



Etude microbiologique et identification des souches isolés à partir du poisson (*Mugil cephalus*) séché-pilé « *Lekhlia* » (Microbiological Study and identification of strains isolated from the fish (*Mugil cephalus*) dried-pounded « *Lekhlia* »)

Ahmed Ould Abeid^{1a}, Zakaria Mennane², Oudda Hassan³, Mohammed Ouhssine¹

¹Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité (LBEQ), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc.

^a Laboratoire de Microbiologie Alimentaire (LMA), Département des Sciences et Technologies des Aliments, Institut Supérieure d'Enseignement Technologique de Rosso, BP 3800, Nouakchott, Mauritanie.

²Département de Bactériologie, Institut National d'Hygiène, 27, Avenue Ibn Batouta, B.P. 769 – Agdal, Rabat, Maroc.

³Laboratoire de procédés de séparation (LPS), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc.

Received 16 Oct 2014, Revised 9 Dec 2014, Accepted 9 Dec 2014

*auteur correspondant: E-mail: labeq2014@gmail.com

Résumé

Un totale de quatre-vingt-quinze échantillons du poisson (*Mugil cephalus* Linne) séché-pilé « *Lekhlia* », ont été prélevés à partir de trois villages *Imraguen* - Mauritanie (V1, V2 et V3) et évalués pour leurs qualité microbiologique. Les résultats ont révélés une abondance importante en FMAT. Elle est de l'ordre de $1.20 \cdot 10^4$, $3 \cdot 10^5$ et $8 \cdot 10^5$ ufc/g successivement pour les échantillons provenant de V1, V2 et V3. Pour ce qui est flore de contamination fécale, l'abondance en Coliformes totaux était de $0.5 \cdot 10^2$, $1.80 \cdot 10^2$ et de $2.0 \cdot 10^2$ ufc/g, celle des Coliformes fécaux 9, 5 et de 11 ufc/g. Et ce respectivement pour les échantillons provenant de V1, V2 et V3. L'étude microscopique et l'identification biochimique de trente-neuf souches isolées à partir des échantillons analysés montrent une prévalence microbienne représentée par : 53.85, 25.64, 15.38 et de 05.13% respectivement de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et de *Proteus mirabilis*.

Mots-clés : *Imraguen*, poisson séché, qualité, isolement, diversité microbienne.

Abstract

A total of ninety-five samples of fish (*Mugil cephalus*) dried-pounded "Lekhlia", have been collected from three villages *Imraguen* - Mauritania (V1, V2 and V3) and evaluated for their microbiological quality. The results have proved a significant abundance in FMAT. It is of the order of $1.20 \cdot 10^4$, $3 \cdot 10^5$ and $8 \cdot 10^5$ cfu/g successively for samples from V1, V2 and V3. For what is flora of faecal contamination, the abundance in total coliform was $0.5 \cdot 10^2$, $1.80 \cdot 10^2$ and $2.0 \cdot 10^2$ cfu/g, that of fecal coliform 9, 5 and 11 cfu/g. And this respectively for samples from: V1, V2 and V3. The study microscopic and biochemical identification of thirty-nine strains isolated from the samples analyzed show a microbial prevalence represented by: 53.85, 25.64, 15.38 and 05.13% respectively of *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*.

Key words: *Imraguen*, dried fish, quality, Insulation, microbial diversity.

1. Introduction

Le poisson et ses produits dérivés jouent un rôle important dans l'alimentation des populations de l'Afrique [1]. En effet, les produits artisanales *Imraguen* (pêcheurs traditionnels mauritaniens), sont issus de savoir faire ancestraux. La capture, la transformation et la consommation de mullet jaune (*Mugil cephalus* Linné) est au centre de leur vie sociale, culturelle et économique [2].

Environ 20% des captures sont consommés en frais, le reste est transformé par les femmes en poisson séché (*Tichtar*) ou séché pilé (*Lekhlia*) et en huile (*d'hin*) [3]. Les produits de transformation sont soit stocké pour la consommation locale ou expédié vers les villes de Nouadhibou, Nouakchott et Dakar du Sénégal.

Ces produits sont marqués, en Mauritanie, par des vertus diététiques et thérapeutiques. Ils sont réputés bons pour le diabète et le traitement de certaines maladies chroniques [4].

Très peu de références liées à la transformation artisanale du poisson en Mauritanie et la qualité de ses produits sont disponibles, en raison de la rareté des travaux de recherches qui y sont réservés. Les rares références publiées s'intéressent à la qualité hygiénique et physico-chimique [5-6].

Vue l'importance de la demande et la consommation accentuée de ces produits, notre étude a visé l'évaluation de la qualité microbiologiques et l'identification des principales souches bactériennes responsables de contamination de ces produits.

2. Matériels et méthodes

2.1. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués au niveau des zones de pêcheurs artisanales « *Imraguen* » sur la côte atlantique entre la ville économique Nouadhibou et la capitale Nouakchott de Mauritanie. 95 échantillons (Tableau 1) de *Lekhlia* (figure 2) ont été prélevés à partir de trois villages (V1, V2 et V3). Ils sont acheminés au laboratoire de microbiologie alimentaire (LMA) de l'ISET de Rosso-Mauritanie, dans des bacs en plastique hermétiquement fermés. Quarante deux échantillons ont été analysés pour leur qualité microbiologique au niveau du même laboratoire (LMA), les cinquante trois échantillons restants ont été conditionnés sous vide au niveau de la halle technologique de l'ISET de Rosso puis transportés au laboratoire de biotechnologie, environnement et qualité du Maroc pour l'analyse de leur qualité microbiologique puis isolement et identification des souches responsables d'altération de leur qualité hygiénique. Avec l'aide du laboratoire de bactériologie, nous avons fait la confirmation des espèces des souches isolées dans les cas d'ambiguïtés.



Figure 1 : Filets de poisson séché (*Tichtar*)

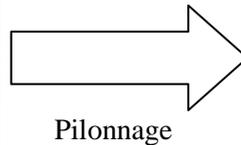


Figure 2 : Filets de poisson séché-pilé (*Lekhlia*)

2.2. Analyse microbiologique

Les analyses microbiologiques ont été effectuées selon les méthodes de routine pour la préparation des dilutions et le dénombrement des microorganismes [7].

La Flore mésophile aérobie totale (FMAT) à été dénombré sur milieu Plate Count Agar (PCA) après ensemencement et incubation à 30°C/72 h. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux (CT, CF) ont été dénombrés sur milieu Mac Conkey Agar après ensemencement et incubation pendant 24 h à 30°C pour les CT et 44°C pour les CF.

2.3. Isolement des souches

À partir des boîtes contenant des colonies individualisées et bien isolées des germes de contamination fécale (CT et CF), nous avons examinés 39 souches (Tableau 1) par observation microscopique. Nous les avons examinés à l'état frais. Nous leurs avons appliqués la coloration de Gram, recherchés de la catalase et l'oxydase. La méthodologie empruntée est celle décrite par Sherman [8].

Les souches présumés des entérobactéries ont été ensemencées sur la gélose VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) et incubées à 37°C pendant 24h [9]. La purification des souches a été effectuée par cultures répétées jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

Tableau 1 : Appartenance des souches selon les échantillons analysés

Zones de prélèvement	Villages	N.E par Village	N des souches isolés par E
Villages <i>Imraguen</i>	V1	27	11
	V2	36	16
	V3	32	12
Totale	3 V	95 E	39 souches

V : village, N : nombre, E : échantillon

2.4. Identification

L'identification a été effectué selon les méthodes conventionnelles classiques [10-11-8] : Production d'indole (Ind), test au RM (Rouge de Méthyle), Mannitol-mobilité (Mob), test de VP (Voges-Proskauer), production de l'uréase (Iur), production

des décarboxylases LDC (lysine décarboxylase), test d'utilisation de citrate (Cit), test d'utilisation du lactose (Lac) et du glucose (Glu), vérification de la production de sulfure d'hydrogène (H_2S) et examen de production des gaz.

3. Résultats et discussions

3.1. Evaluation de la qualité microbiologique du poisson séché-pilé « *Lekhlia* »

Les résultats de l'analyse microbiologique (Tableau 2) ont montré une abondance en FMAT moyenne maximale de $8 \cdot 10^5$ ufc/g pour les échantillons de V3 et une valeur moyenne minimale de $1.20 \cdot 10^4$ ufc/g pour ceux de V1. Plusieurs auteurs ont rapporté des résultats similaires [5-12]. Les valeurs qu'ils ont trouvées sont dans l'ordre de $3 \cdot 10^4$ et $6 \cdot 10^4$ ufc/g dans le *Mugil cephalus* séché. De même, une valeur de $66 \cdot 10^4$ ufc/g a été rapportée dans le tilapia séché [13].

Pour les coliformes totaux, la valeur maximale moyenne est de $1.80 \cdot 10^2$ ufc/g pour les échantillons de V3, et de $0.5 \cdot 10^2$ et $2 \cdot 10^2$ ufc/g successivement pour V1 et V2. Ces valeurs sont comparables avec ceux trouvés, respectivement dans le poisson braisé-séché et le mullet séché [14-12]. L'abondance en coliformes totaux trouvés été de $2 \cdot 10^2$ et 10^2 ufc/g.

Alors que pour les coliformes fécaux, les valeurs moyennes de leur abondance sont de 5, 9 et 11ufc/g successivement dans les échantillons de V3, V1 et V2. Ces valeurs sont inférieurs de 56.98ufc/g et $53 \cdot 10^2$ ufc/g rapportés successivement dans le poisson braisé-séché [14] et le tilapia séché [13].

Selon les normes CEN (Comité Européen de Normalisation) adopté en Mauritanie pour l'évaluation de la qualité microbiologique des produits à base du poisson séché [5], les charges moyennes en FMAT et CT dépassent les normes recommandés, contrairement aux valeurs moyennes en CF, seul les échantillons de provenance V2 qui dépasse légèrement la norme.

La présence de coliformes fécaux peut constituer une indication de la présence de micro-organismes entéropathogènes [15], mais le risque est plus particulièrement lié à la présence d'*E. coli*. Quoique les déclarations officielles n'aient pas fait signe quand à l'incidence de ce type de contaminant sur la santé du consommateur, mais il n'en est pas de même dans la réalité. Tout malaise apparu liée à la consommation des produits précités peut être remédié par des soins traditionnels ou limité aux proscriptions pharmaceutiques. Ces cas ne sont souvent pas enregistrés dans les documents officiels de l'Etat.

Tableau 2 : Evaluation de la qualité microbiologique du poisson séché-pilé « *Lekhlia* »

Village	Nombre des échantillons	F.M.A.T UFC/g	C.T UFC/g	C.F UFC/g
V1	27	$1.20 \cdot 10^4$	$0.50 \cdot 10^2$	9
V2	36	$3.00 \cdot 10^5$	$2.00 \cdot 10^2$	11
V3	32	$8.00 \cdot 10^5$	$1.80 \cdot 10^2$	5

3.2. Résultats d'identification des souches

Les onze souches isolées à partir des échantillons de V1 (Tableau 3) sont soumises à des tests d'identification. Les résultats de l'étude microscopique et de l'identification biochimique ont montré qu'elles sont des entérobactéries. Elles appartiennent aux espèces suivantes : *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* avec des taux de présence de respectivement de 54.54, 27.27 et de 18.18 %.

Concernant les seize souches isolées des échantillons d'origine V2, nous avons constaté une abondance de *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 50.00 % suivi par *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* avec des valeurs égaux de 18.75 %. D'autre par, les échantillons révèlent la présence de *Proteus mirabilis* avec un taux minimum de 12.50 %.

Pour les douze souches isolés à partir des échantillons de V3, la distribution des souches été de 58.33% pour *Klebsiella pneumoniae*, 33.33% pour *Enterobacter cloacae* et 08.33% pour *Escherichia coli*.

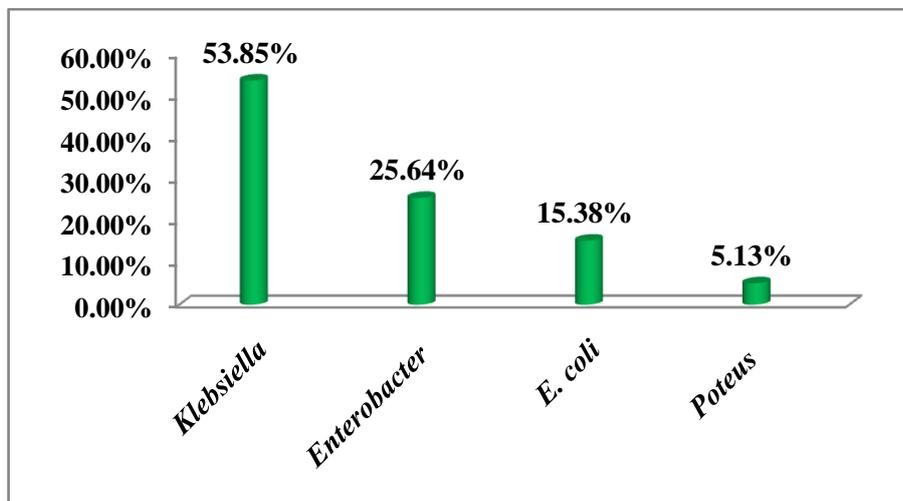
En générale, l'étude des différentes souches isolées à partir des échantillons V1, V2 et V3 (Graphe 1) montre leur appartenance à la famille *Enterobacteriaceae*. La prévalence des souches été de 53.85, 25.64 et 15.38% respectivement de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli*. La présence de *Proteus mirabilis* était faible avec un taux de 05.13%.

La présence des genres Entérobactéries et des Klebsielles dans les aliments a été rapporté dans le poisson [16-17] et dans la viande fumée séché [18]. Les deux groupes de microorganismes ont été souvent reconnues comme étant des micro-organismes pathogènes pour l'homme présents dans les produits carnés et du poisson. Ils sont

même présents dans les milieux hospitaliers [19]. Les souches trouvées dans les milieux naturels ne sont habituellement pas les mêmes que celles trouvées dans les milieux hospitaliers et n'ont pas un pouvoir pathogène aussi important [20]. La présence de l'*E. coli* dans les aliments a été rapporté par plusieurs auteurs: dans le *Trachurus trachurus* au cours de fumage traditionnel [21] et dans le poisson fumé séché [22-23-24]. La présence *E. coli* peut correspondre à une contamination par les personnes manipulant [25]. Ou par contamination endogène lors des mauvaises manipulations au cours de l'éviscération ou filetage du poisson.

Les espèces du genre *Proteus* sont observées partout dans le monde. Elles font partie de la flore intestinale normale de l'homme et du poisson [26-27-28]. Leur présence dans les produits carnés a été aussi rapportée par Kumar [23].

La présence des agents potentiellement pathogène dans les produits que nous avons analysés montre qu'il est intéressant de déterminer l'origine de contamination. Ceci ne peut être réalisé que par l'adoption et mise en place de la démarche qualité en appliquant les lignes directrices du plan HACCP, la formation des femmes transformatrices ainsi la maîtrise du guide de bonnes pratiques d'hygiène.



Graph 1 : prévalence des souches isolés à partir des échantillons du poisson séché-pilé « *Lekhlia* »

Tableau 3 : Caractéristiques morphologiques et biochimiques de souches isolées à partir du poisson séché-pilé « *Lekhlia* »

villes	N.S.I	forme/ Gram	Ox	Cat	LDC	Cit	Uré	Ind	Man	RM	Glu	Lac	H ₂ S	Vp	Espèces	N.Esp	% Esp /N.Sou	
V1	11	Bac -	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>	3	27.27	
		Bac -	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	54.54
		Bac -	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>	2	18.18
V2	16	Bac -	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Poteus mirabilis</i>	2	12.50	
		Bac -	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>	3	18.75	
		Bac -	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	50.00
		Bac -	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>	3	18.75
V3	12	Bac -	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>	4	33.33	
		Bac -	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	58.33
		Bac -	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>	1	08.33

Bac : Bacille, **N.S.I** : Nombre des Souches Isolées, **N. Esp** : Nombre des Espèces, **Esp /Sou** : Espèces/ Nombre des Souches.

Conclusion

1. Les résultats de l'évaluation de la qualité microbiologique, montrent que les échantillons analysés renferment des germes de contamination fécale (CT et CF). L'étude microscopique et la caractérisation biochimique des trente neuf souches isolées à partir de ces échantillons analysés, montrent leur appartenance à la famille *Enterobacteriaceae*. La présence d'*E.coli* est un indicateur de dangers ou de risque à la santé du consommateur.

2. Quatre espèces ont été identifiées à savoir : *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*. L'espèce présente dans tous les échantillons analysés de toutes les provenances (V1, V2 et V3) était *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de prévalence dépassent souvent le 50%.
3. La présence des germes de contamination fécale tels que, *E.coli*, conduit à la recommandation du respect des clauses du guide des bonnes pratiques d'hygiène afin de garantir la qualité des produits finis avant leur l'exposition dans les locaux de vents aux consommateurs.

Références

1. FAO, *Fishery statistics capture production*. Rome/Roma, 86/1, (2000) p 713.
2. Boulay, S., *Proceedings of the international pluridisciplinary conference*, Lille, France (2008) p1-10.
3. Mohamed Mohamed Vall, Thèse de Doctorat, Université de Nice, Sophia Antipolis, France (2004) p75-93.
4. Boulay, S., Boncoeur, J., Charles, E., Cormiersalem, M.C. et Queffelec, B., *colloque « localiser les produits »*, (2009) p2.
5. ONISPA (Office Nationale d'Inspections Sanitaires des Produits de Pêche et de l'Aquaculture), *Rapport d'étude*, (2010) p2-10.
6. Ould Abeid, A., Alioune, N., Zakaria, M. et Mohammed, O., *Afrique SCIENCE*, 08 (2012) 138-145.
7. NF V08-600, *Méthode de routine pour le dénombrement des microorganismes*, (décembre 2000) p14.
8. Sherman, N., Cappuccino, J.G., 6th Ed, Baltimore Md Williams and Wilkins 81 (2005) 265-267.
9. NF V08-054., *Méthode de routine pour le dénombrement des microorganismes*, (Avril 2009) p5.
10. Holt, J.G, Krieg, N.R., Senath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T; 9th Ed, (1994) p35.
11. Fawole M.O., Oso B.A., 1st Ed, Ibadan, Nigeria, (2004) p8.
12. Yousuf, A. M., Asad, M.A., Lifat, R. M. and HOUAIN, M. M., *South Asian J. Agric.* 2 (2007) 29-32.
13. Baba, M. O., Thèse de doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie de Dakar-Sénégal, (1985) p85-92.
14. Bassirou D., mémoire DESA, FST, Université Cheikh Anta Diop de Dakar-Sénégal, (2003) p112-113.
15. Zmirou, D., Ferley, J.P., Collin, J.F., Charrel, M. & Berlin, J., *American Journal of Public Health*, 77 (1987) 582-584.
16. Moshood, A. Y, Tengku, H. A. T. A. H., *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 3 (2012) 1-45.
17. Dhayanithi, N.B., Ajith, K. T.T. & Kathiresan, K., *Journal of Environmental Biology*, 31 (2010) 409-412.
18. Egbebi, A.O. and Seidu, K. T., *Euro. J. Exp. Bio.*, 1 (2011) 1-5.
19. Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J. et Allen, M. J., *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 88 (2000) 106-116.
20. Archibald, F. *Water Quality Research Journal of Canada*, 35 (2000) 1-22.
21. Degnon, R. G., Agossou, V., Adjou. S. E., Dahouenon, A. E., Soumanou, M. M., Sohounhloue, D. C.K., *J. Appl. Biosci*, 67 (2013) 5210-5218.
22. Petronillah, R. S., Robert K. G., John V. M., Nyoni S., *International Journal of Science and Research*, 2 (2013) 269-273.
23. Prabakaran, P., Sendeesh, K. K., Anand, M. and Pradeepa, V., *Arch. Appl. Sci. Res.*, 3 (2011) 135-138.
24. Ashok, K., Varun, B., Shikha, V., Gaurav, S. and Sushil, K., *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*. 1 (2011) 22-31.
25. Ghafir, Y., Daube G., *Ann. Méd. Vét.*, 151 (2007) 79-100.
26. Kim, B. N., Kim, N. J., Kim, M. N., Kim, Y. S., Woo, J. H., & Ryu, J., *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35 (2003) 98-103.
27. Abbott, S. L., 9th. Washington, USA, (2007) 698-711.
28. Ronald, A., *Acta Med Library*, 49 (2003) 71-82.

(2014); <http://www.jmaterenvirosnci.com>