

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

**ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES
(EISMV)**



ANNEE : 2012

N°06

**ETUDE DE LA RELATION ENTRE LE TAUX D'HISTAMINE DANS LE
THON FRAIS ET LE NIVEAU DE CONTAMINATION PAR LES
BACTERIES HISTAMINOGENES**

MEMOIRE DE DIPLOME DE MASTER II

Qualité des Aliments de l'Homme. Spécialité : Produits d'Origine Animale

Présenté et soutenu publiquement le 25 février 2012 à 10 heures à l'EISMV

Par

Dieudonné TIALLA

Né le 15 Août 1979 à Tombila (BURKINA FASO)

JURY

Président :

M. Louis Joseph PANGUI

Professeur à l'EISMV de Dakar

Membres :

M. Germain Jérôme SAWADOGO

Professeur à l'EISMV de Dakar

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE

Professeur à la FST de l'UCAD

Directeur de recherche :

M. Malang SEYDI

Professeur à l'EISMV de Dakar

Co-Directeur de recherche :

Mme Rianatou BADA ALAMBEDJI

Professeur à l'EISMV de Dakar

NOTE AUX LECTEURS

Ce document a été numérisé et mis en ligne par la Bibliothèque Centrale de l'Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR



Bibliothèque Centrale UCAD

Site Web: www.bu.ucad.sn

Mail: bu@ucad.edu.sn

Tél: +221 33 824 69 81

BP 2006, Dakar Fann - Sénégal

DEDICACES

Je dédie ce travail :

- ❖ A Dieu le Père Tout – Puissant ;
- ❖ A mes grands parents ;
- ❖ A mon père, Mathieu Lassina TIALLA ;
- ❖ A ma tendre mère, Élisabeth Limbo INASSE ;
- ❖ A ma chère épouse, Minata Nina TIALLA née ZERBO ;
- ❖ A mes oncles (Biton, Yaya, Kalifa, Koro, Ali, Oumar, Lanko, Sinaré, feu Brahimamie que la terre te soit légère) et tantes (Zanso, Antoinette) ;
- ❖ A mes frères (Pierre, Jean-Paul, Boniface, Apollinaire, Serge, Jérôme, Anicet) et sœurs (Clémence, Claire, Maria, Christine, Anita) que ce modeste travail soit pour vous source de courage et de persévérance ;
- ❖ A Monsieur Etienne ZONGO, Directeur du FONER ;
- ❖ Au Professeur Louis Joseph PANGUI, Directeur de l'EISMV ;
- ❖ A tous mes enseignants depuis le primaire, en particulier le Professeur Germain Jérôme SAWADOGO.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, j'adresse mes sincères remerciements :

- ❖ Au FONER pour la prise en charge de cette formation ;
- ❖ Aux Professeurs Malang SEYDI et Rianatou BADA ALAMBEDJI pour l'encadrement et l'initiation à la recherche ;
- ❖ Aux Docteurs Khalifa SYLLA et Bellancille MUSABYEMARIYA pour leur contribution à la réalisation de ce travail ;
- ❖ A Madame Aïda GUEYE/NDIAYE, Directeur des Ressources Humaines de la SE-SNCDS, pour le stage accordé ;
- ❖ A Monsieur Abderrahmane DIA, Chef de la Cellule Qualité, pour l'encadrement durant mon stage à la SE-SNCDS et pour sa modestie ;
- ❖ A tout le personnel de la SE-SNCDS, en particulier Madame FAYE, pour l'accueil et la bonne collaboration durant mon stage ;
- ❖ A tout le personnel du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'EISMV de Dakar, en particulier Messieurs BALDE, BA et KONE, pour l'accueil et la bonne collaboration durant mon stage ;
- ❖ A Madame DIOUF, Bibliothécaire de l'EISMV, pour sa contribution dans la recherche bibliographique;
- ❖ A mon pays d'accueil, le Sénégal, pour l'hospitalité ;
- ❖ A ma chère patrie, le Burkina Faso, pour le soutien ;
- ❖ A tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail.

ANOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président de Jury, Monsieur Louis Joseph PANGUI, Professeur à l'EISMV de Dakar.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant avec spontanéité de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge, Monsieur Germain Jérôme SAWADOGO, Professeur à l'EISMV de Dakar.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Vos qualités humaines, votre disponibilité, nous ont marqué à jamais. Sincères remerciements et profonde reconnaissance.

A notre Maître et Juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury. Votre rigueur scientifique et votre sens aigu des relations humaines suscitent le respect et l'admiration. Sincères remerciements et profonde reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de Recherche, Monsieur Malang SEYDI, Professeur à l'EISMV de Dakar

Vous avez accepté d'encadrer et de diriger ce travail avec rigueur scientifique, malgré vos multiples occupations. Votre modestie, votre sens de responsabilité, vos qualités humaines et d'homme de science suscitent respect et admiration. Trouvez ici l'expression de notre profond respect et de notre parfaite gratitude.

A notre Maître et Co-Directeur de Recherche, Madame Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur à l'EISMV de Dakar

Vous avez accepté de co - encadrer et de co - diriger ce travail avec rigueur scientifique, malgré vos multiples occupations. Votre modestie, votre sens de responsabilité, vos qualités humaines et d'homme de science suscitent respect et admiration. Trouvez ici l'expression de notre profond respect et de notre parfaite gratitude.

RESUME

Le secteur thonier sénégalais occupe une bonne position en Afrique et dans le monde. Cependant, la consommation des thons peut engendrer des risques potentiels d'intoxication histaminique. De ce fait, un contrôle de la qualité de ces denrées alimentaires apparaît nécessaire. C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'étudier la relation entre le taux d'histamine dans le thon frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes. Pour ce faire, 54 échantillons de thon Listao ont été collectés. Le dosage de l'histamine a été réalisé, à l'aide d'un fluorimètre JENWAY 6280 FLUORIMETER, conformément à la méthode recommandée par le Codex Alimentarius. Pour l'analyse microbiologique, les méthodes recommandées par l'ISO pour les examens microbiologiques des aliments ont été réalisées. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel EPIDATA ANALYSIS. Ainsi, 100% des échantillons ont été conformés à la norme du Codex Alimentarius sur la teneur en histamine dans le thon ; 100% des lots étudiés ont été contaminés par *Morganella psychrotolerans* ; 83,33% des lots étudiés ont été contaminés par *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* ; 46,3% des échantillons ont été contaminés par *Morganella psychrotolerans* ; 22,22% des échantillons ont été contaminés par *Morganella morganii* ; 20,37% des échantillons ont été contaminés par *Enterobacter aerogenes* ; 18,52% des échantillons ont été contaminés par *Klebsiella pneumoniae* ; 9,26% des échantillons ont été contaminés par *Escherichia coli* et par *Clostridium perfringens* ; 24,07% des échantillons ont été contaminés par *Vibrio spp.* et 16,66% des échantillons ont été contaminés par *Lactobacillus spp.* Pour étayer ces résultats, cette étude doit être étendue à d'autres espèces pélagiques et à toutes les étapes de la transformation.

Mots clés : Histamine, Thon frais, Bactéries Histaminogènes, Contamination, Sénégal

ABSTRACT

The Senegalese tuna sector occupies a good position in Africa and the world. However, the consumption of tunas can cause possible histamine poisoning hazards. Quality control on these foodstuffs should therefore be envisaged. Thus we decided to study the relation between the histamine levels in fresh tuna and the levels of contamination by histamine producing bacteria. In order carry out the investigation, 54 skipjack tuna samples were collected. The determination of the histamine level was carried out, using a JENWAY 6280 FLUORIMETER, in accordance with the method recommended by the Codex Alimentarius. For the microbiological analysis, methods recommended by the ISO for microbiological testing on food were carried out. The statistical analyzes were done with the aid of EPIDATA ANALYSIS software. Hence, 100% of the samples complied with the Codex Alimentarius standard on histamine content in tuna; 100% of the batches studied were contaminated by *Morganella psychrotolerans*; 83.33% of the batches studied were contaminated by *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae*; 46.3% of the samples were contaminated by *Morganella psychrotolerans*; 22.22% of the samples were contaminated by *Morganella morganii*; 20.37% of the samples were contaminated by *Enterobacter aerogenes*; 18.52% of the samples were contaminated by *Klebsiella pneumoniae*; 9.26% of the samples were contaminated by *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens*; 24.07% of the samples were contaminated by *Vibrio spp.* and 16.66% of the samples were contaminated by *Lactobacillus spp.* To back up these results, this study should be extended to other pelagic species and all processing stages.

Key words: Histamine, Fresh tuna, Histamine producing bacteria, contamination, Senegal.

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation.
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (devenue Anses).
AOAC: Association of the Official Analysis Chemists.
CCM: Chromatographie sur Couche Mince.
CE : Communauté Européenne.
CIRAD : Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement.
CITPPM : Confédération des Industries de Traitement des Produits de la Pêche Maritime.
CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.
DO : Densité Optique ou Absorbance.
EISMV : Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires.
ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.
EPAS: Eau Peptonée Alcaline Saline.
EPT: Eau Peptonée Tamponnée.
FAO: Food and Agriculture Organization.
FONER: Fond National pour l'Education et la Recherche
FDA: Food and Drug Administration.
HACCP: Hazard Analysis of Critical Control Point.
HPLC ou **CLHP**: High Performance Liquid Chromatography ou Chromatographie Liquide Haute Performance.
ISO: International Standards Organisation.
LS: Lactose Sulfite.
MRS agar : gélose de Man Rogosa et Sharpe
pH : Potentiel d'Hydrogène.
SCAV : Service de la Consommation et des Affaires Vétérinaires.
SE-SNCDS : Société d'Exploitation-Société des Nouvelles Conserveries Du Sénégal.
TCBS agar: gélose au Thiosulfate, au Citrate, à la Bile et au Saccharose.
TIAC : Toxi - Infection Alimentaire Collective.
TSC agar: gélose au Trypto - Caséine - Soja.
USA: United State of America.
UV: Ultra - Violet.
VRBG agar: Violet Red Bile Glucose agar ou gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Production d’histamine par différentes bactéries à 0-5°C et au-dessus de 10°C.....	6
Tableau II : concentrations en histamine des échantillons du lot 1.....	20
Tableau III : concentrations en histamine des échantillons du lot 2.	20
Tableau IV : concentrations en histamine des échantillons du lot 3.....	21
Tableau V : concentrations en histamine des échantillons du lot 4.	21
Tableau VI : concentrations en histamine des échantillons du lot 5.....	21
Tableau VII : concentrations en histamine des échantillons du lot 6.....	22
Tableau VIII : Présence des bactéries histaminogènes en relation avec les taux d’histamine	22
Tableau IX : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 2.	23
Tableau X : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 3.....	23
Tableau XI : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 4.	23
Tableau XII : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 5.	24
Tableau XIII : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 6.....	24

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Formation de l’histamine.....	4
Figure 2 : Carte administrative du Sénégal.....	14
Figure 3 : Schémas des prélèvements dorsal et ventral pour le dosage de l’histamine	15

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
CHAPITRE I : GENERALITES	2
I.1. Définition et aliments riches en histamine	2
I.2. Bactéries histaminogènes et mécanismes d'accumulation de l'histamine	2
I.2.1. Histamine d'origine physiologique.....	3
I.2.2. Histamine d'origine bactérienne.....	3
I.2.3. Conditions favorisant la libération de l'histamine dans les tissus	6
I.3. Histamine et santé publique	7
I.3.1. Toxicité.....	7
I.3.2. Symptômes.....	8
I.4. Aspects réglementaires et normatifs.....	8
I.4.1. Au niveau européen.....	8
I.4.2. Au niveau international.....	9
CHAPITRE II : METHODES DE DOSAGES DE L'HISTAMINE.....	10
II.1. Méthodes de « référence »	10
II.1.1. Méthode de séparation HPLC ou CLHP	10
II.1.2. Méthode AOAC	10
II.2. Autre méthode de séparation utilisée par les laboratoires : Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	11
II.3. Quelques méthodes utilisées pour les analyses de routine	11
II.3.1. Méthode de séparation : Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	11
II.3.2. Méthodes enzymatiques.....	11
II.3.3. Méthodes immuno-enzymatiques : les kits de dosages.....	12
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	14
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	14
I.1. Cadre d'étude.....	14
I.1.1. Présentation de la SE – SNCDS.....	14

I.1.2. Présentation de l'EISMV de Dakar.....	14
I.2. Dosage de l'histamine.....	15
I.2.1. Matériel et réactifs.....	15
I.2.2. Méthodes.....	15
I.3. Analyse microbiologique.....	16
I.3.1. Matériel et réactifs.....	16
I.3.2. Méthodes.....	17
I.4. Analyse statistique et exploitation des données enregistrées.....	19
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	20
II.1. Résultats.....	20
II.1.1. Niveau de contamination des thons Listaos par l'histamine.....	20
II.1.2. Contamination des thons Listaos par des bactéries histaminogènes en relation avec le taux d'histamine.....	22
II.2. Discussion.....	25
II.2.1. Contaminations du lot 1.....	25
II.2.2. Contaminations du lot 2.....	25
II.2.3. Contaminations du lot 3.....	26
II.2.4. Contaminations du lot 4.....	26
II.2.5. Contaminations du lot 5.....	26
II.2.6. Contaminations du lot 6.....	27
RECOMMANDATION.....	28
CONCLUSION.....	28
BIBLIOGRAPHIE.....	29

INTRODUCTION

L'histamine est naturellement présente dans l'organisme et participe physiologiquement à plusieurs fonctions par son activité de neuromédiateur. Cependant, La consommation de Scombridés (thon) ayant une concentration élevée en histamine présente des risques d'intoxication alimentaire (**Wei C.I. et al., 1990**). Les intoxications par l'histamine, souvent associées à une allergie alimentaire, ne donnent pas toujours lieu à une déclaration, ce qui conduit à une sous-estimation de leur nombre réel. Dans le monde, 4 122 cas ont été signalés au Japon de 1970 à 1980 et 1523 de 1994 à 2005 ; 489 cas l'ont été au Danemark de 1986 à 2005, 1300 au Royaume-Uni de 1976 à 2004, 535 à Taïwan de 1986 à 2001 (**DALGAARD P. et al., 2008**). En France, l'histamine est la première cause de toxi-infections alimentaires liées à la consommation de poisson et concerne principalement la famille des Thonidés (**DUFLOS G., 2009**). Au Sénégal, la pêche contribue à la satisfaction des besoins en protéines animales dont la consommation moyenne par habitant et par an est estimée à 28kg (**FAO, 2008**). Parmi les poissons les plus pêchés, on trouve ceux qui appartiennent à la famille des Scombridés, principalement les maquereaux, les bonites et les thons qui peuvent présenter des concentrations musculaires élevées en histamine, en relation avec la présence en excès de bactéries dites « histaminogènes » (**SMART D.R., 1992**). Le secteur thonier sénégalais occupe une bonne place en Afrique et dans le monde, alors que l'histamine est une substance d'importance en terme de santé publique car elle peut produire très rapidement des symptômes identiques à ceux d'une allergie. Ceux-ci peuvent aller de simples rougeurs jusqu'à des symptômes plus graves, tels que des problèmes respiratoires ou, pire encore, un choc anaphylactique. Le problème des poissons de mer, et plus particulièrement des thons frais, contaminés en histamine reste récurrent et peut présenter des dangers et désagréments pour certains consommateurs (**SCAV, 2008**). De ce fait, une étude de la relation entre le taux d'histamine dans le thon frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes ne paraît-elle pas nécessaire ? C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail dont l'objectif général est d'étudier la relation entre le taux d'histamine dans le thon frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes. Il s'agit de façon spécifique de :

- Déterminer le taux d'histamine dans des échantillons de thon frais ;
- Evaluer les contaminations par d'éventuelle fore bactérienne possédant une histidine décarboxylase à travers l'analyse microbiologique des échantillons ;
- Comparer le taux d'histamine et le niveau de contaminations bactérienne ;
- Identifier la meilleure bactérie histaminogène.

Cette étude comporte 02 parties. La première partie qui est une synthèse bibliographique porte sur les généralités et les méthodes de dosage de l'histamine. La seconde partie est consacrée à la présentation du matériel et méthodes, aux résultats et à la discussion de notre travail.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1. Définition et aliments riches en histamine

L'histamine est une molécule, découverte en 1910 par AKERMAN dans les produits résultant de la putréfaction bactérienne. C'est un neuromédiateur largement impliqué dans les phénomènes inflammatoires et allergiques. L'histamine appartient aux amines biogènes qui se définissent comme des amines produites par les organismes. Ce sont des molécules biologiquement actives sur le système nerveux central et sur le système vasculaire. Les plus étudiées sont au nombre de sept : la putrescine, la cadavérine, la spermidine, la spermine, amines aliphatiques et l'histamine, la tryptamine, la tyramine, amines aromatiques. La putrescine, la cadavérine et la tyramine ont attiré l'attention car elles joueraient le rôle d'inhibiteur des enzymes catabolisant l'histamine dans l'intestin, comme l'histamine-N-méthyltransférase, la diamine oxydase (TAYLOR, 1986; CRAHAY et NOIRFALISE, 1996) et la monoamine oxydase (BRINK *et al.* 1990). Elles potentialisent l'action de l'histamine. L'ingestion de l'histamine seule par un cobaye, à une dose normalement toxique, n'entraîne aucun symptôme, alors que celle du mélange histamine et cadavérine donne une réaction positive démontrant l'action synergique de ces deux amines (KLAUSEN et LUND, 1986 ; ARNOLD et BROWN, 1978 ; TAYLOR, 1986). L'histamine présente dans la chair de nombreux poissons, est un puissant stimulant de la sécrétion gastrique, un bronchoconstricteur, un vasodilatateur et un neurotransmetteur central (BOUTIN J.P., 1997). Elle est thermostable et se forme aux températures positives, chez un grand nombre d'espèces de poissons pélagiques (comme le thon, l'espadon, le maquereau, la sardine, le hareng, ou l'anchois) par décarboxylation de l'histidine libre sous l'action d'une enzyme d'origine bactérienne: l'histidine décarboxylase (DUFLOS G., 2009). Parmi les aliments riches en histamine il ya lieu de citer notamment le chocolat, certains produits alimentaires fermentés (vin, bière, choucroute), les gibiers faisandés et certains fromages tels que le roquefort, le gruyère, le cheddar, le gouda, l'édam et l'emmental. D'autres aliments histamino-libérateurs peuvent être rencontrés tels que : des fruits parmi lesquels la tomate, la fraise, l'ananas, la banane, les agrumes etc. ; des légumineuses dont les arachides ; les poissons et crustacés ; l'œuf ; l'alcool et la tartrazine (colorant alimentaire E 102).

I.2. Bactéries histaminogènes et mécanismes d'accumulation de l'histamine

Mise à part celle qui existe naturellement dans les tissus, qui est préformée et d'origine physiologique, et celle qui se forme en faible quantité pendant l'autolyse, l'histamine provient essentiellement de la décarboxylation bactérienne de l'histidine (BEHLING A.R., TAYLOR S.L., 1982).

I.2.1. Histamine d'origine physiologique

L'histidine peut se trouver sous forme libre mais aussi sous forme liée dans les pigments tels que l'hémoglobine et la myoglobine. Dans le corps humain, l'histamine est synthétisée à partir d'un acide aminé : l'histidine (CHAABOUNI M., 2011). L'histidine est stockée principalement dans les cellules immunitaires, les mastocytes qui la libèrent lorsqu'ils sont stimulés par la présence d'une molécule étrangère comme un allergène (PELLISSIER P., 2007). Dans les poissons à chair rouge, riches en histidine, KIMATA et KAWAI (1951) ont montré que, dans les conditions les plus favorables (pH : 4,7, température d'environ 40° C), la formation d'histamine par autolyse ne dépasse pas 15 mg/100 g et n'explique pas la disparition d'histidine observée. Dans le domaine alimentaire, l'acception du terme « amines biogènes » correspond en fait aux amines non volatiles. Les aliments d'origine animale contiennent une quantité dite « physiologique » d'histamine. Les teneurs en histamine physiologique couramment retrouvées sont de l'ordre de 2 à 5 mg/100 grammes d'aliment. Lors de la dégradation de ces aliments, ces valeurs peuvent atteindre 15 mg/100 grammes. Ces quantités n'entraînent a priori aucune manifestation pathologique. (PULCE C., 2003). Des études ont montré que pour certaines espèces pélagiques, les muscles rouges (15 à 25% de leur musculature totale) sont très riches en cytochromes contenant de l'histidine (WENDAKOON C.N., 1990). On retrouve également cet acide aminé dans la myoglobine, l'hémoglobine et les catalases (ABITAN G., 1986). Thon riche en muscle rouge (Listao) contiennent plus d'histamine et la pré-cuisson précoce du thon limite la production d'histamine (LAURENT G., BENNASAR M., 1995). Les muscles plus vascularisés renferment donc plus d'histidine libre et sont par conséquent potentiellement plus histaminogènes (FALL M. et al, 2010).

I.2.2. Histamine d'origine bactérienne

A l'état normal, la chair des scombroïdes est très riche en histidine. Cette substance résiste à la cuisson. L'histidine libre peut subir une décarboxylation enzymatique grâce à une enzyme, l'histidine décarboxylase, qui la transforme en histamine thermorésistante. L'histidine décarboxylase est une enzyme retrouvée dans certaines bactéries : les enterobacters (notamment la plupart des proteus), certaines clostridies et certains lactobacilles (*Lactobacillus buchneri*). Il est difficile de définir le niveau de production de ces espèces. Par ailleurs, l'activité de décarboxylation n'a vraisemblablement pas été testée chez toutes les bactéries, preuve en est l'identification, en 1982, comme producteur important d'histamine, d'un *Clostridium perfringens* isolé dans un thon (PULCE C., 2003). Ces bactéries ne sont pas nécessairement des bactéries usuelles de la microflore du poisson, mais essentiellement des contaminants post - pêches. Cette contamination peut survenir à différents niveaux : bateau de pêche, processus de conditionnement, système de distribution (chaîne du froid) et au niveau de l'utilisateur (PULCE C., 2003). Dans les aliments, l'histamine se

forme par décarboxylation de la L-histidine libre par une enzyme d'origine principalement bactérienne mais aussi tissulaire : l'histidine décarboxylase produite essentiellement par des entérobactéries mésophiles. La plupart des bactéries décarboxylase-positives ne sont normalement pas attendues dans la flore naturelle des poissons. Leur présence est probablement liée à une contamination au cours des premières manipulations post-captures (**DIOP M.B., DESTAIN J., TINE E. et al., 2010**). Après la mort du poisson et dans certaines conditions de stockage, notamment à partir de 2-5 °C, les bactéries produisant l'histidine décarboxylase peuvent se multiplier conduisant à la formation d'histamine. Cette production peut être parfois très rapide à partir de 10 °C (**DALGAARD P., 2007**). Dans le domaine alimentaire, l'histamine est d'origine microbienne et résulte de la décarboxylation de l'histidine à pH 6-7 (**Figure 1**).

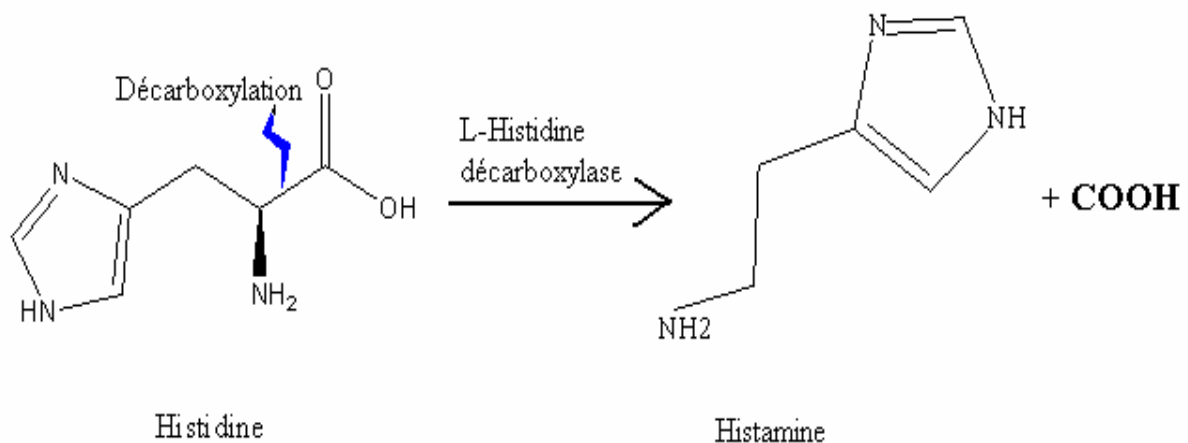


Figure 1 : Formation de l'histamine (Source : PELLISSIER P., 2007).

La formation de l'histamine dans les poissons dépend de deux facteurs essentiels à savoir :

- la teneur en histidine, directement liée à l'espèce animale. Les poissons appartenant aux familles des Scombridés (thon, bonite, maquereau), des Clupéidés (sardine, hareng) ou des Engraulidés (anchois), présentent la plus forte prédisposition à synthétiser de l'histamine après leur mort ;
- la présence de bactéries capables de synthétiser l'histidine décarboxylase.

Les principales bactéries responsables de la formation d'histamine appartiennent à la famille des Entérobactéries (**MALLE P., 2006**). On peut souligner que la production endogène de ces amines (autolyse par les enzymes tissulaires) est beaucoup moins importante que celle par la voie exogène bactérienne (**WENDAKOON et SAKAGUCHI, 1992**). Un grand nombre de bactéries sont responsables de la formation d'amines biogènes à partir d'acides aminés libres. Par exemple pour la production d'histamine, on trouve *Pseudomonas fluorescens*, *Morganella morganii* (*Proteus morganii*), *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*,

Citrobacter freundii, *Clostridium perfringens*, *Photobacterium phosphoreum* et certains lactobacilles (RICE et KOEHLER, 1976 ; JOOSTEN et NORTHOLT, 1989; LOPEZ - SABATER *et al.*, 1994 ; ROIG - SAGUES *et al.*, 1996, EMBORG *et al.*, 2008). Parmi les bactéries qui catabolisent les amines biogènes, BOURGEOIS *et al.* (1988) citent notamment *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Clostridium* et *Klebsiella*. KAWABATA *et al.* (1955) ont isolé 78 souches de bactéries dans des échantillons de thon obèse du Pacifique ayant provoqué des allergies. Onze seulement de ces souches étaient capables de produire de l'histamine : *Proteus vulgaris* (5 souches), *Proteus mirabilis* (3 souches) et *Morganella morganii* (3 souches). Seules les souches de *Morganella morganii* produisaient de l'histamine en grande quantité dans la chair crue broyée des thons, sans que s'accroisse la teneur en ammoniacque et sans que se modifient l'apparence et l'odeur. Plus tard, d'autres puissants producteurs d'histamine ont été isolés : *Klebsiella pneumoniae* et *Hafnia alvei*. Les bactéries productrices d'histamine se trouvent chez la plupart des poissons, vraisemblablement par suite de contamination après la pêche. Elles se multiplient bien à 10°C mais à 5 °C la croissance est considérablement retardée (ABABOUCHE *et al.*, 1991) et on n'a jamais relevé de production d'histamine par *M. morganii* lorsque les températures étaient constamment inférieures à 5°C (KLAUSEN et HUSS, 1987). La majorité de la production d'histamine est liée à l'activité d'une histidine décarboxylase bactérienne produite par certaines souches bactériennes du genre *Proteus*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Vibrio* (BEHLING A.R., TAYLOR S.L., 1982 ; TAYLOR S.L., 1985 ; FLICK G.J., ORIA M.P., DOUGLAS L., 2001 ; TAKAHASHI H., KIMURA B., YOSHIKAWA M., FUJII T., 2003). Cette enzyme possède comme cofacteur le phosphate de pyridoxal, ou le résidu pyruvoyl chez *Lactobacillus spp* (EITENMILLER R.R., DE SOUZA S.C., 1984). La composition de la flore normale diffère en fonction des espèces pélagiques. Parmi les bactéries les plus fréquemment retrouvées on peut citer *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter intermedium* (EMBORG J., DALGAARD P., 2006 ; EITENMILLER R.R., 1982). Une étude sur les bactéries productrices d'histamine sur l'Albacore frais menée par KIM *et al* en 2002, a identifié *Hafnia alvei*, *Photobacterium damsela*, *Acinetobacter lwoffii*, *Enterobacter cloacae* dans l'ouïe ; *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* et *Acinetobacter lwoffii* sur la peau et *Acinetobacter lwoffii* et les autres espèces non identifiées dans l'intestin. Parmi les bactéries trouvées, *Photobacterium damsela* est considérée comme la plus prolifique dans la formation de l'histamine (KIM *et al*, 2002). Les bactéries productrices d'histamine peuvent se développer et produire l'histamine sur une gamme large de température (EITENMILLER R.R., 1982 ; OZOGUL F., 2004). La croissance bactérienne ou la production de l'histamine décarboxylase ne semble pas généralement apparaître à 5°C ou en dessous pour les importantes espèces (FALL M. *et al*, 2010).

I.2.3. Conditions favorisant la libération de l'histamine dans les tissus

Les conditions d'hygiène à bord et à terre, lors des manipulations liées à la préparation et à la transformation du poisson, sont très importantes dans la mesure où elles peuvent éviter la contamination du poisson par des bactéries produisant l'histidine décarboxylase. De la même façon, les conditions de conservation ont également une influence essentielle sur la formation d'histamine car elles conditionnent la multiplication de ces bactéries. Ainsi, l'histamine ne peut pas se former dans les poissons congelés, ni dans les conserves stérilisées par la chaleur. Les microorganismes responsables de la formation de l'histamine se développent principalement à des températures supérieures à + 7-10 °C dans les branchies et les viscères du poisson. Cependant, d'autres recherches ont montré que certaines bactéries productrices d'histamines étaient actives entre 0 et +5°C. La formation de l'histamine peut donc se développer à basse température entre 0 et + 5 °C. Le **Tableau I** présente des bactéries produisant l'histamine à basse température.

Tableau I : Production d'histamine par différentes bactéries à 0-5°C et au-dessus de 10°C

Bactéries	Température (0-5°C)	Température (> 10°C)
<i>Enterobacteriaceae</i> :		
✓ <i>Morganella morganii</i>	-	+++
✓ <i>Morganella psychrotolerans</i>	++	+++
✓ <i>Raoultella planticola</i>	-	+++
✓ <i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+++
<i>Vibrionaceae</i> :		
✓ <i>Photobacterium phosphoreum</i>	++	++
✓ <i>Photobacterium damsela</i>	-	+++
Bactéries lactiques :		
✓ <i>Tetragenococcus myriaticus</i>	-	++
✓ <i>Lactobacillus spp.</i>	-	++

(Source : DALGAARD P., 2007)

Les poissons congelés immédiatement après la mort à 10°C ou en dessous, ont une faible teneur en histamine (CRAVEN C., HILDERBRAND K., KOLBE E., SYLVIA G., DAESCHEL M., GLORIA B., AN H.J., 2001). Pour minimiser le risque, il est recommandé que la température interne des poissons soit maintenue à +4°C ou à une température inférieure le plus tôt possible après la pêche (FDA, 2001). Les températures inférieures à +4°C sont considérées comme suffisantes pour minimiser la croissance des bactéries dont la majorité

est pathogène. Trois conditions sont donc nécessaires à la formation de l'histamine produite bactériologiquement :

- un taux élevé d'histidine dans la chair ;
- la présence contaminante de bactéries (essentiellement *Proteus morganii* et *vulgaris* ; *Clostridium* ; *E. coli* ; salmonelles ; shigelles) dans l'appareil digestif ou les écailles ;
- une rupture dans la chaîne du froid avec retard à la congélation, décongélation trop précoce.

Des concentrations en histamine de l'ordre de 400 mg/100g de chair ont été mises en évidence dans des échantillons de thon (**PULCE C., 2003**). Des études ont montré que, suivant le lieu et la saison, des taux toxiques d'histamine peuvent être produits :

- lors de la capture du poisson à bord du bateau de pêche, en cas de mauvaises pratiques de pêche ;
- après seulement 6 heures d'exposition du poisson à température ambiante.

La prévention repose donc sur l'infailibilité de la chaîne de froid. Tous les poissons devraient être éviscérés, le sang évité et le poisson refroidi rapidement, proche du point de congélation, juste après leur mort.

I.3. Histamine et santé publique

L'intoxication histaminique est considérée comme la plus fréquente intoxication alimentaire consécutive à une consommation de poissons impliquant les amines biogènes (**HALASZ A., BARATH A., SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W., 1994**). L'histamine est une substance responsable de l'intoxication alimentaire. La stabilité thermique de l'histamine ne permet pas de diminuer les risques à la cuisson (**IJOMAH et al. 1992**). Elle n'est pas détruite par la congélation, le salage et la stérilisation et peut être présente dans les conserves (**DALGAARD P., 2007**). Ainsi, l'ingestion d'aliments riches en histamine (poissons de la famille des scombridés dont le thon) peut être à l'origine d'intoxications graves. Ces intoxications ont été classées dès 1960 par HOREAU comme appartenant aux toxi-infections alimentaires collectives.

I.3.1. Toxicité

L'intoxication histaminique a été souvent référée sous le nom de scombrotisme ou l'intoxication scombroidé depuis que le syndrome est apparu comme un résultat de l'ingestion des poissons avariés (**FDA, 2001**). L'intoxication à l'histamine est une intoxication chimique liée à la consommation d'aliments contenant de grandes quantités d'histamine. Lorsque plusieurs cas surviennent à la suite de la consommation d'un même aliment, cette intoxication entre dans le cadre des Toxi-infections Alimentaires Collectives (TIAC) qui sont des maladies à déclaration obligatoire. L'aliment en cause est presque toujours un poisson. Les plus souvent incriminés appartiennent aux familles des *Scombridae* (thon rouge, germon, bonites,

maquereau) et des *Scomberesocidae* (balaous) d'où le terme anglais très répandu de « Scombroid Fish Poisoning ». Une concentration supérieure à 50 ppm est susceptible de provoquer des crises allergiques légères. A partir de 100mg/100g le produit devient alors très toxique. L'histamine provoque des symptômes à des doses variant entre 70 et 100mg en ingestion unique. En général 100mg /100g constitue un taux déclenchant, tandis que le seuil critique est de l'ordre de 10mg/100g. Par ailleurs, l'histamine n'agirait pas seule, car les symptômes n'apparaissent pas, quand elle est ingérée par voie orale à l'état pur. Elle agirait en synergie avec d'autres amines biogènes comme la cadavérine qui la rendrait toxique.

I.3.2. Symptômes

Les symptômes les plus souvent rencontrés sont rougeur facio-cervicale, éruption cutanée, œdème du visage, bouffées de chaleur, sensation de brûlure dans la gorge, goût de poivre dans la bouche, démangeaisons, picotements de la peau etc. Les symptômes cutanés sont les plus spécifiques de l'intoxication histaminique et peuvent aider à orienter le diagnostic. Ces premiers symptômes peuvent apparaître 20 minutes après l'ingestion et sont généralement suivis par des troubles de types céphalées, palpitations cardiaques et étourdissements. Des symptômes secondaires de nature gastro-intestinale peuvent apparaître : nausées, maux d'estomac, vomissements et diarrhées. L'histamine peut également être impliquée dans la formation d'ulcères peptidiques (SONNE et al. 1995) ; d'écoulements nasales et yeux aqueux (SOMPAYRAC et LAURAN, 1999) et des effets d'inflammation (SONNE et al. 1995). L'histamine cause la contraction de plusieurs muscles lisses, on parle d'effet doux du muscle. Elle peut alors être impliquée dans le péristaltisme accru lié aux allergies de nourriture (ABBAS et al. 1994). En général les médicaments utilisés sont des anti-histamines, d'autres médicaments peuvent être prescrits et dépendent des symptômes apparus : Prométhazine, dexchlorpheniramine et cimétidine pour exemple.

I.4. Aspects réglementaires et normatifs

I.4.1. Au niveau européen

Les règlements communautaires n°2073/2005, puis n°11441/2007 fixent les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche. C'est le règlement CE n°2073/2005 du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires qui définit les limites de concentration à ne pas dépasser pour histamine.

- ❖ **Produits de la pêche fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histamine (en particulier les espèces de poissons des familles *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae*, *Scomberesocidae*)**

- ✓ Prélèvement de 9 échantillons ;
 - ✓ Stade d'application du critère : produit mis sur le marché pendant toute sa durée de conservation ;
 - ✓ Méthode d'analyse de référence : HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) ;
 - ✓ Résultats :
 - Qualité satisfaisante :
 - la teneur moyenne ne doit pas dépasser 100mg d'histamine/kg ;
 - deux échantillons peuvent dépasser 100mg d'histamine/kg sans atteindre 200mg/kg ;
 - aucun échantillon ne doit dépasser 200mg d'histamine/kg.
 - Qualité insatisfaisante : si au moins un des 3 critères précédents n'est pas rempli.
- ❖ **Cas particulier des produits de la pêche ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histamine (mêmes familles d'espèces que précédemment)**
- ✓ Prélèvement de 9 échantillons ;
 - ✓ Stade d'application du critère : produit mis sur le marché pendant toute sa durée de conservation ;
 - ✓ Méthode d'analyse de référence : HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) ;
 - ✓ Résultats :
 - Qualité satisfaisante :
 - la teneur moyenne ne doit pas dépasser 200mg d'histamine/kg ;
 - deux échantillons peuvent dépasser 200mg d'histamine/kg sans atteindre 400mg/kg ;
 - aucun échantillon ne doit dépasser 400mg d'histamine/kg.
 - Qualité insatisfaisante : si au moins un des 3 critères précédents n'est pas rempli.

I.4.2. Au niveau international

Les normes du Codex Alimentarius (FAO, 2001) ont une approche différente et fixent 2 seuils :

- ✓ Le premier est un seuil de qualité, indicateur d'altération du produit = 100mg/kg ;
- ✓ Le second est un critère de santé publique qui ne doit pas être dépassé = 200mg/kg.

CHAPITRE II : METHODES DE DOSAGES DE L'HISTAMINE

De nombreuses méthodes ont été publiées dans la littérature scientifique, et sont utilisées pour le contrôle. Parmi celles-ci figurent les tests de fraîcheur basés sur la détection par voie immuno-enzymatique de l'histamine. Toutefois, des méthodes plus fiables, dites de « référence », quantitatives et reconnues scientifiquement depuis près d'un demi-siècle sont à ce jour les plus utilisées dans les laboratoires d'analyses.

II.1. Méthodes de « référence »

Les méthodes de référence utilisées actuellement sont des méthodes spectrofluorimétriques. On peut citer :

- Méthode de séparation HPLC ou CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) retenue par le règlement européen n°2073/2005 ;
- Méthode AOAC 977.13 : méthode de référence aux Etats-Unis et pour le Codex Alimentarius.

Ces méthodes sont à la fois précises, sensibles et reproductibles mais demandent un équipement sophistiqué.

II.1.1. Méthode de séparation HPLC ou CLHP

Cette méthode est basée sur une extraction acide de l'échantillon, suivie d'une séparation par HPLC. En raison de la structure des molécules, la détection se fait par l'intermédiaire de dérivés fluorescents préparés automatiquement en sortie de colonne de chromatographie. Cette automatisation permet de garantir une bonne répétabilité et un seuil de quantification de 5mg/kg (5ppm).

✓ Principe de la méthode :

Les amines biogènes sont extraites par l'acide perchlorique 0,2 M et marquées au chlorure de dansyle ; la dérivation des amines est nécessaire pour la détection en absorption UV à 254nm des dérivés dansylés. Après dérivation, la proline est ajoutée pour fixer l'excès de chlorure de dansyle. La solution est saturée par ajout de toluène. Après décantation, la phase organique contenant les dérivés d'amines biogènes est récupérée après congélation de la phase aqueuse puis évaporée à froid sous flux d'azote. Le résidu sec contenant les amines dérivées est redissous dans 200ml d'acétonitrile, filtré sur membrane de porosité 0,2 mm puis injecté en HPLC. Les amines sont séparées sur une colonne en utilisant un gradient d'élution eau/acétonitrile. La durée de la séparation est de 30 min. Le chromatogramme présente les 7 pics des amines classiques et celui de l'étalon interne.

II.1.2. Méthode AOAC

✓ Principe de la méthode :

L'histamine est extraite par broyage de 10g de chair en présence de 90ml d'acide trichloracétique à 10%. L'extrait trichloracétique est filtré puis purifié

par transfert dans le réservoir de la colonne chromatographique contenant 5g de résine tamponnée à pH 4,62. L'histamine est ensuite récupérée au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique 2N dans un flacon jaugé de 20ml qui sera complété au trait de jauge. Elle subit une réaction de condensation avec l'orthophtaldéhyde (0,1ml) en présence de soude normale (1ml). Au bout de 3,5 minutes, après agitation, on ajoute 2 ml d'acide chlorhydrique 0,7N puis on mesure la fluorescence de la solution inconnue après avoir réglé le zéro de l'appareil sur le blanc-réactif et le 100% sur la solution étalon.

II.2. Autre méthode de séparation utilisée par les laboratoires : Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

✓ Principe de la méthode :

L'histamine est extraite de l'échantillon grâce à une solution alcaline de méthanol puis injecté dans la colonne chromatographique pour être dosée. Le dosage de l'histamine ainsi contenue dans l'échantillon de chair du poisson prend moins de 20 minutes. La lecture est possible jusqu'à 5000 ppm (**BAO-SHYUNG, JIH-TERNG, YOUK-MENG, 2003**). C'est une méthode quantitative rapide et très fiable. Elle permet, tout comme l'HPLC, de détecter la présence d'autres amines biogènes.

II.3. Quelques méthodes utilisées pour les analyses de routine

En complément aux méthodes utilisées en laboratoire, des techniques rapides ne nécessitant pas d'équipement lourd, ont été développées.

II.3.1. Méthode de séparation : Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince permet, dans certaines conditions, une bonne séparation de l'histamine.

✓ Principe de la méthode :

Sont utilisées comme références, des échantillons de poisson exempts d'histamine auxquels sont ajoutées des quantités connues d'histamine. L'échantillon à analyser et les échantillons de référence sont attaqués par l'acide trichloracétique à 10 % afin de précipiter les protéines. Les acides aminés et l'histamine passent dans le filtrat. Celui-ci peut être conservé à température ambiante plusieurs semaines sans subir d'altération gênante pour le dosage de l'histamine. Les dépôts de déféquat trichloracétique sont effectués avec précision sur plaque d'alumine. Après séchage de la plaque, l'histamine est éluée à température ambiante par le mélange éthanol-ammoniaque. L'élution dure environ deux heures pour un déplacement du front de solvant de 10 cm.

II.3.2. Méthodes enzymatiques

✓ Principe :

Le test est basé sur une réaction antigène-anticorps (Test RIDASCREEN - DIFFCHAMB). Les puits de la plaque de microtitration sont sensibilisés avec

l'histamine. Les solutions étalons ou les échantillons et l'anticorps anti-histamine sont distribués dans les puits. L'histamine libre et celle fixée sur la paroi du puits vont entrer en compétition pour se fixer sur le site de liaison de l'anticorps anti-histamine (réaction immuno-enzymatique de type compétition). Après lavage, des anticorps couplés à la peroxydase sont ajoutés. Ces anticorps vont se fixer aux complexes anticorps-histamine déjà formés. Tout conjugué non fixé sera alors éliminé par des lavages. Le substrat de l'enzyme et le chromogène sont alors distribués et l'ensemble est laissé à incuber. Le conjugué fixé transforme le chromogène en un produit bleu. L'addition de solution stop conduit à un changement de coloration du bleu au jaune. La densité optique est mesurée à 450 nm sur un lecteur de microplaque. Les valeurs obtenues sont inversement proportionnelles à la concentration de l'échantillon en histamine.

II.3.3. Méthodes immuno-enzymatiques : les kits de dosages

II.3.3.1. Méthodes qualitatives

A la recherche d'un test rapide et performant, la confédération des industries de traitement des produits de la pêche maritime (CITPPM) a demandé à TRANSIA-DIFFCHAMB de développer un test qui pouvait répondre au cahier des charges initial suivant :

- fiable et facile à interpréter,
- simple d'emploi (utilisable au pied du bateau),
- rapide (ordre de grandeur : 30 mn),
- faible coût (inférieur au coût de la perte qu'il prévient).

Le kit de détection rapide de l'histamine développé par TRANSIA-DIFFCHAMB et répondant au cahier des charges a été validé en 1995 par l'AFNOR.

✓ Principe du test :

Le test est basé sur une réaction immuno-enzymatique de compétition et utilise comme support réactionnel des tubes à hémolyse au fond desquels sont solidement fixés des anticorps monoclonaux spécifiques de l'histamine. Dans un premier temps, l'utilisateur doit broyer quelques grammes de poisson dans une solution d'extraction et doit, avec deux réactifs appropriés, réaliser l'opération qui consiste à complexer l'histamine préalablement extraite de la chair. Dans un deuxième temps, les extraits sont déposés dans les tubes réactionnels (1 tube par échantillon). Un tube par série est utilisé comme témoin négatif, un tube par série est utilisé pour la réalisation d'un témoin positif. Un conjugué histamine/enzyme est immédiatement ensuite ajouté dans chaque tube. L'histamine conjuguée entre alors en compétition avec l'histamine libre présente dans l'extrait pour se fixer aux anticorps spécifiques. Plus la quantité d'histamine dans l'extrait est forte, moins le conjugué histamine/enzyme peut se fixer aux anticorps. Après incubation de 45 minutes à température ambiante, un lavage des tubes est soigneusement réalisé à l'eau distillée ou déminéralisée afin que ne demeurent dans les tubes réactionnels que les éléments fixés aux anticorps.

L'étape finale consiste à ajouter un mélange substrat + chromogène dans chacun des tubes et à laisser incuber 10 minutes.

✓ **Interprétation des résultats :**

L'interprétation est simple à réaliser :

- Coloration bleue du tube échantillon > coloration du tube témoin positif = échantillon négatif : moins de 100mg d'histamine/kg ;
- Coloration bleue du tube échantillon < coloration du tube témoin positif = échantillon positif : supposé contenir au moins 100mg d'histamine/kg. Il est alors recommandé de confirmer l'échantillon par une méthode d'expertise (CCM ou HPLC). Même si une lecture visuelle est toujours possible, le fabricant recommande l'utilisation d'un lecteur de densité optique (spectrophotomètre adapté), la lecture de faisant dans le jaune à 450nm (après ajout d'une solution d'arrêt).

II.3.3.2. Méthodes semi-quantitatives

La méthode immuno-enzymatique sur support solide (méthode ELISA pour *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) repose sur la mise en compétition de l'histamine contenue dans l'échantillon avec de l'histamine exogène marquée, toutes deux entrant en compétition pour se fixer sur des anticorps spécifiques. Elle est disponible dans des trousse permettant une utilisation facile et une application à des séries importantes d'échantillons.

✓ **Principe :**

Après extraction avec une solution d'acide trichloracétique, l'histamine est couplée à la parabenzoquinone. Le complexe est alors détecté dans un test ELISA (enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) par compétition, par des anticorps spécifique, qui sont fixés à la surface de tubes en polystyrène. Les différents kits semi-quantitatifs proposés peuvent être utilisés pour des teneurs en histamine comprises entre 25 et 200 ppm. Une fois les échantillons préparés, la densité optique est lue sur un spectrophotomètre et la valeur indiquée comparée avec les différentes valeurs de densité optique lues à partir des différentes solutions étalons (et concentration en histamine connue : 25; 50; 100 et 200 ppm).

✓ **Résultats :**

- DO (densité optique) étalon 25 ppm $\leq$ DO de l'échantillon $\leq$ DO du témoin : la teneur en histamine de l'échantillon est inférieure ou égale à 25 ppm ;
- DO de l'étalon 50 ppm $\leq$ DO de l'échantillon $\leq$ DO de l'étalon 25 ppm : la teneur en histamine de l'échantillon est comprise entre 25 et 50 ppm ;
- DO de l'étalon 100 ppm $\leq$ DO de l'échantillon $\leq$ DO de l'étalon 50 ppm : la teneur en histamine de l'échantillon est comprise entre 50 et 100 ppm ;
- DO de l'étalon 200 ppm $\leq$ DO de l'échantillon $\leq$ DO de l'étalon 100 ppm : la teneur en histamine de l'échantillon est comprise entre 100 et 200 ppm ;
- DO de l'échantillon $\leq$ DO de l'étalon 200 ppm : la teneur en histamine de l'échantillon supérieure ou égale à 200 ppm.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I.1. Cadre d'étude

Cette étude s'est déroulée dans la ville de Dakar au Sénégal (**Figure 2**). Elle s'est effectuée d'une part dans le laboratoire du service qualité de la Société d'Exploitation - Société Nouvelle des Conserveries Du Sénégal (SE – SNCDS) et d'autre part dans le laboratoire de microbiologie alimentaire de l'EISMV de Dakar.



Figure 2 : Carte administrative du Sénégal

(Source : [http:// www.ausenegal.com/decouvrir/cart_sen.htm](http://www.ausenegal.com/decouvrir/cart_sen.htm))

I.1.1. Présentation de la SE-SNCDS

Située au môle 10 du port autonome de Dakar, la Société d'Exploitation - Société des Nouvelles Conserveries Du Sénégal (SE - SNCDS) a été créée en 1968 par des pêcheurs Français. A partir des années 1990, elle devient 100% Sénégalaise. Depuis les années 2000, l'Etat prend la plus grande partie des actions. La SE - SNCDS a un effectif d'environ 1000 personnes dont environ 300 permanents et environ 800 journaliers. Elle a mis en place son système HACCP depuis 1994. Elle est spécialisée dans la production de conserves de thon à eau saumurée, à l'huile et à la sauce tomate. Elle produit autour de 140 tonnes de boîtes de conserves par jour avec une capacité annuelle de 25000t. Les ressources halieutiques de la société proviennent de la zone de pêche FAO 34. L'usine comporte deux lignes de production : une ligne pour du thon précuit (thon flasher cocker) et une ligne pour du thon cru. Les produits sont écoulés sur marché européen pour le thon cru et marocain pour le thon précuit.

I.1.2. Présentation de l'EISMV de Dakar

L'EISMV de Dakar est une institution académique, de formation vétérinaire de base; elle organise aussi des sessions de formation continue et des formations

postuniversitaires, et conduit également des travaux de recherche. Son laboratoire de microbiologie alimentaire fait partie des meilleurs laboratoires de la sous-région.

I.2. Dosage de l'histamine

I.2.1. Matériel et réactifs

La préparation et le dosage de l'histamine dans des différents échantillons de thon frais ont nécessité un couteau, une glacière et des carboglaces, une balance ultra-sensible marque SARTORIUS, un broyeur Ultra-Turrax[®], papier filtre, des pipettes, des béchers, un pH-mètre, un chronomètre, une colonne de chromatographie liquide basse pression (10mm x 150mm) contenant une résine Amberlite C50 type1 et tamponnée à pH 4,62 et un fluorimètre JENWAY 6280 FLUORIMETER (Emission 450nm et Excitation 360nm). Tous les réactifs chimiques utilisés (acide chlorhydrique, soude, acide nitrique, acide trichloracétique, acétate, orthophtaldéhyde) ont été choisis de qualité conforme pour analyses. Le standard d'histamine a été acquis auprès de la société SIGMA-ALDRICH (St Louis, MO 63103 USA).

I.2.2. Méthodes

La méthode qui a été utilisée est celle recommandée par l'AOAC pour le dosage de l'histamine dans les produits halieutiques en utilisant la fluorimétrie (AOAC, 1990). Cette méthode a déjà été utilisée par plusieurs chercheurs dont FALL M. et al en 2010.

I.2.2.1. Echantillonnage

L'étude a porté sur 54 échantillons de thon Listao (*Katsuwonus pelamis*). L'échantillonnage était réalisé sur des poissons entiers (Listao) congelés. Ces Listaos ont été tirés au hasard dans des cuves (cales de bateau) contenant que des thons Listaos. L'échantillon était prélevé au niveau des parties dorsale et ventrale du poisson après avoir enlevé la peau conformément aux modalités de prélèvement pour la recherche et le dosage de l'histamine comme l'indique la Figure 3.

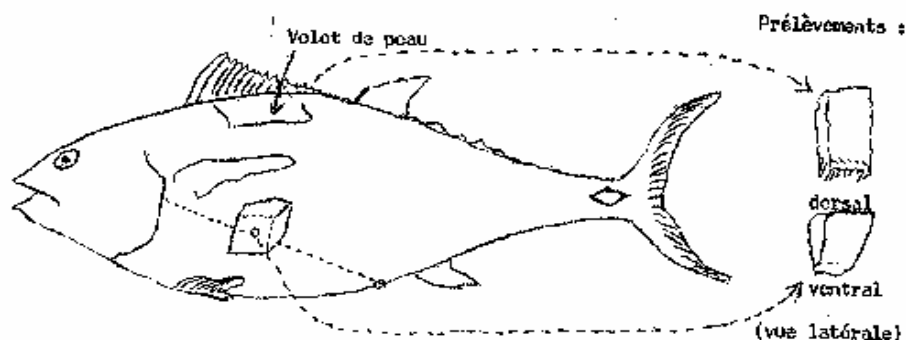


Figure 3 : Schémas des prélèvements dorsal et ventral pour le dosage de l'histamine (Source : PELLISSIER P., 2007).

Ainsi, deux prélèvements ont été réalisés par thon : le premier, sous la première nageoire dorsale, était destiné au dosage de l'histamine et le second, dans la partie médiane de la paroi ventrale en dessous du prélèvement précédent, était destiné à l'analyse microbiologique.

I.2.2.2. Extraction de l'histamine

L'histamine est extraite par broyage de 50g de chair en présence de 50ml d'acide trichloracétique à 10%. L'extrait trichloracétique est filtré puis 0,2ml du filtrat et 20ml de tampon acétate ont été prélevés. Ce mélange a été purifié par transfert dans le réservoir de la colonne chromatographique contenant 5g de résine tamponnée à pH 4,62. L'histamine est ensuite récupérée au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique 2N dans un flacon jaugé de 20ml qui sera complété au trait de jauge.

I.2.2.3. Réaction de condensation et mesure de la fluorescence

L'histamine subit une réaction de condensation avec l'orthophthaldéhyde (0,1ml) en présence de soude normale (1ml). Au bout de 3,5minutes, après agitation, on a ajouté 2ml d'acide chlorhydrique 0,7N puis on a mesuré la fluorescence de la solution inconnue après avoir réglé le zéro de l'appareil sur le blanc-réactif et 100% sur la solution étalon. L'excitation de l'histamine a été réalisée à la longueur d'onde de 360nm et la mesure de la fluorescence émise par celle-ci à 450nm.

I.2.2.4. Expression des résultats

La concentration en histamine des échantillons est donnée par la formule suivante :

$$C_e \text{ (mg/100g)} = \frac{[\text{DoE}] \times [\text{C}_s] \times 2500 \times [\text{F}_d]}{[\text{DoS}]} \text{ avec :}$$

C_e = Concentration de l'échantillon ; DoE = Absorbance de l'extrait ;

C_s = Concentration du standard ; F_d = Facteur de dilution ; DoS = Absorbance du standard.

$$\text{Ainsi, le résultat est} = \frac{\text{Valeur lue} \times 4,1}{100}$$

I.3. Analyse microbiologique

I.3.1. Matériel et réactifs

L'analyse microbiologique des échantillons de thon frais a nécessité une glacière, des carboglaces, un congélateur et un réfrigérateur pour le respect de la chaîne de froid ; un charriot ; une trousse de dissection stérile ; une balance ultra-sensible de marque SARTORIUS respectant la norme ISO 9001 ; des sacs STOMACHERS 400 stériles sans filtre ; un portoir de ces sacs ; un broyeur STOMACHER^R 400 CIRCULATOR ; des pipettes stériles et graduées à

écoulement total ; des boîtes à Pétri stériles de diamètre 90mm ; un bec à flemme ; une plaque chauffante ; une autoclave XL LLEQUEUX ; une hotte TELSTAR AV-100 ; des étuves MEMMERT, réglables ; des jarres pour anaérobiose ; des béciers ; des tubes à essai ; des bouteilles ; un homogénéisateur ROTOLAB OSI, des étaleuses, des anses et des galeries pour l'identification des bactéries. Tous les réactifs utilisés (MRS agar, TSC agar, TCBS MODIFIED agar, VRBG agar, EPT, LS, chlorure de sodium, gélose nutritive, supplément sélectif D-cyclosérine) ont été choisis de qualité conforme pour analyses et ont été acquis auprès de la société HUMEAU Laboratoire par l'intermédiaire de la société INTERLABO (B.P :519 Dakar-SENEGAL).

I.3.2. Méthodes

Les méthodes qui ont été utilisées sont celles recommandées par l'ISO et l'AFNOR pour les examens microbiologiques des aliments.

I.3.2.1. Echantillonnage

L'étude a aussi porté sur 54 échantillons de thon Listao. Ces échantillons étaient représentatifs et étaient prélevés sur les mêmes thons utilisés pour le dosage de l'histamine. Ils sont arrivés, au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'EISMV de Dakar, non endommagés, ni modifiés lors du transport et de la conservation grâce au respect de la chaîne de froid. Ils ont subi une décongélation lente en les transférant du congélateur au réfrigérateur (+4°C) 24h avant l'analyse. Dans chaque échantillon, nous avons recherché 4 grandes familles de bactéries considérées par la littérature comme des bactéries histaminogènes c'est-à-dire produisant l'histidine décarboxylase. Il s'agit des *Enterobacteriaceae*, des *Vibrionaceae*, des *Lactobacillaceae* et des *Clostridiaceae*. Les échantillons soumis à l'essai ont été préparés conformément à la norme ISO 6887-1 et les modes opératoires ont obéi à la norme ISO 7218.

I.3.2.2. Méthode horizontale pour la recherche des *Enterobacteriaceae*

Pour préparer la suspension-mère, nous avons prélevé 10g de l'échantillon que nous avons mis dans un sac STOMACHER 400 stérile sans filtre, puis complété avec de l'EPT jusqu'à 100g. Ensuite, ce prélèvement a été broyé par le STOMACHER^R 400 CIRCULATOR et enfin, revivifié pendant 30mn à la température ambiante. Quant à l'ensemencement et l'incubation, on a transféré dans une boîte de Pétri stérile 1ml de la suspension-mère à l'aide d'une pipette stérile, puis coulé dans chaque boîte de Pétri, environ 10ml du milieu gélosé à la bile, au cristal violet et au glucose (VRBG) qui avait été préparé selon le protocole du fabricant et refroidi entre 44°C et 47°C au bain d'eau. Ensuite, on a mélangé soigneusement l'inoculum au milieu par des déplacements horizontaux des boîtes de Pétri et laissé le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface fraîche horizontale. Après solidification du mélange, on a ajouté une couche superficielle d'environ 15ml du VRBG afin d'empêcher l'étalement

des colonies et d'obtenir des conditions semi-anaérobies. Enfin, on a laissé solidifié et inversé les boîtes de Pétri préparées pour les incuber à l'étuve réglée à 37°C pendant 24h±2h. Au moment de la lecture, seules les boîtes de Pétri contenant des colonies caractéristiques de couleurs roses à rouges ou violettes (avec ou sans halo de précipitation) sont choisies. Nous avons prélevé au hasard 2-5 colonies par boîte en vue du repiquage pour des essais de confirmations biochimiques. Pour ce faire, nous avons ensemencé en strie sur des boîtes de gélose nutritive chacune des colonies sélectionnées et incubé ces boîtes à 37°C pendant 24h±2h. A partir d'une colonie bien isolée sur chaque boîte de Pétri, on a fait l'identification des entérobactéries sur la galerie d'identification ENTEROTUBE II BBLTM.

I.3.2.3. Méthode horizontale pour la recherche des *Vibrionaceae*

Pour la préparation de la suspension-mère, nous avons prélevé 10g de l'échantillon que nous avons mis dans un sac STOMACHER 400 stérile sans filtre, puis complété avec de l'EPAS jusqu'à 100g. Ce prélèvement a été broyé par le STOMACHER^R 400 CIRCULATOR. D'abord, nous avons réalisé le premier enrichissement sélectif en incubant la suspension-mère à 37°C pendant 6h±1h. Puis, on a prélevé en surface 1ml de la culture obtenue et le transféré dans un tube contenant 10ml d'EPAS. Ce tube a été incubé à 41,5°C pendant 18h±1h. Ensuite, nous avons procédé à l'isolement et à l'identification à partir des cultures obtenues dans l'EPAS, en ensemencant avec une anse la surface d'une boîte de gélose TCBS de façon à permettre le développement de colonies bien isolées. Enfin, on a retourné les boîtes de gélose TCBS pour les placer dans une étuve réglée à 37°C. Après 24h±3h d'incubation, nous avons examiné les boîtes afin de rechercher la présence de colonies caractéristiques de *Vibrio spp.* qui sont lisses et de couleur verte ou jaune. Nous avons prélevé au hasard 2-5 colonies par boîte en vue du repiquage pour des essais de confirmations biochimiques. Pour ce faire, nous avons ensemencé en strie sur des boîtes de gélose nutritive salée chacune des colonies sélectionnées et incubé ces boîtes à 37°C pendant 24h±3h. A partir d'une colonie bien isolée sur chaque boîte de Pétri, on a fait l'identification par l'essai à l'oxydase.

I.3.2.4. Méthode horizontale pour la recherche des *Lactobacillaceae*

La suspension-mère a été obtenue en prélevant 10g de l'échantillon que nous avons mis dans un sac STOMACHER 400 stérile sans filtre, puis complété avec de l'EPT jusqu'à 100g. Ensuite, ce prélèvement a été broyé par le STOMACHER^R 400 CIRCULATOR et enfin, revivifié pendant 30mn à la température ambiante. Quant à l'ensemencement et l'incubation, on a transféré 0,1ml de la suspension-mère à l'aide d'une pipette stérile dans une boîte de Pétri stérile pré-coulée avec environ 15ml du milieu gélosé MRS, qui avait été préparé selon le protocole du fabricant et refroidi entre 44°C et 47°C au bain d'eau. Ensuite, à l'aide d'une étaieuse, on a étalé soigneusement l'inoculum sur

le milieu de culture MRS. Enfin, on a inversé les boîtes de Pétri préparées pour les incuber à l'étuve réglée à 30°C pendant 24h±2h. Au moment de la lecture, seules les boîtes de Pétri contenant des colonies caractéristiques de couleur blanche sont choisies. Nous avons prélevé au hasard 2-5 colonies par boîte en vue de l'identification par examen microscopique en faisant la coloration de Gram.

I.3.2.5. Méthode horizontale pour la recherche des *Clostridiaceae*

L'obtention de la suspension-mère s'est faite en prélevant 10g de l'échantillon que nous avons mis dans un sac STOMACHER 400 stérile sans filtre, puis complété avec de l'EPT jusqu'à 100g. Ensuite, ce prélèvement a été broyé par le STOMACHER^R 400 CIRCULATOR et enfin, revivifié pendant 30mn à la température ambiante. Quant à l'ensemencement et l'incubation, on a d'abord transféré en profondeur 1ml de la suspension-mère à l'aide d'une pipette stérile, dans des tubes contenant 15ml du milieu de culture TSC maintenue à 44°C dans l'étuve. Puis, on a mélangé doucement l'inoculum au milieu de culture, sans faire de bulles pour ne pas provoquer une oxygénation du milieu, par un mouvement de rotation ample du poignet. Ensuite, on a laissé le mélange se solidifier en plongeant les tubes dans l'eau froide. Et enfin, les tubes ont été placés dans des jarres pour anaérobiose, et incubés à l'étuve réglée à 37°C pendant 24h±2h. Au moment de la lecture, seules les tubes contenant des colonies caractéristiques de couleurs noires (avec ou sans halo de précipitation) ont été choisis. Nous avons prélevé au hasard 2-5 colonies par boîte en vue du repiquage pour des essais de confirmations biochimiques à l'aide du milieu lactose sulfite (LS), car la réaction obtenue sur le milieu LS incubé à 46°C est très spécifique de *Clostridium perfringens*.

I.4. Analyse statistique et exploitation des données enregistrées

Le logiciel EPIDATA a permis de saisir les données recueillies. Les tests statistiques Chi2 et Students (t) ont été respectivement utilisés pour faire des comparaisons des différentes proportions et moyennes.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSION

II.1. Résultats

Les 54 échantillons étaient repartis dans 6 lots de 9 échantillons de thon Listao chacun. Chaque lot correspondait à un bateau de pêche et chaque échantillon correspondait à une cale du bateau (cuve).

II.1.1. Niveau de contamination des thons Listaos par l'histamine

II.1.1.1. Résultats du lot 1

Le niveau de contamination du lot 1 est représenté par le **Tableau II**.

Tableau II : concentrations en histamine des échantillons du lot 1

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	1,89	00
2	2,01	00
3	1,56	00
4	2,13	00
5	2,91	00
6	3,40	00
7	2,05	00
8	1,97	00
9	5,60	00
Moyenne	2,61	00

*norme Codex Alimentarius < 10mg/100g

II.1.1.2. Résultats du lot 2

Le **Tableau III** révèle les niveaux de contamination des échantillons du lot 2.

Tableau III : concentrations en histamine des échantillons du lot 2

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	1,39	00
2	3,08	00
3	5,80	00
4	3,98	00
5	4,02	00
6	3,98	00
7	6,20	00
8	3,53	00
9	2,75	00
Moyenne	3,86	00

*norme Codex Alimentarius < 10mg/100g

II.1.1.3. Résultats du lot 3

Le niveau de contamination du lot 3 est représenté par le **Tableau IV**.

Tableau IV : concentrations en histamine des échantillons du lot 3

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	6,03	00
2	6,27	00
3	2,46	00
4	1,48	00
5	1,39	00
6	7,79	00
7	1,80	00
8	3,29	00
9	4,56	00
Moyenne	3,90	00

*norme Codex Alimentarius < 10mg/100g

II.1.1.4. Résultats du lot 4

Les taux d'histamine du lot 4 sont représentés par le **Tableau V**.

Tableau V : concentrations en histamine des échantillons du lot 4

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	1,92	00
2	1,31	00
3	4,94	00
4	6,38	00
5	1,43	00
6	1,55	00
7	3,16	00
8	5,03	00
9	2,97	00
Moyenne	3,19	00

*norme Codex Alimentarius < 10mg/100g

II.1.1.5. Résultats du lot 5

Les teneurs en histamine du lot 5 sont représentés par le **Tableau VI**.

Tableau VI : concentrations en histamine des échantillons du lot 5

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	2,58	00
2	3,60	00
3	3,24	00
4	3,53	00
5	1,07	00
6	3,40	00
7	3,98	00
8	3,16	00
9	4,20	00
Moyenne	2,61	00

II.1.1.6. Résultats du lot 6

Le niveau de contamination du lot 6 est représenté par le **Tableau VII**.

Tableau VII : concentrations en histamine des échantillons du lot 6

N° Echantillon	Taux histamine (mg/100g)	Echantillons non conformes*
1	4,01	00
2	3,97	00
3	1,40	00
4	3,50	00
5	6,05	00
6	1,81	00
7	5,65	00
8	4,70	00
9	2,33	00
Moyenne	3,71	00

*norme Codex Alimentarius < 10mg/100g

II.1.2. Niveau de contamination des thons Listaos par des bactéries histaminogènes en relation avec le taux d’histamine

II.1.2.1. Niveau de contamination des échantillons du lot 1 par des bactéries histaminogènes en relation avec le taux d’histamine

L’analyse microbiologique nous a permis de connaître le niveau de contamination bactérienne du lot 1. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau VIII**.

Tableau VIII : Présence des bactéries histaminogènes en relation avec les taux d’histamine des échantillons du lot 1

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d’histamine (mg/100g)	1,89	2,01	1,56	2,13	2,91	3,4	2,05	1,97	5,6
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Morganella psychrotolerans</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	00	00	00	00	00	01	00	00	06

II.1.2.2. Niveau de contamination des échantillons du lot 2 par des bactéries histaminogènes en relation avec le taux d’histamine

Après l’analyse des échantillons du lot 2 les résultats obtenus ont été enregistrés dans le **Tableau IX**.

Tableau IX : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 2

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d'histamine (mg/100g)	1,39	3,08	5,8	3,98	4,02	3,98	6,2	3,53	2,75
<i>Morganella morganii</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Morganella psychrotolerans</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	00	00	05	02	01	01	08	01	00

II.1.2.3. Niveau de contamination des échantillons du lot 3

Le **Tableau X** nous présente les différents niveaux de contamination du lot 3.

Tableau X : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 3

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d'histamine (mg/100g)	6,03	6,27	2,46	1,48	1,39	7,79	1,8	3,29	4,56
<i>Morganella morganii</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Morganella psychrotolerans</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Lactobacillus spp.</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	06	08	00	00	00	08	00	00	04

II.1.2.4. Niveau de contamination des échantillons du lot 4

Le **Tableau XI** nous présente les différents niveaux de contamination du lot.

Tableau XI : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 4

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d'histamine (mg/100g)	1,92	1,31	4,94	6,38	1,43	1,55	3,16	5,03	2,97
<i>Morganella morganii</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Morganella psychrotolerans</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	00	00	04	08	00	00	00	05	00

II.1.2.5. Niveau de contamination des échantillons du lot 5

Le **Tableau XII** nous présente les différents niveaux de contamination du lot 5.

Tableau XII : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 5.

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d'histamine (mg/100g)	2,58	3,6	3,24	3,53	1,07	3,4	3,98	3,16	4,56
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Morganella psychrotolerans</i>	-	+	-	+	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	00	01	00	01	00	00	01	00	01

II.1.2.6. Niveau de contamination des échantillons du lot 6

Le **Tableau XIII** présente les différents niveaux de contamination du lot 6.

Tableau XIII : Présence des bactéries histaminogènes dans le lot 6

N° Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Taux d'histamine (mg/100g)	4,01	3,97	1,4	3,5	6,05	1,81	5,65	4,7	2,33
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Morganella psychrotolerans</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Vibrio spp.</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Bactérie identifiée/Echantillon	01	01	00	01	08	00	06	02	00

Au total, après le dosage de l'histamine, il ressort que 100% des échantillons ont été conformés à la norme du Codex Alimentarius sur la teneur en histamine dans le thon. Aussi, l'analyse microbiologique nous révèle la présence de *Morganella psychrotolerans* dans 100% des lots étudiés et celle de *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* dans 83,33% des lots étudiés. *Morganella psychrotolerans* était présente dans 25 échantillons soit 46,3% des échantillons analysés ; *Morganella morganii* dans 12 soit 22,22% ; *Enterobacter aerogenes* dans 11 soit 20,37% ; *Klebsiella pneumoniae* dans 10 soit 18,52% ; *Escherichia coli* et *Clostridium perfringens* dans 5 soit 9,26% ; *Vibrio spp.* dans 13 soit 24,07% et enfin, *Lactobacillus spp.* dans 9 soit 16,66%.

II.2. Discussion

II.2.1. Contaminations du lot 1

Tous les échantillons du lot 1 ont été conformes à la norme du Codex Alimentarius avec une teneur moyenne de 2,61mg/100g. Ces résultats concordent avec ceux de **LAURENT** et **BENNASAR** qui, au cours d'études sur la teneur en histamine dans les thons frais et les conserves en **1995**, avaient trouvé des teneurs moyennes < 3mg/100g. Le SCAV de Genève, pour des études similaires, avait trouvé que la grande majorité des thons livrés (95%) sont soit exempts d'histamine, soit n'en contenaient que de faibles quantités (**SCAV, 2008**). Ces résultats peuvent s'expliquer par le bon respect des mesures d'hygiène et de la chaîne de froid. Mais, *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio spp.* et *Lactobacillus spp* dans l'échantillon 9 est probablement liée à une contamination au cours des premières manipulations post-captures (**DIOP M.B., DESTAIN J., TINE E. et al., 2010**). En effet, il existe une relation entre la qualité microbiologique et la présence d'histamine dans la chair des thons (**EMBORG J., DALGAARD P., 2006**). *Morganella psychrotolerans* dans l'échantillon 6, malgré son faible taux en histamine, peut être due à la résistance de cette bactérie à la chaîne de froid. D'après **DALGAARD en 2007**, *Morganella psychrotolerans* peut produire de l'histamine à de basses températures (0-5°C).

II.2.2. Contaminations du lot 2

Comme précédemment, tous les échantillons du lot 2 ont été conformes à la norme du Codex Alimentarius et la teneur moyenne était de 3,86mg/100g. Ces résultats concordent avec ceux de **FALL M. et al en 2010** qui, au cours d'études sur la teneur en histamine dans différentes présentations de poissons consommés au Sénégal, avaient trouvé des teneurs moyennes >3mg/100g. Les échantillons 3 et 7, dont les taux d'histamine étaient >5mg/100 (teneur physiologique), ont été les plus contaminés. Cela confirme la relation qui existe entre la qualité microbiologique et la présence d'histamine. Ainsi donc, l'augmentation du taux d'histamine dans ces 2 échantillons est certainement liée à la présence de *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Vibrio spp*, *Lactobacillus spp* et *Clostridium perfringens*. Les thons peuvent présenter des concentrations musculaires élevées en histamine, en relation avec la présence en excès de bactéries dites « histaminogènes » (**SMART D.R., 1992**). *Morganella psychrotolerans* dans les échantillons 4 et 8 pourrait résider dans la particularité de cette bactérie à produire de l'histamine à des basses températures (**DALGAARD P., 2007**). Quant à *Klebsiella pneumoniae* dans l'échantillon 4, on peut penser à la flore normale chez le thon. Parmi les bactéries les plus fréquemment retrouvées on a *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter intermedium* (**EMBORG J., DALGAARD P., 2006 ; EITENMILLER R.R., 1982**).

II.2.3. Contaminations du lot 3

La teneur moyenne en histamine du lot 3 était de 3,90mg/100g ; cela est lié à l'espèce *Listia* qui est plus richement vascularisé et présente toujours le taux le plus important (LAURENT G., BENNASAR M., 1995). Cette valeur est largement inférieure à la norme de 10mg/100g. Dans les échantillons 1, 2 et 6, on a également constaté la présence de *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Vibrio spp*, *Lactobacillus spp* et *Clostridium perfringens*. Ceci s'explique par le fait que l'histamine exogène est issue de la décarboxylation enzymatique de l'histidine qui peut être réalisée par autolyse en faible quantité (OKUZUMI M., 1984). Mais la majorité de la production d'histamine est liée à l'activité d'une histidine décarboxylase bactérienne produite par certaines souches bactériennes du genre *Proteus*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Vibrio* (BEHLING A.R., TAYLOR S.L., 1982 ; TAYLOR S.L., 1985 ; FLICK G.J., ORIA M.P., DOUGLAS L., 2001 ; TAKAHASHI H., KIMURA B., YOSHIKAWA M., FUJII T., 2003). Cette enzyme possède comme cofacteur le phosphate de pyridoxal, ou le résidu pyruvoyl chez *Lactobacillus spp*. (EITENMILLER R.R., DE SOUZA S.C., 1984). *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes* et *Vibrio spp*., dans l'échantillon 9, bien que le taux d'histamine est <5mg/100g, s'expliquerait par la multiplication de ces bactéries au cours de la décongélation lente car les bactéries productrices d'histamine peuvent se développer et produire l'histamine sur une gamme large de température (EITENMILLER R.R., 1982 ; OZOGUL F., 2004).

II.2.4. Contaminations du lot 4

La teneur moyenne en histamine du lot 4 était de 3,19mg/100g. Cette valeur est largement inférieure à la norme de 10mg/100g. Ces résultats concordent avec ceux de DODO en 1990. *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Vibrio spp*, *Lactobacillus spp* et *Clostridium perfringens* dans les échantillons 4 et 8 ; *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Klebsiella pneumoniae* et *Vibrio spp* dans l'échantillon 3. Ceci s'explique par le fait que ces bactéries se sont multipliées au cours du temps séparant la capture et l'analyse microbiologique. En effet, après la mort du poisson et dans certaines conditions de stockage (2-5 °C) les bactéries produisant l'histidine décarboxylase peuvent se multiplier conduisant ainsi la formation d'histamine. Cette production peut être parfois très rapide à partir de 10 °C (DALGAARD P., 2007).

II.2.5. Contaminations du lot 5

La teneur moyenne en histamine du lot 5 était de 3,20mg/100g. Cette valeur est largement inférieure à la norme de 10mg/100g. Ces résultats sont corroborés par CRAVEN et al en 2001 qui évoquaient que les thons congelés immédiatement

après le mort à 10°C ou en dessous, ont une faible teneur en histamine. On n'a jamais relevé de production d'histamine par *Morganella morganii* lorsque les températures étaient constamment <5°C (KLAUSEN et HUSS, 1987). Cependant, *Morganella psychrotolerans* a la capacité de se multiplier à des températures plus basses de l'ordre 0°C. Ceci explique l'unique présence de cette dernière dans les échantillons 2, 4, 7 et 9 du lot 5.

II.2.6. Contaminations du lot 6

Tous les échantillons du lot 6 ont été conformes à la norme du Codex Alimentarius avec une teneur moyenne de 3,71mg/100g. Ces résultats concordent aussi avec ceux de FALL M. et al en 2010. On a noté des taux d'histamine dépassant la teneur physiologique dans les échantillons 5 et 7. Cela est probablement dû à la présence, dans ces échantillons, de bactéries capables de synthétiser l'histidine décarboxylase. On peut souligner que la production endogène de l'histamine (autolyse par les enzymes tissulaires) est beaucoup moins importante que celle par la voie exogène bactérienne (WENDAKOON et SAKAGUCHI, 1992). En effet, l'analyse microbiologique a révélé la présence de *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Vibrio spp.*, *Lactobacillus spp.* et *Clostridium perfringens* dans lesdits échantillons. Ce qui confirme encore une fois de plus la relation existant entre la qualité microbiologique et la présence d'histamine. La présence de *Morganella psychrotolerans* dans les échantillons 1 et 8 pourrait résider dans la particularité de cette bactérie. Et celle de *Vibrio spp* dans l'échantillon 8 peut être due à la contamination post-capture. Cette contamination peut survenir à différents niveaux : bateau de pêche, processus de conditionnement, système de distribution (chaîne du froid) et au niveau de l'utilisateur (PULCE C., 2003). La présence de *Morganella psychrotolerans* dans 100% des lots étudiés et celle de *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* dans 83,33% des lots étudiés, attestent les propos de MALLE en 2006, qui confirmait que les principales bactéries histaminogènes étaient de la famille des *Enterobacteriaceae*. Contrairement à KAWABATA et al., en 1955 qui affirmaient que seules les souches de *Morganella morganii* produisaient de l'histamine en grande quantité dans la chair crue broyée des thons ; et aussi, KIM et al., en 2002, qui ont considéré *Photobacterium damsela* comme la plus prolifique dans la formation de l'histamine ; il ressort que *Morganella psychrotolerans* est la meilleure bactérie histaminogène. Cette différence peut être liée à l'espèce pélagique car KIM et al., en 2002 ont travaillé sur le thon *albacore* frais.

RECOMMANDATION

A l'issue de ce travail nous nous sommes rendu compte que plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la mauvaise qualité des thons utilisés dans la fabrication des conserves. Ainsi, nos recommandations s'adresseront à la SE-SNCDS qui pour maintenir la qualité des thons livrés doit :

- respecter de façon scrupuleuse la chaîne de froid et la traçabilité tout au long de cette chaîne ;
- former les différents acteurs aux règles de bonnes pratiques d'hygiène ;
- éviter des stockages trop prolongés.

CONCLUSION

Le contrôle de la qualité des thons s'avère nécessaire d'où l'intérêt de ce travail d'étude de la relation entre le taux d'histamine dans le thon frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes. Cette étude a porté sur 54 échantillons de thon Listao. Après l'analyse et le traitement des données, les principaux résultats sont les suivants :

- 100% des échantillons ont été conformés à la norme du Codex Alimentarius sur la teneur en histamine dans le thon ;
- 100% des lots étudiés ont été contaminés par *Morganella psychrotolerans* ;
- 83,33% des lots étudiés ont été contaminés par *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* ;
- 46,3% des échantillons ont été contaminés par *Morganella psychrotolerans* ;
- 22,22% des échantillons ont été contaminés par *Morganella morganii* ;
- 20,37% des échantillons ont été contaminés par *Enterobacter aerogenes* ;
- 18,52% des échantillons ont été contaminés par *Klebsiella pneumoniae* ;
- 9,26% des échantillons ont été contaminés par *Escherichia coli* ;
- 24,07% des échantillons ont été contaminés par *Vibrio spp.* ;
- 16,66% des échantillons ont été contaminés par *Lactobacillus spp.* ;
- 9,26% des échantillons ont été contaminés par *Clostridium perfringens*.

Il ressort qu'il existe une relation entre le taux d'histamine dans le thon Listao frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes. Mais, l'étude ayant été menée sur un échantillonnage restreint et non diversifié mérite d'être étendue à toutes les étapes de la transformation et sur une variété d'espèces pélagiques plus grande.

BIBLIOGRAPHIE

- 1. ABABOUC H., AFILAL M.E., BENABDELJILIL H., BUSTA F.F. 1991.** Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardines stored at ambient temperature and in ice. *International journal of food science and technology* 26, p. 297-306.
- 2. ABBAS A., LICHTMAN A., POBER J. 1994.** Immunologie cellulaire et moléculaire. Philadelphie, PA : W.B. Saunders Compagny. p. 287.
- 3. ABITAN G., 1986.** L'histamine dans les denrées alimentaires. Th. Méd. Vét. : Alfort ;50.
- 4. AOAC, 1990.** Official methods of analysis of the Association of the Official Analysis Chemists. Food Composition, Additives, Natural Contaminants; 15th ed. Arlington; pp.876-877.
- 5. ARNOLD S., BROWN W., 1978.** Histamine, toxicity from fish products. In *Advance in food research* (Ed. E.M. Mrak and G.F. Stewart), pp 113-154. Academic press Inc., New York.
- 6. AU-SENEGAL.** Carte administrative du Sénégal. [En ligne] accès internet : http://www.au-senegal.com/decouvrir/cart_sen.htm.
- 7. BAO-SHYUNG H., JIH-TERNG W., YOUK-MENG C., 2003.** A rapid gas chromatographic method for the determination of histamine in fish and fish products. Department of Food Science and Technology, Tajen Institute of Technology, 20 Wei-Shin Road, Yan-Puu Hsiang, Pingtung 907, Taiwan.
- 8. BEHLING A.R., TAYLOR S.L., 1982.** Bacterial histamine production as a function of temperature and time. *Journal of Food Science*; 47: 1311-1314.
- 9. BOURGEOIS C., MESCLE J., ZUCCA J., 1988.** Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. *Microbiologie alimentaire*. Éditions Lavoisier, Paris.
- 10. BOUTIN J.P., 1997.** A propos d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à l'histamine survenue à Brest. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*; 25 : 116-117.
- 11. BRINK B., DAMINK C., JOOSTEN H., HUIS J. 1990.** Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol.* 11:73-84.
- 12. CHAABOUNI M., 2011.** L'histamine dans les produits de la pêche. *Bulletin d'information des Services Vétérinaires* ; 7 : 1-8.
- 13. CRAHAY F., NOIRFALISE A., 1996.** Les amines biogènes dans les aliments. *Rev. Med. Liège*; 51 (7) : 479-484.
- 14. CRAVEN C., HILDERBRAND K., KOLBE E., SYLVIA G., DAESCHEL M., GLORIA B., AN H.J., 2001.** Understanding and controlling histamine formation in troll-caught albacore tuna: a review and update of preliminary findings from the 1994 season. Oregon State University Sea Grant; Publication No. ORESU-T-01-001.
- 15. DALGAARD P., 2007.** In *Proceedings of the 52nd atlantic fisheries technology conference*, Partland (USA).1-16.
- 16. DALGAARD P., et al., 2008.** Result of biogenic amine concentration and

microflora in seafood causing histamine fish poisoning. SEAFOOD plus Publication series, report 3.4.2: 1-9.

17. DIOP M.B., DESTAIN J., TINE E. et al., 2010. Les produits de la mer au Sénégal et le potentiel des bactéries lactiques et des bactériocines pour la conservation. Biotechnol. Agron. Soc. Environ ; 14(2) : 341-350.

18. DUFLOS G., 2009. Le risque histamine dans les produits de la pêche. Bull. Acad. Vét. France - 2009 - Tome 162 - N°3.

19. DODO K., 1990. Contribution à l'étude de l'évolution du taux d'histamine au cours de la fabrication de conserves de thon (*Katsuwonus pelamis*) au Sénégal. Th. Méd. Vét. : Dakar ; 12.

20. EITENMILLER R.R., 1982. Histamine formation in fish : microbiological and biochemical conditions. Chemistry and Biochemistry of marine Products; pp. 39-49.

21. EITENMILLER R.R., DE SOUZA S.C., 1984. Enzymatic mechanisms for amine formation in fish. ACS symposium series 262. Washington, DC; pp. 431-442.

22. EMBORG J., DALGAARD P., 2006. Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. Journal of Food protection; 6: 897-906.

23. EMBORG J., DALGAARD P., KJOLBY A., SORENSEN N., LARSEN., 2008. Result of biogenic amine concentration and microflora in seafood causing histamine fish poisoning. SEAFOOD plus Publication series, report 3.4.2: 1-9.

24. FALL M. et al., 2010. Teneur en histamine dans les différentes présentations de poissons consommés au Sénégal. Société des Experts Chimistes de France : 43-49.

25. FAO, 2001. Normes codex pour le thon et la bonite en conserve (codex stan 70). Rome, 2001, pp. 79-85.

26. FAO, 2008. Profil de la pêche par pays: la république du Sénégal. Rapport FAO Janvier 2008.

27. FDA, 2001. Environmental Chemical Contaminants and Pesticides. In: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. 3rd ed., Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington DC, Chap. 9, pp. 105-124.

28. FLICK G.J., ORIA M.P., DOUGLAS L., 2001. Potential hazards in cold-smoked fish: biogenic amines. Journal of Food Science; 66: 1088-1099.

29. HALASZ A., BARATH A., SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W., 1994. Biogenic amines and their product by micro-organisms in food. Trends in Food Science and Technology; 5 (2): 42-49.

30. IJOMAH P., CLIFFORD M., WALKER R., WRIGHT J., HARDY R., MURRAY C., 1991. The importance of endogenous histamine relative to dietary histamine in the etiology of scombrototoxicosis. Food Addit Contam. 8: 531-542.

31. JOOSTEN H., NORTHOLT L., 1989. Detection, growth, and amine-producing capacity of Lactobacilli in cheese. Appl Environ Microbiol. 2356-2359.

- 32. Journal officiel de l'union européenne ;** Règlement (CE) n° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires, 2005, p.11.
- 33. KAWABATA T. et al., 1955.** Studies of the food poisoning associated with putrefaction of marine products. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish; 21, p. 335-351 et p. 1167-1956. Studies of the food poisoning associated with putrefaction of marine products. Ibid; 22, p. 41-47.
- 34. KIMATA M., KAWAI A., 1951.** The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. - Bull. Res. Inst, food Sci., Kyoto Univ., 5, p. 21-28 et 6, p. 23-29. - 1952. - The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. - Ibid., 10, p. 83-88 et 89-93.
- 35. KIM S.H., PRICE R.J., MORRISSEY M.T., FIELD K.G., WEI C.I., AN H., 2002.** Occurrence of histamine-forming bacteria in albacore and histamine accumulation in muscle at ambient temperature. Journal of Food Science; 67 (4): 1515-1521.
- 36. KLAUSEN N.K., LUND E., 1986.** Formation of biogenic amines in herring and mackerel. Z Lebensm Unters Forsch. 182: 459–463.
- 37. KLAUSEN N.K., HUSS H.H., 1987.** Growth and histamine production by *Morganella morganii* under various temperature conditions. International journal of food science and technology 5, p. 147-156.
- 38. LAURENT G., BENNASAR M., 1995.** Teneur en histamine dans les thons frais et conserves. Médecine et nutrition 1995 ; 31 (1) : 23-33.
- 39. LOPEZ-SABATER E., RODRIGUEZ-JEREZ J., ROIG-SAGUES X., MORA-VENTURA M., 1994.** Bacteriologic quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning : effect of tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteria and histamine level. J Food Protect. 57(4): 318–323.
- 40. MALLE P., 2006.** Fiche de description de danger transmissible par les aliments: histamine. www.afssa.fr
- 41. OKUZUMI M., 1984.** Occurrence of various histamine-forming bacteria in/on common mackerel stored at various temperatures. Nippon Suisan Gakkaishi; 50 (4): 653-657.
- 42. OZOGUL F., 2004.** Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvei* using rapid HPLC method. European Seafood Research and Technology; 219 (5): 465-469.
- 43. PELLISSIER P., 2007.** Mécanismes d'accumulation post-mortem d'histamine dans les poissons et méthodes de dosage. Mémoire Master II : Biologie géo - sciences agro-ressources et environnement spécialité productions animales en région chaudes ; Montpellier (CIRAD).
- 44. PELLISSIER P., 2007.** Evaluation des méthodes rapides et recherche de techniques alternatives pour la détection de l'histamine et du syndrome de chair brûlée

dans le thon (île de la Réunion). Rapport de stage Master II : Biologie géo - sciences agro-ressources et environnement spécialité productions animales en région chaudes ; Montpellier (CIRAD).

45. PULCE C., 2003. Intoxication histaminique d'origine alimentaire ou intoxication scombroïde. VIGItax N°20 ; Mars 2003 ; p 2.

46. RICE S., KOEHLER P., 1976. Tyrosine and histidine decarboxylase activities of *Pediococcus cerevisiae* and *Lactobacillus* species and the production of tyramine in fermented sausages. *J Milk Food Technol.* 39 (3) : 166–169.

47. ROIG-SAGUES A., HERNANDEZ-HERRERO M., LOPEZ-SABATER I., RODRIGUEZ-JEREZ J., MORA-VENTURA M., 1996. Histidine decarboxylase activity of bacteria Isolated from raw and ripened Salchichon, a spanish cured sausage. *J Food Protect.* 59 (5) : 516–520.

48. SCAV, 2008. Etude relative aux teneurs en histamine dans les thons frais lors de leur livraison aux importateurs genevois. Rapport histamine-thon 2007. Genève 2008.

49. SMART D.R., 1992. Scombroid poisoning: a report of seven cases involving the western Australian salmon, *Arripis truttaceus*. *Med J Aust*; 157: 748-751.

50. SOMPAYRAC et LAURAN, 1999. Comment le système immunitaire fonctionne. Malden, mA : La science de blackbell. p 37-38, 88.

51. SONNE A., LA VALLEE H., RITTER M., GARDNER P. 1995. Pharmacologie. New York: Churchill Livingstone. p. 226-229.

52. TAKAHASHI H., KIMURA B., YOSHIKAWA M., FUJII T., 2003. Cloning and sequencing of the histidine decarboxylases genes of gram-negative, histamine-producing bacteria and their application in detection and identification of these organisms in fish. *Applied and Environmental Microbiology*; 69 (5): 2568-2579.

53. TAYLOR S.L., 1985. Histamine poisoning associated with fish, cheese, and other foods. World Health Organisation; pp. 1-47.

54. TAYLOR S.L., 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspect. *Cr Rev Toxicol.* 17 : 91-128.

55. Wei C.I., Chen C.-M., Koburger, Otwell W.S., Marshall M.R., 1990. Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged Tuna. *Journal of Food Science*; 55 (1): 59-63.

56. WENDA KOON C.N., 1990. Comparison of non-volatile amine formation between the dark and white muscles of mackerel during storage. *Nippon Suisan Gakkaishi*; 56 (5): 809-818.

57. WENDA KOON C.N., SAKAGUCHI M., 1992. Effect of spices on growth and biogenic amines formation by bacteria in fish muscle. *Quality assurance in the fish industry* 30: 305-313.

ETUDE DE LA RELATION ENTRE LE TAUX D'HISTAMINE DANS LE THON FRAIS ET LE NIVEAU DE CONTAMINATION PAR LES BACTERIES HISTAMINOGENES	STUDY OF THE RELATION BETWEEN HISTAMINE LEVELS IN FRESH TUNA AND LEVELS OF CONTAMINATION BY HISTAMINE PRODUCING BACTERIA
Résumé : Le secteur thonier sénégalais occupe une bonne position en Afrique et dans le monde. Cependant, la consommation des thons peut engendrer des risques potentiels d'intoxication histaminique. De ce fait, un contrôle de la qualité de ces denrées alimentaires apparaît nécessaire. C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'étudier la relation entre le taux d'histamine dans le thon frais et le niveau de contamination par les bactéries histaminogènes. Pour ce faire, 54 échantillons de thon <i>listao</i> ont été collectés. Le dosage de l'histamine a été réalisé, à l'aide d'un fluorimètre JENWAY 6280 FLUORIMETER, conformément à la méthode recommandée par le Codex Alimentarius. Pour l'analyse microbiologique, les méthodes recommandées par l'ISO pour les examens microbiologiques des aliments ont été réalisées. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel EPIDATA ANALYSIS. Ainsi, 100% des échantillons ont été conformés à la norme du Codex Alimentarius sur la teneur en histamine dans le thon ; 100% des lots étudiés ont été contaminés par <i>Morganella psychrotolerans</i> ; 83,33% des lots étudiés ont été contaminés par <i>Morganella morganii</i>, <i>Enterobacter aerogenes</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; 46,3% des échantillons ont été contaminés par <i>Morganella psychrotolerans</i> ; 22,22% des échantillons ont été contaminés par <i>Morganella morganii</i> ; 20,37% des échantillons ont été contaminés par <i>Enterobacter aerogenes</i> ; 18,52% des échantillons ont été contaminés par <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; 9,26% des échantillons ont été contaminés par <i>Escherichia coli</i> et par <i>Clostridium perfringens</i> ; 24,07% des échantillons ont été contaminés par <i>Vibrio spp.</i> et 16,66% des échantillons ont été contaminés par <i>Lactobacillus spp.</i> Pour étayer ces résultats, cette étude doit être étendue à d'autres espèces pélagiques et à toutes les étapes de la transformation. Mots clés : Histamine, Thon frais, Bactéries Histaminogènes, Contamination, Sénégal	Abstract : The Senegalese tuna sector occupies a good position in Africa and the world. However, the consumption of tunas can cause possible histamine poisoning hazards. Quality control on these foodstuffs should therefore be envisaged. Thus we decided to study the relation between the histamine levels in fresh tuna and the levels of contamination by histamine producing bacteria. In order carry out the investigation, 54 skipjack tuna samples were collected. The determination of the histamine level was carried out, using a JENWAY 6280 FLUORIMETER, in accordance with the method recommended by the Codex Alimentarius. For the microbiological analysis, methods recommended by the ISO for microbiological testing on food were carried out. The statistical analyzes were done with the aid of EPIDATA ANALYSIS software. Hence, 100% of the samples complied with the Codex Alimentarius standard on histamine content in tuna; 100% of the batches studied were contaminated by <i>Morganella psychrotolerans</i>; 83.33% of the batches studied were contaminated by <i>Morganella morganii</i>, <i>Enterobacter aerogenes</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i>; 46.3% of the samples were contaminated by <i>Morganella psychrotolerans</i>; 22.22% of the samples were contaminated by <i>Morganella morganii</i>; 20.37% of the samples were contaminated by <i>Enterobacter aerogenes</i>; 18.52% of the samples were contaminated by <i>Klebsiella pneumoniae</i>; 9.26% of the samples were contaminated by <i>Escherichia coli</i> and <i>Clostridium perfringens</i>; 24.07% of the samples were contaminated by <i>Vibrio spp.</i> and 16.66% of the samples were contaminated by <i>Lactobacillus spp.</i> To back up these results, this study should be extended to other pelagic species and all processing stages. Key words: Histamine, Fresh tuna, Histamine producing bacteria, contamination, Senegal.
Auteur : Dieudonné TIALLA Adresse : S/C Dakar DJIRI 03 BP 7027 OUAGADOUGOU 03/Burkina Faso E-mail : tialladfaso@yahoo.fr Tél : +221 77 312 63 43 (Sénégal) ; +226 76 64 85 47 (Burkina Faso).	