

« Myectome » et « Bloc paraffiné »

(Comparaison)

par F. LUCAM, C. FLACHAT, L. GANGLOFF et J.-C. BOITEL

En juin 1954, deux d'entre nous (1) imaginent et mettent au point un appareil qu'ils appellent « myectome », qui permet de prélever aseptiquement des fragments de muscle en vue de leur examen bactériologique.

En mai 1955, J. PANTALÉON, M. CAZAILLET et R. ROSSET (2) signalent qu'il ont mis au point un appareil destiné au même usage, et A. NÉVOT (3) insiste sur l'importance à donner aux prélèvements musculaires dans l'inspection bactériologique des viandes.

Dans la note de NÉVOT, et dans la discussion qui suit ces deux dernières communications, des arguments sont fournis sur le thème d'une comparaison entre le « myectome » et le « bloc paraffiné ».

Certains des arguments invoqués retiennent notre attention :

- le « myectome » ne constituerait pas une nouveauté ;
- il ne prélèverait pas une quantité suffisante de muscle pour une recherche bactériologique ;
- il maintiendrait le prélèvement à l'abri des souillures, ce que ne permettrait pas le « bloc paraffiné ».

L'étude de ces arguments fait l'objet de la présente note.

*
**

Il est certain que, pour prélever aseptiquement une « carotte » de muscle en vue d'un examen bactériologique, le moyen le plus simple, qui vient à l'esprit, est de disposer d'un tube que l'on enfoncerait dans les masses musculaires.

Mais, quel que soit ce tube, *son utilisation n'a de sens que*

(1) LUCAM (F.), FLACHAT (Ch.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 1954, 27, 327.

(2) PANTALÉON (J.), CAZAILLET (M.), ROSSET (R.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 1955, 28, 155.

(3) NÉVOT (A.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 1955, 28, 163.

Bul. Acad. Vét. — Tome XXIX (Mai 1956). — Vigot Frères, Editeurs.

s'il est enfoncé au centre d'une surface musculaire préalablement stérilisée ; sinon, il n'y a pas de prélèvement aseptique possible.

Si donc, rien n'est prévu avec le tube pour assurer cette stérilisation, il faut, ou bien apporter la carcasse à examiner dans un laboratoire, ou bien transporter avec soi, dans l'abattoir, une source de chaleur telle que lampe à souder, thermocautère, etc. Dans l'un ou l'autre cas, la complication est telle qu'elle limitera considérablement l'emploi de l'instrument imaginé.

Or, le « myectome » est muni, dans sa poignée, d'un tube de combustible d'un poids négligeable, qui n'augmente en aucune manière son encombrement, et qui permet, quel que soit le lieu où l'on se trouve, de stériliser par la flamme la surface du prélèvement.

Il rend donc possible la généralisation de l'inspection bactériologique des viandes, et c'est là, selon nous, sa principale originalité.

*
**

NÉVOT (3) ne pense pas que le prélèvement musculaire de 6 à 8 g, obtenu avec le « myectome », permette de se prononcer sur la qualité sanitaire du muscle. Par contre, le cube de 200 g environ qu'il prélève, dans sa technique du « bloc paraffiné », lui paraît suffisant.

Pourquoi 6 à 8 g de muscle seraient-ils insuffisants, et 200 g suffisants ?

Notons, tout d'abord, que, quel que soit le poids de muscle que l'on prélèvera, il restera toujours, dans la conclusion de l'expertise, une part d'incertitude. Dans ces conditions, il serait éminemment souhaitable de déterminer les poids : P, P', P'', etc. de muscle à prélever pour que la probabilité de passer à côté d'une infection éventuelle, n'excède pas n p. 100, n' p. 100, n'' p. 100, etc. Si l'on savait cela, nous choisirions des poids de muscle pratiquement prélevables, tels que les valeurs de n soient aussi petites que possible.

A notre connaissance, un travail de ce genre n'a jamais été fait. Dès lors, dire qu'un poids de muscle est suffisant ou insuffisant n'est qu'une affirmation gratuite.

*
**

Peut-on dire, maintenant, qu'avec 200 g de muscle, on a plus de chance de révéler une infection qu'avec 8 g ?

Peut-être, à la condition d'admettre que les germes éventuels sont régulièrement répartis dans le muscle. Acceptons cette hypothèse qui, elle non plus, n'a jamais été démontrée. Reste à déterminer dans quelle mesure les chances augmentent.

Pour le savoir, nous faisons l'expérience suivante :

— Sur une série de carcasses de bovidés, saisies aux abattoirs, nous prélevons un fragment de muscle avec le « myectome », et un cube de viande de 200 g environ, avec lequel nous confectionnons un « bloc paraffiné ». Les 2 types de prélèvements sont faits en même temps, dans les masses musculaires de la même cuisse, ou de la même épaule, et aussi près que possible l'un de l'autre.

— Ils sont ensuite mis à l'étuve pour enrichissement.

— 13 à 18 heures plus tard, les 2 types de prélèvements sont traités de la même manière, c'est-à-dire ensemencés en bouillon, en gélose, en eau peptonée, en milieu de Müller-Kauffmann et en milieu anaérobie (gélose profonde V. F.) ; des calques sont faits pour les examens bactérioscopiques.

— Sans nous préoccuper de la nature des germes qui cultivent dans les différents milieux, ou qui sont révélés à l'examen microscopique des calques, nous nous bornons à enregistrer pour chaque milieu : « culture » ou « absence de culture », et pour les calques : « germes » ou « absence de germes ».

S'il y a plus de chances de trouver des germes avec 200 g de muscle qu'avec les 6 à 8 g que donne le « myectome », le nombre de résultats positifs (« culture » ou « présence de germes ») devra être plus grand dans le premier cas que dans le second.

Les résultats positifs de l'expérience faite sur 160 « blocs paraffinés », et 160 prélèvements au « myectome », sont les suivants :

	BOUILLON	GÉLOSE	EAU PEPTONÉE	V. F.	MULLER	CALQUE
Blocs paraffinés	56	48	41	152	90	149
Myectome	58	52	42	51	40	56

Ainsi, avec le « myectome », qu'il s'agisse des milieux de culture ou des calques, les résultats sont positifs dans environ 1/4 à 1/3 des cas.

Avec les « blocs paraffinés », il en est de même pour le bouillon, la gélose, l'eau peptonée. Par contre, pour le V. F., le Müller et les calques, les résultats positifs atteignent 60 à 93 p. 100 des cas.

Des essais préliminaires nous avaient déjà montré une différence dans le même sens. Mais leur nombre était alors trop petit pour que nous puissions en faire état. C'est pourquoi nous disions (1) que le « myectome » donnait des résultats superposables à ceux du « bloc paraffiné ».

L'accumulation des expériences nous force donc à revenir sur ce point, et l'on pourrait conclure, à première vue, que la flore putride est révélée 2 à 3 fois plus souvent avec 200 g de muscle qu'avec 6 à 8 g.

*
**

A dire vrai, ce pourcentage de prélèvements infectés dans les « blocs paraffinés » apparaît anormalement élevé. Nous pensons que c'est la technique qui est en défaut, parce qu'elle apporte des souillures.

Cette hypothèse est soumise à vérification par l'expérience suivante :

— Nous allons comparer, comme précédemment, les résultats fournis par :

des prélèvements au « myectome »,
des prélèvements type « bloc paraffiné »,
des prélèvements, enfin, du même poids que le « bloc paraffiné », mais manipulés aseptiquement, tout au long des opérations.

— Une série de « globes », saisis aux abattoirs, sont apportés au laboratoire. Nous prélevons un fragment de muscle avec le « myectome » et un cube de viande de 200 g environ, avec lequel on confectionne un « bloc paraffiné ». Les 2 types de prélèvements sont faits en même temps, sur un même globe, et aussi près que possible l'un de l'autre.

— Sur le même globe, encore, nous effectuons un troisième prélèvement de 200 g, mais en nous entourant, cette fois, de toutes les précautions possibles d'asepsie, comme pour une intervention chirurgicale. A cet effet, toute la surface interne du globe est brûlée à l'aide d'un chalumeau à gaz. A l'aide d'un couteau stérilisé, on enlève un vaste lambeau de la surface brûlée, de

(1) LUCAM (F.), FLACHAT (Ch.). — *Bull. Acad. Vét. France*, 1954, 27, 327.

manière à mettre à nu le muscle frais, sur lequel on dispose immédiatement un champ opératoire stérile. Avec un nouveau jeu d'instruments, également stériles, on prélève un cube de muscle de 200 g environ, que l'on introduit immédiatement dans un bocal muni d'un couvercle et stérilisé lui aussi.

— Les 3 prélèvements sont mis à l'étuve pour enrichissement. Le dernier prélèvement, qu'on appellera « bloc chirurgical », est donc du même poids que le « bloc paraffiné », mais il en diffère en ce sens que, jusqu'à la fin de l'enrichissement, il a été maintenu à l'abri de toute souillure et n'a subi aucun traitement spécial.

— 15 à 18 heures plus tard, les 3 prélèvements sont ensemençés et examinés exactement comme dans la première expérience.

— Les résultats positifs (« culture » ou « présence de germes ») obtenus sur 30 globes, soit 90 prélèvements, dont 30 « chirurgicaux », 30 « blocs paraffinés » et 30 au « myectome » sont les suivants :

	BOUILLOX	GÉLOSE	EAU PEPT.	V. F.	MULLER	CALQUE
Bloc chirurgical	11	10	14	10	9	9
Myectome	12	9	11	7	9	6
Bloc paraffiné	17	19	19	19	14	16

Ainsi, le « prélèvement chirurgical », portant sur 200 g de muscle, révèle une infection dans environ 1/3 des cas. Le prélèvement type « bloc paraffiné », portant également sur 200 g de muscle, révèle une infection dans environ les 2/3 des cas. Il ne fait donc aucun doute que la technique du « bloc paraffiné » a apporté des souillures.

Il n'y a rien là qui puisse surprendre. Il est bien certain que, même dans le cas d'un « habillage » d'une propreté parfaite, les surfaces musculaires sont nécessairement souillées. Mais il y a plus. Chacun sait, en effet, la déplorable pratique des tueurs qui prétendent « nettoyer » les carcasses après l'habillage : l'instrument de ce « nettoyage » est généralement un torchon infect, imprégné de débris organiques de toute nature. Pourrait-on faire mieux si l'on désirait ensemençer massivement les

surfaces musculaires avec toutes sortes de germes de la putréfaction ?

Dans ces conditions, effectuer un prélèvement de muscle, même avec un couteau « ébouillanté », n'ôte pas grand-chose à cette infection massive.

Quant à l'immersion du bloc musculaire dans la paraffine chaude, on imagine assez mal qu'elle puisse stériliser les surfaces. Cette paraffine, dite « bouillante », est portée tout au plus à 170-180°. Dès que le bloc est immergé, il se produit nécessairement un phénomène de caléfaction qui se traduit par un bouillonnement abondant. Dès lors, à la surface même, la température atteint sans doute 100°, mais à quelques millimètres de profondeur, quelle est-elle ? 80° ? 70° ? Est-ce vraiment une température de stérilisation, pour une durée de quelques minutes ?

Enfin, quand le bloc, enrobé de sa pellicule de paraffine, est mis à l'étuve, il laisse exsuder par les innombrables pertuis de sa surface, une multitude de gouttelettes de suc musculaire qui donnent en quelques heures l'impression d'une rosée abondante. Cette rosée qui traverse les zones musculaires superficielles non stérilisées, qui reste à l'air libre, ne peut pas ne pas être infectée, et les chemins par où elle est sortie sont également d'excellentes voies de pénétration pour les germes. Le fait de déposer le bloc paraffiné sur un grillage ne peut changer quoi que ce soit à ce phénomène.

*
**

Si maintenant nous revenons à notre dernier tableau, nous constatons que le prélèvement effectué avec le myectome révèle une infection dans environ 1/3 des cas, ce que l'on obtient avec le bloc chirurgical.

Par conséquent, non seulement le prélèvement au myectome est resté à l'abri de toute souillure, mais encore, les chances de révéler une infection avec 200 g de muscle n'apparaissent pas plus grandes qu'avec 8 g.

Cette constatation n'est pas nécessairement paradoxale. On sait bien que, dans toute expertise biologique, l'augmentation de la quantité P de prélèvement entraîne une diminution du pourcentage n de probabilité qui reste de passer à côté du phénomène que l'on cherche; mais les variations de P et de n ne sont pas proportionnelles; pour diminuer n d'une certaine valeur, il faut augmenter P beaucoup plus quand n est petit que lorsqu'il est grand.

Ces données ont été exprimées mathématiquement. Sont-elles exactement applicables dans le cas qui nous occupe ? Nous n'en savons rien, mais il est probable que les choses se passent, dans l'ensemble, de la même manière, et qu'avec les 6 à 8 g de muscle, du myectome, n'est déjà suffisamment petit pour qu'un prélèvement de 200 g ne le diminue que d'une quantité pratiquement indécélable.

CONCLUSION

1° Le « myectome » a, pour principale originalité, d'être muni d'un tube de combustible qui permet de faire avec une extrême facilité des prélèvements aseptiques, en quelque lieu où l'on se trouve, et de maintenir ceux-ci à l'abri de toute souillure. Cet appareil rend donc possible la généralisation de l'inspection bactériologique des viandes.

2° La technique du « bloc paraffiné » ne permet pas de faire des prélèvements aseptiques, et favorise le développement des souillures. Il y a là un inconvénient majeur pour la généralisation de son emploi.

3° Il ne semble pas qu'il y ait plus de chances de mettre en évidence une infection du muscle, avec 200 g prélevés aseptiquement, qu'avec les 6 à 8 g prélevés au myectome.

Discussion

M. LE PRÉSIDENT. — Cette note de M. LUCAM semble poser des problèmes intéressants d'ordre général. C'est en somme toute la question des techniques de prélèvements et de leur stérilité qui est posée.

M. HOUDINIÈRE. — Il n'est pas douteux que la technique de M. Névor a fait démarrer l'inspection bactériologique des viandes, qu'elle a eu une grande valeur au début des recherches, mais actuellement, tout en conservant sa valeur, elle est évidemment un peu dépassée par de nouvelles techniques, pratiquées de façon plus « bactériologique », peut-on dire.

M. LE PRÉSIDENT. — Je me permets de faire une observation très générale au sujet de la quantité desensemencements. C'est évidemment d'un point de vue très particulier, mais j'ai été amené depuis des années à faire des contrôles de stérilité sur des produits pharmaceutiques ; il est évident que les techniques officielles, d'ailleurs classiques puisqu'elles sont insérées au Codex, sont des techniques erronées qui consistent à faire des dilutions telles que lorsque l'on a dilué les prélèvements, on a dilué également les germes, et qu'il n'y a plus de culture possible. Cependant, je ne pense pas que ce soit le cas ici parce qu'on ne peut pas dire qu'un prélèvement de 8 g soit un prélèvement à dédaigner.

M. NOUVEL. — La question de la quantité de l'ensemencement que vous posez dans l'absolu est très intéressante. Elle peut paraître en dehors de la question du prélèvement de viande, mais récemment, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, M. GIRARD parlait justement des résultats d'ensemencements positifs ou négatifs qu'il obtient avec le bacille de la peste suivant la quantité d'innoculat déposé. Personnellement, j'ai essayé, en étudiant la vitalité du bacille du Rouget dans des cultures vieillissantes, d'ensemencer des quantités différentes ; lorsque le bacille du Rouget a vécu pendant 1 mois ou 1 mois et demi dans le même bouillon de culture, si l'on reporte une ose dans un milieu neuf on n'a pas de développement, si l'on reporte 3 gouttes à la pipette on a systématiquement un développement. J'ai essayé d'approfondir la question alors que j'étais chargé de fabriquer des anti-virus strepto et staphylococciques. Lorsque l'on déposait une culture entière de staphylocoque et plus particulièrement de streptocoque au fond d'un grand flacon de 2 litres on obtenait parfois un développement et d'autres fois pas de développement ; mais si l'on déposait la culture avec une longue pipette au fond du flacon et si l'on remettait à l'étuve sans agiter on obtenait une culture locale ; on agitait le flacon et le lendemain on avait un bon développement dans la masse du flacon. Si, au contraire, on agitait sitôt l'ensemencement on n'avait pas de développement du tout. J'ai essayé d'éclaircir ce problème et j'en suis arrivé, après de nombreuses expériences, à la conclusion que ce phénomène d'antibiose était dû à une proportion relative de germes microbiens et d'ions minéraux (sodium peu actif, magnésium et potassium un peu plus actifs) et que, suivant le potentiel d'électrode des métaux, on avait vraisemblablement un phénomène d'absorption d'ions minéraux qui neutralisaient la charge des bactéries et qui inhibaient leur potentiel de développement. Il semble donc qu'une gaine de charge positive d'ions minéraux vienne entourer la bactérie qui a une charge négative et annihile son développement ; lorsqu'un certain nombre de bactéries s'est sacrifié pour absorber les éléments minéraux en présence, les autres sont capables de se développer et de croître.

M. LE PRÉSIDENT. — J'ignore les conditions précises de culture faites à partir de ces prélèvements, mais je me demande si les techniques actuelles, qui consistent à rechercher un très petit nombre de germes sur membrane millipores, ne pourraient pas permettre, même sur 8 g, de détecter tous les germes présents. Lorsque l'on veut à l'heure actuelle rechercher du bacille tuberculeux, par exemple dans des épanchements céphalo-rachidiens, on a 10 cm³ de liquide dans lesquels il existe quelques bacilles tuberculeux qu'il est très facile de mettre en évidence : on filtre sur une membrane millipores, on cultive ; s'il y a 10 germes il y a 10 colonies, que l'on peut voir très rapidement au microscope. Par conséquent je me demande s'il est possible de combiner la technique des prélèvements préconisée avec l'utilisation de la membrane millipores qui permet, par exemple, de rechercher dans un volume considérable d'eau un nombre très réduit de collibacilles.

M. NOUVEL. — Ce qui montre qu'en milieu solide, lorsque l'on travaille sur une membrane avec un minimum numérique de bactéries ce phénomène d'absorption ionique est localisé, on le limite, tandis que si l'on travaille en milieu liquide on a évidemment une mobilité des ions d'une part, et des bactéries d'autre part, ce qui rend le problème tout différent.

M. DRIEUX. — Dans le cas que vous évoquez, Monsieur le Président, les liquides qui vous sont envoyés ont été prélevés aseptiquement et il n'y

a en la matière pas grand doute. Ici, le problème est un peu différent. Il s'agit de savoir si le prélèvement que l'on envoie à examiner au bactériologiste contiendra uniquement des germes préexistants ou si ce prélèvement ne va pas se trouver lourdement contaminé après l'opération.

M. LE PRÉSIDENT. — C'est le problème qui se pose un peu partout. Lorsque l'on a à examiner la stérilité d'un produit pharmaceutique on fait également des cultures, on ne sait pas si l'on apporte ou non des germes de l'extérieur en ouvrant les ampoules, en manipulant un produit. Cette technique des membranes millipores, qui a été autorisée par la pharmacopée suisse, permet justement de rechercher quelques germes dans une grosse quantité de produit.

M. DRIEUX — Pour revenir à la question du bloc paraffiné comparativement au myectome, il faut bien reconnaître que, en dehors de l'inspection bactériologique faite dans les abattoirs disposant d'un laboratoire, l'échantillon envoyé pour examen, lorsqu'il s'agit de praticiens de l'Inspection opérant dans les conditions de la clientèle rurale, n'est pas souvent celui préconisé par la circulaire ministérielle dans laquelle on indique la façon de préparer le bloc paraffiné. Il faut tenir compte de cet état de fait. Souvent les praticiens qui désirent faire faire un examen bactériologique trouvent trop compliqué pour eux de préparer le bloc paraffiné conformément à la circulaire ministérielle du 26 mai 1953. Que font-ils ? Au lieu de prélever 200 g ils prélèvent 2 kg qu'ils envoient directement au laboratoire, en se disant : avec un morceau de cette taille le laboratoire pourra prendre convenablement ses 200 g et faire le nécessaire. Eh bien, malgré qu'il s'agisse de 2 kg prélevés, on n'est pas du tout sûr qu'une contamination bactérienne secondaire ne puisse intervenir. Avec le myectome, étant donné la relative facilité de la manipulation, peut-être pourrait-on envisager que ce prélèvement soit fait d'une façon un peu plus bactériologique.

M. GUILLOT. — Nous n'avons pas l'expérience comparative de l'emploi du bloc paraffiné et du myectome puisque les examens bactériologiques des viandes destinées à l'armée sont normalement effectués par nos confrères les vétérinaires civils, avant notre inspection militaire, mais je voudrais relever un des passages de la note de M. LUCAM concernant la pratique de l'essuyage des viandes avec les linges qui sont véritablement des milieux de culture. Il y a bien longtemps déjà que notre confrère M. MARTEL a attiré l'attention de tous les vétérinaires des abattoirs sur la nécessité de proscrire absolument ce nettoyage des carcasses avec des linges, avec des éponges. Notre nouveau collègue, M. PANTALÉON, lors des Journées de la Viande, il y a deux ans, a également attiré l'attention sur le danger de cette pratique. Je voulais personnellement signaler qu'avec un peu de bonne volonté on peut arriver à amener les bouchers, ou plus exactement les tueurs, à ne pas utiliser ces linges mouillés, trempés dans un seau dont on ne change jamais l'eau, mais soit à utiliser des linges secs, soit à ne pas utiliser de linges du tout et à enlever les petites effusions sanguines qui se trouvent toujours à l'intérieur des carcasses simplement avec un couteau sec, ou, ce qui est mieux, et ce que nous avons imposé dans l'armée pour nos abattoirs industriels la possibilité, je dis bien pour un abattoir industriel connaissant le nombre d'animaux qui sont journellement abattus pour une fabrication déterminée, la possibilité de demander au fournisseur d'avoir un double jeu de linges correspondant au nombre de bêtes habituellement abattues ; comme

la plupart de ces abattoirs industriels ont des autoclaves dans leurs usines, il est extrêmement facile de passer le soir les linges à l'autoclave. Je puis vous dire que dans plusieurs abattoirs industriels surveillés par le Service Vétérinaire de l'Armée cette pratique est courante, faite sans la moindre objection de la part des industriels qui ont même dû y trouver un certain avantage puisque nous en connaissons qui ont étendu cette pratique à toutes leurs viandes destinées aux fournitures civiles. En particulier, ceux qui font beaucoup d'expéditions de viande réfrigérée ont vu tout l'intérêt qu'il y avait à éviter au maximum cette cause de souillure lors de l'abattage. Je pense que nos confrères sanitaires chargés de l'inspection des abattoirs pourraient par la persuasion et en soulignant le caractère même économique pour le boucher d'avoir une viande qui se conserve mieux par la suite à l'étal, essayer de faire respecter cette pratique, tout au moins dans les grands abattoirs.

M. DRIEUX. — La remarque que je faisais à propos de la difficulté pratique que représente pour le praticien ordinaire de l'Inspection des Viandes la confection d'un bloc paraffiné conformément aux instructions ministérielles, ne fait pas exclure pour autant la difficulté réelle qui s'attache à un bon prélèvement fait avec le myectome. Ce prélèvement exige une certaine habitude car il importe que celui qui le fait évite à tout prix de souiller les parties de l'appareil qui doivent rester stériles, soit en les touchant avec ses mains, accidentellement, soit encore en les frottant sur des surfaces de viande qui n'ont pas été elles-mêmes carbonisées par le combustible livré avec l'appareil. Il y a, sans aucun doute, un certain entraînement à acquérir pour faire correctement le prélèvement au myectome. Si bien que l'on ne peut pas dire que l'on a affaire là à une méthode d'une simplicité telle qu'aucune précaution ne doive plus être prise. Malgré tout je pense que lorsque l'on a quelque entraînement de la manipulation du myectome on doit arriver à faire le prélèvement d'une façon plus commode que lorsque l'on désire confectionner un bloc paraffiné et avec moins de temps.
