

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIR-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire



Réf.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Recherche des bactéries pathogènes
contaminant le poisson dans certains
points de vente dans la wilaya de Bejaia**

Présenté par:

AID Hamza & BELAOUT El Mouloud

Soutenu le : 20 Juin 2017

Devant le jury composé de :

M^{lle}. Djinni I.

M^{me}. Mouici-Messaoudi K.

M^{me}. Boubchir K.

Grade

MCB

MCB

MAA

Président

Encadreur

Examinatrice

2016/2017

Remerciements



Nous remercions, tout d'abord, Dieu de nous avoir accordé la santé, la paix et le courage pour mener à terme ce projet de fin d'étude.

Nous tenons vivement à remercier notre promotrice M^{me} Mouici-Messaoudi pour avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour son orientation, ses efforts et ses précieux conseils.

Un grand merci à M^{elle} Djinni I., qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être présidente de jurys.

Nous remercions M^{me} Boubchir K., d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nos remerciements et notre reconnaissance s'adressent à Mr Salhi et M^{me} Mayouch, inspecteurs du bureau d'hygiène communal de Kherrata, pour leur aide et soutien.

Nous remercions chaleureusement M^{elle} Badria et Souhila pour leur orientation et contribution à la réalisation de ce mémoire, ainsi que tous les ingénieurs des laboratoires de l'université d'Abderrahmane Mira pour leur aide précieuse durant toute la période de réalisation de cette étude.

Un remerciement particulier à toute personne travaillant aux laboratoires de la clinique de Souk-El-Tenine et de l'EPH de Kherrata qui répondaient toujours à nos demandes.

Nous exprimons, finalement, notre gratitude à toute l'équipe de la bibliothèque SNV de Bejaia pour son accueil et service ainsi qu'à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces



Je dédie ce modeste travail à :

*La mémoire de mon père Belkacem, que dieu lui accorde sa
miséricorde et l'accueille en son vaste paradis.*

Ma chère mère

Mes frères et sœurs

Mes tantes et neveux

Ma belle-sœur et ses enfants

Tous mes cousins et cousines

Toute la famille BELAOUT

Mon collègue et sa famille

Tous mes amis

Adel et Salîha

Toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

El Mouloud



Dédicaces



Louange à Allah, maître de l'univers.

Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents (El'Houas et Noura) qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'enseignement de la vie et pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et tous les conseils et encouragements qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

Je leur dois reconnaissance et gratitude.

A la mémoire de mon grand-père Messaoud et de ma grand-mère Rbîha

A mon très cher frère : Fares

A mes très chères sœurs : Kahîna, Sonîa et Dêhîa

A Mes oncles et tantes et leurs familles

A toute ma famille et mes proches

A mon binôme mouloud et sa famille

A mes amis Adel, Fouad, Khaled, Bilel, Zicou, Ayoub, Achref, Rafik, hanane, síhem et ílhem

Et tous les vétérinaires, Microbiologistes et autres

Hamza



Liste des tableaux

Tableau I : Répartition des échantillons	5
Tableau II : Les milieux d'isolement utilisés	8
Tableau III : Tests d'identification des souches	11
Tableau IV : Répartition des souches isolées du poisson frais.....	13
Tableau V : Nombre et localisation des souches isolées et identifiées	13
Tableau VI : Critères microbiologiques des poissons frais.....	13

Liste des tableaux en annexes

Tableau I : Résultats d'isolement et d'identification.

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme détaillé des étapes de prélèvement.....	6
---	---

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et de travail
BHIB	Brain-Heart-Infusion-Bouillon
DHA	Acide docosahexaénoïque
EPA	Acide eicosapentaénoïque
EMB	Eosine Methylene-Blue agar
Gélose SS	Gélose Salmonella-Shigella
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point
H ₂ S	Hydrogène sulfuré
NaCl	Chlorure de Sodium
NR	Nitrate-Réductase
NR ₁	Acide sulfanilique
NR ₂	Alpha-naphtylamine
N ₂	Azote
P	Poisson
SM	Solution Mère
TSI	Triple Sugar Iron
UFC	Unité Formant Colonie
V	Vendeur

Sommaire

Liste des tableaux.

Liste des tableaux en annexes.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

Introduction.....	1
Matériel et méthode.....	5
I. Echantillonnage.....	5
II. Prélèvement	6
III. Enrichissement	7
IV. Isolement	7
V. Purification	10
VI. Identification	11
Résultats et discussion	13
Conclusion et perspectives	17
Références bibliographiques.	
Annexes.	
Résumé.	

Introduction

Le poisson constitue une source importante de protéines animales (Elyounoussi et al. , 2015). Il procure également d'autres nutriments intéressants tels que Les acides gras polyinsaturés de la famille des omégas 3 (DHA : acide docosahexaénoïque et EPA : acide eicosapentaénoïque) qui préviennent des maladies cardio-vasculaires et sont nécessaires au développement et au fonctionnement de la rétine, du cerveau et du système nerveux. En outre, les espèces de poisson de petite taille, qui sont consommées entières, avec la tête et les arêtes, peuvent être d'excellentes sources de nombreux minéraux essentiels (iode, sélénium, zinc, fer, calcium, phosphore et potassium) et de vitamines (A, D, E et B) indispensables à la santé. Ces nutriments sont également présents dans les poissons de plus grande taille, mais ils sont alors plus concentrés dans les parties qui ne sont généralement pas consommées, comme la tête, les arêtes et les viscères (Anses, 2012 ; FAO, 2016).

Afin de s'assurer de tous les bienfaits de la consommation de poissons l'Anses (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2012) recommande de consommer du poisson deux fois par semaine. Egalement, les médecins et les nutritionnistes de plusieurs pays de par le monde recommandent une consommation supérieure à 20 kg par habitant et par an (Wiefels, 2014).

Cependant, la consommation d'un poisson contaminé par des bactéries pathogènes peut être à l'origine d'infections (fièvre typhoïde et paratyphoïde, shigellose et infection à *Vibrio parahaemolyticus*), d'intoxications (botulisme et toxémie staphylococcique d'origine alimentaire) ou de toxi-infections alimentaires (choléra et toxi-infection alimentaire due à *Clostridium perfringens*). Par ailleurs, des infections cutanées favorisées par des agressions (infections à streptocoques, staphylocoque, érysipéloïde et mycobactéries non tuberculeuses) peuvent aussi apparaître lors de la manipulation de ce poisson (FAO/OMS, 1974 ; Keck et al., 2013).

Généralement, les toxi-infections résultent de l'action de certaines bactéries entre-autres *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Cyclospora*, *Yersinia* entraînant une inflammation ou ulcération de la muqueuse digestive (action invasive), *Vibrio parahaemolyticus* dont l'activité pathogène est due à la production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire (action cytotoxique) et *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*, qui stimulent la sécrétion (action entéro-toxinogène) (Midoun, 2012).

Dans les toxi-infections alimentaires dues aux produits de la pêche, les principaux agents microbiens identifiés sont *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio*

parahaemolyticus, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et *Listeria monocytogenes* (Bourdin, 2010).

Ces bactéries pathogènes pour l'homme, retrouvées dans les poissons, peuvent être réparties en deux groupes : bactéries indigènes et non indigènes (FAO/NACA/OMS, 1999 ; Bourdin, 2010). Les bactéries indigènes ou autochtones sont naturellement présentes dans le milieu aquatique, par exemple : *Aeromonas hydrophyla*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, et *Listeria monocytogenes* (MPM- RM, 2003). Par contre, les bactéries non indigènes ou allochtones sont :

- soit apportées dans ce milieu qui ne constitue pas leur environnement habituel, c'est le cas des bactéries d'origine fécale (présentes dans les eaux usées, les rejets d'élevage, le fumier utilisé en pisciculture et les rejets des stations d'épuration) et des bactéries telluriques présentes dans les sols et apportées par les eaux de ruissèlement (*Clostridium et Bacillus*) (Servais, 2000 ; Little et Edwards, 2005). Parmi les bactéries pathogènes apportées dans l'eau et qui contaminent le poisson, les plus connues sont les espèces du genre *Salmonella* qui sont presque toutes pathogènes responsables de fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et de gastro-entérites, et certaines souches d'*Escherichia coli* responsables de gastro-entérites et diarrhées (Servais, 2000);
- soit introduites dans le produit durant les opérations de manipulation suivant sa capture (contamination par le personnel et l'environnement) (Huss, 1999 ; FAO/NACA/OMS, 1999), c'est l'exemple de la microflore présente sur les mains, le nez, la bouche, les cheveux, et les vêtements des manipulateurs ainsi que le matériel. La composition de cette microflore dépend de l'environnement (sol, poussière, air, eau etc.) et de l'hygiène (CUQ, 2007 ; OMS, 2016).

Globalement, le type et le nombre de micro-organismes présents dans le poisson dépendent d'abord de l'environnement d'origine, ensuite de l'hygiène aux cours des opérations de pêche, manipulation, entreposage, commercialisation, préparation et de consommation de celui-ci. (FAO/OMS, 1974 ; Little et Edwards, 2005). En effet, sa microflore est constituée de plusieurs genres bactériens : *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et corynéformes (Huss, 1999). Néanmoins, beaucoup de facteurs influent sur la composition de cette dernière; les plus importants sont la température de l'eau, sa teneur en sel, la proximité des régions de pêche avec des habitations

humaines, l'origine de la nourriture consommée par les poissons, ainsi que la méthode de pêche (MPM- RM, 2003).

Autrement dit :

Les plus psychotrophes (*C. botulinum* et *Listeria*) sont répandus dans les régions arctiques et les climats froids, alors que les types mésophiles (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*) représentent une partie de la flore naturelle présente sur les poissons rencontrés sur les côtes et les estuaires des zones tempérées ou tropicales chaudes (Huss, 1988). Pour les espèces de poissons provenant d'eaux tempérées et tropicales la microflore est très semblable, mais dans des proportions qui peuvent être très variables (FAO/OMS, 1974 ; Huss, 1999).

Certaines bactéries sont typiques des poissons d'eaux douces (*Aeromonas*), d'autres, ayant besoin de sodium pour leur croissance, sont typiques des eaux marines (*Vibrio*, *Photobacterium* et *Shewanella*). Cependant, bien que l'espèce *Shewanella putrefaciens* soit caractérisée par son besoin en sodium, des souches de cette dernière ont été isolé dans des environnements d'eau douce (Huss, 1999). Les bactéries telles que *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* résistent mal à la salinité de l'eau de mer. *Staphylococcus aureus* peut se développer mais la principale source de contamination des produits provient de contaminations humaines (FIAC/ CITPPM, 2011).

Le poisson capturé à proximité des côtes héberge également une quantité notable de germes d'origine terrestre. Des germes d'origine fécale peuvent en outre se rencontrer dans les produits collectés à proximité de rejets d'égouts (FAO/OMS, 1974). Des charges élevées d'*Enterobacteriaceae* peuvent être retrouvées dans des eaux polluées. Ces micro-organismes disparaissent rapidement dans des eaux tempérées propres. Toutefois, *Escherichia coli* et *Salmonella* peuvent survivre très longtemps dans les eaux tropicales et, une fois introduits, peuvent devenir indigènes de l'environnement (Huss, 1999).

Les excréments de bétail employés comme intrants en pisciculture contiennent des quantités variables de bactéries qui dépendent de l'état de santé du stock et de la méthodologie employée pour leur ramassage, leur stockage et leur utilisation (Little et Edwards, 2005). Le genre *Salmonella* rencontré communément dans la nature et dans l'eau de surface provient sans doute d'oiseaux sauvages. Cette bactérie a été retrouvée dans des

sédiments d'étangs de crevette et dans les crevettes elles-mêmes dans toute l'Asie du Sud-Est à cause de l'emploi de grandes quantités de fumier frais de poulet (Little et Edwards, 2005).

Ces dangers biologiques étant majoritairement détruits par la cuisson. Les principaux risques sont liés à la consommation des produits crus ou insuffisamment cuits, ou recontaminés après cuisson (Anses, 2013). A titre d'exemple : Au Japon, le poisson est une cause d'intoxication alimentaire, cela est dû non seulement aux fortes quantités de poisson consommées mais encore et surtout au fait qu'il est souvent mangé cru (Huss, 1988).

Normalement, le poisson capturé dans les zones non polluées ne contient aucun germe pathogène excepté *Clostridium botulinum* et *Vibrio parahaemolyticus* qui font partie de la flore commensale d'eaux propres (Huss, 1988). Toutefois, à l'heure actuelle, la pollution des eaux, la dissémination des bactéries par les gens qui voyagent et le manque d'hygiène notamment dans les pays en voie de développement favorisent la contamination du poisson par des germes pathogènes. En outre, la rupture de la chaîne de froid durant la manutention et la commercialisation du poisson, permet aux bactéries pathogènes de proliférer et de produire, éventuellement, des toxines ; suivie par le changement des habitudes culinaires (la consommation des produits crus ou insuffisamment cuits) ou la recontamination après la cuisson permettent l'apparition de maladies suite à la consommation de ce poisson contaminé, avec des conséquences graves sur la santé publique et à l'économie notamment s'il s'agit d'une contamination par des germes résistants aux antibiotiques. (Huss, 1998 ; Anses, 2013 ; Elyounoussi et *al.*, 2015).

Afin d'évaluer la présence de germes pathogènes pouvant avoir des conséquences sur la santé publique et de donner une idée sur la qualité sanitaire du poisson vendu et consommé à Bejaia, nous avons procédé, au laboratoire de mycologie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia, à la recherche de certaines bactéries pathogènes pouvant contaminer ce produit.

Matériel et méthode

I. Echantillonnage

Au cours de cette étude, des échantillons de poissons frais et cuits ont été prélevés, durant la période allant du 19/03/2017 au 01/05/2017, de différents points de vente (poissonneries et marchés), situés à Bejaia et ses alentours (Stade, Kherrata, Souk el Tenine et Tichy) et du restaurant de la résidence universitaire : Targa-ouzemour-Bejaia. Au total 63 échantillons d'espèces diverses ont été prélevés, en deux reprises, des mêmes endroits, mais en périodes différentes, à raison de 3 poissons par caisse saisis et déposés par le vendeur ou le personnel lui-même dans un sac en plastique stérile. Ceux-ci ont été directement acheminés, dans une glacière contenant des paillettes de glace, au laboratoire de mycologie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia. Leur répartition est mentionnée dans le tableau I.

Tableau I : Répartition des échantillons.

Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Endroit de prélèvement	Nombre d'échantillons	Espèces
Bejaia	19/03/2017	Poissonnerie : stade	06	Anchois et sardine
Kherrata	02/04/2017	Poissonnerie et marché	09	Anchois, sardine et bougue
Souk-el-Tenine	13/04/2017	Marché	09	Anchois, sardine et bougue
Bejaia	13/04/2017	Restaurant universitaire de Targa-ouzemour	03	Sardine
Tichy	16/04/2017	Poissonneries	06	Anchois et sardine
Souk-el-Tenine	24/04/2017	Marché	09	Anchois, sardine et bogue
Kherrata	25/04/2017	Poissonnerie et marché	09	Anchois et sardine
Tichy	26/04/2017	Poissonneries	06	Anchois et sardine
Bejaia	26/04/2017	Restaurant universitaire de Targa-ouzemour	03	Sardine
Bejaia	01/05/2017	Poissonnerie : stade	03	Anchois

II. Prélèvement

A leur arrivée au laboratoire, les poissons ont été manipulés dans la zone de stérilité avec un matériel stérile. Pour chaque poisson, l'écouvillonnage de toute sa surface et le prélèvement de ses intestins et de sa chair ont été réalisés stérilement et mis dans des tubes contenant 20 ml d'eau physiologique stérile, pour obtenir des solutions mères (SM). La méthodologie du prélèvement est détaillée dans la figure 1.

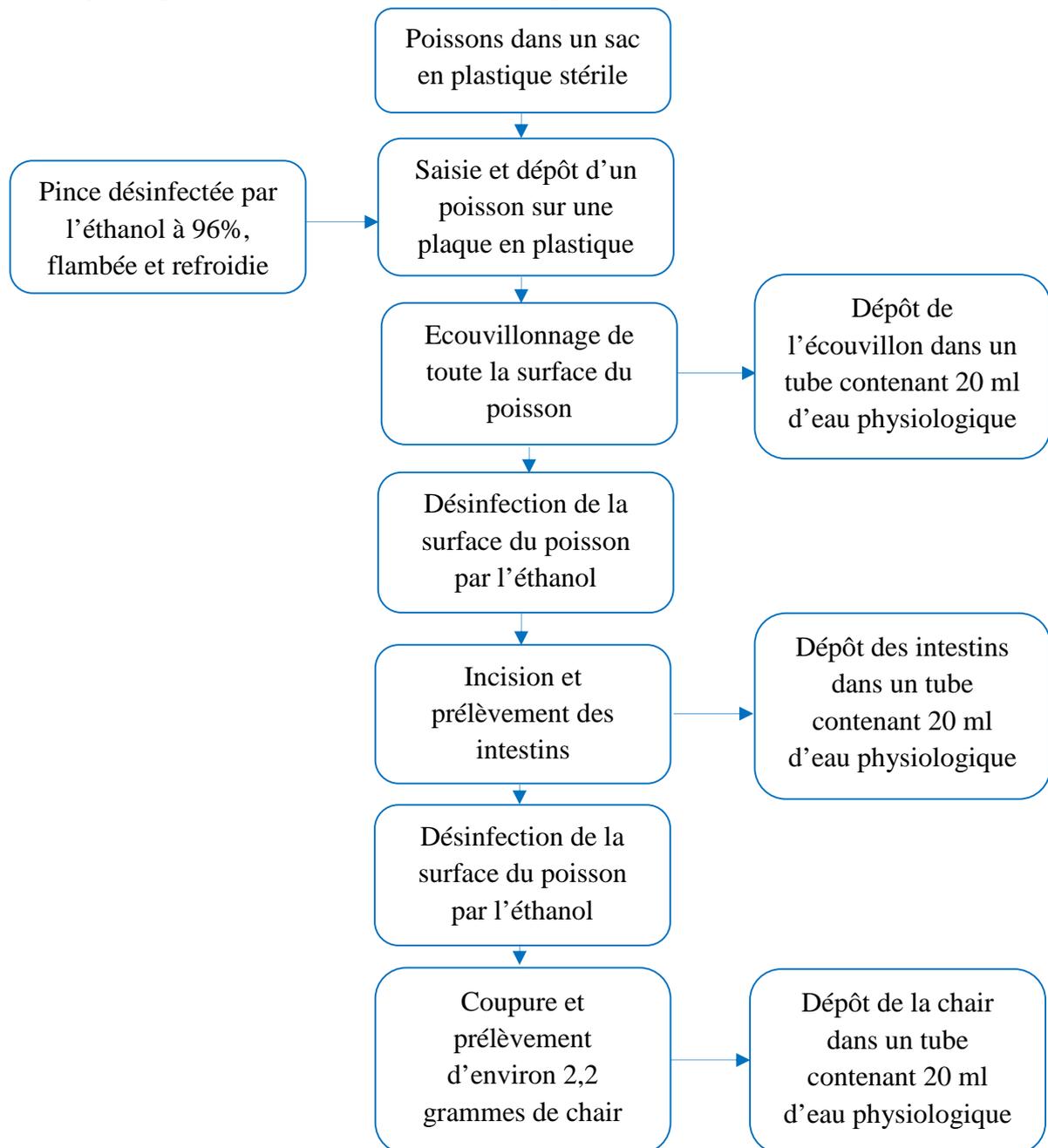


Figure 1 : Diagramme détaillé des étapes de prélèvement.

III. Enrichissement

A partir de la solution mère, 1ml a été mis dans des milieux d'enrichissement. Ensuite, ceux-ci ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. L'enrichissement des éventuelles *Salmonella* a été effectué dans des tubes contenant 5ml de bouillon rapport Vassiliadis Soja. Par contre, celui de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* a été réalisé dans des tubes contenant 5ml de bouillon nutritif.

IV. Isolement

L'isolement des souches, ayant poussées et formées un trouble dans les milieux d'enrichissement cités précédemment, a été réalisé sur des milieux sélectifs comme c'est mentionné dans le tableau II. Notant que pour chaque germe recherché, deux milieux ont été utilisés selon leur disponibilité.

Tableau II : Les milieux d'isolement utilisés (Delarras, 2014).

Germe recherché	Milieu d'isolement	Sélectivité	Aspect et couleur des colonies sur le milieu	Caractères recherchés
<i>Escherichia coli</i>	EMB (eosine methylene-blue agar)	Le milieu contient deux colorants, inhibiteurs de bactéries à Gram+ : le bleu de méthylène et l'éosine	Colonies de 2 à 3 mm de diamètre, plates, violet avec un centre sombre en transparence et éclat métallique verdâtre par réflexion.	L'utilisation du lactose libre des acides et s'exprime par des colonies de couleur violet.
	Mac Conkey	Les sels biliaries et le cristal violet (colorant) inhibent les bactéries à Gram+	Colonies roses à rouges, parfois entourées d'un halo opaque de précipitation des sels biliaries	La fermentation du lactose, par les bactéries, libère des acides qui font virer le rouge neutre au rose à rouge: Les colonies roses à rouges sont lactose+.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman	Le milieu contient des sels de chlorure de sodium à concentration élevée et du mannitol	Colonies jaunes entourées d'une auréole jaune	La fermentation du mannitol libère des acides qui font virer le rouge de phénol au jaune formant une zone jaune autour des colonies

Germe recherché	Milieu d'isolement	Sélectivité	Aspect et couleur des colonies sur le milieu	Caractères recherchés
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird-parker	-Le chlorure de lithium inhibe les bactéries à Gram- -Le tellurite de potassium inhibe les bactéries à Gram+	-Après 24 heures d'incubation, colonies de 0,5 à 1 mm de diamètre, noires, brillantes, convexes, avec halo d'éclaircissement. -Après 48 heures d'incubation, colonies de 1 à 2 mm de diamètre, noires, brillantes, convexes, avec zone opaque dans le halo d'éclaircissement.	-Le tellurite de potassium, réduit en tellure métallique noir, produit des colonies noires. -L'hydrolyse des lipoprotéines, présentes dans le jaune d'œuf, par les lipoprotéinases se traduit par un halo d'éclaircissement autour des colonies -L'apparition d'une opacification dans le halo après 48heures d'incubation traduit l'action d'une lécithinase.
<i>Salmonella</i>	Desoxycholate -citrate	Le desoxycholate de sodium, le citrate de sodium et citrate ferrique sont des inhibiteurs de bactéries à Gram+, plus ou moins des coliformes et de <i>Proteus</i> .	Colonies incolores ou blanchâtres à centre noir	-Le H ₂ S se combine avec le citrate de fer pour donner le sulfure de fer noir qui colore les colonies ou leur centre en noir -La fermentation du lactose libère des acides qui font virer le rouge neutre au rose à rouge: les colonies lactose – sont incolores ou blanchâtre

Germe recherché	Milieu d'isolement	Sélectivité	Aspect et couleur des colonies sur le milieu	Caractères recherchés
<i>Salmonella</i>	Gélose SS (Salmonella-Shigella)	-Les sels biliaires, le citrate de sodium et le vert brillant (colorant) inhibent les bactéries à Gram+ -Le citrate et le thiosulfate de sodium diminuent le développement des coliformes et <i>Proteus</i> .	Colonies incolores à centre noir	-Le thiosulfate de sodium est réduit, en présence d'une réductase, en H ₂ S qui réagit avec le citrate de fer pour produire le sulfure de fer ; ce dernier colore en noir le centre des colonies qui sont dites H ₂ S+ -La fermentation du lactose libère des acides qui font virer le rouge neutre au rose à rouge: les colonies lactose – sont incolores ou blanchâtre

V. Purification

À partir des cultures obtenues sur les milieux d'isolements précédents, plusieurs repiquages ont été effectués sur les mêmes milieux pour obtenir des cultures pures.

VI. Identification

L'identification des souches (isolées et purifiées) a été réalisée en se basant sur certains caractères recherchés sur les milieux d'isolement et sur des tests d'identification (Tableaux II et III).

Tableau III : Tests d'identification des souches (Denis et *al.*, 2007 ; Delarras, 2014).

Germe recherché	Test d'identification	Résultat attendus
<i>Escherichia coli</i>	Production d'indole à 44°C Ensemencement d'eau peptonée exempte d'indole. incubation à 44°C/24 h, rajouter 2 à 3 gouttes de réactif Kovacs	l'apparition d'un anneau rouge indique que la souche est indole+.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Test de la catalase déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame et ajouter une colonie	apparition instantanée des bulles de gaz catalase+
	Test de la staphylocoagulase : Ensemencement des tubes de bouillon BHIB. Après 24 h à 37°C, 0,5 ml du bouillon ensemencé a été mélangé dans un tube stérile avec 0,5 ml de plasma humain et incubé à 37°C/ 24 h.	coagulation du plasma coagulase+.
<i>Salmonella</i>	Recherche de la Nitrate-réductase (NR) Ensemencement de bouillon nitraté. Après 24h d'incubation à 37°C, rajouter NR1 et NR2.	-apparition d'une coloration rouge : nitrate-réductase+. - absence de coloration, ajouter la poudre de Zinc : -coloration rose signifie que le zinc réduit les nitrates en nitrites : nitrate réductase – -pas de coloration, indique que les nitrates avaient été réduits en azote (N ₂) : NR+

Germe recherché	Test d'identification	Résultat attendus
<i>Salmonella</i>	Fermentation des sucres, production de gaz et d'H₂S ensemencement du milieu TSI incubation à 37°C /24 h.	Après incubation -virage au jaune du culot : la souche fermente le glucose. -virage au jaune de la pente : la souche fermente le lactose -production de gaz : soulèvement de la gélose ou apparition de bulles -production d'H ₂ S : noircissement du milieu.
	Test de la mobilité et du mannitol Le milieu Mannitol-Mobilité a été ensemencé par piqure centrale puis incubé à 37°C pendant 24 h.	-fermentation du mannitol virage du milieu au jaune. -mobilité : trouble envahissant la gélose de part et d'autre de la piqure centrale.

Résultats
et
discussion

Isolement et identification de bactéries à partir de poisson frais et cuit

A partir du poisson frais, prélevé et analysé, 118 souches bactériennes ont été isolées. Parmi celles-ci, 84 ont été identifiées comme des souches d'*Escherichia coli* et 34 comme des souches de *staphylococcus aureus*. Toutefois, aucune souche n'a été isolée du poisson cuit. Les résultats obtenus sont mentionnés dans les tableaux IV, V et dans le tableau I en annexes. Les normes algériennes sont mentionnées dans le tableau VI.

Tableau IV : Répartition des souches isolées du poisson frais.

Région	Nombre de poissons prélevés	Nombre de souches isolées	Localisation des souches sur le poisson		
			Surface	Intestin	chair
Kherrata	18	27 <i>E.coli</i>	11	09	07
		10 <i>S.aureus</i>	06	00	04
Souk-el-Tenine	18	35 <i>E.coli</i>	16	09	10
		10 <i>S.aureus</i>	06	00	04
Tichy	12	09 <i>E.coli</i>	05	00	04
		14 <i>S.aureus</i>	08	00	06
Bejaia	09	13 <i>E.coli</i>	05	03	05
		00 <i>S.aureus</i>	00	00	00

Tableau V : Nombre et localisation des souches isolées et identifiées.

Germes pathogènes	Localisation	Nombre	Nombre total des souches
<i>E .coli</i>	Surface	37	84
	chair	26	
	Intestin	21	
<i>Salmonella</i>	Résultat négatif		
<i>S. aureus</i>	Surface	20	34
	chair	14	
	Intestin	00	

Tableau VI : Critères microbiologiques des poissons frais (JORA, 1998).

Bactéries	Seuils (UFC/g)
Coliformes fécaux	04
<i>S.aureus</i>	10 ³
<i>Salmonella</i>	Absence dans 25g

D'après les résultats obtenus, pour un même nombre de poisson frais prélevé de la région de Kherrata et Souk-el-Tenine (18), le nombre de souches de *S.aureus* isolées de la chair ou de la surface et d'*E.coli* isolé des intestins était identique pour les deux régions. Ainsi, ce poisson pourrait être contaminé avant la capture ou après. Cependant, le nombre d'*E.coli* isolé de la chair ou de la surface était plus élevé dans la région de Souk-el-Tenine ce qui pourrait indiquer un défaut d'hygiène et une altération du poisson plus important dans cette dernière.

Par comparaison entre les poissonneries de Tichy et celle de Bejaia, la présence de souches d'*E.coli* isolées des intestins dans le poisson de Bejaia et son absence dans celui de Tichy pourrait être due à une zone de pêche différente. Néanmoins, dans les deux cas, des souches *E.coli* ont été isolées de la chair et de la surface. Cela pourrait indiquer un défaut d'hygiène et une altération du poisson dans les deux endroits mais plus élevé à Tichy car aucune souches de *S.aureus* n'a été isolée du poisson vendu à la poissonnerie de Bejaia.

En effet, *Escherichia coli* est une bactérie présente parmi la microflore digestive de l'Homme et des animaux à sang chaud (Anses, 2011). Sa présence dans le poisson peut indiquer une contamination d'origine fécale après sa capture (Huss, 1988). D'après les résultats obtenus et mentionnés dans les tableaux : IV, V et I (en annexe), le poisson de certains vendeurs a été contaminé par *E.coli* seulement en surface. L'absence de cette dernière dans les intestins pourrait expliquer une contamination après la capture. Le cas échéant, cette contamination pourrait être due à un manque d'hygiène et/ou à l'utilisation d'une eau contaminée pour la formation de la glace qui est utilisée pour le conserver.

Cependant, d'après Servais (2000), certaines souches d'*Escherichia coli* responsables de gastro-entérites et diarrhées figurent parmi les bactéries pathogènes apportées dans l'eau et contaminant le poisson. En fait, la présence d'*E.coli* dans l'eau témoigne d'une contamination fécale de celle-ci (Denis, 2007). En plus, des germes d'origine fécale peuvent se retrouver dans le poisson pêché à proximité de rejets d'égouts (FAO/OMS, 1974). Selon Gatesoupe et Lésel (1998), les bactéries présentes dans l'eau ou la nourriture peuvent être ingérées par le poisson modifiant ainsi la composition de la microflore de son tube digestif. Ainsi, comme le montre nos résultats, l'isolement des souches d'*Escherichia coli* au niveau des intestins pourrait s'expliquer par la contamination de celui-ci dans la mer qui reçoit d'énormes quantités d'eaux usées, de déchets industriels et d'agriculture déchargés sans traitement près de la côte maritime dans la région de Bejaia. En outre, selon Brahmi et al. (2014), les poissons

sauvages pêchés de la mer méditerranée près de Bejaia sont des réservoirs d'*E.coli* producteur de β -lactamases à spectre étendu.

Les résultats obtenus montrent également un isolement de *Staphylococcus aureus*. Selon Huss (1988), *Staphylococcus aureus* ne fait pas partie de la microflore normale du poisson. Son habitat naturel est la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux. Bien qu'il soit halophile et peut se développer dans l'eau de mer, la principale source de contamination du poisson provient de contaminations humaines (FIAC/ CITPPM, 2011). Sa présence dans le poisson indique une contamination postérieure à la capture due à de mauvaises mesures d'hygiène (Huss, 1988). Cela pourrait être corroboré par l'isolement de cette bactérie de la surface du poisson mais pas de ses intestins.

La négativité des résultats de la recherche des salmonelles dans ce poisson pourrait s'expliquer par la bonne santé des manipulateurs de celui-ci (pas de porteurs asymptomatiques, pas de malades) et par l'absence de ces bactéries dans l'endroit de pêche. En effet, *Salmonella* résistent mal à la salinité (FIAC/ CITPPM, 2011), et l'eau de mer n'ai pas un réservoir naturel (Anses, 2010). Le réservoir principal de *Salmonella* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères (porcs, bovins) et des oiseaux (volaille domestiques) (Anses, 2011).

L'absence des bactéries recherchées dans le poisson cuit pourrait être due au respect des bonnes pratiques d'hygiène par le personnel ainsi qu'à leur destruction par la cuisson.

La chair du poisson sain, vivant ou fraîchement pêché est stérile car son système immunitaire empêche les bactéries de se multiplier à ce niveau. Néanmoins, à sa mort, le système immunitaire s'effondre et les bactéries peuvent y proliférer librement. Le développement microbien se situe essentiellement à la surface où, les bactéries colonisent largement les alvéoles des écailles. Pendant la conservation sous glace, un nombre très limité de bactéries envahissent la chair en se déplaçant entre les fibres musculaires (Huss, 1999). En outre, les intestins des poissons contiennent un grand nombre de bactéries ainsi que des enzymes digestives actives. Même sous réfrigération, ces enzymes peuvent provoquer une digestion accélérée de la paroi abdominale et par suite une invasion rapide de la chair par des bactéries de la putréfaction (FAO/OMS, 1974).

Ainsi l'isolement des bactéries recherchées de la chair pourrait être justifié par une invasion bactérienne ou bien par la contamination de cette dernière par le jus coulant de la

surface ou des intestins du poisson suite au début d'altération de celui-ci. Cette altération pourrait s'expliquer par le non-respect de la chaîne du froid par certains vendeurs (poisson vendu exposé au soleil sans ou avec une fine couche de glace) et la diminution de la demande suite au comportement de certains vendeurs et à la hausse des prix du poisson devenu inabordable par le simple citoyen.

La réglementation algérienne en vigueur exige une absence des salmonelles dans le poisson frais et tolère jusqu'à 04 UFC pour les coliformes fécaux et 10^3 UFC pour *S.aureus* (JORA, 1998). Ainsi, les résultats négatifs des salmonelles sont conformes à cette réglementation. Mais la recherche des coliformes fécaux et de *S.aureus* n'est pas suffisante pour évaluer la qualité sanitaire de ce poisson. Le recours au dénombrement de ces bactéries reste ainsi obligatoire.

**Conclusion
et
perspectives**

La consommation du poisson est recommandée par les médecins et les nutritionnistes car il constitue une source d'éléments nutritionnels essentiels à l'organisme humain. Toutefois, la manipulation et la consommation d'un poisson contaminé par des bactéries pathogènes peut être à l'origine de maladies avec des conséquences graves sur la santé publique et à l'économie.

Les analyses microbiologiques du poisson frais vendu dans certains points de vente de Bejaia et ses alentours ainsi que du poisson cuit consommé par les étudiants à la résidence universitaire, Targa-ouzmour, ont révélé une présence d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* dans le poisson frais. Une absence de ceux-ci est enregistrée dans le poisson cuit avec absence totale de salmonelles.

Ces bactéries révélées dans le poisson frais, constituent un danger potentiel pour le consommateur. En effet, bien qu'*E.coli* soit un hôte normale du tube digestif de l'Homme, sa présence dans le poisson ne pose pas de problème mais elle indique une contamination fécale récente d'où le risque de présence potentielle de pathogènes entériques. De plus, certaines souches d'*E.coli* sont à craindre car elles ont acquis des facteurs de virulence et sont devenues pathogènes. Aussi, certaines souches de *S.aureus* produisent des entérotoxines que l'ingestion provoque une toxi-infection alimentaire se traduisant par des vomissements violents accompagnés de diarrhées. Ainsi, ce poisson frais peut être considéré comme une source potentielle de dangers pour le consommateur. Heureusement, la cuisson du poisson et le respect des bonnes pratiques d'hygiène ont démontré leur efficacité dans le poisson cuit.

En perspectives :

1. Pour apprécier les risques potentiels il est recommandé de compléter l'identification et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques.
2. Pour diminuer le temps, le matériel et l'effort nécessaire à l'obtention des résultats, le recours aux techniques moléculaires d'identification est recommandé.
3. Afin de réaliser une étude plus complète, il est recommandé d'élargir le spectre des bactéries recherchées et d'augmenter la taille des échantillons.
4. Pour éviter la contamination du poisson et maîtriser ces dangers, il est recommandé de déterminer leur origine en faisant recours au système HACCP et en respectant les règles d'hygiène au moment et après la capture et lors de la commercialisation de celui-ci

5. Pour éviter la multiplication des bactéries et la production de toxines, il est recommandé de respecter la chaîne de froid.
6. Il est recommandé au consommateur d'éviscérer le poisson le plus rapidement possible après achat, de bien cuire celui-ci et d'éviter sa contamination après cuisson.
7. Pour évaluer la qualité sanitaire du poisson frais il est recommandé de réaliser un dénombrement des souches et de comparer aux seuils délimités par la réglementation algérienne en vigueur.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- **Anses** (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2013). Avis de l'Anses relatif aux recommandations sur les bénéfices et les risques liés à la consommation de produits de la pêche dans le cadre de l'actualisation des repères nutritionnels du PNNS. Saisine n° 2012-SA-0202. P3
- **Anses** (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2012). Manger du poisson : Pourquoi ? Comment ?
- **Anses** (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2011). *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- **Anses** (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2011). *Salmonella spp.* Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
- **Anses** (Agence nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2010). Consommation des poissons, mollusques et crustacés : aspects nutritionnels et sanitaires pour l'Homme.
- **Bourdin G.** (2010). La contamination microbienne des produits de la pêche et plus spécifiquement celle par *Listeria monocytogenes*. Hygiène des produits de la pêche et de l'aquaculture.
- **Brahmi S., Dunyach-Rémy C., Touati A. et Lavigne J.-P.** (2014). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. Article in press. Letter to the editor. *Clinical Microbiology and Infection*.
- **CUQ J. L.** (2007). Microbiologie alimentaire. Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc. 133p.
- **Delarras, C.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire, recherche de bactéries et de levures-moisissures. ISBN 978-2-7430-1565-7. 772 p.

- **Denis F., Poly M C., Martin C., Bingen E., Quentin R.** (2007). Bactériologie médicale. Techniques usuelles. Pp 21-27.
- **Elyounoussi C., Rachidi A., Belhassane L.H., Bekkali M.** (2015). Evaluation de la qualité microbiologique de certains poissons capturés et commercialisés dans le Grand Casablanca au Maroc.
- **FAO** (Food and Agriculture organization) (2016). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2016. Contribuer à la sécurité alimentaire et à la nutrition de tous. Rome. 224 pages.
- **FAO/OMS** (Food and Agriculture Organization/Organisation Mondiale de la Santé) (1974). Hygiène du poisson et des fruits de mer. Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS réuni en coopération avec la FAO. Rome. 66 pages.
- **FAO/NACA/OMS** (Food and Agriculture Organization/Organisation Mondiale de la Santé) (1999). Problèmes de salubrité posés par les produits de l'aquaculture. Rapport d'un groupe d'étude mixte FAO/NACA/OMS (Bangkok, Thaïlande). 58 pages.
- **FIAC/CITPPM** (Fédération des Industries d'Aliments Conservés/ Confédération des Industries de Traitement des Produits des Pêches Maritimes) (2011). Guide des bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP des poissons, mollusques et crustacés en conserves appertisées. 329 p.
- **Gatesoupe F. J. et Lésel R.** (1998). Flore digestive des poissons : approche environnementale. Cahiers Agricultures 1998 ; 7 : 29-35.
- **Huss H.H.** (1999). La qualité et son évolution dans le poisson. FAO document technique sur les pêches – 348. 173 pages.
- **Huss H.H.** (1998). Assurance de la qualité des produits de la mer. FAO document technique sur les pêches 334. 175 Pages.

- **Huss, H.H.** (1988). Le poisson frais : qualité et altération de la qualité. Manuel de formation préparé pour le programme de perfectionnement FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le contrôle de qualité (collection FAO : pêches, n° 29).132p.
- **JORA** (Journal Officiel de la République Algérienne) (1998). Critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires. Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- **Keck N., Godreuil S., Boschioli M.L.** (2013). Aspect zoonotique et pathogénie des infections des poissons par les mycobactéries.
- **Little, D.C. ; Edwards, P.** (2005). Systèmes agricoles intégrés bétail-poisson. Rome, FAO. PP 97-99.
- **Midoun N.** (2012). Investigation d'une toxi-infection alimentaire collective. Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran. Service d'Epidémiologie et de médecine préventive.
- **MPM- RM** (Ministère de la Pêche Maritime-Royaume de Maroc) (2003). Bonnes pratiques d'hygiène. Vol 06- la production de poissons frais, surgelés ou congelés. 102 pages.
- **OMS** (Organisation Mondiale de la Santé) (2016). Cinq clefs pour des produits d'aquaculture plus sûrs afin de protéger la santé publique. P 10.
- **Servais P.** (2000). Contamination bactérienne et virale. Programme scientifique Seine-Aval. P4.
- **Wiefels R.** (2014). L'industrie de la Pêche et de l'Aquaculture en Algérie. Projet d'Appui à la Formulation de la Stratégie Nationale de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (2015 -2020). Projet ALG/14/001/ /01/34. P4

Annexes

Tableau I : Résultats d'isolement et d'identification.

Germe recherché	Lieu du prélèvement	Date du prélèvement	Endroit du prélèvement	vendeur	poisson	Localisation		
						S	I	C
<i>E. coli</i>	Kherrata	02/04/2017	Poissonnerie	V1	P1	+		
			Marché	V1	P2	+		+
		25/04/2017	Poissonnerie	V1	P1	+	+	+
				P2	+	+	+	
				P3	+	+	+	
			Marché	V1	P1	+	+	
					P2	+	+	
					P3	+	+	
			V2	P1	+	+	+	
				P2	+	+	+	
	P3	+		+	+			
	Souk-El-Tenine	13/04/2017	Marché	V1	P1	+	+	
					P2	+	+	
					P3	+	+	
			V2	P1	+	+	+	
				P2	+	+	+	
				P3	+	+	+	
				V3	P2	+		+
		24/04/2017	Marché	V1	P1	+		+
					P2	+		+
					P3	+		+
V2	P1		+	+	+			
	P2		+	+	+			
	P3		+	+	+			
V3	P1	+		+				
	P2	+		+				
	P3	+		+				

Germe recherché	Lieu du prélèvement	Date du prélèvement	Endroit du prélèvement	vendeur	poisson	Localisation			
						S	I	C	
<i>E.coli</i>	Tichy	16/04/2017	Poissonnerie 1	V1	P1	+		+	
			Poissonnerie 2	V2	P1	+		+	
		26/04/2017	Poissonnerie 1	V1	P1	+		+	
			Poissonnerie 2	V2	P2	+			
	Bejaia	19/03/2017	Poissonnerie	V1	P1	+	+	+	
					P2	+	+	+	
					P3	+	+	+	
		01/05/2017	Poissonnerie	V2	P2	+		+	
	Bejaia	13/04/2017	Restaurant universitaire de Targa-ouzemour	Personnel	Personnel	P3	+		+
			26/04/2017	Restaurant universitaire de Targa-ouzemour	Personnel				

S : Surface

I : Intestins

C : Chair

Germe recherché	Lieu du prélèvement	Date du prélèvement	Endroit du prélèvement	vendeur	poisson	Localisation		
						S	I	C
<i>S.aureus</i>	Kherrata	02/04/2017	Marché	V1	P1	+		
		25/04/2017	Poissonnerie	V1	P1	+		+
			Marché	V1	P2	+		
				P3	+		+	
			V2	P1	+		+	
			P3	+		+		
	Souk-El-Tenine	13/04/2017	Marché	V2	P1	+		
				P3	+		+	
			V3	P1	+		+	
		24/04/2017	Marché	V2	P2	+		
					P3	+		+
					P3	+		+
	Tichy	16/04/2017	Poissonnerie 1	V1	P1	+		+
					P2	+		+
					P3	+		
			Poissonnerie 2	V2	P1	+		
					P2	+		+
					P3	+		+
26/04/2017	Poissonnerie 1	V1	P2	+		+		
	Poissonnerie 2	V2	P1	+				
<i>Salmonella</i>	Résultats négatifs							

S : Surface

I : Intestins

C : Chair

La composition des milieux de culture et réactifs en g/l

Gélose EMB

Peptone.....	10
Lactose.....	10
Dihydrogénophosphate.....	02
Eosine jaunâtre.....	0,4
Bleu de méthylène	0,065
Agar- agar	13,5

pH 7,0 +/- 0,2 à 25c°

Gélose Mac Conkey

Peptone de gélatine (bovine ou porcine).....	17
Peptone de viande (bovine porcine).....	03
Lactose (bovin).....	10
Seles biliaires (ovin ou bovin).....	1,5
Chlorure de sodium.....	05
Agar.....	13,5
Rouge neutre.....	40 mg
Cristal violet.....	0,01

pH 7,1

Gélose Desoxycholate

Peptone bactériologique.....	10
Extrait de viande.....	10
Citrate de sodium.....	20
Citrate ferrique.....	01
Desoxycholate de sodium.....	05
Lactose.....	10

Rouge	0,02
Agar.....	13,5

pH final 7,3 +/- 0,2 à 25 c°

Gélose SS

Peptone.....	05
Extrait de viande de bœuf.....	05
Sels biliaries.....	4,2
Citrate de sodium.....	10
Thiosulfate de sodium.....	8,5
Citrate de fer.....	02
Lactose.....	10
Rouge neutre.....	25mg
Vert brillant.....	0,33mg
Agar.....	12

pH final 7,3 +/- 0,2 à 25 c°

Gélose Chapman

Extrait de viande.....	03
Extrait de levure	03
Peptone	10
Chlorure de sodium.....	70
Tryptone.....	05
Mannitol	10
Rouge de phénol.....	0,05
Agar.....	18

pH 7,4

Gélose Baird Parker

Peptone de caséine (bovin, porcin).....	10
Extrait de viande (bovin).....	05
Extrait de levure.....	01
Glycine.....	12
Chlorure de lithium.....	05
Pyruvate de sodium.....	10
Tellurite de potassium.....	0,1
Suspension de jaune d'œuf.....	10ml
Agar.....	17

pH 7,2

Bouillons nutritifs

Extrait de viande.....	10
Peptone.....	05
Chlorure de sodium.....	05

pH final 7,4 +/-0,2 à 25c°

Rappaport Vassiliadis

Peptone de soja.....	4,5
Chlorure de sodium.....	7,2
Dihydrogénophosphate de potassium.....	126
Hydrogénophosphate di-potassium	0,18
Chlorure de magnésium anhydre.....	13,4
Oxalate de vert malachite	36mg

pH final: 5, 2 +/- 0, 2 à 25c°

Gélose mannitol-mobilité

Peptone de viande	03
Extrait de viande	03
Rouge de phénol	05
Mannitol	10
Potassium nitrate	01

pH 7,8

TSI

Peptone	20
Extrait de viande	2,5
Extrait de levure.....	03
Chlorure de sodium.....	05
Citrate ferrique	0,5
Thiosulfate de sodium.....	0,5
Lactose	10
Saccharose.....	10
Glucose	01
Rouge de phénol.....	0,024
Agar.....	11

pH final 7,4 +/- 0,2

Eau peptonée exempte d'indole

Peptone bactériologique.....	10
Chlorure de sodium.....	05

pH final 7,2 +/- 0,2

Boillon nitraté

Peptone de viande.....	10
Extrait de viande05
Chlorure de sodium.....	.05
Nitrate de potassium01

pH 7,2

Eau physiologique

Chlorure de sodium09
--------------------------	-----

BHIB

Peptone	10
Infusion de cœur de bœuf	10
Infusion de cerveau de veau.....	7,5
Chlorure de sodium05
Phosphate disodique	2,5
Dextrose02

pH final 7,4 +/- 0,2 à 25 c°

Réactifs de Kovacs

Para-diméthyle-amino-benzaldéhyde

Alcool isoamylique

Acide chlorhydrique

Réactifs de Griess-Ilosvay

Nitrate réductase 1

- Acide sulfanilique
- Acide acétique

Nitrate réductase 2

- Alpha-naphtylamine
- Acide acétique

Résumé

La recherche des bactéries pathogènes sur le poisson frais vendu à Bejaia et ses alentours ainsi que sur le poisson cuit consommé par les étudiants de la résidence universitaire Targa-ouzemour vise à évaluer leur présence et de donner une idée sur la qualité sanitaire de celui-ci.

Les analyses microbiologiques ont révélé une présence d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* dans le poisson frais, une absence de ceux-ci dans le poisson cuit et une absence des salmonelles dans les deux cas.

Ces bactéries révélées dans le poisson frais constituent un danger potentiel pour le consommateur. Ainsi, ce poisson peut être considéré comme de mauvaise qualité sanitaire. la cuisson du poisson et le respect des bonnes pratiques d'hygiène ont démontré leur efficacité dans le poisson cuit.

Mots clés : Poisson, contamination, pathogènes, qualité et identification.

Abstract

The research of pathogenic bacteria on the fresh fish sold in Bejaia and its surroundings as well as on the cooked fish consumed by the students of the university residence Targa-ouzemour aims to evaluate their presence and give an idea on the sanitary quality of it.

Microbiological analyzes revealed the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fresh fish, an absence of these in cooked fish and an absence of salmonella in both cases.

These bacteria isolated in fresh fish pose a potential hazard to the consumer. Thus, this fish may be considered to be of poor sanitary quality. Cooking fish and observing good hygiene practices have demonstrated their effectiveness in cooked fish.

Key words: Fish, contamination, pathogens, quality and identification.