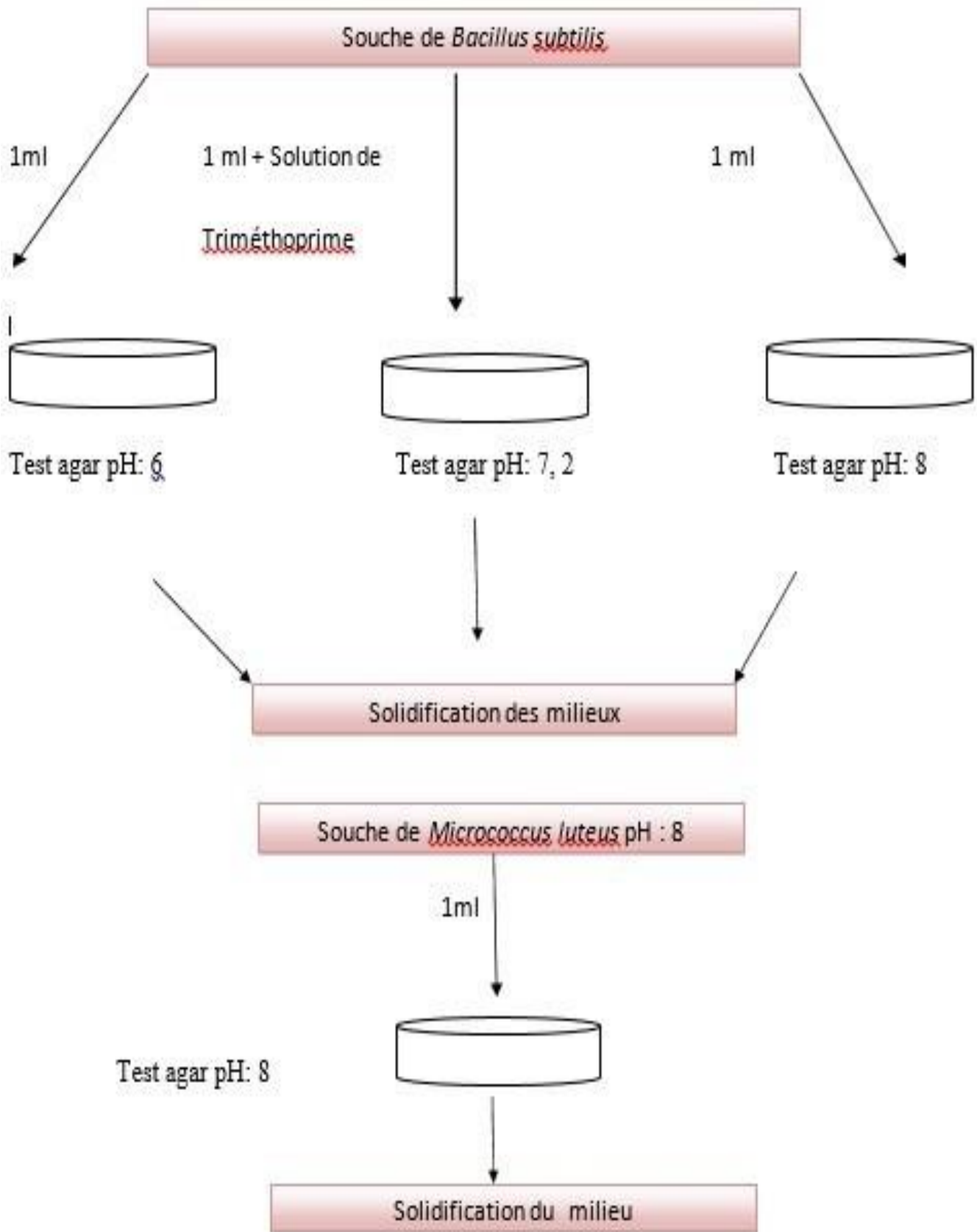


Figure 10:Préparation des boites de Pétri.

3.2.3.2 Préparation des solutions d'antibiotiques témoins

Pour la préparation des solutions d'antibiotique son commence par dissoudre une quantité de l'antibiotique par la suite on ajuste par ajout d'eau distillée(**Tab5**).

Tableau 5: Préparation des solutions d'antibiotiques témoins.

Solutions d'antibiotiques témoins	Antibiotiques	Quantité à dissoudre (mg)	Quantité du liquide utilisé		[C] Final µg/ml	Durée de conservation
Solution de pénicilline	Pénicilline	60	100 ml distillée d'eau		0.12	4 jours à +4°C
Solution d'érythromycine	Erythromycine	54	3ml de méthanol et ajuster à 50 ml avec de l'eau distillée.		0.27	2 semaines à +4°C
Solution de sulfadimérazine	Sulfadimérazine	50	5ml de NaOH 0.1N et ajuster avec 100ml l'eau distillée		20	2 semaines à +4°C
Solution de triméthoprime	triméthoprime	50	5ml d'acide acétique à 5% puis ajusté à 500 ml avec l'eau distillée		5	14 jours à +4°C
Solution de dihydrostreptomycine	Dihydrostreptomycine	64	50 ml distillée	d'eau	6.4	1 mois à +4°C

3.2.3.3 Mode opératoire

- À l'aide d'une pince, déposer au centre de la boîte un disque de papier stérile.
- Déposer sur le disque 10 µl de la solution de l'antibiotique témoin.
- A l'aide d'une pince, placer deux rondelles du premier échantillon en position diamétralement opposées sur chaque boîte de Pétri (3 boîtes de Pétri pour *Bacillus subtilis* à pH 6,0 ; pH 7,2 ; pH 8,0 ; et une boîte pour *Micrococcus luteus* à pH 8,0). (**Figure 11 et 12**).

- Stériliser l'emporte-pièce à la flamme et refaire la même opération pour les autres échantillons de telle sorte à avoir deux échantillons par boîte de Pétri.

Tous ces disques doivent être situés à 1 cm de la périphérie de la boîte.

- Incuber les boîtes de Pétri dans les étuves:
 - *Bacillus Subtilis* à 30°C pendant 18/24h.
 - *Micrococcus luteus* à 37°C pendant 18/24h.
- Faire la lecture des boîtes

❖ Exploitation des résultats

Pour chaque une des boîtes, sont considérés comme positifs, les échantillons donnant des zones d'inhibition ≥ 2 mm.

Il faut recommencer l'essai chaque fois que le résultat semble douteux (pour un même échantillon un disque étant positif et l'autre négatif, contamination, etc....).

Si le disque de viande contient des résidus d'antibiotiques, ceux-ci migrent dans le milieu et inhibent la croissance du germe autour du disque de poisson. Ils sont considérés comme positifs les échantillons dont les deux disques ont provoqué une inhibition du germe test et le diamètre de la zone d'inhibition doit être égal ou supérieur de 2 mm du diamètre de la zone d'inhibition des témoins positifs qui est égal à 6 mm (Fabre, 2003).

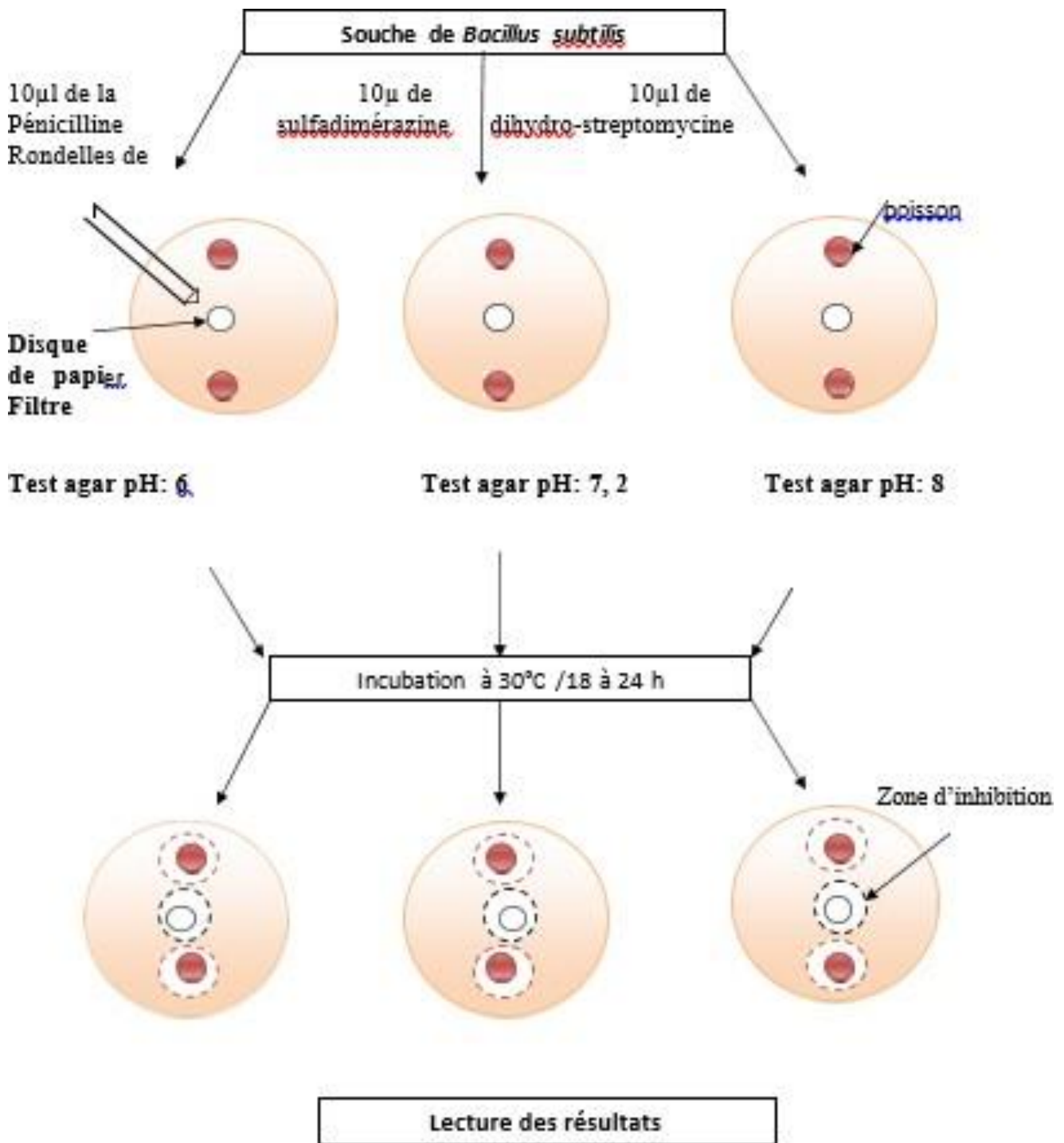


Figure 11: Technique des 4 boîtes (Mode opératoire pour la souche test Bs).

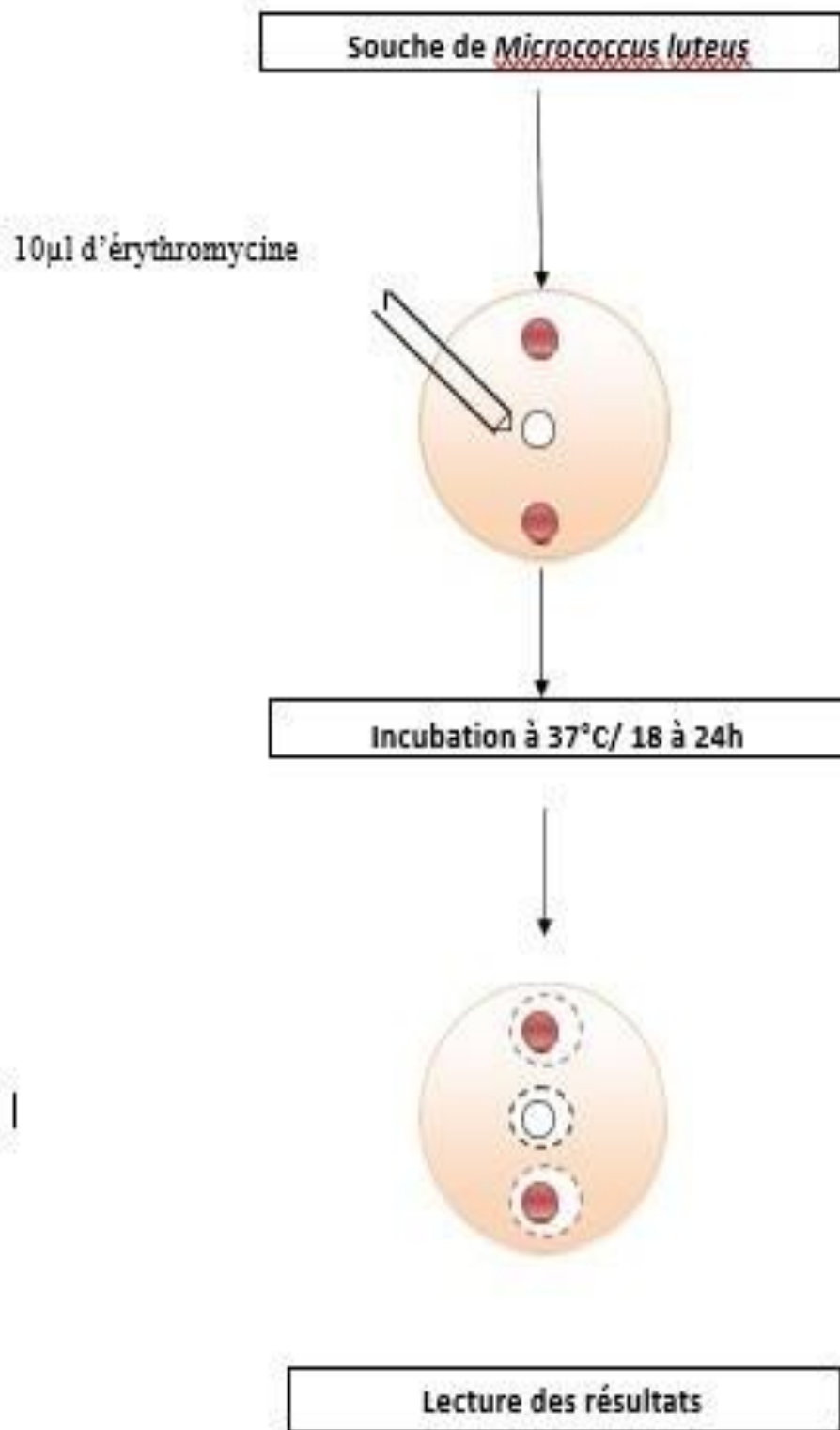


Figure 12: Technique des 4 boîtes (Mode opératoire pour la souche test MI).

1 Résultats morphométriques et pondérale

Un ensemble de mensurations du corps des poissons ont été effectuées individuellement et cela à l'aide d'une règle graduée, ainsi que des pesés ont été également effectués par une balance de précision ; Les poissons ont été sexés ce qui a révélé 10 poissons mâle contre 4 femelles et l'ensemble de ces mensurations morpho métriques sont saisi et rapporté dans le **tableau 6**.

Globalement, les individus de *Oreochromis ssp* ont un poids totale (Wt) qui varie ($19 \leq Wt \text{ (g)} \leq 989$) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt \text{ (cm)} \leq 16,4$).





Tableau 6: Résultats Morpho métrique et pondérale de *O. ssp* (LT : Longueur totale ; WT : Poids totale).

Aquariums	N°	Longueurs LT (cm)	Poids WT (g)	Sex-ratio
Aq1	01	16	89	♀
Aq2	02	16,4	83	♀
Aq3	03	10,5	19	♂
		11	33	♂
Aqt	04	12,5	30	♂
		13,5	44	♀
Aq5	05	14,5	57	♀
Aq6	06	13,5	38	♂
		10,5	20	♂

2 Résultats des Examens macroscopique des anomalies externes :

L'examen macroscopique nous a permis de diagnostiquer les pathologies de nos individus, énuméré dans **le tableau (7)** ci-dessous :

Tableau 7: Résultat de l'examen pathologique des individus de *O.ssp*

Anomalie	Description	Examen pathologique
Déformation de la nageoire caudale	Il a été constaté lors de l'examen du corps de l'individu N° 05 (Lt = 14,5 cm; Wt = 57g) une déformation de la nageoire caudale.	
Exophtalmie	Un début d'exophtalmie a été observée chez un individu de <i>Oreochromis ssp</i>	
Érosion de la nageoire caudale	Une érosion de la nageoire caudale à été repérée sur l'individu N°2 (Lt =16.4 cm; Wt = 83 g)	
Perte d'œil ou énucléation	Énucléation de l'œil adroite et ulcération péri orbitale a été observée chez un individu de <i>Oreochromis ssp</i>	

Plusieurs facteurs internes et plus souvent externes, sont à l'origine de telles **déformations**. Selon [Richard et al \(2016\)](#), Elles peuvent être causées par de nombreux agents, dont les biphényles polychlorés et les pesticides organochlorés. Les insecticides (organophosphates) et les métaux (cadmium, zinc, mercure, plomb) .

[Girard et Elie \(2007\)](#), ont lié l'apparition de cette anomalie aux carences nutritionnelles, notamment en vitamines (A, C et D). Les facteurs physiques tels que: une sursaturation gazeuse, hypoxie, température trop faible, salinité, radioactivité, chocs électriques, la présence de Virus, bactéries, toxines algales, Parasitisme à *Myxosporidies* ou de traumatisme (capture, prédation) sont aussi à l'origine de l'apparition de ces déformations.

L'érosion des nageoires est fréquente chez les poissons qui vivent en eaux polluées. Les sulfites, les métaux, les hydrocarbures chlorés, les acides et les alcalis considérés comme étant substances toxiques, généralement présents dans les sédiments et les rejets municipaux ou industriels peuvent provoquer une dégradation du mucus à la surface des nageoires. Dépourvu de leur couche protectrice, ces organes sont par la suite envahis par des bactéries (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*), des champignons et des parasites qui provoquent la destruction des tissus ([Richard et al. 2016](#)). Carences nutritionnelles ou vitaminiques et est aussi à l'origine de cette érosion ([Girard et Elie, 2007](#)).

Selon la FAO (2000), cette anomalie sont causé un endoparasite le Myxozoaire (*Myxobolus spp*) qui est un protozoaire cnidosporidie ; Et selon [Uhland et al. \(2000\)](#) elle est d'origine bactérienne ou due à un traumatisme.

Les lésions sont souvent causées par des agents infectieux, tels que les bactéries, les virus et les protozoaires. Beaucoup de ces organismes prolifèrent en présence de pollution organique, ce qui augmente la susceptibilité des poissons aux infections([Richard et al. 2016](#)).

L'exophtalmie peut être d'origine traumatique ou liée a des infectieuse et septicémies virales et bactériennes ainsi qu'au parasitisme oculaire, ou être liée à une sursaturation de l'eau en gaz [Girard et Elie, \(2007\)](#).

Énucléation de l'œil peut être d'origine cannibalisme ou liée à des infectieuse bactériennes ainsi qu'au ecto-parasitisme oculaire, ou être liée à une sursaturation de l'eau en gaz [Girard et Elie, \(2007\)](#).

La nécrose chez le poisson sont des infectieuses d'origines bactériennes (Flavobactériose, Vibriose, Pseudomonose), virales et/ou parasitaires externes. Il est possible

également Brûlures (UV), traumatismes, cannibalisme induisant des nécroses. La Pollution chimique de milieu par le cadmium, chrome, mercure, effluents de pâte à papier, peut être à l'origine d'une nécrose chez les poissons (Girard et Elie, 2007).

3 Évaluation de la fraîcheur du poisson :

Le test macroscopique concernant la fraîcheur des échantillons a montré les observations suivantes :

- ⊙ Une légère odeur et agréable caractéristique de l'espèce, rappelant la vase pour poisson de l'eau douce.
- ⊙ Un corps rigide avec une chair bien ferme.
- ⊙ Les écailles brillantes, bien réunies les unes aux autres, adhèrent fortement à la peau.
- ⊙ L'œil est convexe et bien attaché.
- ⊙ Les branchies d'une couleur rouge.

Selon le tableau d'évaluation de la fraîcheur du poisson selon **la méthode française mentionné en matériel et méthodes**, nous résumons nos résultats dans le **tableau 8**.

Tableau 8: Barème de cotation de la fraîcheur de *O.ssp* selon la méthode française.

<i>Caractères observés sur le poisson</i>			N° des caractères	Cotation	
<i>Examen à l'état cru</i>	<i>Examen externe</i>	1	1	I	1
		3	3	II	2
		3 3	3	III	3
			3	IV	2
		2 0	2	V	1
			0	VI	0
		1 2	1	VII	1
			2	VIII	2
	<i>Examen interne</i>				/
		/		X	/
			/	XI	/
<i>Examen après cuisson</i>	<i>Odeur</i>		/	/	
	<i>Saveur</i>		/	/	
			TOTAL	15	

La moyenne arithmétique des notes attribuées (côtes d'appréciation ou barème de cotation) qui résumera l'examen organoleptique ou sensoriel portant sur l'ensemble des caractères observés. La valeur moyenne correspond à l'Indice d'altération (IA) :

Indice d'altération : 1,5

Pour l'individu étudié, l'indice d'altération est 1,5, ce qui indique que l'échantillon est un poisson frais.

4 Résultats de Contrôle de qualité microbiologiques alimentaire (Poisson congelé et frais)

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du poisson frais et congelé indiquent la présence de la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes thermotolèrent (CTT). En revanche, nous avons noté l'absence totale des Staphylocoque et les salmonelles.

Les analyses de notre étude sont faites sur **un plan d'échantillonnage à une seule unités** ce qui ne permet pas d'interpréter les résultats obtenus et la conclusion sur **la qualité** des poissons de la carpe congelé, quant à leur **acceptabilités pour la santé** des consommateurs **conformément aux critères microbiologiques applicable** aux denrées alimentaires, catégorie des produits de la pêche et de l'aquaculture (les poissons) selon [JORADP 2017](#) (Annexe 02) où le nombre d'unité constituant l'échantillon de 05 unités pour assurer la qualité microbiologiques.

4.1 Flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Les résultats des analyses microbiologiques des tilapia traité et témoins à **l'état congelé** montrent la présence d'une flore totale aérobie mésophile à l'état congelé avec un fort nombre de (636000 UFC/g) pour L'Aq2 témoin et un faible nombre de 1000 UFC/g pour les individus de l'Aqt. (**Fig.13**).

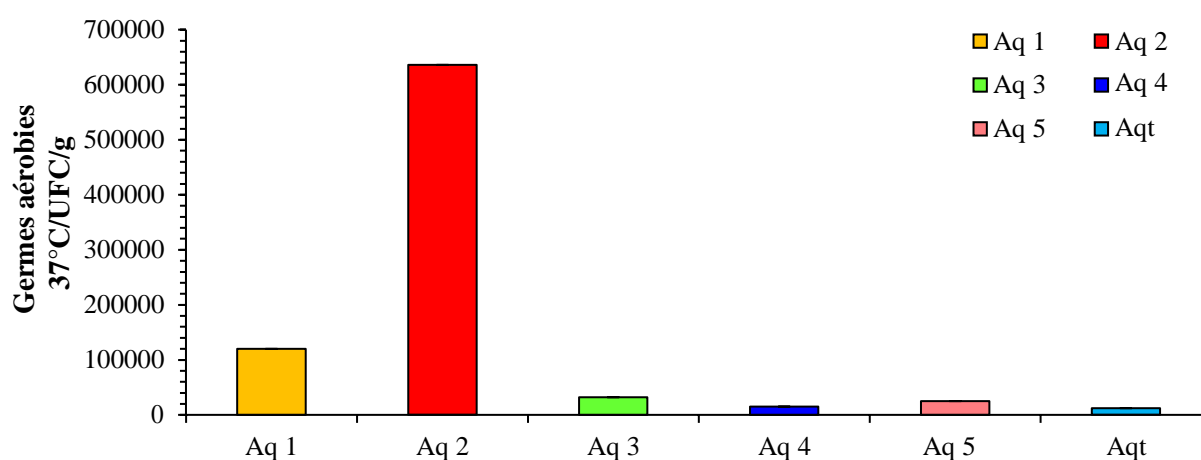


Figure 13: Résultats des FTAM chez *Oreochromis ssp* (Poissons congelé).

L'État frais, un taux élevé des FTAM de l'ordre de 5500000 UFC /g est observé chez les individus de l'Aq5, les minimas sont observés chez les témoins.(Fig .14).

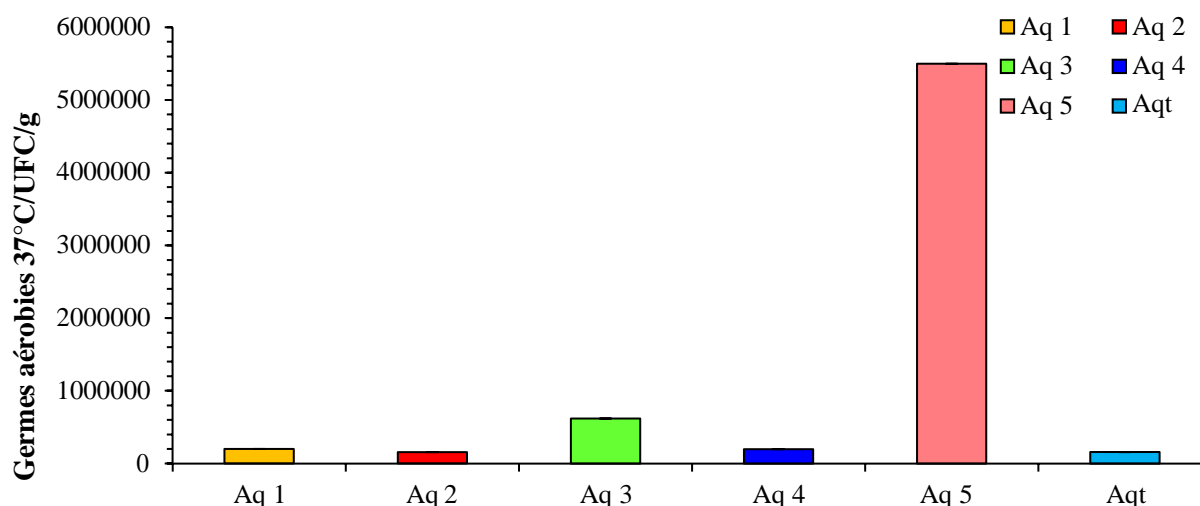


Figure 14: Résultats des FTAM chez *Oreochromis ssp* (Poissons Frais).

La flore mésophile dénombrée en grande quantité indique un début du processus d'altération, elle est dénombrée à l'état congelé de (636000 UFC/g) et à l'état frais de(5500000 UFC /g) dans la chair de poisson de L'Aq2 traités par l'érythromycine avec une dose de 60 µg/l.

Cet ensemble englobe les bactéries pathogènes pour l'humain, d'une part, et divers microorganisme d'altération, d'autre part. Ayant diverses causes de la non-conformité :(Hygiène et salubrité déficientes ; température de conservation inadéquate ; refroidissement trop lent, ne respecte pas les critères établis ; préparation à l'avance et Conservation prolongée) .(Bourgeois, 1991).

4.2 Coliformes thermotolérants (CTT) :

La recherche des coliformes thermotolérants (CTT)montre leur présence dans la chair des **tilapias frais** analysés au nombre varie entre [700_ 11166,3] UFC/ g et l'absence totale dans les aquariums (Aqt ,Aq4, Aq2)(Fig 15). Nous signalions, l'absence totales des (CTT) chez les **tilapias congelés**.

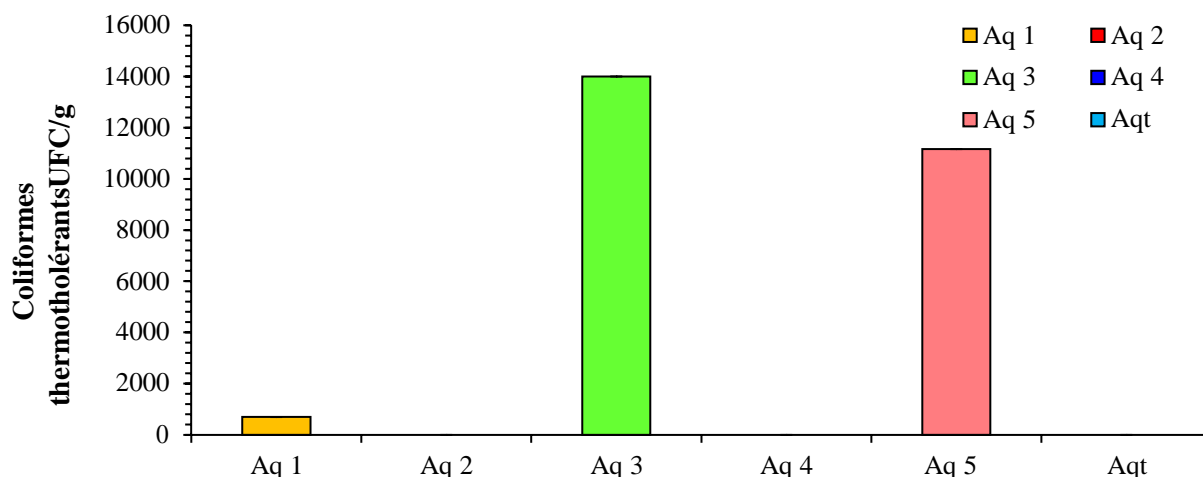


Figure 15: Résultats des Coliformes thermotolérants (CTT) UFC/ g chez *Oreochromis ssp.*

La présence de coliformes thermotolérant dans les échantillons analysés selon [Bornert \(2000\)](#) ces bactéries constituent des germes de contamination fécale et sont donc des indicateurs des mauvaises conditions d'hygiène lors de la manipulation des denrées. Cette constatation est en accord avec les résultats de [Gram et Huss \(2001\)](#), qui ont rapportés que ces microorganismes sont les causes majeures de l'altération microbienne des produits halieutiques après la capture.

La forte contamination des poissons par les Coliformes thermotolérants peut constituer un problème de santé publique dans la mesure où ces germes peuvent être des bactéries de report de contamination ([Huss, 1995](#)) qui peuvent se révéler parfois très pathogènes.

Selon ([Sitti, 2001](#)) il ya une autre raison du risque sanitaire lié aux Coliformes thermo-tolérants est la production de l'histamine, une amine biogène résistante à la chaleur et toxique pour l'homme.

4.3 Staphylocoques présumés pathogènes

Les résultats d'analyse des échantillons de **poisson frais** et **congelé** n'ont pas révélé la présence de ce germe dans le produit. ce qui a offert une notation S (satisfaisante) donc A (acceptable) selon les normes européennes. En effet les bactéries du genre staphylocoques peut être disséminée facilement dans l'environnement et peut ainsi contaminer les aliments.

D'ailleurs, les intoxications alimentaires sont en majorité causées par *S. aureus* coagulase positive (Philippe, 1993).

4.4 Salmonella

Les résultats des analyses microbiologiques montrent l'absence totale des salmonelles. L'absence des *Salmonella sp* dans tous les échantillons de poisson analysés est conforme aux prescriptions normatives qui recommandent une absence de ce microorganisme pathogène dans les produits alimentaires (JORADP, 2017). En effet, les bactéries du genre *Salmonella* et principalement *S. tify* et *S. paratify* possèdent de nombreux facteurs de virulence : présence de pli, production de toxines, capacité à survivre dans les macrophages et présence de plasmide de virulence (Sutra et al, 1998) et sont associées principalement aux toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).

5 . Résultats des analyses microbiologiques de l'eau des aquariums

5.1 Avant l'antibiothérapie

Un prélèvement de l'eau est effectué pour l'ensemble des aquariums expérimentaux y compris le témoin et cela avant de débiter l'antibiothérapie avec les deux antibiotiques choisis lors de cette étude. Les résultats obtenus indiquent la dominance des coliformes totaux (14000 UFC/g) suivi par l'apparition des Streptocoques (14000UFC/g_150 UFC /g). En revanche, nous avons noté l'absence totale des Coliformes Fécaux. **(Fig. 16).**

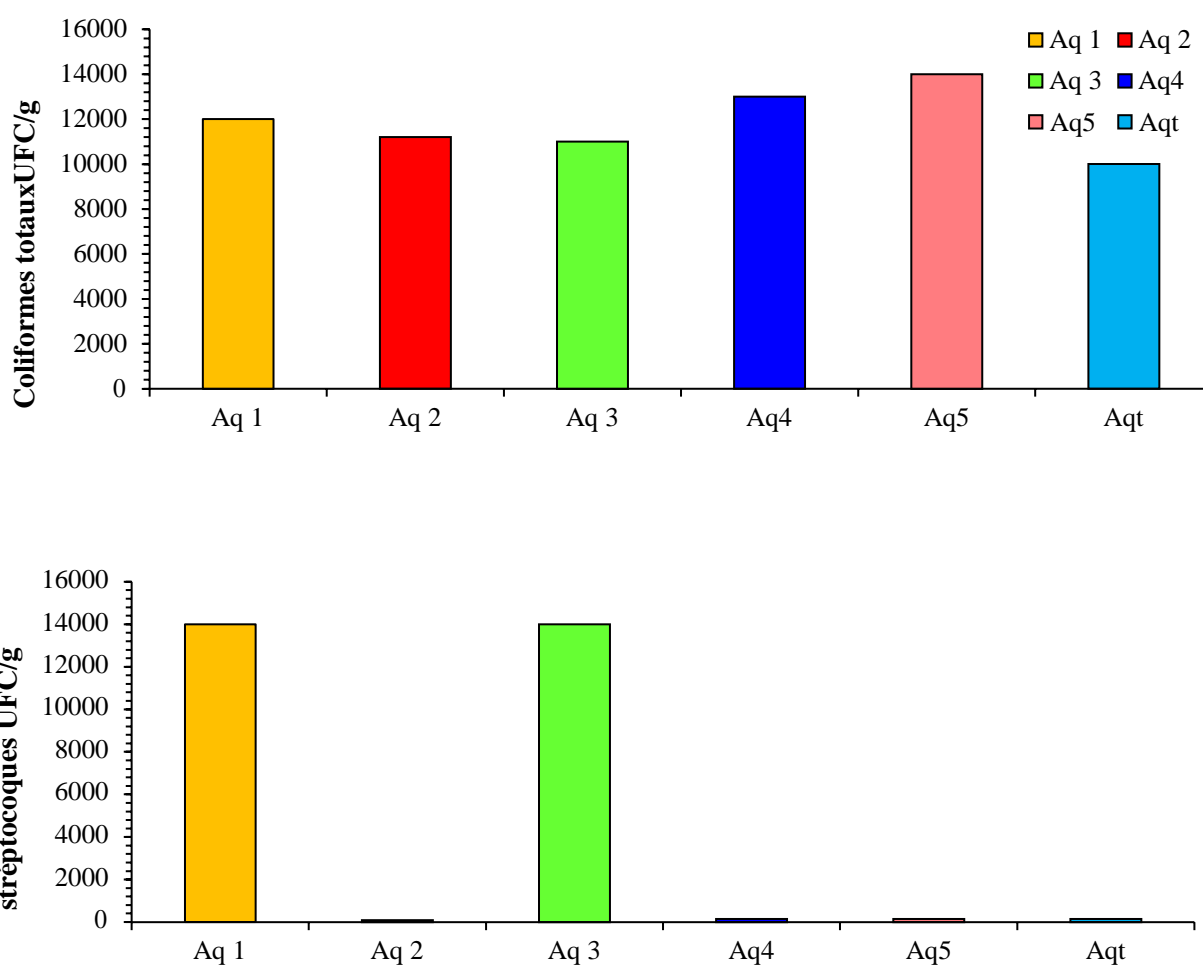


Figure 16: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau d'aquarium avant antibiothérapie (Aq 1 ; Aq 2 ; Aq3 ; Aq 4;Aq5 et Aqt).

5.2 Après l'antibiothérapie (érythromycine et Sulfamide)

Les résultats obtenus indiquent une diminution des coliformes totaux (14000UFC/g_6400 UFC/g) et des Streptocoques (930UFC/g_150UFC /g). Par contre nous observons une légère élévation chez les témoins. Nous signalons l'absence totale des Coliformes Fécaux (Fig.17).

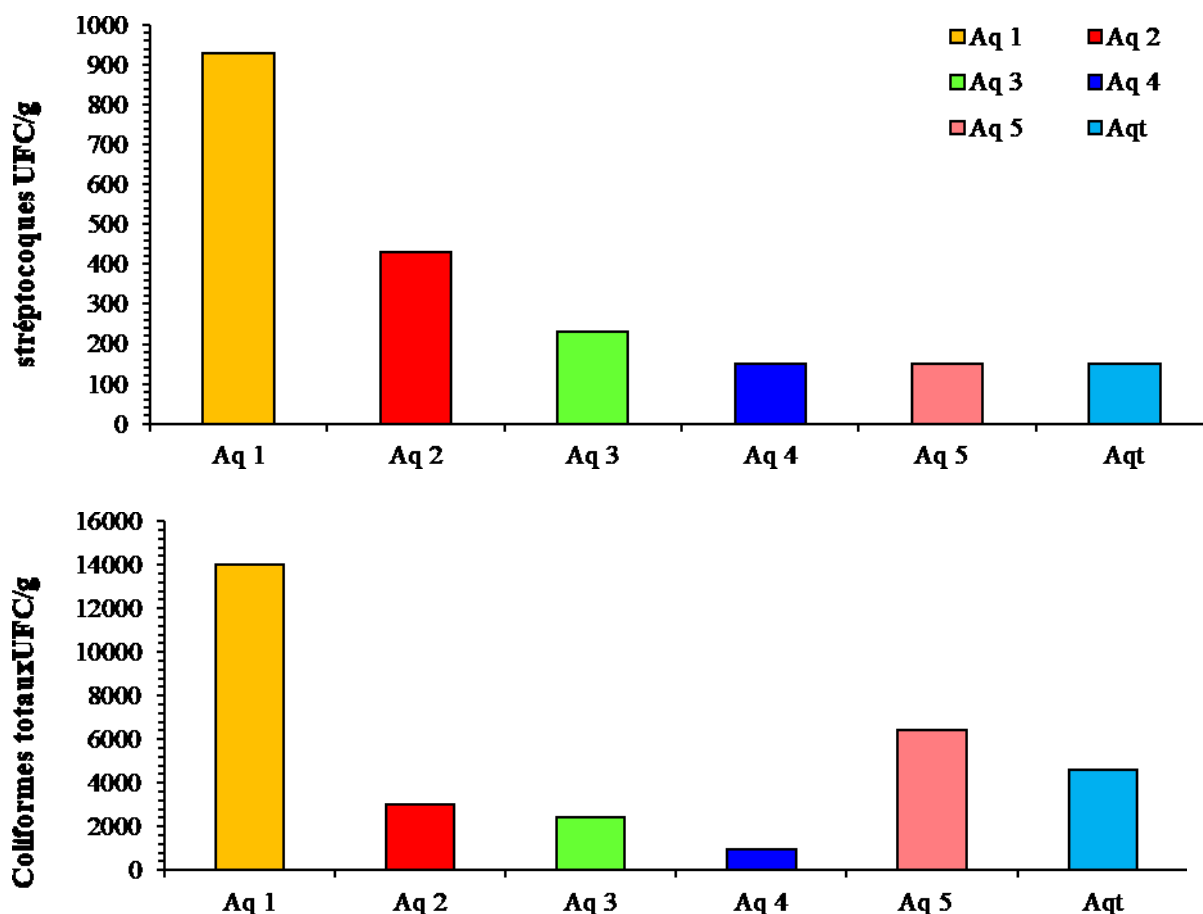


Figure 17 : Résultats des analyses microbiologiques de l'eau d'aquarium après antibiothérapie(Aq 1 ; Aq 2 ; Aq3 ; Aq 4;Aq5 et Aqt)..

La qualité physico-chimique de l'eau était acceptable et compatibles aux normes idéales pour l'élevage du tilapia qui sont prodiguées par [Hasheesh et al. \(2011\)](#). En concordance avec les résultats [d'Asad et al. \(2010\)](#), le taux de survie dans l'ensemble des aquariums expérimentaux était de 100 %, ce qui indique que le traitement hormonal n'affecte pas la survie des tilapias.

En aquaculture, les bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène sont primordiales pour la survie, le bien-être et la croissance des poissons (Khalil *et al.*, 2011).

La qualité microbiologique de l'eau affecte principalement la charge bactérienne du poisson et peut véhiculer toute sortes de contaminants chimique (polluants organiques persistants) et biologique (virus, parasites, bactéries et champignons) (Cole *et al.*, 2009 ; Bosma *et al.*, 2011).

De ce fait, la qualité microbiologique et chimique de l'eau est souvent considéré comme un point critique de contrôle (Khamboonruang *et al.*, 1997 ; Anh *et al.*, 2010 ; Bush & Duijf, 2011).

L'analyse microbiologique et physicochimique des échantillons d'eau prélevés à partir de l'antibiothérapie nous a révélé que cette eau était de qualité acceptable.

6 Résultats de détection des résidus d'antibiotiques

Nous avons appliqué la méthode microbiologique « dite : méthode des quatre (04) boites » qui est la méthode de référence dans les laboratoires belge et français (Fabre, 2003), pour rechercher les résidus d'antibiotiques sur six (06) échantillons de foie de poisson.

L'utilisation des disques imprégnés de solution d'antibiotiques témoins pour chaque milieu nous permet de vérifier la fiabilité de la technique, c'est-à-dire la bonne concentration en microorganismes tests et la sensibilité de ces derniers vis-à-vis de l'antibiotique, ce qui nous permet de déduire que les conditions opératoires sont crédibles.

La présence de la zone d'inhibition s'explique par la présence des résidus d'antibiotiques dans les échantillons analysés qui ont migré dans le milieu, inhibant ainsi la croissance des microorganismes tests autour du disque de Poisson (Pavlov *et al.*, 2008).

À l'issue de l'incubation, les disques imprégnés des solutions témoins doivent présenter une zone d'inhibition nette supérieure ou égale à **2 mm**, diamètre du disque compris. Pour chacune des quatre boites, sont considérés comme positifs, les échantillons de foie donnant des zones

6.1 Résultats selon les familles d'antibiotiques recherchées

6.1.1 Résidus d'érythromycine avec la bactérie pathogène *Bacillus subtilis*

Sur les six (6) échantillons analysés (le foie) avec différentes dilutions d'antibiotique d'érythromycine c'est-à-dire les concertations administrées lors de cette étude. (Tab.9)

Tableau 9: Résultats de résidus d'antibiotiques « érythromycine » (méthodes microbiologique).

Dilution érythromycine	Aquarium	érythromycine	éry+ éch 1	ery+ ech 2	ery+ ech 3	ery + ech 4	ery + ech 5	ery + ech 6
c4 =10ml	Aq5	9mm	8mm	6mm	6mm	6mm	32mm	23mm
c5 =20ml	Aq2	20mm	6mm	30mm	26mm	6mm	15mm	20mm
c6 =20ml	Aq1	22mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm
c7 =24ml	Aq4	28mm	10mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm
c8 =20 ,58ml	Aq3	9mm	9mm	6mm	6mm	6mm	6mm	6mm
sm= 2g /1000ml		35mm	45mm	38mm	40mm	35mm	45mm	35mm

les résultats obtenus montrent la présence des zones d'inhibitions qui témoignent de la présence des résidus d'antibiotiques (Fig.18). Pour les six (6) échantillons sont positifs, qui ont présentés des zones d'inhibitions comprises entre (6 et 45 mm). (Tab.9).

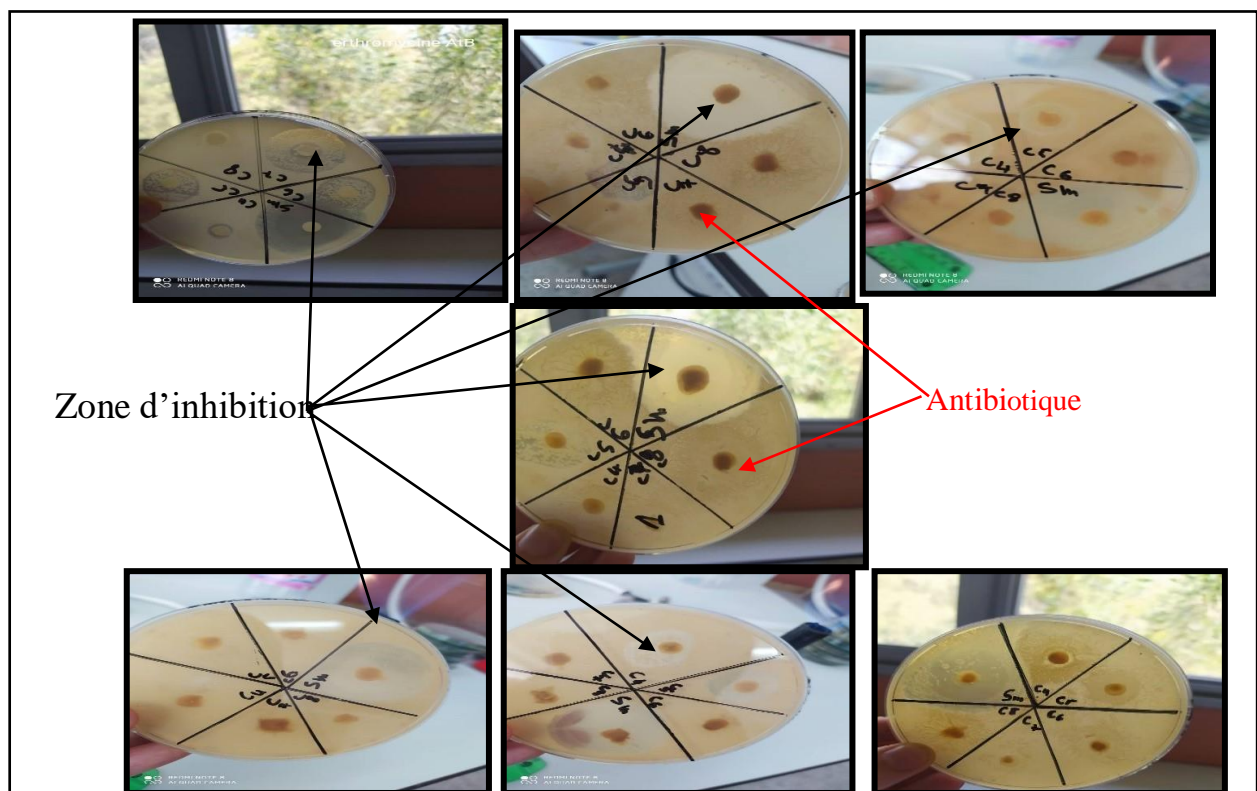


Figure 18: Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « érythromycine » dans le foie et les intestins des Bio-éssais *Oreochromis ssp* traités. (après 48 h d'incubation).

Les macrolides sont des antimicrobiens très puissants utilisés dans les pratiques vétérinaires contre une grande variété de bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Ils sont constitués de cycles lactones macrocycliques comportant 14 (érythromycine, roxithromycine et clarithromycine), 15 (azithromycine) ou 16 (spiramycine, tylosine, tilmicosine et josamycine) atomes de carbone liés aux molécules d'hydrates de carbone.

L'érythromycine possède des caractéristiques lipophiles et basiques. Les macrolides sont utilisés en médecine vétérinaire pour traiter les infections des voies respiratoires et comme promoteurs de croissance.

La structure moléculaire des macrolides contient des chromophores, ce qui permet de les analyser par détection UV et fluor-métrie. Cependant, l'amélioration de la sensibilité et de la spécificité de la MS a remplacé les méthodes UV et fluor-métriques dans la détection et la quantification des macrolides dans différentes matrices biologiques (Freitas, et al., 2013).

Certains macrolides, par exemple la tilmicosine et la spiramycine, ont une absorption UV relativement forte. Cependant, l'érythromycine ne possède pas de chromophore UV spécifique. Par conséquent, la LC-MS est la technique la plus prometteuse pour la séparation et la détermination des molécules de macrolides dans les poissons et autres échantillons alimentaires. Horie et al. (2003) ont mis au point une méthode simple utilisant la chromatographie liquide, l'ionisation par électrospray et la spectrométrie de masse (LC-(ESI)-MS) pour la détermination de huit (8) antibiotiques macrolides (érythromycine, oléandomycine, kitasamycine, josamycine, mirosamicine, spiramycine, tilmicosine et tylosine) dans la viande et le poisson. La LOQ était de 10 µg/Kg.

Sept (07) macrolides (érythromycine A, josamycine, roxithromycine, spiramycine, tilmicosine, troleandomycine et tylosine) ont été déterminés dans le poisson par extraction liquide sous pression (ELP) et LC-(ESI)-MS (Houda Berrada, et al., 2008).

Sismotto, et al. (2014) ont présenté une méthode simple pour l'identification et la quantification simultanées des macrolides (érythromycine, josamycine, tilmicosine, tylosine, spiramycine et néospiramycine) dans les filets de tilapia par LC couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol quadripolaire (QToF). Cette méthode est une procédure simple et peu coûteuse pour la préparation des échantillons, et les limites de quantification (17-82 µg/Kg) étaient inférieures d'au moins 45% à la LMR.

6.1.2 Résidus de sulfamide avec la bactérie pathogène *Micrococcus luteus*

Sur les six (06) échantillons analysés avec différent dilution d'antibiotique sulfamide, les 6 sont positifs, ces échantillons ont présenté des zones d'inhibitions comprises entre (6 et 50 mm). (Tab10 ; Fig19).

Tableau 10: Résultats de résidus d'antibiotiques « Sulfamide » (méthodes microbiologique).

dilution sulfamid	sulfamid	sulfamid + echantillon 1	sulfamid+ ech 2	sulfamid + ech 3	sulfamid + ech 4	sulfamid + ech 5	sulfamid + ech 6
c1 =0.3g /100ml	15mm	10mm	40mm	15mm	6mm	20mm	30mm
c2 =0.3g/10ml	23mm	6mm	46mm	30mm	6mm	25mm	27mm
c3 =0.3g/5ml	25mm	6mm	10mm	6mm	6mm	6mm	15mm
Sm=1g /500ml	38mm	37mm	50mm	38mm	40mm	45mm	36mm

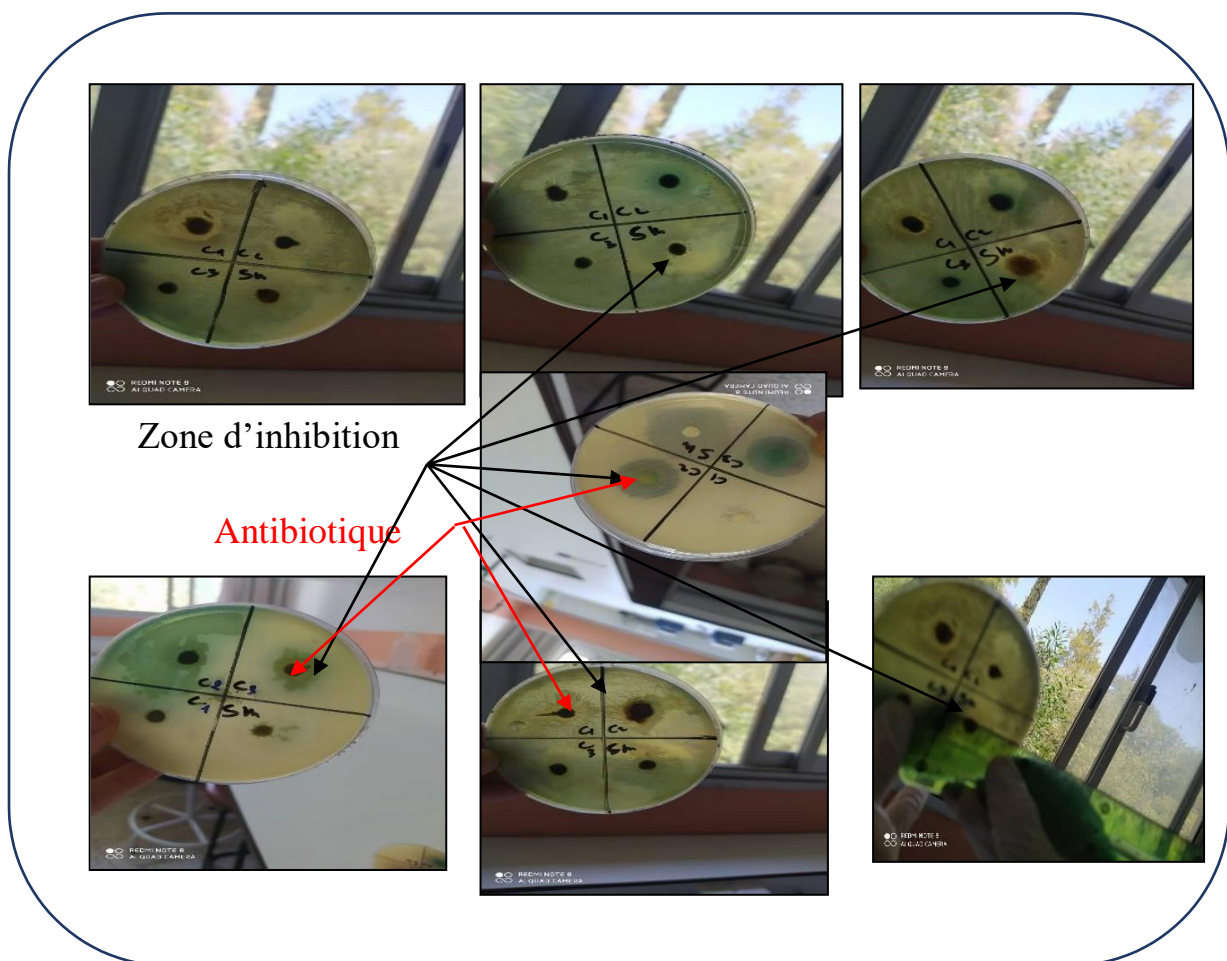


Figure 19: Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « SULFAMIDE » dans le foie et les intestins des Bio-essais *Oreochromis ssp* traités.(après 48 h d'incubation).

D'après les résultats représentés dans les tableaux, nous pouvons constater que l'analyse microbiologique selon la méthode des quatre boîtes effectuée sur le foie de poisson, a abouti à un taux de résidus d'antibiotiques élevé. Des études sur les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale ont été déjà réalisées en Algérie, avec des méthodes qualitatives.

La famille des sulfonamides comprend la sulfadiazine, le sulfaméthizole, le sulfaméthoxazole, la sulfasalazine, le sulfisoxazole et diverses associations très puissantes de trois sulfonamides. Les sulfonamides sont basés sur un groupe fonctionnel p-aminobenzènesulfonamide. Les sulfamides (SA) sont largement utilisés à des fins thérapeutiques et prophylactiques chez les humains et les animaux, y compris les poissons. Ils sont parfois utilisés comme additifs promoteurs de croissance dans les aliments pour animaux.

On s'inquiète de savoir si les niveaux de ces médicaments pourraient entraîner de graves problèmes de santé humaine, par exemple des réactions allergiques ou toxiques (Wang, et al., 2006) en raison de leur utilisation répandue. Certains sulfamides sont potentiellement cancérigènes, ce qui entraîne un débat sur la sécurité alimentaire. L'UE (CE, 2009c) a fixé une LMR pour la concentration de sulfonamide total dans le poisson à 100 µg/Kg.

La détermination multi-résidus de 14 sulfamides dans le poisson-chat, la crevette et le saumon à l'aide d'une méthode HPLC de dératisation par fluorescence post-colonne a été rapportée (Gehring, et al., 2006). La méthode a été validée à 5, 10 et 20 µg/Kg. Potter et al. (2007) ont décrit une méthode permettant de quantifier chez le saumon par LC-MS/MS dix-sept sulfamides et les potentialisateurs ormétoprime et triméthoprim. La limite de détection (LOD) variait de 0,1 à 0,9 µg/Kg.

Potter et al. (2007) ont décrit une méthode permettant de quantifier chez le saumon par LC-MS/MS dix-sept sulfamides et les potentialisateurs ormétoprime et triméthoprim. La limite de détection (LOD) variait de 0,1 à 0,9 µg/Kg.

Won et al. (2011) ont développé une méthode pour la détermination des sulfamides dans les poissons (poissons plats, jacoever, daurade, anguille commune, crabe bleu et ormeau) et les crevettes en utilisant la CLHP avec PDA et la chromatographie liquide à ultra-haute performance avec spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS) pour la confirmation et l'identification des composés cibles.

Pour le dépistage par HPLC-PDA, une colonne C18 a été utilisée pour la séparation chromatographique, et une solution de dihydrogénophosphate de potassium (pH 3,25) et de méthanol a été utilisée comme phase mobile. L'eau et l'acétonitrile acidifié par l'acide formique étaient les éluants pour la confirmation par UHPLC.

Les auteurs ont conclu que la confirmation par analyse UHPLC-MS/MS est nécessaire pour éviter les erreurs de faux positifs dues à l'interférence de la matrice dans la méthode HPLC-PDA.

Dans ce travail nous avons abordé l'examen macroscopique de poisson, le contrôle de qualité microbiologique alimentaire des poissons d'eau douce (Aspect congelés- aquari expérimentale) et l'évaluation de la fraîcheur de poisson à température ambiante. À ce titre, nous avons choisi un poisson d'eau douce le tilapia rouge « *Oreochromis ssp* », prélevée du lac à la ferme AQUA IZAK à BISKRA ;est un excellent poisson d'élevage, consommé par une grande partie de la population.

L'examen macroscopique de tous les poissons a permis d'identifier diverses anomalies anatomiques révélées au niveau de toutes les parties du corps et des organes. En effet, il a été constaté des déformations au niveau de la nageoire. Au niveau des yeux, descas d'exophtalmie ont été notés chez certains poissons. Il a été également enregistré une érosion de la nageoire et énucléation de l'œil.

Sur le plan morphologique, il est à retenir que les altérations enregistrées peuvent être utilisées comme un marqueur biologique témoignant de la dégradation des conditions du milieu et de la qualité de l'écosystème aquatique initial.

Sur le plan qualité alimentaire microbiologique d'*Oreochromis ssp* basé sur des analyses Microbiologiques avant et après l'antibiothérapie par l'érythromycine et les sulfamides : **la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes thermotolérants (CTT), les Staphylocoques présumé pathogène et les Salmonelles**, ayant pour objectif qui reflétera l'état d'altération ou de l'état de fraîcheur des tilapias avant et après l'antibiothérapie .

Lors de cette étude, l'analyse bactériologique de bioessais congelés et frais a montré que les poissons prélevés présentent une variabilité observée dans le nombre et le type des microorganismes détectés. Les résultats microbiologiques que nous avons obtenus pendant toute la durée de notre étude avance une altération bactérienne variante après la durée de l'antibiothérapie avec une contamination d'une densité plus au moins importante par les FTAM, CTT à **l'état frais**. Ainsi nos résultats nous a permis de conclure à l'absence totale **des Salmonelles et des Staphylocoques**. De point de vue du barème de cotation pour chaque paramètre de fraîcheur l' *Oreochromis ssp* est déclaré **un poisson frais**.

Nos résultats microbiologiques de l'eau d'aquarium, révèlent la présence des coliformes totaux, s'ajoutant aussi, l'absence des coliformes fécaux (germes les plus représentatifs d'une contamination fécale) tout le long des aquariums expérimentaux. La présence des streptocoques fécaux dans l'eau d'aquarium est un mauvais signe d'une contamination fécale.

Le dépistage de résidus d'antibiotiques dans le foie des tilapia « *Oreochromis ssp*) traités par les deux antibiotiques (érythromycine et sulfamide) par la méthode microbiologique de référence dite les quatre (04) boîtes, est POSITIF, cela veut dire la présence des résidus d'antibiotiques rend le poissons **IMPROPRE** à la consommation humaine !.

Ce résultat constitue un réel problème de santé publique, non seulement en raison de la présence de résidus d'antimicrobiens dans les tissus comestibles, qui peuvent provoquer des réactions allergiques chez les personnes hypersensibles, mais aussi en raison **de l'émergence de résistances bactériennes**. Par conséquent, les agences de réglementation de l'Union européenne ont établi des **limites maximales de résidus** et des exigences spécifiques concernant la performance des méthodes d'analyse.

Nous aurions souhaité de compléter notre travail par une étude quantitative, plus sensible pour déterminer les concentrations des résidus d'antibiotiques présent dans les poissons analysés, car les risques sont tributaires de ces teneurs. Vu les résultats obtenus dans notre étude et les conséquences néfastes sur la santé humaine, il semblerait que cela suscite un certain nombre de recommandations qui s'adressent aux pouvoirs publics, aux Biologistes, aux éleveurs et aux consommateurs.

∩ Les pouvoirs publics doivent

- ☞ Exercer leur rôle régalien en réglementant la qualité et la sécurité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale en veillant à l'application des recommandations dans le cadre de l'harmonisation de la législation de la pharmacie vétérinaire.

- ☞ La mise en pratique des normes en matière de résidus par des structures qualifiées.

- ☞ Réglementer les conditions d'utilisation des antibiotiques comme en Europe où celle-ci n'est autorisée que sous certaines conditions pour les animaux destinés à la consommation.

- ☞ Mettre en place un programme national de contrôle permanent de la qualité des poissons locales et importées.

∩ Les éleveurs en aquacultures doivent

- ☞ être sensibilisés sur les dangers que présentent les résidus d'antibiotiques.

- ☞ Respecter les délais d'attente prescrits et tenir des fiches d'euthanasier facilitant le contrôle.

- ☞ Respecter les règles de bonnes pratiques d'élevage (B.P.E.).

∩ **Les Biologistes (Microbiologistes, santé animale et vétérinaires)**, prescripteurs des médicaments :

☞ Il convient d'imposer à leur direction une plus grande rigueur à la prescription des médicaments et en sensibilisant à la base les éleveurs sur les règles à respecter pour une utilisation raisonnée des antibiotiques.

∩ **Les consommateurs** doivent être informés et refuser les pratiques susceptibles de nuire à leur santé.

Références bibliographiques

-A-

Anh P.T., Kroeze C., Bush S.R. & Mol A.P.J., 2010. Water pollution by Pangasius production in the Bush S.R. & Duijf M., 2011. Searching for (un)sustainability in pangasius aquaculture: A political economy of quality in European retail. *Geoforum*, 42: 185-196. Mekong Delta, Vietnam: causes and options for control. *Aquaculture Research*, 42(1), 108-128.

Archibald F., 2000. The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems: a cause for concern? *Water quality research journal of Canada* 35(1), 1-22pp.

Armstrong S.M., Hargrave B.T. & Haya K., 2005. Antibiotic use in finfish aquaculture: modes of action, environmental fate, and microbial resistance. *The handbook of environmental chemistry*, 5: 341-357.

Asad F., Ahmed I., Saleem M. & Iqbal T., 2010. Hormonal masculinization and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by androgen administration at different dietary protein levels. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(12): 939-943.

-B-

Barré, T., Perignon, M., Gazan, R., Vieux, F., Micard, V., Amiot, M.-J. & Darmon, N. 2018. Integrating nutrient bioavailability and co-production links when identifying sustainable diets: How low should we reduce meat consumption? *PLoS ONE*, 13(2):e0191767.

Belmahdi M. (2010). Étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactérie isolées de la volaille. Thèse de magister. P 27-28.

Benameur Q., Tali-Maamar H., Assaous F., Guettou B., Boutaiba Benklaouz M., Rahal K. & Ben-Mahdi M.-H. (2018). Characterization of quinolone-resistant Enterobacteriaceae strains isolated from poultry in Western Algeria: first report of *qnrS* in an *Enterobacter cloacae*. *Vet. World*, 11 (4), 469-473.

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

Bosma R.H & Verdegem C.J., 2011. Sustainable aquaculture in ponds: principales, practices and limits. *Livestock Science*, 139: 58-68.

BOUCHAREL Camille Louise Marie.,2012. Étude du niveau de maitrise de lasécurité sanitaire des produits halieutiques senegalais exportes vers l’union europeenne .Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Faculté de Médecine, de Pharmacie etd’Odonto-Stomatologie de Dakar, 147p.

-C--

Chabane, A. et Daas, W. (2016). Contribution à la valorisation de la carpe chinoise *Aristichthys nobilis* (Richardson, 1845) et l’évaluation de la qualité des produits transformés (Ingéniorat). ENSSMAL, Alger.

-D-

Daudpota A. M. ,Kalhor I .B .,Shah S. A.,Kalhor H.,AbbasG.,2014. Effect of stocking densitie son growth, production and survival rate o f red tilapia in hapa at fish hatchery Chilya Thatta ,Sindh, Pakistan .J .Fish. ,2:180-186.

-E-

El-Sayed A-F.M., 2006. *Tilapia Culture*. CABI Publishing, CAB Internnational, Wallingford,Oxfordshire, UK, 277 pp.

Eurin J., Tamtam F., Ollivon D., Tiphagne-Larcher K. & Chevreuil M., 2005. Les antibiotiquesdans les eaux de surface du bassin de la Seine : évaluation de la contamination dans différents milieux.Rapport d’activité. Programme scientifique *PIREN Seine*, 9p.

-F-

Fabre J.M. (2003).des méthodes de recherche de résidus d’antibiotiques dans laviande. *Journal de la semaine vétérinaire*. P25-26.

FAO & WHO. 2020. Report of the Expert Meeting on Ciguatera Poisoning, Rome, 19–23 November 2018. Food Safety and Quality Series No. 9. Rome.

FAO. 2020a. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020: Sustainability in action*. Rome.

Freitas, A., Barbosa, J., Ramos, F. (2012). Determination of Amoxicillin Stability in Chicken Meat by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 5,967 471-479. doi: 10.1007/s12161-011-9267-4.

Fiorella, K.J., Milner, E.M., Bukusi, E. & Fernald, L.C.H. 2018. Quantity and species of fish consumed shape breast-milk fattyacid concentrations around Lake Victoria, Kenya. *Public Health Nutrition*, 12(4): 777–784.

-G-

Gaudin V. Fabre J.M. and Rault A. (2006). Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse- application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agro-alimentaires. Laboratoire d'étude et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants. Laboratoire communautaire de référence.FOUGERES. France. 86P.

Galleze G., Bourichal L. et Yahmi M. (2003). Contribution à la recherche de résidus d'antibiotiques dans le lait et dans la viande. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Faculté des sciences Biologiques. Département des sciences agronomiques.

Gaudin V. Fabre J.M. and Rault A. (2006). Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse- application à la détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires. Laboratoire d'étude et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants. Laboratoire communautaire de référence.FOUGERES. France. 86P.

Gehring, T.A., Griffin, B., Williams, R., Geiseker, C., Rushing, L.G., Siitonen, P.H.(2006).983 Multiresidue determination of sulfonamides in edible catfish, shrimp and salmon tissues by 984 high-performance liquid chromatography with postcolumn derivatization and fluorescence 985 detection. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 840, 132-138.

Gehring, T.A., Griffin, B., Williams, R., Geiseker, C., Rushing, L.G., Siitonen, P.H.(2006).983 Multiresidue determination of sulfonamides in edible catfish, shrimp and salmon tissues by 984 high-performance liquid chromatography with postcolumn derivatization and fluorescence 985 detection. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 840, 132-138.

Gram L. and Huss H.H., 2001. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121 – 137pp.

Gram, L. & Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 121–137.

Guiraud, J.-P. et Rosec, J.-P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Saint-Denis - France : Afno.

Guessoum M., Guechi Z., Aigoun F., Mahrane S. & Hachemi A. (2016). – *Campylobacter* in sheep, calves and broiler chickens in the central region of Algeria: phenotypic and antimicrobial resistance profiles. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **10** (39), 1662–1667.

-H-

Hasheesh W.S., Marie M-A. S., Abbas H.H., Eshak M.G. & Zahran, E.A., 2011. An Evaluation of the Effect of 17 β -Methyltestosterone Hormone on some Biochemical, Molecular and Histological Changes in the Liver of Nile Tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Life Science Journal*, 8(3): 343-358.

Halfaoui Z., Menoueri N.M. & Bendali L.M. (2017). Serogrouping and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken with colibacillosis in center of Algeria. *Vet. World*, **10** (7), 830–835. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.830-835>.

He S., Zhou Z., Liu Z., Cao Y., Meng K., Shi P., Yao B. & Ringo E., 2010. Effects of the antibiotic growth promoters Flavomycin and Florfenicol on the autochthonous intestinal microbiota of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* B x *O. aureus* b). *Archives of Microbiology*, **192**: 985-994.

Hernandez A., Garcia B.G., Jordan M.J. & Hernandez M.D., 2014. Natural antioxidants in extruded fish feed: Protection at different storage temperatures. *Animal Feed Science and Technology*.

HLPE. 2020. *Food security and nutrition: Building a global narrative towards 2030*. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security. Rome.

Hilborn, R., Banobi, J., Hall, S.J., Pucylowski, T. & Walsworth, T.E. 2018. The environmental cost of animal source foods. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(6): 329–335.

Horie, M., Takegami, H., Toya, K., Nakazawa, H. (2003). Determination of macrolide antibiotics in meat and fish by liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 492, 187-197.

Houda Berrada, F., Borrull, G., Font, R.M. (2008). Determination of macrolide antibiotics in meat and fish using pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1208, 83-89.

Huss HH, 1995. Assurance de qualité des produits de la mer, FAO Document technique sur les pêches, N° 334, Rome, FAO, 186 p.

Huss H.H., Ababouch L. & Gram L., 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO Fisheries Technical Paper. No. 444. Rome, FAO. 230p.

Huss, H.H, 1994. Assurance of Seafood Quality. FAO Fisheries Technical paper No: 334, Roma.

-I-

ICMSF, 1986. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications, (2nd ed., vol. 2, pp. 181–196). University of Toronto Press: Toronto, Canada.

Ifremer. 2009 Principales méthodes d'évaluation de la fraîcheur des produits de la mer. Fiche réalisée pour bibliomer et le centre de veille des produits aquatiques. 2p http://www.bibliomer.com/documents/fiches/Fiche_synthese_fraicheur.pdf. Consulté le

-J-

JORADP. ,(2017) : l'arrêté interministériel du 08 Chaoual 1438 correspondant au 02 juillet 2017 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (N°JORA :0 39 du 25-05-1998°.

JORAPD, (1998). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (N° JORA : 035 du 27- 05-1998).

-K-

Kebir A. (2016). Les résidus d'antibiotiques : de l'étable à la table. Communication du Laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem, Institut national de la médecine vétérinaire, Mostaganem, Algérie, 15 mars 2016, 19 pp.

Khennich R. et Riat S. (2003). Contribution à la recherche de résidus d'antibiotiques dans la volaille type « poulet de chair » dans la wilaya de TiziOuzou et Boumerdes. Mémoire de fin d'étude. Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (Algérie). Faculté des sciences biologiques. Département sciences agronomique.

Khalil W.K.B., Hasheesh W.S., Marie M-A.S., Abbas H.H. & Zahran E.A., 2011. Assessment the impact of 17 β -methyltestosterone hormone on growth, hormone concentration, molecular and histopathological changes in muscles and testis of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. Life Science Journal, 8(3): 329-343.

Khamboonruang C., Keawvichit R., Wongworapat K., Suwanrangsi S., Hongpromyart M., Sukhawat K., Tonguthai K. & Lima dos Santos C.A., 1997. Application of hazard analysis critical control point (HACCP) as a possible control measure for *Opisthorchis viverrini* infection in cultured carp (*Puntius gonionotus*). The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 28(1): 65-72.

Kummerer K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment - A review – Part I. *Chemosphere*, 75:417-434.

-L-

LARPENT J. P et LARPENT G.M.1990. Memento technique de microbiologie 2eme ED. techniques et documentaire lavoisier, Paris , P .417.

Laurentie M. et Sanders P. (2002). Residus de médicament vétérinaires et temps d'attente dans le lait. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires. P197-201.

Lazard J., 2009. La pisciculture des tilapias. *Cahiers Agricultures*, **18**: 174-182.

Leduc F., 2011. Evaluation de la qualité des poissons frais par des approches chimiques. Thèse de Doctorat. Université Lille 1. 182pp.

-M-

Maghuin-Rogister G., 2002. Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitements vétérinaires. In : Sécurité alimentaire du consommateur, 2^{ème} édition. M. Moll and N. Moll, coordonnateurs. Editions TEC & DOC. Collection Sciences et Techniques agroalimentaires, 65-92.

Mensah S.E.P., Koudandé O.D., Sanders P., Laurentie M., Mensah G.A. & Abiola F.A. (2014). – Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique. *Rev.Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **33** (3), 975–986.

-N-

Nicolas J.-L., Gatesoupe F.J., Frouel S., Bachere E. & Gueguen Y., 2007. Quelles stratégies alternatives aux antibiotiques en aquaculture ? *INRA Productions Animales*, **20** (3), 253-258 .

-P-

Pavlov AL., Lashev L., Vachin I., Rusev.V. (2008). residus of antimicrobial DRUGSIN chicken meat and offal's. *Trakia journal of science*. Vol.6.Supp.1.P 23-25.

Potter, R.A., Burns, B.G., Van de Riet, J.M., North, D.H., Darvesh, R. (2007). Simultaneous determination of 17 sulfonamides and the potentiators ormetoprim and trimethoprim in salmon muscle by liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection. *J. AOAC Int.*, **90**, 343-348.

Philippart ,J. C. & Ruwet ,J.(1982) .Ecology and distribution of tilapias .In: The biology and culture of tilapia (Pulline t Lowe Mc Connel l ,Eds.).ICLARM Conférence Proceedings,7,15-59.

PHILIPPE D, 1993. Le client retrouvé : guide pratique de la qualité totale, Edition Eyrolles, 248p.

-R-

Ranson, P. S. 2003. L'alimentation de la carpe (*Cyprinus carpio*) dans son biotope et enélevage. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort 119p.

Reda R. M., Ibrahim R.E., El-Nobi G. A. & El-Bouhy Z.M., 2013. Effect of oxytetracycline and florfenicol as growth promoters on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, **39**: 241–248.

Rolain J-M., 2013. Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. *Frontiers in Microbiology, Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*, **173**(4) 1-10.

-S-

Sanz D., Mata L., Condon S., Sanz MA. & Razquin P., 2010. Performance of a new microbial test for quinolone Residues in muscle. *Food Analytical Methods*, **4**: 212-220.

Sen, A. 1981. Poverty and Famines: An Essay on Entitlement and Deprivation. Oxford, UK: Clarendon Press.

Sitti A.H., 2001. Contribution à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique des produits de la pêche de 1997-2000. Thèse : Méd. Vét : Dakar ; 17p.

Sismotto, M., Paschoal, J.A.R., Teles, J.A., Rezende, R.A.E., Reyes F.G.R.(2014). A simple liquid chromatography coupled to quadrupole time of flight mass spectrometry method for macrolide determination in tilapia fillets. *J. Food Compos. Anal.*, **34**,153-162.

Stentiford G.D., Bignell J.P., Lyons B.P., Feist S.W. (2009). Site-specific disease profiles in fish and their use in environmental monitoring: Marine ecology progress series, **381**(1): 1-15.

Sutra L, Federighi M, Jouve J-L, 1998. Manuel de Bactériologie Alimentaire. 4th ed, Polytechnica, Paris, France

-V-

Vandermeerch S., (2006). Etude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des microorganismes pathogènes. Grade académique. Université libre de Bruxelles, 57p.

-W-

Wang, S., Zhang, H. Y., Wang, L., Duan, Z. J., & Kennedy, I. (2006). Analysis of sulphonamide residues in edible animal products: A review. *Food additives and contaminants*, 23(4),362-384.

World Health Organization (WHO). 1985. *Energy and protein requirements*. Report of a joint FAO/WHO/United Nations University Expert Consultation. WHO Technical Report Series 724. Geneva, Switzerland.

ANNEXES

ANNEXE 01

1. Les milieux de cultures

Milieu de culture	Composition (g/l D'eau distillée)
Plate Count Agar	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone de caséine..... 5,00gr - Extrait de levure 2g, 50 gr - Glucose 1,00gr - Agar 18.00 gr - Eau distillée.....1,00 L
VRBL (gélose Lactosée Biliée au cristal Violé et au Rouge neutre)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone de viande..... 7,00gr - Extrait de levure 3,00gr - Lactose 10,00gr - Sels biliaires 2,00gr - Chlorure de sodium 5 ,00 gr - Rouge neutre 0.03 gr - Cristal violet 18.00 gr - Agar 12.00 gr - Eau distillée.....1,00 L
Gélose Baird Parker	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone de caséine..... 10,00gr - Extrait de viande..... 5,00gr - Extrait autolytique de levure 1,00gr - Pyruvate de sodium 10,00gr - Glycine..... 12,00gr - Chlorure de lithium..... 5,0gr - Agar 15.0gr - Eau distillée..... 0,95 L
Eau peptonée tamponné (EPT) :	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone de viande..... 10.00gr - NaCl..... 5,00gr - Na₂HPO₄, 12H₂O (358.14g/mol) 9.0gr - KH₂P₄O₄ (136.09g/mol)..... 1,50gr - Eau distillée.....1,00 L
Bouillon SFB S/C (Sélénite acide de sodium)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone.....5.00gr - Tryptone..... 8,00gr - Mannitol..... 4,00gr - Phosphate disodique. 4,00gr - L-cystine4.00gr - Eau distillée.....1,00 L
Disque SFB	<ul style="list-style-type: none"> - Sélénite acide de sodium..... 360,30gr - Eau distillée.....0,30L
Bouillon Salinite se Sodium	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone de caséin et viande..... 5,0g - Lactose 4,0g - Phosphate de sodium 10,0g -Sélénite acide de sodium..... 3, 0g - Eau distillée.....0,30L
La gélose Salmonella Shigella (SS)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone.5,00gr - Extrait de viande 5,00gr - Lactose..... 10,00gr - Sels biliaires8,50gr -Thiosulfate de sodium 8.50 gr -citarte ferrique ammoniacal1,00 gr - Rouge neutre..... 0.03 gr -Citarte de sodium 8.50 gr - Agar..... 15.00 gr - Eau distillée 1,00 L

ANNEXE 02 : Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (Produits de la pêche et de l'aquaculture)

18		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39		8 Chaoual 1438 2 juillet 2017	
5- Produits de la pêche et de l'aquaculture					
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Produits de la pêche et de l'aquaculture fabriqués à partir d'espèces de poissons associés à une grande quantité d'histidine (1) (2)	Histamine	9	2	100 mg/kg	200 mg/kg
Produits de la pêche et de l'aquaculture ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, fabriqués à partir d'espèces de poissons associés à une grande quantité d'histidine à l'exception de sauce de poisson (1)	Histamine	9	2	200 mg/kg	400 mg/kg
Sauce de poisson produite par fermentation de produits de la pêche et de l'aquaculture	Histamine	1	—	400 mg/kg	
Poissons, céphalopodes et mollusques crus (sauf mollusques bivalves vivants) (3)	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes marins vivants (4) (5)	<i>Escherichia coli</i>	5	1	230 NPP*/100g	700 NPP/ 100 g
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crustacés crus décortiqués	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crustacés crus entiers et échinodermes crus	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crustacés cuits entiers et échinodermes cuits	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Produits décortiqués et décoquillés de crustacés et de mollusques cuits	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ⁵	5.10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	4	40
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

* npp : nombre le plus probable.

Art. 3. — Les catégories des denrées alimentaires auxquelles s'appliquent les dispositions du présent arrêté sont :

- les laits et les produits laitiers ;
- les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés ;
- les produits de la pêche et de l'aquaculture ;
- les graisses animales et végétales ;
- les conserves et les semi-conserves ;
- les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge ;
- les céréales et les produits dérivés ;
- les plats préparés ;
- les eaux, les jus de fruits et de légumes et les boissons non alcoolisées ;
- les fruits, les légumes et les produits à base de végétaux ;
- les œufs, les ovoproduits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries ;
- les confiseries ;
- les autres denrées alimentaires prévues au point 15 de l'annexe I du présent arrêté.

Art. 4. — Les denrées alimentaires, citées à l'article 3 ci-dessus, ne doivent pas contenir de micro-organismes ni leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un risque inacceptable pour la santé du consommateur.

Art. 5. — Les intervenants responsables de la mise à la consommation des denrées alimentaires doivent veiller au respect des critères microbiologiques fixés aux annexes I et II du présent arrêté.

Art. 6. — Les critères microbiologiques relatifs aux denrées alimentaires énumérées à l'article 3 ci-dessus, sont fixés à l'annexe I du présent arrêté.

Art. 7. — Les techniques de prise d'essai et d'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires sont fixées à l'annexe II du présent arrêté.

Art. 8. — Les paramètres n, c, m et M utilisés dans les annexes du présent arrêté représentent :

- n : nombre d'unité constituant l'échantillon ;
- m : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante ;
- M : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur au dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme inacceptable ;

— c : nombre maximal d'unités d'échantillonnage de produit analysé qui peut dépasser « m » tout en étant inférieur à « M » sans que le lot ne soit rejeté.

Art. 9. — Les conserves alimentaires, quelle que soit la nature de l'emballage employé, doivent satisfaire, avant leur mise à la consommation, aux épreuves de stabilité prévues par la réglementation en vigueur.

Art. 10. — Les épreuves de stabilité sont exclues pour les conserves alimentaires conditionnées dans des emballages métalliques, en verre, en plastique, en complexes métaloplastiques ou en complexes carton-métal-plastique présentant des défauts majeurs tels que, le bombement, le flochage et le fuitage.

Art. 11. — A l'issue des différentes épreuves effectuées sur les conserves alimentaires :

- aucun défaut apparent, notamment, le bombement ou le fuitage, ne doit être constaté ;
- la variation de pH entre les unités d'échantillonnage étuvées et l'unité d'échantillonnage témoin mises à la température ambiante pendant les périodes retenues, ne doit pas dépasser 0,5 unité.

Art. 12. — Toute disposition contraire au présent arrêté, notamment les dispositions de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, sont abrogées.

Art. 13. — Les dispositions du présent arrêté entrent en vigueur une année après sa date de publication au *Journal officiel*.

Art. 14. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016.

Le ministre
du commerce

Bekhti BELAIB

Le ministre de l'industrie
et des mines

Abdesselem BOUCHOUAREB

Le ministre de l'agriculture,
du développement rural
et de la pêche

Abdesselam CHELGHOUM

Le ministre des ressources
en eau et de l'environnement

Abdelkader OUALI

Le ministre de la santé, de la population
et de la réforme hospitalière

Abdelmalek BOUDIAF

ANNEXE 03 : Table De Mac Grady Pour 3 Tubes Par Dilution.

Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilutions retenus			NPP	Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilutions retenus			NPP
0	0	0	< 0,3	2	2	1	2,8
0	0	1	0,3	2	3	0	2,9
0	1	0	0,3	3	0	0	2,3
0	2	0	0,6	3	0	1	4
1	0	0	0,4	3	0	2	6
1	0	1	0,7	3	1	0	4
1	1	0	0,7	3	1	1	7
1	1	1	1,1	3	1	2	12
1	2	0	1,1	3	2	0	9
1	2	1	1,5	3	2	1	15
1	3	0	1,6	3	2	2	21
2	0	0	0,9	3	2	3	29
2	0	1	1,4	3	3	0	20
2	1	0	1,5	3	3	1	50
2	1	1	2,0	3	3	2	110
2	2	0	2,1	3	3	3	> 110

Résumé de mémoire : Master 02 en microbiologie appliquée

Intitulé : Dépistage de résidus d'antibiotique dans la chair de Tilapia du Nil « *Oreochromis ssp* » ‘ Méthode microbiologique ‘

Auteurs : El Mokli Nour El Houda & Soualhi Rayenne

Année : 2021/2022

Résumé

La présente étude consiste à un **dépistage de résidus d'antibiotique** dans les tissus de Tilapia du Nil (*Oreochromis ssp*) et **l'évaluation la qualité microbiologiques** du poisson et de l'eau des aquariums expérimentaux.

Globalement, les individus d'*Oreochromis ssp* ont un poids totale (Wt) qui varie ($19 \leq Wt (g) \leq 89$) avec une longueur varie ($10,5 \leq Lt(cm) \leq 16,4$). Ces Tilapias ont suivi une antibiothérapie par baignade avec cinq (05) doses référentielles de l'érythromycine pendant dix (10) jours et une dose orale d'ordre 0,1g/j (pendant trois (03) jours » avec les sulfamides.

Les résultats des analyses macroscopiques des poissons, ont montré la présence de diverses altérations tant sur l'état morphologique. Des poissons ont manifesté des exophtalmie, perte d'œil, érosions, déformations.

Les résultats de dénombrement de tous les groupes bactériens présents dans les tilapias et l'eau d'aquarium étudiés, font apparaître que dans l'ensemble des sites échantillonnés, les teneurs en bactéries relevées révèlent l'existence de niveaux de contamination par les coliformes totaux, les coliformes thermotolérants, les FTAM. Notons l'absence totale des staphylocoques et salmonelle.

Le dépistage de résidus « méthode des quatre (04) boîtes » d'antibiotique dans le foie d'*Oreochromis ssp*. Déclare que ces Tilapias sont **IMPROPRE** à la consommation humaine. EN revanche, L'indice d'altération indique que Ces poissons Sont **FRAIS-propre** à consommer !! **Ce résultat** constitue un réel problème de santé publique, non seulement en raison de la présence de résidus d'antimicrobiens dans les tissus comestibles, qui peuvent provoquer des réactions allergiques chez les personnes hypersensibles. mais aussi en raison **de l'émergence de résistances bactériennes**.

Mots clés : dépistage de résidus d'antibiotiques, *Oreochromis ssp*, érythromycine, sulfamide anomalies macroscopiques, qualité microbiologique (eau et poisson).