

## REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

01.

DEEP-FREEZED BEEF MINCED-MEAT :BACTERIOLOGICAL QUALITY

M. CATSARAS and D. GREBOT

Veterinary Microbiology Service, Pasteur Institute, Lille  
and  
Morey Ltd Laboratories, Cuiseaux, France

Between 1st January 1971 and 31st December 1973, 825 deep-frozen beef minced-meat samples were examined from bacteriological point of view (634 of them were pure minced-meat and 191 "hamburgers").

Mincing-meat french legal standards are as follows : mesophilic total count : less than  $5 \times 10^5$  per 1 g (10 p. 100 difference permitted) ; E. coli : less than 1.000 per 1 g ; Welchia perfringens : less than 10 per 1 g ; Salmonellae : none in 10 g ; coagulase + staphylococci : less than 1.000 per 1 g.

Salmonellae were found in 21 samples (2,5 p. 100), 2/3 of them during the year 1971. Presumed pathogen staphylococci were found in 114 samples : almost whole of them yielded 50 or 100 per 1 g, 3 only (0,3 p. 100) 1.000 or more per 1 g.

Only 17 samples yielded between 100 and  $< 1.000$  E. coli per 1 g and 1 more than 1.000 per 1 g. Welchia perfringens was found, at equal or higher than 10 per 1 g level, only in 4 cases.

The mesophilic total count standard was surpassed for 69 out of 825 samples (8,2 p. 100) ; for most of them, rate was  $10^6$  per 1 g ;  $10^7$  per 1 g rate was noted in no case.

VIANDE DE BOEUF HACHEE SURGELEE :QUALITE BACTERIOLOGIQUE

M. CATSARAS et D. GREBOT

Service Vétérinaire, Institut Pasteur, Lille  
et  
Laboratoire S.A. MOREY, Cuiseaux, France

Il a été procédé, entre le 1er Janvier 1971 et le 31 Décembre 1973, à l'examen bactériologique de 825 échantillons de viande de boeuf hachée surgelée (dont 634 hachis purs et 191 "hamburgers"). Les prélèvements ont été faits à la sortie du tunnel de congélation.

Les normes françaises, pour ce produit, sont les suivantes : flore aérobie mésophile : moins de  $5.10^5$  par 1 g (tolérance : 10 p. 100) ; E. coli : moins de 1.000 par 1 g ; W. perfringens : moins de 10 par 1 g ; Salmonella : absence dans 10 g ; staphylocoques coagulase + : moins de 1.000 par 1 g.

Des Salmonella ont été trouvées dans 21 échantillons (2,5 p. 100), dont les 2/3 au cours de la seule année 1971. Des staphylocoques présumés pathogènes ont été rencontrés dans 114 échantillons : la presque totalité en contenaient 50 ou 100 par 1 g ; seulement 3 échantillons (0,3 p. 100) en contenaient 1.000 ou davantage par 1 g.

Seulement 17 échantillons contenaient entre 100 et  $< 1.000$  E. coli par 1 g ; 1 seul en renfermait plus de 1.000 par 1 g. Des Welchia perfringens n'ont été rencontrés, en nombre égal ou supérieur à 10 par 1 g, que dans 4 cas.

La norme concernant la flore aérobie mésophile a été dépassée pour 69 échantillons sur 825 (8,2 p. 100) ; dans la très grande majorité des cas, le nombre de germes était de l'ordre de  $10^6$  par 1 g ; en aucun cas, ce nombre n'a atteint  $10^7$  par 1 g.

TIEFGEFRORENES HACKFLEISCH :BAKTERIOLOGISCHER WERT

M. CATSARAS et D. GREBOT

Service Vétérinaire, Institut Pasteur, Lille  
et  
Laboratoire S.A. Morey, Cuiseaux, France

Vom 1. Januar 1971 bis 31. Dezember 1973 ist die bakteriologische Untersuchung von 825 tiefgefrorenen Hackfleisch-Proben (634 dieser Proben aus reinem Hackfleisch und 191 aus "Hamburger") vorgenommen worden. Die Probenentnahmen sind beim Ausgehen des Kühltunnels entnommen worden.

Die französischen Normen, für dieses Lebensmittels sind : Mesophilen Bakterienzahlen unter  $5.10^5/g$  (Toleranz 10 Prozent) ; E. coli unter 1.000/g ; W. Perfringens unter 10/g ; Keine Salmonella in 10 g ; Koagulasepositivstaphylokokken unter 1.000/g.

Salmonella sind in 21 Proben, aus denen 2/3 im Laufe des einzigen Jahres 1971, gefunden worden. Präsumierte pathogene Staphylokokken sind in 114 Proben gefunden worden : Fast alle diese Proben enthielten 50 oder 100/g ; 3 Proben nur (0,3 Prozent) enthielten 1.000/g oder mehr präsumierte pathogene Staphylokokken.

17 Proben nur enthielten zwischen 10 und  $< 1.000/g$  E. coli ; ein nur enthielt mehr als 1.000/g. Welchia perfringens sind nur in 4 Proben 10 an der Zahl oder mehr pro gramm gefunden worden.

Die Norme über die mesophile Flora ist für 69 unter 825 (8,2 Prozent) Proben überschritten worden. Meistens war die Keimzahl in Betrag von  $10^6/g$  ; keinesfalls ist die Zahl  $10^7/g$  erreicht worden.

ЗАМОРОЖЕННАЯ ИЗМЕЛЬЧЕННАЯ ГОВЯДИНА :  
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО.

M. CATSARAS et D. GREBOT

Service Vétérinaire, Institut Pasteur, Lille  
et  
Laboratoire S.A. MOREY, Cuiseaux, France

Между 1 января 1971 и 31 декабря 1973 было проведено бактериологическое исследование 825 образцов измельченной замороженной говядины (из которых 634 молотых свободных от примесей, и 191 "гамбургских"). Взятие образцов производилось при выходе из морозильной туннели.

Во Франции для этого продукта существуют следующие нормы : мезофильная аэробная флора : менее  $5.10^5$  на 1 г. (терпимость 10 %) ; E. coli : менее 1000 на 1 г. ; W. perfringens : менее 10 на 1 г. ; Salmonella : отсутствие в 10 г. ; Стафилококки коагулаза + : менее 1000 на 1 г.

Salmonella были выявлены в 21 образцах (2,5 %) из которых 2/3 в течении одного 1971 года. Стафилококки рассматриваемые как будучи патогенными, встречались в 114 образцах : почти все же содержали их в количестве 50 или 100 на 1 г. ; только в трех образцах ( 0,3 %) их содержание достигало 1000 и более на 1 г.

В 17 образцах только содержалось между 100 и  $< 1000$  E. coli на 1 г. ; один единственный содержал более 1000 на 1 г. Welchia perfringens встречались в числе 10 и более на 1 г. только в 4 случаях.

В 69 образцах из 825 (8,2 %) норма мезофильной аэробной флоры была превзойдена ; в большинстве случаев же число бактерий составляло приблизительно  $10^6$  на 1 г. ; ни в коем случае это число не достигало  $10^7$  на 1 г.

## REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

## VIANDE DE BOEUF HACHEE SURGELEE :

## QUALITE BACTERIOLOGIQUE

M. CATSARAS et D. GREBOT

Service Vétérinaire, Institut Pasteur, Lille  
et  
Laboratoire S.A. Morey, Cuiseaux, France

La qualité bactériologique de la viande hachée a déjà souvent été étudiée, dans différents pays, généralement à partir d'un nombre relativement faible d'échantillons ; il en est ainsi des enquêtes, parmi les plus récentes, de Wuilleret et Gilodi (1968) en Suisse, de Van Der Meijls (1970) en Hollande ou de Seynave et Séry (1970) en France. Il s'agit toujours de viande hachée qui est, au mieux, réfrigérée et dont on sait, par ailleurs, qu'elle cause souvent des toxi-infections alimentaires ; la viande hachée de boeuf n'intervient d'ailleurs que rarement, au contraire de la viande hachée de cheval, ainsi que nous le rapportent, pour la France seulement, Boyer et Tissier (1949), Butiaux, Lesaffre et Moriametz (1953), Gervois et al. (1965), Catsaras (1966), Ruasse, Gounelle et Prévot (1970).

Or la viande de boeuf hachée surgelée, relativement moins étudiée - Lebert et Rosset (1968) - prend de plus en plus d'importance, et cette denrée ne semble pas jusqu'à présent avoir été la cause de quelque toxi-infection que ce soit ; nous nous sommes donc intéressés à l'appréciation de la qualité bactériologique de ce produit en examinant un grand nombre d'échantillons, et en nous référant aux normes officielles françaises, de 1961, qui sont les suivantes : flore aérobie mésophile : moins de  $5 \times 10^5$  par 1 g (tolérance = 10 p.100) ; *E. coli* : moins de 1000 par 1 g ; *Welchia perfringens* : moins de 10 par 1 g ; *Salmonella* : absence dans 10 g (25 g depuis 1970) ; staphylocoques coagulase + : moins de 1000 par 1 g.

## Matériel et Méthodes

Nous avons examiné, entre le 1er Janvier 1971 et le 31 Décembre 1973, 825 échantillons de viande de boeuf hachée surgelée, dont 634 hachis purs, soit en grosses portions cylindriques de 2 kg pour collectivité surtout, soit en portions individuelles, et 191 "hamburgers", c'est-à-dire des hachis auxquels sont ajoutés différents ingrédients, tels que : tomates, chapelure, oignons, oeufs etc... La répartition de ces différentes catégories en fonction des années est indiquée dans le tableau 1.

Tous les échantillons ont été prélevés à la sortie du tunnel de congélation.

## Résultats et discussion

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 2 à 6. Du point de vue de la conformité aux normes précédemment citées, on peut faire les observations suivantes :

## 1° - Germes pathogènes

a) des *Salmonella* sont présentes dans 21 échantillons sur 825, soit 2,5 p. 100 (tableau 2). Il faut noter que les variations de positivité en fonction des sortes de viande hachée ne sont guère sensibles. Les sérotypes trouvés sont : 1 fois *S. typhi murium* et 20 fois *S. dublin*, c'est-à-dire presque toujours un type d'origine essentiellement bovine.

Ces échantillons ne sont pas conformes à la réglementation d'une part et sont, sans aucun doute, potentiellement dangereux pour la santé publique d'autre part : il y a donc lieu de s'efforcer de réduire ce pourcentage. Cependant, ce chiffre n'est pas tellement élevé d'une façon générale et il convient de souligner ces quelques points particuliers :

- sur les 14 échantillons trouvés positifs en 1971, 7 d'entre eux l'ont été au cours d'une période très limitée : 2 échantillons sur 2 examinés le jour J, 2 sur 6 à J + 2, 2 sur 2 à J + 3 et 1 sur 3 à J + 6, puis plus rien. Il a dû se produire une contamination, à partir d'une carcasse (?) probablement, laquelle contamination s'est maintenue plusieurs jours sur la chaîne de fabrication. Cette circonstance unique pèse évidemment lourdement sur la statistique de l'année ;

- de plus, 7 autres échantillons positifs ayant été trouvés au long de cette même année, cela représente pour 1971, les 2/3 de positifs. Dans ces conditions, le pourcentage de positivité pour 1972 et 1973 ressort à 0,8 p. 100, ce qui est déjà beaucoup mieux. C'est là le résultat des améliorations apportées à la fabrication ;

- les échantillons positifs ne contiennent qu'un faible nombre de *Salmonella* : 1 dans 10 g ou 1 dans 50 g ; c'est-à-dire que le danger est nul, tant que la denrée reste à l'état surgelé, et ne devient possible qu'à la condition que les règles d'utilisation d'une telle denrée ne soient pas respectées ;

- enfin, dans ces cas dangereux potentiellement, la législation prescrit une conduite précise, laquelle assure la sauvegarde de la santé du consommateur.

b) les staphylocoques présumés pathogènes sont, eux, dans le cas de la viande hachée, beaucoup moins dangereux. Nous en avons d'ailleurs trouvé très peu : 50 par 1 g ou plus dans 114 échantillons sur 825, soit 13,8 p. 100 (tableau 3) ; mais, dans la presque totalité des cas, il n'y en a que 50 ou 100 par 1 g. Les normes ne sont dépassées que dans 3 cas sur 825, soit à peu près 0,3 p. 100 (1000, 1800 et 6000 staphylocoques présumés pathogènes par 1 g respectivement).

Après séjour de 15 minutes à 1 heure 30 à la température du laboratoire et prélèvement de la partie soumise à l'examen, soit au moyen d'un cylindre métallique creux stérilisé, à extrémité coupante, soit avec pinces et scalpels flambés, les recherches suivantes ont été effectuées :

1° - *Salmonella* - homogénéisation par broyage d'un poids donné de viande (10 ou 50 g, selon le cas) dans 10 fois son poids de bouillon nutritif ordinaire = préenrichissement (18-24 h. à 37° C) ;  
- enrichissement par repiquage sur 2 tubes de bouillon au tétrathionate + novobiocine, incubés l'un à 37° C, l'autre à 42° C, et sur 2 tubes de milieu au sélénite, incubés l'un à 37° C, l'autre à 42° C ;

- isolement de chacun des milieux précédents sur 2 boîtes de gélose S.S. et vert-brillant + rouge de phénol ;

- repiquage, à partir de chaque boîte d'isolement, de 10 colonies suspectes et triage des cultures ainsi obtenues par une méthode classique ;

- identification biochimique et sérologique des souches suspectes. Pour les autres germes, homogénéisation par broyage d'une suspension-mère en tryptone-sel à 1/5, puis dilutions décimales successives ;

2° - Flore aérobie mésophile - dénombrement en profondeur sur Standard methods agar - B.B.L. (incubation de 3 jours à 30° C).

3° - *E. coli* - épreuve présomptive sur bouillon lactosé bilié au vert-brillant : 3 tubes par dilution (incubation de 48 h. à 30° C)

- épreuve confirmative par test de Mackenzie à partir des tubes précédents positifs - Détermination du N.P.P. (norme AFNOR V/04.504).

4° - staphylocoques présumés pathogènes - étalement de 0,1 ml (= 0,02 g) de la suspension-mère à la surface d'une gélose de Baird-Parker + sulfaméthazine - confirmation des colonies suspectes à auréole par recherche de la coagulase et de la DNase.

De plus, inoculation d'une quantité indente (= 0,02 g) sur un bouillon hypersalé pour enrichissement, suivie d'un isolement sur milieu de Baird-Parker.

5° - *Welchia perfringens* - inoculation de 5 ml (= 1 g) de la suspension-mère dans des milieux T.S.N. (avec néomycine et polymyxine)

- confirmation des colonies noires observées après incubation à 37° C par mise en évidence d'une lécithinase sur milieu de Willis d'une part, et de l'absence de mobilité en même temps que d'une réduction des nitrates sur nitrates-mobilité d'autre part.

## 2° - Germes de contamination fécale

a) *E. coli* - Si ce germe majeur des contaminations fécales est présent dans de nombreux échantillons : 300 sur 825, soit 36,3 p. 100 (tableau 4), dans la très grande majorité des cas, il y a moins de 100 *E. coli* par 1 g. La norme n'est dépassée que dans 1 seul cas, soit à peu près 0,1 p. 100 (5000 par 1 g).

b) *W. perfringens* - Présent dans 87 échantillons sur 825, soit 10,5 p. 100 (tableau 5), ce germe est pratiquement toujours en nombre inférieur à 10 par 1 g. La norme n'est dépassée que dans 4 cas, soit à peu près 0,4 p. 100 (150, 10, 10 et 20 par 1 g respectivement).

## 3° - Flore aérobie mésophile

La norme de 550.000 germes par 1 g est dépassée dans 8,2 p. 100 des cas : 69 échantillons sur 825 (tableau 6). Encore faut-il remarquer que pour 30 d'entre eux, soit 3,6 p. 100, le nombre de germes est inférieur à  $10^6$  par 1 g et que, même lorsque celui-ci dépasse  $10^6$ , il n'atteint jamais  $10^7$  par 1 g.

## Conclusions

1° - D'une façon générale, la qualité bactériologique des 825 échantillons de viande de boeuf hachée surgelée, examinés au cours des années 1971, 1972 et 1973, est satisfaisante ;

2° - Le nombre d'échantillons contenant des *Salmonella* n'est pas très élevé, surtout si l'on tient compte des remarques qui ont été formulées. Néanmoins, s'il est impossible d'espérer atteindre d'une façon absolue le niveau 0, il convient de tout faire pour s'en approcher le plus possible.

## BIBLIOGRAPHIE

- BOYER, J. et TISSIER, M. (1949) - *La Presse Méd.*, 57, n° 70, 1028-1030.
- BUTTIAUX, R., LESAFFRE, V. et MORIAMETZ, J. (1953) - *La Presse Méd.*, 61, n° 36, 747-8.
- CATSARAS, M. (1966) - *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 17, 239-241
- GERVOIS, M., FOURNIER, M., DELBECQUE, H. et DUMONT, M. (1965) - *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 16, 127-138.
- LEBERT, F. et ROSSET, R. (1968) - C.R. Journées nationales Etude de l'Ass. Fr. du Froid - Versailles, France.
- RUASSE, J.P., GOUNELLE, H. et PREVOT, A.R. (1970) - *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 154, 898-907.
- SEYNAVE, R. et SEREY, C. (1970) - Communication personnelle.
- VAN DER MEIJLS, C.C.J.M. (1970) - *Tijds. v. Dierg.*, 25, 1180-84.
- WUILLERET, A. et GILODI, V. (1968) - *Schw. Arch. f. Tierheill.*, 110, 51-58.

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

TABLEAU 1

Nombre d'échantillons de viande de boeuf hachée surgelée

sortes année	1 a		1 b		Total	2	Totaux
	1 a	1 b	1 a	1 b			
1.971	216	4	220	-	220	-	220
1.972	198	32	230	61	291	61	291
1.973	140	44	184	130	314	130	314
Totaux	554	80	634	191	825	191	825

1 a = hachis pur en grosses portions cylindriques  
 1 b = hachis pur en portions individuelles  
 2 = "hamburgers" c.à.d. hachis + ingrédients

TABLEAU 2

Echantillons de viande de boeuf hachée surgelée Salmonella +

sortes année	1 a		1 b		Total	2	Totaux
	1 a	1 b	1 a	1 b			
1.971	14	0	14	-	14	-	14
1.972	2	0	2	3	5	3	5
1.973	0	1	1	1	2	1	2
Totaux	16	1	17	4	21	4	21

pour 1 a et 1 b : présence de Salmonella dans 10 g ; absence dans 1 g  
 pour 2 : présence dans 50 g

TABLEAU 3

Echantillons de viandes de boeuf hachée surgelée  
 contenant des staphylocoques présumés pathogènes

Sortes et Classes Année	1 a et 1 b			2			Totaux		
	50 par 1 g	100 par 1 g	150 à 1.000	50 par 1 g	100 par 1 g	150 à 1.000	1.000 ou >1.000	1.000 ou >1.000	1.000 ou >1.000
1971	1	13	0	1	-	-	1	-	14
1972	26	1	1	28	0	0	28	0	32
1973	26	3	2	31	0	0	31	0	65
Totaux	53	17	3	73	0	0	73	0	111

N.B. Tous les autres échantillons examinés contenaient moins de 50 staphylocoques présumés pathogènes par 1 g.

TABLEAU 4  
 Echantillons de viande de boeuf hachée surgelée contenant E. coli

Sortes et Classes Année	1 a et 1 b			2			Totaux		
	1 à 10/g	>10 à 100/g	>100 à 1.000/g	1 à 10/g	>10 à 100/g	>100 à 1.000/g	1.000 ou >1.000	1.000 ou >1.000	1.000 ou >1.000
1971	60	15	2	77	0	0	77	0	77
1972	66	26	8	100	0	0	100	0	125
1973	28	8	1	37	1	0	38	1	97
Totaux	154	49	11	214	1	0	215	1	299

N.B. Aucun des autres échantillons examinés ne contenait de E. coli dans 1 g

TABLEAU 5

Echantillons de viande de boeuf hachée surgelée  
 contenant des spores de W. perfringens

Sortes et Classes Année	1 a et 1 b			2			Totaux
	1 à 9/g	10 et >10/g	Total	1 à 9/g	10 et >10/g	Total	
1971	2	0	2	-	-	-	2
1972	39	2	41	1	0	1	42
1973	25	2	27	16	0	16	43
Totaux	66	4	70	17	0	17	87

TABLEAU 6

Echantillons de viande de boeuf hachée surgelée  
 dont la flore aérobie mésophile est > 550.000 par 1 g

Sortes et Classes Année	1 a et 1 b			2			Totaux
	> 550.000 à 1.10 <sup>6</sup> /g	>1.10 <sup>6</sup> à 1.10 <sup>7</sup> /g	Total	> 550.000 à 1.10 <sup>6</sup> /g	>1.10 <sup>6</sup> à 1.10 <sup>7</sup> /g	Total	
1971	0	2	2	-	-	-	2
1972	6	5	11	2	10	12	23
1973	19	16	35	3	6	9	44
Totaux	25	23	48	5	16	21	69