

X-ème REUNION DES INSTITUTS DE RECHERCHES SUR LES VIANDES

C o p e n h a g u e , Août 1964

H - 2

RECHERCHE SUR LE PHÉNOMÈNE DE LA PRÉGERMINATION DES
SPORES BACTÉRIENNES ENSEMENCÉES SUR LA VIANDE

Irena MICHALSKA ^x

Pendant la phase de quiescence les spores bactériennes ne démontrent qu'un métabolisme restreint, presque nul. Elles sont réfringentes, incolores par simples méthodes, elles résistent aux agents nuisibles comme p.ex. dessiccation, haute température, déficience nutritionnelle, agents bactériostatiques et bactéricides.

Lorsque les conditions pour leur germination sont favorables les spores changent leur caractère, augmentent le métabolisme et alors deviennent fort nuisibles pour le milieu qu'elles contaminent. La transition en formes végétatives s'effectue suivant l'immuable séquence des changements physiologiques et morphologiques et conduit finalement à un remaniement du caractère et de la structure cellulaire. La cellule perd sa thermorésistance au cours du premier stade de la germination. Entre autres la diminution de la réfringence visible en contrast de phase en est la preuve.

Pour désigner ce stade de la germination nous avons adopté, d'après les autres auteurs, le terme "prégermination".^{xx}

x/ Académie des Sciences de Pologne, Institut de Physiologie et d'Alimentation des Animaux, Division de Recherches sur les Viandes.

xx/ Levinson H.S. and Sevag M.G. 1953. J.Gen.Physiol. 36:617.

On ne possède jusqu'à présent qu'un petit nombre de données sur le problème de prégermination des spores bactériennes en fonction du caractère et de la concentration de l'aliment dans le milieu.

Dans nos recherches préliminaires nous avons expérimenté avec des milieux différents de nulle, faible et bonne valeur nutritive, la viande y compris, et nous avons réussi la mise en évidence d'une simple relation entre le taux de la prégermination et le milieu.

Ces recherches, en plus de leur intérêt propre, eurent encore celui d'établir l'emploi d'une méthode particulièrement commode pour l'étude de la prégermination.

Nous avons élaboré une méthode bien précise d'évaluation de la prégermination et en conséquence l'évaluation du milieu d'après des indices quantitatifs.

Ces indices sont: 1. le temps nécessaire pour la prégermination de 10% des spores de la suspension, 2. le pourcentage de spores prégerminées durant l'incubation prolongée et le temps de cette prégermination, dite maximum, 3. le pourcentage des spores prégerminées qui ne se développent pas après la prégermination.

Notre méthode d'observation de la prégermination des spores est basée sur le fait de la diminution de la réfringence de la spore visible en contraste de phase. Dans toutes nos investigations nous avons employé la suspension des spores lavées^x de *Bacillus subtilis* / souche issue de notre collection / dans la solution du tampon de phosphate et nous l'avons tenue dans le frigidaire à 4°.

L'ensemencement des spores fut effectué par filtre de cellophane^{xx/} mis à la surface du milieu examiné, dans la boîte de Pétri. Quelques gouttes de suspension des spores, dont la densité était établie à 1.10^8 spores par 1 ml, furent introduites à l'aide d'une fine pipette

x/ Les spores lavées ce sont des spores dépourvues par la technique spéciale des restes des cellules végétatives et du milieu de croissance.

xx/ Le cellophane coupé en carrés de 12 cm de côté et de 0,03 mm d'épaisseur est tendu sur des bagues de verre et fixé à l'aide d'élastique de manière qu'ils forment des petits tambours.

Pasteur dans l'intérieur du filtre. Pour éviter la dessiccation on enfermait les boîtes de Pétri dans un conteneur à l'humidité relative d'environ 97%.

Lorsqu'on employait la viande comme milieu, on en coupait une petite tranche qu'on étalait en couche mince dans la boîte de Pétri.

L'incubation était réalisée à 4°, c. à d. dans la température de conservation de la viande, et à 36° - température optimale pour la croissance de *B. subtilis*.

Les estimations de la prégermination étaient faites toutes les 5 minutes, au cours de la durée de l'incubation. A l'aide de la pipette on transmettait un peu du matériel sur une lame pour un examen microscopique immédiat. Dans plusieurs champs de vue du microscope, sur chaque lame, on comptait les spores refringentes ainsi que les spores bleu foncé avant qu'elles ne gonflent et on en tirait les moyennes. On calculait le temps nécessaire pour la prégermination de 10% des spores et celui pour la prégermination maximum. On a enregistré aussi le nombre des spores qui ne germaient pas et le nombre de spores qui ne se développaient pas après la prégermination.

Le premier but de nos expériences était de démontrer s'il existe une différence, et laquelle, entre la prégermination des spores ensemencées sur la gélose glucosée / préparée avec le bouillon de viande / et celle sur les échantillons de la viande crue, dans les mêmes conditions d'humidité et de température d'incubation. On a pris en considération 2 échantillons de la viande. A titre d'essai, on voulait aussi déterminer la caractéristique de la viande examinée.

Les résultats obtenus ont montré des différences entre la gélose et chaque échantillon de la viande.

Les courbes qui exprimaient les résultats ne furent pas superposables.

Afin de donner aux conclusions une portée plus large et de les pouvoir généraliser il convenait d'expérimenter avec un plus grand nombre d'échantillons de viande de: différentes provenances et différents temps de conservation après l'abattage.

Comme milieu de la prégermination on a choisi le filet, /musculus longissimus dorsi/, muscle assez grand, spécifique et d'utilité pratique.

En différents délais de temps après l'abat, convenus, on coupait des tranches de filet pour les mettre dans les boîtes de Pétri. Les tranches du filet droit étaient tenus à 4° et celles du filet gauche à 36°.

L'investigation de la prégermination suivant la provenance de la viande fut effectuée sur les échantillons de viande de deux groupes d'animaux différemment alimentés.

On a obtenus ainsi deux rangs d'estimations de la prégermination qu'on a comparé statistiquement. L'analyse de variance a démontrée une différence essentielle entre eux.

L'investigation de la prégermination suivant la maturation de la viande fut réalisée sur les échantillons de la viande des porcs de la Station Expérimentale de l'Institut de Zootéchnie. Les ensemencements étaient faits tous les jours à partir de 24 heures après l'abat jusque'au moment de la décomposition visible de la viande.

Les résultats concernant la prégermination des spores sur les échantillons de viande conservé à 4° et sur les échantillons de viande conservée a 36° sont présentés en comparaison avec le cours de la prégermination sur la gélose glucosée. Il en découle que la prégermination des spores subit l'influence d'un ou de plusieurs facteurs liés à la viande, dépendants du point de sa maturité.

L'essentiel de nos investigations est le fait que le classement de la viande d'après les indices de la prégermination des spores bactériennes s'établit comme suit:

Du premier jusqu'au troisième jour après l'abattage les conditions de la prégermination sont les meilleurs mais presque la moitié de spores prégermées n'a pas de possibilité de se développer.

On peut dire que la viande démontre une forte aptitude stimulative de la prégermination des spores, le caractère de la prégermination étant au plus haut degré léthal.

Cette dernière constatation suggère l'idée de la présence dans la viande d'agents inhibiteurs de la croissance ou le manque d'agents indispensables pour la croissance.

Il en résulte que la viande détruit les spores ou au moins abaisse leur thermorésistance.

Le troisième et le quatrième jour de la maturation la viande constitue un bon milieu pour la prégermination et de même pour la croissance; elle garantit une rapide et pleine prégermination des spores qui par leur nature sont capables de prégermer. La léthalité est faible.

Les jours suivants la viande devient un milieu moins avantageux pour la prégermination; le procès paraît être retardataire et le nombre de spores qui prégerment diminue. Les conditions pour la croissance s'améliorent, presque toutes les spores prégermées continuent leur germination et se développent bien en formes végétatives.