

II. CONSERVATION DE LA VIANDE BOVINE REFRIGEREE

ASPECTS MICROBIOLOGIQUES

M. CATSARAS

Service Vétérinaire, Institut Pasteur

59000 LILLE

Considérée sous l'angle de la microbiologie, la conservation de la viande bovine réfrigérée pose un certain nombre de problèmes, tant en ce qui concerne la viande en carcasses ou en quartiers que celle qui a subi diverses transformations, dans le but d'une commercialisation généralement tributrice d'impératifs nouveaux. Ces problèmes d'ordre microbiologique sont le fait de divers microorganismes adaptés aux basses températures (0 - + 2°C ; + 4°C ; voire + 6°C ou peut-être même parfois davantage) qui sont utilisées lors de la réfrigération de la viande bovine. Il importe, pour la bonne compréhension de la suite de l'exposé, de situer ces germes par rapport à d'autres et de les définir aussi exactement que possible à l'aide d'une terminologie correcte et adéquate.

DEFINITIONS - LES BACTERIES PSYCHROTROPES

Les affinités thermiques des microorganismes sont généralement définies par trois températures, dites cardinales : les températures minimale, optimale et maximale. C'est ainsi que pour caractériser les trois catégories de microbes habituellement distinguées, CHRISTOFERSEN (7) en 1955, par exemple, indique les températures suivantes :

<u>type</u>	<u>temp. min.</u>	<u>opt.</u>	<u>max.</u>
psychrophile	0	10-20	30
mésophile	20	37-40	55
thermophile	40	55	75-98

c'est-à-dire que sont appelés psychrophiles des germes dont la température

élevé et proche de celui des mésophiles ; EDDY (8) les dénomme respectivement "psychrophiles" et "psychrotrophes mésophiles" ; STOKES (20) et ROSE (18), pour leur part, préfèrent les termes "psychrophiles obligés" et "psychrophiles facultatifs" ; INGRAM (13), discutant cette question controversée, en 1965, conclut en disant que, pour le second groupe, un nom nouveau et particulier apparaissait souhaitable.

Pour simplifier et tenir compte finalement des réalités pratiques, BUTTIAUX et CATSARAS (4, 5) considèrent, au cours de leurs travaux de 1964 et 1966, qu'ils étudient ces germes à optimum élevé sous le nom de "psychrotrophes" ; CATSARAS et GREBOT en 1969 (6) précisent leur opinion en écrivant : " nous avons considéré, pour notre part, comme psychrotrophes, les microorganismes qui se multiplient activement aux températures de réfrigération, couramment utilisées ($0^{\circ} - + 6^{\circ}\text{C}$), leur température optima de croissance étant généralement plus élevée ($+ 10^{\circ}$, $+ 20^{\circ}\text{C}$ ou davantage parfois), et, comme psychrophiles, ceux qui, non seulement cultivent aux basses températures, mais encore les exigent et ont leur optimum aux environs de 0°C ." Cette façon de voir permet de distinguer nettement, tout en tenant compte des exigences théoriques, d'une part des germes qui sont vraiment rares, sinon exceptionnels dans la flore des aliments : les psychrophiles, et d'autre part des microorganismes qui, contrairement aux précédents, sont fréquemment rencontrés dans les denrées alimentaires réfrigérées, en particulier la viande bovine, dont ils sont des agents habituels d'altération : les psychrotrophes.

EVOLUTION DES BACTERIES PSYCHROTROPHES

L'évolution des bactéries psychrotrophes, au cours de la conservation de la viande bovine au frigorifique, est essentiellement fonction de deux facteurs : la température et l'humidité relative de l'enceinte réfrigérée. Pour peu que ces conditions de température et d'humidité ne soient pas rigoureusement surveillées de façon qu'elles demeurent dans des limites fort étroites, on assiste en même temps qu'à une multiplication intense des bactéries, à l'apparition d'altérations caractéristiques. Il sera donc envisagé successivement:

- l'évolution que l'on peut constater, à titre d'exemple, dans des conditions de température et d'humidité relative néfastes à une bonne conservation des carcasses.

- l'influence des facteurs : température et humidité relative.

1) L'évolution des bactéries psychrotrophes dans de mauvaises conditions de conservation.

Dans un frigorifique, dont la température est +5°C l'humidité relative 90 à 95 p. 100 , le nombre des bactéries psychrotrophes par 1 cm² que l'on peut trouver sur une carcasse de bovin par la technique de l'écouvillonnage, sont les suivants :

	<u>Surface muscle</u>	<u>Cavité thoracique</u>	<u>Cavité abdominale</u>
aussitôt après l'abat	70	54	5
après 2 jours en chambre froide	1.015.000	46.000	129.000
après 4 jours en chambre froide	5.700.000	980.000	151.000
après 8 jours en chambre froide	76.500.000	179.000.000	22.300.000
après 11 jours en chambre froide	490.000.000	236.000.000	194.000.000

d'après BUTTIAUX et CATSARAS - 1966 -

Dans le même temps, on observe une modification des caractères de présentation de la viande. Les surfaces tout d'abord s'humidifient rapidement ; la viande devient "collante" dès le quatrième jour et l'est toujours de façon très nette au huitième jour. Cette altération muqueuse est en rapport direct avec la présence de milliards de cellules microbiennes à la surface de la carcasse elle s'accroît encore au delà du huitième jour. Parfois, on observe, au onzième

jour, des altérations de putréfaction au niveau du collier ou de la partie interne de la bavette, qui interdisent de poursuivre au delà l'observation des caractères d'altération. Il se dégage enfin de ces viandes dont la surface est le siège d'une intense multiplication de bactéries psychrotrophes, une odeur fade et écoeurante, caractéristique, que l'on retrouve dans les frigorifiques mal tenus et dans les enceintes où l'on cultive, au laboratoire, ces mêmes bactéries.

2) Influence des facteurs humidité relative et température.

a) Humidité relative.

Si l'on conserve, à une même température : + 2°C, des carcasses de bovins dans des chambres dont l'humidité relative est croissante, on constate que, pour la surface externe de la carcasse, le nombre des bactéries psychrotrophes par 1 cm² évolue de la façon suivante:

	<u>Bovin n°1</u> (H.R. = 75-80 p. 100)	<u>Bovin n°2</u> (H.R. = 80 p. 100)	<u>Bovin n°3</u> (H.R. = 90 p. 100)
aussitôt après l'abat	330	70	194
après 2 jours en chambre froide	8.200	445	1.020.000
après 4 jours en chambre froide	1.280	460	945.000
après 8 jours en chambre froide	23.500	60.500	9.800.000
après 11 jours en chambre froide	5.080	33.500	32.500.000
après 15 jours en chambre froide	7.980	1.270.000	51.500.000

d'après BUTTIAUX et CATSARAS - 1966

Le bovin n°3 a une tenue sensiblement meilleure que le témoin envisagé précédemment ; ceci correspond très exactement au décalage de 3 à 4 jours que l'on observe dans l'intensité de la multiplication des psychrotrophes chez ce bovin par rapport au témoin. Pour le bovin n°2, les résultats sont très nettement améliorés puisqu'il faut attendre 15 jours pour atteindre le seuil de 10^6 germes/cm². Lorsque l'humidité relative est inférieure à 80 p. 100 (bovin n°1), les résultats bactériologiques sont excellents ; le peu de régularité des chiffres observés s'explique par le faible niveau de la contamination et l'hétérogénéité des surfaces. Il apparaît, dans ces conditions, que diminuer l'humidité relative de 95 p. 100 à 75 p. 100 permet d'obtenir, dans le même temps, une diminution puis un blocage quasi total de la multiplication bactérienne.

Malheureusement, dès que la valeur de 80 p. 100 est atteinte, divers phénomènes se produisent au niveau de la viande, lesquels sont encore plus accentués lorsque l'humidité relative a une valeur inférieure à 80 p. 100. Un noircissement apparaît dès le quatrième jour et s'accroît ensuite régulièrement, en même temps que se produit une dessiccation de plus en plus nette : la viande finit par prendre un aspect parcheminé et raccorni. Ces phénomènes cessent lorsqu'on dépasse la valeur de 80 p. 100.

b) Température.

Pour une humidité relative identique : 90 p. 100, on observe, toujours pour la surface externe de la carcasse, que, dans des chambres où la température d'entreposage est croissante, le nombre de bactéries psychrotrophes par 1 cm² évolue ainsi :

...

	<u>Bovin n°3</u> (+ 2°C)	<u>Bovin n°4</u> (+ 5°C)	<u>Bovin n°5</u> (+ 6°C)
aussitôt après l'abat	194	330	29
après 2 jours en chambre froide	1.020.000	1.700.000	1.175.000
après 4 jours en chambre froide	945.000	75.000.000	22.000.000
après 8 jours en chambre froide	9.800.000	415.000.000	365.000.000
après 11 jours en chambre froide	32.500.000	-	-
après 15 jours en chambre froide	51.500.000	-	-

d'après BUTTIAUX et CATSARAS - 1966

L'influence de la température est manifeste dès le 4ème jour, alors qu'au 2ème jour, il n'y a pas de différences entre les trois essais. Ceci est dû au fait que l'humidité relative est encore trop élevée. En effet, si l'on combine les deux facteurs température et humidité relative en choisissant les valeurs les plus favorables à la conservation de la viande : 0 à +2°C et 80 - 85 p. 100, on obtient les chiffres suivants par 1 cm² :

	<u>Surface</u> <u>muscle</u>	<u>Cavité</u> <u>thoracique</u>	<u>Cavité</u> <u>abdominale</u>
aussitôt après l'abat	520	8	1
après 2 jours en chambre froide	6.200	920	810
après 4 jours en chambre froide	67.000	790	600
après 8 jours en chambre froide	1.570.000	41.000	149.000
après 11 jours en chambre froide	23.000.000	4.500.000	890.000
après 15 jours en chambre froide	32.500.000	9.000.000	990.000

d'après BUTTIAUX et CATSARAS - 1966

Dans ces conditions, l'aspect des carcasses reste excellent pendant au moins huit jours ; le caractère de viande "collante" n'apparaît qu'après ce délai, mais demeure toujours beaucoup moins marqué que chez les témoins conservés à +5°C dans des enceintes dont l'humidité relative est de 90-95 p. 100.

LES ESPECES RENCONTREES.

Les bactéries psychrotrophes, qui avaient été étudiées assez en détail au début du siècle, furent l'objet de beaucoup moins de travaux par la suite. Néanmoins, HAINES (12) en 1933, EMPEY et SCOTT (9) en 1939, montraient que les altérations muqueuses de la viande de boeuf, conservée à basse température, étaient généralement le fait du développement de bactéries appartenant au genre Achromobacter (90 p. 100 dans le cas du boeuf australien).

Plus récemment, les travaux de AYRES, OGILVY et STEWART (2) en 1950, de KIRSCH et al. (14) en 1952, de AYRES (1) en 1955, de GARDNER (10) en 1965, * montraient au contraire que la flore rencontrée sur des viandes provenant de diverses espèces animales était surtout constituée par des Pseudomonas. Il faut signaler qu'entre ces deux groupes de travaux, la distinction entre Pseudomonas et Achromobacter avait été beaucoup mieux étudiée ; ceci explique pourquoi EMPEY et SCOTT d'une part, HAINES d'autre part avaient étiqueté de façon erronée un certain nombre de leurs souches. En effet, BROWN et WEIDEMANN (3) en 1958, au cours d'une étude sur les carcasses de boeuf conservées à 0°C, où, eux aussi, trouvaient que les Pseudomonas prédominaient, reprirent les souches de leurs prédécesseurs et constatèrent que, sur 54 appelées Achromobacter par EMPEY et SCOTT, 24 étaient mobiles par cils polaires ; quant à HAINES, il avait classé comme Achromobacter des germes possédant une ciliature monotriche.

Au cours des études réalisées en France par BUTTIAUX et CATSARAS (4) en 1964 et par CATSARAS et GREBOT (6) en 1969, chez les bovins, ces auteurs isolèrent respectivement 199 et 157 souches de bactéries psychrotrophes, qui se répartissaient ainsi :

* de STRINGER, BILSKIE et NAUMANN (25) en 1969,

BUTTIAUX et CATSARAS
(1964)

CATSARAS et GREBOT
(1969)

	Nombre	%	Nombre	%
<u>Achromobacter</u> oxydase +				
<u>Achromobacter</u> oxydase -	77	38,69	42	26,75
<u>Achr. anitratum</u>	5	2,51	6	3,82
<u>Pseudomonas</u>	26	13,06	22	14,01
<u>Arthrobacter</u>	49	24,62	25	15,92
<u>Corynebacterium</u>	10	5,02	13	8,28
<u>Micrococcaceae</u>	24	12,06	41	26,11
Divers (Entérobactéries - Flavob. Bacillus - Levures) ...	8	4,02	8	5,09
	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
	199	99,98	157	99,98

Mais cette présentation, habituelle, des résultats d'identification des souches fausse certainement les pourcentages obtenus pour chaque groupe et, partant, l'importance relative accordée à chacun d'eux. En effet, la sélection des souches est effectuée en repiquant, pour chacun des dénombrements réalisés au cours du travail, une souche de chacun des types microbiens constituant la flore du prélèvement étudié. Il n'est tenu aucun compte :

- ni du niveau, en valeur absolue, de la flore considérée : 1 souche d'un germe X isolée d'une flore constituée par 1.000 bactéries ne compte pas moins qu'une souche du même germe X isolée d'une flore de 1.000.000 de germes ;

- ni de l'importance relative de chacun des germes constituant une flore donnée : si, par exemple, pour 170.000.000 de germes psychrotrophes par 1 cm², on trouve :

Micrococcus = 3 p. 100, Corynebacterium = 10 p. 100, Arthrobacter = 35 p. 100, Pseudomonas = 52 p. 100 et qu'on repique 1 colonie de chacun d'eux, les différents germes seront affectés dans la statistique du même coefficient 1, alors qu'en réalité ils sont respectivement dans le rapport : 1, 3, 12, 17.

Au total, on accorde ainsi une incidence relative exagérée aux types microbiens les plus fréquemment rencontrés ainsi qu'à ceux dont la représentation numérique est la plus faible ; ces deux caractéristiques peuvent d'ailleurs s'additionner :

c'est notamment le cas des Micrococcaceae et des Corynebacterium que l'on rencontre très souvent au départ, alors que le nombre de germes est encore très faible.

Partant de ces considérations et cherchant à obtenir une image plus exacte de la réalité, CATSARAS et GREBOT (6) ont adopté un mode de calcul entièrement différent. Additionnant les chiffres totaux obtenus au cours de tous les dénombrements effectués d'une part, et ajoutant, pour chaque catégorie de germes, le chiffre obtenu dans un dénombrement à ceux acquis dans les autres, en tenant compte de l'importance relative de ce germe par rapport aux autres, d'autre part, ils ont obtenu les pourcentages suivants (pour l'étude réalisée en 1969 et dont les chiffres ont été donnés précédemment) :

	Nombre	%
<u>Achromobacter</u> oxydase +	1.843.717	12,2
<u>Achromobacter</u> oxydase -.	113.755	0,7
<u>Pseudomonas</u>	10.815.435	71,8
<u>Arthrobacter</u>	1.474.387	9,9
<u>Micrococcaceae</u>	759.832	5
<u>Corynebacterium</u>	18.000	0,1
Divers	36.331	0,2
	<hr/>	<hr/>
	15.061.457	99,9

Les tendances véritables étant ainsi dégagées, il apparaît clairement que, en France comme ailleurs, les Pseudomonas constituent l'essentiel de la flore psychrotrophe des carcasses de bovins. Il n'en est cependant pas de même pour les porcs(6).

Cette prédominance des Pseudomonas chez les bovins est telle que LOTT (16) en 1971, préconise leur recherche pour apprécier, sur le plan hygiénique, l'incidence des germes qu'il appelle "psychrotolérants".

Quant aux germes pathogènes, les Salmonella en particulier, ils ne sont pas fréquemment rencontrés ; d'une façon générale, les entérobactéries sont

d'ailleurs relativement rares. C'est ainsi que GULISTANI, CATSARAS et MOSSEL (11), en 1972, examinent 40 carcasses réfrigérées de bovins, à raison de 5 prélèvements par écouvillonnage de 100 cm² chacun par carcasse, et ne trouvent aucune Salmonella. Il n'en est pas toujours ainsi puisque, parmi d'autres, VAN SCHOTHORST et KAMPELMACHER (22) en 1967, trouvent, sur 751 échantillons de viande de boeuf réfrigérée importée d'Amérique du Sud, des Salmonella dans 13,5 p. 100 des cas ; il est à noter cependant que ce sont les viandes desossées qui sont le plus souvent contaminées.

Pour conclure l'étude des aspects microbiologiques de la conservation de la viande bovine réfrigérée, il faut insister sur l'importance capitale des bactéries psychrotrophes en raison des altérations qu'elles sont capables de produire. Leur contrôle est indispensable si l'on veut conserver dans de bonnes conditions la viande bovine et le meilleur moyen est assurément de réaliser, dans les frigorifiques, des conditions telles que le développement de ces germes soit suffisamment freiné pendant assez longtemps : température de 0 à +2°C, humidité relative de 80 - 85 p. 100. D'autres moyens sont susceptibles d'être utilisés : antibiotiques, rayonnements, par exemple, mais ou bien ils ne sont pas recommandables d'un point de vue hygiénique, ou bien ils ne sont pas parfaitement au point pour une telle utilisation. Enfin, la présence de ces bactéries psychrotrophes conditionne d'une façon directe la qualité hygiénique de tous les produits issus de la carcasse : viande desossée, viande découpée en tranches et emballée sous vide, viande hachée, etc... Ces différents produits posent essentiellement des problèmes technologiques à côté des problèmes microbiologiques ; c'est pourquoi ils seront étudiés dans la troisième partie consacrée aux aspects technologiques de la conservation de la viande bovine réfrigérée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) AYRES J.C., 1955. Microbiological implications in handling, slaughtering and dressing of meat animals. Advanc. Food Res., 6, 109.
- (2) AYRES J.C., OGILVY W.S. et STEWART G.F., 1950. Post-mortem changes in stored meats. I. Micro-organisms associated with development of slime on eviscerated cut-up poultry. Food Technol., 4, 199.
- (3) BROWN A.D. et WEIDEMANN J.F., 1958. The taxonomy of the psychrophilic meat-spoilage bacteria : a reassessment. J. Appl. Bacteriol., 21, 11-17.
- (4) BUTTIAUX R. et CATSARAS M., 1964. Les bactéries psychrotrophes des carcasses de bovins entreposées en chambre froide. Communication (non publiée) au Colloque de la Société Française de Microbiologie, le 26 Septembre 1964.
- (5) BUTTIAUX R. et CATSARAS M., 1966. Les bactéries psychrotrophes des viandes entreposées en chambre froide. Influence de la température et de l'humidité relative. Ann. Inst. Pasteur Lille, 17, 107-116.
- (6) CATSARAS M. et GREBOT D., 1969. Etude complémentaire sur les bactéries psychrotrophes des viandes. Ann. Inst. Pasteur Lille, 20, 231-238.
- (7) CHRISTOFERSEN J., 1955. In Temperatur und Leben, Springer-Verlag, Berlin, 190 P.
- (8) EDDY B.P., 1960. The use of meaning of the term "psychrophilic". J. Appl. Bacteriol., 23, 189-190.
- (9) EMPEY W.A. et SCOTT W.J., 1939. Investigations on chilled beef. Part. I. Microbiol contamination acquired in the meatworks. Bull. Coun. sci. industr. Res. Aust., n°126.
- (10) GARDNER G.A., 1965. The aerobic flora of stored meat with particular reference to the use of selective media. J. Appl. Bacteriol., 28, 252-264.
- (11) GULISTANI A.W., CATSARAS M. et MOSSEL D.A.A., 1972. Evaluation sanitaire des carcasses de viandes frigorifiées. C.R. du Vème Colloque du Benelux sur l'hygiène - Bruxelles .
- (12) HAINES R.B., 1933. The bacterial flora developing on stored lean meat, especially with regard to "slimy" meat. J. Hyg., Cambridge, 33, 175.
- (13) INGRAM M., 1965. Psychrophilic and psychrotrophic micro-organisms. Ann. Inst. Pasteur Lille, 16, 103-110.
- (14) KIRSCH R.H., BERRY F.E., BALDWIN C.L. et FOSTER E.M., 1952. The bacteriology of refrigerated ground meat. Food Res., 17, 495.
- (15) KRUSE W., 1910. In Allgemeine Mikrobiologie, F.C.W. Vogel, Leipzig.
- (16) LOTT G., 1971. Die fleischhygienische Bedeutung kältetoleranter Keime, unter besonderer Berücksichtigung der Pseudomonaden. Wien. tierärztl. Monatsschr., 58, 402-408.

- (17) MULLER M., 1903. Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien, sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter Spezielle Berücksichtigung des Fleisches als Nahrungsmittel. Arch. Hyg., Berlin, 47, 127.
- (18) ROSE A.H., 1963. Biochemistry of the psychrophilic habit : studies on the low maximum temperature. in Recent Progress in Microbiology. University Press, Toronto, 193-200.
- (19) SCHMIDT-NIELSEN S., 1902. Über einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen. Zbt. Bakt. Abt. II Orig., 9, 145.
- (20) STOKES J.L., 1963. General biology and nomenclature of psychrophilic microorganisms. in Recent Progress in Microbiology. University Press, Toronto, 185-192.
- (21) STRINGER W.C., BILSKIE M.E. et NAUMANN H.D., 1969. Microbial profiles of fresh beef. Food Technol., 23, 97-102.
- (22) VAN SHOTHORST M. et KAMPPELMACHER E.H., 1967. Recherche de la présence de Salmonella dans les viandes importées d'Amérique du Sud. Tier. diergen., 92, 560-6.
- (23) WITTER L.D., 1961. Psychrophilic bacteria. A review. J. dairy Sci., 44, 983-1015.