

## Recherches sur la bactériologie des viandes

par J. PANTALÉON, M. CAZAILLET et R. ROSSET

---

Ces recherches ont été inspirées par les travaux de P. LANGRAND (1). Dès 1911, cet auteur avait montré que si la viande fraîche n'oppose à 20° et à 37° qu'une faible résistance à la pullulation des germes banaux ou putréfiants, elle paraît, au contraire, très peu favorable au développement de la flore aérobie pathogène.

Nous avons tenté de préciser quelle serait l'origine de ce pouvoir bactériostatique limité de la viande. Considérant ensuite l'importance que pourrait présenter ce phénomène, en ce qui concerne le contrôle bactériologique des viandes, nous avons été amenés à étudier certaines adaptations d'ordre technique à la méthode officielle d'examen.

### I. — Étude du comportement des germes à gram positif dans la viande

Nous avons réalisé une première série de 70 expériences avec des viandes de porc retirées de la consommation par suite de lésions a importantes relevées à l'examen macroscopique des carcasses et des viscères. La flore contaminante endogène de ces viandes a été mise en évidence par ensemencements dans les milieux de culture classiques : eau peptonée, bouillon foie-viande anaérobie, milieu au tétrathionate ou au sélénite, gélose inclinée. Pour chacune de ces 70 viandes, il était pratiqué deux galeries d'ensemencements :

— d'une part, avec le bloc paraffiné, étuvé 24 heures à 37°, où s'était réalisé, *in situ*, un enrichissement microbien;

— d'autre part, directement à partir de 5 à 10 g de viande prélevée aseptiquement au trocard dans le même muscle, puis simplement dilacérée et broyée au mortier.

Les résultats sont les suivants :

NATURE de la FLORE CONTAMINANTE ENDOGÈNE	ENSEMENCEMENTS APRÈS ENRICHISSEMENT en bloc paraffiné	ENSEMENCEMENTS DIRECTS
<i>Escherichia coli</i> .....	1 cas	1 cas (le même)
Germes à gram positif :		
<i>Micrococcaceæ</i> .....	63 cas	2 cas
<i>Bacillaceæ</i> .....		
<i>Clostridiaceæ</i> .....		
Absence de germes .....	6 cas	67 cas

La conclusion qui se dégage de ces recherches est que le muscle frais non dilacéré, incubé 24 heures à 37°, constitue un bon milieu de culture pour les germes à gram positif fréquemment rencontrés dans les viandes. Alors que par lesensemencements directs, il a été exceptionnel de pouvoir les mettre en évidence du fait que les viandes étaient paucimicrobiennes, on a constaté leur pullulation dans les blocs paraffinés étuvés à 37°. La prolifération de ces espèces aéro-anaérobies est possible car elles sont dotées des enzymes protéolytiques les rendant aptes à utiliser les protéines tissulaires.

## II. — Étude du comportement d'un *Salmonella* dans la viande :

### *Salmonella Dublin*

La viande de bovin, servant pour ces recherches était prélevée et utilisée immédiatement après l'abattage. Nos études ont porté, d'une part sur le développement microbien dans le suc musculaire, et, d'autre part, dans la viande.

#### a) *Recherches entreprises avec le suc musculaire :*

Il s'agissait d'obtenir un suc musculaire stérile et de rechercher sur celui-ci un éventuel pouvoir bactéricide. Les expériences ont été menées sur des sucs obtenus de deux façons différentes :

1° Par broyage de la viande très fraîche de bovin; le jus ainsi

produit était stérilisé par filtration sous vide sur filtre Seitz avec plaque filtrante du type Sérums;

2° Par congélation-décongélation rapide de la viande prélevée aseptiquement au trocard, ce qui évitait toute manipulation secondaire de stérilisation.

Le pouvoir bactéricide a été recherché par la mise en œuvre de la technique décrite par J. FRICKER (2) qui consiste à mettre en contact un volume du liquide biologique à tester (ici 1 cm<sup>3</sup>) avec des quantités croissantes et contrôlées de germes (10-20-50-100). L'index bactéricide correspond au nombre maximum de germes dont la multiplication est inhibée.

Dans une seule expérience (un des 16 sucs filtrés sur Seitz), nous avons pu constater un net pouvoir bactéricide correspondant à l'index 40. Dans les 21 autres essais, nous n'avons pas pu mettre en évidence de pouvoir bactéricide.

Ces résultats expérimentaux ne nous permettent pas d'envisager la présence, dans le suc musculaire, d'une substance douée d'un pouvoir bactéricide vis-à-vis des Salmonella, comme cela a pu être démontré pour le sérum sanguin (3).

Cependant, il s'avère certain que le muscle, dans les premiers jours qui suivent l'abattage, et lorsqu'il est conservé à une température inférieure à + 10°, se comporte comme un mauvais milieu de culture pour les Salmonella. En dehors des travaux de LANGRAND, une preuve très convaincante réside dans le fait que ce sont seules les « viandes rassisées » qui sont à l'origine des toxoinfections alimentaires spécifiques. Il semble donc que ce pouvoir antimicrobien effectif du muscle n'est pas lié à la présence d'une substance spécifiquement antibiotique, mais à un état biologique complexe dans lequel interviendraient des facteurs tels que : l'intégrité des cellules et de leur équipement enzymatique — nature des liaisons hydro-protéiques — état colloïdal des protéines — pH.

Ces faits nous ont paru importants en ce qui concerne l'examen bactériologique des viandes. Nous avons alors recherché si la prolifération des Salmonella présentés dans les prélèvements musculaires ne pourrait pas s'effectuer facilement après destruction aseptique par broyage de l'édifice tissulaire.

#### b) *Recherches entreprises avec la viande.*

Ne disposant pas de viandes naturellement infectées, nous avons effectué une série de 4 expériences avec des viandes saines de bovins dans lesquelles nous inoculions une suspension de

*Salmonella Dublin*. En observant les règles de l'asepsie, nous réalisons des blocs musculaires de 3 cm de côté, dans lesquels nous injectons un demi-centimètre cube d'eau physiologique contenant une quinzaine de *Salmonella* (technique de préparation de FRICKER). A partir d'un bloc témoin, on effectuait aussitôt le contrôle du nombre des bactéries inoculées.

Le comportement des bactéries était étudié dans les blocs étuvés pendant 6 heures, et dans les blocs étuvés pendant 24 heures à 37°. Après ces délais respectifs, il était procédé à leur broyage dans un appareil du type « Mixer » stérilisable, puis au dénombrement des germes en gélose et en milieux liquides.

Parallèlement, nous avons étudié le comportement de ces bactéries, lorsque le bloc ensemencé était aussitôt broyé au « Mixer », mis en suspension dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau physiologique ou de bouillon ordinaire, puis, alors étuvé 6 heures ou 24 heures à 37°.

Les résultats sont les suivants (moyenne des 4 expériences) :

*Temps zéro* : bloc témoins :  
environ 15 germes.

*Après 6 heures d'étuvage* :

- dans le bloc musculaire :  
environ 100 germes.
- dans le broyat dilué en eau physiologique :  
environ 1.000 germes.
- dans le broyat dilué en bouillon :  
environ 10.000 germes.

*Après 24 heures d'étuvage* :

- dans le bloc musculaire :  
environ 1 million de germes.
- dans le broyat dilué en eau physiologique :  
environ 100 millions de germes.
- dans le broyat dilué en bouillon :  
environ 1 milliard de germes.

La conclusion qui se dégage est que la prolifération des *Salmonella*, surtout dans les premières heures de l'étuvage à 37°, est beaucoup plus importante dans la viande pulpée et diluée dans un milieu liquide que dans la viande non *physiquement modifiée*.

### III. — Essais de perfectionnement des techniques actuelles d'examen bactériologique des viandes

Les constatations expérimentales précédentes nous ont incité à envisager des techniques nouvelles de prélèvement, d'enrichissement et d'examen.

#### a) *Technique de prélèvement.*

Il est nécessaire qu'elle réponde à une double nécessité :

- obtention d'un échantillon suffisamment volumineux,
- possibilité de son transport à l'abri des contaminations.

Nous avons mis au point un myectome (\*) de gros calibre qui satisfait à ces deux conditions. Il s'agit d'un trocard en acier inoxydable stérilisable à 200°. Son extrémité porte une lame inclinée vers l'intérieur du tube qui permet la section nette et l'extraction de la « carotte de viande ». Le fragment obtenu pèse environ 30 g; sur une même carcasse il est possible de multiplier au besoin les prélèvements. Le trocard placé dans son étui protecteur met le cylindre de viande à l'abri des contaminations durant le transport au laboratoire.

#### b) *Technique d'enrichissement et d'examen*

Etant donné l'état généralement paucimicrobien de la viande, il est nécessaire que tout prélèvement destiné à un examen bactériologique soit soumis à une phase d'enrichissement qui précède lesensemencements dans les divers milieux de culture. Nous avons obtenu jusqu'ici l'enrichissement le plus favorable aux *Salmonella*, par l'étuvage à 37° de la viande finement broyée mise en suspension dans environ 4 volumes d'eau physiologique ou de bouillon. Nous avons fait réaliser spécialement un appareil du type « Mixer » à bol métallique stérilisable à 180°, qui convient parfaitement pour le broyage aseptique de la viande.

Cette technique semble satisfaisante, car elle réduit à moins de 10 heures la durée de la période d'enrichissement ; elle permet, en outre, d'effectuer d'emblée à partir du broyat, des numérations faciles et des recherches microbiennes directes.

\*  
\* \*

Avant d'établir une conclusion définitive sur la valeur de ces méthodes nouvelles, il conviendra de poursuivre leur expérimentation et, si possible, avec des viandes naturellement infectées

---

(\*) Appareil réalisé par la Société Pécquet et Tesson.

par Salmonella. Il faudra aussi multiplier les essais comparatifs avec la méthode actuelle d'examen bactériologique des viandes.

(Travail des Laboratoires des Halles centrales et des Abattoirs de Vaugirard. Services vétérinaires sanitaires de Paris et du département de la Seine.)

#### BIBLIOGRAPHIE

1. LANGRAND (P.). — *L'Hygiène de la viande et du lait*, 1911, **5**, n° 10, p. 381-395.
2. FRICKER (J.). — *Presse Médicale*, 1932, **60**, n° 53, p. 1128.
3. BROCOU-ROUSSEU (D.) et ROUSSEL (G.). — *Le sérum normal*, 2<sup>e</sup> série, p. 220-221, Masson, éditeur.

#### Discussion

M. NÉVOT. — Je demande la parole pour féliciter M. PANTALÉON de sa communication. Sa technique d'examen bactériologique des viandes représente, sans doute, un progrès sur ce qui a été fait jusqu'ici, mais elle suscite quelques remarques : la première, relative au volume restreint du prélèvement, la deuxième, c'est qu'elle exige des manipulations beaucoup plus nombreuses et plus minutieuses que celles nécessaires pour la réalisation du bloc paraffiné. Or, il y a intérêt dans un laboratoire à n'utiliser que des techniques simples et des manipulations aussi réduites que possible. Enfin, cette technique n'en est qu'à son étude expérimentale. Je n'ai pas la prétention de dire que ce que j'ai fait est définitif ; il faut souhaiter qu'il y soit apporté des améliorations. Ce qui me séduit dans la technique de M. PANTALÉON, c'est le procédé d'enrichissement employé : la fine division de la viande prélevée, grâce à l'utilisation du « mixer », réduit, par rapport au bloc paraffiné, le temps d'enrichissement et la prolifération microbiennne est beaucoup plus importante que dans la viande non physiquement modifiée. C'est là un fait très intéressant.

M. LE PROFESSEUR DRIEUX. — M. PANTALÉON nous présente un appareil qui est une modification du myectome de M. LUCAM. Je pense que si des objections doivent être admises à l'égard du myectome en ce qui concerne le volume des prélèvements, les mêmes objections sont sensiblement valables pour l'appareil de M. PANTALÉON.

Cependant, il est un point que je voudrais souligner. C'est l'intérêt de ces appareils, qu'il s'agisse du myectome de Lucam ou de celui de Pantaléon, concernant l'enrichissement par étuvage préalablement à la numération des germes contenus dans la viande; ces deux appareils constituent à mon sens un avantage sur la méthode classique du bloc paraffiné. M. Névor ne m'en voudra pas ; j'ai abondé, à la commission qui a préconisé les méthodes de contrôle bactériologique, en faveur du bloc paraffiné, mais enfin il n'est de technique qui ne soit perfectible. Je pense qu'une des objections que l'on

peut faire à la méthode du bloc paraffiné est la suivante : lorsque vous préparez un bloc paraffiné, que vous le mettez ensuite à l'étuve à 37° pendant 24 heures, vous constatez assez souvent dans l'assiette sur laquelle ce bloc a été posé une certaine quantité de suc qui a été exsudé du bloc. Eh bien, si du liquide est sorti du bloc, on peut envisager par la même voie la pénétration de germes à l'intérieur du bloc, à la faveur de cette exsudation. Si bien que vous vous trouvez dans des conditions certes très commodes de prélèvement, mais qui n'excluent pas intégralement la possibilité pour le bloc d'être souillé secondairement à la faveur précisément de ce courant liquide qui se fait à travers les sucs musculaires. L'intérêt des appareils du genre du myectome, c'est que la méthode d'enrichissement n'est pas aussi sujette à ce risque puisque la carotte de viande que l'on a prélevée reste incluse dans l'appareil hermétiquement clos. Il est certain que si du liquide s'en échappe, ce liquide ne pourra être contaminé par le milieu ambiant et qu'une contamination accidentelle du prélèvement ne pourra pas se réaliser à la faveur de cette exsudation du liquide.

Un autre avantage indubitable de ces appareils c'est qu'ils sont pratiques pour celui qui se trouve dans les conditions difficiles de l'inspection des viandes, en province par exemple, et qui sont malheureusement des conditions assez fréquentes dans l'inspection. De nombreux praticiens m'ont fait remarquer qu'il est difficile, pour eux, de prélever convenablement un fragment de muscle et d'en faire ensuite un bloc paraffiné qu'ils enverront au laboratoire. La preuve en est que très souvent ils envoient au laboratoire un morceau de muscle frais, qu'ils ont prélevé et transporté certes dans les meilleures conditions, mais pas toujours à l'abri des contaminations secondaires. L'intérêt du myectome, c'est donc que le prélèvement est facile et que le praticien peut le faire, alors qu'au contraire l'expédition d'un morceau de 500 g ou d'un kilo de muscle après être passé dans la paraffine est une opération qu'il n'a pas toujours le temps de réaliser et pour laquelle il n'est pas toujours parfaitement outillé.

Je pense donc que les appareils genre myectome ont une utilité incontestable, et, étant donné l'enrichissement qui est réalisé pendant 24 heures par étuvage du prélèvement de muscle fait avec le myectome, il me paraît tout de même un peu sévère de considérer comme sans valeur, ou presque sans valeur, une inspection bactériologique qui serait faite sur un prélèvement des dimensions de celles qui sont obtenues avec cet appareil.

M. NÉVOT. — Les myectomes évidemment sont en faveur et je conçois très bien que cette méthode présente des avantages au point de vue prélèvement. Mais tout de même il faut distinguer entre le myectome que l'on présente aujourd'hui, qui prélève 30 cm<sup>3</sup> de viande et un autre qui n'en prélève que 3 cm<sup>3</sup>.

Quant à la question de l'exsudation des blocs paraffinés, il y a fort longtemps que j'ai recommandé de mettre ces blocs sur des cristallisoirs munis d'un petit treillis métallique afin d'éviter les souillures secondaires par le liquide émis par le muscle étuvé.

M. BRESSOU. — Les myectomes paraissent avoir une certaine faveur. Je crois pouvoir rappeler que l'Académie vétérinaire a eu ici la primeur d'un myectome en 1946, présenté par notre confrère M. BASILE, myectome d'un type assez particulier, il est bon de le rappeler.

M. NÉVOT. — L'affaire est vieille, on parlait déjà d'un myectome en 1912.

M. MÉRY. — Ne pourrait-on pas éjecter le morceau prélevé dans un tube à essai assez gros pour pouvoir libérer l'appareil, afin qu'il y en ait toujours en service ?

M. PANTALÉON. — On peut évidemment prévoir toutes les adaptations, mais on peut aussi imaginer une dotation suffisamment importante des appareils dans les laboratoires départementaux pour pouvoir répondre à toutes les demandes. C'est une question de multiplicité des commandes pour abaisser le prix de revient.

---