

COMMUNICATIONS

**Recherche et dénombrement des *Escherichia coli*
dans les produits carnés****Emploi de la Gélose au Désoxycholate de sodium
à température d'incubation de 44°**

par J. PANTALÉON, N. GALANIS et M. GUIBERT

Un des soucis majeurs de l'hygiéniste alimentaire est de déceler et de prévenir les souillures fécales des denrées que nous consommons. Les bactériologistes européens consacrent une attention toute spéciale à la recherche des *Escherichia coli* dans les aliments, car ils considèrent à juste titre la présence de ces germes comme la preuve la plus certaine d'une contamination d'origine intestinale humaine ou animale. L'intérêt qui s'attache également à la détection de ces bactéries, pour ce qui concerne les produits pasteurisés ou chauffés, tient encore au fait que leurs conditions de thermorésistance sont comparables à celles des espèces pathogènes, les *Salmonella* notamment.

La colimétrie peut s'effectuer en milieux de culture liquides mais cette technique, qui exige l'ensemencement de nombreux tubes pour la détermination du « nombre le plus probable » des bactéries recherchées, présente en outre l'inconvénient de faciliter les phénomènes d'antagonisme microbien (4). Les milieux de culture solides n'ont pas ces défauts car ils permettent l'isolement et le dénombrement direct des colonies microbiennes.

Avec le dessein de simplifier et d'améliorer nos techniques d'examen bactériologique des produits carnés, nous

avons dans une expérimentation portant sur plus de quatre cents échantillons (viandes hachées, préparations crues, cuites ou pasteurisées) comparé les résultats fournis par les deux techniques suivantes :

- 1° *Colimétrie en milieu liquide* réalisée selon MACKENZIE, TAYLOR et GILBERT (5) en couplant le test d'Eijkman modifié (fermentation gazogène du lactose en bouillon lactosé bilié au vert brillant) et la production d'indole après incubation de 48 h à 44°.
- 2° *Colimétrie en milieu solide* pratiquée sur gélose au désoxycholate de sodium (*), déjà utilisée pour le dénombrement des coliformes (1) (6) et des *Escherichia coli* du lait (2), que nous soumettions à incubation de 18-24 h à 44°. Des dilutions décimales du produit soigneusement homogénéisé sont placées dans des boîtes de Pétri, où la gélose au désoxycholate est coulée et mélangée à l'inoculat. Pour éviter que les colonies ne diffusent en surface, il est utile de recouvrir le milieuensemencé, dès sa solidification, avec une couche de milieu vierge d'une épaisseur de 2 à 3 millimètres.

Il a été montré (3) que la méthode de MACKENZIE, TAYLOR et GILBERT offrait pour la recherche et le dénombrement des *E. Coli*, une spécificité et une sensibilité très satisfaisantes.

— *Est-ce que la gélose au désoxycholate incubée à 44° permet la sélection aussi nette de ces germes ?*

Pour répondre à cette question, nous avons procédé à l'identification par les épreuves I.M.V.I.C. de près de 500 souches microbiennes isolées de géloses au désoxycholate incubées 18-24 h. à 44°. Les colonies prélevées présentaient toutes une teinte rouge framboise et un diamètre d'au moins 1 mm.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau I.

(*) Nous avons utilisé le produit déshydraté préparé par les Laboratoires D.I.F.C.O.

TABLEAU I

Espèces microbiennes isolées sur gélose au désoxycholate incubée à 44°

<i>Espèces microbiennes</i>	<i>Nombre de souches isolées</i>	<i>Pourcentage</i>
<i>Escherichia coli</i> I	449	93
<i>Escherichia coli</i> II . . .	7	1,4
<i>Escherichia coli</i> III . .	18	3,7
<i>Citrobacter freundii</i> I.	6	} 98,1
<i>Klebsiella aerogenes</i> I.	2	
<i>Klebsiella cloacae</i>	1	

Ces chiffres démontrent que les ensemencements en gélose au désoxycholate soumis à incubation de 18-24 h à 44° permettent l'isolement quasi-spécifique des *E. coli* recherchés dans les produits carnés.

— *Cette méthode en milieu solide offre-t-elle encore une sensibilité aussi satisfaisante que la colimétrie en milieu liquide ?*

Pour répondre à cette seconde question, nous rendrons compte des résultats quantitatifs obtenus avec les deux techniques au cours de l'analyse bactériologique de plus de 400 préparations de viandes (Tableau II).

Ces chiffres démontrent que les deux méthodes ont des sensibilités très voisines dans la gamme d'appréciation que nous avons adoptée.

Il faut préciser cependant que la gélose au désoxycholate, comme d'ailleurs tout milieu solide, devient d'une utilisation peu pratique lorsqu'on désire vérifier l'absence d'*Escherichia coli* dans un inoculat correspondant à au moins 1 gramme de produit solide. Cette norme de qualité bactériologique étant précisément celle des produits carnés pasteurisés, on conçoit que la colimétrie en milieu liquide demeure toujours préférable pour l'examen bactériologique systématique de ces préparations.

TABLEAU II

Taux des E. Coli dans les préparations carnées, déterminés par les deux méthodes colimétriques

Méthode colimétrique	Résultats de la colométrie			
	Absence de <i>E. coli</i> dans 1 g ou encore moins de 1 dans 0,1 g.	Présence de <i>E. coli</i> dans 0,1 g et absence dans 0,01 g.	Présence de <i>E. coli</i> dans 0,01 g et absence dans 0,001 g.	Présence de <i>E. coli</i> dans 0,001 g.
Colimétrie à 44° en milieu liquide	222 échantillons (54 %)	80 échantillons (20 %)	59 échantillons (14 %)	49 échantillons (12 %)
Colimétrie à 44° en gélose désoxycholate	232 échantillons (57 %)	68 échantillons (17%)	60 échantillons (14 %)	50 échantillons (12 %)

Cette critique formulée, nous pouvons souligner les précieux avantages qu'apporte régulièrement l'emploi de la gélose au désoxycholate : simplification des manipulations — réduction de la durée de l'expertise — obtention de données numériques précises et nuancées. Nous estimons donc cette méthode colimétrique particulièrement adéquate aussi bien pour l'examen bactériologique des viandes hachées et des préparations crues ou non pasteurisées, que pour le contrôle général de l'hygiène des fabrications carnées.

*
**

Nos résultats d'ordre qualitatif et quantitatif nous permettent d'attribuer à la colimétrie en milieu liquide (méthode de MACKENZIE) et à la colimétrie en gélose au désoxycholate à température d'incubation de 44°, la même valeur pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* dans les produits carnés.

Les avantages techniques offerts par la gélose au désoxycholate nous incitent à recommander l'utilisation la plus large possible de ce milieu de culture pour la bactériologie alimentaire.

(Travail du Laboratoire départemental d'hygiène alimentaire des Services Sanitaires Vétérinaires de Paris et du Département de la Seine.)

BIBLIOGRAPHIE

1. BASILLE (D.). — Rapport sur les opérations des Services Sanitaires Vétérinaires de Paris et du Département de la Seine, 1954, 43.
2. BASILLE (D.). — Rapport sur les opérations des Services Sanitaires Vétérinaires de Paris et du Département de la Seine, 1958, 55.
3. BUTTIAUX (R.), SAMAILLE (J.) et PIERENS (Y.). — *Ann. Inst. Pasteur Lille*, VIII, 142, 1956.
4. BUTTIAUX (R.) et MOSSEL (D.A.A.). — *Ann. Inst. Pasteur Lille*, IX, 154, 1957.
5. MACKENZIE (E.F.W.), TAYLOR (E.W.) et GILBERT (W.E.). — *J. gener. microb.*, 2, 197, 1948.
6. Standards methods for the examination of dairy products, 10^e édition, New York, 1953, 144.