

## Impact de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité microbiologique de *Scomber scombrus* (maquereau commun) et de *Trachurus trachurus* (chinchard) dans le Sud du Bénin

### [ Impact of break in the cold chain on the microbiological quality of *Scomber scombrus* (Atlantic mackerel) and *Trachurus trachurus* (Horse mackerel) in South Benin ]

Martinien Hospice Mahussi Assogba<sup>1</sup>, Chakirath Folakè Arikè Salifou<sup>1</sup>, Pamphile Tobada<sup>2</sup>, Abdou Karimou Aboudou<sup>1</sup>, Aïssatou Bio Bakary<sup>1</sup>, Mahamadou Dahouda<sup>3</sup>, Antoine Chikou<sup>4</sup>, Souaïbou Farougou<sup>5</sup>, and Issaka Youssao Abdou Karim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, Département de Production et Santé Animale, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey Calavi, Abomey Calavi, Benin

<sup>2</sup>Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, 01BP 2009 Cotonou, Benin

<sup>3</sup>Département de Production et Santé Animale, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, Abomey Calavi, Benin

<sup>4</sup>Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, Abomey Calavi, Benin

<sup>5</sup>Unité de Recherche en Biotechnologie de la Production et Santé Animales, Département de Production et Santé Animale, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey Calavi, Abomey Calavi, Benin

---

Copyright © 2018 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Fish is a very perishable foodstuff whose preservation requires a continuous cold chain. The study aims to evaluate the effect of the break in cold chain on the bacteriological quality of *Scomber scombrus* (Atlantic mackerel) and *Trachurus trachurus* (Horse mackerel). Thus, data were collected from June to December 2016 in South Benin. A total of 120 fish were divided in control (cold chain integrity) and experimental (3h, 6h and 12h of break in cold chain) batches in order to determine the microorganism loads by cold chain break duration. Total Mesophilic Aerobic Flora (TMAF) and *Clostridium perfringens* loads were significantly higher in chilled fish samples than in frozen fish ( $p < 0.001$ ). However, no significant difference was observed between the control and the experimental batches whatever the preservation method and the cold chain break duration ( $p > 0.05$ ) for the TMAF. No *Clostridium perfringens* was counted for the freezing. Similarly, *Staphylococcus aureus* were not counted, except in the refrigerated batch for 3 hours of cold chain break. The TMAF and *Clostridium perfringens* loads increased according to cold chain break duration. For the FMAT, the highest load was observed at 12 hours of break in cold chain. In the majority of cases, *Enterobacterium* load was higher in the experimental batches compared to control batches. No samples revealed the presence of total coliforms, fecal coliforms, *Salmonella* and *Escherichia coli*. The rigorous cold chain keeping throughout the preservation until consumption significantly prevents the proliferation of fish contamination flora.

**KEYWORDS:** cold chain, safety, bacteria, quality, Wlacodji.

**RÉSUMÉ:** Le poisson est une denrée très périssable dont la conservation nécessite le maintien en continu de la chaîne de froid. Le but de l'étude est d'évaluer l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité bactériologique de *Scomber scombrus*

(maquereau commun) et de *Trachurus trachurus* (chinchard). A cet effet, la collecte des données a été réalisée de Juin à Décembre 2016 dans le Sud du Bénin. Au total, 120 poissons ont été répartis en lots témoins (courant continu) et expérimentaux (rupture de la chaîne de froid de 3h, 6h et 12h) pour déterminer les charges en micro-organismes en fonction de la durée de rupture de la chaîne de froid. Les charges en Flore Aérobie Mésophile Totale (FMAT) et en *Clostridium perfringens* ont été significativement plus élevées dans les échantillons de poissons réfrigérés que chez les poissons congelés ( $P < 0,001$ ). Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre les lots témoins et les lots testés quelle que soit la méthode de conservation et le temps de rupture de la chaîne de froid ( $P > 0,05$ ) pour la FMAT. Aucun cas de *Clostridium perfringens* n'a été dénombré à la congélation. De même, les *Staphylococcus aureus* n'ont pas été dénombrés, exceptés au niveau des lots testés réfrigérés à la rupture de 3 heures de temps. Les charges en FMAT et en *Clostridium perfringens* ont augmenté en fonction du temps de la rupture du froid. Pour la FMAT, la charge la plus élevée a été obtenue à 12 heures de temps de la rupture de la chaîne de froid. La charge en entérobactérie a été élevée au niveau des lots testés par rapport aux lots témoins dans la majorité des cas. Aucun échantillon n'a révélé la présence de coliformes totaux, coliformes fécaux, *Salmonelles* et d'*Escherichia coli*. Le maintien rigoureux de la chaîne de froid tout au long de la conservation jusqu'à la consommation empêche de façon significative la prolifération de la flore de contamination des poissons.

**MOTS-CLEFS:** chaîne de froid, sécurité, bactéries, qualité, Wlacodji.

## 1 INTRODUCTION

Le poisson est un produit dont la qualité se dégrade très rapidement du fait, principalement des réactions protéolytiques dues à des enzymes digestives, tissulaires et microbiennes ([1], [2]). Au Bénin les poissons, les plus consommés en dehors des poissons d'eau continentale, sont des poissons congelés d'eau marine importés. Parmi ces espèces de poissons, les chinchards (*Trachurus trachurus*), les maquereaux communs (*Scomber scombrus*) et les Sardinelles [3] occupent une place de choix chez les consommateurs. Pour assurer leurs conservations avant la mise en vente, plusieurs méthodes de conservations par le froid (congélation et réfrigération) sont utilisées. Ainsi, le froid ralentit ou stoppe le développement des micro-organismes et réduit au minimum la détérioration des poissons [4]. Les produits de la pêche et en particulier les poissons sont une source de bactéries et de maladies pour les hommes [5]. De ce fait, le recours au froid permet d'allonger la durée de vie des poissons et d'accroître la sécurité sanitaire.

Malheureusement, depuis plusieurs décennies, l'Afrique de l'Ouest et particulièrement le Bénin font face à un déficit énergétique conduisant à un plan de délestage au quotidien. Des coupures d'électricité allant de 4 heures à 14 heures sont observées par jour ([6], [7]). De plus, à cause de la cherté de l'électricité, plusieurs commerces de produits congelés interrompent volontairement le courant électrique en vue de réaliser des économies. Cette situation entraîne, la rupture de la chaîne de froid dans plusieurs poissonneries du Bénin et constitue un risque sanitaire d'origine microbiologique avec pour conséquence des problèmes de santé publique.

En fonction de la durée de la coupure d'électricité, la rupture de la chaîne de froid pourraient entraîner la prolifération des germes microbiens qui sont à l'origine des toxi-infections alimentaires. Ces bactéries peuvent être des *salmonelles*, des staphylocoques ou *Listeria monocytogenes*, etc..., dont l'ingestion peut occasionner des troubles gastriques (diarrhée), la fièvre et allant jusqu'à la mort.

Des études ont été réalisées par [8] sur l'impact de la rupture de froid sur les qualités technologiques et sensorielles des poissons (*Trachurus trachurus* et *Scomber scombrus*) mais aucune n'a été faite concernant l'impact de la rupture sur la qualité hygiénique des poissons congelés importés au Bénin.

Eu égard à tout ce qui précède, il est important d'évaluer, l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité microbiologique de *Scomber scombrus* (maquereau commun) et de *Trachurus trachurus* (chinchard) dans le Sud du Bénin.

## 2 MATÉRIEL ET MÉTHODE

## 2.1 CADRE DE L'ÉTUDE

La collecte des données sur l'impact de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité microbiologique de *S. scombrus* (maquereau commun) et de *T. trachurus* (chinchard) dans le Sud du Bénin a été réalisée de Juin à Décembre 2016 au Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie de Viandes (LBATV) situé à 6°24'711" de latitude Nord et 2°20'360" de longitude Est dans la commune d'Abomey-Calavi. Cette commune est située à 12 mètres d'altitude, entre 6°26' de latitude Nord, et 2°21' de longitude Est. Elle est localisée dans la partie Sud de la République du Bénin et du département de l'Atlantique. Elle est limitée au Nord par la commune de Zè, au Sud par l'océan Atlantique, à l'Est par les communes de Sô-Ava et de Cotonou et à l'Ouest par les communes de Tori-Bossito et de Ouidah. C'est la commune la plus vaste du département de l'Atlantique dont elle occupe plus de 20%. On y trouve deux plans d'eau, le lac Nokoué et la lagune côtière. La commune dispose d'une façade maritime juxtaposée à la lagune côtière, des marais, des ruisseaux et des marécages. La présence de ces plans d'eau offre à la commune une activité de pêche artisanale très vivace. La commune bénéficie également de plusieurs marchés locaux (kpota, Glodjigbé, Akassato, Zinvié et Zè). Une fois collectées, les données et les échantillons ont été analysés au Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes (LBATV) du Département de Production et Santé Animales (DPSA) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC).

## 2.2 ECHANTILLONNAGE ET ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Au total, 120 poissons dont soixante (60) *T. trachurus* et soixante (60) *S. scombrus* ont été collectés. Les poissons ont été échantillonnés au Comptoir de Distribution de Produits Alimentaires (CDPA), lieu d'approvisionnement des poissons congelés importés à Cotonou. Ils ont été ensuite transportés au laboratoire (LBATV) dans une glacière à 4°C selon les prescriptions de la norme [9].

Plusieurs lots de poissons ont été constitués : le lot1 : destiné à la réfrigération a été en courant continu, c'est-à-dire sans interruption de courant pendant l'expérimentation ; c'est le lot témoin1, le lot 2 : destiné à la congélation a été en courant continu, c'est-à-dire sans interruption de courant pendant l'expérimentation ; c'est le lot témoin 2, les lots 3, 4 et 5 : destinés pour la réfrigération, ont reçu respectivement des coupures d'électricité de 3 heures, 6 heures, 12 heures par jour pendant 3 jours chacun, les lots 6, 7 et 8 : destinés pour la congélation, ont reçu respectivement des coupures d'électricité de 3 heures, 6 heures et 12 heures par jour pendant 3 jours chacun. Pour chaque lot, en fonction de la méthode de conservation et en fonction des coupures de courant, cinq (5) poissons ont été considérés et ceci par espèce. Les températures de +4°C et de -18°C ont été appliquées respectivement pour la réfrigération et la congélation.

A la fin de la durée de chaque rupture de la chaîne de froid, les parties superficielles et profondes des poissons ont été aseptiquement prélevées à l'aide de couteaux et de pinces stériles à proximité de la flamme d'un bec bunsen pour la recherche des germes microbiologiques. Chaque échantillon prélevé pèse en moyenne 25g par poisson. La fraction ainsi prélevée est utilisée pour la préparation de la solution-mère [9]. A partir de la solution mère, des dilutions décimales ont été réalisées. Un millilitre de la solution mère est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de Tryptone Sel (TS) pour obtenir la solution à  $10^{-2}$ . Dans ce tube, il est prélevé 1 ml de solution qui est introduit dans un autre tube à essai contenant 9 ml de TS pour donner la solution  $10^{-3}$ .

La recherche et le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) ont été faits conformément à la norme [10]. Les coliformes totaux et fécaux ont été dénombrés selon la norme [11] et les staphylocoques présumés pathogènes (*Staphylococcus aureus*), suivant la norme [12]. Les *Clostridium perfringens* ont été dénombrés respectivement suivant les normes [13] et [14]. Les entérobactéries et les *Escherichia coli* ont été respectivement identifiés selon les normes [15] et [16].

L'interprétation des résultats microbiologiques a été faite suivant un plan à deux classes pour les Salmonelles, et un plan à trois classes pour les FMAT, les Coliformes, et les Staphylocoques en référence aux critères microbiologiques définis par le Règlement N°2073/2005 de l'Union Européenne et par la Fédération des Entreprises du Commerce et de la Distribution ([17], [18]), fixant le seuil de tolérance Maximale (M). Pour la FMAT, M est égal  $10^7$  UFC/g ; pour les coliformes fécaux et les *Clostridium perfringens* M est égal à 100 UFC/g ; pour les *Staphylococcus aureus* M est égal à  $10^3$  UFC/g et pour les salmonelles une absence dans 25 g de produit analysé est envisagée.

## 2.3 ANALYSES STATISTIQUES

La procédure *Proc mean* [19] a permis de calculer les moyennes des germes de la FMAT, de coliformes totaux, de coliformes fécaux, d'entérobactéries, de *Staphylococcus aureus* et de *Clostridium perfringens*. La procédure des modèles linéaires généralisés [9] a été utilisée pour l'analyse de variance dont les critères sont : les temps de coupure, les méthodes de conservation et de l'interaction entre temps de coupure et méthode de conservation. Le test de F a été utilisé pour déterminer la significativité de chaque effet du modèle et les moyennes moindres carrés ont été estimées et comparées par le test t de *Student* pour faire des comparaisons deux à deux tout en dégagant la plus petite différence significative.

### **3 RÉSULTATS**

#### **3.1 EFFET DE LA MÉTHODE DE CONSERVATION PAR LE FROID, DE L'ESPÈCE ET DE LA DURÉE DE RUPTURE DE LA CHAÎNE DE FROID SUR LA CHARGE BACTÉRIENNE (UFC/G) DES POISSONS**

##### **3.1.1 FLORE AÉROBIE MÉSOPHILE TOTALE**

La charge en FAMT a été significativement plus élevée chez les poissons réfrigérés que chez les poissons congelés ( $P < 0,001$ ) soit respectivement  $261,85 \times 10^3$  UFC/g et  $35,14 \times 10^3$  UFC/g (Tableau 1). Aucune différence significative n'a été observée entre les lots témoins et les lots testés pour chacune des méthodes de conservation par le froid ( $P > 0,05$ ). Toutefois, une diminution de charge a été observée d'une méthode de conservation à une autre entre les lots témoins et testés. La charge bactérienne en FMAT n'a pas varié significativement ( $P > 0,05$ ) entre les chinchards et les maquereaux. Par contre, la charge en FMAT a augmenté ( $P < 0,001$ ) en fonction de la durée de rupture de la chaîne de froid (Tableau 1). La charge la plus faible a été obtenue à 3h ( $38,92 \times 10^3$  UFC/g) et la plus élevée à 12 heures de temps de la rupture de la chaîne de froid ( $314,45 \times 10^3$  UFC/g).

##### **3.1.2 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS**

Aucune différence significative n'a été observée entre les lots témoins et les lots testés pour chacune des méthodes de conservation par le froid (réfrigération et congélation) ( $P > 0,05$ ) (Tableau 1). La charge en *Clostridium perfringens* a été de  $0,0217 \times 10^3$  UFC/g pour les poissons réfrigérés contre  $0,0162 \times 10^3$  UFC/g pour les lots testés réfrigérés. Toutefois, aucun cas de *Clostridium perfringens* n'a été dénombré à la congélation et des charges similaires ont été obtenues pour les deux espèces ( $P > 0,05$ ). Aucun cas de *Clostridium perfringens* n'a été dénombré à 3h de la rupture de la chaîne de froid. Après 3 heures de coupure, la charge en *Clostridium perfringens* a augmenté pour atteindre  $0,015 \times 10^3$  UFC/g et n'a plus varié significativement ( $P > 0,05$ ) jusqu'à 12h de rupture ( $0,013 \times 10^3$  UFC/g).

##### **3.1.3 ENTÉROBACTÉRIES**

La charge en entérobactérie n'a pas varié pour les deux méthodes de conservation par le froid (réfrigération et congélation) aussi bien pour le lot témoin que pour le lot expérimental ( $P > 0,05$ ) (Tableau 1). La charge en entérobactérie des lots testés à la réfrigération a été élevée ( $0,0683 \times 10^3$  UFC/g) que celle des poissons à la congélation ( $0,018 \times 10^3$  UFC/g). Aucune différence significative n'a été obtenue ( $P > 0,05$ ) entre espèces (*S. scombrus* et *T. trachurus*). Toutefois, *S. scombrus* a eu une charge élevée ( $0,0527 \times 10^3$  UFC/g). En fonction de la durée de la rupture du froid, la charge en entérobactérie a varié de  $0,0121 \times 10^3$  UFC/g à  $0,0789 \times 10^3$  UFC/g ( $P < 0,05$ ). La charge la plus élevée a été obtenue à 3h de la rupture du froid.

##### **3.1.4 STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

La charge en *Staphylococcus aureus* a été de 0,16 UFC/g pour les poissons testés à la réfrigération (Tableau 1). Aucun dénombrement n'a été fait à la congélation, aussi bien dans le lot témoin que dans le lot expérimental. Aucune différence significative n'a été observée pour les deux espèces ( $P > 0,05$ ). *S. scombrus* a eu une charge de 0,08 UFC/g contre 0 UFC/g pour *T. trachurus*. Seule la rupture de froid de 3h du temps a eu une charge de 0,12 UFC/g.

##### **3.1.5 COLIFORME TOTAUX, COLIFORME THERMO TOLÉRANT, ET *ESCHERICHIA COLI***

Enfin, les Coliformes totaux, Coliformes thermo tolérants et *Escherichia coli* n'ont pas été dénombrés.

#### **3.1.6 INTERACTION ENTRE LA TECHNIQUE DE CONSERVATION ET LA DURÉE DE RUPTURE EN FONCTION DE LA CHARGE MICROBIENNE**

Le tableau 2 présente la variation de la charge microbienne en fonction de la durée de la rupture de froid pour chaque méthode de conservation. La charge en FMAT n'a pas varié en fonction du temps de rupture de la chaîne de froid au sein de chacun des lots congelés testé et témoin ( $P > 0,05$ ). Par contre, un effet significatif a été obtenu au niveau des lots réfrigérés ( $P < 0,001$ ). Les charges les plus élevées ont été obtenues à 12 heures de la rupture de froid aussi bien pour le lot témoin réfrigéré que pour le lot testé réfrigéré ( $584,12 \times 10^3$  UFC/g vs  $650,07 \times 10^3$  UFC/g). Chez *Clostridium perfringens*, un effet significatif a été seulement observé entre les lots réfrigérés et congelés ( $P < 0,001$ ). La charge a évolué de 3 à 6 h de rupture. Aucune différence de charge ( $P > 0,05$ ) n'a été obtenue entre la rupture de 6h et 12h.

**Tableau 1 : Effet des méthodes de conservation par le froid, de l'espèce et de la durée de coupure sur la charge bactérienne (UFC/g des poissons)**

| Source de variation                   |                            | Flore Aérobie Mésophile Totale ( $10^3$ UFC/g) |        | Clostridium perfringens (UFC/g) |       | Entérobactéries (UFC/g) |       | Staphylococcus aureus (UFC/g) |       |
|---------------------------------------|----------------------------|--|--------|---------------------------------|-------|-------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|                                       |                            | Moyenne  | DS     | Moyenne                         | DS    | Moyenne                 | DS    | Moyenne                       | DS    |
| Méthodes de conservation par le froid | Lot testé Congélation      | 35,14b   | 58,52  | 0,00b                           | 0,00  | 18,00a                  | 16,75 | 0,00a                         | 0,00  |
|                                       | Lot témoin congélation     | 10,92b   | 21,52  | 0,00b                           | 0,00  | 4,33a                   | 3,60  | 0,00a                         | 0,00  |
|                                       | Lot testé Réfrigération    | 261,85a  | 307,89 | 16,25a                          | 14,40 | 68,30a                  | 85,00 | 0,16a                         | 0,40  |
|                                       | Lot témoin réfrigération   | 232,40a  | 277,18 | 21,75a                          | 16,88 | 78,8a                   | 86,30 | 0,00a                         | 0,00  |
|                                       | Test de significativité    | ***  |        | ***                             |       | NS                      |       | NS                            |       |
| Espèces                               | <i>Scombers scombus</i>    | 138,72   | 259,21 | 9,50                            | 14,87 | 52,79                   | 76,92 | 0,08                          | 0,28  |
|                                       | <i>Trachurus trachurus</i> | 131,44   | 200,86 | 9,50                            | 14,4  | 31,87                   | 53,36 | 0,00                          | 0,00  |
|                                       | Test de significativité    | NS   |        | NS                              |       | NS                      |       | NS                            |       |
| Durée de rupture                      | 3 heures                   | 38,92b   | 17,49  | 0,00b                           | 0,00  | 78,93a                  | 82,04 | 0,12a                         | 0,354 |
|                                       | 6 heures                   | 51,87b   | 17,49  | 15,06a                          | 16,76 | 12,06b                  | 20,02 | 0,00a                         | 0,00  |
|                                       | 12 heures                  | 314,45a  | 17,49  | 13,43a                          | 15,38 | 36,00ab                 | 66,28 | 0,00a                         | 0,00  |
|                                       | Test de significativité    | ***  |        | ***                             |       | *                       |       | NS                            |       |

DS : Déviation Standard ; NS : Non significatif au seuil de 5% ; \* : significatif au seuil de 5% ; \*\*\* : significatif au seuil de 1%. Les moyennes intra-classe de la même colonne suivies des lettres différentes, diffèrent significativement au seuil de 5%.

**Tableau 2 : variation de la charge microbienne en fonction de la durée de la rupture de froid pour chaque méthode de conservation**

| Source de variation               |                         | Flore Aérobie Mésophile Totale ( $10^3$ UFC/g) |        | Clostridium perfringens (UFC/g) |       | Entérobactéries (UFC/g) |       | Staphylococcus aureus (UFC/g) |      |
|-----------------------------------|-------------------------|--|--------|---------------------------------|-------|-------------------------|-------|-------------------------------|------|
|                                   |                         | Moyenne  | DS     | Moyenne                         | DS    | Moyenne                 | DS    | Moyenne                       | DS   |
| Mode de conservation par le froid | Rupture                 |  |        |                                 |       |                         |       |                               |      |
|                                   |                         |  |        |                                 |       |                         |       |                               |      |
| Lots testés Congélation           | 3heures                 | 83,03b   | 100,04 | 0,00b                           | 0,00  | 22,5a                   | 8,98  | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 6heures                 | 4,03b  | 2,61   | 0,00b                           | 0,00  | 0,00a                   | 0,00  | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 12heures                | 18,37b   | 5,18   | 0,00b                           | 0,00  | 31,5a                   | 18,38 | 0,00                          | 0,00 |
| Lots témoins Congélation          | 3heures                 | 27,15b   | 38,40  | 0,00b                           | 0,00  | 7,50a                   | 2,12  | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 6heures                 | 0,37b  | 0,53   | 0,00b                           | 0,00  | 0,00a                   | 0,00  | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 12heures                | 5,24b  | 5,22   | 0,00b                           | 0,00  | 5,50a                   | 0,00  | 0,00                          | 0,00 |
| Lots testés Réfrigération         | 3heures                 | 21,51b   | 19,86  | 0,00b                           | 0,00  | 175a                    | 21,12 | 0,05                          | 0,07 |
|                                   | 6heures                 | 113,99b  | 21,86  | 27,00a                          | 10,61 | 31,3a                   | 23,39 | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 12heures                | 650,07a  | 109,17 | 21,75a                          | 10,25 | 0,00a                   | 0,00  | 0,00                          | 0,00 |
| Lots témoins réfrigération        | 3heures                 | 23,99b   | 16,38  | 0,00b                           | 0,00  | 110,8a                  | 97,9  | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 6heures                 | 89,10b   | 6,50   | 33,25a                          | 1,06  | 17,00a                  | 24,00 | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | 12heures                | 584,12a  | 92,13  | 32,00a                          | 1,41  | 107,00a                 | 125,9 | 0,00                          | 0,00 |
|                                   | Test de significativité | ***  |        | ***                             |       | NS                      |       | NS                            |      |

DS : Déviation Standard ; NS : Non significatif au seuil de 5% ; \*\*\* : significatif au seuil de 1%. Les moyennes de la même colonne suivies des lettres différentes, diffèrent significativement au seuil de 5%.

## **4 DISCUSSION**

### **4.1 FLORE AÉROBIE MÉSOBIOLOGIQUE TOTALE**

La charge en FMAT a été significativement plus élevée au niveau des lots de poissons témoins réfrigérés qu'au niveau des lots de poissons témoins congelés. Les charges trouvées sont supérieures à celles obtenues dans les études réalisées par la référence [20] sur les *Tilapia guineensis* réfrigérés à +4°C ( $232,4 \times 10^3$  UFC/g vs  $8,2 \times 10^4$  UFC/g) et à ceux congelés à -18°C ( $10,92 \times 10^3$  UFC/g vs  $7,3 \times 10^2$  UFC/g) pendant la deuxième semaine de l'expérimentation. Ce résultat est en accord avec la diminution de charge en FMAT observée chez les poissons congelés comparés à ceux réfrigérés dans cette étude. Ceci peut se justifier par le fait que la congélation bloque la croissance bactérienne et la réfrigération ralentit la croissance microbienne. De plus, les variations de charges observées dans les diverses études sont liées à la charge en FMAT du milieu dans lequel les poissons sont pêchés et traités initialement. La dépendance de la flore microbienne vis-à-vis de l'environnement aquatique a été déjà évoquée par la référence [21].

Les charges en FMAT ont évolué avec la durée de la rupture (3h, 6h, 12h) de la chaîne de froid. Une augmentation de charges en FMAT a été obtenue dans les études réalisées par [22] chez les maquereaux des Indes (*Rastrelliger kanagurta*) après 48 heures conservés à 4°C, 15°C et 25°C, par [23] sur les maquereaux du Pacifique après 48 heures conservés à 0°C, 4°C, 15°C et 25°C et par [24] sur les Labéo roho (*Labeo rohita*) après 7 jours conservés à -12°C. Dans ces études, la chaîne de froid a été maintenue et les résultats obtenus démontrent que plus la température de conservation augmente, la charge en FMAT aussi augmente et les bactéries ont de difficultés à croître à de plus basse température. L'augmentation de la charge en FMAT obtenue dans cette étude est due à la variation de la température lors de la rupture de la chaîne de froid (3h, 6h, 12h). Une étude sur les variations de la température lors de la rupture de la chaîne de froid pourrait confirmer cette hypothèse. L'augmentation de charge a été plus significative à 12h de la rupture de la chaîne de froid. Dans cette étude, à cause de la rupture de la chaîne de froid, la température aurait augmenté pour favoriser la croissance des bactéries. [25] ont conclu que la multiplication des bactéries est accélérée quand la température de conservation augmente.

Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre la charge des lots témoins et celle des lots testés quelle que soit la méthode de conservation.

La charge a été élevée au niveau des lots de poissons testés par rapport aux lots témoins et d'un mode de conservation à un autre (congélation et réfrigération). Cette différence est due à l'effet de la rupture de froid. Les références [26] et [27] ont rapporté que la maîtrise de la température ralentit ou mieux bloque les réactions enzymatiques et le développement des micro-organismes. La charge en FMAT n'a pas varié significativement en fonction du temps de rupture de la chaîne de froid au sein de chacun des lots congelés testés et témoin. Ce qui se justifie par le fait que la congélation bloque la croissance bactérienne. Par contre, les charges les plus élevées au sein de chacun des lots de poissons réfrigérés ont été obtenues à 12 heures de rupture de la chaîne de froid aussi bien au niveau des lots témoins réfrigérés qu'au niveau des lots testés réfrigérés. Les fortes charges obtenues au niveau des lots testés réfrigérés peuvent s'expliquer par le fait qu'en présence d'une rupture de la chaîne de froid allant à 12h de temps par jour, les bactéries ont retrouvé leurs conditions favorables et ont repris leur croissance tout en utilisant les composés organiques des poissons comme nourriture.

Dans l'ensemble, la qualité microbiologique des deux espèces de poissons est satisfaisante car les charges microbiennes des lots témoins et testés, quelles que soient les méthodes de conservation sont inférieures à la valeur minimale acceptable  $10^6$  UFC/g des critères microbiologiques du Règlement N°2073/2005.

### **4.2 ENTÉROBACTÉRIES**

La charge en entérobactérie n'a pas varié significativement pour les deux méthodes de conservation par le froid, aussi bien pour les lots témoins que pour les lots expérimentaux. La charge la plus élevée a été obtenue à la rupture de 3 heures de la chaîne de froid. Les charges en entérobactéries obtenues dans cette étude sont inférieures à la charge limite acceptable pour la consommation humaine ( $10^3$  UFC/g) définie par le Règlement N°2073/2005. Des charges plus élevées ont été obtenues dans les études réalisées sur les sardines communes (*Sardina pilchardus*) ( $2,63 \times 10^2$  UFC/g), les filets de saumon (*Salmo salar*) ( $5 \times 10^2$  UFC/g) [28] et sur les maigres communs (*Argyrosomus regius*) conservés à +4 °C ( $1,69 \times 10^3$  UFC/g) [29]. La présence des entérobactéries au niveau des différentes études indique un défaut d'hygiène lors des processus de traitements des poissons et une contamination post traitement. Cette observation a été faite aussi par [30], [31] et [32]. La charge d'entérobactérie élevée à 3 heures de rupture est liée à la variation de la température survenue lors de la rupture de la chaîne de froid. Les mêmes constats sont faits par [33] qui affirme que chez le thon jaune (*Thunnus albacares*), les entérobactéries peuvent fortement se développer en cas de la rupture de la chaîne du froid. Ainsi, dans les études réalisées par [34], une exposition de

3 heures des poissons à une température de 25°C, augmente la charge en entérobactérie de 10<sup>2</sup> UFC/g. La baisse de la charge en entérobactérie à 6h et à 12heures de la rupture de la chaîne de froid peut être due aux conditions défavorables et à un manque de nutriments essentiels pour leurs croissances. Ces nutriments seraient épuisés à la rupture de 3heures.

Par ailleurs, la charge initialement obtenue dans cette étude est liée à une contamination croisée d'origine intestinale (homme) et environnementale. Les emballages (carton et sachet) des poissons constituent aussi une source de contamination de ces poissons dans le cadre de cette étude.

#### 4.3 STAPHYLOCOQUES

Pour les Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*), aucune différence de charge n'a été obtenue entre les chinchards et les maquereaux. Des résultats similaires ont été trouvés par [35] où les charges en staphylocoque de *Sarotherodon melanotheron* n'ont pas été différentes de celles de *Coptodon guineensis* dans une étude réalisée dans le marché de Kpota à Calavi au Bénin. Les staphylocoques ont été absents dans tous les échantillons, sauf au niveau des lots de poissons réfrigérés ayant subi la rupture de 3 heures. Ces échantillons sont de qualités microbiologiques satisfaisantes car les charges en staphylocoques sont inférieures à celles des critères microbiologiques (10<sup>2</sup> UFC/g) du règlement 2073/2005/CE. Des résultats similaires sont rapportés chez les chinchards congelés commercialisés au Sud du Bénin [36]. Aussi, [37] ont trouvé des charges inférieures à 100 UFC/g, satisfaisantes pour la consommation humaine, chez le Bar Européen (*Dicentrarchus labrax*), la Dorade royale (*Sparus aurata*), le Sprat (*Sprattus sprattus*), la Sardine commune (*Sardina pilchardus*), la Rascasse rouge (*Scorpaena scrofa*), le Thon rouge de l'Atlantique (*Thunnus thynnus*), le Merlu européen (*Merluccius merluccius*), le Rouget de roche (*Mullus surmuletus*) vendus sur le marché en Croatie.

Ces germes ont pour habitat, la peau, les muqueuses de l'homme et des animaux ([31], [38]). La présence de ces germes dans les poissons à 3 heures de la rupture de la chaîne de froid est due à une contamination par l'homme ou par l'environnement. Son absence dans les échantillons après 3heures de rupture de la chaîne de froid est due à une température non favorisante et ou à une absence de nutriment nécessaire pour leur croissance. Normalement les *S. aureus* se multiplient à une température ambiante mais sont inhibés, sans être détruits, par la réfrigération et la congélation [39]. La référence [40] affirme que, pour la croissance et la survie de *S. aureus* il faut une température de croissance de 7 à 48°C. Les températures lors des tests dans cette étude sont de +4°C et -18°C et ne favorisent pas la croissance de ces germes. Une résistance de ces germes à la congélation a été évoquée par [41] d'où leurs absences à la congélation dans cette étude.

#### 4.4 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Aucun cas de *Clostridium perfringens* n'a été dénombré à la congélation. Cette absence de *C. perfringens* chez les poissons congelés peut s'expliquer par le fait que les poissons n'ont pas été contaminés à l'achat et ont subi moins de manipulation. Cependant, la charge en *C. perfringens* a été plus élevée au niveau des lots testés que chez les lots témoins et a connu une augmentation avec la durée de rupture. En effet, *C. perfringens* prend la forme sporulante lorsque les conditions de croissance deviennent défavorables. Ce qui serait le cas, lorsque les poissons ont été mis au froid. Ces germes se multiplient habituellement à la température ambiante entre 15 °C et 50 °C [42].

La charge élevée au niveau des lots testés est la cause des variations de la température intervenue au cours des ruptures de la chaîne de froid. Dès que l'action du froid cesse, tous les microbes inhibés par le froid retrouvent leur activité et prolifèrent rapidement. Aussi, la présence de ces germes au sein des lots de poissons réfrigérés est due à une contamination par les commerçants à l'achat, par les chambres froides ou par les surfaces de vente des poissons. Une analyse de la qualité microbiologique des chambres froides et des surfaces de vente pourrait corroborer cette hypothèse. La présence de ces germes représente un danger sérieux, avec de forts risques d'entraîner des maladies. Pour cette raison [43] recommande le respect de la chaîne du froid des aliments.

### 5 CONCLUSION

L'enjeu essentiel de la conservation des aliments par le froid est son impact sur le comportement microbien, en particulier le ralentissement de la multiplication des microorganismes d'altérations et pathogènes. L'étude réalisée sur l'impact de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité microbiologique de *Scombers scombrus* (maquereau commun) et de *Trachurus trachurus* (chinchard) dans le Sud du Bénin, montre que les conditions de commercialisation ne respectent pas les règles de bonnes pratiques d'hygiène. Les germes pathogènes tels que les entérobactéries, les *Staphylococcus aureus* et les *Clostridium perfringens* ont été identifiés dans les échantillons analysés. Les risques de toxiinfections dues à ces germes sont de ce fait possibles. Leur présence indique une défaillance du traitement et par conséquent un risque pour le consommateur.

Dans cette étude, la congélation à -18°C a causé des conditions environnementales défavorables pour les bactéries qui ralentit la prolifération bactérienne, alors que la réfrigération permet aux bactéries de proliférer très rapidement. La rupture de la chaîne de froid ne favorise pas la conservation des poissons surtout à la réfrigération. Avec la rupture de la chaîne de froid, la congélation est la meilleure méthode de conservation pour assurer la qualité microbiologique des poissons. La rupture de la chaîne de froid de 3 heures au maximum garantie la qualité des poissons. La mise en pratique des bonnes pratiques d'hygiène en application à la méthode des 5M (Main d'œuvre, Matières premières, Milieux, Matériels et Méthode) et l'élaboration des normes sur la conservation par le froid et la qualité sanitaire des poissons au Bénin, assureront la sécurité sanitaire des consommateurs sans risque de maladies.

## REFERENCES

- [1] M. S. Al-Jasser and F. M. Al-Jasass, "Study the Chemical, Physical Changes and Microbial Growth as Quality Measurement of Fish". Annual Research and Review in Biology 4 (9): 1406-1420, 2014.
- [2] S. Sharifian, A. Ebrahim, M. S. Mortazavi, and M. S. Moghadam, "Effects of refrigerated storage on the microstructure and quality of Grouper (*Epinephelus coioides*) fillets"; Journal of Food Science Technology 51(5):929–935, 2014.
- [3] COMHAFAT, "Synthèse de l'étude sur les industries des pêches et de l'aquaculture ; revue des industries des pêches et de l'aquaculture dans les pays de COMHAFAT" ; 19p, 2014.
- [4] M.M. Aung, et Y.S. Chang, "Temperature management for the quality assurance of a perishable food supply chain". Food Control 40, 198-207, 2014.
- [5] D. Stratev, I. Vashin, and H. Daskalov, "Microbiological status of fish products on retail markets in the Republic of Bulgaria". International Food Research Journal 22(1) : 64-69, 2015.
- [6] B.G. Bocodaho, "Etats des lieux sur les techniques de conservations par le froid des poissons d'eau marine *Scomber scombrus* (maquereau commun) et *Trachurus trachurus* (chinchard) dans le sud du Bénin (Abomey-Calavi et Cotonou)". Rapport de fin de formation pour l'obtention de la licence en Production et Santé Animale, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi ; 48p, 2015.
- [7] E. M. Gnimavo, "Caractérisation de la chaîne du froid des poissons (*Scomber scombrus* et *Trachurus trachurus*) dans la commune d'Abomey Calavi", rapport de fin de formation pour l'obtention de la licence en Production et Santé Animale, 47p, 2015.
- [8] H.M M. Assogba and A.K.I. Youssao, "Rapport de travail sur l'Impact de la rupture de la chaîne de froid sur les qualités technologiques et organoleptiques des maquereaux communs (*Scomber scombrus*) et des chinchards (*Trachurus trachurus*) dans le Sud du Bénin". Laboratoire de Biotechnologie Animale et Technologie des Viandes, de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi de l'Université d'Abomey Calavi (Bénin), 20 pages, 2017.
- [9] ISO 7218, "Microbiologie des aliments : règles générales pour les examens microbiologiques" ; Troisième édition ,74 page, 2007.
- [10] ISO 4833, "Méthodes horizontales pour le dénombrement des micro-organismes". V08-011,1-9, 2003.
- [11] ISO 4831, "Microbiologie des aliments. Méthode horizontales pour la recherche et dénombrement des coliformes". Troisième édition, 11p, 2006.
- [12] ISO 6888, "Microbiologie des aliments- horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulas positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Technique utilisant le milieu-gélosé de Baird Parker", 1999. [www.iso.org/iso/fr](http://www.iso.org/iso/fr) ; consulté ce 5/03/2017.
- [13] ISO 7937, "Microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*- Technique par comptage des colonies", 2005.
- [14] ISO 6579, "Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella spp*". V08-010-2, 2007.
- [15] ISO 21528-2, "Microbiologie des aliments-Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae" – Partie 2 : Méthode par comptage des colonies, 2004.
- [16] ISO 7251, "Microbiologie des aliments". Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés, 2005.
- [17] Fédération des Entreprises du Commerce et de la Distribution (FCD), "Critères microbiologiques applicables à partir de 2015 aux activités de fabrication, préparation, découpage ou simple manipulation de denrées nues en rayon « à la coupe » et en atelier en magasin" ; 59 p, 2014.
- [18] Fédération des Entreprises du Commerce et de la Distribution (FCD), "Critères microbiologiques applicables à partir de 2015 aux marques de distributeurs, marques premiers prix et matières premières dans leur conditionnement initial industriel ; 59 p, 2016.
- [19] SAS, "SAS/STAT User's guide, vers, 9.4 Utilities, Cary, NC, USA, SAS Institute Inc", 2013.



- [20] O. Obemeata, F. P. Nnenna, and N. Christopher "Microbiological assessment of stored *Tilapia guineensis*" African Journal of Food Science Vol. 5(4), pp. 242 – 247, 2011.
- [21] E. I. Eze, B. C. Echezona and E. C. Uzodinma "Isolation and identification of pathogenic bacteria associated with frozen mackerel fish (*Scomber scombrus*) in a humid tropical environment". In *African Journal of Agricultural Research*, vol. 6, 2011, no. 7, p. 1918-1922, 2011.
- [22] S. A. Humaid, and M. T. Jamal "The Effect of Storage Temperature (4°C, 15°C and 25°C) on The Shelf Life of Whole Marine Fish (*Rastrelliger kanagurta*)". *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, Volume 8, Issue 11 Ver. I, PP 46-51, 2014. .
- [23] S. H. Kim, K. G. Field, D. S. Chang, C. I. Wei, H. An "Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in Pacific mackerel during storage". *Journal of Food Protection* 64, 1556–1564, 2001.
- [24] R. Gandotra, M. Koul, S. Gupta, S. Sharma "Change in proximate composition and microbial count by low temperature preservation in fish muscle of *Labeo Rohita* (Ham-Buch). *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Volume 2, Issue 1, PP 13-17, 2012.
- [25] Q. Q. Jiang, Z. Y. Dai, T. Zhou, J. J. Wu, J. Z. Bu, and T. L. Zheng, "Histamine production and bacterial growth in Mackerel (*Pneumatophorus Japonicus*) during storage", Vol. 37, *Journal of Food Chem.* 2:246–253, 2013.
- [26] P. Rosset, B. Annie, C. Marie, P. Gerard, "La chaîne du froid en agroalimentaire. *Cahier de Nutrition et de Diététique*", 37 (2), 124-130, 2002. <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/hal-00378384>
- [27] ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire), "Rapport sur la consommation des poissons, mollusques et crustacés", [www.anses.fr](http://www.anses.fr) Consulté le 09/04/2016 74, séance du 13 février 2001. Aspects nutritionnels et sanitaires pour l'Homme, 130p, 2010.
- [28] J. Calanche, S. Samayoa, V. Alonso, L. Provincial, P. Roncalés, and J.A. Beltrán, "Assessing the effectiveness of a cold chain for fresh fish salmon (*Salmo salar*) and sardine (*Sardina pilchardus*) in a food processing plant". *Food Control* 33 ; 126-135, 2013.
- [29] M.D. Hernández, M.B. López, A. Álvarez, E. Ferrandini, B. García García, and M.D. Garrido, "Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage". *Food Chemistry* 114, 237–245, 2009.
- [30] C.F.A. Salifou, K.C.Boko, G.S. Ahounou, P.U.TOUGAN, S.K. Kassa, I. Houaga, S. Farougou, G.A. Mensah, A. Clinquart, et A.K.I. Youssao, "Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs ; *International Journal of Biology*". *Chemical. Science.* 7(3): 1351-1369, 2013. Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs> .
- [31] I. S. Bozariis "Seafood Processing Technology, Quality and Safety. John Wiley & Sons, Ltd; ISBN 978-1-118-34621-1; 510 pp, 2014.
- [32] Sandle, T. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli*. In: C.A. Batt, and M.L. Tortorello, (eds.), 2014. *Encyclopedia of Food Microbiology*, second edition. ISBN : 978-0-12-384730- 0. 232-237.
- [33] S. A. Dauchy "Écosystèmes microbiens des poissons tropicaux, *Thunnus albacares* et *Sciaenops ocellatus*, après abattage et incidence sur la qualité des produits". Thèse de doctorat en Sciences agronomiques, biotechnologies agro-alimentaires de l'Université des Antilles, 326 pages, 2016.
- [34] C. Ferrario, C. Pegollo, G. Ricci, F. Borgo, and M.G Fortina, "PCR detection and identification of histamine-forming bacteria in filleted tuna fish samples". *Journal of Food Science* 77 (2), M115- M120, 2012.
- [35] H.M.M. Assogba, and A.K.I. Youssao, "Effet des procédés de transformation et de conservation sur les qualités microbiologique de *Tilapia guineensis* (Günther, 1862) et de *Sarotherodon melanotheron* (Rüppell, 1852) dans le Sud du Bénin". Journées scientifiques de la célébration du quarantenaire de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi de l'Université d'Abomey Calavi (Bénin), 11 pages, 2018.
- [36] K. A. Wabi, "Evaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique du poisson chinchard « *Trachurus trachurus* » congelé commercialisé dans les environs du Campus Universitaire d'Abomey Calavi au Bénin". Mémoire de Master en normes, contrôle de qualité et technologie alimentaire, Université d'Abomey-Calavi, 44p, 2010.
- [37] N. T. Popovic, A. B. Skukan, P. Dzidara, R. Coz-Rakovac, I. Strunjak-Perovic, L. Kozacinski, M. Jadan, and D. Brlek-Gorski, "Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia". *Veterinarni Medicina* 55 (5) : 233-241, 2010.
- [38] ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire), "Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques", 4p, 2011.
- [39] CIV (Centre d'Information des Viandes), "Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les maîtriser, de l'éleveur au consommateur". *Cahiers sécurité des aliments* ; 52 pages, 2012.
- [40] A. L. Dib, "Evaluation de la contamination microbienne des produits de la mer. Thèse de Doctorat en Sciences en Hygiène et Sécurité Alimentaire de l'Université Constantine1, Institut des Sciences Vétérinaires. 05/SVet/2014; 280 pages, 2014.

- [41] S. Mariapan, G. Sugumar, and D. Sugumar, "Survival of Salmonella, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus* in smoked fish fillets under low temperature storage". *Indian Journal of Microbiology* 2:25-28, 2010.
- [42] N. Saoussen, "Caractérisation des bactéries psychrotrophes de deux types aliments (Viande de Volaille et de Poisson Sardine)". Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, écologie microbienne de l'Université des Frères Mentouri Constantine ; 72 pages, 2016.
- [43] AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), "Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Clostridium perfringens* ; 4p, 2006.