

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE 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

**La phytothérapie chez les poissons d'élevage Tilapia du Nil :
une approche socio-économique des antimicrobiens.**

Présenté par :

Chabane chaouche Romeissa

Hammoda Aasma

Remmache Oumeima

Sadaoui Cheima

Examiné par :

Prof. ZAIDI Nedjoua	Université 20 aout 1955 Skikda	Prof	Présidente
Dr. LAIB Imène	Université 20 aout 1955 Skikda	MCA	Examinatrice
Dr BOUCETTA Sabrine	Université 20 aout 1955 Skikda	MCA	Encadreur
Doctorante Derdachi Romeissa	Université 20 aout 1955 Skikda	Docto rante	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*Avant tout, nos remerciements à **ALLAH** tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail*

*Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre encadreur **Dr BOUCETTA Sabrina** maître de conférences -A- pour avoir encadré ce travail, pour son aide, sa disponibilité, ses conseils et sa patience et bien sûr n'oublie pas son fils **Hani**.*

*Nous remercions également **Mme ZAIDI Nedjoudja** professeur en université 20 Aout 1955 Skikda pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nos remerciements sont adressés également à **Mme LAIB Imène** maître de conférences -A- notre enseignante et membre de jury examinateur.*

*Nous remercions **Mme MACHIA Leila** maître assistante -A- notre enseignante pour ses aides, ses conseils scientifiques et ses encouragements.*

*Nous remercions **Mme BECHEKER** notre enseignante pour ses aides et ses conseils scientifiques.*

*Nous remercions toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de la Willaya de Skikda spécialement à **Mr ZAYED Nacer** qui était trop généreux avec nous, C'est un honneur de travailler avec telles personnes compétentes.*

*Nous remercions **Mr BOUZOUALEGH Raouf** et **Mr Nadjib Charef** enseignant ITPA COLLO pour ses aides et ses conseils.*

*Nous remercions notre **Ami Selsabil** pour nous apporter la plante.*

*Nous remercions aussi **l'équipe de laboratoire de la microbiologie** université Skikda.*

*Nous remercions aussi **DERDACHI romeissa** et **ma cousine Sara** pour ses aides.*

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace :

*Nous remercions Allah tout-puissant qui nous a permis de mener a bien cette
travaille et qui inspire avec santé, bien être et détermination.*

Allah merci, merci beaucoup.

Je dédie ce modeste travail

*A celle qui m'a mis sur le chemin de la vie jusqu'à ce que j'atteigne aujourd'hui, a
celle dont les bénédictions sont innombrables, ma mère.*

A mon cher père qui était un soutien et un certain.

A mon cher mari.

A tout mes frères et mes sœurs.

A tout mes collègues.

Merci beaucoup j'espère vous avoir satisfait et vous avoir rendu fier.

Dédicace

Je rends grâce au Allah le tout puissant, le clément et le miséricordieux. Qui m'a donné la force, la patience et le courage pour compléter ce travail.

Je dédie ce travail à

*Mes chers parents **Samir** et **Fatima**, pour leurs sacrifices, le soutien et les encouragements qu'ils m'ont apportés.*

pour tout ce que vous m'avez donné dans cette vie, qu'Allah vous garde à moi.

J'espère qu'ils seront fiers de moi.

*Mon très cher frère : **Abderrahmane** je te souhaite tout le bonheur du monde et un avenir plein de succès.*

*Mes chères sœurs : **Rihab** et **Aya**.*

*Mes grands-mères **Zohra** et **Faiza**, Je demande à Dieu de vous protéger et de prolonger vos vies.*

*Toute ma famille paternelle et maternelle **Sadaoui**.*

Mes très chères amies sans exception.

*Mes collègues de travail de fin d'étude **Aasma**, **Romeissa** et **Oumeima**.*

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail.

A toute la promotion de la microbiologie appliquée

2022-2023

Cheima

Dédicace :

Je dédie ce mémoire

A ma chère mère *REMMACHE Hafida*

A mon cher père *Said*

Pour leurs patience, leurs amour, leurs soutien et leurs encouragements

Merci de m'avoir donné la meilleure vie

A mes frères *Abd Nasser* et *Mohamed Adem*

A mes sœurs *Azza* et *Bouchra* et *Khouloud*

je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur et beaucoup de succès dans
votre vie mes frères et mes soeurs

A ma grand-mère *Fatima* et mes grands-pères *Mohamed* et *Salah*

A mon oncle *Amar* et sa femme *Nadia*

A mes amies proches

LAOUR Amani et *NETTOUR Manel*

vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter

Je souhaite beaucoup de succès dans votre vie

Oumeima

Dédicace

avant tout , Merci dieu de m'avoir donné la force , la capacité de réfléchir , la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Alhamdoulilleh ».

Je dédie ce modeste travail avec toute la profondeur de mes sentiment :

À celui qui m'a inculqué l'amour de la connaissance et m'a donné la confiance et le courage d'atteindre ce stade, mon cher père.

À celle qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, à celle qui mérite toute ma gratitude , ma chère mère .

À mes chers frères et sœurs , la source du sourire et l'espérance dans ma vie , Ceux qui m'ont soutenu dans les moments de doute et d'abandon, alors ils ont davantage cru en moi.

À mes tantes , mes cousins et toute ma famille , ma source de pouvoir et mes efforts à ceux qui sont toujours présents pour moi inconditionnellement .

À mes amis, pour leurs précieux encouragements .

À Mes collègues, avec qui j'ai partagé les moments difficiles,persévérance, détermination et désir d'atteindre notre objectif .

Romeissa

Initulée : La phytothérapie chez les poissons d'élevage Tilapia du Nil : une approche socio-économique des antimicrobiens. **Spécialité :** Microbiologie appliquée

Auteurs : Sadaoui Cheima ; Chabane chaouche Romeissa ; Remmache Oumeima ; Hammouda Aasma.

Année : 2022-2023

Résumé :

Nous avons étudié et comparé les effets de l'antibiotique OTC « oxytétraccline » et de l'ail (*Allium sativum*), utilisés comme antimicrobiens et immunostimulants, sur certains paramètres physiologiques, la performance de croissance, le taux de survie et les caractéristiques bactériologiques du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*). Ces Tilapia ont un poids total (Wt) qui varie ($35 \leq \text{wt (g)} \leq 117$) avec une longueur varie ($13 \leq \text{Lt (cm)} \leq 18.5$). ils ont été assignés à huit traitements, avec trois répétitions chacun. Les groupes de traitement ont reçu une quantité différente d'*Allium sativum* (0,3 ; 0,45 et 0,6g de régime) et de l'OTC (0,1 ; 10,25,50 et 100mg/l par baléation) ; le régime du groupe de contrôle était exempt d'ail et d'antibiotique. Les régimes contenaient également 32 % de protéines brutes et ont été administrés à raison de 3 % du poids corporel vivant deux fois par jour pendant 30 jours. Les résultats ont montré que le poids final et le taux de croissance spécifique (SGR) d'*O. niloticus* augmentaient de manière significative avec des niveaux croissants d'*Allium sativum* et de l'OTC. En terme de dominance (%) de l'altération microbiologique est comme suit : tissus > branchie > intestin respectivement (57,14% ; 5,71% ; 7,14%). une nette prépondérance de *Staphylococcus* dans les intestins et les branchies respectivement (80% ; 60%), suivi par le genre *Klebsiella* dans les tissus et branchies respectivement avec (25% ; 20%). L'antibiogramme (OTC), montrent une hypersensibilité *Klebsiella* et *S.aureus* avec des diamètres d'inhibition respectivement [41 mm et 40 mm]. L'Aromatogramme l'extrait d'Ail (*Allium sativum*), présente des diamètres d'inhibition varie de [le régime avec 0,3g présente, d'une part une sensibilité de taille de [12 mm - 20mm] avec les souches de (*P. aeruginosa* et *S.aureus*, *E.coli*, *streptococcus* et *entérobacter*). la détermination de la CMI a montré que les concentrations de l'extrait utilisés possèdent une action moins inhibitrice de la croissance des souches testées par rapport à la méthode de l'antibiogramme standard. Tous les niveaux d'*Allium sativum* et de l'OTC ont réduit au niveau de la chair d'*O.niloticus* [la flore totale aérobie mésophile (FMAT) et les coliformes thermo tolèrent (CTT) et aussi des *staphylocoques* . Notant l'absence totale des *salmonelles*.] et les Coliformes totaux et stréptocoques au niveau de l'eau des aquariums. **La Qualité sanitaire bonne, toutes numération bactérienne quelques soit la thérapie est inférieure aux normes Algérienne** la plupart des denrées alimentaires issues des produits de la pêche et de l'aquaculture. Conformément à la réglementation en vigueur (JORADP 2017). Nous pouvons suggérer que l'ajout de 3 % d'*Allium sativum* au régime alimentaire des poissons peut favoriser la croissance, réduire le nombre total de bactéries et améliorer la santé des poissons. Le dépistage de résidus d'antibiotiques dans le foie, l'intestin, le muscle des tilapia traités par antibiotique (OTC) par la méthode microbiologique de référence dite les quatre (04) boîtes, est **POSITIF**, cela veut dire qu'à ce stade les poissons par l'OTC sont **IMPROPRE** à la consommation. Nos résultats ont prouvé l'efficacité du **pouvoir antimicrobien** des deux régimes (OTC et extrait d'Ail « *Allium sativum* »). En revanche, en ce qui concerne la salubrité des denrées alimentaires d'origine animale, la phytothérapie est très indispensable pour la sauvegarde du bien être animale et la santé publique.

Mots Clé : *Allium sativum*, OTC, tilapia du Nil, qualité microbiologique, antibiogramme, detection de résidus par voie microbiologique.

Title : *Phytotherapy in farmed Nile Tilapia fish: a socio-economic approach to antimicrobials.*

Speciality: *Applied microbiology*

Authors : *Sadaoui Cheima ; Chabane chaouche Romeissa ; Remmache Oumeima ; Hammouda Aasma.*

Year : *2022-2023*

Abstract:

We studied and compared the effects of the OTC antibiotic "oxytetracycline" and garlic (*Allium sativum*), used as antimicrobials and immunostimulants, on some physiological parameters, growth performance, survival rate and bacteriological characteristics of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). These Tilapia varied in total weight (Wt) ($35 \leq \text{wt (g)} \leq 117$) with varying length ($13 \leq \text{Lt(cm)} \leq 18.5$). they were assigned to eight treatments, with three replicates each. The treatment groups received a different amount of *Allium sativum* (0.3; 0.45 and 0.6g diet) and OTC (0.1;10,25,50 and 100mg/l per balenation); the control group diet was free of garlic and antibiotic. The diets also contained 32% crude protein and were administered at a rate of 3% of live body weight twice a day for 30 days. The results showed that the final weight and specific growth rate (SGR) of *O. niloticus* increased significantly with increasing levels of *Allium sativum* and OTC. In terms of dominance (%) of microbiological alteration is as follows tissues> gill> intestine respectively (57.14%; 5.71%; 7.14%). A clear preponderance of *Staphylococcus* in intestines and gills respectively (80%; 60%), followed by the genus *Klebsiella* in tissues and gills respectively with (25%; 20%). The antibiogram (OTC) showed *Klebsiella* and *S.aureus* hypersensitivity with inhibition diameters of [41 mm and 40 mm] respectively. The Aromatogram of Garlic extract (*Allium sativum*) showed inhibition diameters varying from [the 0.3g regimen showed a sensitivity of [12 mm - 20 mm] with strains of (*P. aeruginosa* and *S.aureus E.coli, streptococcus and enterobacter*). the determination of the MIC showed that the concentrations of the extract used have a less inhibitory action of the growth of the tested strains compared to the standard susceptibility method. all levels of *Allium sativum* and OTC were reduced in the flesh of *O.niloticus* [total aerobic mesophilic flora (FMAT) and thermotolerant coliforms (CTT) and also *staphylococcus* . Noting the total absence of salmonella. Total coliforms and streptococci in aquarium water. The sanitary quality is good, with all bacterial counts, whatever the therapy, below Algerian standards for most foodstuffs derived from fishery and aquaculture products. In accordance with current regulations (JORADP 2017). We can suggest that the addition of 3% *Allium sativum* to the fish diet can promote growth, reduce the total number of bacteria and improve fish health. The detection of antibiotic residues in the liver, intestine and muscle of tilapia treated with antibiotics (OTC) by the microbiological reference method known as the four (04) boxes, is POSITIVE, meaning that at this stage the fish treated with OTC are not healthy for human consumption. Our results proved the effectiveness of the antimicrobial power of the two diets (OTC and "*Allium sativum*" garlic extract). However, as far as the safety of foodstuffs of animal origin is concerned, phytotherapy is essential for safeguarding animal welfare and public health.

Key words: *Allium sativum, OTC, Nile tilapia, microbiological quality, antibiogram, residue detection microbiology assays.*

ملخص:

قمنا بدراسة ومقارنة تأثيرات المضاد الحيوي 'أوكسي تتراسكلن' و مستخلص الثوم (*Allium sativum*) ، اللذين يستخدمان كمضادات للميكروبات ومنبهات المناعة ، على بعض المعايير الفسيولوجية ، وأداء النمو ، ومعدل البقاء على قيد الحياة والخصائص البكتريولوجية للبلطي النيلي.. (*Oreochromis niloticus*). تلتقت المجموعات العلاجية كمية مختلفة من *Allium sativum* (0.3 ؛ 0.45 و 0.6 جرام حمية) و OTC (0.1 ؛ 10.25 و 50 و 100 ملجم / لتر لكل بلنة) ؛ كانت حمية المجموعة الضابطة خالية من الثوم والمضادات الحيوية. كما احتوت الوجبات الغذائية أيضًا على 32٪ بروتين خام وتم تناولها بمعدل 3٪ من وزن الجسم الحي مرتين يوميًا لمدة 30 يومًا. أظهرت النتائج أن الوزن النهائي ومعدل النمو النوعي (SGR) لـ *O. niloticus* زاد بشكل معنوي مع زيادة مستويات *Allium sativum* و OTC. من حيث السيادة (٪) من التغيرات الميكروبيولوجية كما يلي الأنسجة < الخيشومية > الأمعاء على التوالي (57.14٪ ؛ 5.71٪ ؛ 7.14٪). غلبة واضحة من *Staphylococcus* في الأمعاء والخياشيم على التوالي (80٪ ، 60٪) ، يليها جنس *Klebsiella* في الأنسجة والخياشيم على التوالي بنسبة (25٪ ، 20٪). أظهر المضاد الحيوي (OTC) فرط الحساسية للكليسيلا والمكورات العنقودية الذهبية بأقطار تثبيط [41 مم و 40 مم] على التوالي. أظهر التصوير العطري لمستخلص الثوم (*Allium sativum*) أقطار تثبيط متفاوتة من [أظهر نظام 0.3 g حساسية [12 مم - 20 مم] مع سلالات (*P. aeruginosa*) و (*S. aureus* ، *E. coli* ، *Streptococcus*) وأظهر أن تركيزات المستخلص المستخدم لها عمل أقل تثبيطًا لنمو السلالات المختبرة مقارنة بطريقة القابلية القياسية تم تقليل جميع مستويات *Allium sativum* و OTC في لحم *O. niloticus* مجموع الهوائية النباتات ميسوفيليك (FMAT) والقولونيات المقاومة للحرارة (CTT) وكذلك المكورات العنقودية. مع ملاحظة الغياب التام للسالمونيلا. مجموع القولونيات والعقديات في مياه الحوض. الجودة الصحية جيدة ، مع جميع العوامل البكتيرية ، مهما كان العلاج ، أقل من المعايير الجزئية لمعظم المواد الغذائية المشتقة من منتجات المصايد والاستزراع المائي. وفقًا للوائح الحالية. (JORADP 2017) يمكننا أن نقترح أن إضافة 3٪ *Allium sativum* إلى حمية الأسماك يمكن أن يعزز النمو ويقلل العدد الإجمالي للبكتيريا ويحسن صحة الأسماك. يعد اكتشاف بقايا المضادات الحيوية في الكبد والأمعاء وعضلات البلطي المعالج بالمضادات الحيوية (OTC) بالطريقة المرجعية الميكروبيولوجية المعروفة باسم الصناديق الأربعة (04) إيجابيًا ، مما يعني أنه في هذه المرحلة تكون الأسماك المعالجة بوصفة طبية غير صحية. للاستهلاك البشري. أثبتت نتائجنا فعالية القوة المضادة للميكروبات للوجبتين (مستخلص الثوم OTC و *Allium sativum*). فيما يتعلق بسلامة المواد الغذائية من أصل حيواني ، فإن العلاج بالنبات ضروري لحماية رفاهية الحيوان والصحة العامة.

الكلمات المفتاحية *Allium sativum* ، OTC ، البلطي النيلي ، الجودة الميكروبيولوجية ، المضاد الحيوي ، التصوير العطري ، كشف المخلفات.

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des Annexes	

Table des matières

Résumés

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1. Les souches bactériennes.....	6
1.1. <i>Klebsiella</i>	6
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1.3. <i>Streptocoque</i>	6
1.4. <i>Escherichia coli</i>	6
1.5. <i>Bacillus subtilis</i>	7
1.6. <i>Enterobacter</i>	7
2. Les antibiotiques.....	7
2.1. Les tétracyclines.....	7
2.2. Mode d'action des antibiotiques.....	8
2.3. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire.....	8
2.4. Résistance des antibiotiques.....	8
3. Les résidus d'antibiotique.....	9
3.1. Les risques présentés par les résidus d'antibiotiques.....	9
3.2. Méthode microbiologique.....	9
3.3. Méthode de référence : méthode des quatre boîtes.....	9
4. L'ail (l'<i>Allium Sativum</i>).....	10
4.1. Présentation de l'ail (<i>Allium Sativum</i>).....	10
4.2. Effets thérapeutiques de l'ail.....	10
4.3. Effet antimicrobienne.....	10
4.4. L'huile essentielle d' <i>Allium Sativum</i>	11

Chapitre 02 : Matériels & Méthodes

1. Matériels.....	12
1.1. Matériel végétal.....	12
1.2. Matériels biologiques.....	13

1.2.1. Poissons vivants "Tilapia"	12
1.2.2. Souches bactériennes	12
1.2.3. Matériels de laboratoire.....	12
2. Méthodes	13
2.1 Travaux réalisés au laboratoire.....	13
2.1.1. Aquari-experimentale.....	13
2.1.2. Caractères morphométries et pondérales	14
2.2. Extraction	15
2.2.1 Préparation du matériel végétal	15
2.2.2. Principe de rotavapor	16
2.3. Echantillonnage et analyse bactériologique	16
2.3.1. Poisson (branchies, intestin, peau)	16
2.3.2. Eau des aquariums.....	17
2.3.3. Identification des bactéries sélectionnées	18
2.3.3.1. Identification macroscopique	18
2.3.3.2. Identification microscopique.....	18
2.3.3.3. Identification sur milieu chromagar	19
2.3.3.4. Test biochimique	19
2.4. Test de l'activité antibactérienne	19
2.4.1. Les souches testées.....	19
2.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)	19
2.4.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme).....	21
2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu solide.....	23
2.5. Contrôle de qualité microbiologique alimentaire	23
2.5.1. Méthode d'analyses.....	24
2.5.1.1. Protocole d'analyse	24
2.5.1.2. Dénombrement et calcul des UFC colonies.....	28
2.5.2. Interprétation des résultats de la qualité microbiologique.....	28
2.6. Les analyses bactériologiques de l'eau d'aquarium.....	29
2.6.1. La recherche et dénombrement des coliformes totaux	29
2.6.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	30
2.7. Méthode de détection des résidus d'antibiotiques.....	31
2.7.1. Principe	31
2.7.2. Familles d'antibiotiques recherchées	31
2.7.3. Préparation des microorganismes sensibles.....	32
2.7.4. Préparation des solutions d'antibiotiques témoins.....	34
2.7.5. Mode opératoire	35

Chapitre03 : Résultats et discussion

1. Résultats morphométriques et pondérale	37
2. Caractérisation de la Flore	37
2.1. Caractères culturaux.....	37
2.1.1. Etude macroscopique	37
2.1.2. Etude microscopique	39
2.1.2.1. Examen après coloration de Gram	39
2.1.2.2. Teste biochimiques	41
3. Résultats de l'activité antibactérienne	41
3.1. Profil aux résistances aux antibiotiques	41
3.2. Résultats de de Méthode de diffusion en milieu gélosé	43
3.3. Détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu solide	45
4. Résultat de contrôle de qualité microbiologique alimentaire (poisson frais)	49
4.1. Flore totale aérobie mésophile (FTAM)	49
4.2. Coliforme thermo tolérants (CTT)	50
4.3. Staphylocoque à coagulase +	52
4.4. Salmonella.....	52
5. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau des aquariums	53
6. Résultats de détection des résidus des antibiotiques	59
6.1. Résultats selon la famille d'antibiotique rechercher.....	59
6.1.1. Résidus de tétracycline avec la bactérie pathogène <i>Bacillus subtilis</i>	59
Conclusion et perspectives	63
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

%	Pour cent.
AMU	L'utilisation d'agents antimicrobiens
ATB	:Antibiotiques.
BCPL	:le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
BMR	: bactéries multi-résistantes
Bs	: <i>Bacillus subtilis</i> .
CMI	:Concentration minimale inhibitrice.
CTT	:les coliformes thermo tolèrent.
E. coli	:Escherichia coli.
EP	:Eau physiologique.
EPT	:Eau peptone tamponnée.
FAO	:Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
FMAT	:Flore mésophile aérobie totale.
GN	:Gélose nutritive.
HCl	:Chlorure d'hydrogène.
HE	:Huile essentielle
H₂O₂	:peroxyde d'hydrogène.
JORA	:Journal Officiel Algérie.
LMR	:Limites maximales de résidus.
LT	:longueur totale.
MH	:Muller Hinton.
NaOH	:Hydroxyde de sodium.
NPP	:nombre le plus probable.
OTC	:oxytétracycline.
PCA	:Giolitti Cantoni, Plate Count Agar
pH	:Potentiel hydrogène.
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i> .
SFB	: Bouillon Sélénite- cystéiné.
SM	:Solution mère.
TE	:Tétracycline.

TSE	:Tryptone sel eau.
TSI	:Triple Sugar Iron.
UFC	:Unité Formant Colonie.
VF	:Viande foie.
VRBG	:Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.
WHO	:World Health Organization.
WT	: Poid totale.

Les unités de mesure :

C°	:Degré Celsius
C	:Centimètre.
g	:gramme.
Kg	:Kilogramme.
mg	:milligramme.
ml	:millilitre.
mm	:millimètre.

Liste des figures

Figure 1 : l'arrivée des échantillons au laboratoire (à droite cliché personnelle).....	12
Figure 2: conservation des poissons vivant au laboratoire (à droite cliché personnelle).....	13
Figure 3 : aqua-expérimentale au laboratoire SNV université du 20 août 1955 skikda (photos personnelles)	14
Figure 4 : Différentes mensurations faites sur tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> (cliché personnelle).....	15
Figure 5 : Process de l'extrait de l'Ail(Laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda)	16
Figure 6 : Analyses bactériologiques des bio essais (Laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda, photos personnelles).....	17
Figure 7 : coloration de Gram (Photos prise laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda)	19
Figure 8 : Antibiogramme(Photos prise Laboratoire SNV).....	21
Figure1 : Schéma simplifié la méthode de l'aromatogramme (Photo personnelle, 2023) d'après (Zaika, 1988	22
Figure2 : Critères microbiologiques des denrées alimentaires produits de pêches (JORADP.2017).....	23
Figure 11: Etapes de la préparation de la solution mère (Photos personnelles, 2023).....	24
Figure 12: Etapes de la préparation des dilutions décimales (Photos personnelles, 2023).....	25
Figure 13 : Etapes d'isolement des <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu CHAPMAN (Photos personnelles, 2023)	26
Figure 14 : Etapes de la préparation de la solution mère de <i>salmonella</i> (Photos personnelles, 2023).	27
Figure 15 : Le milieu BCPL et les différentes concentrations (10 ml, 1 m, 0,1 ml de l'eau des 07 aquariums expérimentaux)(photo personnelle, 2023).....	30
Figure 16 : Ajustement de pH de milieu de culture(Photos personnelles, 2023).....	33
Figure 17 : Préparation des boîtes de pétri.....	34
Figure 18 : Technique des 4 boîtes mode opératoire pour la souche test <i>Bs</i>	36
Figure 19: Dominances de flore bactérienne en fonction d'organe cible des Tilpias.....	40
Figure 20: Dominances des germes microbiennes trouvés chez les Tilpias	40
Figure 21(A): Résultats Diamètres d'inhibitions des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques	42
Figure 21(B) : Résultats des diamètres d'OTC sur <i>E.Coli</i> et <i>Klebseila</i>	42
Figure 22: Histogramme montrant les Diamètres d'inhibitions des souches étudiées vis-à-vis les doses administrées aux bioessais de l'extrait d' <i>Allium sativum</i>	43
Figure23 : Effet de l'extrait éthanolique d'ail sur différentes souches	44
Figure24 : Détermination de la CMI.....	46

Figure25 : Résultats des FMAT chez <i>O. niloticus</i> (a: traité par l'OTC ; b : Traité par l'extrait de l'ail).....	49
Figure26 : résultat de recherche de la flore aérobie mésophile.....	50
Figure 27 : Résultats des Coliformes thermotolérants (CTT) UFC/ g chez <i>O. niloticus</i>	51
Figure28 : résultat de recherche des coliformes sur VRBG.....	51
Figure 29 : résultats de recherche des <i>S. aureus</i> à coagulase positive	52
Figure30 : résultat de recherches de <i>salmonella</i> sur TSI	52
Figure 31 : Résultats des coliformes totaux del'eau des aquarium (a : L'extrait del'Ail(<i>Allium sativum</i>) ; b : OTC)	53
Figure 32 : Résultats des streptocoques dans de l'eau des aquariums a : L'extrait de l'Ail (<i>Allium sativum</i>) ; b : OTC)	54
Figure 33 : Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « Tétracycline » dans les intestins, les foies, les muscles, des Bio-essais <i>Oreochromis ssp</i> traités. (Après 48 h d'incubation).....	61

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Familles d'antibiotiques recherchées en fonction du microorganisme, du pH du milieu, et de la solution d'antibiotique témoin.	32
Tableau 2: Préparation des solutions d'antibiotiques témoins	35
Tableau 3: Résultats macroscopiques de la flore des bioessaies <i>Oreochromis niloticus</i> Avant l'antibiothérapie mixte	38
Tableau 4: Résultats de l'examen microscopique après coloration de Gram	39
Tableau 5: Résultats de test catalase	41
Tableau 6: Résultats de résidus d'antibiotiques « Tétracycline » (méthodes microbiologique).....	60

Liste des Annexes

Annexe 01: Résultats Morphométrique et pondérale de *O. niloticus* (LT : Longueur totale ; WT : Poids totale).



Introduction Générale

Au niveau mondial, l'aquaculture (marine et d'eau douce) reste l'un des secteurs de production alimentaire à la croissance la plus rapide, avec le potentiel le plus élevé pour aider les pêcheries de capture marines et continentales à répondre à la demande mondiale d'aliments aquatiques (FAO, 2016).

Dans l'aquaculture en eau douce, les tilapias (*Oreochromis niloticus*) sont signalés comme étant le deuxième groupe le plus important de poissons d'élevage, juste après les carpes (Waite et al., 2014). L'impressionnante production mondiale de l'aquaculture est le résultat d'une large adoption de systèmes de production intensifs, qui sont associés à une productivité plus élevée par unité de surface en raison d'une densité d'élevage plus élevée (Basha et al., 2013).

Cependant, la densité d'élevage plus élevée dans les systèmes d'élevage intensif, associée à d'autres activités aquacoles générales telles que la manipulation, le transport et la récolte des poissons, peut être stressante pour les poissons. Cela peut par conséquent conduire à un certain nombre de conditions, y compris une faible capacité métabolique (Santos, et al 2010), une mauvaise qualité de la viande (Jittinandana et al., 2003), une sensibilité accrue aux maladies (Wu et al., 2013a), et dans les cas extrêmes, conduire à la mort (Mckenzie et al., 2012).

Toutes ces contraintes font qu'il est difficile pour les pisciculteurs de convertir les avantages d'un rendement de production plus élevé associé aux systèmes de production intensifs en gains économiques. Depuis 2000, le taux d'augmentation moyen annuel est particulièrement élevé pour les poissons d'eau douce et les mollusques (FAO, 2018).

Afin de tirer un bénéfice économique des systèmes d'élevage intensif, les pisciculteurs ont commencé à utiliser des antibiotiques synthétiques et d'autres médicaments chimiothérapeutiques pour maintenir les poissons d'élevage en bonne santé. L'adoption de ces médicaments en aquaculture semble être uniquement motivée par le profit et non durable, car ils entraînent plusieurs autres contraintes telles que la résistance des poissons aux médicaments pathogènes, l'immunosuppression, la pollution de l'environnement et l'accumulation de résidus chimiques, qui peuvent être potentiellement dangereux pour la santé publique (Bulfon et al., 2013 ; WHO, 2006). Aujourd'hui, la nécessité de remplacer les antibiotiques et autres produits chimiques synthétiques par des compléments alimentaires ou des ingrédients capables de renforcer la santé des poissons, d'améliorer leur croissance, leur capacité d'utilisation des aliments et, en fin de compte, d'assurer la sécurité et la bonne qualité des produits issus de l'aquaculture devient de plus en plus vitale.

Au cours des deux dernières décennies, le nombre de recherches a augmenté avec des conclusions communes selon lesquelles les extraits de plantes médicinales ont le potentiel d'éradiquer l'utilisation de produits chimiques synthétiques tels que les antibiotiques et autres médicaments chimio-thérapeutiques en aquaculture. Les extraits de plantes médicinales se distinguent comme des alternatives potentielles aux médicaments synthétiques en aquaculture car ils fournissent des métabolites biologiquement actifs utiles avec divers avantages tels que la modulation immunitaire (Zanuzzo et al., 2015 ; Yang, et al., 2015 ; Yilmaz, & Ergün, 2018 ; Yilmaz, 2019a,2019b), des effets stimulant la croissance, antioxydant, antidépresseur, digestif, appétitif (Zhang et al., 2010 ; Mahdavi et al., 2013; Gabriel et al., 2015) et des effets hépatoprotecteurs (Yilmaz, et al., 2015 ; Yilmaz et al., 2014), s'ils sont correctement administrés. Une autre raison est que les extraits de plantes médicinales sont facilement disponibles, peu coûteux et ont tendance à être plus biodégradables que les médicaments synthétiques (Olusola et al., 2013 ; Reverter et al., 2014).

Récemment, de nombreuses études ont été consacrées à l'utilisation potentielle d'extraits de plantes médicinales en aquaculture (Bulfon et al., 2013 ; Reverter et al., 2014 a et b ; Van Hai, 2015). Cependant, très peu d'études ont examiné l'efficacité des extraits de plantes médicinales en se concentrant sur une espèce de poisson spécifique. Les revues qui se sont concentrées sur des espèces de poissons spécifiques comprennent des études sur l'efficacité des prébiotiques chez les carpes (Dawood & Koshio, 2016), *Sparus aurata* et *Dicentrarchus labrax* (Carbone & Faggio, 2016). À ce jour, aucune étude n'a examiné spécifiquement les études sur les extraits de plantes médicinales chez l'espèce tilapia (l'un des poissons les plus importants de l'aquaculture en eau douce), malgré de nombreuses études expérimentales (Yilmaz et al., 2012 ; Bulfon et al., 2013 ; Yilmaz et al., 2013 a et b; Güllü et al., 2016 ; Gültepe et al., 2014 ; Gurkan et al., 2015 ; Acar et al., 2015 ; Baba et al., 2016; Mo et al., 2016), à l'exception de (Gabriel et al., 2015). Cependant, ces dernières se sont limitées aux effets d'inversion sexuelle des extraits de plantes dans les systèmes de production de tilapia. Il s'agit donc de la première étude à examiner de manière critique l'efficacité des extraits végétaux en tant que stimulateurs de croissance, appétissants, antioxydants, antidépresseurs, immunostimulants et agents d'inversion sexuelle dans l'élevage du tilapia. Cette étude a également examiné les lacunes dans les connaissances existantes et la voie à suivre pour l'utilisation d'extraits de plantes médicinales dans l'aquaculture du tilapia, car leur utilisation peut être une stratégie durable et faisable pour le succès de la culture du tilapia en particulier et de l'aquaculture en général.

Dans de nombreux pays, le poisson est consommé et considéré comme une bonne source de protéines alimentaires. Les poissons fournissent des protéines essentielles de haute qualité. Selon la (FAO, 2007), le poisson est la source unique la plus importante de protéines de haute qualité, fournissant environ 16 % des protéines animales consommées par la population mondiale. En Afrique, le poisson constitue environ 17% des protéines animales consommées (Allison et al.,2009). Le poisson a des valeurs nutritionnelles telles que la faible teneur en graisses saturées et une bonne source d'acides gras essentiels, les acides gras oméga-3 qui ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain. Le poisson est connu pour sa faible teneur en de cholestérol et sont très digestes, ce qui fait qu'ils conviennent aux nourrissons, aux enfants, et les personnes âgées. Il est relativement bon marché par rapport à d'autres produits carnés tels que le bœuf et la volaille ; il est donc plus abordable pour la plupart des gens.

En Algérie, une opération de financement de 1.000 projets au profit des investisseurs dans le domaine de l'aquaculture, plus précisément l'élevage de Tilapia rouge, a été lancée mardi à Alger par la Chambre algérienne de la pêche et de l'aquaculture (Capa) et l'Agence nationale d'appui au développement de l'entrepreneuriat (Anade). (Belakri N., 2023).

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, 2005 ; 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'oxytetracycline 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).

Aujourd'hui, le développement et la propagation de la résistance aux antimicrobiens sont devenus un problème mondial de santé publique qui est influencé par l'utilisation humaine et non humaine des antimicrobiens (OIE/FAO/OMS 2022). Il est généralement admis que toute utilisation d'agents antimicrobiens peut conduire à l'émergence de micro-organismes résistants aux antimicrobiens et favoriser la dissémination de bactéries résistantes et de gènes de résistance (OIE/FAO/WHO 2020). En outre, les gènes de résistance ne respectent pas les frontières phylogénétiques, géographiques ou écologiques. Ainsi, l'utilisation d'antimicrobiens dans un domaine, tel que l'aquaculture, peut avoir un impact sur la situation de la résistance dans un autre domaine, tel que la médecine humaine, et les problèmes de résistance dans un pays peuvent s'étendre à un autre pays.

L'utilisation d'agents antimicrobiens (AMU) dans l'aquaculture peut entraîner une augmentation de la prévalence des bactéries résistantes (BMR) qui peuvent être transmises à l'homme et causer des infections chez ce dernier. Cette propagation directe de la résistance de l'environnement aquatique à l'homme peut se produire en raison (1) de la consommation de produits alimentaires issus de l'aquaculture ou de l'eau de poisson, et (2) du contact direct avec l'eau ou les organismes aquatiques, ou de la manipulation de produits alimentaires issus de l'aquaculture. Ces bactéries comprennent

(1) (*Aeromonas spp.* mobiles, *Edwardsiella tarda*, *Escherichia coli*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus* (liste alphabétique) (WHO, 2018).

(2) *Aeromonas* mobiles, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycobacterium marinum*, *Streptococcus* et *Vibrio vulnificus* (WHO, 2018).

Le développement et la propagation de la résistance aux antimicrobiens à la suite d'une exposition à des agents antimicrobiens sont largement documentés en médecine humaine et vétérinaire. Il est également bien documenté que les pathogènes des poissons et les bactéries aquatiques peuvent développer une résistance à la suite d'une exposition aux antimicrobiens (Sørum 2006). Les exemples incluent *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Citrobacter freundii*, *Lactococcus garviae*, *Yersinia ruckeri*, *Photobacterium damsela subsp. piscicida*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio salmonicida*, *Photobacterium psychrophilum* et *Pseudomonas fluorescens*. Par exemple, *Aeromonas salmonicida*, qui provoque des maladies chez les poissons des régions tempérées et froides, développe facilement une résistance (BMR).

L'oxytétracycline (OTC) est un antibiotique couramment utilisé pour le traitement des maladies des poissons telles que la furunculose, la vibriose, l'ichtyothériose, la fièvre entérique et la maladie des colonnes. Nusbaum et Shotts (1981) ont signalé que l'OTC est très utile pour contrôler le complexe *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, les organismes de type *flexibacter-columnaris* et *Pseudomonas fluorescens*.

Les tétracyclines sont un grand groupe d'antibiotiques à large spectre qui comprennent l'oxytétracycline et la doxycycline. Les tétracyclines sont largement disponibles en raison de leur prix bon marché et efficacité dans le traitement de plusieurs maladies infectieuses. Les oxytétracyclines sont considérées comme les antibiotiques les plus prescrits dans de nombreux pays africains, dont l'Égypte (Darwish et coll. 2013 ; Alsayeqh et al., 2021).

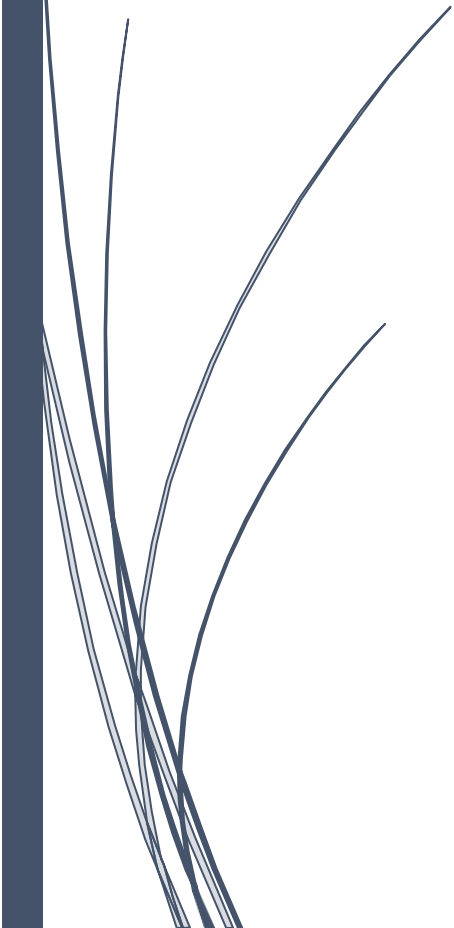
Dans certaines parties du monde comme l'Extrême-Orient, le poisson est consommé brut. Cependant, en Algérie le poisson est d'abord traité thermiquement par différentes méthodes, notamment la poêle, le gril ou le micro-ondes (Morshdy et al. 2019). D'autre part, les effets de diverses méthodes de cuisson sur les résidus de tétracycline dans le poisson sont moins bien compris.

Allium sativum a été utilisé comme stimulateur de croissance chez *O. niloticus* (Diab et al. 2018), chez qui il a augmenté le gain corporel, la prise alimentaire et l'efficacité alimentaire (Abdelatif et al., 1996). Il s'est avéré qu'il avait un large spectre d'activités contre les agents bactériens (Gram-positifs et Gram-négatifs) étudiés in vitro et in vivo (Abdelatif et al., 1996) et qu'il avait la plus grande activité antihelminthique. L'ail haché, associé à d'autres extraits biologiques (Bio-Gamma mix), peut être prophylactique contre la plupart des pathogènes des poissons (He et al., 1994). En outre, en tant que remède à base de plantes, il réduit une multitude de facteurs de risque qui jouent un rôle décisif dans la genèse et la progression de l'artériosclérose (Sigel et al., 1999). *Allium sativum* diminue le cholestérol total et les lipoprotéines de faible densité (LDL-C), tout en réduisant la pression artérielle (Adler et al., 1997). La consommation de sa poudre peut supprimer la croissance des bactéries anaérobies et de la plupart des bactéries Gram négatif et positif (Martin et al., 2003).

Dans ce contexte, Le présent travail a pour objectif principal, l'utilisation d'autres produits naturels, tels que l'ail, qui a le même effet que les tétracyclines. Cette étude a donc été réalisée pour comparer les effets de l'*Allium sativum*, en tant qu'antibiotique, et de la tétracycline sur les performances de contrôle de qualité alimentaire, la croissance bactérienne du tilapia du Nil.

Chapitre 01 :

Synthèses bibliographiques



1. Les souches bactériennes :

1.1. *Klebsiella* :

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatifs (El Fertas-Aissani, 2012).

1.2. *Staphylococcus aureus* :

S. aureus est une bactérie à Gram positif, en forme de coque de 0,5 à 1,5 µm de diamètre, il généralement est isolé ou groupé en diplocoques, le plus souvent en amas (en grappe de raisin) (Lowy, 1998 ; Le Loir et al., 2003 ; Yves et Michel, 2009 ; Landgraf et Destro, 2013). Les *S. aureus* sont anaérobies facultatifs, certaines espèces sont aérobies strictes, leur croissance est plus rapide et plus abondante en conditions aérobies qu'en conditions anaérobies (Sutra et al., 1998) asporulés (Le Loir et al., 2003 ; Landgraf et Destro, 2013), chimio-organo-trophes et non mobiles (Landgraf et Destro, 2013).

1.3. *Streptocoque* :

Les *streptocoques* sont des bactéries à Gram positif se présentent sous l'aspect de Cocci ovalaires ou sphériques de diamètre inférieur à 2 µm et se sont des bactéries immobiles, a sporulés, catalase et oxydase négatifs, aéro-anaérobies facultatifs et sont groupés en diplocoques ou chainettes plus au moins longues (de 2 à plus de 50 Cocci) (Vos et al., 2011).

1.4. *Escherichia coli* :

Caractères morphologiques *Bacille* à bout arrondi, Gram négatif, mesure approximativement 2 à 4 µm de longueur sur 0.6µm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chainettes, et en quelques cas, sous forme de très longs filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu ou la souche a étéensemencée. (Bey F. (2009); Hart T., Shears P. (1999)).

1.5. *Bacillus subtilis* :

Les biofilms bactériens ont été caractérisés en partie grâce aux études effectuées sur l'organisme modèle *Bacillus subtilis*, une bactérie à Gram positif ubiquitaire du sol. Cette bactérie possède l'avantage d'avoir un génome entièrement séquencé, et est facile à manipuler génétiquement, ce qui favorise la compréhension des gènes impliqués dans la formation de biofilm (Zhu et Stülke, 2018).

1.6. *Enterobacter* :

Le genre *Enterobacter* appartient à la famille des *Enterobacterales*. Ces anaérobies facultatifs à Gram négatif, positifs à l'ornithine décarboxylase, mesurent environ 2 mm de long et sont mobiles en raison de la présence de flagelles péritriches (Grimont et al., 2006). Certaines espèces sont non-mobiles (Ristuccia & Cunha, 1985).

2. Les antibiotiques :

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des micro-organisme (champignon microscopiques et bactérie) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber spécifiquement la vitalité d'autre microorganisme par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe, (Gogny et al, 2001) ; (Morin et al, 2005) ; (Gauthier, 2006) ; (Anonyme 7 d, 2008).

2.1. Les tétracyclines :

Comme leur nom l'indique, les tétracyclines (TC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne, elles ont été découvertes pour la première fois en 1945 (Chopra, et al., 2001), et depuis elles sont utilisées dans le contrôle infections bactériennes chez les animaux et chez les humains (Victoria et Samanidou ; 2005).

Les tétracyclines sont utilisées de façon importante depuis les années 50, les mécanismes responsables de leur action inhibitrice ne sont pas entièrement connus. Cependant, il semble établi qu'une fois dans le cytoplasme, elles inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la structure cible, un site localisé sur la sous-unité 30S des ribosomes pour lequel elles présentent une grande affinité.

2.2. Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques agissant sur les mécanismes essentiels à la vie de la bactérie : réplication, transmission, synthèse protéique, métabolisme intracellulaire et maintien de l'intégrité membranaire (Dockrell et al, 2004), il y a l'antibiotique agit sur les :

- Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne,
- Antibiotiques actifs sur les membranes,
- Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique,
- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques,
- Antibiotiques actifs sur la synthèse de l'acide folique.

2.3. Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire :

Les ATB peuvent être utilisés de 3 manières :

-les ATB sont utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité.

- lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évalué sur un mode aigu, avec suffisamment d'élément concordant pour incriminer une bactérie, l'ensemble de groupe d'animaux est traité.

-Les ATB peuvent, être administrer à des périodes critiques de leur vie, sur des animaux soumis a une pression de contamination régulière et bien connu, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire.

2.4. Résistance des antibiotiques :

C'est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrés chez l'homme. Les bactéries ont un grand pouvoir d'adaptations qui leur permet d'acquérir de nouvelles propriétés, leur permettant de résister aux antibiotiques (Rougeaux, 2014). On distingue :

- La résistance naturelle: Elle concerne toutes les souches d'une espèce bactérienne et préexiste à l'usage des antibiotiques. Cette résistance est chromosomique et a un caractère permanent transmissible aux cellules filles lors de la réplication bactérienne (Rougeaux, 2014).
- La résistance acquise: Elle ne concerne qu'une partie des souches d'une espèce bactérienne normalement sensible et apparaît à la suite de l'utilisation des antibiotiques. L'acquisition d'un nouveau mécanisme de résistance résulte ; soit d'une mutation survenant sur le chromosome bactérien, soit de l'acquisition d'une information génétique provenant d'une bactérie déjà résistante (Rougeaux, 2014).

3. Les résidus d'antibiotique :

Les résidus d'antibiotique sont définis comme toute substance pharmacologiquement active qu'il s'agisse des principes actifs, d'excipients ou de produits de dégradation, ainsi que leurs métabolites restants dans des denrées alimentaires obtenus à partir d'animaux auxquels le médicament vétérinaire en question a été administré (article 1, point 1, du règlement (CEE) n° 2377/90), (Milhaud et Pinault, 1999) ; (Mevius. et al, 1999).

3.1. Les risques présentés par les résidus d'antibiotiques :

Les résidus d'antibiotique présents dans les viandes ont pour origine un traitement médicamenteux (antibiotique) reçu par l'animal. Leur présence dans les muscles et/ou certains tissus de l'animal dépend des caractéristiques pharmacocinétiques du médicament administré

Ainsi que de la voie d'administration (Stoltz, 2008). Ils peuvent être à l'origine de certains effets.

3.2. Méthode microbiologique :

Les dosages microbiologiques des antibiotiques sont basés sur l'inhibition de la croissance bactérienne. Ils utilisent la sensibilité de certaines souches bactériennes vis-à-vis d'une ou de plusieurs antibactériennes (Myllyniemi et Toldra, 2008).

3.2.1. Méthode de référence : méthode des quatre boîtes :

Cette méthode est réalisée au moyen de boîtes de pétrie contenant une géloseensemencée avec l'un de ces deux souches : *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*. Les zones d'inhibition dépourvues de colonies bactériennes autour des points de dépôt des échantillons sont révélatrices de la présence d'antibiotiques (Kirbis, 2007).

4. L'ail (*Allium Sativum*)

4.1. Présentation de l'ail (*Allium Sativum*) :

L'ail est un plant aromatique connu depuis l'antiquité. Bien que de nos jours elle soit principalement utilisée pour sa saveur pour ses vertus culinaires. En prêtant sa saveur piquante à divers mets, on lui a attribué diverses fonctions au cours du temps. Bon nombre de propriétés pharmacologiques et thérapeutiques lui sont encore aujourd'hui attribuées. Il est intéressant de revenir sur son histoire pour comprendre l'origine de ces croyances, mais aussi d'observer ce que la science a pu mettre en évidence (Najjaa et al, 2011).

4.2. Effets thérapeutiques de l'ail :

L'ail est sans doute l'un des légumes les plus anciens domestiqués par les humains, qui est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour ces propriétés recherchées.

Pour ce dernier usage l'ail a attiré l'attention de nombreux chercheurs, dont ils se sont servis aussi bien pour se soigner que pour se nourrir (Tahri et al, 2007).

4.3. Effet antimicrobienne :

Dans les années 1990, de nombreuses études scientifiques ont porté sur les différents effets thérapeutiques attribués à l'ail. Les recherches ont permis de démontrer que l'allicine serait responsable du pouvoir antimicrobienne de l'ail, principalement sur les *Entérobactéries* et sur certains *Streptocoques* et *Staphylocoques*. Il est donc couramment conseillé pour lutter contre les troubles digestifs. L'utilisation d'ail comme antibactériennes naturel dans des préparations tomates a également été proposée.

4.4. L'huile essentielle *d'Allium Sativum* :

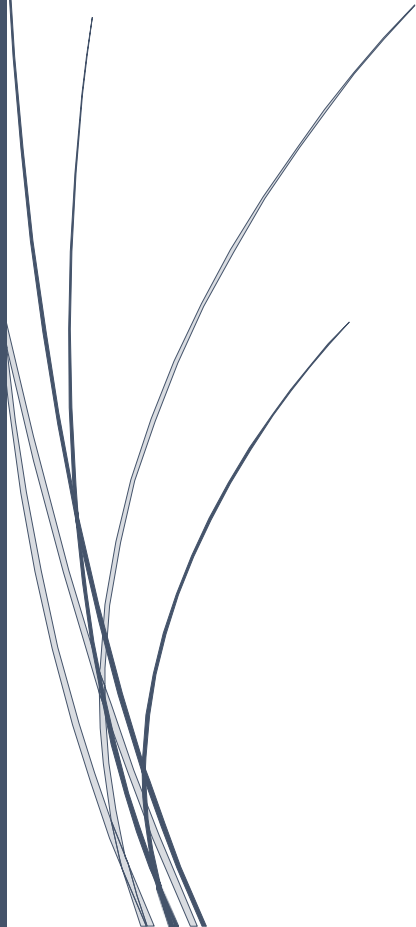
L'HE d'Ail est extraite à partir des bulbes. Sa composition chimique montre qu'elle contient des composés organosoufrés dominants comme composants. Cependant le contenu est diversifié, entre les huiles d'Ail du Mexique, de France, d'Égypte, de Turquie et de Chine avec les composés suivants : sulfures d'allyle, de méthyle et de diallyle ; disulfures d'allyle, de méthyle et d'alkyle ; diméthyle, allyle, méthyle et les trisulfures de diallyle. Les différents types d'huiles peuvent donc avoir une teneur significative en trisulfures de diallyle, tant sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif (Krzysko-Łupicka *et al*, 2020).

HE d'Ail est une huile complémentaire, aux nombreuses propriétés, elle nécessite un usage en très petites quantités avec des grandes dilutions contre la colique et les infections intestinales. Elle est recommandée dans les cultures biologiques et entrant dans des compositions parasitocides. Cependant HE d'Ail reste peu ou pas utilisée dans les recettes de beauté ni en parfumerie et jamais de frictions avec elle-même si diluées (Grosjean, 2011).



Chapitre 02 :

Matériels et Méthodes



1. Matériels

1.1. Matériel végétal

L'ail utilisé dans cette étude a été acheté au marché sous forme de bulbes fraîches et il provenait de la région d'EL harrouche de Skikda (Algérie), il a été conservé dans des conditions ambiantes (endroits aérés et à l'abri de la lumière).

1.2. Matériels biologiques

1.2.1. Poissons vivants "Tilapia"

Les individus de Tilapia ont été récupérés vivants en mois de février 2023 de la ferme aquacole AQUA IZAK wilaya de Biskra et Jijel, Algérie. (**Fig. 1**).



Figure 1 : l'arrivée des échantillons au laboratoire (à droite cliché personnelle).

1.2.2. Souches bactériennes

Six (06) souches de références (ATTC) ont été utilisées : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Entérobacter* (Gram négatif), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Bacillus* (Gram positif). Elles ont été fournies par le laboratoire de bactériologie privé, où elles y ont été isolées et identifiées.

1.2.3. Matériels de laboratoire

- **Milieux de culture et réactifs :**

Milieux de culture (Chapman, Hektoen, Chromagar, Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG), viande foie (VF), Giolitti Cantoni, Plate Count Agar (PCA), eau physiologique (EP), eau peptone tamponnée (EPT), bouillon SFB, Chlorure d'hydrogène (HCl), Hydroxyde de sodium (NaOH).

- **Matériel de stérilisation** : Etuve, incubateurs à 30°C, 37°C et 44°C, autoclave, bain marie bec bunsen.
- **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. Méthodes

2.1 Travaux réalisés au laboratoire

2.1.1. Aquari-experimentale

À l'arrivée des poissons au laboratoire (SNV- université du 20 août 1955-Skikda), les poissons sont maintenus vivants dans des bacs larges (Photo-période) pour une acclimatation et anti-stress des bio-essaies pendant 24h, en assurant l'oxygénation continue à l'aide des barboteurs électriques.



Figure 2: conservation des poissons vivant au laboratoire (à droite cliché personnelle).

Au cours de notre travail, nous avons également rencontré des difficultés avec l'adaptation des Bioessaies cause de quoi nous avons enregistré la mort de ces derniers jusqu'à ce que nous parvenions à ajuster leur nature appropriée.

Après l'acclimations des Bioessaies, En premier lieu, nous avons réalisé suit

1. Un contrôle macroscopique quotidien des poissons d'aquarium

2. Les différentes mensurations (biométrie, taille, Poids, sex) et Réaliser
3. Un prélèvement quotidien des paramètres physico-chimiques de l'eau des aquariums
4. Un Diagnostic de la flore bactériologique Initial

En second Lieu, nous avons installé un microcosme expérimental en deux Groupes et en deux lignes parallèles, la première ligne est le « circuit fermé » (**Fig. 3**) avec cinq aquarium (A,B, C, D, E) (n=10 *5) où nous avons soumis nos Bioessaie Chimiothérapie (par l'oxytétracycline OTC)à cinq doses pour chacun aquarium (0.1, 10, 25, 50 et 100 mg/l). Au même moment nous avons exposé trois (3) autres aquarium s (n= 5*3) à une phytothérapie, par l'extrait de l'ail a différentes concentrations (0,3, 0,45 et 0,6 g) pour les aquariums (F, G, et H). Tout en gardant un aquarium témoin, la durée totale d'exposition est de 28jours notre équipe s'intéresse uniquement aux analyses microbiologiques.



Figure3 : Aqua-expérimentale au laboratoire SNV université du 20 août 1955 skikda (photos personnelles).

Au cours de l'expérimentation, nous avons réalisé :

1. Contrôle de qualité microbiologique de l'eau des aquariums.
2. Contrôle de qualité microbiologique des bio essaies.
3. L'aromatogramme
4. L'antibiogramme.

2.1.2. Caractères morphométriques et pondérales

Les mesures ont été prises à l'aide d'un Ichtyo-mètre. 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 protracteur 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.

Les poids ont été effectués par une balance de précision, Il s'agit du Poids total (Wt)



Figure 4: Différentes mensurations faites sur tilapia *Oreochromis niloticus* (cliché personnelle).

2.2. Extraction

2.2.1 Préparation du matériel végétal

Avant de commencer l'extraction nous avons procédé à macérer le matériel végétale (*Allium sativum*) dans le solvant : Ethanol, la durée de macération est de 48 heures. Après filtration sur papier Wattman, le solvant est évaporé au Rotavapor, et séché dans l'étuve à 40°C pendant 48 heures (**Fig.5**) (Derabla Cherifa *et* Zamouche Amel, 2016) .

2.2.2. Principe de rotavapor

Le principe de rotavapor est sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant (<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>) (Consulter et rédiger par Rihane et Benlahreche, 2013) :

- Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation ;
- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation ;
- Ouvrir le robinet d'eau froide reliait au réfrigérant ;
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau ;
- Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ;
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif
- Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.



Figure5 : Process de l'extrait de l'Ail (Laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda),(photos personnelles).

2.3. Echantillonnage et analyse bactériologique

2.3.1. Poisson (branchies, intestin, peau)

Des filets ont été utilisés pour prélever des échantillons de poissons dans les différents étangs. Trois (03) Tilapias vivants ont été choisis au hasard pour les études. Aucun des poissons

échantillonnés ne présentait de lésions macroscopiques, ils ont donc été considérés comme cliniquement normaux. Les poissons ont été disséqués de manière aseptique à l'aide de kits de dissection.

Des échantillons ont été prélevés sur la peau, les branchies et l'intestin de Tilapia. Les échantillons de peau ont été obtenus en macérant aseptiquement 1cm de peau dans 10 ml d'eau distillée (O.B. Adedeji et al, 2011). Les branchies et les intestins ont été obtenus comme décrit par Uddin et Al-Harbi (N. Uddin et A.H. Al-Harbi, 2012). 1g de chaque échantillon a été mélangé à 10ml de peptone stérile à 0,1%. Des dilutions appropriées de l'échantillon ont été effectuées (10^{-1} à 10^{-3}) avec de l'eau peptonée stérile. (Fig. 6)

Après la dilution nous avons fait l'ensemencement sur des boîtes de pétri colée avec milieu gélosé (GN, Hektoen, et Chapman). Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Fig.6).

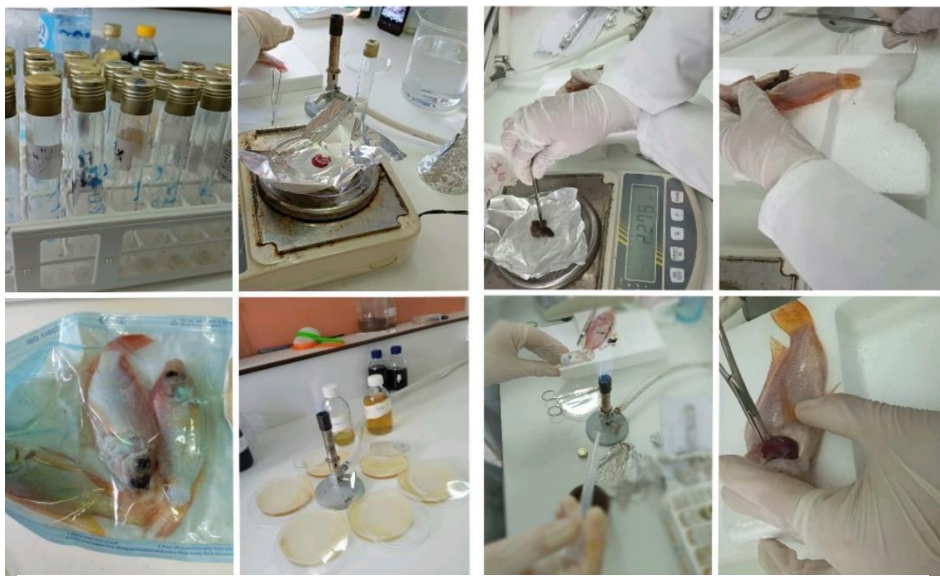


Figure6 :Analyses bactériologiques des bio essais (Laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda, photos personnelles).

2.3.2. L'eau des aquariums

L'eau de l'aquarium a été recueillie dans des bouteilles en verre stériles Les échantillons ont été dilués de manière appropriée (10^{-1} à 10^{-3}) avec de l'eau peptonée stérile (Tivkaa Joseph Amade et al., 2013). Après la dilution nous avons fait l'ensemencement sur boîte de pétri coulée avec milieu gélosé (GN, Hektoen et Chapman) et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

2.3.3. Identification des bactéries sélectionnées

2.3.3.1. Identification macroscopique

C'est une description directe faite sur boîtes d'isolement, permettant au moins une distinction des souches les uns des autres afin de les purifier. Elle permet de déterminer l'aspect macroscopique des colonies (forme, aspect, couleur, contour, taille, etc.) (Badis et al, 2005). L'identification macroscopique des bactéries se fait après leur croissance sur milieu GN et leur incubation à 45°C pendant 24 h.

2.3.3.2. Identification microscopique

L'observation microscopique s'effectue à l'aide d'un microscope optique

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool donc sur leur capacité à retenir dans leur cytoplasme et leur paroi, un colorant primaire qui est le violet de Gentiane. Cette divergence est liée à une différence de produit chimique des parois cellulaire entre deux grands groupes de bactéries : bactéries à Gram négatifs et bactéries à Gram positifs, celle qui sont décolorées et prennent ensuite la couleur d'un second colorant qui est le fuschine sont dites à Gram négatifs (Camille, 1998 ; Camille et Bernard, 2003 ; Lansing et al., 2003).

La coloration de Gram se fait comme suit (Delarras, 2007) (Fig.7) :

La lame contenant le frottis est recouverte par pendant 1 minute par le violet de Gentiane, puis rincé à l'eau distillée. Le lugol est ensuite versé pendant 1 minute et rincé à l'eau distillée ; la lame est ensuite décolorée par l'alcool à 95% entre 15 à 30 secondes puis rincé à l'eau distillée.

On ajoute après la fuschine pendant 10 à 30 secondes et rincé à l'eau distillée. La lame est séchée sous la flamme du bec bunsen. L'observation est faite au microscope optique à l'objectif X100 à immersion.

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif (+) et les bactéries colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (-) (Delarras, 2007).

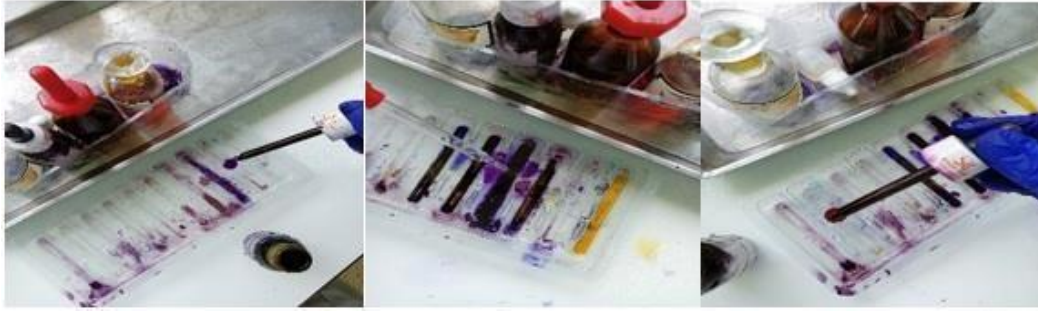


Figure 7 : Coloration de Gram (Photos prise laboratoire Hall technologique-Univ 20 août 155 Skikda).

2.3.3.3. Identification sur milieu Chromagar

Après la purification des résultats préliminaires nous avons ensemencé une colonie bien isolée et purifiée dans le milieu Chromagar.

C'est un milieu Chromagénique qui nous permet d'identifier les souches selon la couleur des colonies.

2.3.3.4. Test biochimique

- **Test de Catalase**

Il s'agit de la recherche de la catalase, enzyme responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit par la souche. Son principe consiste à mettre en contact une colonie de l'isolat en présence d'eau oxygénée. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme (Joffin et Leyral, 2006 ; Tankeshwar, 2013).

2.4. Test de l'activité antibactérienne

2.4.1. Les souches testées

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau de laboratoire de microbiologie (SNV-université du 20 août 1955-Skikda).

Les germes qui ont testés pour déceler l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de l'ail sont les suivants : *Escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus*, *streptococcus*, *Klebsiella* et *entérobacter*.

2.4.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

- **Principe**

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard. Des disques d'antibiotiques à tester sont disposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec

une culture pure de la souche à étudier. Dans l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque (Roland, 2006).

- **Méthode**

- Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures), prélever au moins 03 colonies et émulsionner dans 05 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne (CA-SFM, 1998).
- Le milieu utilisé est le Muller-Hinton coulé dans une boîte de pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4mm (Roland, 2006).

-L'ensemencement par écouvillonnage (méthode de Kirby-Bauer) :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber. Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de Mueller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 22 mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum (Fig.08).
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes (CA-SFM, 1998).
- Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres ou bien utiliser directement porte disque d'antibiotiques. Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures, couvercle en bas (CA-SFM, 1998).

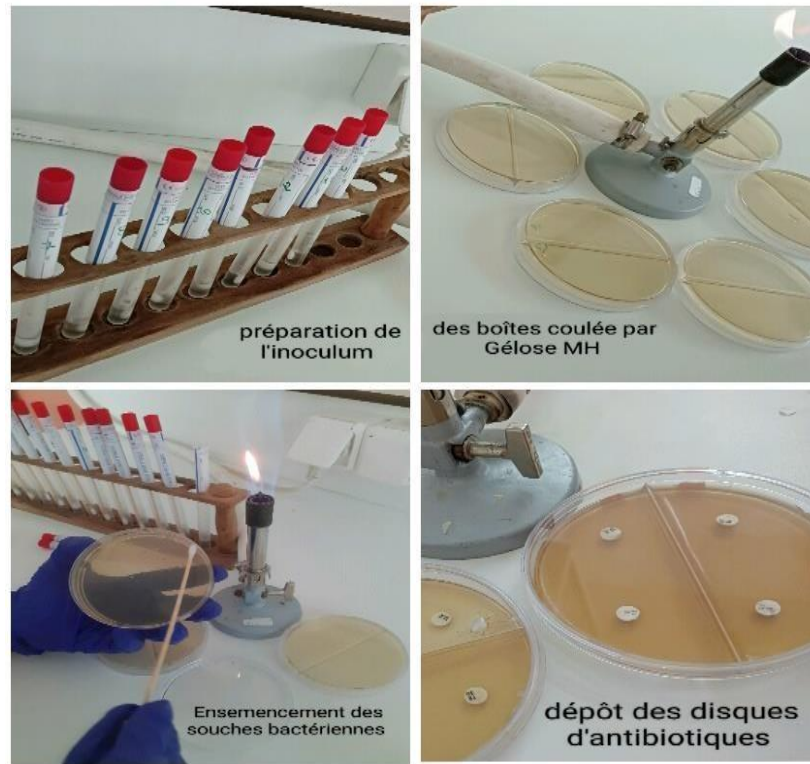


Figure 8: Antibiogramme(Photos prise Laboratoire SNV).

2.4.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé (Aromatogramme)

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de cet extrait : la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier qui permet la mise en évidence de l'activité microbienne de l'extrait. Cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence est le remplacement des antibiotiques par des extraits (**Fig.09**), et la méthode de macro dilution qui a pour objectif la détermination des CMI (concentrations minimales inhibitrices) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans le milieu de culture ([Yakhlef, 2010](#)).

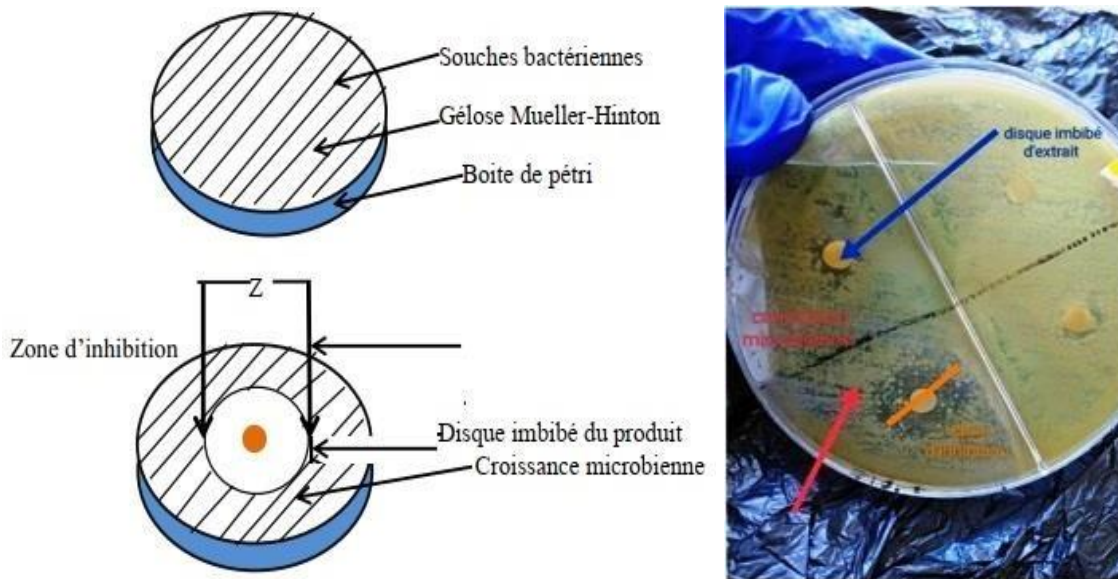


Figure9 : Schéma simplifié la Méthode de diffusion en milieu gélosé (Photo personnelle, 2023) d'après (Zaika, 1988) .

a) Préparation des disques

- Préparer les disques de papier filtre de 6 mm De diamètre (Whatman N° 1).
- Stériliser les disques à l'autoclave, à 120° C pendant 20 minutes.

b) Préparation de la suspension

- Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie bactérienne bien isolée.
- Transvaser le contenu de l'ose dans un tube contenant 5 ml de bouillon nutritif stérile,
- Incuber par la suite les tubes à essai à 37°C pendant 24 h.

c) Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait éthanolique (CMF, 2022).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm. Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu solide

La CMI est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne inhibant toute croissance bactérienne ou fongique visible après une incubation de 24 h à 37°C et de 48 h à 28°C, respectivement (Martini et Eloff, 1998 ; Hamouda Ali et Doumandji, 2017). La méthode consiste à diluer directement la substance à tester dans le milieu de culture gélosé et à inoculer ce milieu avec les microorganismes. En diluant différentes concentrations de la substance à tester, on peut définir la valeur la plus faible à laquelle la croissance des microorganismes n'est pas observable, et donc une inhibition de la croissance. Cette méthode permet donc d'évaluer qualitativement et surtout quantitativement l'activité antimicrobienne d'une substance.

2.5. Contrôle de qualité microbiologique alimentaire :

Cette opération a été effectuée au niveau du laboratoire d'hygiène (unité alimentaire) de wilaya de Skikda. Selon la réglementation Algérienne de contrôle de qualité alimentaire des produits aquacole (JORADP, 2017) (Fig.10)

MINISTÈRE DU COMMERCE					
Arrêté interministériel du 2 Moharram 1436 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.					
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	

Figure10 : Critères microbiologiques des denrées alimentaires produits de pêches (JORADP.2017).

2.5.1. Méthode d'analyses

2.5.1.1. Protocole d'analyse :

❖ Solution mère (SM) :

La préparation de la solution mère qui la dilution 10^{-1} consiste à peser aseptiquement 25 g de l'échantillon à l'aide d'une balance de précision, par la suite on ajoute 225 ml d'eau physiologie. L'opération est effectuée tout en respectant les conditions d'asepsies strictes, Cette suspension est laissée au repos pendant 30 min pour assurer la revivification des micro-organismes s'ils existent. **(Fig.11).** |



Figure11 :Etapes de la préparation de la solution mère (Photos personnelles, 2023).

❖ Dilutions décimales :

A partir de la solution mère (10^{-1}) nous réalisons une série de dilution décimale en prélève 1 ml de la première dilution à 10^{-1} à l'aide d'une pipette pasteur et ajoute dans un tube à essai contenu 9 ml d'eau physiologie stérile pour obtenir la dilution à 10^{-2} et on répète l'opération jusqu'à la dilution à 10^{-6} .

Selon l'arrêté interministériel du 8 Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JORADP 2017),

les germes recherchés chez les poissons crus sont les suivants : germes aérobies à 30C°, coliformes thermotolérants, *staphylocoques* à coagulase ⁺, *salmonella*.

Cet arrêté nous incite à dénombrer toutes les colonies ayant poussé sur les boites (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. (Fig. 12).



Figure12 :Etapes de la préparation des dilutions décimales (Photos personnelles, 2023).

❖ Dénombrement des germes :

a) Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30C° (FMAT) (norme ISO 4833 : février 2003) :

On prélève 1 ml de chaque dilution ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$) qu'on introduit aseptiquement dans les boîtes de Pétri ,l'inoculum est déposé goutte à goutte sur toutes la surface de la boite. On y ajoute 15 ml de milieu PCA (Plate Count Agar) fondu et refroidi au bain marie à 45°C. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires des boites. Après solidification du milieu, les boîtes sont ensuite incubées à 30°C. Le comptage se fait après 72 heures d'incubation.

❖ **Lecture :**

Après la période d'incubation spécifiée. On fait la lecture après 72h (on observe des colonies sous forme lenticulaire en masse).

b) Recherche et dénombrement des Coliformes Thermotolérants :

L'ensemencement se fait en profondeur, à l'aide d'une pipette pasteur, on prélève 1 ml des différentes dilutions (10^{-1} , 10^{-2}), l'inoculum est déposé goutte à goutte sur toute la surface de la boîte. On y coule une couche de gélose VRBG (15ml) puis on procède à l'étalement en faisant des mouvements de huit et on laisse solidifier. Les boîtes de Pétri sont incubées à couvercle en bas à 44°C pendant 24 h à 48 h.

❖ **Lecture :**

Une première lecture se fera après 24 h et la deuxième après 48 h, les colonies se présentent sous forme rond à une couleur rouge foncé.

c) Recherche de *Staphylococcus Aureus* :

Dans trois tubes on dépose 1 ml des différentes dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) dans chaque tube, puis on ajoute 15 ml du d'enrichissement GIOLITTI CANTONI. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24 h.

La présence d'un noircissement conduit à un isolement sur milieu CHAPMAN à l'aide d'une anse de platine. Les boîtes incubées à couvercle en bas à 37°C pendant 24 h (**Fig.13**).

❖ **Lecture :**

La lecture après 24 h (les *S. aureus* se présentent sous forme de colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, au couleur jaune).



Figure13 :Etapes d'isolement des *Staphylococcus aureus* sur milieu CHAPMAN (Photos personnelles, 2023).

d) Recherche de *Salmonella* :

La recherche de *salmonelle* se déroule en plusieurs étapes : le pré-enrichissement, l'enrichissement, et l'isolement (GUIRAUD et ROSEC, 2004). Dans le cas où les résultats sont positifs on passe à l'identification biochimique (La galerie API 20 E).

❖ Pré-enrichissement :

La préparation de la solution mère s'effectue à l'aide d'eau peptonée tamponné (EPT) : La préparation de la solution mère consiste à peser aseptiquement 25 g de l'échantillon à l'aide d'une balance de précision et déposée dans un flacon stérile, par la suite on ajoute 225 ml d'EPT, l'incubation se fait à 37C° pendant 24 heures. Cette phase vise à assurer la revivification des micro-organismes s'ils existent. (Fig. 14).



Figure14 : Etapes de la préparation de la solution mère de *salmonella* (Photos personnelles, 2023).

❖ Enrichissement :

A partir de la solution mère on porte 15 ml dans un tube contenant 15 ml de bouillon SFB simple/concentration additionné de 2 disques de sélénite de sodium. Ensuite, le tube est incubé à 37C° pendant 24 heures.

❖ Isolement :

L'isolement est réalisé par ensemencement en surface sur le milieu Hektoen à partir du bouillon d'enrichissement. Les boîtes sont incubées à 37C° pendant 24 h.

❖ Lecture :

Les *Salmonelles* se présentent de la façon suivante : colonies le plus souvent vert à centre noir sur gélose Hektoen. Si on obtient ces résultats on doit passer à la quatrième étape confirmative car le milieu d'isolement n'est pas totalement sélectif.

❖ **Identification :**

L'ensemencement se fait par piqure centrale à l'aide d'une anse de platine et la pente par stries sur le milieu TSI. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

La couleur du milieu TSI ne change pas.

2.5.1.2. **Dénombrement et calcul des UFC colonies :**

Nous avons dénombré toutes les colonies après la période d'incubation mentionnée dans la norme spécifique à chaque germe. La lecture se fait sur 2 boîtes ensemencées avec des dilutions successives. Le nombre de germes par gramme (N) de produit est obtenu selon la formule suivante (JORA, 2017) :

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

N= nombre de germes par gramme de produit.

ΣC= somme des colonies caractéristiques sur les deux boîtes retenues.

V= volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte (en ml).

d= taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

n1= nombre de boîte lu à la 1e dilution.

n2= nombre de boîte lu à la 2e dilution.

2.5.2. **Interprétation des résultats de la qualité microbiologique :**

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à trois classes, dans le cas où la valeur «C» est différente de zéro (0) (Journal officiel de la république Algérienne, n°39, 2017).

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

- Si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à «m», le résultat du critère microbiologique est satisfaisant.

- Si le résultat de l'analyse n'excède pas «M » et si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat supérieur à «m» et compris entre «1» et, le «c » résultat du critère microbiologique est acceptable.
- Si le résultat de l'analyse excède «M » ou si le nombre d'unités de l'échantillon donnant un résultat compris entre «m» et «M » est supérieur à «c », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

2.6. Les analyses bactériologiques de l'eau d'aquarium :

Nous avons effectué l'étude des paramètres bactériologiques de l'eau d'élevage selon la méthode de nombre le plus probable (NPP) appelée aussi la colimétrie.

2.6.1. La recherche et dénombrement des coliformes totaux :

❖ Mode d'emploi :

Le dénombrement des coliformes totaux a été réalisé par la méthode ISO 9308-2. La technique est basée sur la détermination de la présence ou l'absence des micro-organismes dans les échantillons de l'eau.

Il effectué en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) à différentes concentrations. 10 ml, 1 ml, 0,1 ml de la solution mère ont été additionnés, respectivement, aux neuf tubes à simple concentration, de la 2^{ème} série et aux trois tubes à simple concentration restante. Tous les tubes sont munis de cloches de Durham pour déceler le dégagement éventuel de gaz dans le milieu (Mouffok, 2001 ; Lebres, 2008). L'incubation se fait à 37C° pendant 24 à 48 heures.

❖ Lecture :

Sont considérés positifs les tubes présentant à la fois :

-Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

-La production de gaz traduite par le soulèvement de la cloche de Durham introduit dans le milieu (au moins 1/10 de la cloche devra être vide).

Ces deux caractères étant témoins de fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites .



Figure 15 :Le milieu BCPL et les différentes concentrations (10 ml, 1 m, 0,1 ml de l'eau des 07 aquariums expérimentaux)(photo personnelle, 2023).

❖ **Test de confirmation :**

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans tube contenant le milieu Schubert (milieu indole mannitol) muni d'une cloche de Durham.l'incubation se fait à 44C° pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un dégagement gazeux.

2.6.2. Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux* :

La recherche se fait en bouillon Roth S/C (bouillon à l'azide de sodium simple concentration).A partir de la solution mère et les dilutions décimales , porter aseptiquement 1 ml dans 9 ml de milieu Roth S/C .L'incubation se fait à 37C° pendant 24 à 48 heures.

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

❖ **Test de confirmation :**

Les tubes de Roth trouvés positifs feront danc l'objet d'un repiquage dans tube contenant le milieu Eva Litsky (bouillon a l'éthyle violet et aide de sodium). L'incubation se fait à 37C° pendant 24 heures.

❖ **Lecture :**

Sont considérés positifs, les tubes présentant un trouble microbien. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP.

2.7. Méthode de détection des résidus d'antibiotiques

La méthode utilisée est de référence LMR/90/01-rév 2. Elle est couramment appelée «méthode des quatre boîtes » ou encore « méthode des quatre plaques » par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA.2000).

2.7.1. Principe

Cette méthode repose sur la mise en évidence d'une zone d'inhibition autour de l'échantillon. La méthode officielle utilise deux bactéries à plusieurs pH : *Bacillus subtilis* à pH 6 ; 7,2 et 8 et *Micrococcus luteus* à pH 8.(LAURENTIE et al. 2002). Protocole utilisé est le suivant :

L'ensemencement des boites de culture par les souches bactériennes sensibles aux antibiotiques, à savoir : *Bacillus subtilis* cultivé à PH 6,0 ; 7.4 et 8.0. Le dépôt de quelques gouttes de la suspension bactérienne à la surface de chaque boite, suivi d'une incubation à la température optimale du développement de la souche bactérienne correspondante.

2.7.2. 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 1**).

Tableau 1: Familles d'antibiotiques recherchées en fonction du microorganisme, 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 triméthoprime
Aminosides		8,0	Dihydro-sterptomycine
B-lactamines macrolides	<i>Micrococcus luteus</i>	8,0	Erythromycine

2.7.3. Préparation des microorganismes sensibles

La préparation de l'inoculum est un facteur critique pour l'exactitude et la précision des tests de diffusion en gélose. Il est par conséquent capital d'employer une technique qui donnera une suspension reproductible et un nombre correct de germes. (OXOID, 1992).

❖ Préparation de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est un germe ubiquiste et tellurique qui appartient à la famille des *Bacillaceae* (SINGLETON et SAINSBURY, 1984). Sa température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C.

❖ Ajustement de pH de milieu de culture

Après la préparation de milieu de culture et stérilisation dans un l'autoclave à l'aide des bandelettes de PH, maintenir le milieu Mueller Hinton à 3 pH différent (6, 7,4 et 8) par l'ajout de quelque gouttes de Hcl ou NaOH (fig.16).

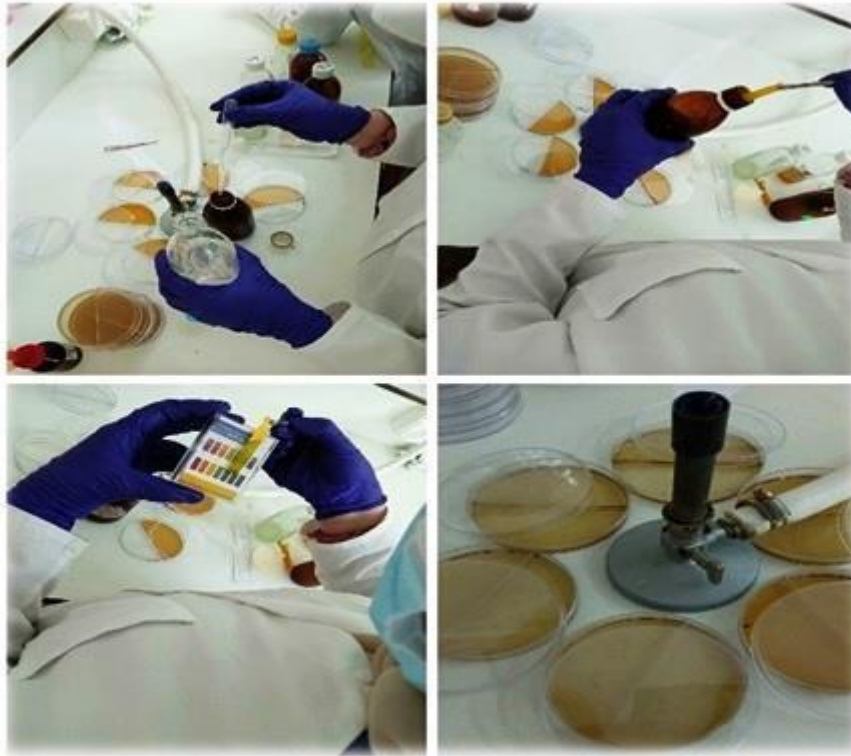


Figure 16: Ajustement de pH de milieu de culture (Photos personnelles, 2023).

L'ensemencement

- A partir de l'inoculum préparé, prélever environ 1ml de suspension bactérienne, et mis la sur la surface de la gélose MH coulé dans chaque boîte de pétri.
- A l'aide d'un râteau étalé la suspension bactérienne et devisé la sur la surface de la gélose MH, Laissé les boîtes de pétri séché pendant quelque minute ([OMS.2005](#)).

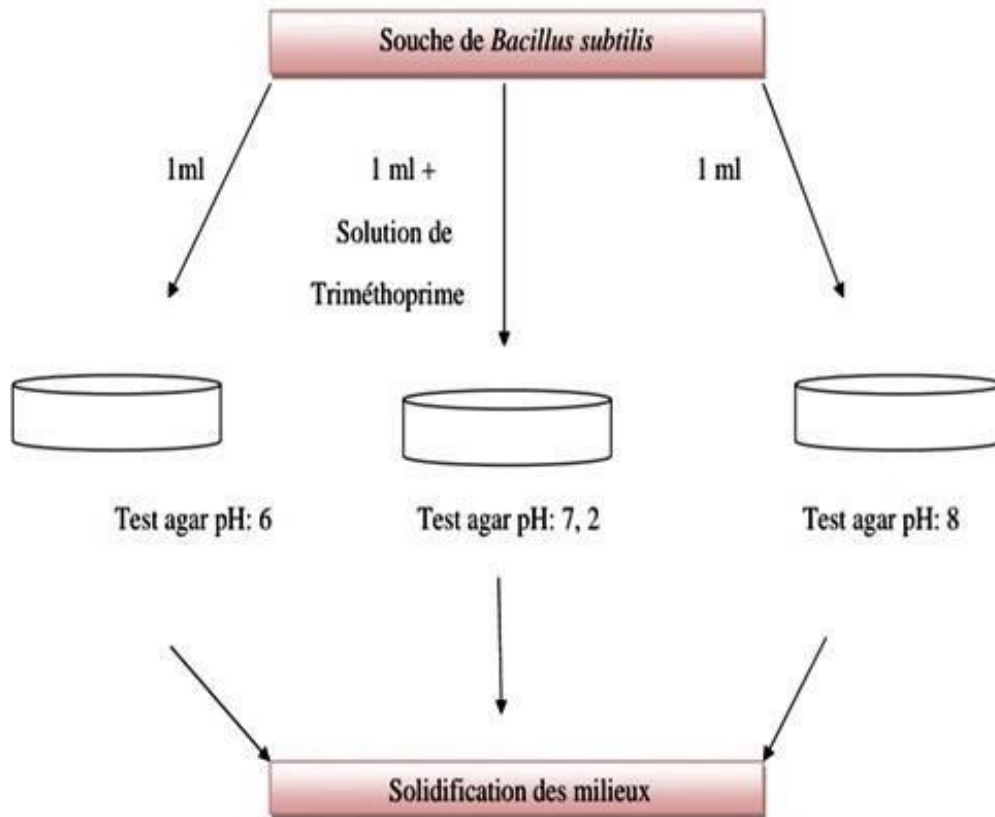


Figure 17: Préparation des boîtes de pétri.

2.7.4. Préparation des solutions d'antibiotiques témoins

Pour la préparation de solution d'antibiotique on commence par dissoudre une quantité de l'antibiotique par la suite on ajuste par ajout d'eau distillée (**Tableau2**).

Tableau 2: Préparation des solutions d'antibiotiques témoins.

Solutions d'antibiotiques témoins	Antibiotiques	Quantité à dissoudre (mg)	Quantité du liquide utilisé	[C] finale µg/ml	Durée de conservation
Solution de pénicilline	Pénicilline	60	100ml distillée d'eau	0.12	4 jours à +4°C
Solution d'érythromycine	Erythromycine	54	3ml de méthanol et ajuster à 50ml 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
<u>Solution de dihydro-Streptomycine</u>	Dihydro-streptomycine	64	50ml d'eau distillée	6.4	1 mois à +4°C

2.7.5. Mode opératoire

- A l'aide d'une pince, déposer au centre de la boîte un disque de papier stérile.
- Déposer sur le disque 10µl 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).
- 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 se situés à 1cm 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 (**figure. 18**).

❖ Exploitation des résultats

Pour chacune 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 viande. 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 6mm (Fabre, 2003).

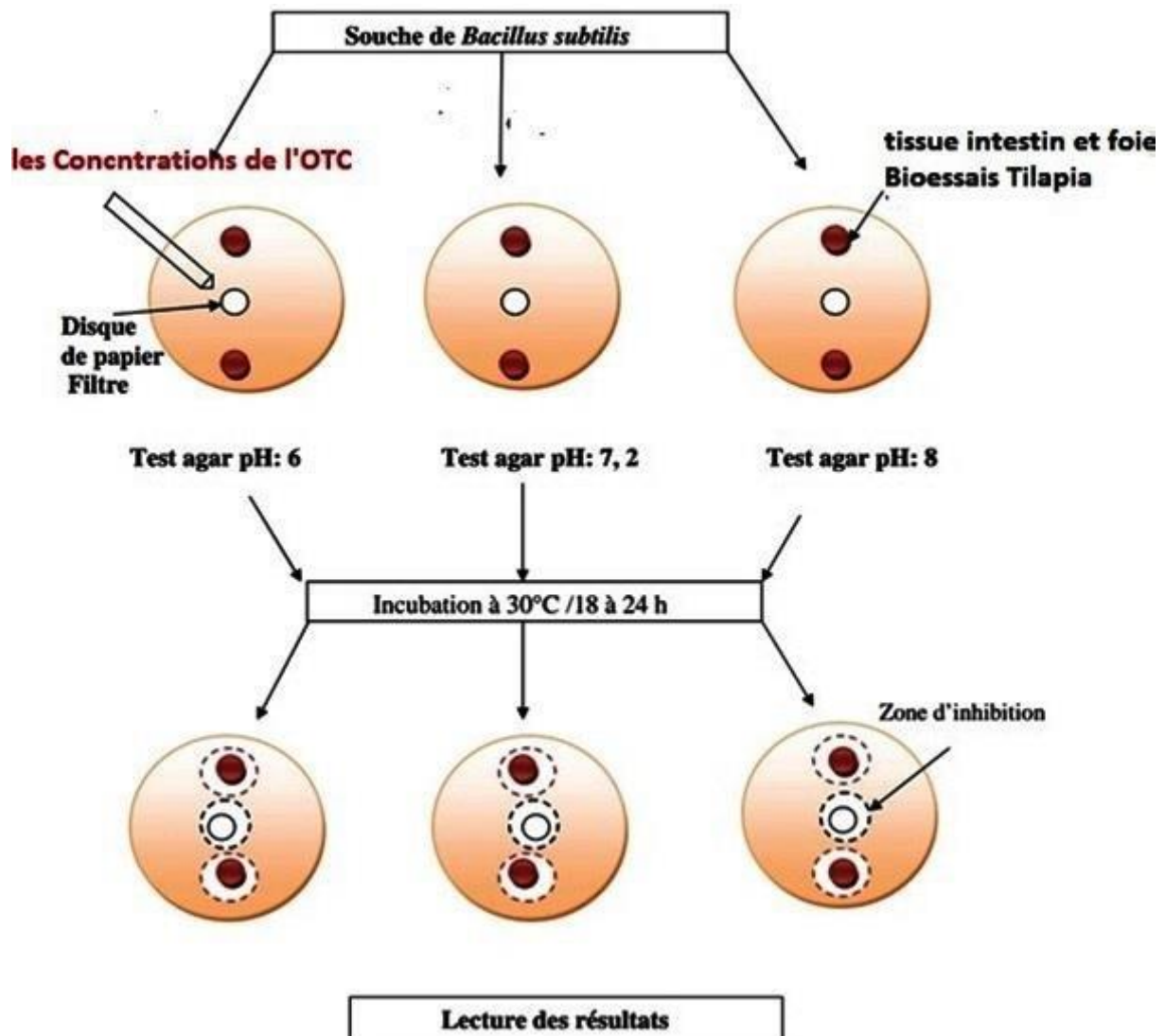
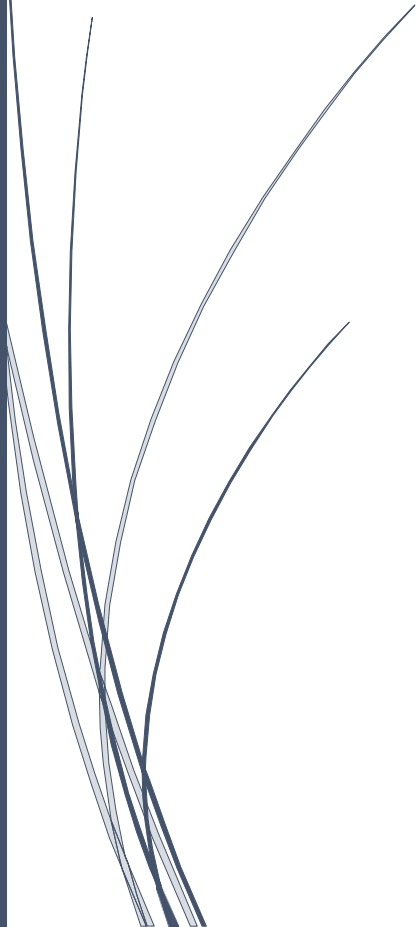


Figure 18: Technique des 4 boîtes mode opératoire pour la souche test *Bs*.

Chapitre 03 :

Résultats et Discussion (A)



1. Résultats morphométriques et pondérale :

L'ensemble mensurations morphométriques et pondrale avant et après la chimiothérapie et la phytothérapie sont rapporté dans **le tableau (dans l'annex)**.

Globalement, les individus de *Oreochromis niloticus* ont un poids total (Wt) qui varie ($35 \leq Wt \text{ (g)} \leq 117$) avec une longueur varie ($13 \leq Lt \text{ (cm)} \leq 18,5$).


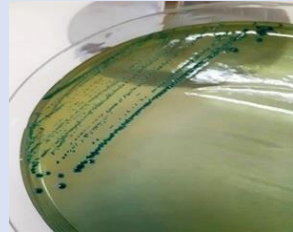

2. Caractérisation de la Flore exogène et endogène

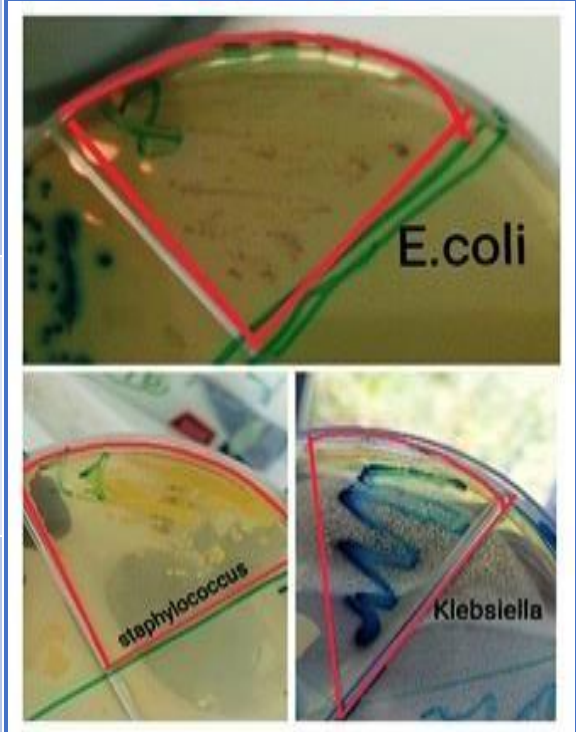
2.1. Caractères cultureux

2.1.1. Etude macroscopique

Sur le plan macroscopique, nous avons synthétisé nos résultats après incubation pendant 24 à 48h (**Tableau.3**)

Tableau 3: Résultats macroscopiques de la flore des bio-essais *Oreochromis niloticus* Avant l'antibiothérapie mixte.

espèce	Lecture et Aspect Gélase Hektoen et Chapman	Lecture et Aspect Chromagar
<i>E. Coli</i>	<p>Changement de la couleur du milieu en rouge. Les colonies étaient colorées en saumon, petites tailles, lisses et à contour réguliers.</p> 	<p>Orientation les colonies étaient rose foncé à rougeâtre.</p>
<i>Klebsiella</i>	<p>la couleur du milieu en vert. Les colonies étaient colorées en bleu vert.</p> 	<p>Orientation les colonies étaient bleu métallique</p>
<i>S. aureus</i>	<p>Changement de la couleur du milieu en jaune. Les colonies étaient colorées en jaune doré, lisses, opaque, bombées et régulier.</p> 	<p>Orientation les colonies étaient doré.</p>



2.1.2. Etude microscopique

2.1.2.1. Examen après coloration de Gram

Le tableau (5), résume les résultats de l'examen après coloration de Gram. Sachant qu'après coloration de Gram, l'observation microscopique a révélé la présence :

- Pour *E. Coli* : des bacilles a Gram négatifs de couleur rose.
- Pour *Klebsiella* : des bacilles de couleur rose donc à Gram négatifs.
- Pour *S. aureus* : de Cocci isolés ou regroupés en amas ayant la forme de grappes de raisin de couleur violette donc à Gram positif.

Tableau 4: Résultats de l'examen microscopique après coloration de Gram.

Espèces bactériennes	Milieu de culture	Aspects Microscopique
<i>E. Coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose Hektoen ▪ Bacilles de couleur rose ▪ Gram négatif 	
<i>Klebsiella</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose Hektoen ▪ Bacilles de couleur rose. ▪ Gram négatif 	
<i>S. aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose Chapman ▪ Cocci en grappe de raisin de couleur violette. ▪ Gram Positif 	

La figure 19, montrent la contribution en termes de dominance (%) de la partie biologique des tilapias menacé par l'altération microbiologique est comme suit tissus, branchies, intestin respectivement (57,14% ; 35,71% ; et 7,14%).

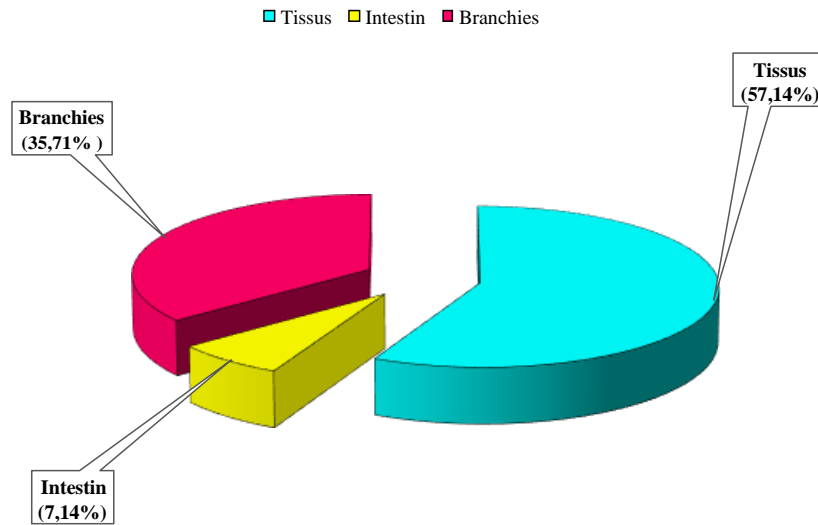


Figure 19: Dominances de flore bactérienne en fonction d'organe cible des Tilpias.

La figure (20) montre la dominance de chaque genre de la flore bactérienne trouvés dans les différentes parties biologiques cible de nos Tilapia (Tissus (a), Branchies(b) et intestins(c)) avant la thérapie (Chimique et phytologique). Par conséquent, on note une nette prépondérance de *Staphylococcus* dans les intestins et les branchies respectivement (95% ; 60%), suivi par le genre *Klebsiella* dans les tissus et branchies respectivement avec (25% ; 20%).

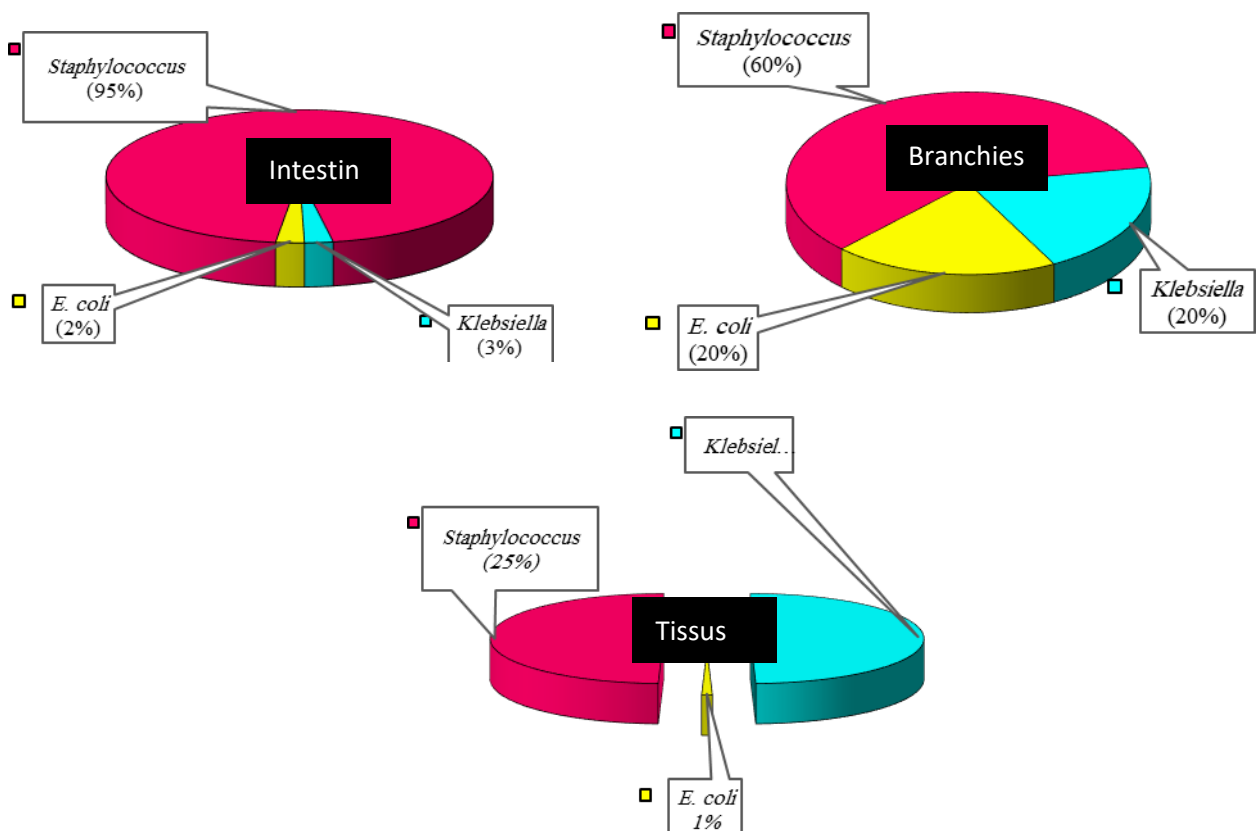


Figure20: Dominances des germes microbiennes trouvés chez les Tilpias.

2.1.2.2. Test biochimiques

Nos résultats montrent que seul *S. aureus* et *E. coli* prouvent un résultat positif, cela veut dire qu'il y a un dégagement d'oxygène gazeux issu de la dégradation de l'eau oxygénée, (Tableau5).

Tableau 5: Résultats de test catalase

Espèces bactériennes	Catalase
<i>E. Coli</i>	+
<i>Klebsiella</i>	-
<i>S. aureus</i>	+

3. Résultats de l'activité antibactérienne

Après évaporation sous Rotavapor, l'extrait d'ail obtenue avec le solvant (éthanol 95%) est de couleur marron foncé obtenu avec une odeur forte caractéristique de la matière végétale. Le composé dominant trisulfure di-2- propényle a été rapporté comme étant. Le Composant qui est responsable de l'odeur caractéristique de l'ail.

3.1. Profil aux résistances aux antibiotiques

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité ou la résistance des souches de référence testées aux antibiotiques. Le profil de résistance de ces souches a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé, **Figure (21 a et b)** ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les antibiotiques sur les différentes souches étudiées. Sachant que nous avons enregistré une seule résistance bactérienne avec *E. Coli* l'Erythromycine.

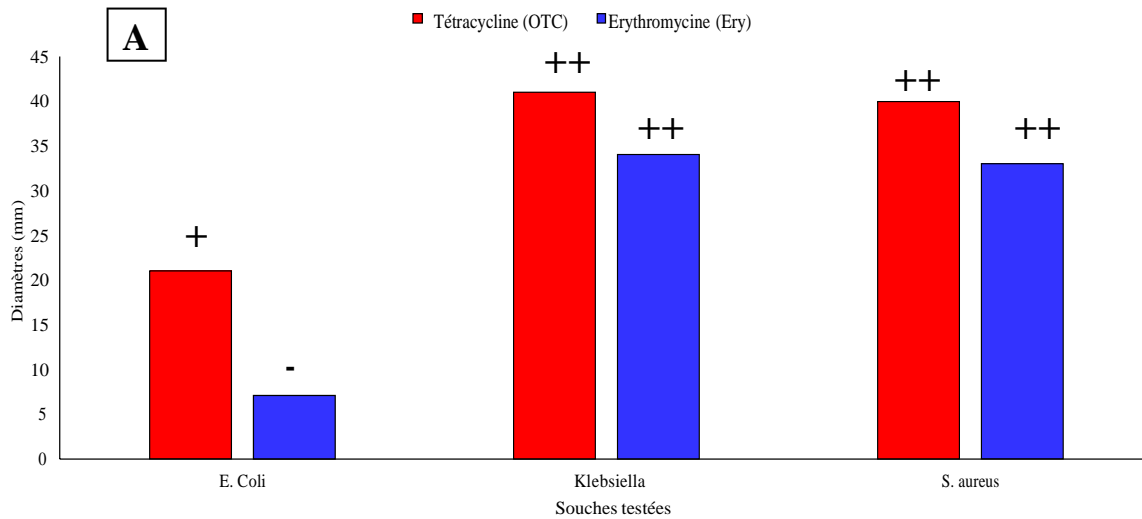


Figure 21(A): Résultats Diamètres d'inhibitions des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques (*Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm. ; Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm. ; Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm ; Extrêmement sensible (+++) : >20mm*)(CMF, 2022).

D'après la figure (Figure. 21 B), il a été observé que les trois souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés.

E. coli montré une sensibilité uniquement vis-à-vis de tétracycline. Elle était résistante vis à vis de Erythromycine.

Klebsiella et *S. aureus* ont présentent une forte sensibilité vis-à-vis les deux antibiotiques.

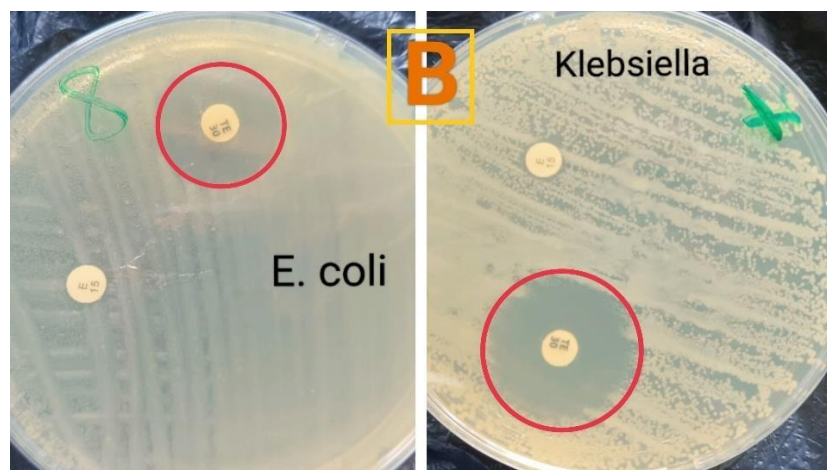


Figure21(B) : Résultats des diamètres d'OTC sur *E.Coli* et *Klebseila*.

Nos résultats montrent que les souches *Klebsiella* et *S.aureus* sont les plus sensibles à l'antibiotique tétracycline, les diamètres d'inhibition mesurés sont respectivement 41 mm et 40 mm pour les deux derniers et pour la souche *E. coli* le diamètre d'inhibition est intermédiaire par rapport à les autres souches (21mm). Concernant à l'antibiotique Erythromycine, les souches *Klebsiella* et *S.aureus* sont très sensibles avec des diamètres d'inhibition respectivement 34 et 33 mm, Concernant à *E. coli* est résistante à cette antibiotique avec un diamètre d'inhibition 7mm.

3.2. Résultats de Méthode de diffusion en milieu gélosé

Les résultats de ce paramètre testé avec différentes concentrations de l'extrait d'ail et de sont présentés dans les figures respectivement les **figures(22)**.

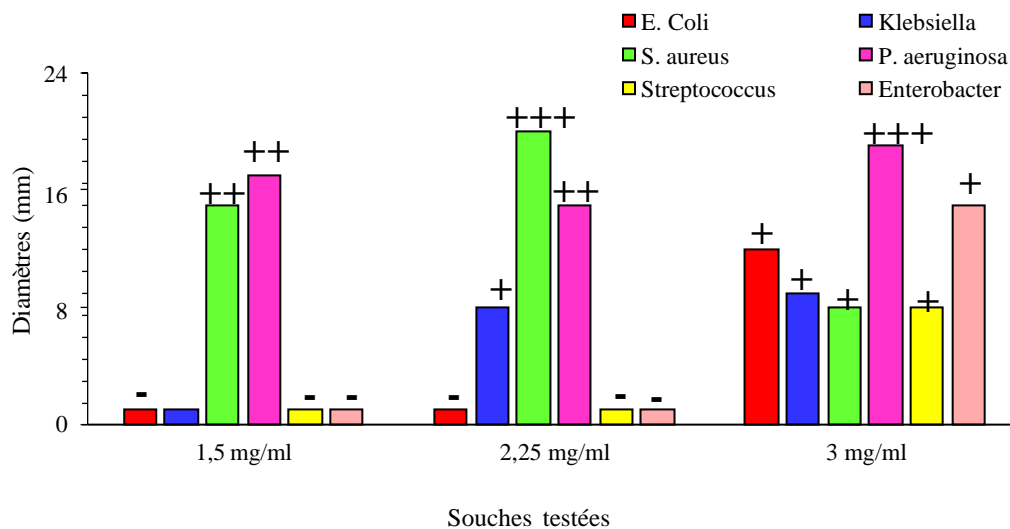


Figure 22 : Histogramme montrant les Diamètres d’inhibitions des souches étudiées vis-à-vis les doses administrées aux bio-essais de l'extrait d’*Allium sativum* (Diamètre de la zone d'inhibition en mm) (*Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm.* ; *Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.* ; *Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm ; Extrêmement sensible (+++) : >20mm.* (CMF, 2022).

L'étude de la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'extrait éthanolique de l'ail, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. (**Figure.23**).

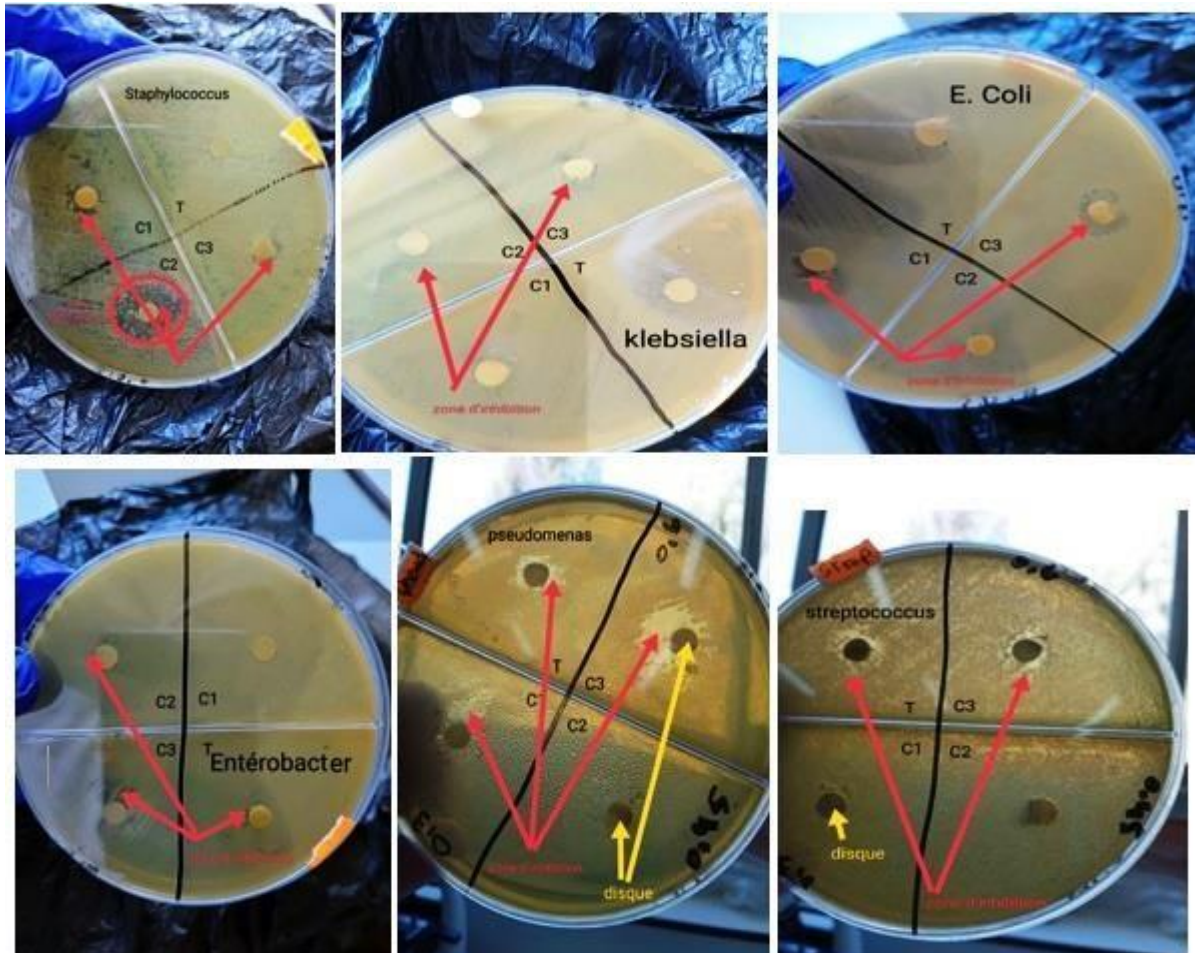


Figure 23 : Effet de l'extrait éthanolique d'ail sur différentes souches

D'une manière générale, ces différentes concentrations de l'extrait testés inhibe les souches étudiées et entraîne des diamètres qui varient en fonction de la concentration de l'extrait alcoolique testé.

Les résultats montrent que les diamètres d'inhibition de l'extrait d'ail obtenue avec les différentes concentrations sont plus active sur *P. aeruginosa* et *S.aureus* que sur *Enterobacter*, *Klebsiella*, *E. coli* et *streptococcus*.

Pour la concentration 1.5 mg, *P. aeruginosa* et *S.aureus* sont les souches les plus sensible avec un diamètre de 17 mm et 15 mm, par contre chez les autres souches ces diamètres de la zone d'inhibition est de < 1mm.

Les souches *P. aeruginosa* et *S.aureus* sont les plus sensible à l'effet de l'extrait à concentration 2.25 mg, les diamètres d'inhibition mesurée sont respectivement 15 mm et 20 mm pour les deux derniers et pour la souche *Klebsiella* le diamètre d'inhibition est intermédiaire par rapport à les autres souches. Concernant à les autres souches (*E. coli*,

Streptococcus et *Entérobacter*), elles sont totalement résistantes à cette concentration, le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 1mm.

Pour la concentration 3 mg, *P. aeruginosa*, *Entérobacter* et *E. coli* sont les souches les plus sensibles avec un diamètre respectivement de 19 mm, 15 mm et 12 mm, par contre chez les autres souches (*Klebsiella*, *Streptococcus*, et *S. aureus*) ces diamètres de la zone d'inhibition sont entre 8 mm et 9 mm.

Les résultats obtenus prouvent l'existence d'une activité antibactérienne. Donc il est indispensable d'estimer les CMI.

3.3. Détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu solide

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion en disque nous ont conduit à faire confirmer quantitativement l'activité antibactérienne de l'extrait vis-à-vis des souches testées qui ont montré une zone d'inhibition.

L'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait a été effectuée par la détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu solide. Les résultats obtenus sont représentés dans **la figure 24**.

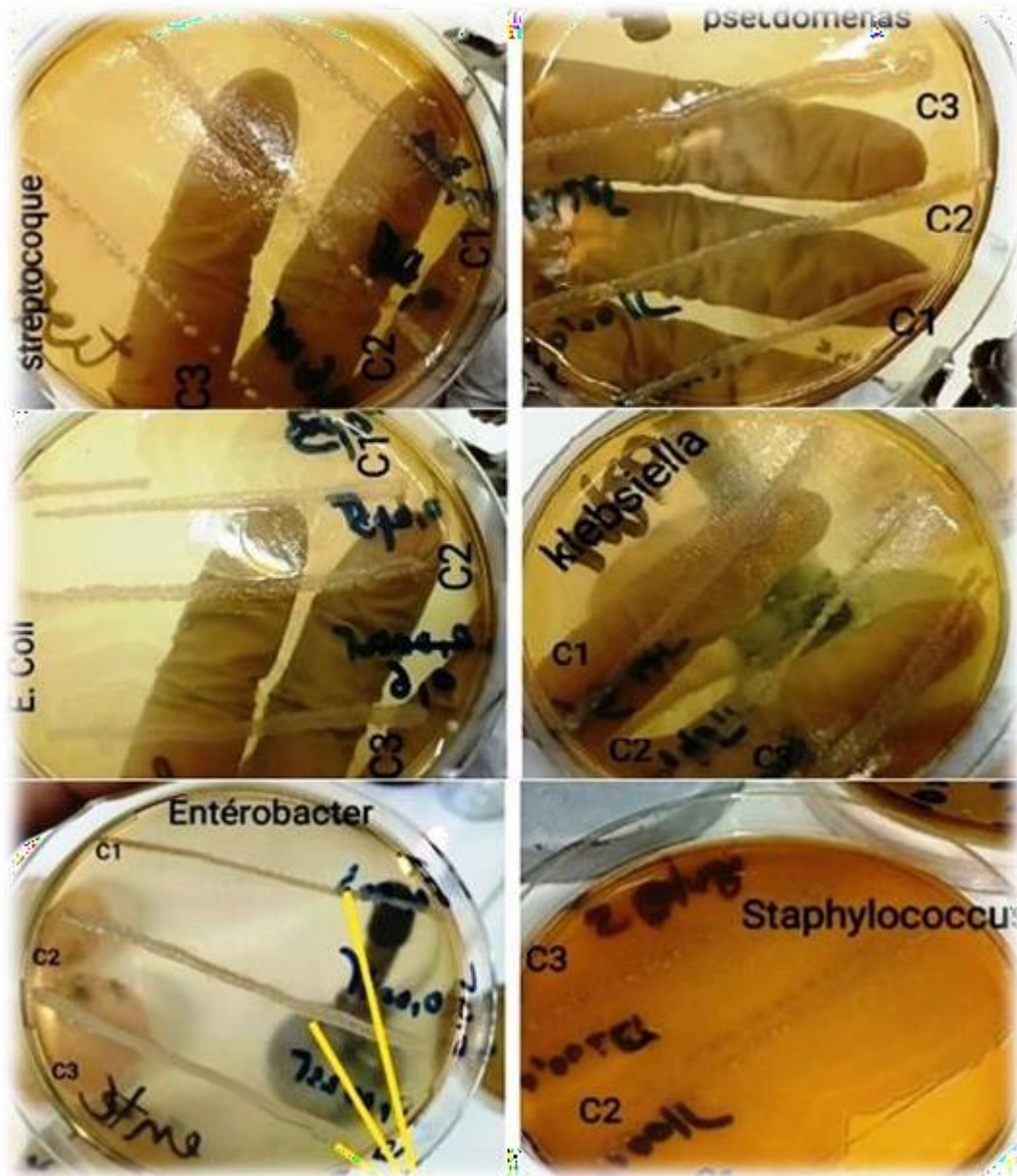


Figure24 : Détermination de la CMI.

Dans notre résultat nous avons observé une croissance bactérienne, bien qu'il y ait un extrait. On dit que la quantité d'extrait que nous avons utilisée est insuffisante pour inhiber de 99.9% de la croissance des bactéries.

(Esther, 2022) dans leur étude sur résistance aux antimicrobiennes des bactéries isolées de poisson marins et d'eau douce ont obtenu des résultats significatifs parmi lesquelles Sur les 48 isolats d'*E. coli*, 12 (25%) étaient résistants à l'Erythromycine, ceci est similaire à nos résultats où nous avons trouvé que *E. coli* était résistante à l'Erythromycine mais elle était

sensible à tétracycline. En Contrairement aux résultats obtenus par (Sifuna *et al*, 2008), où *E. coli* a montré une résistance principalement à l'ampicilline et à la tétracycline.

Par rapport à *Klebsiella spp* selon (Esther, 2021) a présenté une résistance à six agents antimicrobiens gentamicine, la tétracycline, la pénicilline, l'Erythromycine, l'azithromycine et la ciprofloxacine, ces derniers ne concordaient pas avec nos résultats où nous avons trouvé que *Klebsiella* a une forte sensibilité contre la tétracycline et l'Erythromycine.

(Rose *et al*, 2009) et (Ahmed *et al*, 2007) ont conclu que la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques chez les animaux, et en particulier des animaux marins, indique non seulement la présence de microbes à grande échelle, mais aussi qu'un pourcentage significatif de bactéries résistant à plusieurs antibiotiques.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait d'ail vis-à-vis des souches :

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Enterobacter* par la méthode de diffusion en milieu gélosé révélé que la nature de la souche et le mode de préparation d'extrait/ solvants utilisé ont une influence sur les résultats de mesure de l'activité antibactérienne.

La méthode des disques est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à tester. Dans le cas ses solutions avec une basse activité, une grande concentration ou volume est nécessaire ; néanmoins la capacité des disques est limitée. C'est pourquoi certains extraits exhibent des zones d'inhibition incomplètes qui peuvent être attribuées à une résistance par déficience de dose d'extrait (Gülçin *et al.*, 2004).

Test de sensibilité sur milieu gélosé montre que les concentrations de l'extrait, montré une zone d'inhibition pour les disques imbibés dans les boîtesensemencées de *P. aeruginosa*, et *S. aureus* contrairement aux disques imbibés dans les boîtesensemencées de *Entérobacter*, *E. coli*, *Streptocoque*, et *Klebsiella* montré une zone d'inhibition pour les fortes concentrations uniquement.

(Iwalokun *et al*, 2004) dans leur étude in vitro des propriétés antibactériennes de l'extrait d'ail contre les bactéries multi-résistantes ont obtenu des résultats significatifs vis-à-vis plusieurs souches testées parmi lesquelles *E. Coli* et *S. aureus* où les diamètres des zones d'inhibition étaient : 21.5mm et 24.6mm respectivement. Ces derniers sont légèrement

supérieurs par rapport à nos résultats qui sont moyennement de l'ordre de 12mm pour une forte concentration, 20mm.

D'autre part, les résultats de (Benzeggouta, 2005), ont montré la sensibilité des deux souches avec des degrés divers, où le diamètre de zone d'inhibition de *S. aureus* était très important (40mm ; équivalent d'extrême sensibilité) par rapport au diamètre d'inhibition chez *E. coli* qui présentaient une zone d'inhibition de 15mm de diamètre, qui sont proches à nos résultats (12mm).

(Bacar, Meskine, 2014), dans leur étude in vitro des propriétés antibactériennes de l'extrait d'ail contre les bactéries multi-résistantes, ont obtenu de résultats significatifs vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, et *pseudomonas aeruginosa* où les diamètres des zones d'inhibition étaient : 9mm et 10mm respectivement. Ces derniers sont différents par rapport à nos résultats qui sont moyennement de l'ordre de 20mm et 19mm.

La CMI est une méthode quantitative basée sur le principe du contact d'un microorganisme à une série de dilutions de la substance testée. Elle est couramment utilisée comme un critère admis pour la mesure de la susceptibilité des microorganismes aux inhibiteurs (Van Vuuren, 2008).

Hughes *et al* (1991), qui ont confirmé une sensibilité à l'homogénéat de gousse d'ail ainsi que des composés apparentés à l'ail vis à vis *Escherichia coli*. Souza et ses collaborateurs (1995) dont les résultats de recherche ont montré une efficacité de l'ail sur les bactéries Gram négatifs et positifs.

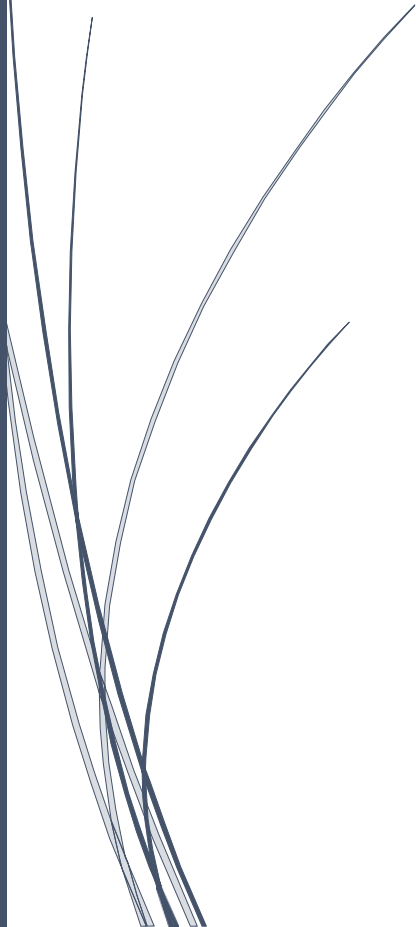
Nos résultats sont en accord avec eux, mais les concentrations d'extrait d'ail que nous avons utilisées sont faibles et insuffisantes pour tuer les bactéries. Pour que les bactéries soient sensibilisées, il faut utiliser des concentrations supérieures à 3mg.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* a la réputation d'être très résistante à toutes sortes d'agents antimicrobiens et antibiotiques en général. Il est établi que le traitement de telles bactéries nécessite des concentrations considérables d'agents antimicrobiens (Fleurette *et al.*, 1995).



Chapitre 03 :

Résultats et Discussion (B)



4. Résultat de contrôle de qualité microbiologique alimentaire (poisson frais):

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du poisson frais indiquant la présence de la flore mésophile Aérobie totale (FMAT) et les coliformes thermo tolèrent (CTT) et aussi des *Staphylocoques*. Notant l'absence totale des *Salmonelles*.

Nous avons réalisé une série d'analyses sur plusieurs échantillons (n=5) pour nous assurer de la qualité du poisson tilapia frais en fonction des risques microbiologiques portés par la plupart des denrées alimentaires issues des produits de la pêche et de l'aquaculture. Conformément à la réglementation en vigueur (JORADP 2017).

4.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT):

La figure 25 Les résultats des analyses de la Flore mésophile aérobie totale (FMAT) des tilapia frais traité par l'OTC (Fig. 25 a) et l'extrait de l'ail (Fig. 25 b) y compris le témoin montrent la présence des FMAT.

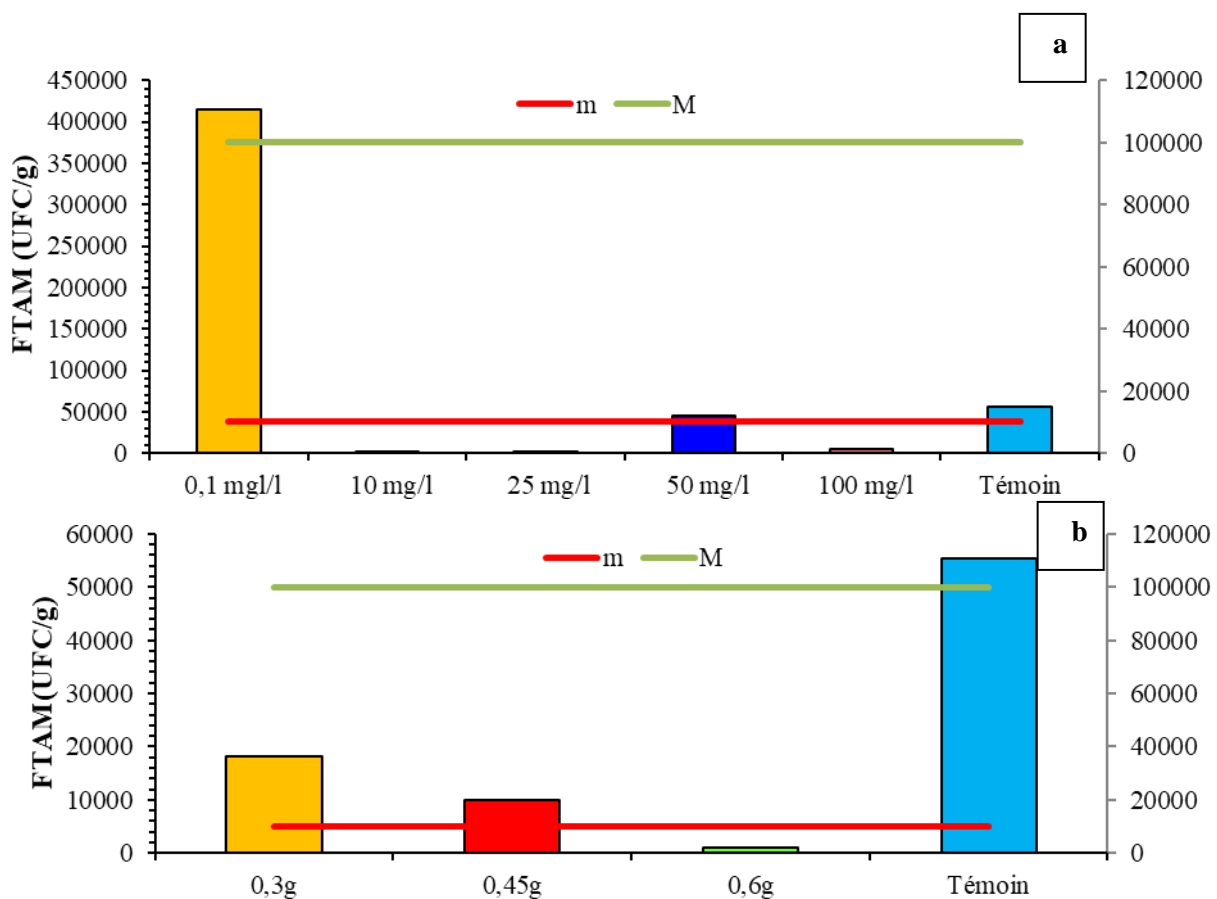


Figure 25 : Résultats des FMAT chez *Oreochromis niloticus* (a: traité par l'OTC; b : Traité par l'extrait de l'ail).

Nous avons enregistré un taux très élevé de l'ordre de 414545 UFC/g est observé chez les poissons traité par la dose [0,1 mg/l d'OTC], les minimas dont observés chez les témoins.

Les Résultats du comptage bactérien total dans les tissus d'*Oreochromis niloticus* où les traitements ont été appliqués sont illustrés dans **la figure 25** Il montre que le nombre total des FMAT était plus élevé dans groupe témoin ($5,5273 \times 10^4$ UFC/ml) que dans tous les groupes d'*Allium sativum* ($9,714 \times 10^3 \pm 8,612 \times 10^3$ ufc/ml). Avec les régimes par l'OTC, il variait de [$9,32 \times 10^4 \pm 1,05 \times 10^5$ ufc/ml].

La figure 26 montre l'aspect des colonies de l'FMAT obtenue sur les boites de pétri sont sous forme lenticulaire en masse, la taille est moyenne et petite et la couleur est blanchâtre crémeuse.

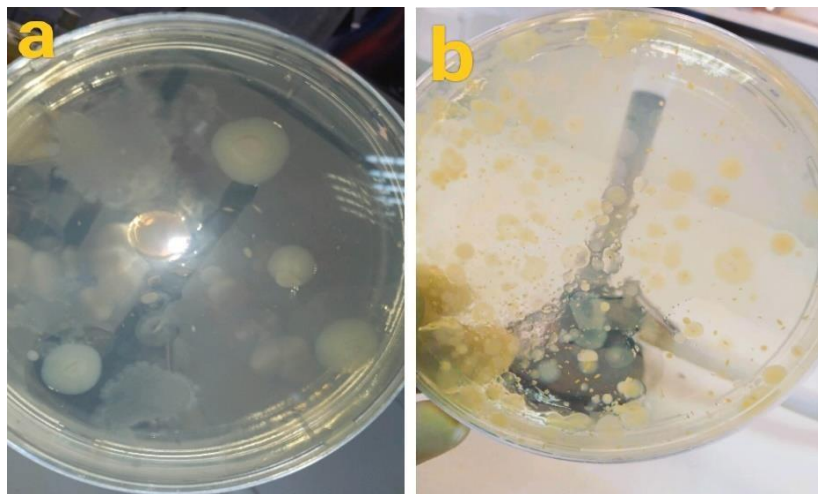


Figure 26 : Résultats de la recherche de la flore mésophile aérobie.
a): résultat du poisson témoin, b) : résultat du poisson traité par l'ail.

4.2. Coliforme thermo tolérants (CTT) :

Les résultats de la numération bactérienne des Coliforme thermo tolérants (CTT) dans les muscles et de l'intestin d'*O. niloticus* sont également montré dans **la figure (27 a et b)** les CTT variaient de 0 à 80 ufc/g avec *Allium sativum* traitements (**fig. a**) et de 0,0 à 54 ufc/g avec les traitements au chlora par l'OTC(**fig.b**), les CTT étaient absents dans le témoin .

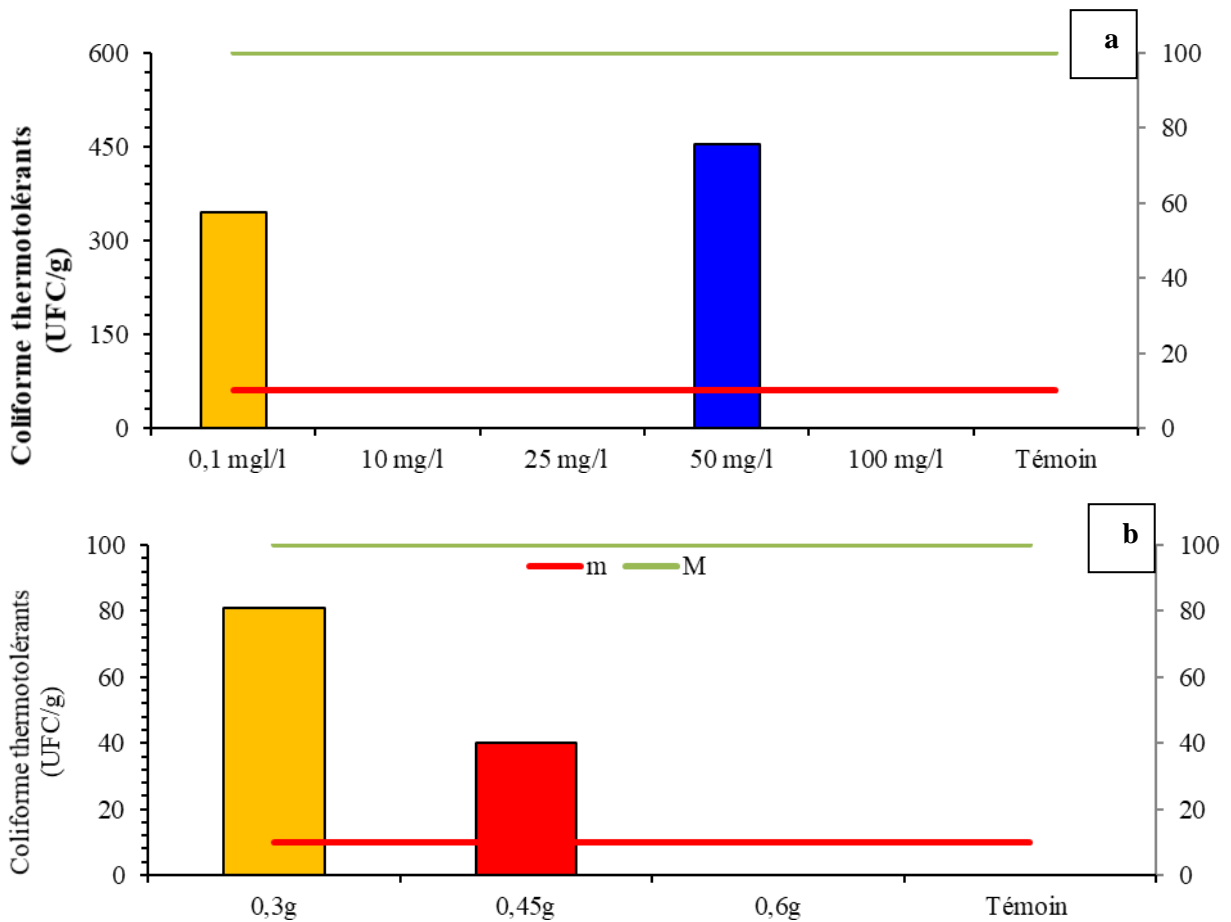


Figure 27: Résultats des Coliformes thermotolérants (CTT) UFC/ g chez *Oreochromis niloticus*.

La figure 28 (montre l'Emergence des colonies thermo tolérantes obtenue sur les boîtes de pétri a été indiquée par l'apparition des colonies rouge.

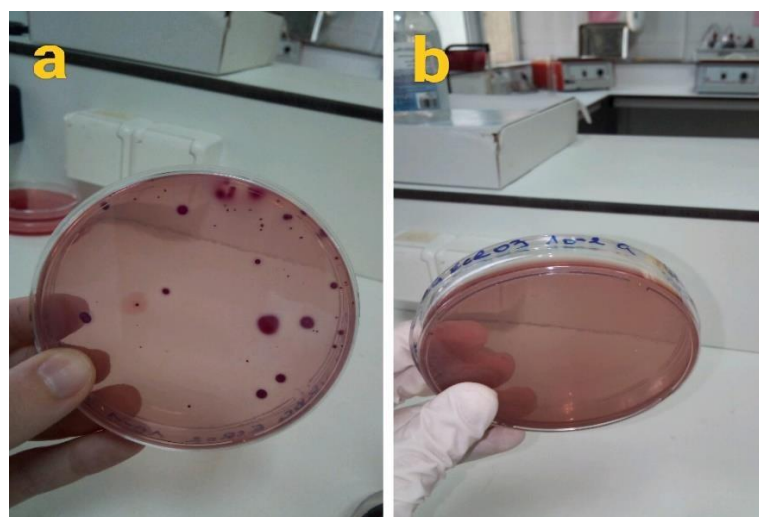


Figure 28 : Résultat de recherche des coliformes sur VRBG (a : présence des coliformes, b : absence des coliformes).

4.3. *Staphylocoque* à coagulase + :

Les résultats d'analyses des échantillons de bio-essais traités par l'OTC et l'extrait de l'ail montrent la présence négligeable.

La **figure (29)** montre La présence des colonies de *S. aureus* à coagulase+ au couleur jaune avec un changement de couleur du milieu (Chapman) du rouge au jaune.

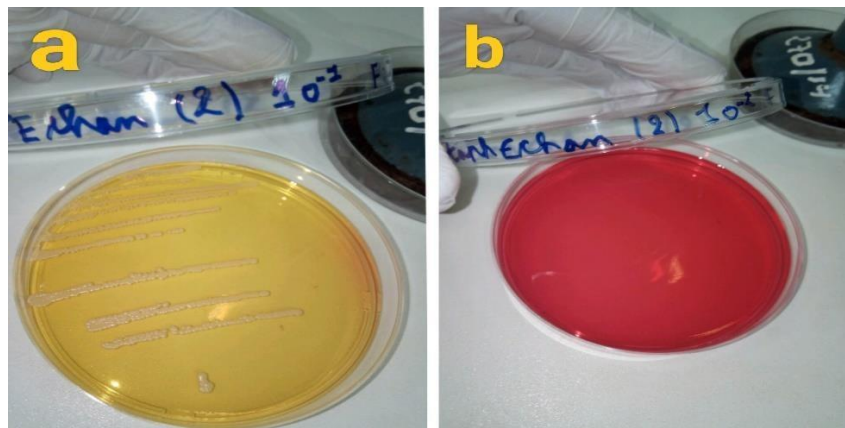


Figure29 : Résultats de recherche des *S. aureus* à coagulase positive(a: présence des *S. aureus*, b: absence des *S. aureus*)

4.4. *Salmonella*:

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons de tilapia traité par l'ail et l'OTC montrent l'absence totale des *salmonella*.



Figure30:Résultat de recherches de *salmonella* sur TSI.

L'absence des *salmonelles* dans les tous échantillon de poisson analysés est conforme aux prescriptions normatives qui recommandent une absence de ce microorganisme pathogènes dans les produits alimentaires (JORADP, 2017).

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

Les coliformes totaux et les *Streptocoques* sont comptés à partir de l'eau, de l'ensemble des aquarium d'*O. niloticus* nourris d'*Allium sativum* et l'OTC sont illustrés dans les figures (31 a et b). Les Coliformes totaux de l'eau diminué dans tous les groupes nourris avec des régimes *Allium sativum* (0,3 ; 0,45 et 0,6 g de régime) : $0,5 \times 10^3$, $0,25 \times 10^3$ et $0,1 \times 10^3$ UFC/ml, respectivement. Il a également diminué en ces groupes nourris avec des régimes à base de d'OTC (0,1 ; 10 ; 25 ; 50 et 100 mg/l) : $5,2 \times 10^3$, $0,4 \times 10^3$, $0,5 \times 10^3$, et deux fois 0.2cfu/ml, respectivement, par rapport aux régimes témoins respectivement ($0,1 \times 10^5$; $8,8 \times 10^3$ UFC/ml).

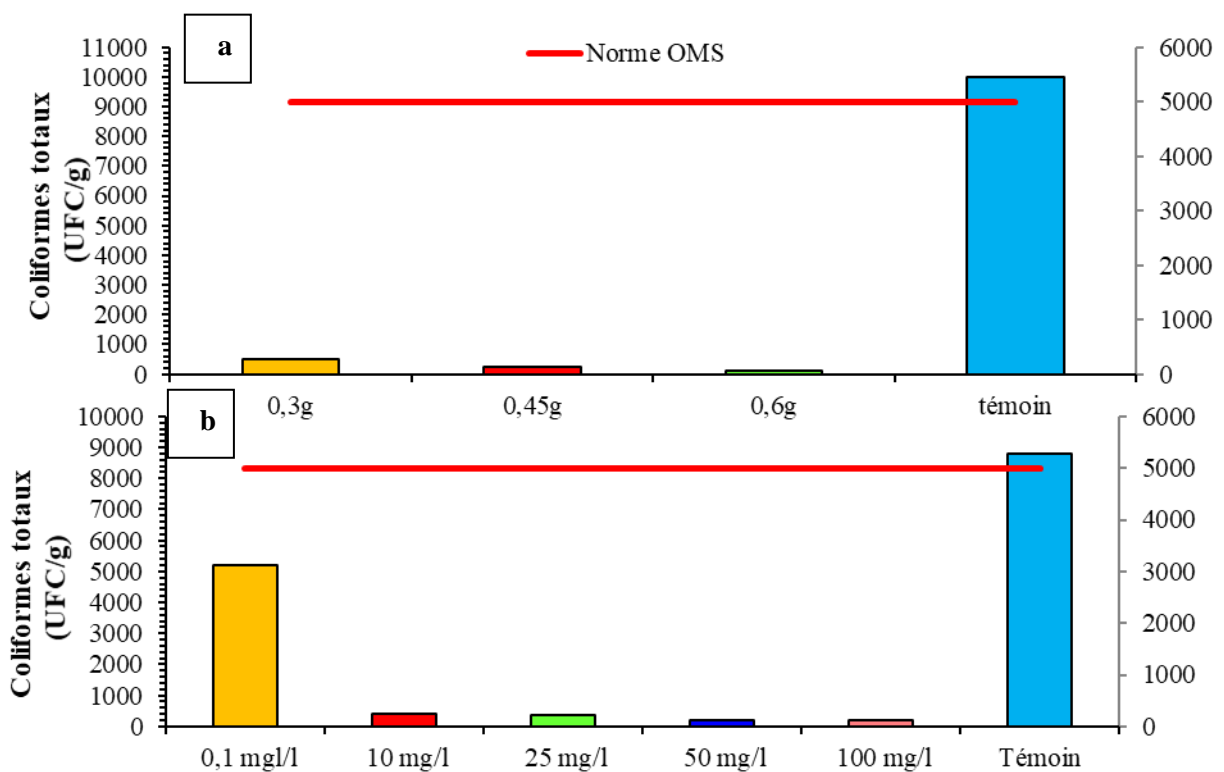


Figure 31 : Résultats des coliformes totaux de l'eau des aquariums (a : L'extrait de l'Ail (*Allium sativum*) ; b : OTC).

Les doses de 0,6 g d'*Allium sativum* et 50 et 100mg/l le régime OTC était plus efficace pour réduire le nombre total des *Streptocoques* dans l'eau (0,2 UFC/g , respectivement). Le nombre total des *Streptocoques* dans l'eau des aquariums variait de $0,023 \times 10^3$ à $0,025 \times 10^3$ ufc/g parmi les niveaux d'*Allium sativum* et de $0,02 \times 10^3$ à $0,023 \times 10^6$ UFC/g parmi les niveaux de L'OTC, tandis que dans le groupe témoin, il était de $4,4 \times 10^4$ ufc/g.(Fig.32).

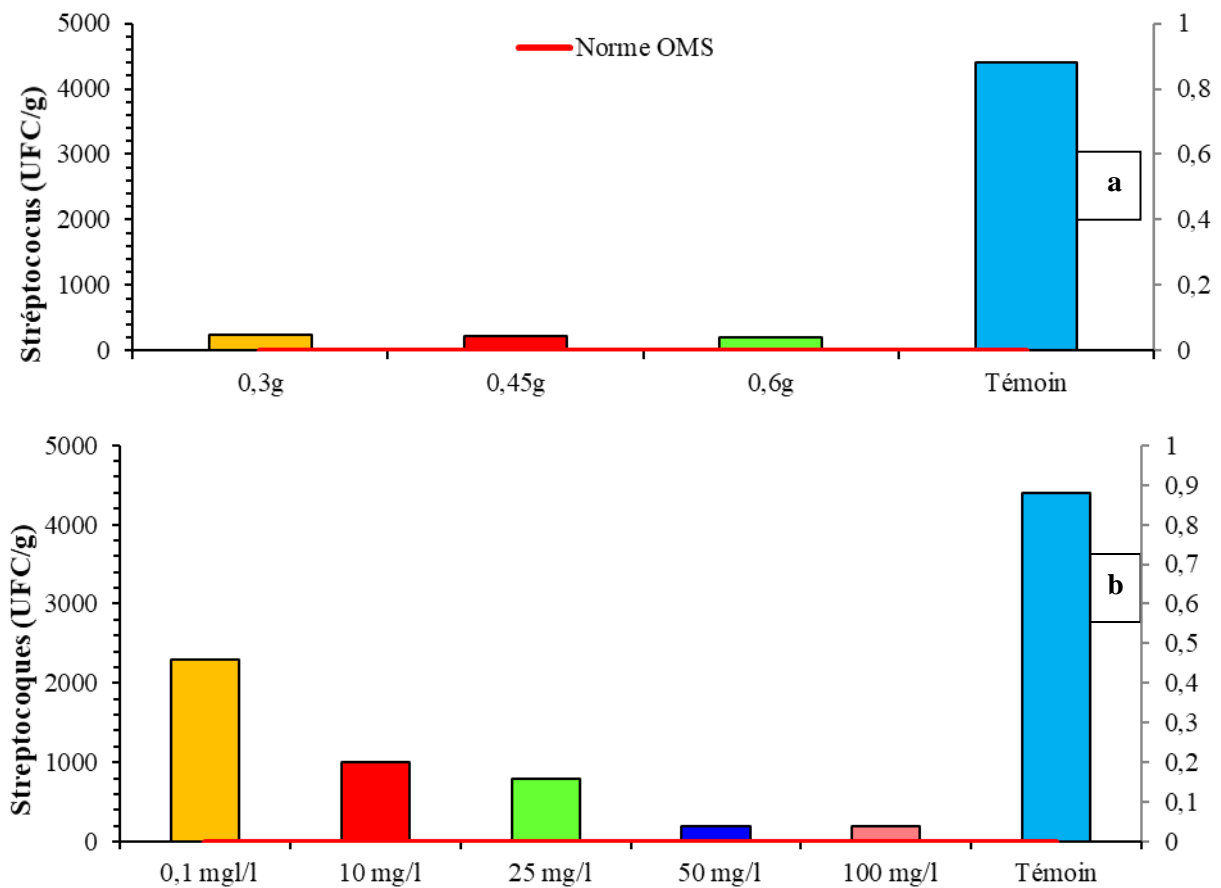


Figure32: Résultats des streptocoques dans de l'eau des aquariums a : L'extrait de l'Ail (*Allium sativum*) ; b : OTC).

Discussion

Allium sativum pourrait fournir une base appropriée pour de nouveaux anti-*Helicobacter pylori*-thérapies en raison de son action antimicrobienne bien établie (Cavalito et al., 1944), complexité chimique, et action à large spectre, ne favorisant pas l'acquisition d'une résistance aux antibiotiques. Dans de plus, des effets intragastriques directs sont possibles car les antimicrobiens *Allium sativum* ne sont pas affectés par les environnements acides (Lawson et al., 1996); sinon le suc gastrique améliore l'activité antimicrobienne des constituants d'*Allium sativum* (Fortunator et al., 1955).

L'ail est un légume important largement cultivé dans de nombreux pays. C'est utilisé comme nourriture pour les humains ainsi que pour certains animaux et comme remède contre plusieurs maladies, comme rapporté dans la médecine populaire. La supplémentation en oxytétracycline en tant qu'antibiotique a un effet plus important que les régimes sans antibiotiques pour améliorer le poids vif et la conversion alimentaire efficacité chez les poissons d'élevage intensif. (Darwish et al. 2013).

Les antibiotiques sont largement utilisés en prophylaxie et en traitement pour éliminer ou réduire contamination bactérienne à un degré qui améliore le mécanisme de défense de l'hôte (Smith et al., 1963)

L'expérience en cours visait à étudier les effets d'*Allium sativum* et l'oxytétracycline « OTC »)sur la santé du tilapia du Nil. *Allium sativum* a été utilisé aux niveaux 0,3 ;0,45et 0,6 g de régime et OTC à 0,1 ;10,25,50et 100mg/l (doses LMR) de régime par balnéation, Cela indique que le poids final, le gain de poids a augmenté de manière significative avec tous les traitements d'*Allium sativum* et OTC. Les performances de croissance les plus élevées ont été observées chez les poissons nourris avec 0,6g d'ail et 25 mg/l d'OTC. Ces résultats concordent partiellement avec ceux mentionnés par (Diab et al.2002), qui ont obtenu les meilleures performances de croissance chez *O. niloticus* avec Alimentation 2,5% ail/kg.

Le dénombrement de la flore totale cultivable reste une méthode d'appréciation de la qualité bactériologique des poissons étudié, mais leur nombre très élevé montrent qu'il y'a un plus grand risque de trouver des bactéries photogènes (SANDAYIGAYA et al. 1990).

La forte contamination des poissons par les coliformes thermos tolérants 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 revête parfois très photogènes.

Selon (SITTI, 2001) il y a une autre raison du risque sanitaire lie aux coliformes thermo tolèrent est la production de l'histamine. Une amine biogène résistante a la chaleur et toxique pour l'homme.

Les analyses physico-chimiques et bactériologiques de l'eau jouent un rôle important dans la détermination de sa qualité.(HASHEESH et al. 2011).

Les résultats du test de Challenge « survie » révèlent que le taux de mortalité était de 10 % avec tous les doses d'*Allium sativum* en Revanche, le taux de mortalité de 40% est observé avec les forte dose de l'OTC. Le taux de mortalité en groupe témoin était de 5 %. Nous pouvons conclure que les régimes avec *Allium sativum* est bénéfique pour la survie d'*O. niloticus*.

Au début du printemps et de l'automne et avec les changements de température, les poissons sont affectés par les bactéries et les champignons, les antibiotiques sont donc utilisés pour le traitement et la prévention des maladies. Les tétracyclines ont été classées au premier rang des antibiotiques utilisés en Afrique, peut-être parce que de leur large spectre, de leur efficacité et de leur prix bon marché. Cet antibiotique est l'un des principaux médicaments utilisés dans pisciculture, par voie orale, en bain ou par injection, pour lutter contre les infections bactériennes(Darwish et al. 2013).

Ainsi, nous avons étudié l'efficacité de l'ail comme antibactérien ou comme préventif mesure pour les maladies des poissons par rapport à l'OTC, qui est considéré cancérigène et tératogène, montrant une toxicité reproductive et de nombreux problèmes de résistance aux antibiotiques (Huddleston, 2014).

Des normes de sécurité microbiologique n'ont pas été établies pour les installations de pisciculture aux États-Unis ni dans aucun autre pays producteur (Mckeon et al., 2001) et le nombre total de bactéries oule nombre de coliformes avec des traitements antibiotiques ou à l'ail n'a jamais été détecté.

Les résultats du comptage bactérien total ont révélé que la charge bactérienne dans l'eau de l'aquarium était plus affectée par les régimes à l'*Allium sativum* que par le l'OTC et

les régimes témoins; cependant, le nombre total de bactéries avec les derniers régimes était inférieur en nombre à celui de ceux trouvés par [Nedoluha et Westhoff \(1997\)](#), qui ont rapporté que le nombre de plaques aérobies chez les poissons l'eau de croissance était de $6,3 \times 10^6$ UFC/ml dans des étangs avec une densité de peuplement de 11,4g de poisson/gallon (3 g de poisson/l). [Sugita et al. \(1989\)](#) ont constaté que le nombre de bactéries dans l'eau de croissance de les poissons-globes (*Fugu niphobles*) hébergés dans des aquariums en verre variaient de 10^4 à 10^5 ufc/ml. Notre les résultats étaient similaires à ceux de ([Shalabi et al 2001](#)), qui ont montré que le total viable le nombre de bactéries dans l'eau fournie par les systèmes d'eau de l'unité dentaire variait de non détecté à $2,16 \times 10^4$ UFC/ml, et en désaccord avec ceux d'[Al-Harbi et Uddin \(2003\)](#), qui ont rapporté que le nombre total de bactéries viables était de l'ordre de $5,5 \pm 0,8 \times 10^3$ à $2,4 \pm 1,2 \times 10^3$ cfu/ml dans l'eau du bassin sans aucun traitement ; ces valeurs étaient inférieures à nombre total de bactéries sous notre contrôle.

Nombre total de FMAT et CTT trouvés chez les tilapias nourris avec des régimes complétés par *Allium sativum* et baignier dans l'OTC étaient inférieurs à ceux du groupe témoin .l'OTC étaient plus efficaces pour réduire le nombre total de bactéries dans les muscles et l'intestin que les régimes à base d'ail. [Al-Harbi et Uddin \(2003\)](#) ont rapporté que la bactérie totale le compte de l'intestin du tilapia élevé dans un étang en terre était de $3,4 \pm 1,8 \times 10^6$ - $5,8 \pm 0,4 \times 10^7$ UFC/g, ce qui était supérieur à celui de notre étude.

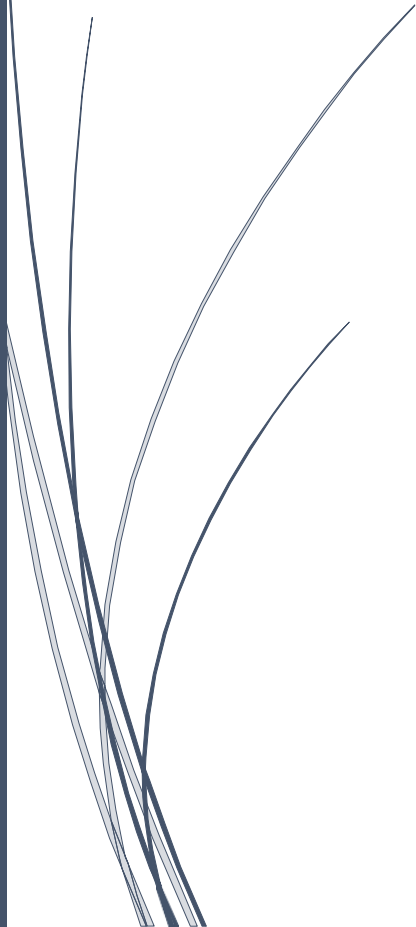
Le dénombrement des coliformes dans l'eau avec des poissons nourris *d'Allium sativum* et de l'OTC a été inférieur à celui de l'eau avec le groupe témoin ; les régimes à base d'ail (0,6 g) et les doses de 50mg/l et 100mg/l de l'OTC (régime de 30 mg/kg) et d'ail (régime de 20 g/kg) était plus efficace que ceux des autres niveaux. Dénombrement des coliformes totaux dans l'eau avec des poissons nourris à l'*Allium sativum* et chloramphénicol était inférieur à celui rapporté par [Mckeon et al.\(2001\)](#) dans l'eau préfiltrée des systèmes de recirculation (10^6 UFC/100ml), mais dans l'eau filtrée il était de $0,16 \times 10^5$ UFC/100 ml, ce qui concordait avec les résultats de cette étude.

Enfin, à partir des résultats obtenus, il pourrait être recommandé que l'ail (*Allium sativum*) peut être utilisé comme promoteur de croissance et antibiotique pour le traitement ou la prévention des maladies et pour améliorer la tolérance des poissons au stress environnemental([Sivam et al., 2001](#)) par conséquent, la poudre d'ail doit être ajoutée au régime alimentaire des poissons d'eau douce.

Aucune *salmonelle* n'a été trouvée dans l'ensemble des échantillons analysés. L'absence des *salmonelles* dans les poissons analysés est conforme aux prescriptions normatives qui recommandent une absence de ce microorganisme pathogène dans les produits alimentaires (JORADP, 2017). A ce stade et d'après ces résultats microbiologiques obtenus durant notre étude, on peut dire que les poissons du tilapia sont de bonne qualité.

Chapitre 03 :

Résultats et Discussion (C)



6. Résultats de détection des résidus des antibiotiques

Pour rechercher les résidus d'antibiotiques sur trois (03) échantillons (des intestins, des foies, et muscles) des poissons nous avons utilisé la méthode appelée « méthode des quatre boîtes » ou encore « méthode des quatre plaques » par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA.2000).

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).

En présence d'antibiotiques, les bactéries ne se multiplieront pas et une zone d'inhibition apparaîtra. Ce test est souvent trop peu sensible et à lecture difficile avec des échantillons complexes (ex: organes) (SCIPPO M.L., 2006).

6.1. Résultats selon la famille d'antibiotique rechercher

6.1.1. Résidus de tétracycline avec la bactérie pathogène *Bacillus subtilis*

Sur les trois(3) échantillons analysés (l'intestin, le foie, et muscle) avec différentes dilutions d'antibiotique de tétracycline c'est-à-dire les concentrations administrées lors de cette étude, les résultats obtenus montrent la présence des zones d'inhibitions qui témoignent de la présence des résidus d'antibiotiques (**fig. 33**). Pour les trois (3) échantillons sont positifs, qui ont présentés des zones d'inhibitions comprises entre (6 et 25 mm). (**Tab.7**)

D'une manière générale, ces différentes concentrations de l'antibiotique (tétracycline-OTC) testés inhibe la souche étudiée (*Bacillus*) et entraîne des diamètres qui varient en fonction de la concentration de l'antibiotique testé.

Nos résultats montrent que La souche *Bacillus* est plus sensible à l'effet de l'antibiotique à concentration 50 ml avec un diamètre de 17 mm Concernant à la concentration (0.1 ml) , la souche *Bcillus* est résistante , le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 1mm.

Pour les concentrations (100, 25, et 10ml) nos résultats montrent que la souche sensible, avec des diamètres d'inhibition respectivement 11, 12 et 10mm.

Tableau 6: Résultats de résidus d'antibiotiques « Tétracycline » (méthodes microbiologique).

Dilution OTC	Aquarium	OTC	Ech 1	Ech 2	Ech 3
C1 =0.1ml	Aq(E)	*	*	*	*
C2 =10ml	Aq(D)	10	12	24	6
C3 =25ml	Aq(C)	12	6	9	13
C4 =50ml	Aq(B)	17	15	6	25
C5 =100ml	Aq(A)	11	9	*	6

(*) : aucune zone d'inhibition >1mm, (Diamètre de la zone d'inhibition en mm).

Ech1 : intestin, **Ech2** : Foie, **Ech3** : Tissue(muscle).

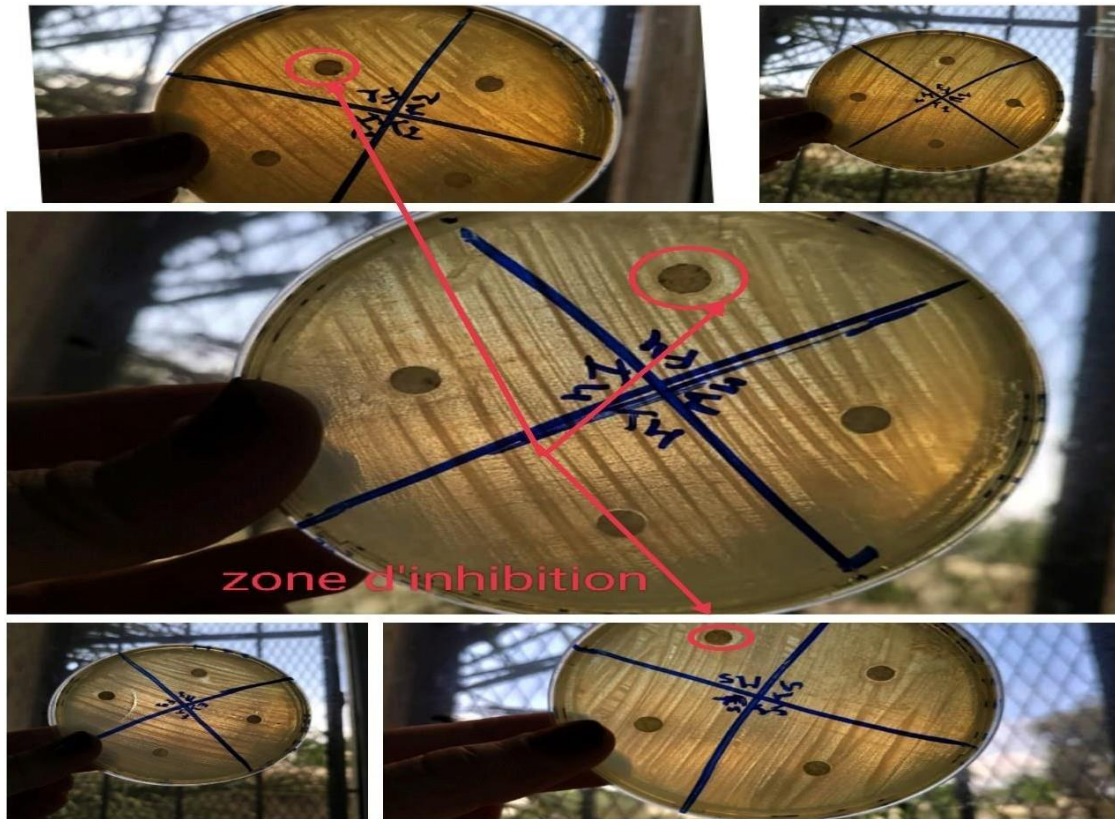


Figure33 : Résultats de détection des résidus d'antibiotiques « Tétracycline » dans les intestins, les foies, les muscles, des Bio-essais *Oreochromis niloticus*. (Après 48 h d'incubation).

D'après les résultats représentés dans les tableaux, nous pouvons constater que l'analyse microbiologique selon la méthode des quatre boîtes effectuées sur le foie, l'intestin et le muscle de poisson, a abouti à un taux moyen de résidus d'antibiotiques par rapport à l'étude de l'année passée, leurs résultats sont élevés (EL Mokli Nour El Hoda et Soualhi Rayene, 2022). Des études sur les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale ont été déjà réalisées en Algérie, avec des méthodes qualitatives.

Comme leur nom l'indique, les tétracyclines (OTC) possèdent une structure chimique commune composée de quatre cycles hexacarbonés fusionnés en ligne, elles ont été découvertes pour la première fois en 1945 (Chopra, I. et M. Roberts, 2001), et depuis elles sont utilisées dans le control des infections bactériennes chez les animaux et chez les humains (Victoria F, 2005).

En Europe, la consommation des agents antimicrobiens en médecine vétérinaire, comme agents thérapeutiques serait de 3 494 tonnes, dont 2 294 tonnes sont des

Tétracyclines, 424 tonnes des macrolides, 322 tonnes des pénicillines, 154 tonnes d'aminoglycosides, 43 tonnes de fluoroquinolones et 75 tonnes d'association de sulfamides avec le triméthoprim (Roach et al., 2015).

Au Royaume-Uni, on a trouvé que les tétracyclines sont les plus largement utilisées comme composés antibactériens, suivies par les sulfamides, les bêta-lactames, les macrolides, les aminoglycosides et les fluoroquinolones (Bonjar, 2014).

En Europe, les taux de prévalence de la contamination des aliments d'origine animale par les résidus de médicaments sont inférieurs à 1 % (CE, 2005). En Afrique, les études actualisées relatives à la présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale sont très limitées (Abiola.Fet al., 2005).

Les *Bacillus* sont généralement sensibles à l'acide clavulanique, l'amoxicilline, la gentamicine, l'amikacine, la tétracycline. Ils sont souvent résistants à la lincomycine, colistine et fréquemment à la fosfomycine (Todar, 2003).

Les résidus d'antibiotiques dans les aliments sont une source de préoccupation (Zeng, S et al., 1996), car ils présentent des risques pour la santé en raison des réactions allergiques qui peuvent leur être associées, de leur pouvoir cancérigène et de l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques en médecine humaine (Sarmah, A.K et al., 2006).



Conclusion et Perspectives

Conclusion & Perspectives

Notre étude s'intéresse à la qualité microbiologique et alimentaire des poissons d'aquaculture le Tilapia du Nil « *Oreochromis niloticus* » ayant subi **une thérapie mixte séparée**, une à base d'antibiotique chimique l'Oxytétracycline (OTC) avec des LMR OCDE 200 (0,1 ;10 ;25 ;50 ;100 mg/l) et l'autre par un régime alimentaire associé à l'extrait de l'Ail (*Allium sativum*,) déjà testé dans la bibliographie (0,3 ;0,45 et 0,6 g).

L'examen microscopique de poisson, montrent la contribution en terme de dominance (%) de la partie biologique des tilapias menacé par l'altération microbiologique est comme suit tissus> branchie> intestin respectivement (57,14% ; 5,71% ; 7,14%). Par conséquent, on note une nette prépondérance de *Staphylococcus* dans les intestins et les branchies respectivement (95% ; 60%), suivi par le genre *Klebsiella* dans les tissus et branchies respectivement avec (25% ; 20%).

Le profil de résistance aux a l'OTC et l'*Allium sativum* par ces souches (*E. Coli* ; *Klebsiella* et *S.aureus*) a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

L'antibiogramme (OTC), montrent une sensibilité uniquement avec les souches *Klebsiella* et *S.aureus* sont les très sensible(++) à l'antibiotique tétacycline , avec des diamètres d'inhibition respectivement (41 mm et 40 mm) . Avec la souche *E. coli* le diamètre d'inhibition présente une sensibilité intermédiaire de taille 21mm.

La méthode de diffusion en milieu gélosé, l'extrait d'Ail (*Allium sativum*), le régime avec 0,3g présente, d'une part **une sensibilité** de taille de 15mm et 20mm respectivement avec les souches *P. aeruginosa* et *S.aureus* . La souche *Klebsiella* le diamètre d'inhibition est intermédiaire par rapport aux autres souches. D'autres part, une résistance est soulevée avec les souches(*E. coli*, *Streptococcus* et *Entérobacter*) ,ou le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 1mm. Alors que le régime d'Ail (0,6g), présente une sensibilité avec *P. aeruginosa*, *Entérobacter* et *E. coli* respectivement [19 mm,15 mm et 12 mm].

La détermination de la CMI a montré que les concentrations de l'extrait utilisés possèdent une action moins inhibitrice de la croissance des souches testées par rapport à la méthode de l'antibiogramme standard.

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du poisson et de l'eau des aquariums indiquant la présence de la flore totale aérobie mésophile (FMAT) et les coliformes thermo tolèrent (CTT) et aussi des *Staphylocoques*. Notant l'absence totale des *salmonelles*.

Globalement, la qualité microbiologique alimentaire de nos Tilapia exposés à l'OTC et l'extrait de l'ail (*Allium sativum*) présente une **Qualité sanitaire bonne, toutes numération bactérienne quelques soit la thérapie est inférieure aux normes Algérienne** la plupart des denrées alimentaires issues des produits de la pêche et de l'aquaculture. Conformément à la réglementation en vigueur ([JORADP 2017](#)).

Les résultats du test de Challenge « survie » révèlent que le taux de mortalité était de 10 % avec tous les doses d'*Allium sativum* en Revanche, le taux de mortalité de 40% est observé avec les forte dose de l'OTC. Le taux de mortalité en groupe témoin était de 5 %. Nous pouvons conclure que les régimes avec *Allium sativum* est bénéfique pour la survie d'*O. niloticus*.

Le dépistage de résidus d'antibiotiques dans le foie, l'intestin, le muscle des tilapia traités par antibiotique (OTC) par la méthode microbiologique de référence dite les quatre (04) boites, est **POSITIF**, cela veut dire qu'à ce stade les poissons sont impropre à la consommation.

Nos résultats ont prouvé l'efficacité du **pouvoir antimicrobien** des deux régimes (OTC et extrait d'Ail « *Allium sativum* »). En revanche, en ce qui concerne la salubrité des denrées alimentaires d'origine animale, la phytothérapie est très indispensable pour la sauvegarde du bien être animale et la santé publique.



Références bibliographiques

Liste des références

1. **Abd-elallatif a.,** ebraheem k. Studies on the effects of *hibiscus subdariffa*, *allium sativum* and *negella sativa* on some bacterial isolates of chickens. *Fac. Vet. Med. Assut. Univ. Egypt*, 1996, 17, 245-51.
2. **Abiola F.A.,** Diop M.M., Teko-Agbo A., Delepine B., Biaou F.C., Roudaut B., Gaudin V. & Sanders P. (2005). – Résidus d’antibactériens dans le foie et le gésier de poulets de chair dans les régions de Dakar et de Thiès (Sénégal). *Rev. Méd. vét.*, 156 (5), 264–268.
3. **Acar, Ü., Kesbic, O. S., Yilmaz, S., Gültepe, N., & Türker, A. (2015).** Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 437, 282–286. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.12.015.
4. **Adler aj., holub bj.** Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemia men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, 65, 445-50.
5. **AFSSA, (2000).** Détection des résidus à activité antibiotique dans les muscles : méthode des quatre boîtes. Paris : Ed. Fougères : Laboratoire d’Etude et de Recherches sur les Médicaments Vétérinaires et les Désinfectants et Laboratoire National de Référence, P11.
6. **Ahmed.A.M,** Motoi.Y, Sato.M et al.,(2007)."Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antibacterial resistance genes," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no. 20, pp. 6686-6690.
7. **Al-Harbi Ah.,Uddin N, 2003.** Quantitative And Qualitative Studies On Bacterial Flora Of Hybrid Tilapia (*Oreochromis Niloticus X O. Aureus*) Cultured In Earthen Ponds In Saudi Arabia. *Aquac. Res.*34, 43-8.
8. **Allison E. H,** Perry A. L, Badjeck M.-C. et al., (2009). “Vulnerability of national economies to the impacts of climate change on fisheries,” *Fish and Fisheries*, vol. 10, no. 2, pp. 173–196.
9. **Alsayeqh AF, Baz AHA, Darwish WS (2021).** Antimicrobial-resistant foodborne pathogens in the Middle East: a systematic review. *Environ Sci Pollut Res Int* 28(48):68111–68133. [https://doi.org/ 10.1007/s11356-021-17070-9](https://doi.org/10.1007/s11356-021-17070-9).

10. **Anonyme 7 d .(2008).**Pharmacologie des Antibiotiques, page 2-60. Cours de Pharmacologie DCEM3.Centre d'Investigations Cliniques.http://www.medecine.univparis7.r/DCEM3/documents/pharmacologie_module17/Pharmacologie%20des%20Antibiotiques.pdf (Consulter le 12-02-2008).
11. **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.
12. **Baba, E., Acar, U., Ontas, C., Kesbic, O. S., & Yilmaz, S. (2016).** Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465, 13–18. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.08.023.
13. **Bacar.E. Meskine.H,** (2014). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail (*Allium sativum* L). mémoire de master, université 8 Mai Guelma.
14. **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. & Ouzrout R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". *Science and Technologie*, 23:30-37.
15. **Basha, K. A., Raman, R. P., Pradsad, K. P., Kumar, K., Nilavan, E., & Kumar, S. (2013).** Effect of dietary supplemented andrographolide on growth, non-specific immune parameters and resistance against *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* (Hamilton). *Fish & Shellfish Immunology*, 35, 1433–1441. doi:10.1016/j.fsi.2013.08.005.
16. **Benzeggouta. N,** (2005). Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Pharmacochimie.
17. **Bey F.(2009).**Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus* sp et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire.Université d'Oran Es-Senia.109 p.
18. **Bonjar G.S.,** (2014). Screening for antibacterial properties of some Iranian plants against two strains of *Escherichia coli*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3: 310-314.
19. **Bulfon, C., Volpatti, D., & Galeotti, M. (2013).** Current research on the use of plant-derived products on farmed fish. *Journal of Aquaculture Research*, 46, 1–39.
20. **Camille D. Microbiologiem 90 heures de travaux pratiques,** enseignement, 1998.
21. **Camille D., Bernard T.** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, réglementation-prélèvement-Analyse, 2003.

22. **Carbone, D., & Faggio, C. (2016).** Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology*, 54, 172–178. doi:10.1016/j.fsi.2016.04.011.
23. **CA-SFM. (1998).** AntibioGramme en diffusion. Recommandations techniques et Guide d'interprétation. Communiqué 1998 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Sanofi Diagnostics Pasteur, p :12.
24. **Cavallito Cj., Bailey Jh. Allicin,** The Antibacterial Principle Of *Allium Sativum* Ii. Isolation, Physical Properties And Antimicrobial Action. *J. Am. Chem. Soc.*, 1944, 66, 1950-1.
25. **Chopra, I. and M. Roberts, (2001).** Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65(2): p. 232-260.
26. **Commission européenne (CE) (2005).** – Report on the results of residue monitoring in food of animal origin in the Member States.
27. **Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S, Ishizuka M (2013).** Antibiotic residues in food: the African scenario. *Jpn J Vet Res* 61(Suppl):S13-22.
28. **Dawood, M. A. O., & Koshio, S. (2016).** Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture : A review. *Aquaculture*, 454, 243–251. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.12.033.
29. **Delarras C.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. *Technique et documentation. Lavoisier, paris, 2007.*
30. **Derabla Cherifa et Zamouche Amel, 2016."** *Etude de l'activité antibactérienne des extraits alcooliques d'ail (Allium sativum) et de cannelle (Cinnamomum zeylanicum)*". Mémoire master, Guelma, université 8 Mai 1945, p30.
31. **Diab as., 2002.** el-nagar go., abd-el-hady ym. Evaluation of *nigella sativa* l (black seeds; baraka), *allium sativum* (garlic) and biogen as feed additives On growth performance and immunostimulants of *o. Niloticus* fingerlings. *Suez Canal vet. Med. J*, 745-75.
32. **Dockrell H.M., Goering R.V., Roitt I., Wakelin D. & Zuckerman M., 2004.** Attacking the enemy: Antimicrobial agents and chemotherapy. Editors. *Medical Microbiology*, Chapter: 2, Publisher: Elsevier Mosby, pp. 473-507.
33. **Dr Oliver. Rougeaux. 20 avril 2014.** Infectiologue, Center hospitalier de Chambéry, France.
34. **Duval J, Soussy CJ. 1990.** Antibiothérapie (4 éme édition), page 3-58.

35. -Du, W.X., Olsen, C.W., Avena-Bustillos, R.J., Mchugh, T.H., Levin, C.E., Mandrell R. and Friedman, M., 2009. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor- Phase Methods. *Journal of Food*.
36. El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R., (2012). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; p8. *Science*, 74(7) : M390-M397.
37. EL Mokli Nour El Hoda et Soualhi Rayene, 2022. "Dépistage de résidus d'antibiotique dans la chair de Tilapia (*Oreochromis ssp*) Méthode microbiologique", Mémoire master, Skikda, University 20 Aout 1955, p48.
38. Esther Marijani, (2022). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Bacteria Isolated From Marine and Freshwater Fish in Tanzania. *International Journal of Microbiology*. vol2022, Article ID 4652326, p:8. <http://doi.org/10.1155/2022/4652326>.
39. Eurin J., Tamtam F., Ollivon D., Tiphagne-Larcher K. & Chevreuil M., 2005. Les antibiotiques dans les eaux de surface du bassin de la Seine : évaluation de la contamination dans différents milieux. Rapport d'activité. Programme scientifique PIREN Seine, 9p.
40. Fabre J.M. (2003). Des méthodes de recherche de résidus d'antibiotiques dans la viande. *Journal de la semaine vétérinaire*. P25-26.
41. FAO, (2007). "Social issues in small-scale fisheries: how a human rights perspective can contribute to respective fisheries," in Proceedings of the Presentation to FAO Committee of Fisheries No 27, Rome, Italy, March.
42. FAO. (2016). The state of world fisheries and aquaculture 2016 (Vol. 160). Rome: Food and Agriculture Organization.
43. FAO (Food Agriculture Organisation). 2018. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Rome.
44. FAO/WHO/Codex Alimentarius (2018) Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods (CX/MRL 2-2018). Nusbaum, K. E. and Shotts, E. B. (1981). Absorption of selected antimicrobial drugs from water by channel catfish, *Ictalurus punctatus*, *Can. J Fish. Aquatic. Sci.*, 38:993-996.
45. FAO (2020) Fishery and aquaculture statistics. Global production by production source 1950-2018 (FishstatJ). Retrieved from FAO Fisheries and Aquaculture Department

[online] website: www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en. Accessed 11 May 2022.

46. **Fleurette, J., J. Freney, et al., (1995)** "Antiseptie et désinfection".
47. **Fontaine M. 1992.** Vade-mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène, 15^{ème} édition, page 106-119.
48. **Fortunator Mn, 1955.** On The Activity Of The Phytoncides From Garlic In The Human Organism Upon Peroral Administration. *Farmakal-Toksikal.*, 18, 43-6.
49. **Gabriel, N. N., Qiang, J., Kpundeh, M. D., & Xu, P. (2015).** Use of herbal extracts for controlling reproduction in tilapia culture: Trends and prospects – A review. *Isr. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 67, 1-22.
50. **Gabriel, N. N., Qiang, J., Ma, X. Y., He, J., Xu, P., & Liu, K. (2015).** Dietary Aloe vera improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus iniae* challenge. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(5), 1321–1332. doi:10.1007/s10695-015-0088-z.
51. **Gabriel, N. N., Qiang, J., He, J., Ma, X. Y., Kpundeh, M. D., & Xu, P. (2015a).** Dietary Aloe vera supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish & Shellfish Immunology*, 44, 504–514. doi:10.1016/j.fsi.2015.03.002.
52. **Gabriel, N. N., Qiang, J., Ma, X. Y., He, J., Xu, P., & Omoregie, E. (2017).** Sex-reversal effect of dietary Aloe vera (*Liliaceae*) on genetically improved farmed Nile tilapia fry. *North American Journal of Aquaculture*, 79(1), 100–105. doi:10.1080/15222055.2016.1236046.
53. **Gauthier . E (2006).** Les antibiotiques : l'envers du miracle, page 1-3. <http://agora.qc.ca/mot.nsf/Dossiers/Antibiotique>. (Consulter le 03-02-2008).
54. **Gogny . M, Puyt . J-D (2001).** Classification des principes actifs, page 2-6. Editions le point vétérinaire 2001.
55. **-Grosjean, N. (2011).** L'aromathérapie, Tout simplement ! Eyrolles.
56. **Guiraud J ., Rosec J ., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition. AFNOR : p 110.
57. **Gülçin, I., Uğuz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S.&Küfrevioğlu, O.I.(2004).** Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*SalviasclareaL.*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28: 25-33.
58. **Gültepe, N., Bilen, S., Yılmaz, S., Güroy, D., & Aydın, S. (2014).** Effects of herbs and spice on health status of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) challenged with

Streptococcus iniae. *Acta Veterinaria Brno*, 83, 129–135.
doi:10.2754/avb201483020125.

59. **Güllü, K., Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Ağdamar, S., Ergün, S., & Türker, A. (2016).** Beneficial effects of Oral Allspice, *Pimenta dioica* powder supplementation on the hemato-immunological and serum biochemical responses of *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Research*, 47(9), 2697–2704. doi:10.1111/are.12717.
60. **Gurkan, M., Yilmaz, S., Kaya, H., Ergun, S., & Alkan, S. (2015).** Influence of three spice powders on the survival and histopathology of *Oreochromis mossambicus* before and after *Streptococcus iniae* infection. *The Marine Science and Technology Bulletin*, 4(1), 1–5.
61. **Hamouda Ali, I. & Doumandji, A. (2017).** Comparative phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, 39 : 41-49.
62. **Hart T., Shears P.(1999).** Atlas de poche de microbiologie. Flammarion Médecine-Science. Paris. P 118.
63. **Hasheesh W.S., Marie M-A.S., Abbas H.H., Eshak M.G. & Zahran, E.A., 2011.** An Evaluation of the Effect of 17 α -Methyltestosterone Hormone on some Biochemical, Molecular and Histological changes in the Liver of Nile Tilapia ; *Oreochromis niloticus*. *Life Science Journal*, 8(3) : 343-385.
64. **Heo gj., kim bg., yeh jg., kim jh.** Study on efficacy and safety of bio-gamma Mix by oral administration to cultured fish. *Korean j. Vet. Research*, 1994, 34, 627-33.
65. **Hernandez Serrano P., 2005.** Responsible use of antibiotics in aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. N° 469. Rome, FAO. 97p.
66. **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.
67. **Huddleston, J.R., 2014.** Horizontal Gene Transfer In The Human Gastrointestinal Tract: Potential Spread Of Antibiotic Resistance Genes. *Infect. Drug Resist.* 7, 167–176.
68. **Hughes BG and Lawson L., (1991)** Antimicrobial effects of *Allium sativum* L (garlic), *Allium ampeloprasum* L (elephant garlic) and *Allium cepa* L (onion) garlic Compounds and commercial garlic supplement products. *Phytother Res*; 5:154-158.

- 69. Huss HH, 1995.** Assurance de qualité des produits de la mer, FAO Document technique sur les pêches, N° 334, Rome, FAO, 186p.
- 70. Iwalokun.B. Ogunledun.A.Ogbolu.D et Bamiro.S, (2004).**In Vitro Antimicrobial Properties of Aqueous Garlic Extract Against Multidrug-Resistant Bacteria and Candida Species from Nigeria.Journal of Medicinal Food.7(3):327-33.
- 71. Jittinandana, S., Kenney, P., Slider, S., Masik, P., BebakWilliams, J., & Hankins, J. A. (2003).** Effect of fish attributes and handling stress. Journal of Food Science, 68(1), 57–63. doi:10.1111/jfds.2003.68.issue-1.
- 72. Joffin JN. And Leyral G. (2006).** Microbiologie Technique Tome 1 "Dictionnaire des techniques". CRDP AQUITAINE. Bordeaux. 189-250.
- 73. JORADP. . (2017) :** l'arrêté interministériel du 08 Chaoual 1438 correspondant au 02 juillet 2017 relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées alimentaires (N°JORA : 039 du 25-05-1998).
- 74. Kirbiš A., 2007.** Microbiological screening method for detection of aminoglycosides, β -lactames, macrolides, tetracyclines and quinolones in meat samples. *Slov. Vet. Res.*, 44 (1/2): 8-11.
- 75. Krzyśko-Lupicka, T., Sokół, S., & Piekarska-Stachowiak, A. (2020).** Evaluation of Fungistatic Activity of Eight Selected Essential Oils on Four Heterogeneous Fusarium Isolates Obtained from Cereal Grains in Southern Poland. *Molecules*, 25(2), 292.
- 76. Kummerer K., 2009.** Antibiotics in the aquatic environment - A review – Part I. *Chemosphere*, 75:417-434.
- 77. Labres et Mouffok F., (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie.53p.
- 78. Lansing M., John P., Harley, 2003 .** Microbiologie 2eme edition français, 5eme edition américaine, 28-31.
- 79. Landgraf M, Destro MT. 2013.** Intoxication alimentaire staphylococcique. Dans Infectionset Intoxications d'Origine Alimentaire, Presse académique, pp. 389-400.
- 80. Laurentie, M., Sanders, P. (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 15, Pp197-201.
- 81. Lawson Ld, 1996 .** The Composition And Chemistry Of Garlic Cloves And Processed Garlic. In: Koch Hp., Lawson Ld. Eds. Garlic. The Science And The Therapeutic

Application Of *Allium Sativum* And Related Species. Baltimore: Williams & Wilkins: 37-107.

82. **Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003.** *S. aureus* and food poisoning. Genetic and Molecular Research. 2: 63-76.
83. **Lowy FD. 1998.** Infections à *Staphylococcus aureus*. Journal de médecine de la Nouvelle Angleterre. 339 : 520-532.
84. **Mahdavi, M., Hajimoradloo, A., & Ghorbani, R. (2013).** Effect of Aloe vera extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). World Journal of Medical Sciences, 9(1), 55–60.
85. **Maghuin-Rogister G., 2002.** Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitements vétérinaires. In : Sécurité alimentaire du consommateur, 2ème édition. M. Moll and N. Moll, coordonnateurs. Editions TEC & DOC. Collection Sciences et Techniques agroalimentaires, 65-92.
86. **Martini, N. & Eloff, J.N. (1998).** The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). Journal of Ethnopharmacology, 62: 255-263.
87. **Martin kw., ernst e.** Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a Review of controlled clinical trials. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003, 51, 241-6.
88. **Mckee C., Glenn E., Gerba Cp, 2001., Fitzsimmons K.** Microbiological Hazards Of Tilapia Culture Systems. In: International Scientific Conference, 2, Mansoura, 2001. Mansoura: Mansoura University.P.479-85.
89. **MEVIUS. D-J, RUTTER. J-M, HART. C-A, IMBERECHTS. H, KEMPF. G, LAFONT. J-P, LUTHMAN. J, MORENO. M-A, PANTOSTI. A, POHL. P et WILLADSEN. C-M (1999).** Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products, page 1-57. Editions Le point vétérinaire.
90. **MILHAUD .G ET PINAULT. L (1999).** Législation de la pharmacie vétérinaire. Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR), page 25-40. Editions Le point vétérinaire.
91. **Morin . R, Uhland . C, Lévesque . G (2005).** L'utilisation des antibiotiques en pisciculture au Québec, page 6. L'AQUICOLE Vol. 9 no3.

- 92. Morshdy AE, Darwish WS, Hussein MA, Mohamed MA, Hussein MM (2021).** Lead and cadmium content in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Egypt: a study for their molecular biomarkers. *Sci Afr* 12:e00794.
- 93. Mo, W. Y., Lun, C. H. I., Choi, W. M., Man, Y. B., & Wong, M. H. (2016).** Enhancing growth and non-specific immunity of grass carp and Nile tilapia by incorporating Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lycium barbarum*) into food waste based pellets. *Environmental Pollution*, 219, 475–482. doi:10.1016/j.envpol.2016.05.055.
- 94. Mouffouk F., (2001).** Guide technique d'analyses bactériologiques des eaux de mer, institut Pasteur d'alger.40p.
- 95. Myllyniemi A-L., Sipila H., Nuotio L., Niemi A. & Honkanen-Buzalski T. 2002.** An indirect conductimetric screening method for the detection of antibiotic residues in bovine kidneys. *The Analyst*, **127** (9) : 1247-1251.
- 96. Najjaa, H., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Ammar, E., Neffati, M., (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Botanica Gallica* 158, 111-123.
- 97. Nedoluha P., Westhoff D, 1997.** Microbiological Analysis Of Striped Bass (*Morone Saxatilis*) Grown In A Recirculating System. *J. Food Prot.*, 60,948-53.
- 98. 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.
- 99. N. Uddin and A.H. Al-Harbi,** Bacterial flora of polycultured common carp, *Cyprinus carpio* and African catfish, *Clarias gariepinus*. *International Aquatic Research*, 4, 2012, 10.
- 100. O.B. Adedeji,** T. Adebisi and B.O. Emikpe, Bacteria load of the skin and stomach of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* from Ibadan, South West Nigeria: Public health implications. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(1), 2011, 52– 59.
- 101. OMS (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine, 4eme édition.
P94.

102. **Olusola, S. E., Emikpe, B. O., & Olaifa, F. E. (2013).** The potentials of medicinal plant extracts as bio-antimicrobials in aquaculture. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3), 404–412.
103. **. OXOID (1992).** Le manuel OXOID. Paris : Unipath SA, P 374
104. **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.P23-25.
105. **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.
106. **Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014).** Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy : Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50–61. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
107. **Rihane K et Benlaharche R. (2013)** activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales : *Artemisia herba alba* et *ocimum basilicum* sur *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*. Mémoire de master université mentouri Constantine. Communautaire. Diplôme d'état de doctorat université Bamako-Mali, pp73-75.
108. **Roach Y.,** So T.A., Shah S., Chee L. & Nachman K.E., (2015). International Agreement to Address the Contribution of Animal Agriculture to Antibiotic Resistance: A OneHealth Approach. *Journal of Law Medicine and Ethics*, 43 (2): 474-496.
109. **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.
110. **Roland Y. (2006).** Profile antibiotique des bactéries responsables d'infection urinaire
111. **Rose. J.M,** Gast.R.J, Bogomolni.A et al., (2009)."Occurrence and patterns of antibiotic resistance in vertebrates off the northeastern United States coast," *FEMS Microbiology Ecology*, vol.67, no. 3, pp.421- 431.
112. **Sandayigaya E., J.Debevere, H.Deelstra. (1990).** Apréciation et amélioration de la qualité bactériologique du poisson commercialisé au Burundi. Cas de *Stolothrissatanganicae* et *Liciolatesstappersii*. *Tropicultura*, 8, 2 : 64-68.
113. **Santos, G. A., Schrama, J. W., Mamauag, R. E. P., Rombout, J. H. W. M., & Verreth, J. A. J. (2010).** Chronic stress impairs performance, energy metabolism

and welfare indicators in European seabass (*Dicentrarchus labrax*): The combined effects of fish crowding and water quality deterioration. *Aquaculture*, 299, 73–80. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.11.018.

114. **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.
115. **Sarmah, A.K., M.T. Meyer, and A.B.A. Boxall,** A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 2006. 65(5): p. 725-759.
116. **SCIPPO M.L., MAGHUIN.REGISTRER G.,(2006).** Résidus et contaminations des denrées alimentaires: méthodes biologiques de dépistage, *Méd.Vét*, pages:150-125-130.
117. **Siegel g., walter a., engel s., walper a., michel f.** Pleiotropic effects of garlic. *Wien. Med. Wochenschr.*, 1999, 149, 217-24.
118. **Sifuna. A. W, E. N. M. Njagi, P.Okemo, A. Munyalo, G. O. Orinda, and S.Kariuki,(2008).** "Microbiological quality and safety of *Restrineobola argentea* retailed in Kisumu town marketsm kenya", *East African Medical Journal*, vol. 85, no. 10, pp. 509-513.
119. **SINGLETON, P et SAINSBURY, D (1984).** *Bactériologie*. Paris : Ed. Masson, P151.
120. **Sitti A.H., 2001.** Contribution à l'étude de l'évolution de la qualité bactériologique des produits de la pêche de 1997-2000. Thèse : Mèd. Vét : Dakar ; 17p.
121. **Smith Cm., Reynard Am, 1992.** *Textbook Of Pharmacology*. Philadelphia: Saunders. 1231p.
122. **Sivam Gp,2001.** Recent Advances On The Nutritional Effects Associated With The Use Of Garlic As Supplement. *Am. Soc. Nutr. Sci.* 1106 -8.
123. **Sørum, M., Johnsen, P. J., Aasnes, B., Rosvoll, T., Kruse, H., Sundsfjord, A., & Simonsen, G.S. (2006).** Prevalence, Persistence, and Molecular Characterization of Glycopeptide-Resistant Enterococci in Norwegian Poultry and Poultry Farmers 3 to 8 Years after the Ban on Avoparcin. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 516-521.
124. **Souza C, Koumaglo K, Gbeassor M, 1995.** Evaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de quelques plantes médicinales. *J. Pharm. Méd. tra. Afro*: 103-112.

125. **STOLTZ R. (2008).** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale. Evaluation et maîtrise de ce danger .thèse de doctorat. Université Claud Bernard-Lyon I (France). P1.
126. **Sugita H., Iwata J., Miyajima C., Kubo T., Noguchi T., Hashimoto K., Deguchi Y, 1989.** Changes In Microflora Of A Puffer Fish, *Fugu Niphobles*, With Different Water Temperatures. *Mar. Biol.*101, 299-304.
127. **Sutra L, Federighi M, Jouve JL. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Ed. Polytechnica (Paris), 308 p.
128. **Tahri N., Orch h. et Zidane L. (2007).** Ail et Microbes : Examen critique de la littérature, revue antibiotherapeutique. . Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie » Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles. Université Ibn Tofail, Kenitra.
129. **Tankeshwar A. (2013).** Catalase test: principale uses, procedure and results. Biochemical tests for Gram Negative Bacteria. <http://www.microbeonline.com>.
130. **Tivkaa Joseph Amade et Sampson Udoka Nwaka, (Jul. - Aug. 2013).** Bacterial Flora of African Catfish (*Clarias gariepinus*) Harvested from Ponds in Uyo South-South Nigeria. IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399. Volume 5, Issue 3, PP 72-76. www.Iosrjournals.Org.
131. **Todar, k. (2003).** Online textbook. Emeritus, University of Wisconsin-Madison. Department of bacteriology. (<http://www.textbookofbacteriology.net/>).
132. **Van Hai, N. (2015).** The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 446, 88–96. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.03.014
133. **Van Vuuren, S. F.(2008).** Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119:462- 472.
134. **Victoria F. Samanidou, K.I.N.I.N.P,(2005).** Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of tetracycline antibiotics residues in bovine muscle according to the European Union regulation 2002/657/EC. *Journal of Separation Science*. 28(17): p. 2247-2258.
135. **Vos, P., Garrit, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Whitman, W.2011.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology : Volume 3 :The Firmicutes (Vol.3). Springer Science and Business Media. P : 1450.

- 136. Waite, R., Beveridge, M., Brummett, R., Castine, S., Chaiyawannakarn, N., Kaushik, S., Phillips, M. (2014).** Improving productivity and environmental performance of aquaculture. *Creating a Sustainable Food Future*, (June), 1–60. doi:10.5657/FAS.2014.0001.
- 137. World Health Organization (WHO). (2006).** Antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance (Report of a Joint FAO/OIE/WHO Expert Consultation on Antimicrobial Use in Aquaculture and Antimicrobial Resistance). Seoul, Republic of Korea, 13–16.
- 138. Wu, Y., Gong, Q., Fang, H., Liang, W., Chen, M., & He, R. (2013).** Effect of *Sophora flavescens* on non-specific immune response of tilapia (*GIFT Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(1), 220–227. doi:10.1016/j.fsi.2012.10.020.
- 139. Yakhlef G. (2010).** Etude de l'activité biologique des extraits. Mémoire de Magister en Biochimie Appliqué. Batna : Université El Hadj Lakhdar, Batna, P : 40-54-56.
- 140. Yang, X., Guo, J. L., Ye, J. Y., Zhang, Y. X., & Wang, W. (2015).** The effects of *Ficus carica* polysaccharide on immune response and expression of some immunerelated genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Fish & Shellfish Immunology*, 42(1), 132–137. doi:10.1016/j.fsi.2014.10.037.
- 141. Yılmaz, S., & Ergün, S. (2012).** Effects of garlic and ginger oils on hematological and biochemical variables of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 24(4), 219–224. doi:10.1080/08997659.2012.711266.
- 142. Yılmaz, S., Ergun, S., & Celik, E. S. (2012).** Effects of herbal supplements on growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Change in body composition and some blood parameters. *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 1, 217–222.
- 143. Yılmaz, S., Ergün, S., & Türk, N. (2012).** Effects of cumin-supplemented diets on growth and disease (*Streptococcus Iniae*) resistance of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Isr. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 64, 1–5.
- 144. Yılmaz, S., Ergun, S., & Celik, E. S. (2013).** Effect of dietary herbal supplements on some physiological conditions of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 25, 98–103. doi:10.1080/08997659.2013.768561.
- 145. Yılmaz, S., Ergün, S., & Soytaş, N. (2013a).** Enhancement of growth performance and pigmentation in red *Oreochromis mossambicus* associated with

dietary intake of astaxanthin, paprika, or capsicum. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidageh*, 65

146. **Yilmaz, S., Ergün, S., & Soytaş, N. (2013b).** Dietary supplementation of cumin *Cuminum cyminum* preventing streptococcal disease during first feeding of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, 2(2), 117–124.
147. **Yilmaz, S., & Ergün, S. (2014).** Dietary supplementation with allspice *Pimenta dioica* reduces the occurrence of streptococcal disease during first feeding of Mozambique tilapia fry. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26(3), 144–148. doi:10.1080/08997659.2014.893459.
148. **Yilmaz, S., Ergün, S., Kaya, H., & Gürkan, M. (2014).** Influence of *Tribulus terrestris* extract on the survival and histopathology of *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) fry before and after *Streptococcus iniae* infection. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(5), 994–1000. doi:10.1111/jai.2014.30.issue-5.
149. **Yilmaz, S., Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Gültepe, N., & Ergün, S. (2015).** Effects of dietary allspice, *Pimenta dioica* powder on physiological responses of *Oreochromis mossambicus* under low pH stress. *SpringerPlus*, 4(1), 719. doi:10.1186/s40064-015-1520-7.
150. **Yilmaz, S., & Ergün, S. (2018).** Trans-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 78, 140–157. doi:10.1016/j.fsi.2018.04.034.
151. **Yilmaz, S., & Ergün, S. (2018).** Trans-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 78, 140–157. doi:10.1016/j.fsi.2018.04.034.
152. **Yilmaz, S. (2019a).** Effects of dietary blackberry syrup supplement on growth performance, antioxidant, and immunological responses, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* to *Plesiomonas shigelloides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 84, 1125–1133. doi:10.1016/j.fsi.2018.11.012.
153. **Yilmaz, S. (2019b).** Effects of dietary caffeic acid supplement on antioxidant, immunological and liver gene expression responses, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas veronii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 86, 384–392. doi:10.1016/j.fsi.2018.11.068.

154. **Yves LL, Michel GANTIER. 2009.** Staphylococcus aureus. Lavoisier. 1 : 65-192.
155. **Zaika L. (1988).** Spices and Herbs, Their Antimicrobial Activity and Its determination. Journal of Food Safety. 9(2) : 97-118.
156. **Zanuzzo, F. S., Urbinati, E. C., Rise, M. L., Hall, J. R., Nash, G. W., & Gamperl, A. K. (2015).** Aeromonas salmonicida induced immune gene expression in aloe vera fed steelhead trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). Aquaculture, 435, 1–9. doi:10.1016/j. aquaculture.2014.09.010.
157. **Zeng, S.S., E.N. Escobar, and I. Brown-Crowder,** Evaluation of screening tests for detection of antibiotic residues in goat milk. Small Ruminant Research, 1996. 21(2): p. 155-160.
158. **Zhang, P., Zhang, X., Li, J., & Gao, T. (2010).** Effect of refeeding on the growth and digestive enzyme activities of Fenneropenaeus chinensis juveniles exposed to different periods of food deprivation. Aquaculture International, 18(6), 1191–1203. doi:10.1007/s10499-010-9333-8.
159. **Zhu, B., and Stülke, J. (2018).** SubtiWiki in 2018 : From genes and proteins to functional network annotation of the model organism Bacillus subtilis. Nucleic Acids Research 46, D 743- D 748.
160. **نعيم بلعكري. 2023.** دليل ارشادي لتربية سمك البلطي النيلي في الاحواض. 42 ص. وزارة الصيد البحري و المنتجات الصيدية.



Annexes

Annexes

Annexe 01: Résultats Morphométrique et pondérale de *O. niloticus* (LT : Longueur totale ; WT : Poids totale).

Aquariums	individus	Longueurs LT (cm)	Poids WT (g)
Traitement OTC			
Aq (A)	1	18.5	111
	2	17.5	87
	3	13	35
Aq (B)	1	17.5	95
	2	17.5	98
	3	19	117
	4	14	42
Aq (C)	1	18	92
	2	18	94
	3	17	84
	4	17	87
Aq (D)	1	16	79
	2	15	68
	3	16	70
	4	16	70
Aq (E)	1	15	57
	2	16	71
	3	16.5	95
	4	15.5	69
Aq (F)	1	17	82

	2	17	85
	3	13	37
	4	17	88
Aq (G)	1	16	68
	2	17	74
	3	16	72
	4	16	73
Aq (H)	1	18	85
	2	17	81
	3	18	87
Aq (temoin)	1	14	50
	2	18	104
	3	17	85