

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

Faculté des Sciences  
et Techniques (FST)



Année : 2005

Ecole Inter-états des Sciences et  
Médecine Vétérinaires  
(EISMV)



N° 2

## ETUDE COMPARATIVE DE DEUX MILIEUX DE CULTURE, PLATE COUNT AGAR ET MARINE AGAR, UTILISES POUR LA RECHERCHE DE LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE DANS LES CEPHALOPODES.

MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES  
DE PRODUCTIONS ANIMALES

Présenté et soutenu publiquement le 21 juillet 2005 à 10 heures

Par

**MALOGA Bienvenu**

Né le 27 février 1977 à Ebolowa

### MEMBRES DU JURY:

**PRESIDENT :** Monsieur François Adebayo ABIOLA Professeur à l'EISMV

**MEMBRES :** Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE Professeur à la FST

Monsieur Malang SEYDI Professeur à l'EISMV  
Directeur et Rapporteur de mémoire

JE RENDS GRACE À DIEU

LE TOUT PUISSANT,

LE CLEMENT ET LE MISERICORDIEUX

ET

JE DEDIE

CE MODESTE TRAVAIL.....

**A ma grand-mère Madeleine AMALEGUE**

Que la terre de Bongo te soit légère

**A mon père Denis BABOUETE**

C'est pour moi l'occasion de vous remercier pour tous les services que vous m'avez rendus. Que ce travail soit pour vous l'expression de ma profonde affection et ma reconnaissance pour les efforts consentis.

**A ma mère Thérèse MBOMBE**

Avec l'âge, j'ai mieux compris encore toute ta tendresse et la valeur des sacrifices consentis pour l'avenir de toute la famille. Je voudrais par le biais de ce modeste travail, pouvoir à mon tour t'entourer de soins et te payer mon immense dette de gratitude.

**A mes seconds parents, Jean DE DIEU BUTUYUI et son épouse Marguerite ZOUA**

Votre maison a été pour moi un havre de paix durant mon séjour universitaire. J'ai été entièrement séduit par vos sages conseils, votre gentillesse, votre soutien et votre engagement pour la réussite de toute la famille. Je voudrais par le biais de ce travail, vous exprimer mon attachement et le souvenir reconnaissant que je garde de vos bontés et de votre fierté pour moi.

**A tous mes frères, ma sœur, mes cousins, cousines, nièces et neveux**

Restons solidaires car l'union fait la force, persévérons.

**A tous mes oncles et tantes**

Ce travail restera le vôtre, trouvez ici l'expression de ma reconnaissance sans limite.

**A tous ceux qui ont participé à ma formation.**

**A la quatrième promotion du DEA/PA**

**A toute la colonie camerounaise de l'EISMV de Dakar.**

**Au Cameroun ma patrie, ma fierté.**

**A mon cher continent l'Afrique.**

# REMERCIEMENTS

**Au Professeur Malang SEYDI**

Vous avez inspiré ce travail et vous l'avez dirigé de mains de maître.  
Eternelle reconnaissance.

**Au Personnel du laboratoire AFRICAMER, SENEGAL PECHE, et  
AMERGER : Mrs NDAO, SOUMARE, COLY et Mme FAYE**

J'ai été subjugué par votre extrême gentillesse.

**A Mrs KONE et NALLA, qui ont été de tout temps mes complices au  
laboratoire. Il me manque des mots pour vous remercier.**

**A tout le personnel du laboratoire HIDAOA : SYLLA, BELLANCILLE,  
DIEYE, MAR, TRA.**

**A Mme DIOUF et Mlle FATOU, bibliothécaires à l'EISMV.**

**A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la  
réalisation de ce travail.**

# A NOS MAITRES ET JUGES

**A notre président du jury, Monsieur François Adebayo ABIOLA, Professeur à l'EISMV de Dakar**

Vous nous faites l'insigne honneur de présider notre jury de mémoire de DEA malgré vos multiples occupations.

Soyez assuré que votre disponibilité et votre simplicité nous ont profondément marqué.

Hommages respectueux.

**A notre maître et juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, Professeur à la faculté des sciences et techniques de l'université Ch. A. Diop de Dakar**

Nous gardons de vous un souvenir vivace d'un grand scientifique, disponible et ouvert envers tous. Vous avez spontanément accepté de juger ce travail.

Veillez trouver ici, l'expression de nos sentiments les meilleurs.

**A notre directeur de mémoire, Monsieur Malang SEYDI, Professeur à l'EISMV de Dakar**

Vous nous avez séduit par la rigueur de votre raisonnement scientifique, votre ardeur, votre simplicité, et votre disponibilité.

Vos qualités d'homme de sciences et d'homme pieux forcent au respect, à l'admiration et constituent pour nous un modèle.

Veillez trouver ici, l'expression de nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

# TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION .....	1
<b>PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I GENERALITES SUR LES CEPHALOPODES .....</b>	<b>2</b>
1- Définition .....	2
2- Systématique de la seiche et du poulpe .....	2
3- Morphologie externe .....	2
3-1 Morphologie de la seiche : <i>sepia officinalis</i> .....	2
3-2 Morphologie du poulpe : <i>octopus vulgaris</i> .....	3
<b>CHAPITRE II COMPOSITION CHIMIQUE ET BACTERIOLOGIE DES CEPHALOPODES .....</b>	<b>4</b>
1- Composition chimique .....	4
2- Bactériologie des céphalopodes .....	4
2-1 Contamination initiale .....	4
2-2 Contamination secondaire .....	5
3- Intérêt de la recherche de la FMAT .....	5
<b>CHAPITRE III PROCEDES DE TRANSFORMATION DES CEPHALOPODES .....</b>	<b>6</b>
1- Exploitation .....	6
2- Approvisionnement .....	6
3- Traitement des céphalopodes .....	6
3-1 Traitement de la seiche .....	6
3-2 Traitement du poulpe .....	7
<b>CHAPITRE IV MILIEUX DE CULTURE POUR LE DENOMBREMENT DE LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE .....</b>	<b>8</b>
1- Généralités sur les milieux de culture .....	8
2- Caractéristiques d'un bon milieu de culture .....	8
2-1 Composition .....	8
2-2 pH .....	8
2-3 Isotonie .....	9
2-4 Potentiel redox .....	9
2-5 Taux d'humidité .....	9

2-6 Fertilité- stérilité – sélectivité .....	9
3- Gélose pour dénombrement de la "FMAT" .....	9
3-1 Le milieu Plate Count Agar (PCA) .....	9
3-2 le milieu Marine Agar (MA) .....	10

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES ..... 11**

#### **I- MATERIEL ..... 11**

I-1- Cadre des analyses .....	11
I-2-Echantillons .....	11
I-3- Matériel technique .....	11
I-4- Matériel de laboratoire .....	11
I-5- Milieux de culture et diluant.....	11

#### **II : METHODES ..... 13**

II-1-Préparation et appréciation des milieux de culture .....	13
II-1-1 Reconstitution du milieu complet déshydraté .....	13
II-1-2 Mesure du pH .....	13
II-1-3 Mesure de la salinité .....	14
II-1-4 Test de stérilité .....	14
II-1-5 Test de fertilité .....	14
II-2- Références normatives .....	14
II-3- Analyse de l'échantillon .....	15
II-3-1 Mesure de la température .....	15
II-3-2 Mesure de la salinité .....	15
II-3-3 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales .....	15
II-3-4 Méthode de dénombrement de la FMAT à 30°C .....	16
II-4- Lecture .....	17
II-5- Expression des résultats .....	17
II-5-1 cas général. ....	17
II-5-2 Cas particulier .....	17
II-6- Saisie et analyse statistique .....	17
II-7- Critère microbiologique .....	18

<b>CHAPITRE II RESULTATS</b> .....	19
1- pH .....	19
2- Salinité .....	19
3- Température .....	19
4- Stérilité .....	19
5- Dénombrement de la flore .....	20
6- Fertilité .....	20
7- Résultats en fonction du critère microbiologique .....	21
<b>CHAPITRE III DISCUSSION</b> .....	24
1- pH .....	24
2- Salinité .....	24
3- Température .....	24
4- Stérilité .....	24
5- Flore .....	24
6- Fertilité .....	25
7- Critère microbiologique .....	25
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	26
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	27
<b>ANNEXE</b> .....	30



# TABLE DES ILLUSTRATIONS

PAGES

## LISTE DES FIGURES

Fig. 1 : Morphologie de la seiche .....	3
Fig. 2 : Morphologie du poulpe .....	3
Fig. 3 : Méthode de dénombrement de la FMAT à 30°C .....	16
Fig. 4 : Répartition des seiches sur les milieux en fonction du critère microbiologique .....	21
Fig. 5 : Répartition des poulpes sur les milieux en fonction du critère microbiologique .....	22
Fig. 6 : Comparaison de la fertilité des deux milieux .....	23
Fig. 7 : Diagramme de fabrication de la seiche .....	30
Fig. 8 : Diagramme de fabrication du poulpe .....	31

## LISTE DES TABLEAUX

Tab. I : Systématique des céphalopodes .....	2
Tab. II : Composition en g/l du PCA .....	12
Tab. III : Formule approximative en litre du MA .....	12
Tab. IV : Composition en g/l de l'EPT .....	13
Tab. V : Références normatives .....	14
Tab. VI : Critères microbiologiques .....	18
Tab. VII : Mesure du pH .....	19
Tab. VIII : Salinité des milieux de culture .....	19
Tab. IX : Salinité des échantillons .....	19
Tab. X : Température .....	19
Tab. XI : Fertilité des milieuxensemencés avec les seiches .....	20
Tab. XII : Fertilité des milieuxensemencés avec les poulpes .....	20
Tab. XIII : Répartition des niveaux de conformité des seiches en fonction des milieux .....	21
Tab. XIV : Répartition des niveaux de conformité des poulpes en fonction des milieux .....	21

# INTRODUCTION

Les céphalopodes constituent, tout comme les autres produits de la pêche, une source importante de protéines de haute qualité (6). De ce fait, ils font partie des denrées les plus prisées sur le marché mondial et offrent des opportunités réelles au sous secteur de la pêche du Sénégal, principalement tourné vers l'exportation (21).

La quasi-totalité des céphalopodes congelés est exportée vers les marchés européens et asiatiques (14). Compte tenu du caractère exigeant de ces marchés, la qualité microbiologique des céphalopodes doit être satisfaisante.

L'un des moyens pour atteindre cet objectif, passe par le contrôle de la qualité microbiologique de ces produits en recherchant la flore mésophile aérobie totale.

Le milieu recommandé par les normes internationales pour le dénombrement de cette flore dans les aliments est le **Plate Count Agar (PCA)**.

Les résultats obtenus avec ce milieu comparés à ceux obtenus avec le nouveau milieu de culture, le **Marine Agar (MA)**, ont révélé une discordance.

C'est pour contribuer à la connaissance de l'origine de cette discordance et enfin proposer le meilleur milieu pour le dénombrement de la flore totale, que nous avons choisi de traiter le sujet suivant :

**Etude comparative de deux milieux de culture, PCA et MA, utilisés pour la recherche de la flore mésophile aérobie totale dans les céphalopodes.**

Ce travail comporte deux parties :

- La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique,
- La deuxième partie est relative à l'étude expérimentale.

PREMIERE PARTIE  
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

# CHAPITRE I GENERALITES SUR LES CEPHALOPODES

Elle porte sur l'anatomie et la taxonomie qui permettent une meilleure connaissance des espèces.

## 1- Définition

Les céphalopodes sont les mollusques les plus élevés en organisation (16). Ce sont des animaux marins de grande taille, non segmentés à symétrie bilatérale et dépourvus d'appendices articulés (11).

Leur corps est mou généralement protégé par une coquille interne calcaire sécrétée par un repli cutané du corps, le manteau. Cette coquille varie considérablement. Chez la seiche, la coquille réduite à une lame devient interne. Les poulpes en sont totalement dépourvus. La région antérieure du pied, annexée à la région céphalique, forme un nombre variable d'appendices préoraux qui entourent totalement la tête.

Le reste du pied situé en arrière de la tête, forme l'entonnoir.

## 2- Systématique de la seiche et du poulpe

D'après MILNE (13), la systématique de la seiche et du poulpe se présente comme suit :

TABLEAU I : Systématique des céphalopodes

Systématique	Seiche	Poulpe
Embranchement	Mollusque	Mollusque
Classe	Céphalopode	Céphalopode
Sous-classe	Dibranchiata	Dibranchiata
Super-ordre	Décapodiforme	Octopodiforme
Ordre	Décapode	Octopode
Sous-ordre	Sepiidea	Incirrata ou incirrina
Famille	Sepiidae, Linné 1758	Octopodidae, Lamarck 1798
Genre	Sepia	Octopus
Espèce	<i>Sepia officinalis</i> , Cuvier 1797	<i>Octopus vulgaris</i> , Cuvier 1797

## 3- Morphologie de la seiche et du poulpe

### 3-1 Morphologie de la seiche : *Sepia officinalis* (fig 1)

Le corps de la seiche a la forme d'un sac aplati dorso-ventralement et divisé en deux parties distinctes par un sillon transversal (3).

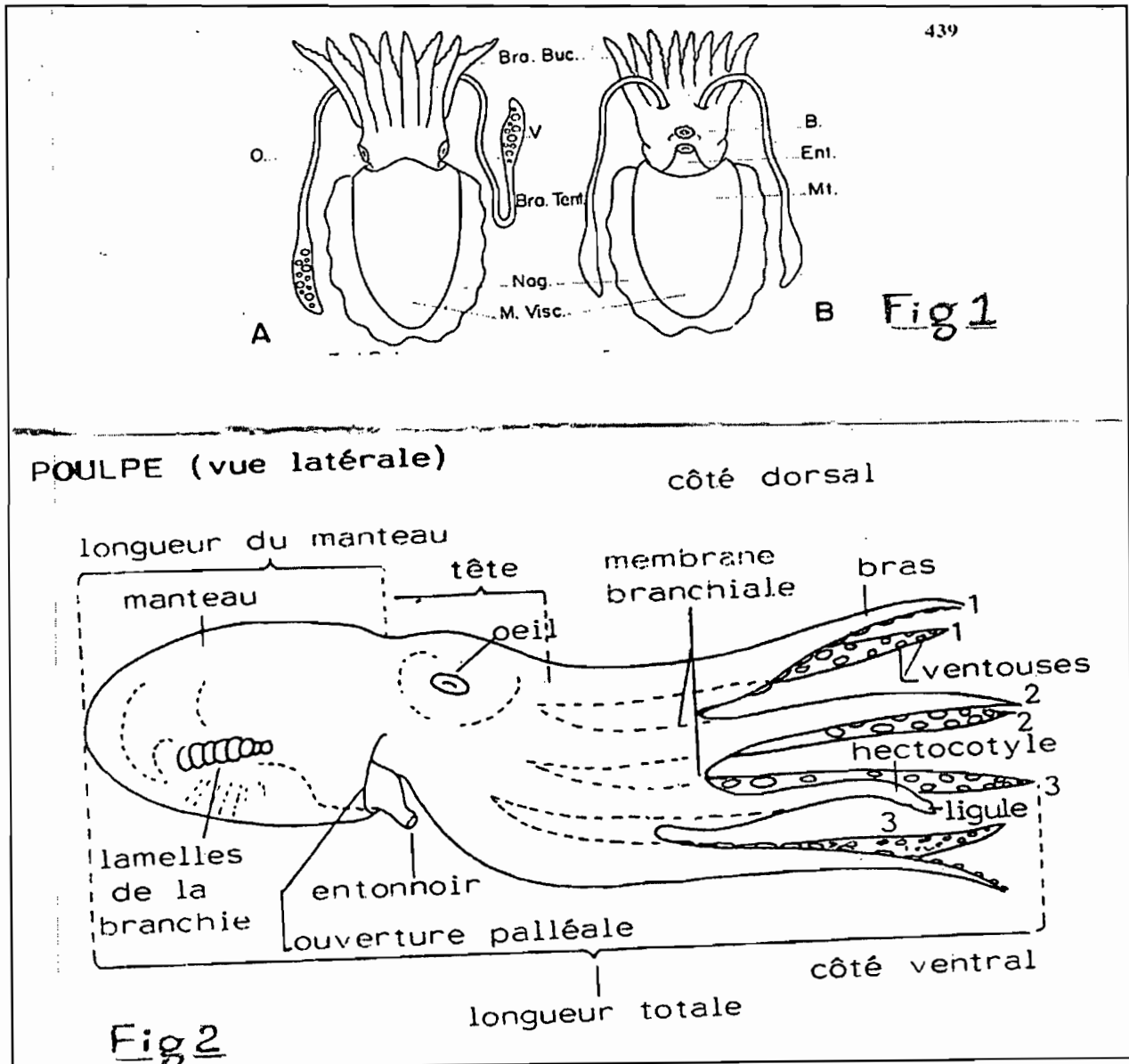
\* La région antérieure porte une couronne de 8 bras courts recouverts sur leur face interne de ventouses pédonculées et 2 bras longs latéro-ventraux ne portant des ventouses qu'à leur extrémité distale aplatie.

\* La masse viscérale est complètement enveloppée par le manteau et bordée de deux fines nageoires latérales symétriques.

### 3-2 Morphologie du poulpe : *Octopus vulgaris* (fig2)

Le poulpe a le corps composé de deux parties :

- \* Le céphalopodium comprend 8 bras munis de deux rangées de ventouses (11).  
En dessous et en arrière de la tête, se trouve l'entonnoir suivi d'une ouverture palléale.
- \* Le complexe palléo-viscéral comprend le manteau. Ce dernier est mou sacciforme (9), sans nageoires et renferme les viscères et les ouvertures palléales.



Source (3)

#### **Fig. 1 : Morphologie de la seiche**

B = Bouche, Bra.Tent = Bras tentaculaire, Bra.Buc = Bras buccal, Ent = Entonnoir, O = Œil, Mt = Manteau, M. Visc = Masse viscérale, N = Nageoire, V = Ventouse.

#### **Fig. 2 : Morphologie du poulpe**

## CHAPITRE II COMPOSITION CHIMIQUE ET BACTERIOLOGIE DES CEPHALOPODES

### 1- COMPOSITION CHIMIQUE

La teneur en nutriments de la chair des céphalopodes, est très différente de celle des autres denrées animales.

#### \* Protéines

Son importance varie suivant les mollusques. Le taux de protéines est plus élevé chez les céphalopodes (15-24%). Ce taux est comparable à celui de la viande (15-20%). Les céphalopodes sont conseillés dans les régimes hypo-énergétiques (6).

#### \* Lipides et glucides

La proportion des lipides et glucides est très faible chez les céphalopodes. Les lipides ne représentent que 1% et les glucides 2%.

#### \* Substances minérales

Les céphalopodes représentent une source non négligeable en certains sels minéraux, (riche en fer, magnésium, iode, Chlorure de sodium et cuivre). Ils sont conseillés lors de régime restrictif en sodium à cause de leur richesse en chlorure de sodium (6).

#### \* Vitamines

La chair des mollusques tout comme celle des céphalopodes, représente une haute teneur en vitamines du groupe B (les vitamines B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> et PP).

Les céphalopodes sont riches en protéines et sels minéraux. Ils sont donc de bons aliments avec une grande valeur nutritive.

### 2- BACTERIOLOGIE DES CEPHALOPODES

Les céphalopodes comme les autres produits de la pêche, sont sujettes à des contaminations bactériennes. Cette contamination peut être initiale, issue de leur milieu de vie ou secondaire due aux étapes de production. La contamination aura donc inévitablement des conséquences tant sur la qualité organoleptique que sur la qualité microbiologique des céphalopodes.

#### 2- 1 Contamination initiale

Cette contamination est le reflet de la pollution de leur habitat. En générale, seuls les fruits de mer issus des eaux polluées hébergent les germes pathogènes pour l'homme (22). La contamination initiale faible ou importante est généralement constituée d'une grande variété d'espèces microbiennes (20) réparties comme suit :

**Bactéries à gram (-) :** Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Flavobacterium, Aeromonas, Vibrio, Cytophaga.

**Bactéries à gram (+) :** Micrococcus, Corynebacterium.

## **2-2 Contamination secondaire**

Elle regroupe toutes les possibilités de contaminations des céphalopodes depuis la capture jusqu'à la table du consommateur.

La manipulation des céphalopodes s'accompagne souvent d'une contamination secondaire. Après capture, les produits peuvent être colonisés par les contaminants de l'environnement de l'homme. Il s'agit essentiellement des germes d'origine humaine (**Staphylocoque, Salmonelle, Coliforme...**).

Ces germes de contamination font l'objet d'un contrôle systématique dans les industries alimentaires.

## **3 - Intérêt de la recherche de la FMAT**

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) regroupe tous les micro-organismes (bactéries) qui se développent en aérobiose à une température de 30°C (10). Elle englobe donc les micro-organismes pathogènes (*staphylocoques, salmonelles, E.coli...*) d'une part et certains germes d'altération des denrées alimentaires (*pseudomonas, proteus...*) d'autre part.

Selon MISKIMIN (12) cité par NIANG (19), elle reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments. Ainsi la FMAT des produits analysés peut avoir une double incidence :

- \* Sur le plan technologique, elle sous-entend que le processus d'altération microbienne est fortement ou faiblement engagé. La FMAT nous renseigne donc sur la fraîcheur des produits, les conditions de conservation et sur l'efficacité des procédés de transformation.
- \* Sur le plan hygiénique, elle fait suspecter la présence ou l'absence de micro-organismes pathogènes dans les produits et permet ainsi de prendre des mesures préventives pour améliorer l'hygiène de la fabrication.

La bactériologie des céphalopodes a montré que, les germes apportés par les sources primaires de contamination sont surtout des germes d'altération tandis que les sources secondaires apportent les germes dangereux, responsables des accidents alimentaires. Il faut donc par conséquent éviter, sinon limiter, la contamination des céphalopodes après leur capture. Pour cela une connaissance précise des techniques de transformation s'avère nécessaire.

## **CHAPITRE III PROCÉDES DE TRANSFORMATION DES CEPHALOPODES**

Les méthodes de transformation décrites ci-dessous ont été observées dans une industrie halieutique de la région de Dakar.

### **1- Exploitation**

Les céphalopodes sont exploités pour la consommation. Il semble qu'il y'ait là une ressource alimentaire encore partiellement exploitée : répandus dans toutes les profondeurs et très rapides dans leurs déplacements, les engins actuels de pêche ne font qu'un petit prélèvement sur le stock existant (16). La grande abondance en céphalopodes est d'une manière générale observée de janvier en septembre

- celle en seiche pendant toute cette période, diminue en juin
- et celle en poulpe de juillet à septembre (19).

### **2- Approvisionnement**

L'usine a deux sources d'approvisionnement :

Une flottille composée de bateaux congélateurs et de glaciers qui fournissent 50 % des produits; les piroguiers fournissent le reste.

La pêche artisanale capture des espèces en moyenne un peu plus grandes que celles capturées par la pêche chalutière.

### **3- Traitements des céphalopodes**

Ce traitement correspond aux différentes opérations (représentées à l'annexe) que subit le produit de la réception à l'usine jusqu'au stockage avant expédition.

#### **3-1 Traitement des seiches (fig. 7)**

##### **\* Réception**

Après réception du produit, les quantités sont notées et enregistrées.

##### **\* Lavage**

Le travail se fait dans des bacs en plastique contenant l'eau de mer. Il consiste à éliminer l'encre, la coquille et les yeux.

##### **\* Lavage eau salée – pelage**

Le produit est ensuite immergé dans l'eau salée pour le gonflage qui facilitera leur pelage

##### **\* Lavage - calibrage**

Les seiches sont lavées dans une solution d'HTH (hypochlorure de potassium) avant leur séparation en seiches entières, blanc de seiches et tête de seiches selon la demande de l'importateur.

##### **\* Surgélation**

Le produit est mis ensuite dans des plateaux en fer ou en inox, puis introduit dans des tunnels de congélation réglés à  $-35^{\circ}\text{C}$  pendant 6 heures de temps.



### **\* Démoulage**

Après leur sortie de tunnel, ils sont plongés dans des bassines contenant de la glace concassée, de l'eau potable et de l'amidon.

### **\* Conditionnement**

Les seiches sont mises dans des bacs en plastique et placées dans des salles à  $-25^{\circ}\text{C}$  pendant 4- 6 heures de temps.

### **\* Emballage**

Le produit congelé est ensuite emballé dans des sachets en plastique et mis dans des cartons.

### **\* Stockage**

Les cartons contenant le produit sont stockés dans des chambres à  $-10^{\circ}\text{C}$  et  $-17^{\circ}\text{C}$  avant d'être placés dans des conteneurs pour exportation.

## **3-2 Traitements du poulpe (fig. 8)**

### **\* Réception – Identification**

Après réception du produit, les quantités sont enregistrées et un numéro de marée est attribué au produit pour assurer la traçabilité.

### **\* Glaçage et stockage**

Le produit subit un glaçage avant d'être stocké ou acheminé en salle de transformation.

### **\* Triage**

Les produits de mauvaise qualité sont retirés du lot.

### **\* Vidage**

Il consiste à enlever les yeux, le bec, les viscères et la poche d'encre. Cette opération se fait manuellement sous eau courante.

### **\* Frisage**

Il se fait en présence d'eau salée et de glace. Le frisage assure le durcissement de la chair du poulpe vidé et lui confère une belle présentation (tentacules en spirale). Le produit obtenu est dénommé poulpe vidé frisé.

### **\* Triage - calibrage**

Les poulpes sont ensuite triés et calibrés. Les poulpes abîmés sont utilisés pour préparer des tentacules et salades de poulpes.

### **\* Lavage**

Cette préparation se fait dans deux bassines contenant respectivement de l'eau chlorée (action bactéricide) et de l'acide citrique (action bactériostatique).

### **\* Congélation**

Elle s'effectue dans des tunnels de congélation. Les produits sont placés dans des plateaux en inox et introduits dans des congélateurs pendant 6 heures à  $-30^{\circ}\text{C}$  ou à  $-45^{\circ}\text{C}$  afin d'obtenir une température à cœur de  $-18^{\circ}\text{C}$

### **\* Démoulage - emballage**

Après congélation, les produits sont démoulés puis glazurés avant d'être conditionnés.

### **\* Stockage**

Après emballage, les produits sont stockés dans des chambres froides à une température de  $-20^{\circ}\text{C}$  à  $-25^{\circ}\text{C}$  avant d'être placés dans des conteneurs frigorifiques pour exportation.

# CHAPITRE IV MILIEUX DE CULTURE POUR LE DENOMBREMENT DE LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE

## 1- Généralités sur les milieux de culture

Les milieux de culture se définissent comme étant la préparation de substances sous forme liquide, semi-solide ou solide qui contiennent des composants naturels et ou synthétiques destinés à permettre la multiplication (avec ou sans inhibition de certains micro-organismes), l'identification ou à préserver la viabilité des micro-organismes (1) (NF T 90-461 juillet 2001)

Selon LEYRAL et VIERLING (17), un bon milieu de culture doit satisfaire aux conditions suivantes :

- couvrir les besoins élémentaires et les besoins en facteurs de croissance du micro-organisme à étudier,
- être isotonique,
- et présenter un pH voisin de la valeur optimale pour le germe à étudier.

On distingue classiquement deux types de milieux de culture :

- les milieux synthétiques peu utilisés en microbiologie alimentaire,
- et les milieux complexes ou empiriques dont le domaine d'utilisation est plus vaste et recouvre la microbiologie alimentaire.

## 2- Caractéristiques d'un bon milieu de culture

Certaines qualités sont indispensables à un milieu de culture pour favoriser le développement bactérien.

### 2-1 Composition

Les milieux de culture doivent contenir quantitativement et qualitativement des aliments exigés pour la croissance et l'entretien des micro-organismes et assimilés par eux :

- aliments essentiels azotés et carbonés,
- éléments minéraux, en particulier sources de phosphore et de soufre,
- facteurs de croissance (métabolites essentiels que la bactérie est incapable de synthétiser),
- facteurs stimulants ou facteurs de départ dont la présence accélère le rythme de la multiplication bactérienne.

### 2-2 pH

En général, la plupart des bactéries ont leur développement maximal dans les milieux dont le pH est proche de la neutralité (7 – 7,6). Il existe par ailleurs des bactéries acidophiles dont le pH optimal est bas (c'est le cas de *Lactobacillus* et de *Streptococcus*) et les bactéries basophiles dont le pH est élevé (proche de 9 pour les *Vibrions*) (17).

### **2-3 Isotonie**

Elle correspond pour la plupart des milieux à celle d'une solution de NaCl à 9g‰, soit environ 300 milliosmoles.

### **2-4 Potentiel redox**

En ce qui concerne le potentiel d'oxydo-réduction, les bactéries ont des exigences strictes en rapport avec leur type respiratoire. En pratique, 4 types respiratoires sont surtout rencontrés et permettent de classer les bactéries en 7 catégories (18).

- le type I, dit **anaérobie strict**, ne cultive qu'à l'abri de l'air.
- le type VI regroupe 2 sous- types dits **aérobies facultatifs** et **anaérobies facultatifs** cultivant aussi bien en présence qu'en absence d'air.
- le type VII, dit **aérobie strict**, ne cultive qu'en présence d'air et respire en aérobiose par phosphorylation oxydative.
- le type II, dit **microaérophile**, est beaucoup plus rare. Il rassemble les bactéries de type I et VII dont les enzymes ne fonctionnent correctement, que sous une pression réduite d'oxygène.

### **2-5 Taux d'humidité**

L'eau est nécessaire au métabolisme bactérien ; les milieux de culture doivent en contenir une quantité suffisante pour assurer la croissance des bactéries qui est sous la dépendance de l'activité de l'eau ( $A_w$ ). Il existe généralement, une valeur optimale d' $A_w$  pour la croissance située entre 0,90 – 0,99. En dessous de cet optimum, la croissance est retardée, ralentie ou inhibée (5). Sauf indication contraire, on emploie de l'eau distillée pour la dissolution des ingrédients lors de la préparation des milieux de culture (4).

### **2-6 Fertilité – Sélectivité – Stérilité (1)**

- \* La **fertilité** d'un milieu de culture est sa capacité à récupérer quantitativement certains micro-organismes cibles.
- \* La **sélectivité** d'un milieu de culture est sa capacité à favoriser la croissance de certains micro-organismes spécifiques cibles, au détriment de certains micro-organismes non cibles.
- \* La **stérilité** est l'absence de culture dans les conditions données.

## **3- Gélose pour le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

### **3-1 Le milieu Plate Count Agar (PCA)**

La gélose glucosée à l'extrait de levures, appelée par les anglo-saxons Plate Count Agar (2), est un milieu riche, permettant le développement de la plupart des micro-organismes susceptibles d'être rencontrés dans un aliment. A cet effet, c'est le milieu préconisé en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait et les

produits laitiers, la viande et les produits carnés, les produits de la pêche, l'eau, et les autres produits alimentaires (10). L'association tryptone- extrait de levures fournit au milieu de nombreux facteurs de croissance. Son pH final à 25°C est de  $7,0 \pm 0,2$  (9).

Ce milieu préparé selon la norme française NF.04-505 (15) et les recommandations de l'American Public Health Association, est utilisé en double couche lors de l'ensemencement. La température et la durée d'incubation varient selon les bactéries que l'on désire dénombrer (mésophiles, psychrotrophes et thermophiles). Pour la FMAT, l'incubation se fait à 30°C pendant  $72h \pm 3h$ . Toutes les colonies ayant poussé sur deux dilutions successives (- de 300 colonies et + de 15 colonies sur une boîte) sont dénombrées.

### 3-2 Le milieu Marine Agar (MA)

C'est une gélose servant à l'isolement, la culture et l'énumération des bactéries marines hétérotrophes (8). A cet effet, elle est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement de la FMAT dans les produits de la pêche et l'eau. Comparé au PCA, ce milieu renferme plusieurs composants qui offrent aux bactéries marines des facteurs de croissance nécessaires à leur développement. Dans sa composition on trouve une peptone bactériologique, de l'extrait de levure et de nombreuses substances minérales. Son pH final est de  $7,6 \pm 0,2$ .

L'ensemencement, la température, la durée d'incubation et le dénombrement des colonies se font dans les mêmes conditions que le PCA.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

# **CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES**

## **I- MATERIEL**

### **I-1- Cadre des analyses**

Le laboratoire d'hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale (HIDAOA) de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et de Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar a constitué le cadre de nos analyses.

### **I-2- Echantillons**

Les 100 échantillons de céphalopodes analysés appartiennent au groupe des dibranchiaux et sont répartis de la manière suivante :

69 échantillons de seiche (*Sepia officinalis*)

31 échantillons de poulpe (*Octopus vulgaris*)

Ces échantillons ont été prélevés entre décembre 2004 et mars 2005 dans trois usines de la place.

### **I-3- Matériel technique**

Il comporte une glacière contenant 4 outres de carboglace qui permettent de maintenir la chaîne de froid pendant le transport des échantillons de l'usine au laboratoire et d'éviter toutes contaminations.

### **I-4- Matériel de laboratoire**

C'est le matériel classique utilisé dans les laboratoires d'analyse microbiologique des produits alimentaires. Il comprend :

- Le matériel de stérilisation (autoclave, four pasteur, bec bunsen) ;
- Le matériel de pesée (balance de précision) ;
- Le matériel de broyage (broyeur type STOMACHER<sup>ND</sup>) ;
- Appareils de mesure (pH-mètre, salinomètre, thermomètre) ;
- Appareils d'incubation (étuve réglée à 30°C) ;
- Verrerie et ses accessoires (boîtes de Pétri, tubes à essais ; pipettes...);
- Le matériel divers (bain-marie, pinces, couteaux, ciseaux...)

### **I-5- Milieux de culture et diluant**

Le PCA et le MA constituent les milieux utilisés et l' EPT a servi de diluant pour la préparation de la solution mère et des dilutions décimales. La composition des milieux de culture et du diluant, est donnée par les tableaux II, III et IV cis- après.

**TABLEAU II : Composition en grammes par litre du Plate Count Agar (PCA)**

Composants	Quantité
Tryptone	5
Glucose	1
Extrait de levures	2,5
Agar	15

**Norme du fabricant (9) :**

Stérilisé à 121°C pendant 15mn

pH = 7,0 ±0,2 à 25°C

**TABLEAU III : Formule approximative par litre du Marine Agar (MA)**

Composants	Quantité
Peptone	5g
Extrait de levures	1,0g
Citrate de fer	0,1g
Chlorure de sodium	19,45g
Chlorure de magnésium	8,8g
Sulfate disodique	3,24g
Chlorure de calcium	1,8g
Chlorure de potassium	0,08g
Gélose	15g
Chlorure de strontium	34,0mg
Acide borique	22,0mg
Silicate de sodium	4mg
Fluorure de sodium	2,4mg
Nitrate d'ammonium	1,6mg
Phosphate disodique	8,0mg

**Norme du fabricant (8) :**

Stérilisé à 121°C pendant 15mn

pH : 7,6 ± 0,2

**TABLEAU IV : Composition en grammes par litre de l'Eau Peptonée Tamponnée (EPT)**

<b>Composants</b>	<b>Quantité</b>
Tryptone	10
Chlorure de sodium	5
Phosphate disodique	3,5
Phosphate monopotassique	1,5

**Norme du fabricant (9) :**

Stérilisé à 121°C pendant 15mn

pH à 25°C : 7,0 ± 0,2

## **II - METHODES**

### **II-1- Préparation et appréciation des milieux de culture**

La préparation des milieux déshydratés se fait en suivant les recommandations du fabricant. Celles ci sont inscrites sur l'étiquette des produits.

#### **II-1-1 Reconstitution du milieu complet déshydraté**

##### **\* PCA et MA**

Il consiste à suspendre dans 200 ml d'eau distillée, 11,02g de MA ou 4,1g de PCA. La solution est chauffée sous agitation constante, jusqu'à complète dissolution puis stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 mn. Le milieu obtenu est refroidi au bain-marie à 50°C

##### **\* EPT**

Suspendre 20g de poudre dans 1 litre d'eau distillée stérile, puis chauffer jusqu'à complète dissolution et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15mn.

#### **II-1-2 Mesure du pH**

Elle se fait à l'aide d'un pH-mètre déjà étalonné à la zone de pH voulue (7,00) sur une portion de milieu prêt à 25°C



### **II-1-3 Mesure de la salinité**

Elle se mesure à l'aide d'un salinomètre, sur un volume de milieu refroidi à la température ambiante.

### **II-1-4 Test de stérilité**

Après la préparation de chaque milieu, une vérification de sa stérilité est effectuée en incubant le milieu précoulé dans une boîte de Pétri stérile à l'étuve à 30°C pendant 72h ± 3h.

### **II-1-5 Test de fertilité**

Pour chaque échantillon, le PCA et le MA ont été utilisés en même temps, de manière à pouvoir comparer les résultats obtenus et en déduire la fertilité de chacun. Pour cela les dilutions  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  ont été réalisées à partir de la solution mère. Pour chaque milieu, 2 boîtes de Pétri sontensemencées à partir des dilutions correspondantes puis incubées à l'étuve réglée à 30°C pendant 72h ± 3h.

### **II-2- Références normatives**

Nous avons utilisé les normes françaises et les normes ISO appliquées à la recherche de la FMAT dans les produits solides. Ces normes sont consignées dans le tableau suivant.

**TABLEAU V : Références normatives**

<b>Normes</b>	<b>Applications</b>
<b>NF V08- 051 Février 1999</b>	<b>Méthode de routine</b> Dénombrement des microorganismes à 30°C Méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C
<b>NF V08- 011 (ISO 4833) juillet 1991</b>	<b>Méthode de référence</b> Directives générales pour le dénombrement des microorganismes à 30°C Méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C
<b>NF V08- 002 (ISO 7218) Mai 1996</b>	Règles générales pour les examens microbiologiques
<b>NF V08- 010 Mars 1996</b>	Règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique

### **II-3 - Analyse de l'échantillon**

Les seiches et les poulpes ont été analysés selon les dispositions décrites par la réglementation française (7).

#### **II-3 -1- Mesure de la température**

La température de chaque échantillon est prise à l'aide d'un thermomètre digital à sonde avant toute analyse.

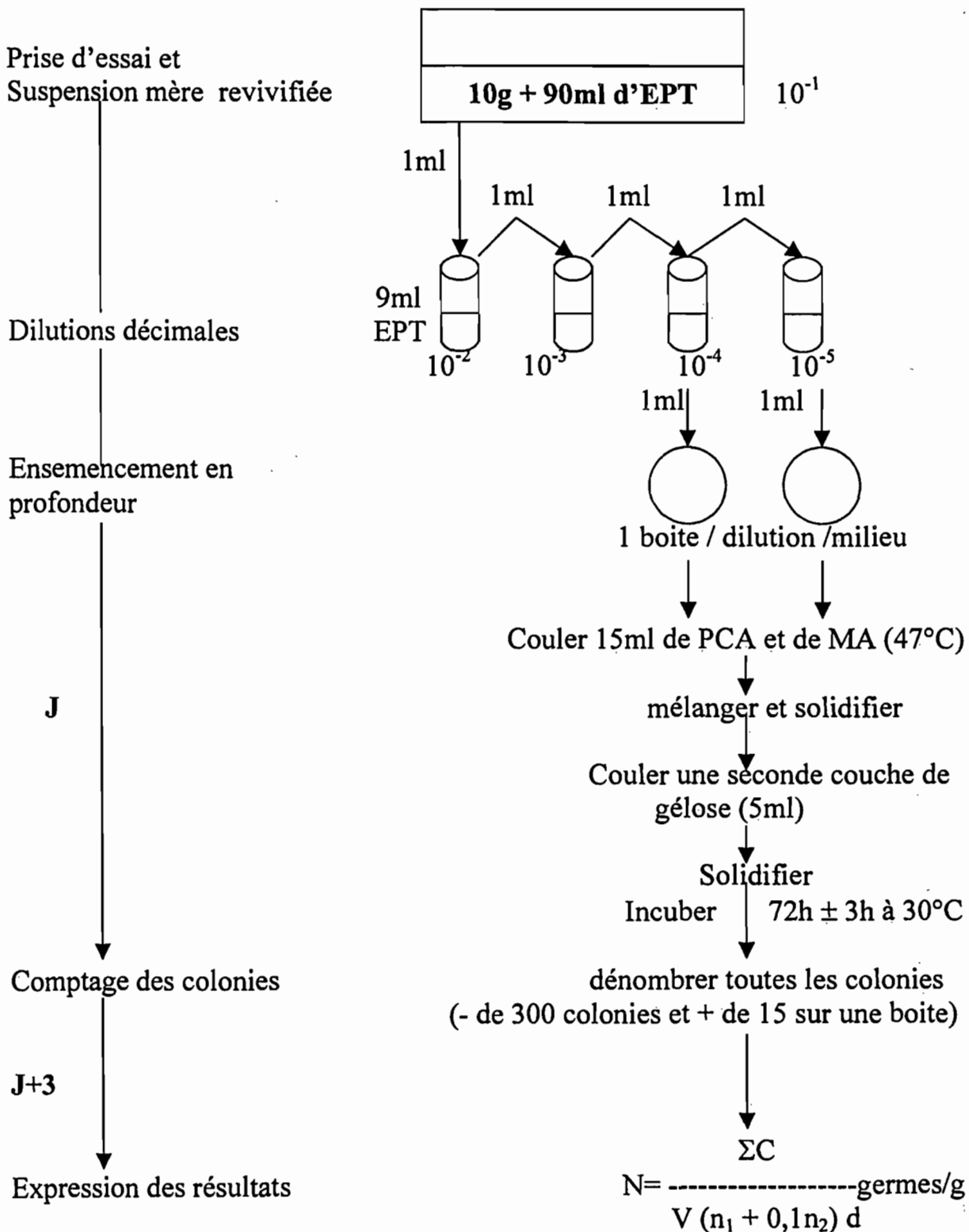
#### **II-3 -2 Mesure de la salinité**

Elle se fait à l'aide d'un salinomètre sur le produit décongelé. Cette opération se fait à la fin du traitement de l'échantillon.

#### **II-3 -3 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales**

Une prise d'essai de 10g de l'échantillon est aseptiquement pesée et mélangée avec 90ml d'EPT stérilisée. L'ensemble est broyé dans un STOMACHER<sup>ND</sup>. Le broyat ainsi obtenu constitue la solution mère. Elle a une dilution  $10^{-1}$ . Cela revient à dire qu'elle contient 1g d'aliment par ml de solution. Cette suspension mère est laissée au repos pendant 30mn pour obtenir sa revivification. A partir de la solution mère, les dilutions décimales sont réalisées pour faciliter le dénombrement des germes.

## II-3 -4 Méthode de dénombrement de la FMAT à 30°C



**Figure 3 : Mode opératoire**

## II-4 - Lecture

À la lecture, toutes les colonies blanchâtres situées entre les deux couches de gélose sont prises en compte.

## II-5 - Expression des résultats

### II-5 -1 Cas général

Toutes les colonies ayant poussé sur deux boîtes de dilutions successives (moins de 300 colonies et plus de 15 colonies sur une boîte) sont dénombrées.

Le calcul N du nombre de micro-organismes par gramme de produit est obtenu à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n_1 + 0,1n_2) d} \quad \text{ou} \quad N = \frac{\Sigma c}{1,1 \times d}$$

$\Sigma c$  = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues

V = volume prélevé

$n_1$  = nombre de boîte retenue à la première dilution

$n_2$  = nombre de boîte retenue à la deuxième dilution

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

### II-5 -2 Cas particulier

#### \* Boîte contenant moins de 15 colonies au niveau de la suspension mère

Calculer la moyenne m des colonies sur les deux boîtes et donner le résultat comme suit :

$$N = m \times d \quad m = \text{moyenne}$$

d = taux de dilution de la suspension mère

#### \* Boîte ne contenant aucune colonie au niveau de la suspension mère

Donner le résultat sous la forme  $N < 1.d$

Avec d = taux de dilution

NB : les résultats sont arrondis à deux chiffres significatifs et doivent être exprimés en nombre de micro-organismes par gramme de produit.

## II-6 - Saisie et analyse statistique

Les résultats ont été inscrits dans la base des données du tableau EXCEL. Il s'agit du numéro, la température, la salinité, le nombre de germes des échantillons ainsi que le pH et la salinité des milieux de culture.

Par ailleurs, le logiciel SPSS nous a permis de calculer la statistique descriptive (minimum, moyenne, maximum, écart-type) ainsi que l'analyse des variances pour enfin mettre en évidence l'influence des différentes variables sur la fertilité des milieux de culture.

En outre la comparaison directe des deux milieux de culture a été faite en utilisant le test de student's.

$$t = (M_{MA} + M_{PCA}) / \sqrt{S^2_{MA}/r_1 + S^2_{PCA}/r_2}$$

Avec  $r_1 = r_2 =$  nombre d'échantillons et  $S^2 =$  variance

## **II-7 Critère microbiologique**

La norme suivante appliquée à la recherche de la flore mésophile aérobie totale dans les céphalopodes a été utilisée.

**TABLEAU VI : Critère microbiologique des céphalopodes**

<b>Réglementation</b>	<b>Seuil microbiologique</b>
<b>Critère</b>	<b>10<sup>5</sup>- 10<sup>6</sup> germes/gramme</b>

## CHAPITRE II    RESULTATS

### 1- pH

TABLEAU VII : Mesure du pH des milieux

MILIEUX	pH		
	Minimum	Moyenne	Maximum
PCA	6,36	6,82	7
MA	7	7,42	7,63

### 2- Salinité

TABLEAU VIII : Salinité des milieux de culture

MILIEUX	Salinité		
	Minimum	Moyenne	Maximum
PCA	9	13,42	17
MA	83	87,49	90

TABLEAU IX : Salinité des céphalopodes

ECHANTILLONS	Salinité		
	Minimum	Moyenne	Maximum
SEICHES	6	17,66	40
POULPES	13	27	52

### 3- Température

TABLEAU X : Température des céphalopodes

ECHANTILLONS	SALINITE		
	Minimum	Moyenne	Maximum
SEICHES	-9	-0,57	7,8
POULPES	-11	-1,29	5

### 4- Stérilité

Le contrôle de la stérilité des milieux par incubation de témoins à partir de chaque préparation donne un résultat négatif sur les 36 boîtes test.

## 5- Dénombrement de la flore

Les valeurs obtenues des dénombrements de la FMAT à partir des 100 échantillons analysés sur les deux milieux de culture, nous permettent de calculer la statistique descriptive (minimum, moyenne, maximum, écart-type) pour chaque échantillon. Ces résultats sont représentés dans les tableaux XI et XII.

## 6- Test de fertilité

**TABLEAU XI : Fertilité des milieux ensemencés avec les seiches**

MILIEUX	SEICHES			
	Minimum	Moyenne	Maximum	Ecart-type
PCA	$0,3 \cdot 10^5$	$5,78 \cdot 10^5$	$15,54 \cdot 10^5$	$10,06 \cdot 10^5$
MA	$0,7 \cdot 10^5$	$8,79 \cdot 10^5$	$62 \cdot 10^5$	$4,05 \cdot 10^5$

**TABLEAU XII : Fertilité des milieux ensemencés avec les poulpes**

MILIEUX	POULPES			
	Minimum	Moyenne	Maximum	Ecart- type
PCA	$0,8 \cdot 10^5$	$7,34 \cdot 10^5$	$15,81 \cdot 10^5$	$4,07 \cdot 10^5$
MA	$1,1 \cdot 10^5$	$8,51 \cdot 10^5$	$20,1 \cdot 10^5$	$4,54 \cdot 10^5$

## Test de student's

A partir des moyennes et des écart types des tableaux précédents, le test de student's permet de comparer les moyennes des deux milieux pour chaque échantillon.

### Cas des seiches

$t$  calculé = 2,30 et  $t$  lu sur la table = 1,36 avec  $\alpha = 5\%$

Puisque  $t_{cal} > t_{0,05}$ , alors les deux moyennes sont différentes. Cela signifie que le MA est plus fertile que le PCA.

### Cas des poulpes

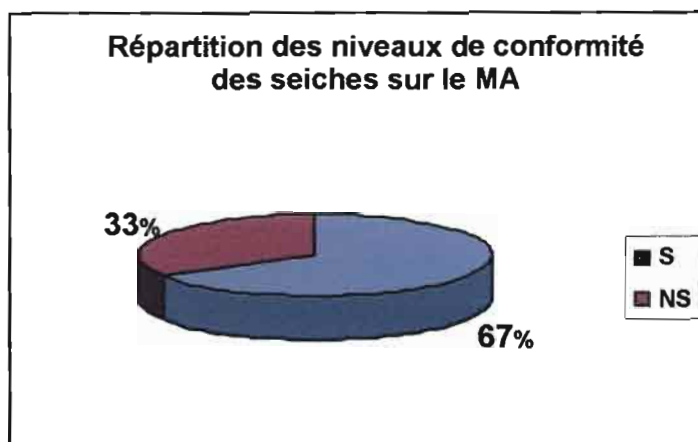
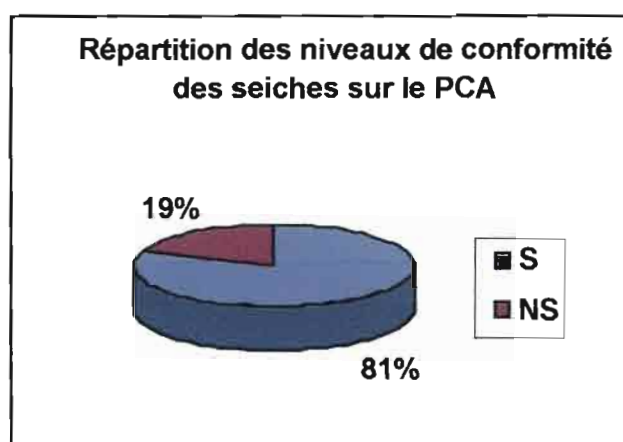
$t$  calculé = 1,06 et  $t$  lu sur la table = 1,64 avec  $\alpha = 5\%$

Puisque  $t_{cal} < t_{0,05}$ , alors la différence n'est pas significative.

## 7- Résultats en fonction du critère microbiologique

**TABLEAU XIII : Répartition des niveaux de conformité des seiches en fonction des milieux**

Niveau de conformité		Milieux de culture	
		PCA	MA
Satisfaisant		55	46
Non satisfaisant		13	13
Discordance	Satisfaisant	1	0
	Non satisfaisant	0	10
TOTAL		69	



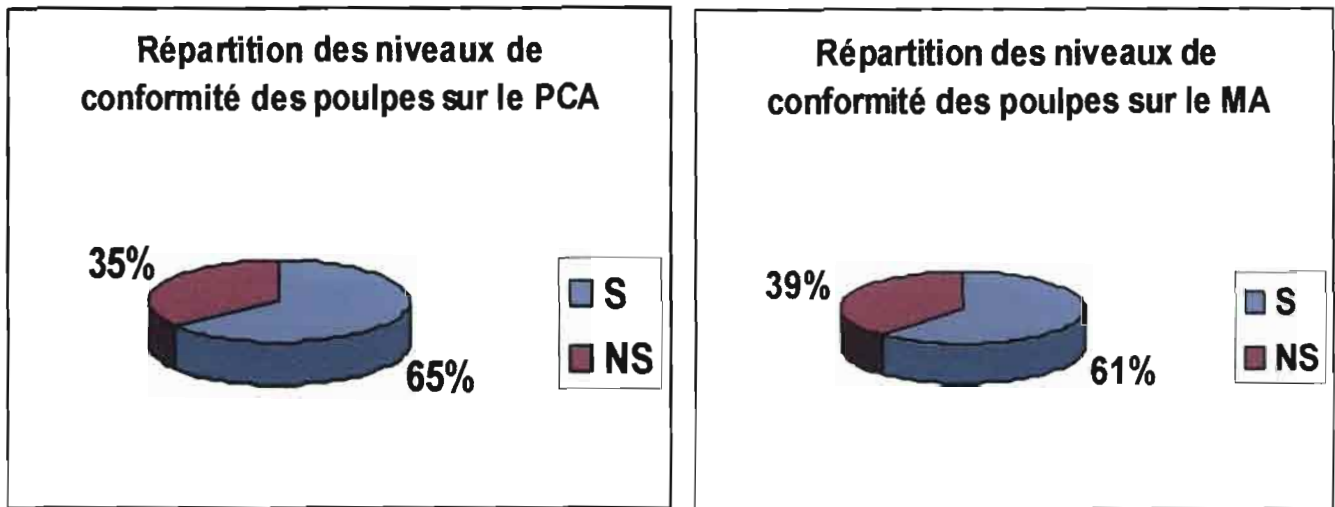
S = Satisfaisant      NS = Non satisfaisant

**FIGURE 4 : Répartition des seiches sur les milieux en fonction du critère microbiologique**

**TABLEAU XIV : Répartition des niveaux de conformité des poulpes en fonction des milieux**

Niveau de conformité		Milieux de culture	
		PCA	MA
Satisfaisant		20	19
Non satisfaisant		11	11
Discordance	Satisfaisant	0	0
	Non satisfaisant	0	1
TOTAL		31	



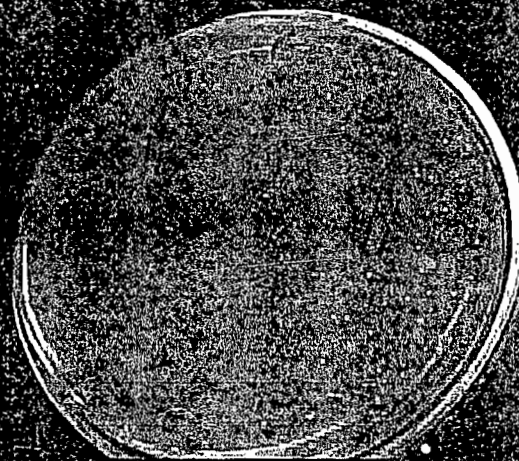


S = satisfaisant

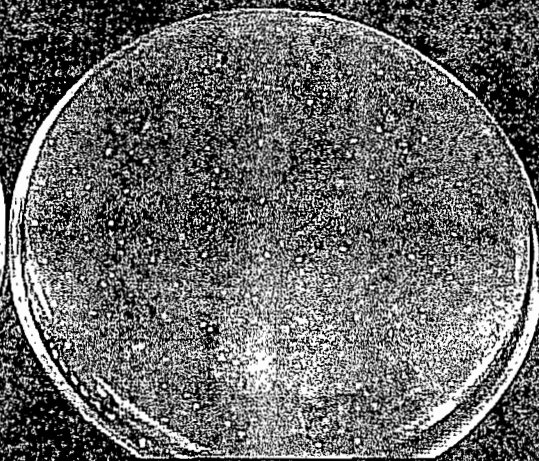
NS = non satisfaisant

**FIGURE 5 : Répartition des poulpes sur les milieux en fonction du critère microbiologique**

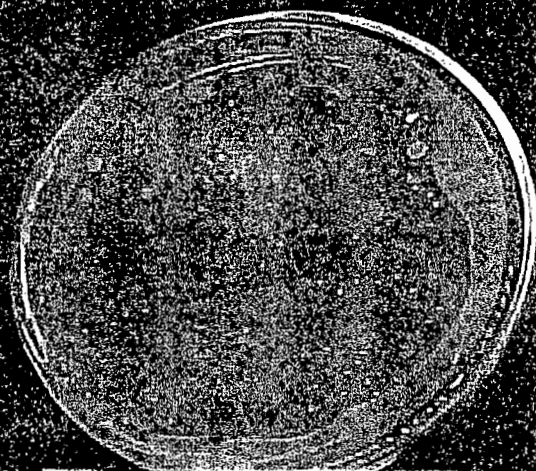
APRES 72H D'INCUBATION



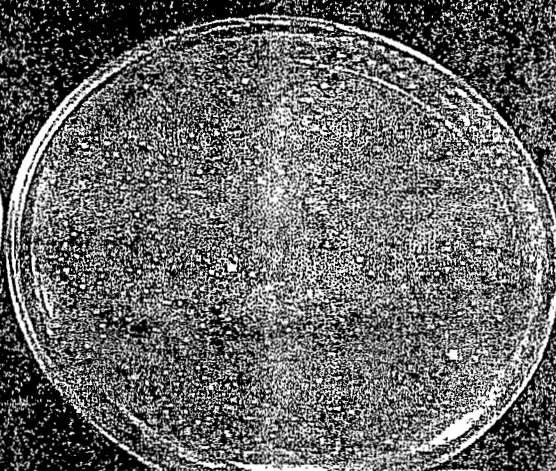
Dilution  $10^{-5}$   
PCA



Dilution  $10^{-5}$   
MA



Dilution  $10^{-4}$   
PCA



Dilution  $10^{-4}$   
MA

**Figure 6 :** Comparaison de la fertilité des deux milieux

# CHAPITRE III    DISCUSSION

## 1- pH

La mesure du pH des deux milieux a donné les moyennes suivantes : **6,82** pour le PCA et **7,42** pour le MA.

Ces résultats sont conformes à la norme recommandée par les fabricants pour chaque produit. Le MA a un pH qui ne s'écarte pas de la fourchette permettant le développement des micro-organismes. Comme le souligne **VIERLING** et **LEYRAL (17)**, un pH situé dans la fourchette de 7,0 à 7,6 ne perturbe pas la croissance bactérienne.

Par contre le PCA a un pH qui limite cette croissance bactérienne et par conséquent influence la fertilité de ce milieu.

## 2- Salinité

Les valeurs moyennes suivantes ont été obtenues.

PCA : **13,42 mg /100g**            SEICHES : **17,66 mg/100g**

MA : **87,49 mg/100g**            POULPES : **27 mg/100g**

Ces résultats montrent que le MA est plus salé que le PCA si on tient compte de la composition des deux milieux qui présentent une nette différence du taux de sel. Le MA serait mieux adaptée pour le dénombrement de la flore totale dans les céphalopodes qui présentent une teneur élevée en chlorure de sodium.

Notons enfin que la concentration en sel d'un milieu peut avoir une influence sur sa fertilité.

## 3- Température

Les moyennes obtenues sont les suivantes : **- 0,57°C** pour les seiches et **- 1,29°C** pour les poulpes. Ceci permet de dire que la chaîne de froid a été maintenue pendant le transport des échantillons jusqu'au laboratoire. Il n'y a donc pas eu croissance bactérienne. Ceci rejoint les observations de **NIANG (19)** qui affirme qu'une réfrigération entre **-1** et **+2°C** limite le développement bactérien.

## 4- Stérilité

Les essais effectués sur les deux milieux de culture donnent des résultats négatifs sur les 36 boîtes témoins. Ce qui signifie que, ni le matériel, ni le manipulateur, ni les milieux, ni l'environnement n'ont biaisé nos résultats.

## 5- Flore

Le niveau moyen de contamination des échantillons par cette flore calculé à partir de 68 valeurs numériques de seiches et 27 valeurs numériques de poulpes donne :

Seiches : PCA =  $5,78 \cdot 10^5$  germes/g      poulpes : PCA =  $7,34 \cdot 10^5$  germes/g  
MA =  $8,79 \cdot 10^5$  germes/g                      MA =  $8,51 \cdot 10^5$  germes/g

Le MA semble être plus fertile.

Quelque soit le milieu, les moyennes obtenues sont largement supérieures à celles des chercheurs qui ont mené des études dans ce domaine. Ceci serait dû à une contamination initiale élevée des produits analysés. Ainsi NIANG (19), WANE (22) et TALL (21) trouvent respectivement à partir des échantillons de poulpes traités avec du PCA,  $30,35 \cdot 10^4$  germes/g,  $63,43 \cdot 10^3$  germes/g,  $79,21 \cdot 10^3$  germes/g.

NIANG (20) trouve à partir des échantillons de seiches traités avec du PCA  $8,17 \cdot 10^4$  germes/g..

Nos moyennes, bien que supérieures à celles obtenues par ces auteurs, restent comprises dans la fourchette du seuil microbiologique fixée par la réglementation française qui varie de  $10^5$  à  $10^6$  germes/g pour les céphalopodes.

## 6- Fertilité des deux milieux

La comparaison des moyennes à partir du test de student's a montré au niveau des échantillons de seiches que, le MA est 2 fois plus fertile que le PCA.

Par contre avec les échantillons de poulpes, le PCA a été aussi fertile que le MA dans la mesure où les moyennes ne sont pas significativement différentes. Ceci serait dû au nombre réduit d'échantillon de poulpes analysés.

## 7- Critère microbiologique

Les 200 essais effectués en parallèle sur les deux milieux de culture donnent les résultats suivants :

**Seiches** : - les deux milieux ont révélés **102 satisfaisants** répartis comme suit : **81%** pour le PCA contre **67%** pour le MA,

- **36 non satisfaisants** dont **19 %** pour le PCA, et **33 %** pour le MA,
- 10 cas de discordances.

**Poulpes** : - **39 satisfaisants** avec **65 %** pour le PCA contre **61 %** pour le MA,

- **23 non satisfaisants** dont **35 %** pour le PCA contre **39 %** pour le MA,
- 1 cas de discordance.

Les discordances s'expliquent par le fait que le MA est plus fertile dans la mesure où il a pu déceler sur les seiches, 10 échantillons non satisfaisants là où le PCA les considère comme satisfaisants. C'est le même cas de figure avec les poulpes où le MA décèlent 1 échantillon non satisfaisant là où le PCA le considère comme satisfaisant.

## CONCLUSION GENERALE

L'exportation des céphalopodes est une source non négligeable de devises pour le Sénégal (14)

Ces produits halieutiques commercialisés et exportés vers les pays européens et asiatiques, doivent répondre à des critères microbiologiques. C'est pourquoi une attention particulière doit être accordée à ces produits de grande importance économique.

L'autorité compétente a donc pour mission de faire contrôler la qualité microbiologique de ces produits par un laboratoire agréé.

Un des critères microbiologiques concerne notamment le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans ces produits à partir du Plate Count Agar (PCA) recommandé par les normes internationales. Or à partir du nouveau milieu, le Marine Agar (MA), il s'est avéré que les résultats relatifs à ce dénombrement présentent une disparité par rapport au PCA.

Notre étude a porté sur 100 échantillons de céphalopodes dont 69 échantillons de seiches et 31 de poulpes.

Ces échantillons ont été ensemencés en parallèle sur le PCA et le MA.

\* Sur le PCA, le nombre de germes dénombrés pour les seiches est de  $5,78 \cdot 10^5$  germes/gramme et pour les poulpes  $7,34 \cdot 10^5$  germes/gramme.

\* Sur le MA, on a obtenu respectivement pour les seiches et les poulpes,  $8,79 \cdot 10^5$  et  $8,51 \cdot 10^5$  germes par gramme.

L'analyse statistique a montré sur les échantillons de seiches que le MA est deux fois plus fertile que le PCA. Par contre sur les poulpes, le PCA a été aussi fertile que le MA.

Le MA a pu déceler des 69 échantillons de seiches 33% d'échantillons non satisfaisants contre 19% pour le PCA et des 31 échantillons de poulpes 39% d'échantillons non satisfaisants contre 35% pour le PCA.

Compte tenu du nombre élevé d'échantillons non satisfaisants décelés avec le MA par rapport au PCA, nous recommandons le choix du MA pour le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les céphalopodes, car l'exigence des pays importateurs en matière d'hygiène est très ardue. De ce fait, un contrôle de ces produits est toujours effectué dès leur arrivée. Donc un milieu de culture aussi sensible que le MA serait mieux adapté afin de faire face aux mesures qui attendent nos produits.

Par ailleurs, des études plus poussées permettant de compléter nos résultats doivent être envisagées. Ces travaux doivent porter sur une étude comparative de ces deux milieux non seulement sur les aliments autres que les produits de la pêche, mais aussi sur les poulpes.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## 1- ABDESSALAM A.D, 2002

Etude comparative de la fertilité de deux milieux de culture d'origine différente, utilisés pour la recherche des coliformes thermotolérants dans les filets de poissons congelés.

Mémoire de DEA/ Productions Animales : Dakar ; 8

## 2 - ACADEMIE DE LYON

Les milieux de culture en microbiologie. [en ligne], « Ressources électroniques » : <http://www2ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html>

## 3- BEAUMONT A. et CASSIER P., 1998

Biologie animale des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens. 3<sup>e</sup> éd.- Paris : DUNOD.- 459p

## 4- BUTTIAUX R; BEERENS. H et TACQUET A, 1962

Manuel des techniques bactériologiques. Paris : éditions médicales Flammarion.- 499p

## 5- CHEFTEL. J.CL et CHEFTEL. H, 1976

Biochimie et technologie des aliments. Paris : entreprise moderne d'édition. 371p (vol 1)

## 6- CHRISTIANE, 2005

Tout sur la cuisine- les mollusques. [en ligne], « Ressources électroniques » : <http://www.toutsurlacuisine.com>

## 7- FRANCE (république). MINISTERE DE LA JUSTICE, 1979

Arrêté du 21 décembre 1979 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale.

J.O. de la république française du 19 janvier 1980

## 8- LABORATOIRE DIFCO, 2004

Marine agar

Réf: difco<sup>TM</sup>: 212185, marine agar 2216, Lot: 3209405

Becton, Dickinson and company, sparks, MD21152 USA.38800, le pont de claix

## 9- LABORATOIRE HUMEAU, 2004

Plate count agar

Réf: ATL<sup>R</sup>: 550. 150300. 54- 4, rue kepler, Lot: 211 286

Z.A. Gesvrine – 44240 la chapelle sur erdre. [en ligne]; « Ressources électroniques » :

<http://www.humeau.com>

**10- GUIRAUD J et GALZY P, 1980**

L'analyse microbiologique dans les industries agro-alimentaires. Paris : éd.- l'usine nouvelle.- 239p

**11- GRASSE P.P; POISSON R.A et TUZET O, 1961**

Précis des sciences biologiques : zoologie I : les invertébrés. Paris: Masson éd. - 448p

**12 - ICMSF (International Commission on Microbial Specification for Foods), 1980**

Microbial ecology of foods: food commodities. New-York: Academic press. - 997p

**13- IMAGO MUNDI, 2005**

Les céphalopodes. [en ligne], « Ressources électroniques » :

<http://www.cosmovisions.com/céphalopodes.html>

**14- INFOCONSEIL MPEA/ SENEGAL**

Aperçu La filière halieutique au Sénégal. [en ligne], « Ressources électroniques » :

[http:// www.infoconseil.sn/pdf/aperçu-Filière-halieutique.pdf](http://www.infoconseil.sn/pdf/aperçu-Filière-halieutique.pdf)

**15- INSTITUT PASTEUR, 1978**

Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. Paris : publifab éd.- 270p

**16 - JAMET J et LAGOIN. Y, 1974**

Océanographie appliquée aux pêches. Tome 1 : manuel des pêches maritimes tropicales. Paris : Doin.- 477p

**17- LEYRAL G et VIERLING E, 2001**

Hygiène et sécurité alimentaires. 3<sup>e</sup> éd. Paris : Doin ; Bordeaux : CRDP.- 280p (Microbiologie et toxicologie des aliments).

**18- MARCHAL N ; BOURDON J.L. et RICHARD CL, 1982**

Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Paris : Doin éd.- 483p

**19- NIANG P. N, 1992**

Etude de la qualité hygiénique et commerciale des fruits de mer sénégalais destinés à l'exportation.

Thèse : méd.vét : Dakar ; 29

**20- ROZIER et R.J ; CARLIER V. et BOLNOT, 1985**

Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments.- Paris : SEPAIC ; Maison- Alfort : ENV.- 225p

**21- TALL N.A, 2002**

Etude de la qualité microbiologique du poulpe (*octopus vulgaris*) traité au Sénégal et destiné à l'exportation.

Mémoire DEA/Productions Animales : Dakar ; 8

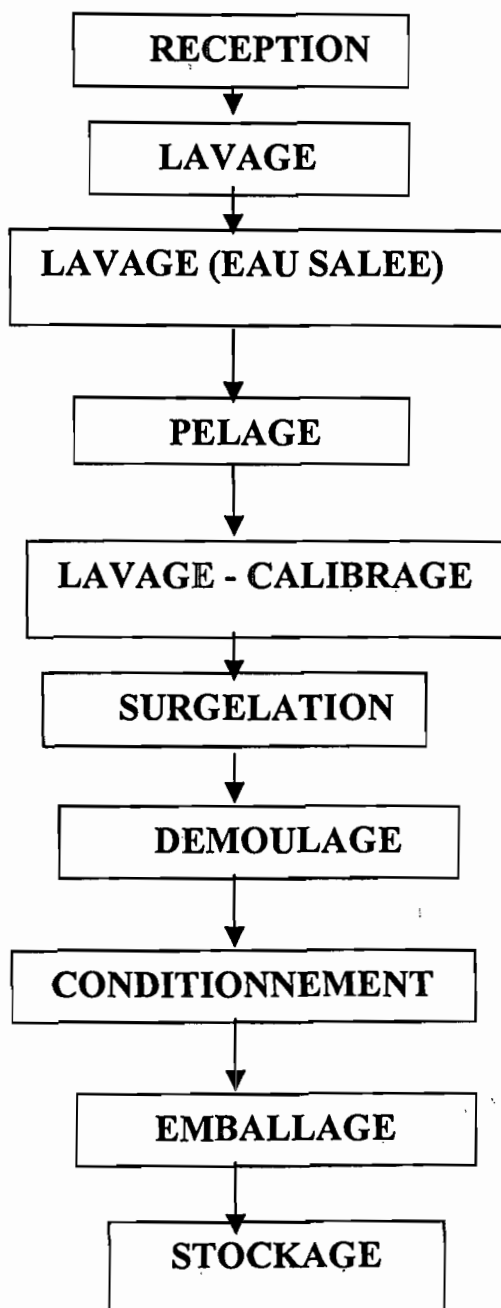
**22- WANE S, 1994**

Contribution à l'étude de la qualité bactériologique du poulpe congelé (*octopus vulgaris*) produit au Sénégal.

Thèse : Méd. Vét : Dakar ; 14



ANNEXE : Diagramme de fabrication des céphalopodes

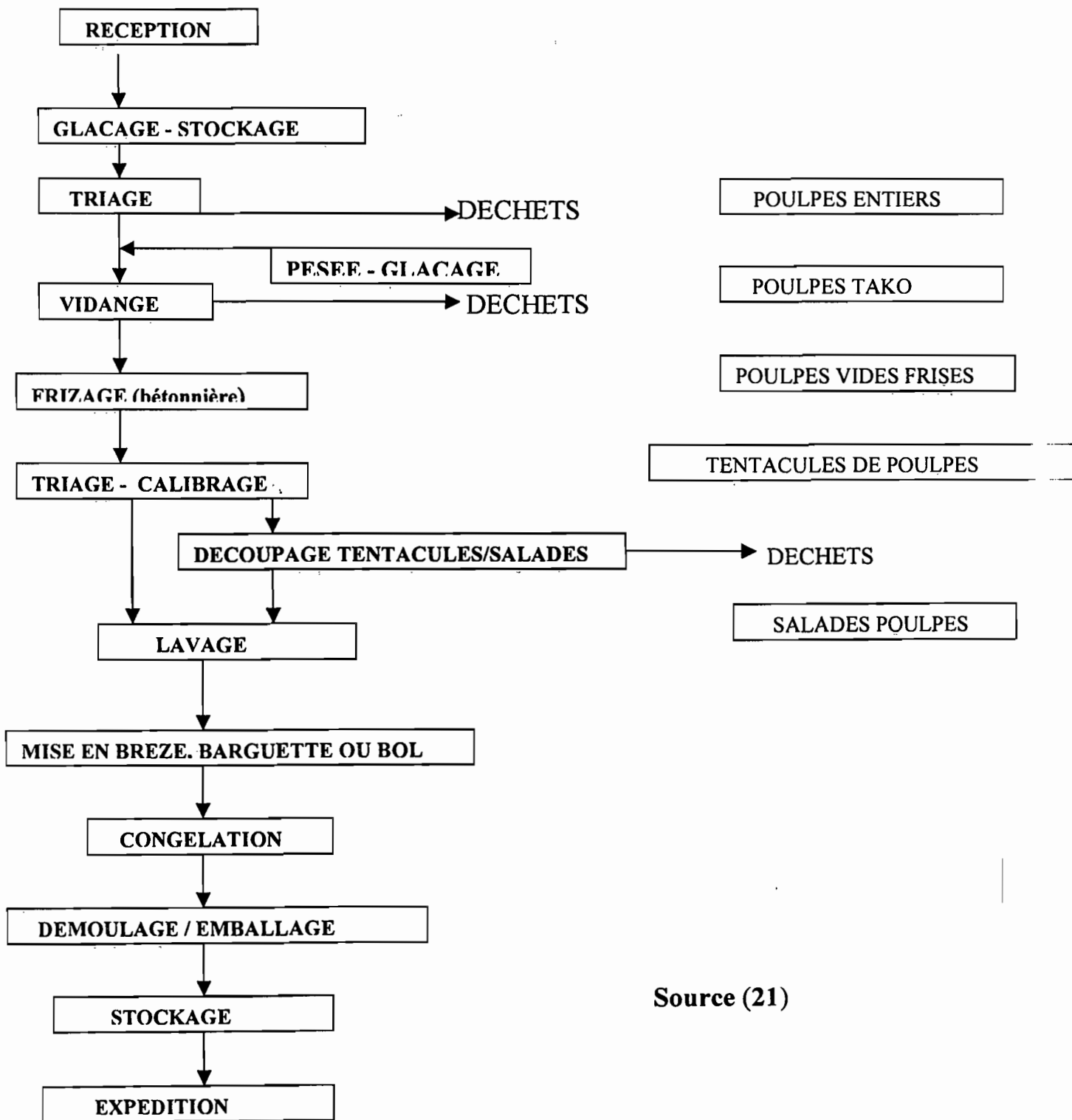


Source (19)

FIGURE 7- Diagramme de fabrication de la seiche

**ETAPES**

**PRODUITS**



Source (21)

**FIGURE 8**: Diagramme de fabrication du poulpe

**ETUDE COMPARATIVE DE DEUX  
MILIEUX DE CULTURE, PCA ET  
MA, UTILISES POUR LA  
RECHERCHE DE LA FLORE  
MESOPHILE AEROBIE TOTALE  
DANS LES CEPHALOPODES**

**Mémoire DEA de productions animales**

**RESUME**

Après avoir observé sur les produits de la pêche une disparité des résultats entre le plate count Agar (PCA) habituellement utilisé pour la recherche de la flore totale et le nouveau milieu le marine Agar (MA), destiné au dénombrement de la flore marine, une étude comparative des deux milieux de culture cités plus haut a été réalisée sur les céphalopodes.

Ce travail a porté sur 69 échantillons de seiches et 31 échantillons de poulpes qui ont donné les résultats suivants :

**Seiches :  $5,78 \cdot 10^5$  germes/g pour le PCA contre  $8,79 \cdot 10^5$  germes/g pour le MA.**

Le MA est 2 fois plus fertile que le PCA.

**Poulpes :  $7,34 \cdot 10^5$  germes/g pour le PCA contre  $8,51 \cdot 10^5$  germes/g pour le MA.**

Le PCA a été aussi fertile que le MA.

Le MA a pu déceler au total 35% d'échantillons non satisfaisants contre 24 % pour le PCA.

Vu le nombre élevé d'échantillons non satisfaisants décelés avec le MA par rapport au PCA, nous recommandons le MA pour le dénombrement de la flore totale dans les céphalopodes.

Il serait souhaitable qu'une étude comparative des deux milieux soit menée non seulement sur les aliments autres que ceux de la pêche, mais aussi sur les poulpes.

**MOTS-CLEFS: CEPHALOPODES -  
PCA- MA- MILIEU DE CULTURE**

**A COMPARATIVE STUDY OF TWO  
CULTURAL MEDIUM, PCA AND  
MA, USED FOR RESEARCH OF  
THE TOTAL AEROBIC MICRO-  
ORGANISM IN THE  
CEPHALOPODS.**

**Thesis DEA of animal production**

**SUMMARY**

After having noticed on the fishing products, numerous results between the plate count agar (PCA) which is used for the total flora research and in the new medium, the marine agar (MA) specific to the counting marine flora, a comparative study of two medium quoted above have been carried out on the cephalopods.

This work is on sixty nine samples of cuttlefishes and on thirty one samples of octopuses that have given these following results:

**Cuttlefishes:  $5,78 \cdot 10^5$  germs/g for PCA versus  $8,79 \cdot 10^5$  germs/g for the MA.**

The MA is twice more fertile than the PCA.

**Octopuses:  $7,34 \cdot 10^5$  germs/g for PCA versus  $8,51 \cdot 10^5$  germs/g for the MA.**

The PCA was as fertile as MA.

The MA has eventually detected 35% of non satisfying samples against 24% for the PCA. Seen the number raised of non satisfying samples discovered with the MA in relation to the PCA, we suggest the MA for the research of the total flora in the cephalopods.

It should better that a comparative study of two medium were directed not only on food other than those of the fishing but also on the octopuses.

**KEY-WORDS: CEPHALOPODS- PCA-  
MA-FMAT-CULTURAL MEDIUM**

**MALOGA Bienvenu, Tel : 503 76 80**

**Courriel: [malogab@yahoo.fr](mailto:malogab@yahoo.fr)**

**BP: 12055 Yaoundé Cameroon**