



**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EVOLUTION DU TAUX
D'HISTAMINE AU COURS DE LA FABRICATION DE
CONSERVES DE THON (KATSUWONUS PELAMIS) AU SENEGAL**



T H E S E :

présentée et soutenue publiquement le 27 Juin 1990
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
pour obtenir le grade de DOCTEUR VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

par

Kimba DODO

né en 1965 à TIAOUYÉ (Niger)

ECOLE INTER-ÉTATS
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHÈQUE

- Président du Jury** : Monsieur François DIENG
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- Rapporteur** : Monsieur Malang SEYDI
Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Membres** ; Monsieur François Adébayo ABIOLA
Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Monsieur Michel BENNASAR
Maître de Conférences à l'E.N.S.U.T. de Dakar

Scolarité
MS/fd

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

I. PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1- ANATOMIE- HISTOLOGIE- EMBRYOLOGIE

Kondi M. AGBA
Jacque ALAMARGOT
Amadou NCHARE

Maître de Conférences Agrégé
Assistant
Moniteur

2- CHIRURGIE- REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP
Franck ALLAIRE
Nahé DIOUF (Mlle)

Maître de Conférences Agrégé
Assistant
Monitrice

3- ECONOMIE- GESTION

Cheikh LY

Assistent
ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR

4- HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES
ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Malang SEYDI
Ibrahim SALAMI

Maître de Conférences Agrégé
Moniteur

5- MICROBIOLOGIE- IMMUNOLOGIE
PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO
Rienatou ALAMBEDJI (Mme)
Idrissou BAPETEL

Professeur Titulaire
Assistante
Moniteur

6- PARASITOLOGIE- MALADIES PARASITAIRES- ZOOLOGIE

Louis Joseph PANGUI
Jean BELOT
Charles MANDE

Maître de Conférences Agrégé
Maître-Assistant
Moniteur

**7- PATHOLOGIE MEDICALE- ANATOMIE PATHOLOGIQUE
ET CLINIQUE AMBULANTE**

Théodore ALOGNINOUBA
Roger PARENT
Jean PARANT
Yalacé Y. KABORET
Lucien MBEURNODJI

Maître de Conférences Agrégé
Maître-Assistant
Maître-Assistant
Assistant
Moniteur

8- PHARMACIE- TOXICOLOGIE

François A. ABIOLA
Moctar KARIMOU

Maître de Conférences Agrégé
Moniteur

**9- PHYSIOLOGIE- THERAPEUTIQUE-
PHARMACODYNAMIE**

Alessane SERE
Moussa ASSANE
Mohamadou M. LAWANI
Lota Dabio TAMINI

Professeur Titulaire
Maître-Assistant
Moniteur
Moniteur

**10- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES
ET MEDICALES**

Germain Jérôme SAWADOGO
Adam ABOUNA

Maître de Conférences Agrégé
Moniteur

11- ZOOTECNIE- ALIMENTAIRE

Kodjo Pierre ABASSA
Mobinou A. ALLY

Assistant
Moniteur

**- CERTIFICAT PREPARATOIRE AUX ETUDES
VETERINAIRES (CPEV)**

Tchala KAZIA

Moniteur

II. PERSONNEL VACATAIRE

- BIOPHYSIQUE

René NDOYE

Professeur
Faculté de Médecine et de
Pharmacie
Université Ch. A. DIOP.

Jacqueline PIQUET (Mme)

Chargée d'enseignement
Faculté de Médecine et de
Pharmacie
Université Ch. A. DIOP

Alain LECOMTE

Maître- Assistant
Faculté de Médecine et de
Pharmacie
Université Ch. A. DIOP

Silvie GASSAMA (Mme)

Maître de Conférences Agrégée
Faculté de Médecine et de
Pharmacie
Université Ch. A. DIOP

- BOTANIQUE- AGRO- PEDOLOGIE

Antoine NONGONIERMA

Professeur
IFAN- Institut Ch. A. DIOP
Université Ch. A. DIOP

III. PERSONNEL EN MISSION (Prévu pour 1989- 1990)

- PARASITOLOGIE

Ph. DORCHIES

Professeur
ENV- TOULOUSE

L. KILANI

Professeur
ENV SIDI THABET (TUNISIE)

S. GEERTS

Professeur
Institut Médecine Vétérinaire
Tropicale- ANVERS (BELGIQUE)

- PATHOLOGIE PORCINE
ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

A. DEWAELE

Professeur
Faculté Vétérinaire de CURGHEM
Université de LIEGE (BELGIQUE)

- PHARMACODYNAMIE

H. BRUGERE

Professeur
ENV- ALFORT

- PHYSIOLOGIE

J. FARGEAS

Professeur
ENV- TOULOUSE

-MICROBIOLOGIE- IMMUNOLOGIE

J. DUDAR

Professeur
ENV- LYON

Nadia HADDAD (Mlle)

Maître de Conférences Agrégée
ENV- SIDI THABET (TUNISIE)

- PHARMACIE- TOXICOLOGIE

L. EI BAHRI

Professeur
ENV- SIDI THABET (TUNISIE)

M. A. ANSAY

Professeur
Faculté de Médecine Vétérinaire
Université de LIEGE (BELGIQUE)

- ANATOMIE PATHOLOGIE SPECIALE

F. CRESPEAU

Professeur
ENV- ALFORT

-DENREOLOGIE

M. ECKHOUTE

Professeur
ENV- TOULOUSE

J. ROZIER

Professeur
ENV- ALFORT

- CHIRURGIE

A. CAZIEUX

Professeur
ENV- TOULOUSE

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL...

- au NIGER;
- au SENEGAL;
- à la FAO et au Projet NER 87/015 pour l'appui à la réalisation de ma vocation;
- à mon père DODO MOUSSA;
- à ma mère AISSA HAROUNA;
- à Monsieur GANDA DJIBO & famille;
- à la mémoire de feu NOMA DJIBO et de feu ZARAFI DJADO;
- à Monsieur ABDOU SALEYE & famille;
- à mes frères et à mes sœurs;
- à tous mes amis;
- à Mademoiselle ZOUERA ABDOU;
- à Monsieur CHEICK FALL & famille à Fatick (SENEGAL);
- à toutes mes connaissances.

A NOS MAITRES ET JUGES

Monsieur François DIENG

Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar.

Pour l'honneur que vous nous faites en acceptant spontanément d'assurer la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

Monsieur Malang SEYDI

Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar.

Vous nous avez guidé avec compétence dans l'élaboration de cette thèse dont vous avez inspiré le sujet. Votre amour du travail, votre souci de la perfection et votre disponibilité permanente forcent l'admiration.

Très haute considération.

Monsieur François Adebayo ABIOLA

Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar.

Vous avez participé à l'élaboration de ce travail de façon active et permanente. Votre ardeur au travail, votre disponibilité constante et votre souci de l'efficacité dans l'imagination nous ont toujours impressionné.

Vous avez toute notre sympathie et nos sincères remerciements.

Monsieur Michel BENNASAR

Maître de Conférences à l'E.N.S.U.T de Dakar.

Vous avez accepté avec plaisir et spontanéité de nous recevoir dans votre laboratoire et de faire partie de notre jury de thèse. Votre contribution à ce travail est très immense. Votre simplicité, vos qualités humaines et votre disponibilité constante sont fascinantes.

Trouvez ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de cette thèse, en particulier:

- au Docteur N'DIAGA GUEYE (DOPM);
- au Docteur KEITA (DOPM);
- au Docteur MICHEL BENNASAR et tout le personnel du L.A.E. de l'E.N.S.UT (Mr FALILOU, Mr LIMA, Mme FALL,...);
- au Directeur de la SNCDS;
- aux responsables à la production de la SNCDS (Mr BADJO, Mr JEAN-PAUL, Mr MOUSSA);
- à Mr DIOUF et Mr N'DOUR (INTERCO);
- à Mr DIAO (E.I.S.M.V);
- à Mr SAGNA et Mlle KHADY DIOP (SNCDS);
- à Mlle NADIA et Mr N'GADJI (L.E.P.I);
- à Mr OUSMANE MAHAMADOU (L.P.S /E.N.S.U.T).

" Par délibération, la faculté et l'Ecole ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation ".

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	4
<u>Chapitre 1: HISTAMINE</u>	5
1.1. Historique	5
1.2. Formation dans les poissons: mécanisme et facteurs de variation	6
1.2.1. Teneur en histidine	6
1.2.2. Importance des enzymes histidine- décarboxylases	10
1.2.2.1. Degré de contamination avant le stockage	10
1.2.2.2. Conditions de stockage	15
1.2.2.3. Influence technologique	20
1.3. Différents taux en fonction des stades de la filière poisson	23
1.4. Normes	24
1.5. Méthodes de dosage et toxicité	27
1.5.1. Méthodes de dosage	27
1.5.2. Toxicité	28
<u>Chapitre 2: INTOXICATIONS HISTAMINIQUES</u>	30
2.1. Symptomatologie	30
2.2. Traitement	31
2.3. Prévention	33

<u>DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE</u>	36
<u>Chapitre 1: MATERIEL ET METHODES</u>	37
1.1. Matériel	37
1.1.1. Echantillons (poissons), conditionnement et transport	37
1.1.2. Matériel de laboratoire pour le dosage de l'histamine et la mesure du pH	38
1.2. Méthodes	40
1.2.1. Démarche de l'étude	40
1.2.2. Prélèvement: mode, identification, conditionnement et transport.	42
1.2.3. Dosage de l'histamine: la fluorimétrie	42
1.2.3.1. Principe	42
1.2.3.2. Préparation de certaines solutions	42
1.2.3.3. Protocole expérimental	43
1.2.4. Mesures du pH des échantillons	46
1.2.5. Analyse statistiques des résultats	47
1.2.5.1. Estimation de la moyenne, de la variance et de l'écart-type	47
1.2.5.2. Test de comparaison des moyennes	48

<u>Chapitre 2: RESULTATS ET DISCUSSION</u>	49
2.1 Résultats	49
2.2. Discussion	66
2.2.1. Démarche de l'étude	66
2.2.2. Choix des échantillons	66
2.2.3. Méthode de dosage de l'histamine	67
2.2.4. Résultats	69
<u>Chapitre 3: PROPOSITIONS D'AMELIORATION</u>	72
3.1. Etudes ultérieures	72
3.2. Normes au Sénégal	73
3.3. Méthodes de dosage	74
3.4. Fabrication du thon en conserve	75
- <u>CONCLUSION</u>	76
- <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	78
- <u>TABLE DES ILLUSTRATIONS</u>	
- <u>ANNEXES</u>	

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

<u>Numéros</u>	<u>Pages</u>
1	6
2	7
3	12
4	16
5	17
6	18
7	21
8	23
9	64
10	65

LISTE DES TABLEAUX

1	9
2	13
3	19
4	26
5	32
6	37
7	39
8	41
9	50
12	51
11	52
12	53
13	54
14	55
15	56
16	57
17	58
18	59
19	60
20	61
21	62
22	63
23	70
24	71

I N T R O D U C T I O N

La pêche maritime occupe une place appréciable dans la vie socio-économique du Sénégal.

En 1985, elle employait environ 100.000 salariés (24). La même année, la pêche participe pour 2p100 au produit intérieur brut (P.I.B) total du pays et pour 12p100 au P.I.B du secteur primaire (24). En outre, la production était évaluée à 270.000 tonnes (dont 95.900 tonnes par la pêche industrielle) et le disponible était estimé à 26 Kg/hbt/an (24).

Si la pêche artisanale est essentiellement tournée vers la consommation locale et l'exportation vers certains pays africains, l'Europe constitue la principale destination des produits de la pêche industrielle. En 1984, la part de la pêche maritime dans les exportations du Sénégal, s'élevait à 48 milliards F.CFA (soit 20p100 du total des exportations). La valeur commerciale des exportations de conserves de thon était de 22 milliards F.CFA. Ces exportations portaient sur 22.688 tonnes (soit 99,80p100) à destination de l'Europe, en particulier de la France (24).

Ce pays avait connu plusieurs cas d'intoxications histaminiques résultant de l'ingestion de thon (en particulier le thon rouge), notamment en: 1941, 1945, 1955, 1976, 1977 (13) (15). A la suite de ces intoxications, qui étaient parfois collectives (jusqu'à 500 victimes à la fois), le contrôle de l'histamine dans le thon fut instauré (13) (15) et la conformité aux normes est une condition sine qua non pour accéder au marché français. Cet aspect commercial, ajouté à l'aspect hygiénique, fait que la recherche d'histamine est systématique sur le thon en provenance du Sénégal (au débarquement du thon entier et à l'exportation du thon en conserve). Lorsque le taux d'histamine trouvé est supérieur à celui défini par les normes en vigueur dans ces pays (France ou Sénégal), on procède à une saisie ou un refoulement du produit: c'est le cas d'un thonier (bateau spécialisé dans la pêche du thon) espagnol refoulé à Dakar au mois d'Août 1989.

Avant de regagner le large, ce bateau a fait faire des analyses d'histamine sur 65 échantillons; or l'analyse d'un échantillon coûte 4.000 F.CFA à Dakar.

L'histamine est une amine biogène qui peut être physiologique (taux très faible et forme inactive) ou secondairement formée essentiellement par décarboxylation bactérienne de l'histidine. Le deuxième type d'histamine (objet de notre étude), peut se trouver à des doses très élevées et toxiques dans plusieurs denrées alimentaires d'origine animale en particulier dans le thon.

Parmi les principales étapes de la filière industrielle du thon, la fabrication semble jouer un grand rôle dans la détermination du taux final d'histamine au niveau des conserves.

Notre travail vise une appréciation de cette influence de la technologie de fabrication; parallèlement à cela, nous avons cherché à établir une éventuelle relation entre taux d'histamine et pH.

Il s'inscrit dans le cadre général de la prévention des intoxications histaminiques. Nous l'exposerons en deux parties:

- une première partie bibliographique consacrée à des généralités sur l'histamine et les intoxications histaminiques;
- une deuxième partie ou partie expérimentale, relative aux moyens utilisés et aux conclusions auxquelles nous sommes parvenues.

PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

- Chapitre 1 : HISTAMINE

- Chapitre 2 : INTOXICATIONS HISTAMINIQUES

Chapitre 1: HISTAMINE

Depuis la découverte de l'histamine, de nombreux travaux lui sont consacrés.

Au fil du temps, ces recherches ont permis de clarifier, de plus en plus, les mécanismes et les facteurs de variation de sa formation dans les denrées alimentaires. L'histamine est retrouvée à tous les stades de la filière poisson, mais à des taux variables; aussi des normes furent fixées en la matière.

Des méthodes de dosage existent depuis longtemps et elles permettent d'apprécier notamment la toxicité de l'histamine.

1.1. Historique

L'histoire de l'histamine remonte au début de ce siècle.

- 1907: WINDAUS et VOGT réalisent la synthèse de l'histamine pour la première fois (48).

- 1910: - DALE et LAIDLAW exposent, les premiers, les propriétés biologiques de l'histamine (23).

- ACKERMANN et KUTSCHER, de même que BARGER et DALE, ont mis en évidence - pratiquement à la même période - l'histamine dans l'ergot de seigle (48).

- 1912: SUZUKI, MITRATA et OTSUKI trouvent de l'histamine dans le thon (Thunnus Thynnus) (38).

- 1927: BEST et Collaborateurs démontrent qu'en dehors de l'histamine secondairement formée par les bactéries, il existe une autre naturellement présente dans les tissus des organismes supérieurs et ils révèlent sa formule chimique (48).

- 1937: BOVET et STAUB découvrent le premier antihistaminique (23).

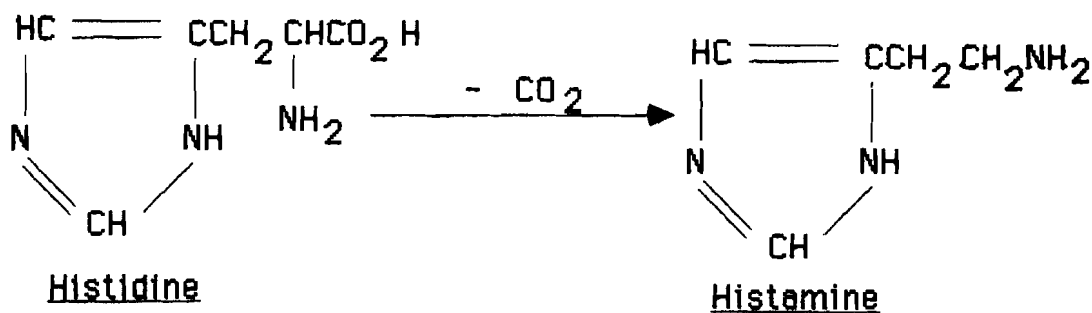
- 1946: LEGROUX et Collaborateurs introduisent la notion d'intoxications histaminiques par le thon (38).

- De 1946 à nos jours, l'histamine est restée un problème d'actualité et les facteurs qui déterminent sa formation font toujours l'objet de recherches.

1.2. Formation dans les poissons: mécanisme et facteurs de variation

L'histamine est une amine biogène résultant de la décarboxylation de l'histidine par des enzymes histidine-décarboxylases (figure 1). Par conséquent son taux dépend de la teneur en histidine ou de l'importance des enzymes histidine-décarboxylases.

Figure 1: mécanisme intime de la formation de l'histamine (source: 47)



1.2.1. Teneur en histidine

L'histidine est un acide aminé qui se trouve dans l'organisme sous deux principales formes biochimiques:

- une forme libre (L-histidine);
- une forme liée (aspartyl- histidine et histidyl- histidine) (5).

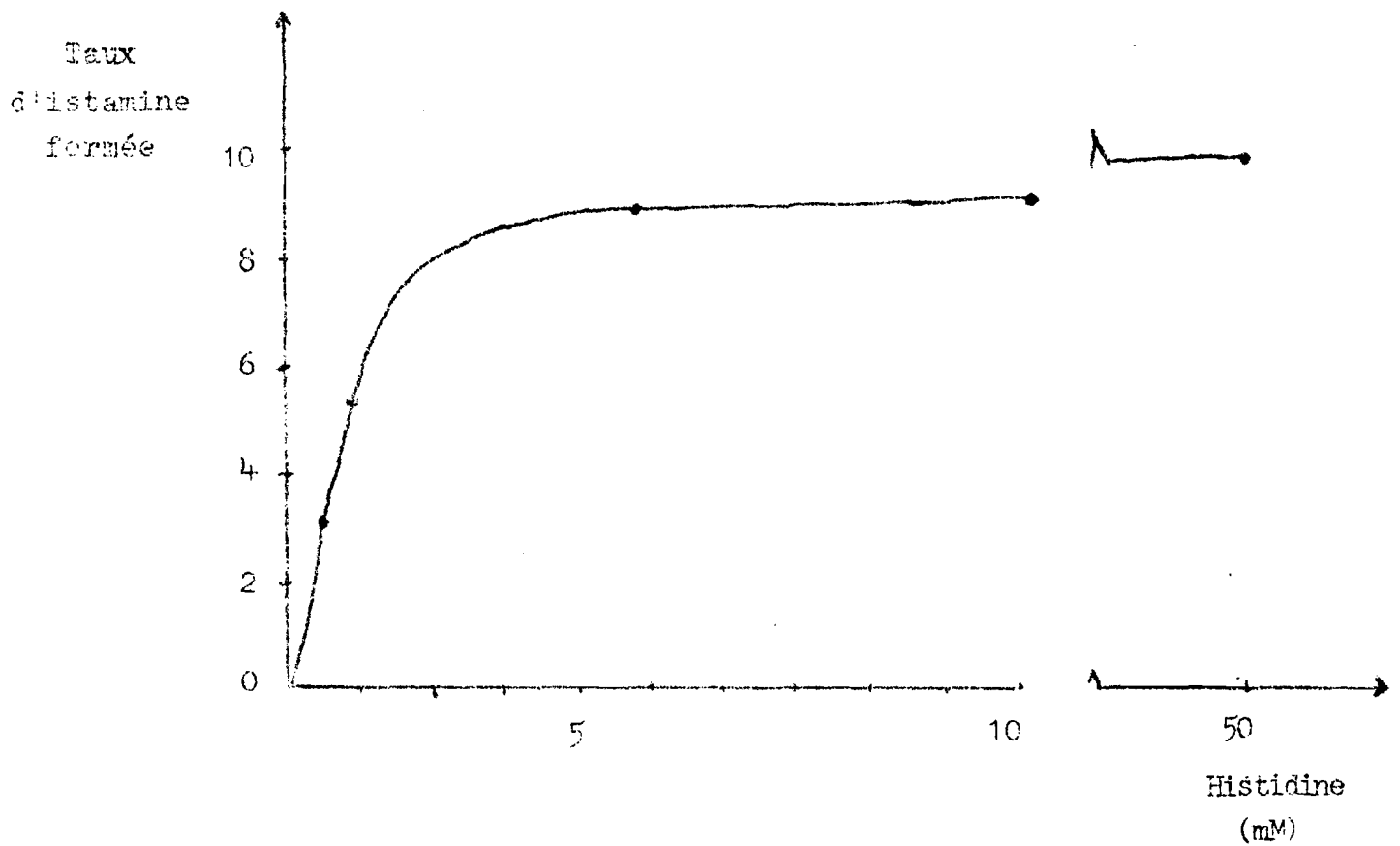
Seule la forme libre participe à la formation de l'histamine (5). Dans un tissu donné, le taux d'histamine, jusqu'à un certain seuil, est sensiblement proportionnel à la concentration d'histidine libre (figure 2). Les taux d'histidine les plus importants sont observés au niveau des principaux pigments du sang et des muscles rouges: hémoglobine, myoglobine, cytochromes C et catalases (13). Or les thons, en particulier le thon rouge, sont des poissons dits sanguins à cause de leur système vasculaire très développé. C'est surtout la musculature voisine de la colonne vertébrale qui est fortement irriguée (15); cela lui confère une coloration plus foncée (rougeâtre). Aussi, les thons sont particulièrement riches en histidine (47).

De même d'autres espèces comme le bonite et le maquereau en sont relativement pourvus (47).

Par contre le taux d'histidine est très faible chez les poissons à chair blanche (Sébastes, Scorpènes, quelques espèces d'eau douce) ou chez les crustacés.

Figure 2 : Effet de la concentration d'histidine sur la production d'histamine à 37°C par Klebsiella pneumoniae UH-2.

Les taux sont exprimés en micromoles d'histamine produite par 10^9 cellules en 10 minutes. (Source : 8)



L'importance de la vascularisation dans la détermination du taux d'histidine entraîne donc les conséquences suivantes:

- sur un même poisson, le muscle le plus irrigué ("muscle rouge") est plus riche en histamine que le muscle le moins irrigué ("muscle blanc") (5);

- les poissons sanguins comme les thons (en particulier le thon rouge), sont plus prédisposés à la formation d'histamine.

Ce sont eux qui sont généralement mis en cause dans les différents cas d'intoxications histaminiques (47). Les thons appartiennent à la grande famille des Scombridae (Scombridés) et à la sous-famille des Thunnidae (thonidés) (66) . Aussi parle-t-on parfois d'intoxications par les scombridés ou par les thonidés. Plusieurs représentants de cette famille sont pêchés sur les côtes occidentales d'Afrique notamment sur les côtes sénégalaises (tableau 1).

Il existe donc une variation du taux d'histamine en fonction de l'espèce et de la localisation corporelle, deux facteurs qui sont propres au poisson (facteurs intrinsèques).

Tableau 1: Famille des Scombridae, principales espèces des côtes occidentales d'Afrique

Nom commun	Nom scientifique	Nom vernaculaire au Sénégal	
		Ouolof	Lébou
- Maquereau espagnol	- <u>Orcynopsis unicolor</u>	- ouo	- ouo
- Maquereau bonite	- <u>Cybium tritor</u> (<u>Scomberomorus tritor</u>)	- ndiounde	- dioun
- Bonite à dos rayé	- <u>Sarda sarda</u>	- doulou doulou	- kiri kiri
- Bonite à ventré rayé (listao)	- <u>Katsuwonus pelamis</u>		
- Thonine	- <u>Euthynnus alletteratus</u>	- oualass	- deleu deleu
- Albacore (thon à nageoires jaunes)	- <u>Thunnus albacares</u>	- wockhandor	
- Thon obèse (patudo)	- <u>Thunnus obesus</u>		

ROYAUME DU SENEGAL
 MINISTRE DES AFFAIRES
 VETERINAIRES ET MEDICINALES
 DIRECTION REGIONALE
 DE DAKAR

1.2.2. Importance des enzymes histidine-décarboxylases

Les enzymes histidine-décarboxylases ont une origine double: bactérienne et tissulaire (13).

Depuis longtemps et encore de nos jours, la plupart des auteurs considèrent que ce sont les enzymes bactériennes (et partant les bactéries) qui ont une action déterminante dans la formation d'histamine.

Ainsi de très nombreux travaux ont montré que:

- la formation optimale d'histamine est en relation avec les meilleures conditions de multiplication bactérienne (47);
- à l'inverse, elle est réduite à son minimum dans les milieux ou conditions défavorables à un développement microbien (5) (47).

Quant aux enzymes tissulaires, elles semblent avoir un rôle secondaire qui est attesté par la formation d'une faible quantité d'histamine dans un échantillon stérile de poisson (5).

L'importance des bactéries ou des enzymes bactériennes est fonction:

- du degré de contamination avant le stockage;
- des conditions de stockage;
- de l'influence technologique.

Les enzymes tissulaires sont également influencées par les deux derniers paramètres ci-dessus.

1.2.2.1. Degré de contamination avant le stockage

Il existe des sources primaires et des sources secondaires de contamination microbienne. L'importance des premières dépend de la localisation corporelle tandis que celle des sources secondaires est déterminée par:

- la zone de pêche;
- les moyens de pêche;
- l'hygiène lors de la manutention;
- le pH;
- la texture de la chair.

a) Localisation corporelle

Généralement la chair du poisson vivant est stérile; toutefois il existe des sources primaires de contamination: peau, ouïes, intestins.

Ces derniers semblent être la principale source de bactéries productrices d'histamine en particulier dans la région antérieure du poisson (28). Plus on s'éloigne de celle-ci, moins seront grandes la contamination ultérieure post-mortem et la production d'histamine (figure 3).

b) Zone de pêche

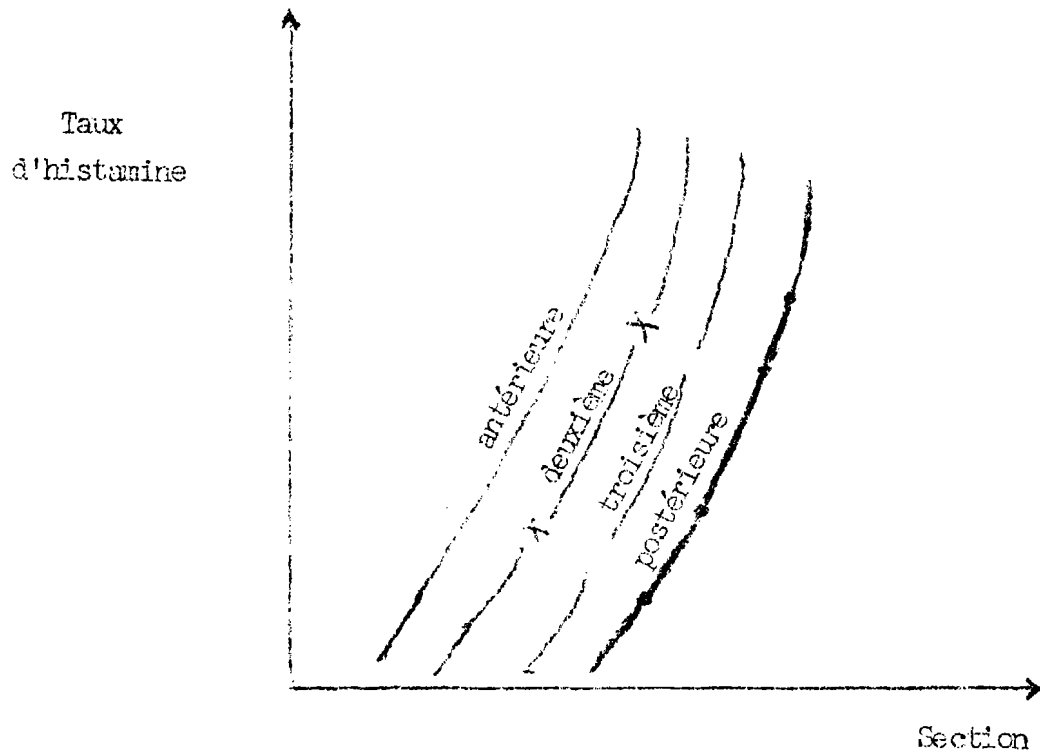
Son influence apparaît à travers certains effets de la température, de la teneur en sel (NaCl) et du degré de pollution.

En effet, la microflore habituelle des poissons marins est psychrophile (ou psychrotrophe) et modérément halophile. Donc, elle dépend notamment de la température corporelle du poisson. Chez les thons, cette dernière varie dans le même sens que la température ambiante, mais avec 4 à 5 °C en plus; il s'agit donc de poissons poïkilothermes (15). Par conséquent la composition (type et nombre) des bactéries présentes dans le thon va dépendre de son environnement d'origine (3).

En haute mer où se fait généralement la pêche du thon, la microflore est largement dominée par les psychrotrophes (3) même si les genres bactériens rencontrés sont identiques indépendamment du type de mers (tropicales ou tempérées). Néanmoins, la proportion de germes mésophiles est plus importante chez le poisson fraîchement pêché en mers tropicales.

Or les germes psychrotrophes (ex: *Pseudomonas*) qui sont par ailleurs des germes habituels du poisson, produisent généralement moins d'histamine que les mésophiles (ex: *Proteus*) qui sont souvent des germes de contamination secondaire (30) (61) (52). *Klebsiella pneumoniae* et surtout *Proteus morganii*, tous deux, représentants de la famille des *Enterobacteriaceae*, sont des germes très actifs au laboratoire (5) (8); par ailleurs ils sont les plus impliqués dans les cas d'intoxications histaminiques par le thon (28) (49) (47). Parmi les bactéries incriminées dans la production d'histamine (Tableau 2), la famille des *Enterobacteriaceae* est de loin la plus représentée notamment avec les "coliformes". Les germes de cette famille sont psychrotrophes à mésophiles (59).

Figure 3 : Gradient d'histamine chez le listao
(source : 28)



-Donc le taux d'histamine produite peut varier en fonction de la situation géographique de la zone de pêche: type de mer, distance par rapport au continent (degré de pollution).

c) Moyens ou méthodes de pêche (capture)

Certaines méthodes de pêche (Sennes, palangre), sont à la base d'un stress parfois important chez le poisson; ce stress a tendance à épuiser la réserve glycogénique musculaire et à baisser le pH (15). Il s'ensuit globalement une augmentation du taux d'histamine (13). Mais en dehors de cela, le traînement du poisson sur le fond marin et pendant longtemps (cas des chaluts de fond) peut être à l'origine d'une contamination secondaire du poisson.

Il est à noter aussi que les blessures faites sur le poisson constituent des portes d'entrée pour les bactéries.

La teneur d'histamine peut donc varier en fonction du degré de stress subi, de l'état (intégrité) du poisson et de l'importance du contact avec les sources de contamination.

d) Hygiène lors de la manutention

Si elle est défectueuse, l'apport microbien par le matériel et le personnel qui entrent en contact avec le poisson, peut être très important qualitativement (coliformes grands producteurs d'histamine) et quantitativement.

e) pH

Chez les scombridés, la chair du poisson a un pH qui varie de 5,5 à 6,5 (5). Ce pH baisse après la mort du poisson; sa valeur post-mortem qui est de 5,6 à 5,7 chez le thon, n'inhibe pas le développement des bactéries (15).

Selon l'espèce bactérienne, il existe un pH optimum de développement, de synthèse et d'activité enzymatique. Ce pH est généralement acide chez la flore décarboxylant l'histamine (5). Ainsi, Proteus morgani autrefois appelé Achromobacter histamineum (6) a un pH optimal:

- de développement variant de 5 à 6 (47);
- d'activité enzymatique (enzymes histidine-décarboxylases) qui varie de 6,0 à 6,5 (5) (8).

Avec Klebsiella pneumoniae, des expériences ont montré un pic d'histamine à un pH compris entre 3,5 et 4,5 (figure 4).

f) texture de la chair

Elle varie selon les espèces de poisson. plus elle est favorable au développement microbien, plus la vitesse de formation d'histamine est augmentée et inversement (47).

1.2.2.2. Conditions de stockage

Il s'agit essentiellement d'autres effets de la température ambiante. Ceux-ci sont indissociables du temps ou de la durée de stockage.

La température ambiante constitue le facteur extrinsèque le plus important dans la formation d'histamine (28).

Elle détermine:

- la multiplication des bactéries (figure 5) et leur capacité de production d'histamine (figure 6);
- le type de froid appliqué pour la conservation des aliments (tableau 3).

Figure 4 : Effet du pH sur la formation d'histamine à 37°C
par Klebsiella pneumoniae UH-2.-

Les taux d'histamine sont exprimés en micromoles/10⁹ cellules/10 min.
(source : 8)

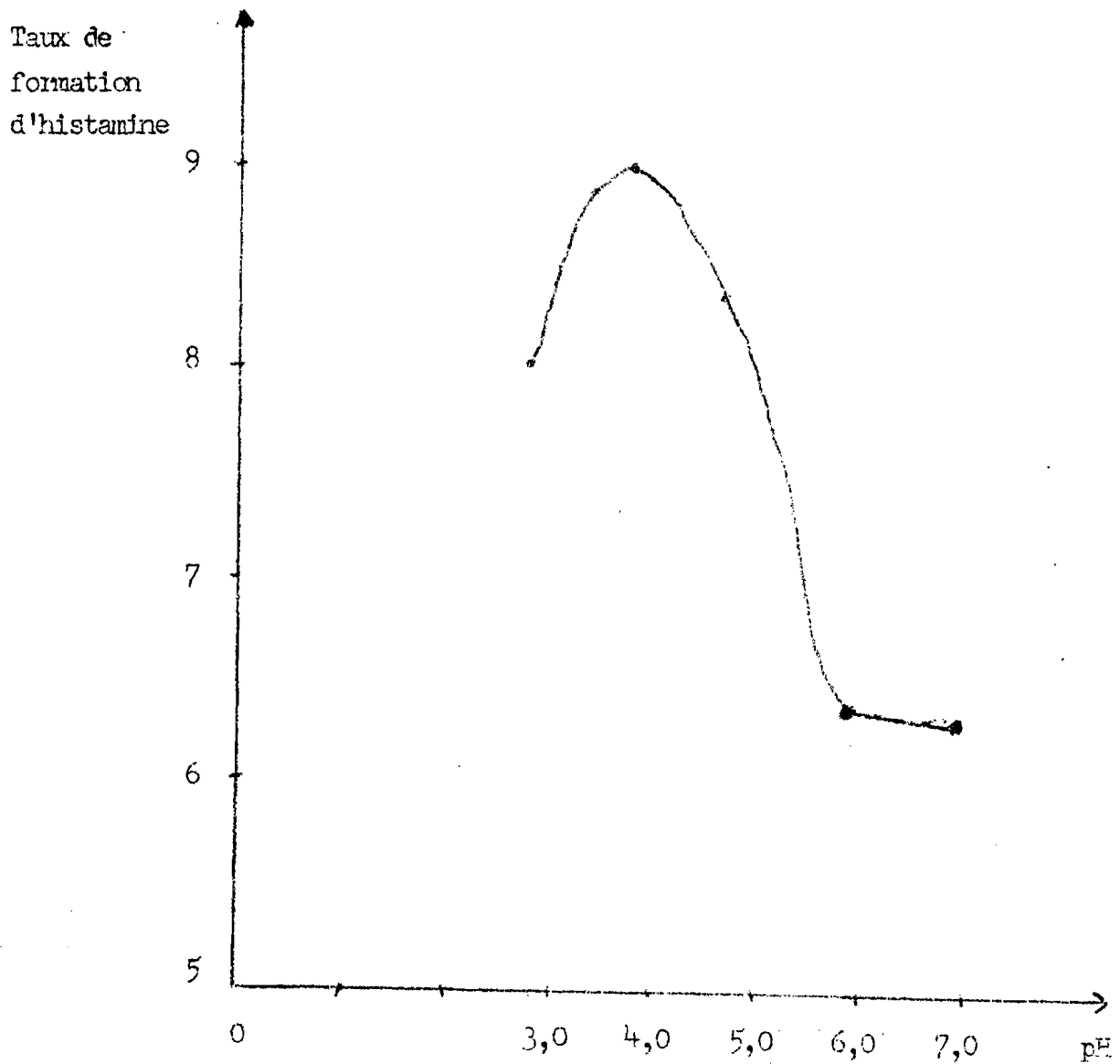


Figure 5: Action de la température sur la multiplication et la toxinogénèse des microorganismes de contamination des denrées alimentaires (source : 57)

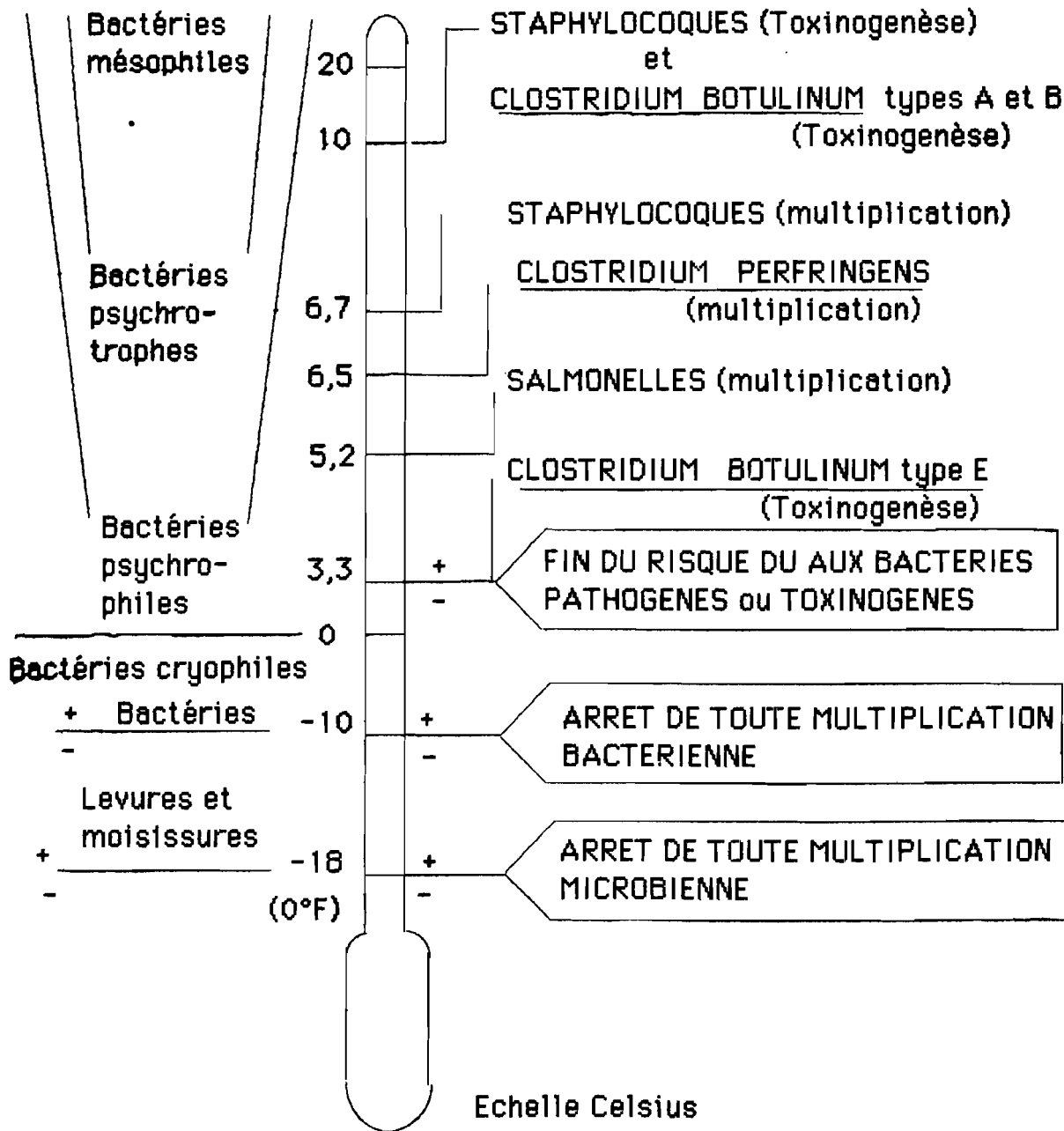


Figure 6. Effet de la température sur la production d'histamine par Klebsiella pneumoniae UH 2

Les taux d'histamine sont exprimés en micromoles/ 10^9 cellules/10 min.
(source : 8)

Taux
d'histamine
formée

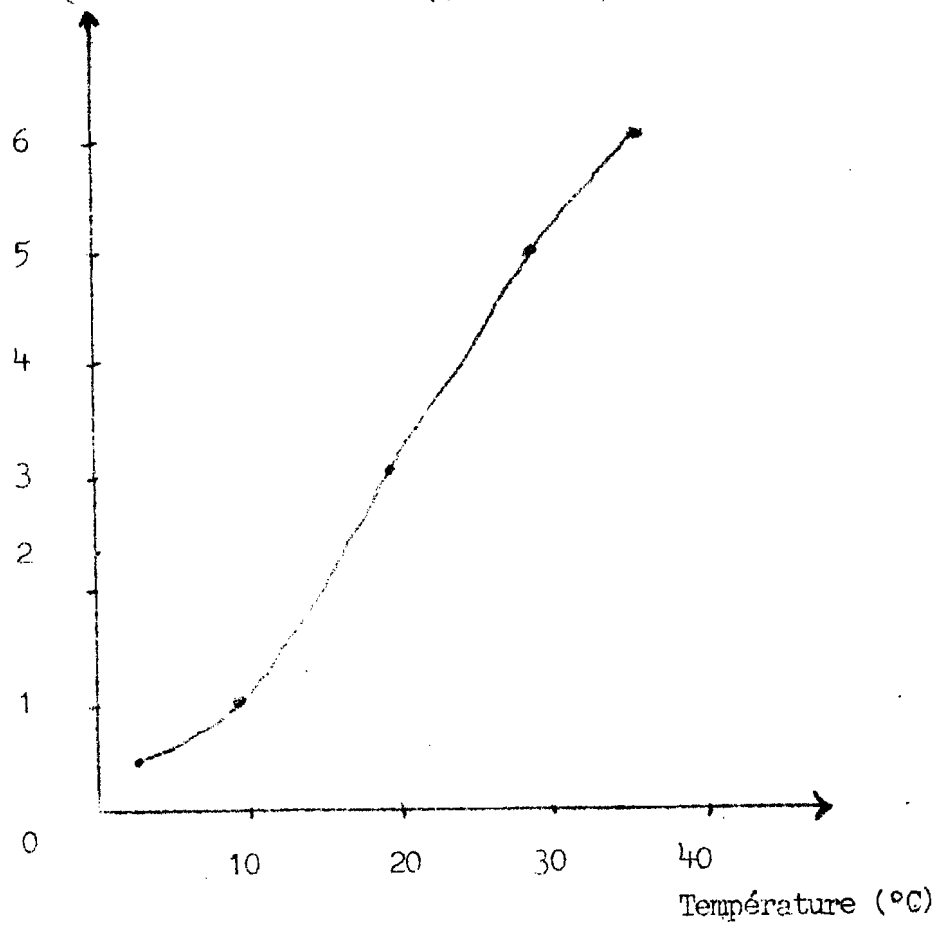


Tableau 3: Type de froid et températures correspondantes

Type de froid	Température
Réfrigération	$+ 1^{\circ} \text{ C} < t^* < + 4^{\circ} \text{ C}$
Congélation	$- 18^{\circ} \text{ C} < t < - 2^{\circ} \text{ C}$
Surgélation	$t \leq - 18^{\circ} \text{ C}$

* t = température

- La réfrigération peut ralentir:

- * le développement de certains germes;
- * certaines réactions biochimiques d'autolyse.

Toutefois, la multiplication des germes psychrotrophes comme les *Pseudomonas*, n'est arrêtée qu'à environ -5° C et de nombreuses enzymes (ex: les lipases) conservent leur activité même dans le poisson congelé (19). C'est dire que pour une bonne et longue conservation du poisson, la simple réfrigération n'est pas du tout indiquée (19). Mais quand elle est combinée à l'adjonction de sel, les résultats (diminution de la production d'histamine) sont meilleurs (2).

- Quant à la congélation et la surgélation, elles se font habituellement à des températures inférieures à -10° C , ce qui n'autorise la multiplication d'aucune bactérie. De plus la plupart des réactions chimiques sont ralenties tandis que les réactions métaboliques cellulaires sont complètement arrêtées (20).

Un stockage de longue durée et à basse température peut être à l'origine de la destruction de la microflore productrice d'histamine . Ainsi on a pu constater l'arrêt de la formation d'histamine dans des poissons (maquereaux et sardines) stockés pendant 76 jours entre -16° C et -21° C (47).

- Dans la pratique, on utilise souvent différents types de glace, à bord des bateaux (14):

- glace à l'eau douce;
- glace à l'eau saumâtre (1 p 100 de sel);
- glace à l'eau de mer (3,5 p 100 de sel).

En revanche, les usines de transformation (conserveries de poisson) utilisent habituellement la congélation ou la surgélation.

- Le froid peut donc ralentir et même arrêter la formation de l'histamine avant la dernière étape de la filière qu'est la transformation ou la technologie.

1.2.2.3. Influence technologique

La formation d'histamine peut varier selon:

- le type de transformation ou de produits finis;
- le niveau de la chaîne de transformation;
- les conditions d'exécution de la transformation.

a) Type de transformation

Il existe essentiellement deux types de transformation industrielle du thon (24) (15):

- la préparation du thon cuit, qui passe par la cuisson préalable du poisson avant l'emboîtement;

- la fabrication du "thon au naturel" au cours de laquelle le thon emboîté cru puis couvert d'une saumure légère; elle est beaucoup plus rapide que le premier type. En outre, elle fait intervenir du sel même si la concentration est faible. L'adjonction de sel dans certains milieux d'expérience montre un ralentissement notable de la production d'histamine (figure 7); celui-ci s'observe surtout pour des concentrations de sel de 8 à 10 p 100 (2) (33). Déjà avec une salinité de 5,5 p 100, on note une inhibition de la production d'histamine par Klebsiella pneumoniae (74). Par contre, il existe des souches de Proteus morganii qui se développent mieux avec une salinité de 2 à 3 p 100 (47).

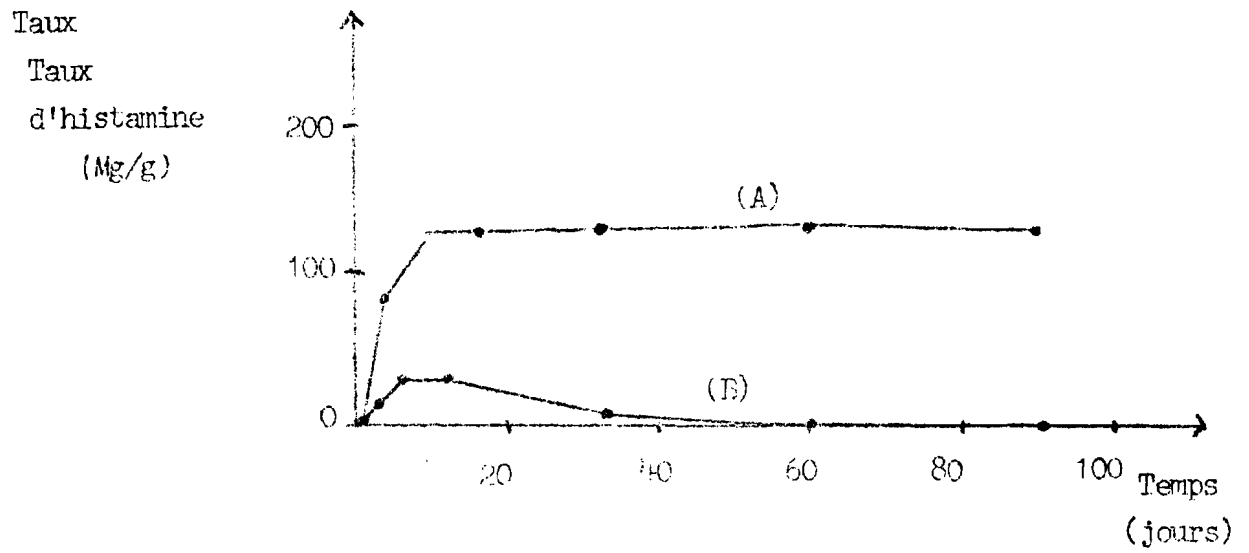
- La salinité a donc une importance significative dans la production d'histamine (2) (33).

Compte tenu de ces différences au niveau de la durée, de la température et de l'utilisation de saumure, il est possible que le taux d'histamine évolue différemment d'un type de préparation à l'autre.

Figure 7 : Taux d'histamine et concentration en Nacl dans un aliment fermenté salé à 35° C pendant 90 jours :

(A) - 5 p. 100 Nacl ;

(B) 10 p. 100 Nacl (source : 33)



b) Niveau de la chaîne de fabrication

Selon qu'il est favorable à une reprise de l'activité bactérienne et enzymatique (cas de la décongélation, surtout si elle est de longue durée) ou non (cas de la cuisson et de l'appertisation), le taux d'histamine peut être affecté. Quant à la thermorésistance de l'histamine, elle est un peu discutée (15).

c) Conditions de préparation

Il peut s'agir de:

- l'hygiène générale;
- l'organisation du travail (dans le temps et dans l'espace);
- la conduite des différentes opérations (décongélation, parage, etc.).

Les facteurs qui déterminent l'importance des enzymes histidine-décarboxylases sont donc généralement indépendants du poisson (facteurs extrinsèques).

La formation de l'histamine est par conséquent fonction de différents facteurs (intrinsèques et extrinsèques) qui sont imbriqués les uns dans les autres ou complémentaires.

Ex: Les conditions optima de développement d'Achromobacter histamineum type 1 sont (47):

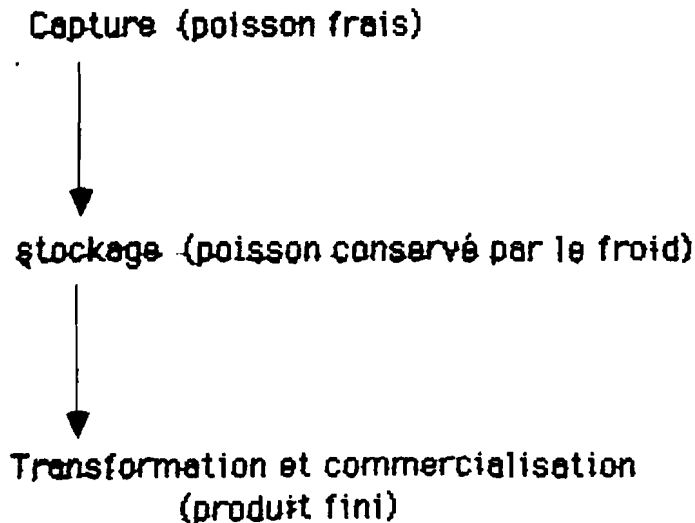
- température: 20 à 25°C;
- pH 5;
- salinité: 2 à 3p100.

Par leur influence tantôt favorisante, tantôt inhibitrice, ces facteurs sont à la base de variations du taux d'histamine selon l'étape de la filière poisson.

1.3. Différents taux en fonction des stades de la filière poisson

Grosso modo, la filière habituelle des produits de la pêche industrielle peut se schématiser comme suit (figure 8).

Figure 8: Filière habituelle des produits de la pêche industrielle.



Chez le poisson frais, les taux d'histamine sont en général très faibles: environ 0,1 mg/100g (47) (61). En outre, l'histamine peut même être absente chez des espèces à chair blanche: Sébastes, Scorpènes et quelques espèces d'eau douce; à l'inverse son taux peut être élevé (> 2 mg/100g) chez certains poissons sanguins comme le thon rouge (47).

Au cours du stockage, la quantité d'histamine varie en fonction de la température, de la durée et de la technique utilisée (avec ou sans sel).

Chez le poisson transformé, il existe différents taux en fonction du type de transformation, de l'origine (pays ou région), de l'espèce de poisson, de la qualité de la matière première, etc.

Les conserves de poisson ont généralement un taux inférieur à 10 mg /100g (47) (24) (43) (44) et même inférieur à 0,1mg/100g (47) (43) tandis que le poisson séché ou salé-séché accuse des valeurs nettement plus élevées (21) (47).

Au Maroc, ABABOUCH, ALOUI et BUSTA (2) ont trouvé des valeurs d'histamine variant de 0 à 694mg/100g avec une valeur moyenne de 12,33mg/100 g sur 284 échantillons de conserves de poisson (thon, maquereau, sardine) prélevés sur différents marchés. Ils ont noté une différence de proportion des boîtes dont le taux avoisine 50mg/100g, suivant les régions:

- région centrale: 7,1 p 100
- région Sud: 4,3 p 100
- région Nord: 1,3 p 100

Aux Etats-Unis LONBERG, MOVITZ et SLORAH (43) ont noté, sur 245 boîtes de conserves de thon d'origines diverses, que les taux d'histamine les plus élevés (> 15mg/100g) sont observés avec les boîtes provenant de la Thaïlande et de Taiwan alors qu'aucun échantillon du Pérou, du Japon et des Etats-Unis, n'a un taux supérieur à 10mg/100g.

Au Sénégal, les taux d'histamine retrouvés dans les conserves de thon fabriquées localement, sont inférieurs à 5mg/100g (24).

Ces taux sont plus élevés au Maroc (2): 9,86mg/100g pour le thon; 9,75mg/100g pour les sardines et 13,74 pour le maquereau; par contre ils sont très proches de ceux rencontrés en France: < 6mg/100g chez le thon et les sardines en général, 2mg/100g chez les miettes de thon et 3,3mg/100g chez les filets d'anchois (47).

Toutefois le taux d'histamine peut être élevé (jusqu'à 362mg) quand les conserves sont préparées à partir de poisson altéré (47).

On retrouve donc l'histamine dans tous les produits (poissons), d'où la nécessité de fixer des normes.

1.4. Normes

Il est généralement admis, et cela depuis fort longtemps, qu'au delà de 100mg/100g, le risque d'intoxication est très grand. Mais depuis quelque temps, l'idée de considérer 10mg/100g comme seuil critique, commence à être envisagée(5) (15) (61). En dehors de ces considérations générales, le taux à risques varie selon les auteurs. L'une des conséquences immédiates de cette imprécision est la disparité des normes selon les pays (tableau 5).

A défaut de réglementation internationale, la solution trouvée par certains pays disposant de normes, est de les imposer à leurs partenaires commerciaux (exportateurs). Il en est ainsi de certains pays d'Europe avec notamment leurs partenaires du tiers-monde.

Dans le cas du Sénégal, le pays ne dispose pas de réglementation officielle propre. Mais les services de contrôle appliquent au poisson exporté des normes "empruntées" à la France (principal client du thon en conserve sénégalais).

Ces normes ont aussi fait l'objet d'une proposition de règlement communautaire énoncée par la Belgique dans le cadre de l'Europe de 1993. Elles précisent le taux d'histamine tolérable dans les poissons bleus (thonidés, harengs, sardines, anchois) et elles sont ainsi formulées (31):

- sur neuf (9) échantillons analysés:

* la moyenne relevée doit être inférieure à 10mg d'histamine par 100g de chair de poisson (10mg/100g);

* aucun échantillon ne doit présenter un taux supérieur à 20mg/100g;

* seuls deux échantillons peuvent avoir un taux respectif supérieur à 10mg/100g (mais inférieur à 20mg).

Toutefois, ce taux moyen est abaissé à 5mg/100g chez le poisson entier (réfrigéré ou congelé) débarqué à Dakar par les différents thoniers.

L'application de ces normes suppose l'existence préalable d'une ou de plusieurs méthodes de référence qui permettent de doser l'histamine ou d'apprécier tout simplement sa toxicité ou sa présence de celle-ci.

Tableau 4: Taux limites d'histamine autorisés dans les produits de la pêche
(source: 1)

Pays	Types de poisson	limite* (mg/100 g)	Interprétation
- Etats Unis d'Amérique	- Thon albacore, "Skipjack" et "yellowfin", dorade	50 20	HAL** DAL**
- Suède	- Tous les poissons commercialisés	20	Taux maximum autorisé
- Suisse	- Conserves de poisson	10	Taux limite provisoire
- Canada	- Tous les poissons commercialisés	10	Indique une décomposition bactérienne
- République Fédérale Allemande	- Tous les poissons commercialisés	20	Indique une décomposition bactérienne
- Finlande	- Tous les poissons commercialisés	10	Limite proposée (peut être augmentée à 20)
- Tchécoslovaquie	- Tous les poissons commercialisés	40	Limite maximale (peut être ramenée à 20)
	- Thon et maquereau congelé	20	limite proposée
	- Conserves de poisson	30	limite proposée
- Danemark	- Tous les poissons commercialisés	30	limite maximale autorisée

* mg / 100 g : mg histamine pour 100 g poisson

** HAL : "Hazard Action Level" : Dose potentiellement toxique

** DAL : "Defect Action Level" : Dose indiquant une mauvaise manutention

1.5. Méthodes de dosage et toxicité

Différentes méthodes de dosage de l'histamine sont disponibles à l'heure actuelle.

Quant à la toxicité, elle dépend de plusieurs facteurs.

1.5.1. Méthodes de dosage

Elles vont des techniques biologiques anciennes aux procédés enzymatiques et immunologiques actuels (modernes) en passant par les méthodes physico-chimiques.

Le principe des méthodes biologiques repose sur l'action de l'histamine sur des organismes ou des organes isolés sensibles. Les effets (signes cliniques, contraction) qui en découlent sont fonction de la dose. Les principales méthodes sont:

- l'inoculation de l'histamine à des cobayes;
- la contraction qu'exerce l'histamine sur l'iléon isolé de cobaye.

Mais elles sont abandonnées en raisons de leur coût élevé (achat et entretien des animaux) et de leur fiabilité un peu douteuse (1) (47).

Les méthodes physico-chimiques disponibles sont les suivantes: la colorimétrie, l'électrophorèse, la fluorimétrie, la spectrophotométrie, la chromatographie avec différentes variantes (chromatographie ascendante sur papier, chromatographie liquide à haute performance, chromatographie sur couche mince, chromatographie gaz-liquide).

Parmi elles, il existe des techniques semi-quantitatives (ex: la chromatographie sur couche mince) et des méthodes quantitatives (ex: la fluorimétrie). Le dosage fluorimétrique constitue la méthode officielle en France et au Sénégal où il est utilisé dans le contrôle de routine des produits de la pêche (du thon en particulier).

Enfin, il existe des méthodes enzymatiques ("Enzymatic Isotopic Assay") et immunologiques à marqueurs isotopiques ("Radio-immunoassay") qui sont des techniques plus fines utilisées surtout pour des travaux de recherches (1).

1.5.2. Toxicité

La toxicité de l'histamine varie énormément suivant la voie d'administration.

Chez le cobaye les effets les plus dramatiques (étouffement et mort) sont observés lorsque l'histamine est administrée par la voie sanguine (0,3mg/ Kg) ou par la voie respiratoire (aérosol de 1mg/l) (47).

Seule, l'histamine pure, administrée par voie orale, est sans effet alors qu'elle conserve sa toxicité lorsqu'elle est consommée dans les aliments (5).

De là est née l'idée d'une intervention agoniste de certains composés contenus dans les aliments.

Plusieurs substances, en particulier des amines, ont été soupçonnées d'avoir un effet synergique ou d'exaltation sur l'action de l'histamine.

On sait que certaines diamines (comme la putrescine, la cadaverine, la spermine ou la spermidine) facilitent le passage de l'histamine à travers la paroi intestinale. Malgré l'aide de ces composés, l'histamine connaît une toxicité modérée lorsqu'elle passe par le tube digestif.

Pour qu'elle puisse exercer ses effets toxiques sur l'organisme, l'histamine doit gagner la circulation sanguine et cela sous une forme libre et active. Tout obstacle à cette condition ne va que dans le sens d'une diminution ou même d'une abolition de sa toxicité.

L'un des obstacles est constitué par la mucine, qui a la propriété de capter et de retenir l'histamine dans l'intestin (47). Mais cette propriété peut être inhibée par certaines diamines telles que la putrescine ou la spermine (5) (47).

Le piège que constitue la mucine peut donc être évité par une certaine quantité d'histamine qui peut, a priori, passer dans le sang.

L'éventualité d'un passage de corps étrangers (l'histamine en est un) dans le sang suscite toujours une réaction appropriée de la part de l'organisme. Dans le cas des toxines, notamment de l'histamine, un mécanisme de détoxication (ou de détoxification) est rapidement mis en branle. La détoxication se résume en une inactivation et une élimination des composés toxiques hors de l'organisme.

L'inactivation de l'histamine peut se faire par oxydation enzymatique, par acétylation ou par méthylation donnant respectivement de l'acide imidazolacétique, de l'acéthylhistamine et du méthyhistamine (46).

L'histamine inactivée passe dans le milieu intérieur et subit finalement une élimination urinaire (47).

Avec cette inactivation ajoutée à la malabsorption, le sort de l'histamine semble donc compromis dans l'organisme. Cette possibilité peut se concevoir, mais à condition que le taux d'histamine soit faible. En effet, lorsque la quantité d'histamine est élevée, le système de détoxication peut être débordé et apparaissent alors les manifestations de l'intoxication histaminique (1) (47).

Chapitre 2: INTOXICATIONS HISTAMINIQUES

Il s'agit de perturbations physiologiques essentiellement rattachées à la présence d'un taux élevé d'histamine dans l'organisme.

Elles sont souvent vulgairement assimilées à des réactions allergiques (1) et il est possible de les traiter ou de les prévenir.

2.1. Symptomatologie

Les symptômes de l'intoxication histaminique sont multiples, inconstants et peu caractéristiques.

Il s'agit essentiellement de troubles vaso-moteurs, digestifs et très rarement respiratoires.

a) Troubles vaso-moteurs

Ce sont les symptômes majeurs de l'intoxication histaminique et ils sont les premiers à apparaître de façon brusque (47) (16).

Ils s'installent en général 30 minutes (cas extrêmes: 5 minutes et 3 heures) après l'ingestion de l'aliment suspect (16). Ils se présentent comme suit:

- malaise;
- étourdissement;
- céphalée violente (rebelle à l'aspirine);
- sensation de chaleur vive;
- palpitations cardiaques de grande intensité à l'origine d'une modification du pouls et de la tension artérielle;
- rarement courte perte de connaissance sans arrêt cardiaque ou respiratoire;
- rougeur de la face et du cou du fait d'une vasodilatation importante. Il s'agit du symptôme le plus constant et le plus caractéristique de l'intoxication histaminique (5) (13).
- parfois urticaire d'étendue variable.

Ces troubles vaso-moteurs font défaut dans certains cas.

b) Troubles digestifs

Ils font généralement suite aux troubles vaso-moteurs. Mais dans certains cas, seuls ces symptômes sont observés. Ils sont caractérisés par:

- des douleurs épigastriques avec nausées et vomissements;
- de violentes contractions intestinales avec diarrhée.

Il est possible aussi que ces troubles soient totalement absents du tableau clinique.

c) Troubles respiratoires

De rares cas de crises asthmatiques chez des individus prédisposés ont été signalés (13).

L'intoxication histaminique peut donc présenter une symptomatologie très inquiétante. Mais les troubles sont en général passagers et le malade récupère au bout de 30 minutes à 3 heures de temps (38), en l'absence même de toute thérapeutique. L'importance médicale de l'histamine est donc généralement modérée.

2.2. Traitement

Il fait appel à de nombreux antihistaminiques qui sont largement utilisés en allergologie (un peu moins en dermatologie) sous diverses dénominations commerciales. Parmi les spécialités les plus courantes dans nos pharmacies, on retrouve celles indiquées au tableau 6.

La prométhazine (PhénerganND) est le dérivé le plus utilisé (25) (16).

Tableau 5: Antihistaminiques

Série chimique	Dérivé	Spécialité pharmaceutique(Nom déposé)
- Phénothiazine	- Prométhazine - Alimémazine - Oxoméazine	- Phénergan - Théralène - Doxergan
- Ethanolamine	- Diphenhydramine - Doxylamine	- Allerga - Méréprine
- Propylamine	- Dexchlorphétramine	- Polaramine
- Benzylaniline (ou de la phényléthylène diamine)	- Phenbenzamine - Mépyramine - Antazoline - Thénalidine	
- Pipérazine	- Cyclizine - Chlorcyclizine	

2.3. Prévention

L'apparition des intoxications histaminiques nécessite les deux conditions suivantes:

- l'existence de denrées à haute teneur en histamine
- la consommation de ces denrées toxiques.

Par conséquent, toute prévention de ces intoxications implique la maîtrise simultanée de ces deux paramètres.

a) Empêcher la formation importante d'histamine dans les aliments

Pour atteindre cet objectif, on doit chercher à minimiser l'action des enzymes bactériennes et tissulaires. Pour cela, il faut:

- lutter contre la pollution des eaux marines;
- éviter de traîner le poisson pendant longtemps sur le fond marin;
- choisir des moyens ou des pratiques de pêche moins stressants;
- procéder à une saignée et une éviscération complète des poissons juste après la capture;
- observer une hygiène rigoureuse et permanente du matériel et du personnel impliqués dans la filière;
- éviter au poisson de lésions (ouentailles) inutiles;
- éviter d'exposer longuement le poisson au soleil sur le pont des bateaux ;
- procéder à une conservation précoce du poisson par le froid lors du stockage ou du transport en camions (qui doivent donc être isothermes ou frigorifiques);
- éviter toute rupture de la chaîne de froid avant la transformation;
- adopter un procédé de décongélation rapide du poisson (ex: le chauffage diélectrique) (20);

Il s'agit là de mesures qui s'inscrivent essentiellement dans le cas général de la recherche de la qualité du poisson et des produits transformés. Malgré cela, elles sont efficaces et indispensables pour la prévention des intoxications histaminiques.

b) Empêcher la consommation des denrées toxiques

Cette fois-ci, il s'agit de prendre des mesures préventives spécifiques. Elles se présentent sous trois aspects:

- aspect réglementaire;
- recherche d'histamine;
- éducation ou information du public.

L'aspect réglementaire consiste à définir des normes en matière d'histamine et de les faire respecter lors des différentes transactions commerciales. Il est donc nécessaire de procéder à une recherche de l'histamine dans le poisson, de confronter les résultats trouvés aux normes en vigueur dans le pays et de prendre les sanctions qui s'imposent (libre circulation, saisie ou refoulement).

Enfin, l'Etat ou les entreprises doivent observer une politique de sensibilisation du public. En effet, une bonne protection positive du consommateur débute par une bonne information (4). Ainsi, le consommateur averti évitera par exemple de manger du thon altéré ou fermenté séché (en tous cas pas en grande quantité) tandis que les pêcheurs ou les industriels adopteront les pratiques qui garantissent une meilleure qualité des produits.

En résumé, il ressort de cette partie bibliographique que l'histamine est connue depuis 1907 alors que la notion d'intoxications histaminiques par le thon n'est apparue qu'en 1946. Elle est le produit de décarboxylation d'un acide aminé (l'histidine libre) sous l'action d'enzymes essentiellement bactériennes. De part leur grande richesse en histidine les poissons sanguins (ex: les thons) sont les plus prédisposés à la formation d'histamine, surtout leur partie musculaire rouge. Cette formation est beaucoup influencée par la température. Toutefois, la résistance parfaite de l'histamine à la chaleur fait l'objet de discussions. Des études ont montré que, de façon générale, le taux d'histamine est:

- compris entre 0 et 10 mg / 100 g dans les conserves (notamment de thon);
- plus élevé dans le poisson séché;
- très faible dans le poisson frais: environ 0,1 mg.

Le taux à risques qui était généralement fixé à 100 mg / 100 g, tend à être abaissé à 10 mg / 100 g.

Selon les pays et l'espèce de poisson, la dose limite d'histamine tolérée varie de 10 à 50 mg / 100 g sauf au Sénégal où elle est de 5 mg / 100 g pour le poisson entier (matière première) et 10 mg / 100 g pour les conserves. Dans ce pays, tout comme en France, la fluorimétrie constitue la méthode officielle de dosage de cette biotoxine .

La toxicité de l'histamine ingérée est atténuée ou empêchée par un phénomène de malabsorption (induite par la mucine) et par un processus de détoxification (par oxydation ou par conjugaison); elle est par contre favorisée par certaines diamines (spermine, putrescine, cadavérine, spermidine). Cette toxicité s'exprime à dose élevée et l'intoxication qui en résulte se traduit par divers symptômes (vaso-moteurs, digestifs, respiratoires) dont le plus caractéristique et le plus constant est la rougeur du visage. Si la symptomatologie peut prendre une allure alarmante, on note généralement une guérison spontanée en 30 minutes à 3 heures de temps. Un traitement est également possible, notamment avec la prométhazine (PhénerganND).

Quant à la prévention, elle repose sur les mesures générales visant la recherche d'une bonne qualité des produits (hygiène, conservation par le froid,...); elle connaît aussi des mesures spécifiques: fixation et respect des normes, dosages, sensibilisation du public, etc.

L'appréciation de l'incidence de la technologie sur le taux d'histamine et sur le pH du thon, qui feront l'objet de notre deuxième partie, peut s'inscrire dans le cadre de cette prophylaxie.

DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE

Trois chapitres seront développés dans cette partie:

- Chapitre 1: Matériel et méthodes
- Chapitre 2: Résultats et discussion
- Chapitre 3: Propositions d'amélioration

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1.1. Matériel

Il s'agit du matériel biologique (échantillons), du matériel technique et de laboratoire utilisés dans le cadre de ce travail.

1.1.1. Echantillons (poissons), conditionnement et transport

Les prélèvements sont effectués sur le thon (Katsuwonus pelamis ou listao) au cours des stades:

- début de décongélation;
- après cuisson;
- après stérilisation.

Suivant l'état du poisson (déterminé par le stade de la fabrication) il existe un matériel adéquat pour sa conservation et son acheminement au laboratoire (Tableau 6).

Tableau 6: Stade de fabrication, état du poisson, matériel pour le conditionnement et le transport.

Stade de fabrication	Etat du poisson	Matériel pour le conditionnement et le transport
Début décongélation	Poisson congelé	- 1 glacière; - 3 générateurs de froid ou carboglaces; - 1 sachet plastique par échantillon.
Après cuisson	Poisson cuit	- 1 sachet plastique par échantillon; - 1 grand sachet par échantillonnage.
Après stérilisation	Poisson en conserve	- 1 petit carton

Tous les échantillons ont été acheminés au laboratoire en autobus.

1.1.2. Matériel de laboratoire pour le dosage de l'histamine et la mesure du pH

Il s'agit de l'instrumentation et des solutions de travail nécessaires pour le dosage fluorimétrique (qui est la méthode utilisée).

a) Instrumentation

- flacons de 250 ml (en plastique et en verre);
- ouvre-boîtes;
- spatules;
- balances "SRATORIUS" (dont une balance de précision: sensibilité 0,1 mg);
- doseur "ZIPETTE" de 100 ml;
- broyeur ou "Ultra- Turrax" ou même broyeur de type "Moulinex";
- entonnoirs en plastique;
- béchers de 50ml;
- pipette bâton de 0,2ml;
- colonnes de chromatographie liquide basse pression (burettes de diamètre intérieur 10 mm, hauteur 150 mm, robinet en verre ou en téflon ayant une voie de 1,6 ou 2,0 mm, partie supérieure avec rodage femelle 14/13 destiné à recevoir un réservoir de 200 ml);
- chronomètre;
- fioles de 20 ml;
- micropipettes de 0,1 ml, de 0,2 ml et de 1 ml;
- tubes de fluorimétrie;
- fluorimètre ("Turner Fluorimeter Model 112");
- pipettes et éprouvettes de différentes graduations;
- réfrigérateur pour la conservation de certaines solutions (O. phtalaldéhyde et solution étalon d'histamine);
- étuve pour sécher les tubes du fluorimètre.

En plus de cette instrumentation, le matériel suivant est utilisé:

- laine de verre;
- papier filtre;
- papier parafilm;
- papier "Joseph".

b) Solutions de travail (Tableau 8).

Tableau 7: Réactifs initiaux et solutions de travail

Réactifs initiaux	Solutions de travail
- Résine "Amberlite" CG type 1: 75 à 150 μ (100- 200 mesh)	
- Acétate de Sodium anhydre - Acide acétique glacial - (Acide acétique 1N, Soude 1N)	- Tampon acétate 0,2N; pH 4,62
- Acide trichloracétique (T.C.A) cristallisable	- T.C.A à 10p100 (m/v)
- Acide chlorhydrique (HCl) fumant	- HCl 0,7N et HCl 0,2N
- Soude (NaOH) en pastilles	- NaOH 1N
- O.phtalaldéhyde (poudre) - Méthanol	- O.phtalaldéhyde à 1p100 (m/v)
- Chlorhydrate d'histamine (poudre) - HCl 0,1N - T.C.A à 1p100 (m/v)	- Etalon histamine à 0,02g/l

Il est à noter que:

- tous les réactifs doivent être de qualité analytique;
 - la préparation de la plupart de ces solutions (notamment les cas de dilutions) fait intervenir de l'eau distillée;
 - éventuellement, on utilise de l'acide acétique 1N et de la soude 1N pour ajuster le pH de la solution tampon 0,2N. Ce pH se vérifie avec un pH-mètre à affichage numérique (modèle CG 817) dont l'étalonnage se fait avec des solutions tampon pH 7,00 et pH 4,00.
- Le même appareil a servi pour les mesures du pH des échantillons.

1.2. Méthodes

Elles ont trait à la démarche suivie, aux prélèvements, au dosage de l'histamine, aux mesures du pH et à l'analyse statistique des résultats.

1.2.1. Démarche de l'étude

Elles se résument (essentiellement) à un suivi du taux d'histamine d'un bout à l'autre de la chaîne de préparation du thon cuit (Tableau 9).

Pour cela, plusieurs séries de prélèvements (échantillonnages) sont effectuées. Pour chaque échantillonnage, un même lot de 9 poissons de taille à peu près identique, est soumis à des prélèvements d'abord en début de décongélation, puis après la cuisson et enfin après stérilisation (Tableau 9).

Au fur et à mesure qu'ils sont effectués, les prélèvements sont acheminés au laboratoire pour le dosage de l'histamine. Parallèlement à celui-ci, sont réalisées des mesures de pH des différents échantillons.

Tableau 8: Chaîne de fabrication du thon cuit

Etapes	Principales opérations	Durée moyenne
Décongélation ↓ x ^(P)	<ul style="list-style-type: none"> - Sortie du poisson de la chambre froide - Arrosage (à l'eau du robinet) - Chargement dans les chariots (casiers) - Rinçage (à l'eau du robinet) 	6 h
Cuisson et séchage ↓ x ^(P)	- Cuisson	3 h 30 min
	<ul style="list-style-type: none"> - Egouttage - Refroidissement - Elimination de la tête, de la queue et des nageoires (début de parage) 	14 h
Parage et emboîtage ↓	<ul style="list-style-type: none"> - Elimination de la peau de l'arête centrale, des muscles rouges,...) - Emboîtage - Jutage - Sertissage 	30 min - 1 h
Stérilisation des boîtes x ^(P)	<ul style="list-style-type: none"> - Stérilisation - Refroidissement (directement dans l'autoclave) 	55 min pour les boîtes 1/10 à 115-116°C

x^(P) = Prélèvement

1.2.2. Prélèvements: mode, identification, conditionnement et transport

Au niveau du poisson congelé (en voie de décongélation) et du poisson cuit, environ 50 g de chair (muscle blanc et muscle rouge) sont découpés dans la région postérieure du poisson c'est à dire entre la région abdominale et la région caudale. La découpe des poissons congelés permet une identification des poissons cuits puisqu'il s'agit des mêmes poissons mais à des stades différents. Par ailleurs, ils sont mis séparément dans un chariot.

Après l'opération de parage, les muscles blancs issus de ces poissons sont emboîtés manuellement. Lors de la stérilisation, les boîtes qui en résultent (après jutage et sertissage) sont mises dans un sac de jute.

Les prélèvements sur le poisson congelé et le poisson cuit sont individuellement placés dans des sachets plastiques. Le poisson congelé est immédiatement introduit dans la glacière où il reste en contact avec les carboglaces (préalablement congelés) jusqu'à l'arrivée au laboratoire. En revanche, aucune précaution particulière n'est prise pour le transport du poisson cuit et des boîtes de conserve; ces dernières sont de petite taille (format 1/10 poids 43g) et renferment des miettes de thon à l'eau. Ils sont simplement transportés dans un carton ou un sachet plastique.

1.2.3. Dosage de l'histamine: la fluorimétrie

1.2.3.1. Principe

A partir d'un échantillon donné, on procède d'abord à une extraction de l'histamine par de l'acide trichloracétique (T.C.A). Puis le passage de l'extrait ainsi obtenu sur une résine échangeuse d'ions, permet l'isolement (la purification) de l'histamine. En présence d'O.phtalaldéhyde, l'histamine donne un composé fluorescent. Le dosage est basé sur l'intensité de cette fluorescence.

1.2.3.2. Préparation de certaines solutions

Tampon acétate 0,2 N: 8,05 g d'acétate de sodium anhydre sont dissous dans quelques ml d'eau distillée; après addition de 5,9 ml d'acide acétique cristallisable, compléter à 1l avec de l'eau distillée. Le pH doit être égal à 4,62, sinon l'ajuster avec de l'acide acétique 1N ou de la soude 1N selon le cas.

Solution étalon d'histamine à 0,02g/l: préparer d'abord une solution mère d'histamine à 1g/l (pour cela, dissoudre 0,1656g de chlorhydrate d'histamine dans 100ml de HCl 0,1N).

La solution étalon est obtenue en introduisant 2ml de la solution mère dans une fiole de 100ml et on complète avec du T.C.A à 10p100. Elle peut se conserver, en flacon brun, au réfrigérateur pendant plusieurs semaines.

O.phtalaldéhyde: solution à 1p100 dans du méthanol.

1.2.3.3. Protocole expérimental

Il existe trois grandes étapes successives:

- extraction de l'histamine;
- purification de l'extrait ou isolement de l'histamine;
- réaction de condensation et mesure de la fluorescence.

a) L'extraction de l'histamine

- Peser dans un flacon en plastique de 250 ml, 10 g de chair (muscle blanc ou muscle rouge);

- ajouter à cette prise d'essai, 90 ml de T.C.A à 10p100 avec la doseur "ZIPETTE" (ou avec une éprouvette de 100 ml);

- bien broyer à l'aide de l'Ultra-Turrax (ou d'un "Moulinex"). Après chaque broyage, rincer l'axe de l'Ultra-Turrax à l'eau distillée et l'essuyer au papier "Joseph"; s'il s'agit d'un broyeur de type "Moulinex", le laver d'abord à l'eau du robinet, puis le rincer à l'eau distillée.

- filtrer la solution obtenue sur du papier filtre et en utilisant un autre flacon et un entonnoir en plastique.

b) Purification (isolement de l'histamine)

- Préparer préalablement la colonne de chromatographie:
 - * peser 1 g de résine Amberlite GC 50 type1 (100- 200 mesh) et le mettre en suspension dans 15 ml de tampon acétate 0,2N, pH 4,62;
 - * placer dans la colonne une petite couche de laine de verre;
 - * enfin, transvaser dans la colonne le mélange résine-tampon acétate. La hauteur de résine doit être de 5 cm environ. Cette préparation peut être utilisée pendant plusieurs mois.

- Fixation de l'histamine sur la résine:
 - * dans un bécher de 50 ml, mettre 0,2 ml de filtrat puis compléter à 20 ml avec le tampon acétate;
 - * transvaser le mélange dans le réservoir de la colonne de chromatographie déjà préparée;
 - * faire écouler la totalité de la solution goutte à goutte à raison de 1 goutte/3 secondes (le débit est réglé par le robinet de la colonne); faire de même avec 30 ml de tampon ayant servi à rincer le bécher ayant contenu le mélange 0,2 ml de filtrat, 20ml de tampon;
 - * laver la colonne avec 100 ml de tampon 0,2N. Le robinet de la colonne est alors complètement ouvert afin que le tampon entraîne toutes les molécules qui n'ont pas la capacité d'être fixées par la résine. Seule l'histamine reste sur la résine. Les solutions recueillies sous la colonne dans un flacon en verre, sont éliminées;

- Décrochage (récupération) de l'histamine purifiée:
 - * verser 18 ml de HCl 0,2N dans la colonne et faire écouler à raison de 1 goutte/ 3 secondes;
 - * recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 20 ml, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée et recouvrir avec du papier parafilm.

c) Réaction de condensation et mesure de la fluorescence

- Obtention des solutions prêtes pour la réaction de condensation:
 - * Etalon d'histamine: à l'aide d'une micropipette et d'une pipette, mettre 0,2 ml d'histamine dans une fiole de 20 ml et y ajouter 18 ml de HCl 0,2N. Compléter à 20 ml avec de l'eau distillée et boucher avec du papier parafilm. Ensuite, mettre 0,5 ml de cette solution et 1,5 ml de HCl 0,2N dans un tube qui sera fermé par le papier parafilm.
 - * blanc-réactifs: mettre 2 ml de T.C.A à 10p100 dans un tube et le boucher;
 - * solution inconnue (éluat): transférer 2 ml de l'éluat dans un tube et le couvrir par le papier parafilm.

- Réaction de condensation:

* à l'aide de micropipettes, ajouter dans les différents tubes (solution inconnue, étalon d'histamine, blanc-réactifs) et dans l'ordre, en agitant à chaque fois:

- 1 ml de NaOH 1N;
- 0,1 ml d'O.phtalaldéhyde;
- 2 ml d'HCl 0,7N exactement après 3 minutes et 30 secondes après l'ajout d'O.phtalaldéhyde. Un chronomètre est donc nécessaire.

- Mesure de la fluorescence

Elle se fait à des longueurs d'onde d'émission et d'excitation respectives de 450 et 360 nm.

* régler le zéro de l'appareil sur le blanc-réactifs et le 100p100 sur la solution étalon;

* mesurer la fluorescence de la solution inconnue.

Il ne doit pas s'écouler plus de 15 minutes entre la réaction de condensation de l'étalon et la lecture de la fluorescence du dernier échantillon. Si ce temps ne peut être respecté à cause d'un nombre élevé d'échantillons, il faut subdiviser ceux-ci en séries. Et pour chacune d'elles, refaire un blanc et un étalon.

D'autre part, si la fluorescence de l'échantillon est supérieure à celle de l'étalon (déviations supérieures au 100p100), il faut faire une deuxième mesure à l'image de celle effectuée avec l'étalon: 0,5 ml de l'éluat dans un tube et ajout de 1,5 ml d'HCl 0,2N. Cette solution subit la réaction de condensation et la mesure de la fluorescence. Et au moment de la lecture, on multiplie le résultat par le facteur de dilution.

Les valeurs inconnues sont déterminées par une règle de trois:

$C_1 \longrightarrow$	F_1	$C_1 =$ concentration en histamine de l'étalon
$C_2 \longrightarrow$	F_2	$C_2 =$ concentration de l'échantillon
		$F_1 =$ degré de fluorescence de l'étalon
		$F_2 =$ degré de fluorescence de l'échantillon

\Rightarrow

$$C_2 = \frac{C_1 \times F_2}{F_1}$$

Les concentrations sont exprimées en mg d'histamine par 100 g de chair.

La résine joue un grand rôle dans la mise en œuvre de ce dosage; des précautions sont prises pour assurer sa bonne utilisation. Ainsi il faut procéder à:

- * sa régénération et sa conservation : après élution (décrochage) de l'histamine par 18 mg de HCL 0,2N lors de la purification, remplir la colonne à moitié avec une solution de HCl 1N. Laisser écouler 10 ml de cette solution afin d'éliminer l'HCl 0,2 N subsistant dans la résine. La résine doit immerger dans l'HCl 1N entre deux manipulations.

- * sa remise en service avant chaque dosage: faire écouler l'HCl 1N et laver la résine avec 100 ml d'eau distillée puis 100 ml de tampon acétate pH 4,62. Eliminer les éluats.

Le changement d'aspect (formation de grumeaux) ou de couleur (verdissement) traduisent le vieillissement de la résine et il faut donc la changer.

1.2.4. Mesures du pH des échantillons

Elles sont limitées au poisson cuit (muscle blanc seulement) et aux conserves.

Pour le poisson cuit: 10 g sont prélevés dans un flacon en plastique. Après addition de 50 ml d'eau distillée, ils sont broyés et la solution est transvasée dans un bécher de 50 ml. La lecture se fait par plongée de l'électrode du pH-mètre (à affichage numérique) dans la solution.

Pour les boîtes de conserve: l'électrode est directement plongée dans le jus de la boîte.

Dans les deux cas, les précautions d'usage sont prises c'est à dire:

- * avant chaque série de mesures, l'appareil es étalonné avec les solutions tampon pH 7,00 et pH 4,00 et en fonction de la température du laboratoire (généralement 25°C);

- * après chaque lecture, l'électrode est rincée à l'eau distillée et les gouttes d'eau subsistant sont épongées avec du papier "Joseph".

1.2.5. Analyse statistique des résultats (50)

Elle permet une bonne présentation et une comparaison objective des moyennes.

1.2.5.1 Estimation de la moyenne, de la variance et de l'écart-type à partir d'un échantillon de taille n

La moyenne est:

$$\bar{x} = \frac{\sum X_i}{n}$$

avec X_i = valeur de la variable étudiée pour un échantillon donné

L'erreur sur la moyenne est égale à:

$$\frac{t \times S}{\sqrt{n}}$$

avec S = écart-type

t est donnée par la table de STUDENT en fonction de α et du degré de liberté (d.d.l).

La table donne la probabilité α pour que t égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté.

Pour l'analyse de nos résultats, nous utilisons $\alpha = 0,05$

1.2.5.2. Test de comparaison des moyennes

Il s'appuie sur le test de STUDENT basé sur la détermination de t.

Dans le cadre de cette étude, considérons que:

- A = Poisson congelé;
- B = Poisson cuit;
- C = Poisson en conserve;
- D = Muscle blanc
- E = Muscle rouge .

Alors:

$$S^2 = \frac{\sum (x - \bar{x}_A)^2 + \sum (x - \bar{x}_B)^2}{(n_A + n_B) - 2}$$

\bar{x}_A et \bar{x}_B sont les moyennes respectives des échantillons A et B.

n_A et n_B sont les tailles respectives de A et B.

S^2 = variance

$$t = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{\sqrt{\frac{S^2}{n_A} + \frac{S^2}{n_B}}}$$

Interprétation: si $|t|$ calculée est inférieure à la valeur de t donnée par la table de STUDENT, pour un d.d.l = $(n_A + n_B) - 2$ et au risque $\alpha = 0,05$, alors la différence entre les deux moyennes n'est pas significative; dans le cas contraire, elle est significative.

Chapitre 2: RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats

- les tableaux 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 et 19 présentent les résultats obtenus sur les 11 séries de nos analyses.

- les tableaux 20, 21 et 22 (tableaux récapitulatifs) et les histogrammes (figures 9 et 10) résument ces résultats.

2.2. Discussion.

Tableau 9: Série N°1

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication		
	Début décongélation	Après cuisson	Après stérilisation
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)
1	1,05	1,30	0,90
2	1,52	0,85	2,80
3	1,26	1,38	1,67
4	1,98	0,73	2,70
5	1,00	0,76	1,63
6	1,63	3,48	3,73
7	1,14	0,90	1,66
8	1,26	1,45	2,88
9	1,35	0,55	1,88
Moyenne	1,35 ± 0,23	1,26 ± 0,68	2,20 ± 0,67
Nombre d'échantillons	9	9	9

N.B: Pour toutes les séries:

- partout où la précision n'est pas apportée, les taux d'histamine du poisson congelé ou du poisson cuit correspondent à ceux du muscle blanc;
- pour tous les taux d'histamine d'un stade à l'autre, seule la moyenne est visée (donc le numéro de l'échantillon n'est pas pris en compte).

Tableau 10: Série N°2

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication					
	Début décongélation		Après cuisson		Après stérilisation	
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	pH	Histamine (mg/100g)	pH	
1	0,26	0,55	6,20	0,09	5,90	
2	0,35	1,06	6,22	2,54	5,86	
3	0,58	0,86	5,97	0,80	5,90	
4	0,28	0,52	6,09	1,20	5,91	
5	0,28	1,37	5,95	1,53	5,90	
6	0,51	1,03	5,66	0,41	5,91	
7	0,26	0,77	5,78	0,76	5,88	
8	0,02	0,51	5,65	0,15	5,88	
9	0,05	0,98	5,92	0,94	5,99	
Moyenne	0,28 ± 0,13	0,85 ± 0,22	5,93 ± 0,16	0,93 ± 0,58	5,90 ± 0,02	
Nombre d'échantillons	9	9	9	9	9	

N.B: Pour toutes les séries qui vont suivre et par stade, les mesures de pH et les taux d'histamine respectent le numéro de l'échantillon.

Tableau 11: Série N°3

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication					
	Début décongélation		Après cuisson		Après stérilisation	
	Histamine (mg/100g)		Histamine (mg/100g)	pH	Histamine (mg/100g)	pH
	Muscle blanc	Muscle rouge	-	-	-	-
1	1,25	1,02	0,49	5,90	0,44	5,80
2	1,28	3,38	1,05	5,70	1,52	5,82
3	1,24	1,33	1,07	5,79	1,05	5,81
4	2,31	2,22	1,24	5,61	1,07	5,82
5	1,45	2,09	2,11	5,64	1,03	5,83
6	0,99	2,30	0,65	5,57	1,53	5,86
7	0,94	1,97	1,35	5,66	1,04	5,84
8	1,56	2,16	0,98	5,69	1,50	5,84
9	0,95	1,13	0,77	5,60	1,92	5,79
Moyenne	1,33 ± 0,32	1,95 ± 0,55	1,07 ± 0,36	5,68 ± 0,07	1,23 ± 0,33	5,82 ± 0,01
Nombre d'échantillons	9	9	9	9	9	9

N.B: Pour toutes les séries et pour le seul stade concerné, les taux d'histamine du muscle blanc et du muscle rouge proviennent des mêmes échantillons.

Tableau 12: Série N° 4

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication					
	Début décongélation	Après cuisson		Après stérilisation		
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)		pH	Histamine (mg/100g)	pH
	-	Muscle blanc	Muscle rouge	-	-	-
1	2,22	0,90	0,56	5,84	1,89	5,79
2	2,37	1,96	5,05	5,94	2,67	5,90
3	2,01	1,50	1,75	5,73	1,08	5,81
4	1,65	0,94	1,19	5,91	0,74	5,85
5	1,87	2,32	1,09	5,53	1,67	5,86
6	2,37	0,81	1,47	5,71	2,98	5,88
7	2,75	1,71	3,14	5,84	1,54	5,92
8	2,05	1,29	1,70	5,63	2,26	5,85
9	1,20	1,42	1,01	5,52	1,33	5,91
Moyenne	2,05 ± 0,34	1,42 ± 0,39	1,88 ± 1,06	5,73 ± 0,11	1,79 ± 0,56	5,86 ± 0,03
Nombre d'échantillons	9	9	9	9	9	9

Tableau 13: Série N° 5

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication					
	Début décongélation		Après cuisson		Après stérilisation	
	Histamine (mg/100g)		Histamine (mg/100g)	pH	Histamine (mg/100g)	pH
	-	Muscle blanc	Muscle rouge	-	-	-
1	0,79	1,03	0,94	5,83	1,25	5,87
2	1,76	0,65	2,59	5,76	1,00	5,81
3	2,32	1,24	1,84	5,80	1,09	5,90
4	1,72	1,22	1,23	5,85	0,86	5,91
5	1,20	1,89	2,26	5,98	0,65	5,91
6	1,10	2,12	3,24	5,81	0,83	6,04
7	1,13	1,87	2,21	5,56	1,40	5,93
8	6,63	1,92	6,23	5,70	1,46	5,94
9	0,48	1,57	1,90	5,77	1,03	5,99
Moyenne	1,90 ± 1,42	1,50 ± 0,37	2,49 ± 1,19	5,78 ± 0,08	1,06 ± 0,20	5,92 ± 0,05
Nombre d'échantillons	9	9	9	9	9	9

Tableau 14: Série N°6

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication			
	Début décongélation	Après cuisson	Après stérilisation	pH
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	
1	4,25	0,97	0,67	5,83
2	1,42	1,42	0,31	5,89
3	1,36	0,90	0,33	5,83
4	2,23	0,65	0,10	5,80
5	4,30	1,94	0,33	5,81
6	2,33	0,63	0,25	5,89
7	3,93	1,07	1,77	5,84
8	3,50	1,30	2,50	5,83
9	2,46	0,93	1,38	5,86
Moyenne	2,86 ± 0,88	1,09 ± 0,31	0,84 ± 0,64	5,84 ± 0,02
Nombre d'échantillons	9	9	9	9

Tableau 15: Série N°7

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication			
	Début décongélation	Après cuisson	Après stérilisation	pH
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	
1	0,99	0,55	0,58	5,82
2	3,42	1,38	0,48	5,83
3	1,51	2,29	0,39	5,93
4	1,04	1,10	0,13	5,82
5	5,04	0,79	0,65	5,95
6	2,93	0,49	0,48	5,90
7	2,10	0,87	0,27	5,94
8	1,35	0,75	0,30	5,86
9	2,80	5,73	0,16	5,99
Moyenne	2,35 ± 1,02	1,55 ± 1,27	0,38 ± 0,13	5,89 ± 0,04
Nombre d'échantillons	9	9	9	9

Tableau 16: Série N°8

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication			
	Début décongélation	Après cuisson	Après stérilisation	
	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	Histamine (mg/100g)	pH
1	0,69	1,21	0,68	5,91
2	2,33	1,01	2,91	5,90
3	2,26	0,72	1,05	5,83
4	1,36	1,17	0,27	5,87
5	0,93	2,05	0,26	5,95
6	4,96	4,50	1,08	6,05
7	2,05	2,68	0,68	5,84
8	0,65	2,50	1,49	6,01
9	0,47	1,72	0,68	6,01
Moyenne	1,74 ± 1,07	1,95 ± 0,89	1,01 ± 0,69	5,93 ± 0,06
Nombre d'échantillons	9	9	9	9

Tableau 17: Série N°9

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication		
	Début décongélation		Après stérilisation
	Histamine (mg/100g)		Histamine (mg/100g)
	Muscle blanc	Muscle rouge	-
1	0,66	1,49	0,95
2	1,25	9,40	1,01
3	0,75	2,05	1,60
4	0,55	2,96	1,18
5	1,46	1,54	1,21
6	1,03	1,64	2,36
7	2,06	3,48	8,48
8	1,03	3,07	1,30
9	0,93	2,05	2,30
Moyenne	1,08 ± 0,35	3,07 ± 1,90	2,26 ± 1,83
Nombre d'échantillons	9	9	9

Tableau 18: Série N°10

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication		
	Début décongélation		Après cuisson
	Histamine (mg/100g)		Histamine (mg/100g)
	Muscle blanc	Muscle rouge	-
1	1,14	0,97	3,46
2	1,32	4,37	2,42
3	0,97	2,40	2,84
4	0,73	2,25	2,59
5	1,32	1,83	2,63
6	1,18	2,14	3,14
7	1,18	1,86	2,84
8	1,06	7,80	3,12
9	0,78	0,82	1,59
Moyenne	1,07 ± 0,16	2,71 ± 1,66	2,73 ± 0,41
Nombre d'échantillons	9	9	9

Tableau 19: Série N°11

Numéro de l'échantillon	Stades de fabrication			
	Début décongélation	Après cuisson		pH
	Histamine (mg/100g)	Muscle blanc	Muscle rouge	
	-			-
1	0,58	1,18	1,09	5,98
2	0,26	0,93	10	6,16
3	10	0,44	2,12	5,91
4	5,61	2,18	2,39	6,02
5	2,35	3,57	1,80	6,00
6	1,86	10	1,25	6,04
7	3,87	0,85	0,58	5,94
8	1,44	1,95	1,43	5,84
9	3,19	4,26	0,48	5,97
Moyenne	3,24 ± 2,33	2,81 ± 2,29	2,34 ± 2,25	5,94 ± 0,06
Nombre d'échantillons	9	9	9	9

Tableau 20 : Tableau récapitulatif du taux moyen d'histamine en fonction des stades de fabrication (mg/100g)

Numéro de la série	Stades de fabrication		
	Début décongélation	Après cuisson	Après stérilisation
1	1,35 ± 0,23	1,26 ± 0,68	2,20 ± 0,67
2	0,28 ± 0,13	0,85 ± 0,22	0,93 ± 0,58
3	1,33 ± 0,32	1,07 ± 0,36	1,23 ± 0,33
4	2,05 ± 0,34	1,42 ± 0,39	1,79 ± 0,56
5	1,90 ± 1,42	1,50 ± 0,37	1,06 ± 0,20
6	2,66 ± 0,88	1,09 ± 0,31	0,84 ± 0,64
7	2,35 ± 1,02	1,55 ± 1,27	0,38 ± 0,13
8	1,74 ± 1,07	1,95 ± 0,89	1,01 ± 0,69
Moyenne générale	1,73 ± 0,59	1,33 ± 0,26	1,18 ± 0,43
Nombre d'échantillons	72	72	72

- Nombre total d'échantillons : 216.

- Seules les séries où les trois stades (A, B, C) ont pu être suivis, sont répertoriées ici.

- Au niveau du poisson congelé ou du poisson cuit, c'est seulement le muscle blanc qui est pris en considération dans le calcul de la moyenne générale.

Tableau 21 : Taux moyen d'histamine en fonction du type de muscle et concentration moyenne des conserves correspondantes (mg/100g)

Numéro de la série	Type de muscle		
	Muscle blanc	Muscle rouge	Conserves
3	1,33 ± 0,32	1,95 ± 0,40	1,23 ± 0,33
4	1,42 ± 0,39	1,88 ± 1,06	1,79 ± 0,56
5	1,50 ± 0,37	2,49 ± 1,19	1,06 ± 0,20
9	1,08 ± 0,35	3,07 ± 2,36	2,26 ± 1,83
10	1,07 ± 0,16	2,73 ± 1,66	-
11	2,81 ± 2,29	2,34 ± 2,25	-
Moyenne générale	1,53 ± 0,68	2,41 ± 0,47	1,58 ± 0,87
Nombre d'échantillons	54	54	36

- Nombre total d'échantillons: 108
- Le muscle blanc, le muscle rouge et les conserves proviennent des mêmes échantillons.

Tableau 22: pH moyen du poisson cuit et du poisson en conserve.

Numéro de la série	Stades de fabrication	
	Après cuisson	Après stérilisation
2	5,93 ± 0,68	5,90 ± 0,02
3	5,68 ± 0,79	5,82 ± 0,01
4	5,73 ± 0,11	5,86 ± 0,03
5	5,78 ± 0,08	5,92 ± 0,05
Moyenne générale	5,78 ± 0,17	5,87 ± 0,07
Nombre d'échantillons	36	36

- Nombre total d'échantillons: 72.

- Les séries où les mesures se limitent à un stade ne sont pas prises en compte dans le calcul de la moyenne générale.

Figure 9: Taux d'histamine en fonction du stade de fabrication

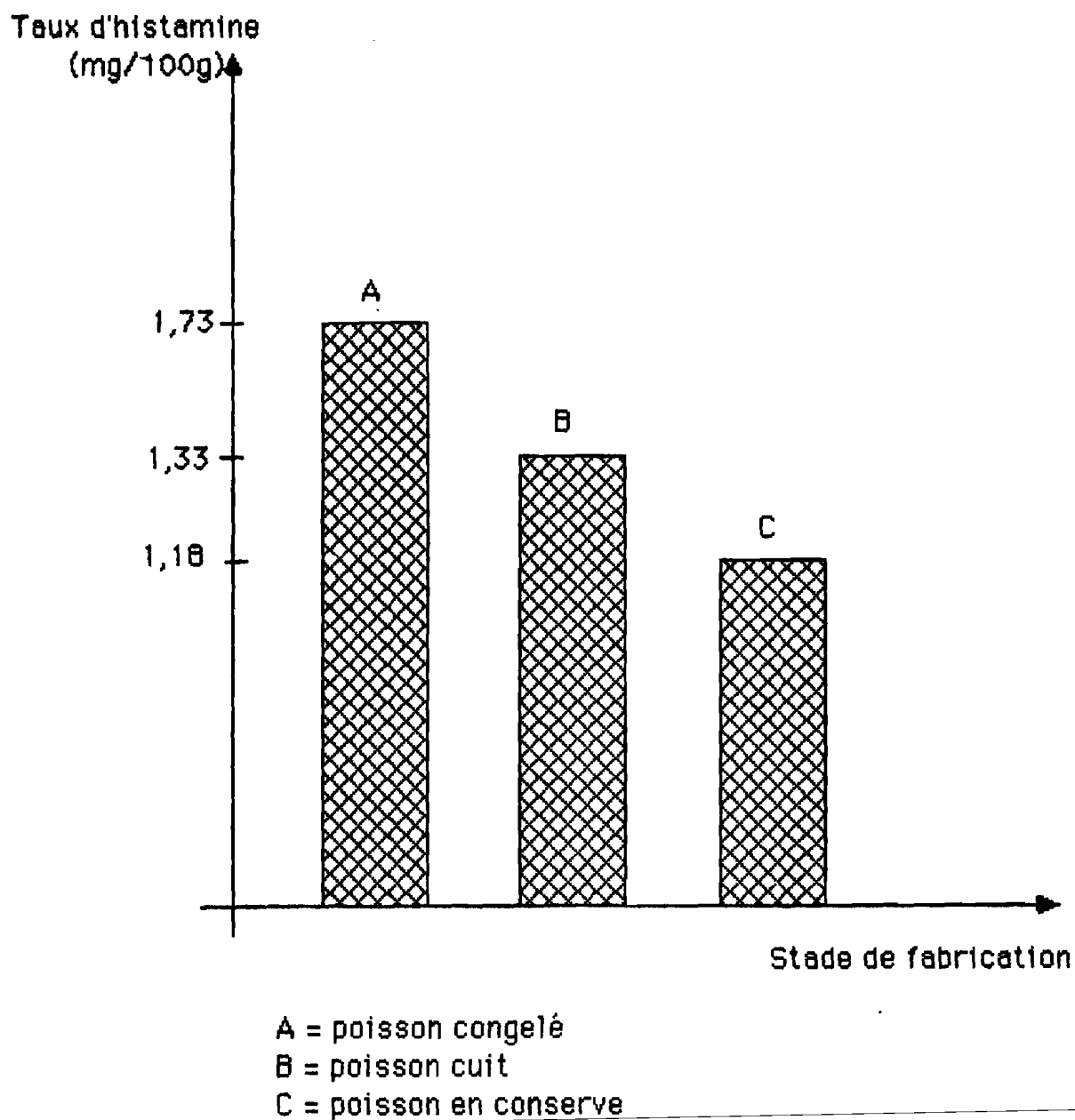
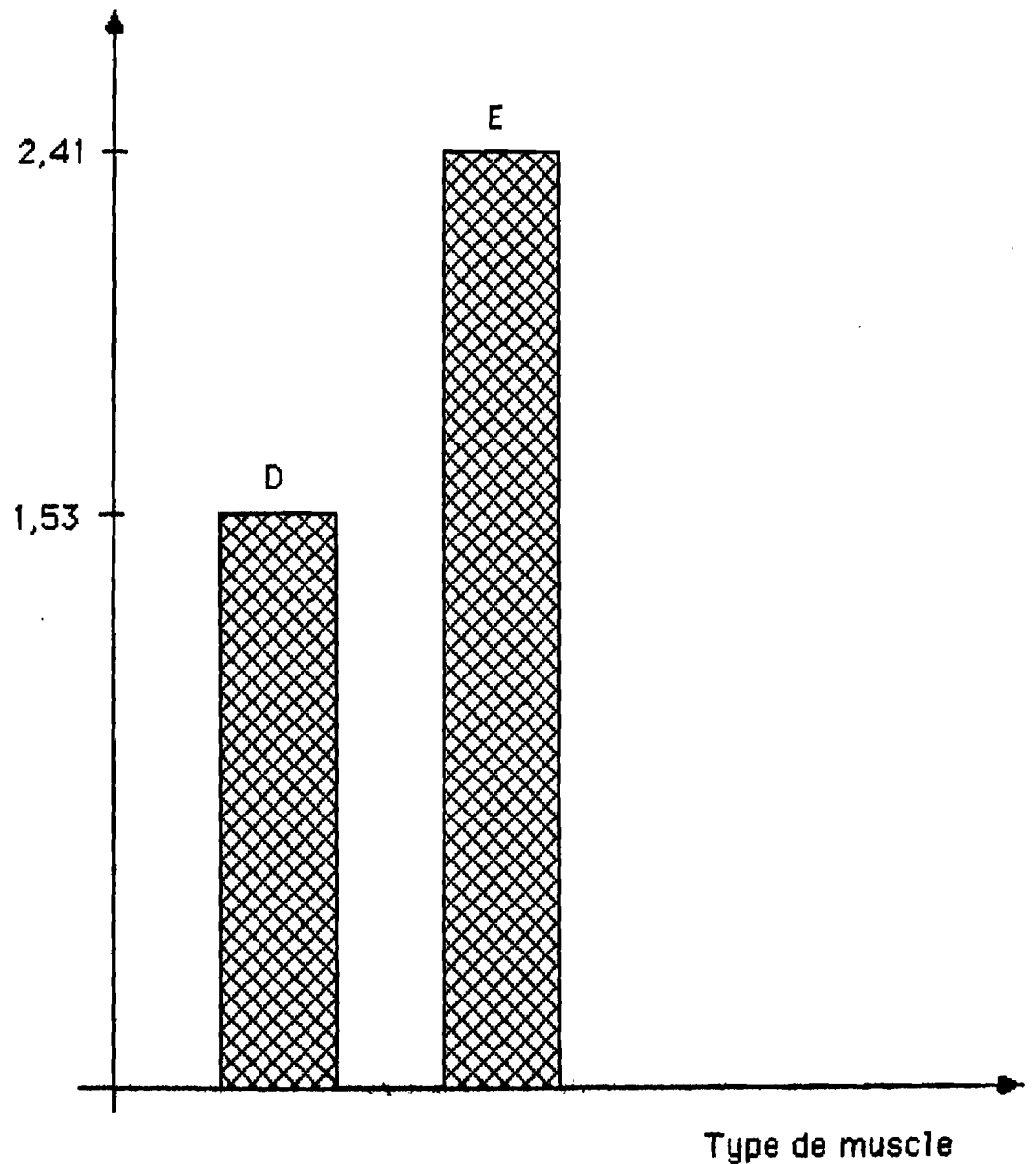


Figure 10: Taux d'histamine en fonction du type de muscle

Taux d'histamine
(mg/100g)D = muscle blanc
E = muscle rouge

2.2. Discussion

Elle se rapporte à la démarche de l'étude, au choix des échantillons, à la méthode de dosage de l'histamine et aux résultats.

2.2.1. Démarche de l'étude

La technologie (mise en conserve) qui constitue la grande étape finale de la filière poisson, présente la particularité d'entraîner des variations très importantes des principaux facteurs de la formation d'histamine (température, qualité bactériologique). En outre, elle intègre d'autres facteurs de variation tels que: le temps, la concentration en sel, le taux d'humidité, la texture de la chair, le pH, etc. Donc, a priori, elle semble avoir une grande influence sur le taux d'histamine. En procédant à des dosages de l'histamine d'un bout à l'autre de la chaîne, nous pensons pouvoir apprécier l'importance de cette incidence.

2.2.2. Choix des échantillons

Plusieurs facteurs de variation du taux d'histamine interviennent au cours de la pêche, de la conservation et de la transformation industrielle du poisson. Il s'agit notamment de:

- l'espèce;
- la localisation corporelle (type de muscle ou région corporelle);
- le pH de la chair;
- la qualité bactériologique;
- la concentration en sel;
- les moyens et la zone de pêche;
- les conditions du stockage;
- les conditions, le type et le niveau (stade) de transformation.

Compte tenu du thème de notre étude, du manque de renseignements précis sur les stocks de poisson disponibles, de nos possibilités (pour les déplacements et le temps d'exécution des analyses), nous nous sommes limités à l'étude de trois paramètres.

Ce sont: le stade de fabrication, le type de muscle, le pH.

A partir des trois paramètres, le choix proprement dit des échantillons s'est fait sur la base des critères suivants:

- groupe, genre ou espèce de poisson à taux d'histamine habituellement élevé, faisant l'objet de contrôle d'histamine, traité

abondamment et régulièrement dans les conserveries de Dakar;

- chaîne de fabrication de durée relativement longue avec des stades bien définis dans le temps;
- stades avec de grandes variations de la température et dont la durée autorise des dosages d'histamine sans délai;
- poids relativement important qui permet des prélèvements sans que le temps de cuisson du poisson soit modifié;
- région corporelle à concentration moyenne en histamine et dont le muscle rouge est facilement accessible;
- poids des échantillons n'excédant pas de trop ce qui est nécessaire aux différentes analyses. Il s'agit donc d'éviter le gaspillage du poisson;
- nombre d'échantillons défini par les normes au Sénégal et ne dépassant pas celui des colonnes de chromatographie disponibles au laboratoire.

Ces différents critères nous ont donc amené à travailler sur des séries de 9 échantillons par stade (début décongélation, après cuisson et après stérilisation) au niveau de la chaîne de fabrication du thon cuit (listao cuit d'environ 1,8 Kg/ poisson).

Les prélèvements qui sont réalisés au niveau de la région postérieure du poisson congelé ou du poisson cuit, correspondent à 50 g environ tandis que les boîtes de conserve sont de format 1/10 et de poids égal à 43 g.

2.2.3. Méthode de dosage de l'histamine

Avant d'adopter la technique de dosage fluorimétrique, nous avons été surtout intéressé par la chromatographie sur couche mince (C.C.M). Nous avons finalement renoncé à cette méthode à cause de la contrainte fondamentale suivante: existence de traînées au niveau des plaques quand les solutions soumises à la migration proviennent d'une extraction de l'histamine à partir d'échantillons de poisson (conserves de thon à l'huile). L'interprétation des résultats était donc difficile voire impossible. En revanche, les taches sont bien individualisées quand la migration sur la plaque s'effectue avec des solutions préparées à partir d'histamine pure. Nous avons donc suspecté un défaut de pureté de l'extrait.

Il est à remarquer que dans le cas de la fluorimétrie, l'extraction de l'histamine par l'acide trichloroacétique est suivie de la purification de l'extrait par passage sur une résine échangeuse d'ions.

Quant à la fluorimétrie, elle était la seule méthode de dosage d'histamine à Dakar et elle était utilisée par deux laboratoires:

- Laboratoire d'Analyses et d'Essais (L.A.E) à l'Ecole Nationale Supérieure Universitaire de Technologie (E.N.S.U.T) où nous avons pu travailler;
- Laboratoire d'Essais des Produits Industriels (L.E.P.I) qui est privé.

Cette méthode présente les avantages suivants:

- c'est la méthode officielle de dosage de l'histamine au Sénégal et en France;
- elle est quantitative;
- elle a une grande sensibilité (46) (67) (68);
- elle est d'exécution rapide;
- elle n'expose pas le manipulateur aux vapeurs de certains réactifs dangereux (ce qui est le cas avec la C.C.M notamment lors de la révélation des plaques).

Toutefois elle est onéreuse car demande un appareillage important et beaucoup de réactifs ou des réactifs très chers.

2.2.4. Résultats

Nous allons les confronter d'abord avec ceux rapportés dans la littérature, puis comparer les moyennes obtenues à la lumière du test de STUDENT.

L'analyse statistique, en particulier la détermination des moyennes et de t, a été effectuée à l'aide d'un ordinateur Macintosh II (Annexes).

a) Taux d'histamine suivant le stade de fabrication

- Pour le poisson congelé: les résultats obtenus donnent une valeur moyenne de 1,73mg/100g. Cette valeur est supérieure à celle rapportée par QUEVAU VILLER et N'GUYEN VAN HOA, cités par NERISSON (47), qui trouvent chez des poissons frais ou congelés (merlan, daurade, lieu, colin, sardine), un taux inférieur à 0,1mg/100g. cela peut être interprété comme une confirmation que le listao contient plus d'histamine que ces espèces citées qui sont essentiellement à chair blanche. En revanche, BOYER cité par NERISSON (47), signale un taux minimal de 2mg/100g chez le thon rouge, ce qui corrobore l'idée selon laquelle le thon rouge est plus riche en histamine que les autres espèces de thon, en l'occurrence le listao.

- Pour les conserves: la valeur moyenne trouvée est de 1,18mg/100g. Elle est inférieure à celle indiquée dans les miettes de thon (2,00mg/100g) par NERISSON (47), mais concorde avec celle de LÖNBERG (43), LUTEN (44), NERISSON (47) et FALL (24) qui ont révélé un taux inférieur à 10mg/100g dans les conserves en général.

Dans le cas précis du Sénégal, selon FALL (24), le taux moyen d'histamine dans le thon en conserve, est inférieur à 5mg/100g, ce qui confirme nos résultats.

WILLIAMS, cité par NERISSON (47), donne des teneurs inférieures à 6mg/100g dans du thon en conserve; LÖNBERG (43) et NERISSON (47) signalent même des niveaux généralement inférieurs à 1mg/100g.

Par contre, ABABOUC, ALADUI et BUSTA (2) ont noté au Maroc une concentration moyenne de 9,86mg/100g à partir de thon en conserve; cette valeur est nettement supérieure à celle trouvée au Sénégal.

- L'analyse statistique montre différentes variations du taux d'histamine en fonction des stades de fabrication (Tableau 23).

Tableau 23: Comparaison des moyennes du taux d'histamine en fonction des stades de fabrication.

Moyennes comparées	t calculée	t donnée par la table de STUDENT	Interprétation
\bar{x}_A \bar{x}_B	2,213	1,960	S
\bar{x}_B \bar{x}_C	1,088	1,960	N.S
\bar{x}_A \bar{x}_C	3,129	1,960	S

\bar{x}_A , \bar{x}_B et \bar{x}_C sont respectivement les taux moyens d'histamine du poisson congelé (A), du poisson cuit (B) et du poisson en conserve (C).

S = Différence significative

N.S = Différence non significative

La baisse constatée du stade A au stade B peut faire penser à une solubilisation de l'histamine dans l'eau de cuisson.

Du stade B au stade C la différence des moyennes n'est pas statistiquement significative. On peut donc affirmer que:

- l'histamine est thermorésistante (16) (47);
- il ne se forme plus d'histamine dans les produits portés à une température d'au moins 60°C (47).

La baisse légère observée peut être aussi en rapport avec une éventuelle solubilisation de l'histamine dans le jus de la boîte de conserve.

b) Taux d'histamine selon le type de muscle

Nous avons trouvé un taux moyen de 1,53mg/100g pour le muscle blanc et 2,41mg/100g pour le muscle rouge. Ces valeurs montrent qu'effectivement le muscle rouge est plus riche en histamine que le muscle

blanc et le test de STUDENT montre que la différence entre les deux moyennes est significative ($|t|$ calculée = 2,689 et t donnée par la table de STUDENT = 1,960).

Par échantillon ou par série d'échantillons le taux d'histamine du muscle blanc ou des conserves n'est pas corrélé (proportionnel) à celui du muscle rouge. Pour les conserves, cela peut s'expliquer par l'élimination du muscle rouge lors du parage.

c) pH moyen du poisson cuit (B) et du poisson en conserve (C).

Il est de 5,78 chez A et de 5,87 chez C. Ces valeurs concordent avec celles indiquées par ARNOLD (6): 5,5 à 6,5 chez les scombridés. En outre, elles sont proches de celles signalées par BOIVERT (66): 5,6 à 5,7 après la mort du poisson (thon).

La comparaison des échantillons pris individuellement ou par série ne montre pas de corrélation entre taux d'histamine et pH (Tableau 24).

Tableau 24: Taux moyens d'histamine et pH moyens correspondants

Stade de fabrication	Numéro de la série	Taux d'histamine (mg/100g)	pH
Après cuisson	2	0,85 ± 0,22	5,93 ± 0,16
	3	1,07 ± 0,36	5,68 ± 0,70
	4	1,42 ± 0,32	5,73 ± 0,11
	5	1,50 ± 0,37	5,78 ± 0,08
Après stérilisation	2	0,93 ± 0,58	5,90 ± 0,02
	3	1,23 ± 0,33	5,82 ± 0,01
	4	1,79 ± 0,56	5,86 ± 0,03
	5	01,06 ± 0,20	5,87 ± 0,05

Chapitre 3: PROPOSITIONS D'AMELIORATION

Elles concernent l'entreprise d'études ultérieures, les normes au Sénégal, les méthodes de dosage et la fabrication des conserves.

3.1. Etudes ultérieures

Les études ultérieures à mener sur les différents facteurs de variation du taux d'histamine, devront tenir compte:

- de la disponibilité de renseignements selon la période et selon la conserverie;
- du choix du produit soumis au dosage.

a) Période d'exécution des travaux et renseignements

Certains renseignements ne peuvent être obtenus de façon précise qu'au niveau des bateaux de pêche (thoniers). Ce sont:

- la zone de pêche;
- les moyens de pêche;
- la manutention à bord des bateaux notamment les conditions de stockage.

Il existe une période d'activité intense et une saison morte pour la pêche thonière. La période d'exécution des travaux doit donc intégrer cette contrainte si de tels renseignements s'avèrent utiles.

b) Conserverie et renseignements

Si les études doivent se dérouler dans une conserverie, il serait souhaitable que cette dernière puisse fournir des informations précises sur les différents stocks de poisson notamment:

- la date de débarquement et le nom du bateau;
- le type de bateau (canneur, senneur, etc);
- le taux d'histamine au débarquement;
- la répartition et la disposition des cargaisons dans les chambres froides;
- la température de stockage; à cet effet les thermomètres des chambres froides doivent être toujours fonctionnels et si possible il faut un enregistreur de température.

Par conséquent, il faut que les stocks (lots) de poisson soient dès le départ bien individualisés dans les chambres froides en fonction des débarquements (cargaisons).

c) Choix du produit soumis au dosage

Il doit être précoce afin de permettre une bonne organisation du travail dans le temps et l'obtention d'un maximum de résultats.

3.2. Normes au Sénégal

" Le respect des normes d'un pays donné vaudra équivalence du respect des normes du pays dans lequel on exportera " (51).

A partir de cette observation, le Sénégal doit adopter officiellement une réglementation " propre " calquée sur celle des pays de la C.E.E, en particulier de la France (qui est le principal client du thon en provenance du Sénégal).

Le recours à des textes (normes officiellement définies) peut servir de base juridique au règlement de certains cas litigieux tel celui du bateau espagnol, le " KURTZO ", refoulé à Dakar avec sa cargaison de thon. Motif: taux élevé d'histamine. Les analyses de laboratoire effectuées dans un premier temps par le L.E.P.I, montrent sur 22 échantillons, un taux moyen de 7,7mg/100g avec deux échantillons dont les taux sont supérieurs à 10mg/100g mais inférieurs à 20mg/100g (10,3 et 11,4mg/100g/). Par la suite, deux séries de 22 échantillons ont été envoyées au L.E.P.I et au L.A.E pour confirmer (ou infirmer) ces résultats. Les valeurs moyennes trouvées sont:

- 6,2mg/100g par le L.E.P.I;
- 3,7 mg/100g par le L.A.E.

Dans les deux cas, aucun échantillon n'a dépassé 10mg/100g (et même 6mg/100g dans le cas du L.A.E).

Les taux trouvés sont donc conformes aux normes françaises qui sont supposées être appliquées à une différence près: elles ne sont valables que pour les conserves car pour le poisson congelé le taux limite moyen d'histamine est fixé à 5mg/100g par la Direction de l'Océanographie et des Pêches Maritimes (D.O.P.M) qui est le service officiel de contrôle.

Il est à remarquer que nos résultats tendent à montrer une diminution significative du taux d'histamine au cours de la transformation du poisson.

La résolution des cas litigieux et l'application des normes reposent sur des analyses de laboratoire réalisées par des méthodes éprouvées.

3.3. Méthode de dosage

S'il est heureux de constater que la méthode est identique dans les deux laboratoires de Dakar agréés pour la recherche de l'histamine, il faut signaler que l'exécution de la technique diffère au moins au niveau d'un point: celui de la prise d'essai (ou prélèvement). Or, " l'analyse ne vaut que ce que vaut l'échantillon et l'échantillon ne vaut que ce que valent les techniques de prélèvement ". Au L.E.P.I, la prise d'essai est réalisée à partir de muscle blanc et de muscle rouge provenant de différentes sections du poisson tandis qu'au L.A.E, elle est essentiellement constituée de muscle blanc et ne tient pas compte souvent des régions corporelles.

Le L.E.P.I tient compte du muscle rouge parce qu'a priori, on peut penser à une diffusion de l'histamine du muscle rouge et une imprégnation du muscle blanc par celle-ci.

Seul le muscle blanc doit se retrouver dans les boîtes de conserve (le muscle rouge étant éliminé au parage); c'est pourquoi, le L.A.E. limite ses analyses à ce muscle.

Cette différence dans la réalisation de la prise d'essai notamment le prélèvement de muscle rouge dans le cas du L.E.P.I, explique peut être les variations importantes des résultats selon le laboratoire. En effet, les résultats du L.E.P.I sont presque toujours nettement supérieurs à ceux du L.A.E: c'est une constatation faite par les industriels eux-mêmes et nous avons pu la vérifier à travers les résultats d'analyse effectués par ces laboratoires en 1989 et qui sont consignés à la D.O.P.M. Cette même différence à sans doute semer le doute dans le cas litigieux du " KURTZO ".

La technique de prélèvement doit donc être uniformisée. De plus, des précautions doivent être prises par la D.O.P.M lors de l'acheminement des tranches de poisson congelé au laboratoire: une glacière et des générateurs de froid (carboglaces) doivent être prévus.

En ce qui concerne la méthode de dosage elle-même (fluorimétrie), ses multiples avantages font qu'elle doit être conservée.

Quant à la chromatographie sur couche mince (C.C.M), les premiers tests que nous avons réalisés ont été compromis par une impureté des extraits. Par la suite, cet obstacle a pu être levé en procédant à une purification préalable des extraits par passage sur résine (donc par chromatographie liquide à basse pression ou C.L.B.P). Par conséquent, en couplant la C.L.B.P à la migration des éluats sur une plaque de C.C.M, nous avons noté une amélioration des résultats: taches sans traînées. Nous rappelons que la lecture précise de ces taches nécessite un densitomètre.

3.4. Fabrication du thon en conserve

Cette étude a révélé des taux d'histamine plus élevés dans les muscles rouges sans corrélation avec ceux des conserves correspondant aux mêmes échantillons (sans doute à cause de l'élimination du muscle rouge lors du parage). De ce fait les industriels doivent veiller à la bonne exécution de cette opération (parage).

On sait par ailleurs que le poisson altéré contient souvent des teneurs élevées d'histamine. Il est donc plus prudent et peut être même plus économique d'exclure systématiquement tous les poissons altérés lors du chargement dans les chariots en vue de la cuisson.

Les mesures générales prises pour assurer une bonne qualité des produits, et énoncées dans la partie bibliographique, doivent être renforcées.

CONCLUSION

Si la présence d'histamine est très faible au moment de la capture du poisson, par contre sa formation prend de l'importance au cours des principales étapes ultérieures qui caractérisent la filière poisson: conservation et transformation. Pour apprécier l'influence de cette dernière, nous avons procédé au suivi du taux d'histamine d'un bout à l'autre de la chaîne de fabrication du thon cuit. A cet effet, 216 échantillons de listao (Katsuwonus pelamis) ont été prélevés à trois stades de la fabrication. Le dosage de l'histamine, uniquement au niveau du muscle blanc a donné les taux moyens suivants:

- * 1,73mg/100g en début de décongélation;
- * 1,33mg/100g après cuisson;
- * 1,18mg/100g après stérilisation.

Un dosage comparatif du taux d'histamine entre muscle blanc et muscle rouge a été également réalisé. Sur 108 échantillons testés, les teneurs moyennes trouvées montrent que le muscle rouge (2,41mg/100g) est plus riche en histamine que le muscle blanc (1,53mg/100g). Néanmoins, aucune relation n'a été observée entre les taux d'histamine:

- du muscle blanc et du muscle rouge d'une part;
- du muscle rouge et des conserves résultant des mêmes échantillons d'autre part.

Enfin, des mesures de pH ont été effectuées sur 72 échantillons; le pH moyen est de 5,78 pour le poisson cuit et 5,87 pour le poisson en conserve. Les valeurs de pH trouvées ne montrent pas de corrélation entre taux d'histamine et pH.

Au terme donc de cette étude axée essentiellement sur l'évolution du taux d'histamine au cours de la fabrication de conserve de thon, nous pouvons dire que, contrairement à ce qu'on peut imaginer la fabrication n'augmente pas ce taux; elle tend plutôt à l'abaisser.

Une fois de plus, on se rend compte que la qualité du produit fini est intimement liée à celle de la matière première. Aussi les pêcheurs, de même que les industriels, doivent observer et améliorer les mesures visant une réduction de la formation d'histamine dans les poissons.

C'est pourquoi, nous pensons qu'il serait souhaitable que des études ultérieures soient entreprises pour apprécier l'incidence des étapes antérieures (après capture et stockage) sur le taux d'histamine.

De plus, un dosage d'histamine dans l'eau de cuisson ou le jus des boîtes de conserve apporterait des renseignements sur une éventuelle solubilisation de l'histamine dans ces milieux.

Les résultats de ce travail ont en outre confirmé l'intérêt d'un bon parage, compte tenu du taux élevé des muscles rouges en histamine. Mais, en dépit de ce défaut, les muscles rouges et les autres déchets résultant du parage sont transformés et utilisés pour l'alimentation animale. Il serait peut être intéressant d'étudier le taux d'histamine de ces aliments ainsi qu'une éventuelle intoxication histaminique induite par ceux-ci, d'autant plus que la littérature reste pratiquement muette sur ce sujet./.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ABABOUCHE (L.)
Les biotoxines dans les produits de la pêche. Séminaire INFOPECHE/FAO sur l'organisation et la mise en œuvre de programmes nationaux d'inspection et de contrôle de la qualité des produits de la pêche. ITA/DAKAR: du 2 au 13 Octobre 1989. 20p.
- 2- ABABOUCHE (L), ALAOUI (M.M), BUSTA (F.F)
Histamine levele en commercially processed fish in Morocco. J. Food Prot, 1986, 49 (11): 904-908.
- 3- ANONYME
Hygiène du poisson et des fruits de mer. Rapport d'un comité d'experts. FAO/ROME: 1974. 66p.
- 4- ANONYME
Les analyses des produits alimentaires, leur place dans l'hygiène alimentaire. R.T.V.A, 1980, (156): 18-31.
- 5- ARNOLD (S.H.), BROWN (W.D.)
Histamine (?) toxicity from fish products. Adv. Food Res., 1978, (24): 114-153
- 6- ARNOLD (S.H.), PRICE (R.J), BROWN (W.D.)
Histamine formation by bacteria isolated from Skipjack tuna, Katsuwonus pelamis. F.S.T.A, 1981, 13 (8): 199.
- 7- BALDRATI (G.), FORNARI (M.B.), SPOTTI (E.), INCERTI (I.)
Effect of temperature on histamine formation in fish with high free histidine contents. F.S.T.A, 1981, 13 (3): 189
- 8- BARANOWSKI (J.D.), BRUST (P.A.), FRANK (H.A)
Growth of Klebsiella pneumoniae UH-2 and properties of its histidine decarboxylase system in resting cells. J. Food Biochem, 1985, (9): 349-360.
- 9- BAUCHOT (M.L.), PRAS (A.)
Guide des poissons marins d'Europe. Les GUIDES DU NATURALISTE. Paris: DELACHAUX et NIESTLE, 1980. 427p.
- 10- BAYARD (J.)
Qualité des poissons: l'intérêt du contrôle à la réception. R.T.V.A, 1988, (235): 10-15

- 11- BERNARD (A.)
Le couple trypsine-histamine dans la pancréatite aiguë. Presse Médicale, 1959, 67 (29): 1207-1209
- 12- BERTHILLIER (A.)
La chromatographie et ses applications. Paris: DUNOD, 1972. 199p.
- 13- BILLON (J.)
Intoxications alimentaires d'origine histaminique- Etiologie- Recherche et dosage de l'histamine. R.T.V.A., 1978, (143): 112-116.
- 14- BJORNUM (M.)
Poisson: un Spécialiste danois parle du traitement à bord et à terre. FRANCE PECHE, Décembre 1979- Janvier 1980, (246): 30-36.
- 15- BOIVERT (J.P.J.)
Le thon. Biologie et pêche- Hygiène et transformation. Th. Méd. Vét.: Toulouse, 1980. (54).
- 16- BOYER (J.), DEPIERRE (F.), TISSIER (M.), JACOB (J.)
Intoxications histaminiques collectives par le thon. Presse Médicale, 1956, 64 (43): 1003-1004.
- 17- CASTAN (G.), DUHAU (M.G.), GANTOIS (J.)
Mieux connaître la normalisation. Un cas concret: les viandes. R.T.V.A., 1980, (158): 21-27.
- 18- CHAMBERS (T.), STARUSZKIEWICZ (W.)
Fluorimetric determination of histamine in cheese- J.A.O.A.C, 1978, 61 (5): 1092-1097.
- 19- CHEFTEL (J.C.), CHEFTEL (H)
Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume 1. Technique et Documentation. Paris: Entreprise moderne d'édition, 1976. 381p.
- 20- CHEFTEL (J.C.), CHEFTEL (H), BESANCON (P.)
Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume 2. Technique et Documentation. Paris: Entreprise moderne d'édition, 1977. 420p.
- 21- DIDOUF (N.)
Dosage d'histamine et d'indole dans les poissons séchés artisanalement. D.E.A CHIMIE: Dakar, 1980.

- 22- DÜRR (F.), KOSSUROK (B.), SCHÖBER (B.)
Biogenic amines in raw fish and fried fish products. F.S.T.A., 1981, 13 (10): 170.
- 23- EYRE (P.)
The distribution and function of histamine receptors. Les colloques de l'I.N.R.A. Pharmacie et toxicologie vétérinaire. Deuxième congrès européen. Toulouse: 13-17 Septembre 1982. 497p.
- 24- FALL (M.)
Industrie des conserves de poisson au Sénégal. Th. Méd. Vét.: Dakar, 1987. (14).
- 25- FONTAINE (M.)
Vade-Mecum du Vétérinaire. XV^e édition. Paris: Vigot, 1987. 1642p.
- 26- FOO (L.Y.)
Simple and rapid paper chromatographic method for the simultaneous determination of histidine in fish samples. J.A.O.A.C, 1977, 60 (1): 183-185.
- 27- FRANK (H.A.), BARANOWSKI (J.D.), CHONGSIRIWATANA (M.), BRUST (P.A.), PREMARATNE (R.J.)
Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahimahi (Coryphaena hippurus) after incubation at 0° and 32°C. International J.Food Microbiol, 1985, (2): 331-340
- 28- FRANK (H.A), YOSHINAGA (D.H.)
Histamine formation in tuna. Seafoods toxins, 1984, (37): 443-451.
- 29- FRANK (H.A), YOSHINAGA (D.H.)
Table for estimating histamine formation in skipjack tuna, Katsuwonus pelamis, at low nonfreezing temperature. Marine Fish. Rev., 1987, 49 (4): 67-70.
- 30- FRANK (H.A), YOSHINAGA (D.H.), NIP (W.K.)
Histamine formation and honeycombing during decomposition of skipjack tuna, Katsuwonus pelamis, at elevated temperatures. Marine Rev., 1981, 43 (10): 9-14.
- 31- GOYBET (C.)
Production et commercialisation des poissons et des coquillages. Bruxelles propose trois règlements communautaires. Le marin, 1990, (2219): 23.

- 32- GRAM (L.), TROLLE (G.), HUSS (H.H.)
 Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *International J. Food Microbiol.*; 1987,(4): 65-72
- 33- HENRY CHIN (K.D.), KOEHLER (P.E.)
 Effect of salt concentration and incubation temperature on formation of histamine, phenethylamine, tryptamine and tyramine during miso fermentation. *J. Food Prot.*, 1986, 49 (6): 423-427.
- 34- HRUBY (S.), KORBELAROVA (T.), MALKUS (Z.)
 Protein decomposition products and their hygiene significance. *F.S.T.A.*, 1981, 13 (6): 13.
- 35- KARMAS (E.)
 Biogenic amines as indicators of seafoods freshness. *F.S.T.A.*, 1983, 15(4): 168.
- 36- KJOSBAKKEN (J.), STORRO (I.), LARSEN (H.)
 Bacteria decomposing amino acids in bulk- stored capelin (Malleotus villosus). *Canadian J. Fish. Aquatics Sci.*, 1983, 40 (12): 2092-2097.
- 37- LAMENDOUR (M.L.) , PINEL (M.)
 Destruction thermique des microorganismes. Etablissement de barèmes de stérilisation. *Rév. Cons. Alim.*, 1974, (31): 65-70.
- 38- LEGROUX (R.), LEVADITI (J.C.), BOUDIN (G.), BOVET (D.)
 Intoxications histaminiques collectives consécutives à l'ingestion de thon frais. *Presse Médicale*, 1946, (39): 545-546.
- 39- LEITAO (M.F. de F)
 Histamine in fish and other foods of animal origin. *F.S.T.A.*, 1981, 13 (6): 10.
- 40- LEMBKE (A.)
 Foods, beverages and fodder with a reduced content of histamine. *F.S.T.A.*, 1981, 13 (1): 15.
- 41- LERKE (P.A.), PORCUNA (M.N.), CHIN (H.B.)
 Screening test for histamine in fish. *J. Food Sci.*, 1983, (48): 156-1567.
-

42- LO (C.)

Législation et réglementation de l'inspection des viandes, produits carnés, volailles et produits halieutiques au Sénégal. Analyse critique et propositions d'amélioration. TH. Méd. Vét.: Dakar, 1983. (13).

43- LÖNBERG (E.), MOVITZ (J.), SLORAH (S)

Histamine in tuna fish. F.S.T.A, 1981, 13 (1): 208.

44- LUTEN (J.B.)

An automated fluorimetric method for the determination of histamine in canned fish. F.S.T.A, 1981, 13 (12): 193.

45- MIETZ (J.), KARMAS (E.)

Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. J. A.O.A.C, 1978, 61 (1): 139-145.

46- MURRAY (J.), MC GILL (A.)

Effect of adsorption of histamine to glass surfaces on its estimation. J. A.O.A.C, 1982, 65 (1): 71-75.

47- NERISSON (P.)

L'histamine comme indicateur d'altération. Rév. Trav. Inst. Pêches marit., 1976, 39 (4): 471-482.

48- NEVEU (T.)

Contribution à l'étude du métabolisme de l'histamine. Th. Sc. Nat.: Paris, 1960, série A,(3307), N° d'ordre 4179.

49- NIVEN (C.F.), JEFFREY (M.B.), CORLETT (D.A.)

Differential plating medium for quantitative detection of histamine producing bacteria. Appl. Env. Microbiol., 1981, 41 (1). 321-322.

50- QUATTARA (L.)

Effet d'un inducteur, le phénobarbital sur la pharmacocinétique de la sulfadimidine chez les caprins du sahel. Th. Méd. Vét. Dakar, 1989, (31).

51- PAN (B.S.), JAMES (D.)

Histamine in marine products: production by bacteria, measurement and prediction of formation. FAO Fish. Tech. Pap., 1985, (252). 62p.

- 52- PETIT (A.)
Microbiologie des poissons. R.T.V.A., 1987, (227): 22
- 53- PILET (C.), BOURDON (J.I.), TOMA (B.), MARCHAL (N.), BALBASTRE (C.)
Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne.
2ème éd. Biologie appliquée. Paris: DOIN, 1983. 437p.
- 54- POINTEAU- POULIQUEN (M.A.)
Les causes des intoxications alimentaires en France depuis 1920. Th.
Méd. : Paris, 1958. (537).
- 55- RICHIE (A.H.), MACKIE (I.M.)
The formation of diamines and polyamines during storage of
mackerel (Scomber scombrus). F.S.T.A, 1981, 13 (6): 182-183.
- 56- ROBIN (F.)
Les normes au service de la qualité. R.I.A., 1988, (400): 42.
- 57- ROSSET (R.), ROUSSEL-CIQUARD (N.)
Congélation- décongélation. Informations techniques des services
vétérinaires (France), 1984, : 225-233.
- 58- ROZIER (J.), CARLIER (V.), BOLNOT (F.)
Dégradation de la qualité des aliments par les microorganismes.
R.T.V.A., 1982, (180): 3-13.
- 59- ROZIER (J.), CARLIER (V.), BOLNOT (F.)
Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris: sepaic,
1985. 230p.
- 60- RUBACH (K.), OFFIZORZ (P.), BREYER (C.)
Determination of histamine in fish and canned fish by capillary
isotachophoresis. F.S.T.A, 1981, 13 (11): 200.
- 61- RYSER (E.T.), MARTH (E.H.), TAYLOR (S.L.)
Histamine production by psychrotrophic pseudomonas isolated from
tuna fish. J. Food Prot., 1984, 47 (5): 378-380.
- 62- SAA (C.N.), DONDERO (C.M.), TARKY (O.W.)
Formation of histamine in horse mackerel (Trachurus murphyi)
stored at ambient temperature or under refrigeration. F.S.T.A, 1983,
15 (1): 187.

- 63- SALGUERO (J.F.), MAKIE (I.M.)
Histidine metabolism in mackerel (*Scomber scombrus*). Studies on histidine decarboxylase activity and histamine formation during storage of flesh and liver under sterile and non sterile conditions. J. Food Technol., 1979, 14: 131-139.
- 64- SCHULZE (K.), ZIMMERMANN (T.)
Influence of various storage conditions on the development of biogenic amines in tuna and mackerel. F.S.T.A, 1983, 15 (10): 207.
- 65- SCHULTZ (D.), CHANG (G.), BJELDANES (L.)
Rapid thin layer chromatographic method for the detection of histamine in fish products. J. A.O.A.C, 1976, 59 (6): 1224-1225.
- 66- SERET (B.), OPIC (P.)
Poissons de mer de l'Ouest africain tropical. 49. Initiations- Documentations Techniques. Paris: ORSTOM, 1981. 416p.
- 67- STARUSZKIEWICZ (W.)
Fluorometric determination of histamine in tuna: collaborative study. J.A.O.A.C, 1977, 60 (5): 1131-1136.
- 68- STARUSZKIEWICZ (W.), BOND (J.)
Fluorometric determination of histamine in tuna: development of method. J.A.O.A.C, 1977, 60 (5): 1125-1130.
- 69- STARUSZKIEWICZ (W.), BOND (J.)
Gas chromatographic determination of cadaverine, putrescine and histamine in foods. J.A.O.A.C, 1981, 64 (3): 584-591.
- 70- SUMMER (S.S.), TAYLOR (S.L.)
Detection method for histamine producing, dairy- related bacteria using diamine oxidase and leucocrystal violet. J. Food Prot., 1989, 12: (2):105-108.
- 71- TAYLOR (S.L.), KEEFE (T.J.), WINDHAM (E.S), HOWELL (J.F.)
Outbreak of histaminic poisoning associated with consumption of swiss cheese. J. Food Prot., 1982, 45 (5): 455-457.
- 72- TAYLOR (S.L.), LEATHERWOOD (M.), LIEBER (E.R.)
A survey of histamine levels in sausages. J. Food Prot., 1978, 41 (8): 634-637.

- 73- TAYLOR (S.L.), SPECKHARD (M.W.)
Isolation of histamine producing bacteria from frozen tuna. Marine Fish. Rev., 1983, 45 (4-6): 35-39.
- 74- TAYLOR (S.L.), WOYCHIK (N.A.)
Simple medium for assessing quantitative production of histamine by Enterobacteriaceae. J. Food Prot., 1982, 45 (8): 747-751.
- 75- TOYAMA (K.), OKUZUMI (M.), YOKOI (T.), AOE (H.)
Histamine contents of fish meal. Bull. Japanese Society Sci. Fish., 1981, 47 (3): 415-419.
- 76- VORBECK (C.)
Histamine content as a quality parameter of marine fish. F.S.T.A, 1981, 13 (2): 173.
- 77- YOSHINAGA (D.), FRANK (H.A.)
Histamine producing bacteria in decomposing skipjack tuna (Katsuwonus pelamis). Appl. Env. Microbiol., 1982, 44 (2): 447-452.
-

ANNEXES

Fichier: STAT.K.D

Echantillon Independent...

Variable:	A	B
Moyenne:	1,7368e+0	1,3394e+0
Déviatiion standart:	1,2457e+0	8,7721e-1
Observations:	72	72
test t:	2,2130e+0	Hypothèse:
Degré de liberté:	142	H ₀ : $\mu_1 = \mu_2$
Signification:	2,85e-2	H _a : $\mu_1 \neq \mu_2$

Fichier: STAT.K.D

Echantillon Independent...

Variable:	B	C
Moyenne:	1,3394e+0	1,1844e+0
Déviatiion standart:	8,7721e-1	8,3155e-1
Observations:	72	72

test t:	1,0881e+0	Hypothèse:
Degré de liberté:	142	Ho: $\mu_1 = \mu_2$
Signification:	2,78e-1	Ha: $\mu_1 \neq \mu_2$

Fichier: STAT.K.D

Echantillon Independent...

Variable:	A	C
Moyenne:	1,7368e+0	1,1844e+0
Déviatiion standart:	1,2457e+0	8,3155e-1
Observations:	72	72

test t:	3,1293e+0	Hypothèse:
Degré de liberté:	142	Ho: $\mu_1 = \mu_2$
Signification:	2,13e-3	Ha: $\mu_1 \neq \mu_2$

Fichier: STAT.2K.D

Echantillon Independent...

Variable:	D	E
Moyenne:	1,5387e+0	2,4122e+0
Déviatiion standart:	1,3584e+0	1,9627e+0
Observations:	54	54
test t:	-2,6893e+0	Hypothèse:
Degré de liberté:	106	H ₀ : $\mu_1 = \mu_2$
Signification:	8,32e-3	H _a : $\mu_1 \neq \mu_2$

Fichier: STAT.K.D.

Echantillon Independent...

Variable:	pH B	pH C
Moyenne:	5,7864e+0	5,8781e+0
Déviatlon standart:	1,7424e-1	5,7858e-2
Observations:	36	36
test t:	-2,9957e+0	Hypothèse:
Degré de liberté:	70	H ₀ : $\mu_1 = \mu_2$
Signification:	3,79e-3	H _a : $\mu_1 \neq \mu_2$

SERMENT DES VÉTÉRINAIRES DIPLOMÉS DE DAKAR

" Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, Fondateur de l'Enseignement Vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes Maîtres et mes Aînés:

- d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la Profession Vétérinaire;
- d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code déontologique de mon pays;
- de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire;
- de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma Patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation;

QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIRÉE S'IL ADVIENNE QUE JE ME PARJURE ".

Le candidat

Vu

Le Directeur
de l'Ecole Inter-Etats des
Sciences et Médecine Vétérinaires

Le Professeur Responsable
de l'Ecole Inter-Etats des
Sciences et Médecine Vétérinaires

Vu

Le Doyen
de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie

Le Président du Jury

Vu et permis d'imprimer_____

Dakar, le_____

LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE DE L'UNIVERSITE DE DAKAR