

DETERMINATION DES SOUCHES BACTERIENNES IMPLIQUEES DANS L'ALTERATION DU CHINCHARD *Trachurus Trachurus* (LINNAEUS, 1758) VENDU DANS LE DISTRICT DE BAMAKO (MALI)

D. DIABATE¹, F. SAMAKE², Y. SANOGO¹ ET A. H. BABANA¹

¹Faculté des Sciences et Techniques, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, BPE
3206 Bamako, Mali. *daoudadiabate17@yahoo.fr¹

²Institut des Sciences Appliquées, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, BPE
3206 Bamako, Mali

RESUME

La flore bactérienne d'altération et les conditions optimales d'activité des souches impliquées dans l'altération du chinchard *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) ont été déterminées. Les échantillons de chinchard ont été prélevés au niveau des points de vente dans le District de Bamako. La flore totale chez le chinchard frais et altéré a été recherchée sur le milieu PCA, caractérisée et identifiée en utilisant les galeries miniaturisées API20. L'activité des souches dans l'altération de la chair a été déterminée et l'effet de la température sur ces activités a été aussi déterminé en inoculant la chair du chinchard avec les isolats et incubée à 4°C, 7°C, 15°C et 25°C.

Au total, 20 espèces bactériennes ont été retrouvées et comprenant des bactéries mésophiles et psychrotrophes. L'activité des souches dans l'altération de la chair dépend de l'espèce bactérienne qui peut être classée en bactérie à forte, moyenne et faible activité d'altération à sa température optimale d'activité de 4°C ou 15°C. Chaque espèce bactérienne a présenté une température optimale à laquelle son activité maximale d'altération a été observée. L'activité peut augmenter avec l'augmentation de la température jusqu'à la température optimale puis diminuer après, ou diminuer avec l'augmentation de la température ou encore ne pas changer significativement avec la variation de la température. Ces résultats serviront à optimiser les conditions d'entreposage et de commercialisation des poissons frais au Mali.

Mots clés : Flore bactérienne, altération, souches impliquées, chinchard, Mali.

ABSTRAT

DETERMINATION OF SPOILAGE BACTERIA OF SEA FRESH FISH Trachurus trachurus (LINNAEUS, 1758) SOLD IN BAMAKO (MALI).

The Specific spoilage organisms and the optimum conditions for activity of the Specific spoilage organisms of fish of sea chinchard Trachurus trachurus Linnaeus, 1758 were given. The samples of Chinchard were taken on the level of the points of sale in the district of Bamako. The total microflora of the fresh and spoiled chinchard was applied on Plate Count Agar, characterized and identified by using miniaturized galleries API20. The activity of the Specific spoilage organisms of the flesh was given and the effect of the temperature on these activities was also given.

Twenty (20) bacterial species were found and were constituted by mesophilic bacteria and psychrophilic bacteria. The activity of the Specific spoilage organisms of the flesh fish depends on the bacterial species which can be classified in bacterium with strong, average and weak activity of deterioration at its optimal temperature of activity. Each bacterial species had an optimal temperature to which its maximum activity of deterioration was observed. Their activity can increase with the increase in the temperature until the optimal temperature then to decrease afterwards, decrease with the increase in the temperature or not to change significantly with the variation in the temperature. These results will be used to optimize the conditions of storage and marketing of fresh fish.

Key words : Bacterial flora, change, saltwater fish, implied stumps, chinchard.

INTRODUCTION

Le poisson est une source de protéines animales de haute valeur biologique (15 à 20 %), aussi importante que la viande. C'est un aliment hautement nutritif. Il est riche en acides aminés (méthionine), acides gras essentiels et en sels minéraux (phosphore, calcium). De ce fait, le poisson constitue un apport précieux pour l'alimentation des populations malnutries (FAO, 2006). Au Mali, la consommation de poissons est estimée à environ 10,5 kg par an et par habitant. Cette consommation moyenne est variable d'une région à l'autre et atteint 14 kg/hab/an à Bamako. La pêche constitue un domaine clé de l'économie malienne. En période hydrologique normale, la production halieutique se situe autour de 100 000 tonne par an. La valeur ajoutée brute de l'ensemble de la filière pêche est évaluée à plus de 90 milliards de FCFA, soit 4,2 pour cent du PIB total du pays (FAO, 2007). Malgré ce potentiel, les maliens d'une façon générale consomment les poissons de mer importés en raison de la croissance démographique. Pour une question de revenus et souvent aussi de disponibilité, plusieurs ménages citadins consomment aussi du poisson de mer qui coûte souvent, en dépit de sa provenance lointaine, deux fois moins cher que le poisson d'eau douce (Diabaté *et al.*, 2014).

Malgré, l'engouement des consommateurs et des opérateurs, ce secteur est confronté à un problème majeur : l'altération des poissons de mer (OMS, 2003). Ces poissons, quelques soient leur provenance, présentent une flore bactérienne responsable de l'altération et est la cause de pertes économiques importantes et souvent des maladies graves des consommateurs (Shewan, 1977). La conservation du poisson, notamment dans les pays chauds, est difficile en raison du manque d'infrastructures de conservation adéquates et du fait des conditions climatiques et d'environnement qui concourent à sa dégradation en quelques heures (Anihouvi *et al.*, 2005). Il concerne aussi bien le poisson congelé importé que le poisson frais de la pêche locale. Il est bien connu que la détérioration de poissons frais soit le résultat de l'activité microbienne des organismes spécifiques de détérioration (SSO), une fraction de la flore microbienne totale du poisson qui dégrade le poisson en ces composants biochimiques, qui sont habituellement perçus comme la perte de fraîcheur de poisson par les

consommateurs (Garcia *et al.*, 2015). Il est important d'identifier ces organismes afin d'indiquer la durée de conservation du produit. Les espèces des genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Carnobacterium*, *Lactococcus* étaient bien connues comme SSO dans les produits de pêche (Koutsoumanis *et al.*, 2000, Nieminen *et al.*, 2016).

Cependant, malgré les nombreux efforts fournis dans la conservation du poisson de mer, le problème d'altération subsiste toujours à cause du caractère périssable des poissons suite à une prolifération microbienne poussée en réfrigération. Ainsi, la présente étude vise à déterminer les souches bactériennes impliquées dans l'altération du chinchard *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) vendu sur les marchés du District de Bamako.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est le poisson de mer *Chinchard (Trachurus trachurus)* (Linnaeus, 1758).

METHODES

Echantillonnage

Dans le but de déterminer la flore d'altération du poisson de mer chinchard, une enquête a été menée et consistait, à répertorier les points de ventes, à récolter les informations sur les méthodes de conservation et les pratiques de commercialisation des poissons de mer.

Dans les six communes du district de Bamako, un marché a été choisi par commune pour l'échantillonnage.

L'échantillonnage a été fait, au niveau des points de vente, dans les conteneurs de stockage de poissons de mer frais. Trente échantillons de poisson *Chinchard (Trachurus trachurus)* constitués d'un poisson entier ont été prélevés à raison de cinq spécimens par marché pour les analyses microbiologiques.

Des spécimens de poisson Chinchard d'environ 200 g ont été prélevés aseptiquement dans des sachets stériles et conditionnés dans une glacière de type « ESKIMO » contenant de la glace. L'ensemble du matériel de prélèvement a été préalablement stérilisé au laboratoire.

Analyse microbiologique

Au laboratoire, des échantillons élémentaires constitués morceaux de peau, de chair, d'intestin et de branchie ont été prélevés aseptiquement des échantillons de poisson. Une prise d'essai de 25 g d'échantillon composite constitué de peau, de chair, d'intestin et de branchie a été pesée et broyée dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonnée tamponnée. Des dilutions décimales ont été réalisées à partir de la suspension mère sous une hotte à flux laminaire de type II.

Recherche de la flore totale

Le milieu Plate Count Agar (PCA) a été utilisé pour la recherche de la flore bactérienne. Le milieu PCA a été refroidi au bain-marie à 50°C et coulé à raison de 20 ml par boîte. Après solidification, 1 ml de suspension mère et de ses dilutions (inoculum) ont été transférés et étalés sur la gélose PCA dans les boîtes de Pétri. Ces boîtes ont été ensuite incubées dans deux incubateurs, le premier réglé à la température de 37°C pour la croissance des bactéries mésophiles et le second à 4°C pour la croissance des psychrophiles. La lecture a eu lieu dans les 48 heures après pour les mésophiles et 96 heures pour les psychrophiles.

Des isollements ont été réalisés à partir du même milieu et les isolats ont été caractérisés et identifiés en utilisant les galeries miniaturisées API20 (Bio Mérieux, France).

Caractérisation de l'activité des isolats

L'activité des isolats dans le processus de l'altération des poissons a été déterminée en pesant deux lots de 5 g de chair à l'aide d'une balance. Le premier lot a été inoculé par des bactéries préalablement isolées des poissons congelés pourris et le second servant de témoin ont été tous incubés à 4°C. Les paramètres estimés ont été: la couleur de la chair, la texture, l'odeur et la durée d'incubation minimale (apparition de signes d'altération). A partir de ces tests les souches les plus actives ont été déterminées.

L'effet de la température sur l'activité d'altération a été déterminé. Pour se faire, les souches actives retenues ont été testées à différentes températures (4°C, 7°C, 15°C et 25°C). Ainsi, 5 g de chair du poisson ont été inoculés avec des souches actives retenues et incubés à 4°C, 7°C, 15°C, et 25°C. La couleur de la chair, la texture, l'odeur et la durée d'incubation minimale d'apparition de signes d'altération ont été pris en compte. Comme précédemment, 5 g de chair non inoculé a servi de témoin et incubés dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Le barème de cotation a été établi pour les paramètres (la texture de la chair, la couleur de la chair, le degré de pourriture, la durée minimale, l'odeur) selon l'intensité de l'activité. Chaque caractère a été noté de 0 à 3. L'indice d'activité a été obtenu en faisant la somme arithmétique des chiffres attribués.

RESULTATS

Au total, 20 espèces bactériennes ont été

retrouvées chez *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) à l'état frais comprenant des bactéries psychrotrophes et de bactéries mésophiles (Tableau 1).

Tableau 1 : Fréquence des bactéries de la flore totale de *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) en fonction de leurs températures de croissance.

Frequency of bacteria in the total flora of Trachurus trachurus (Linnaeus, 1758) according to their growth temperatures.

Espèces	Températures	
	4°C	37°C
<i>Escherichia coli</i>	1	0
<i>Salmonella cholerae arizonae</i>	5	5
<i>Pseudomonas luteola</i>	3	0
<i>Vibriomonas alginolyticus</i>	4	0
<i>Proteus mirabilis</i>	4	0
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	0
<i>Serratia odorifera</i>	1	0
<i>Serratia plymuthia</i>	1	0
<i>Salmonella spp</i>	1	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	0
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	5
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	1
<i>Vibriomonas vulnificus</i>	0	1
<i>Proteus stuartii</i>	0	1
<i>Proteus rettgeri</i>	0	1
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0	1
<i>Mary morgani</i>	0	1

Cette flore, en fonction de la température de croissance, peut être classée en trois (3) groupes. Les bactéries psychrotrophes, qui ont poussé à 4°C. Il s'agissait de *Pseudomonas luteola*, *Vibriomonas alginolyticus*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthia*, *Salmonella spp*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* et les plus abondantes étaient : *Salmonella cholerae arizonae*, *Proteus mirabilis*, *Vibriomonas alginolyticus*, *Pseudomonas luteola*. Les bactéries mésophiles, qui ont poussé à 37°C, à savoir *Aeromonas hydrophila*, *Mary morgani*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus rettgeri*, *Proteus stuartii*, *Vibriomonas vulnificus*, *Escherichia fergusonii*. Celles qui n'ont pas de température de préférence, qui ont poussé à 4°C et à 37°C (*Salmonella cholerae arizonae*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia fergusonii*). Les bactéries psychrotrophes

représentent 60 % de la flore totale du poisson contre 25 % de mésophiles.

La flore psychrotrophe a présenté une grande diversité des bactéries retrouvées sur le chinard altéré (pourri). Elle est constituée d'une flore spécifique qui n'a été retrouvée que sur le poisson pourri (*Pseudomonas oryzihabitans*, *Acinetobacter baumannii*, *Providencia stuartii*) et une flore non spécifique retrouvée aussi bien sur le poisson à l'état frais qu'à l'état altéré (*Escherichia Coli*, *Salmonella cholerae arizonae*, *Vibriomonas alginolyticus*, *Pseudomonas luteola*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Klebsiella oxytoca*) (Figure 1).

La moitié des bactéries retrouvées sur le chinard altéré était sur le chinard frais. Parmi la flore d'altération, 18,75 % étaient propre à l'état altéré contre 31,25 % propre à l'état frais (Figure 1).

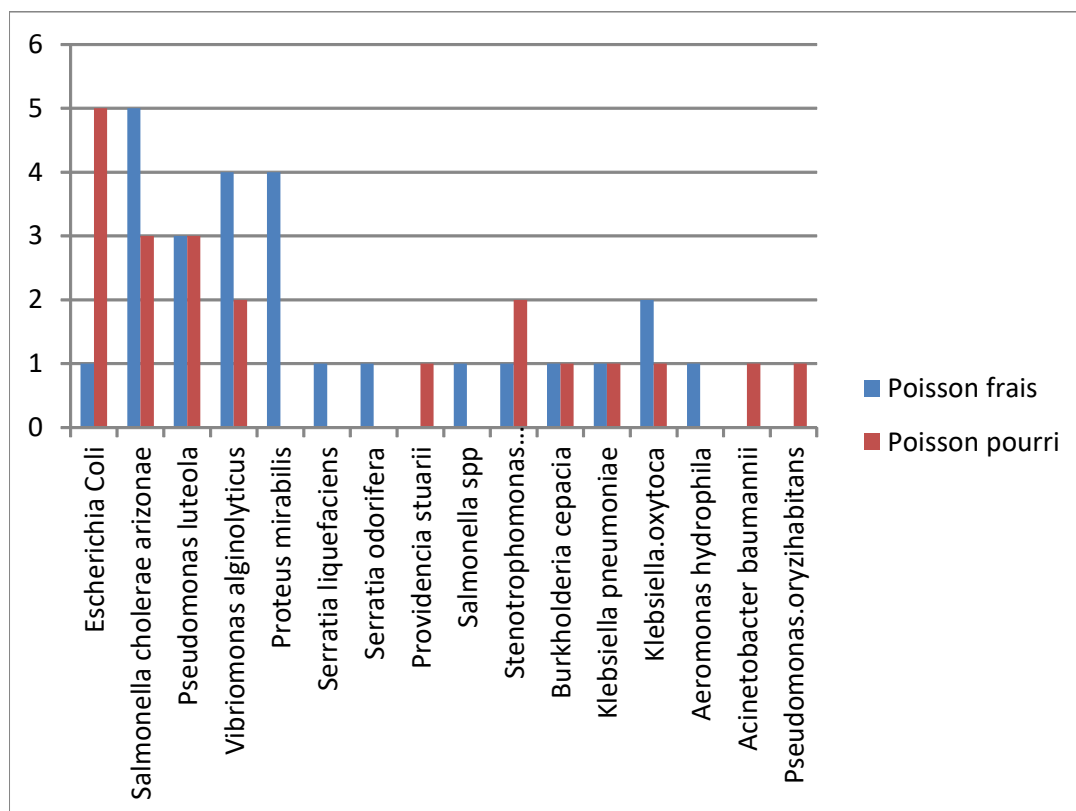


Figure 1 : Diversité et fréquence d'apparition des bactéries en fonction de l'état de *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758).

Diversity and frequency of occurrence of bacteria depending on the condition of Trachurus trachurus (Linnaeus, 1758).

L'activité d'altération des souches actives retenues a été déterminée à différentes températures (4°C, 7°C, 15°C, et 25°C). L'effet de la température sur l'activité d'altération des souches a varié fortement en fonction des souches. Selon l'évolution du niveau d'activité des souches en fonction de l'augmentation de la température, deux types d'évolution du niveau

d'activité des souches ont été observés. Les bactéries (*Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas luteola*) dont l'activité est maximale à 4°C, mais diminue avec l'augmentation de la température d'incubation. Les bactéries (*Escherichia coli*, *Salmonella cholerae arizonae*, *Vibriomonas alginolyticus*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas oryzihabitans*) dont l'activité est maximale à 15°C, (Figure 2).

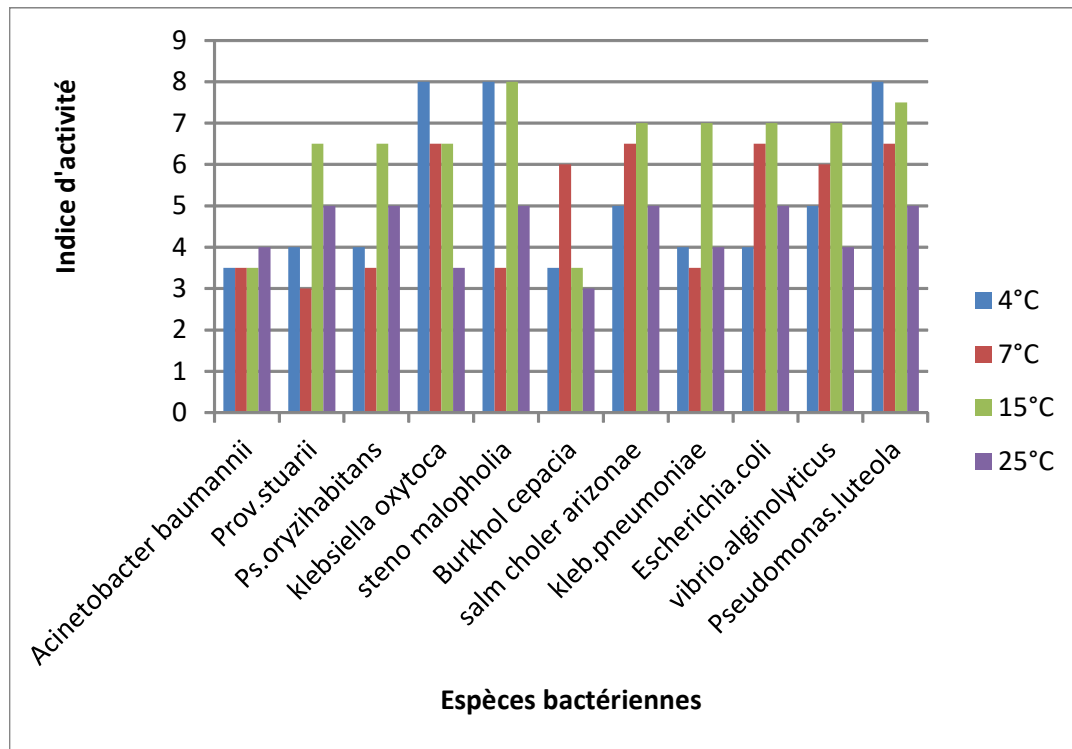


Figure 2 : L'effet de la température sur l'activité d'altération des espèces bactériennes.

The effect of temperature on the activity of alteration of bacterial species.

DISCUSSIONS

La flore bactérienne du chinchard *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) frais et altéré vendu dans le District de Bamako était composée de bactéries psychrotrophes et mésophiles.

La fréquence d'apparition des espèces bactériennes ont varié en fonction de état du poisson (pourri et frais). *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera*, *Salmonella spp*, *Aeromonas hydrophila* ont été retrouvées uniquement sur le poisson frais. Par contre, sur le poisson altéré les espèces *Pseudomonas oryzihabitans*, *Sténotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia stuarii*, et *Acinetobacter baumannii* ont été rencontrées. Les espèces *Escherichia coli*, *Salmonella cholerae arizonae*, *Pseudomonas luteola*, *Vibriomonas alginolyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* ont été retrouvées sur les deux états du poisson (pourri et frais).

Les espèces rencontrées sur le chinchard *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) sont similaires aux bactéries de la flore des poissons d'eau douce signalées au Mali par Fané *et al.*, (2011) et par Sissoko *et al.*, (2011) Nos résultats montrent que la flore bactérienne de *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) appartient à 4 familles : *Pseudomonadaceae*, *Aeromonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, et *Vibrionaceae*. Ils sont similaires aux résultats de Guo *et al.*, (2018) qui ont trouvé qu'à la température ambiante, les *Enterobacteriaceae*, et *Vibrionaceae* sont les plus importantes familles. Ces bactéries apparaissent comme des bactéries impliquées dans la pourriture des poissons frais lors de l'entreposage ou de la vente donc responsables de l'altération de la qualité marchande de ces poissons. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres chercheurs (Alfaro et Hernandez, 2013, Emborg *et al.*, 2005, Koutsoumanis et Nychas, 2000, Zhu, *et al.*, 2016) qui ont trouvé que pour les poissons frais stockés en conditions aérobies, beaucoup de bactéries sont considérées comme

des organismes spécifiques de détérioration (SSOs) potentiel, y compris des espèces des genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Photobacterium* et des bactéries résistantes au froid des genres *Serratia* et de *Yersinia*.

Les activités tant enzymatiques que microbiologique sont très influencées par la température. Ainsi, la variation de la température entre 0 à 25°C, a eu un effet qui dépend de l'espèce bactérienne mais surtout à leur relation avec la température. Les bactéries psychrotrophes ont montré une activité d'altération inversement proportionnelle à l'augmentation de la température, et ont donné une courbe d'activité concave. Par contre, l'optimum chez les mésophiles a été obtenu à la température de 15°C.

Ces résultats s'expliqueraient par l'action de la température sur la croissance microbienne et permet de classer les bactéries en fonction de leur température de croissance optimale. Olley et Ratkowsky (1973a et 1973b) ont trouvé que la relation entre la température et la vitesse relative d'altération pouvait être exprimée par une courbe d'altération en forme de S.

Trachurus trachurus (Linnaeus, 1758) vendu dans le District de Bamako possède à l'état frais et à l'état pourri une flore bactérienne diversifiée.

CONCLUSION

La flore bactérienne du poisson de *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) vendu à Bamako apparaît très diversifiée et comprenant des bactéries psychrotrophes et mésophiles essentiellement constituée des espèces de la famille des *Enterobacteriaceae*, des *Pseudomonadaceae*, des *Vibrionaceae*, et des *Aeromonadaceae*. Cette flore renferme surtout des espèces bactériennes pouvant croître à 4°C et altérer la qualité marchande, et également certaines espèces pouvant affecter la qualité sanitaire de ces poissons.

Les résultats serviront à orienter les décideurs pour l'optimisation des conditions d'entreposage et de commercialisation des poissons frais au Mali.

REFERENCES

- Alfaro B., Hernandez I. 2013. Evolution of the indigenous microbiota in modified atmosphere packaged Atlantic horse Mackerel (*Trachurus trachurus*) identified by conventional and molecular methods. *Int. J. Food Microbiol.* 2 : 117 - 123.
- Anihouvi V. B., Hounhouigan J. B., Ayernor G., S. 2005. La production et la commercialisation du Lanhouin, un condiment à base de poisson fermenté du golfe du Benin. *Cahiers Agricultures* 14 (13) : 23 - 330.
- Ndiaye C. 2012. Evaluation de la qualité des produits débarqués au marché central au poisson de Dakar. Ecole Inter-Etat des Sciences et Médecines Vétérinaires, Thèse de médecine vétérinaire, Dakar, 2012, 32 p.
- Diabaté D., Koné A., Sanogo Y., Samaké F., Traoré D. 2014. Qualité microbiologique des poissons de mer vendus dans le District de Bamako. Société Malienne des Sciences Appliquées. Actes de Conférences, Bamako, 03 - 08 août 2014, 13 p.
- Emborg J., Laursen B.G., Dalgaard P. 2005. Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacares*) at 2 degrees C-effect of vacuum-and modified atmosphere-packaging on psychrotolerant bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 101 (3) : 263 - 279.
- Fané R. 2011. Diversité de la Flore microbienne des poissons et des eaux des rivières du Sud au Mali. Mémoire de DEA de sciences appliquées, Faculté des Sciences et Techniques, Université des Sciences, des Techniques et des Technologues de Bamako, Bamako, 39 p.
- Garcia M. R., Vilas C., Herrera J. R., Bernárdez M., Balsa-Canto E., Alonso A. A. 2015. Quality and shelf-life prediction for retail fresh hake (*Merluccius merluccius*). *Int. J. Food Microbiol.* 208 : 65 - 74.
- Guo Q., Zhu Y., Wang L., Li B., Jiang C. 2018. Shelf life prediction and Bacterial flora for the fresh and lightly salted *Pseudosciaena crocea* stored at different temperatures. *Emirates Journal of Food and Agriculture.* 30 (1) : 39 - 48.
- Koné A., Sanogo Y., Samaké F., Traoré D., Diabaté D. 2014. Inventaire des poissons de mer vendus dans le district de Bamako. Société Malienne des Sciences Appliquées. Actes de Conférences - Bamako, 03 - 08 août 2014, 12 p.
- Koutsoumanis K., Nychas G.J.E. 2000. Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *Int. J. Food Microbiol.* 60 (2-3) : 171 - 184.
- Nieminen T., Dalgaard T.P., Bjorkroth, J. 2016. Volatile organic compounds and

- Photobacterium phosphoreum associated with spoilage of modified-atmosphere-packaged raw pork. *Int. J. Food Microbiol.* 218 : 86 - 95.
- Olley J., Ratkowsky D. A. 1973. Temperature function integration and its importance in the storage and distribution of flesh foods above the freezing point. *Food Technol. Aust.* 25 : 66 - 73.
- Olley J., Ratkowsky D. A. 1973. The role of temperature function integration in monitoring of fish spoilage. *Food Technol. N. Z.* 8 : 13, 15, 17.
- Ratkowsky D.A., Olley J., McMeekin T.A., Ball A. 1982. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J Bacteriol* 149 : 1 - 5.
- Shewan J. M. 1977. The bacteriology of fresh and spoiling fish and biochemical changes; induced by bacterial action. *Proceedings of the Conference on Handling Processing and Marketing of Tropical fish.* London Institute : 51 - 66.
- Sissoko A. 2011. Qualité microbiologique des espèces de poisson frais d'eau douce du Mali vendues au marché de Médina Coura. Mémoire de DEA. Option Population Environnement Gestion Durable des Ressources Naturelles. Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquée ISFRA. 111 p.