

ALTERATIONS MICROBIENNES LIEES AUX BACTERIES LACTIQUES HETEROFERMENTAIRES DANS LE JAMBON CUIT SUPERIEUR

COPPET V, CHRISTIEANS S.
ADIV, 2 rue Chappe, 63039 Clermont Ferrand cedex 2 ;

Introduction

Compte tenu de l'évolution croissante et constante de la consommation de jambon cuit en France (+4% entre 1999 et 2003), les industriels de la charcuterie souhaitent maîtriser la qualité de leurs produits et s'affranchir de tous risques d'apparition de défauts susceptibles d'entraîner des pertes économiques et/ou de confiance de la part des consommateurs. C'est pourquoi un code des usages définissant les bonnes pratiques de fabrication des produits de charcuterie a été rédigé en concertation avec un large panel de fabricants industriels et d'artisans, en plus du cadre réglementaire strict fixant les règles d'hygiène pour les fabricants et pour les distributeurs.

Cependant, malgré cette réglementation rigoureuse, des altérations sur le produit peuvent apparaître de façon sporadique. En effet, certains industriels constatent :

- une présence de mauvaises odeurs dans la masse du produit,
- l'apparition de mucus filamenteux sur le produit,
- un gonflement des barquettes sous atmosphère modifiée pour le jambon cuit prétranché.

Ces observations associées à des analyses bactériologiques sur les produits à défauts ont permis de conclure à une origine microbienne du phénomène.

L'objectif de cette étude, en partenariat avec sept entreprises, a été d'identifier les germes responsables des défauts rencontrés par les industriels, notamment la flore lactique hétérofermentaire et de déterminer s'il existe une diversité des espèces microbiennes mises en cause dans ces altérations.

Matériel et méthodes

Les prélèvements ont été organisés en deux vagues, au printemps et à l'automne 2003.

Chaque entreprise partenaire a expédié 5 sachets de jambon cuit supérieur tranché dès leur fabrication et sous conditions réfrigérées. Dès réception et jusqu'à leur DLC, les produits ont été stockés à 8°C, dans le but de faire apparaître les défauts et d'analyser la flore lactique hétérofermentaire (*Lactobacillus hétérofermentaires* et *Leuconostoc*). La recherche et les dénombrements ont été réalisés sur une gélose Man, Rogosa et Sharpe (MRS) (NF V08-030). Après isolement des différentes colonies d'aspects morphologiques différents (taille, couleur, surface, profondeur...), les tests d'hétérofermentation ont été effectués sur 5 colonies par produit pour distinguer les bactéries lactiques homofermentaires des bactéries lactiques hétérofermentaires. Par définition, l'hétérofermentation est la capacité des bactéries lactiques à produire des molécules différentes du lactate telles que le CO₂, l'acétate, l'éthanol... à partir du sucre. Les souches qui ont donné un résultat positif à ces observations ont été retenues. Ces dernières ont été repiquées sur milieu MRS afin de s'assurer de la pureté des cultures pour ensuite constituer une échantillothèque, la conservation des isolats a été effectuée à -20°C avant leur analyse moléculaire.

Le typage moléculaire a été réalisé par REP-PCR (Repetitive Extragenic Palindromique Polymerase Chain Reaction) en présence d'amorces consensus, homologues d'éléments répétés des génomes. Les empreintes ont été comparées par analyse bio informatique. Ainsi, 267 empreintes ont été obtenues et comparées en utilisant l'algorithme UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages), associé au coefficient de Pearson. Ces isolats à identifier ont été sélectionnés selon un seuil de 80% d'homologie entre les empreintes. Puis les identifications s'opèrent par séquençage du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S avec une comparaison des séquences obtenues aux banques de données internationales. Au total, 189 identifications ont été réalisées.

Résultats et discussion

D'un point de vue visuel et aspect des produits, les conditions de stockage définies précédemment sont synonymes de conditions accélérées de vieillissement.

Ce mode de stockage a permis d'observer une chronologie dans l'apparition des altérations : une exsudation, des reflets roses, verts ou nacrés, un gonflement des sachets, un jus clair, et enfin des tâches blanches en surface du produit.

Ces défauts recensés dans cette étude présentent des similitudes avec les accidents de fabrication et/ou les produits altérés couramment reçus dans les laboratoires d'analyses. Bien que les conditionnements sous-vide ou sous atmosphère modifiée soient communément utilisés pour permettre une meilleure durée de vie des produits frais à base de viande (1), ils permettent néanmoins le développement de microorganismes qui peuvent être à l'origine de défauts. Le nombre et la nature des espèces lactiques isolées des produits à défauts sont variables. La contamination indésirable peut être liée à une seule espèce bactérienne mais dans la plupart des cas, un mélange de *Lactobacillus spp* et de *Leuconostoc spp* est retrouvé. Cette diversité des bactéries, isolées des produits altérés, a été confirmée par plusieurs travaux (2, 3 et 4).

Dans cette étude, dès l'apparition des défauts, la flore lactique a été dénombrée sur milieu sélectif. Au total, 250 analyses ont été effectuées pour la première période de prélèvements et 161 pour la seconde période.

Les analyses effectuées après les deux campagnes de prélèvements, printemps et automne, montrent une contamination homogène en flore lactique pour chaque entreprise. Le facteur saison ne semble pas jouer un rôle sur le dénombrement de cette flore, car à DLC des produits et quelle que soit la période de prélèvement, la concentration en flore lactique varie entre 10^7 et 10^8 germes par gramme de jambon stockés à +8°C.

Cette phase de dénombrement et d'isolement a permis de confirmer que la flore lactique hétérofermentaire se trouve être majoritaire dans ce type de produit, si les conditions de stockage et de conservation ne sont pas respectées.

La seconde partie de l'étude a montré que la flore majoritaire, toutes entreprises et toutes saisons confondues, est représentée par des souches appartenant au genre *Leuconostoc* (70% des souches isolées). Les *Lactobacillus* représentent moins de 10% des souches identifiées et 18.9% s'apparentent à d'autres espèces non identifiées. Des résultats similaires ont été observés par d'autres auteurs (5 et 6). Parmi les *Leuconostoc* isolés, deux espèces ont été identifiées comme étant les espèces d'altération majoritaires dans les jambons analysés : il s'agit de *Leuconostoc carnosum* (49%) et de *Leuconostoc mesenteroides* (18%).

Ces proportions vont dans le même sens que ceux obtenus par Cai *et al.* (6). Ainsi, dans une étude réalisée par Björkroth *et al.* (5), *Leuconostoc carnosum* a également été identifié comme étant le germe responsable des altérations des jambons cuits, conditionnés, sous vide.

Ces mêmes auteurs se sont intéressés, comme dans notre étude, à la contamination des entreprises et ont pu constater que *Leuconostoc carnosum* de type A est la bactérie dominante de la microflore des matières premières de porc. Par ailleurs, les *Leuconostoc spp* sont des microorganismes d'altération spécifiques des produits transformés à base de viande (bœuf, porc, volaille) ou de poissons. Les études précédemment citées ainsi que les résultats obtenus au cours de ce programme ont conclu à une contamination du jambon cuit, donc du porc, par *Leuconostoc carnosum* et *Leuconostoc gelidum* taxonomiquement très proches.

Le typage moléculaire a permis de mettre en évidence une conservation des séquences « répétées » au sein d'une même espèce avec cependant des variations infra-spécifiques.

Ainsi la comparaison des séquences obtenues aux banques de données internationales a montré une diversité interspécifique restreinte où les isolats appartiennent pour 49% à l'espèce *Leuconostoc carnosum* et pour 18% à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides*.

Conclusion et perspectives

Cette étude nous a permis de confirmer le rôle des bactéries lactiques hétérofermentaires dans l'altération du produit et surtout d'identifier les espèces majoritaires impliquées dans l'altération des jambons cuits, *Leuconostoc carnosum* et *Leuconostoc mesenteroides*. A partir de ces identifications, il semblerait intéressant de compléter les résultats obtenus en s'orientant vers l'amont donc vers l'origine de la contamination.

Références bibliographiques

- (1) Borch E., Kant-Muermans ML. And Blixt Y. 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 33:103-120.
- (2) Korkeala H., Alanko T., Mäkelä P. And Lindroth S. 1989. Shelf-life of vacuum-packed cooked ring sausages at different chill temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 9:237-247.
- (3) Von Holy A., Cloete T. and Holzappel W. 1991. Quantification and characterization of microbial population associated with spoiled vacuum-packaged vienne sausages. *Food Microbiol.* 8:95-104.
- (4) Yang R and Ray B. 1994. Prevalence and biological control of bacteriocine-producing psychrotrophic *Leuconostoc* associated with spoilage of vacuum-packaged processed meats. *J. Food Prot.* 57:209-217.
- (5) Björkroth J., Vandamme P., and Korkeala H. 1998. Identification and characterization of *Leuconostoc carnosum* associated with production and spoilage of vacuum-packaged, sliced, cooked ham. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 :3313-3319.
- (6) Cai Y., Benno Y., Takeda A. Yoshida T., Itaya T. and Nakasa T. 1998. Characterization of *Leuconostoc* species isolated from vacuum-packaged ham. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 44:153-159.

Remerciements

Ce programme a été financé par l'Office de l'élevage et 7 industriels de la charcuterie partenaires du projet.