



## Qualité microbiologique du jambon cuit

### Caractérisation des bactéries détectées post-cuisson dans le jambon cuit.

Ecrit par : <sup>a</sup>RIVOLLIER M.

<sup>a</sup>Adiv, 10 rue Jacqueline Auriol, ZAC Parc Industriel des Gravanches, F-63039 CLERMONT-FERRAND CEDEX 2, France

**Résumé :** Au vue de l'intérêt pour les industriels à vouloir résoudre, comprendre et remonter à l'origine de la persistance de certaines bactéries d'altération du jambon cuit, le présent travail, financé par FranceAgriMer avec une participation de trois industriels du secteur, avaient un objectif double : caractériser finement la flore bactérienne résiduelle détectée après cuisson puis en cours de conservation et étudier différentes voies permettant de lutter contre leur persistance (non présentées ici).

De manière générale, la caractérisation de la flore résiduelle post-cuisson a souligné des variations sur les taux de contamination entre les lots de jambon cuit des partenaires industriels ; cette phase a également montré une grande diversité d'espèces bactériennes à la fois inter et intra-entreprises selon le stade du procédé et/ou de la conservation des produits tranchés. Il a une fois de plus été mis en évidence que la cuisson du jambon cuit, aux barèmes de cuisson appliqués, ne permet pas une destruction totale des bactéries initialement présentes dans les matières premières.

Ce projet -qui donne un éclairage scientifique intéressant sur l'écologie microbienne du jambon cuit- a permis dans un second temps d'aborder deux voies possibles pour limiter les bactéries altérantes : l'influence de la variation de la composition des **mélanges gazeux** à base d'azote (N<sub>2</sub>) et de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et les **ferments bioprotecteurs** pour lesquels des essais ont été menés avec ajout du ferment au niveau de la saumure ou au niveau de l'étape de tranchage.

**Mots clés :** jambon cuit, bactéries altérantes, écologie microbienne, biologie moléculaire

**Au vue de l'intérêt pour les industriels à vouloir résoudre, comprendre et remonter à l'origine de la persistance de certaines bactéries d'altération du jambon cuit, le présent travail, financé par FranceAgriMer avec une participation de trois industriels du secteur, avaient un objectif double : caractériser finement la flore bactérienne résiduelle détectée après cuisson puis en cours de conservation et étudier différentes voies permettant de lutter contre leur persistance, notamment via l'emploi de ferments lactiques bioprotecteurs (non présentées ici).**

Cette étude fait suite à deux autres projets menés par l'ADIV sur la thématique *Bactéries d'altération du Jambon cuit* : « Altérations microbiennes liées aux bactéries lactiques hétérofermentaires dans le jambon cuit supérieur » (Octobre 2004) et « Origine et Thermorésistance des *Leuconostoc* au cours du procédé du jambon cuit supérieur » (Juin 2008). Deux points essentiels avaient alors été soulignés. Premièrement, que le processus technologique de cuisson engendrait certes une très forte réduction bactérienne mais pas une destruction totale ; ainsi les bactéries endogènes persistantes après cuisson, bien qu'en faibles proportions, retrouvaient des conditions favorables à son développement lors des étapes de tranchage, de conditionnement et de conservation.

Deuxièmement, que les bactéries recontaminantes (lors du dessouvidage des jambons entiers, du tranchage) pouvaient engendrer des défauts sur les produits finaux du type gonflements de barquettes, virements de couleur, odeurs néfastes, exsudation,.... Dans ce contexte, l'ADIV est de plus en plus sollicitée depuis quelques années par les professionnels du secteur pour apporter un appui microbiologique et technique à cette problématique à la fois peu décrite dans la littérature et complexe puisque fonction de l'environnement et des pratiques de chaque entreprise. Le premier axe de travail, faisant l'objet de cet article, a consisté en une caractérisation fine de l'écologie microbienne des bactéries détectées après cuisson et jusqu'à la date limite de consommation (DLC) des produits de jambon cuit tranchés.

## MATERIELS ET METHODES

### Animaux, échantillons musculaires et cuisson des viandes

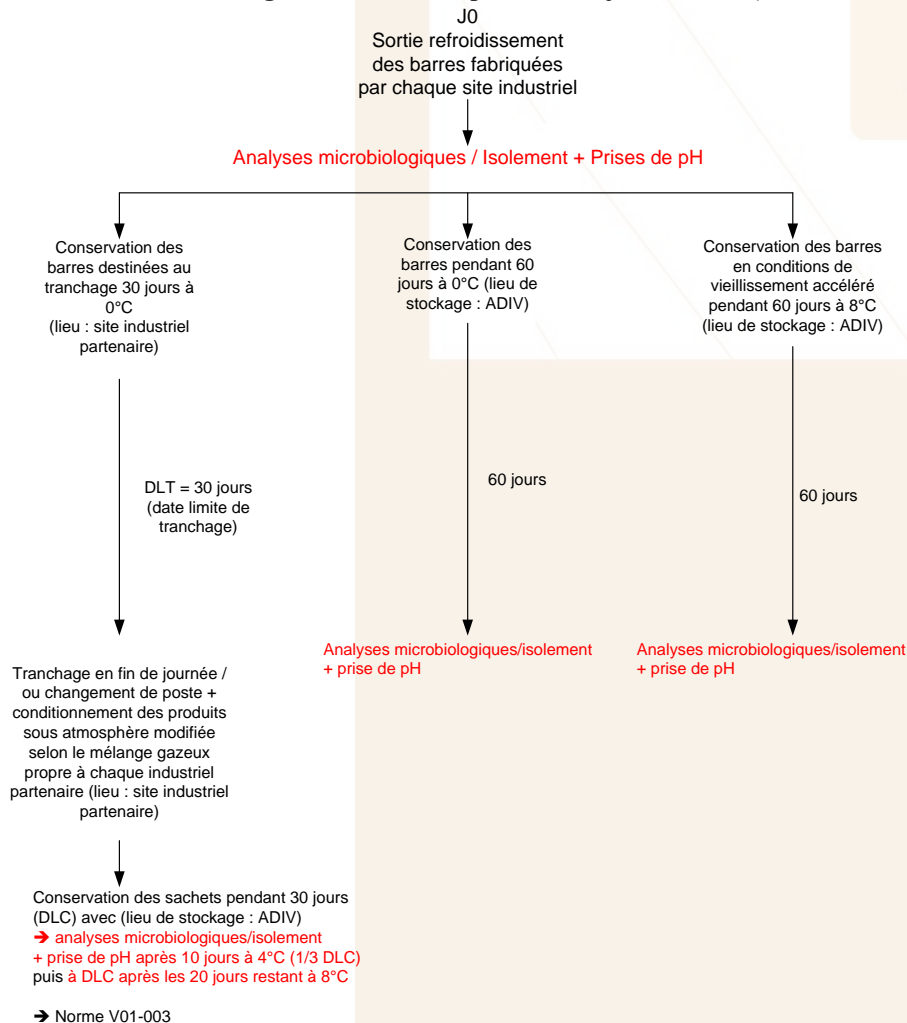
Pour les 3 industriels partenaires de cette étude, des barres de jambon et des produits tranchés issus d'un même lot ont été transmis à l'ADIV. Afin d'aboutir à un échantillonnage représentatif des flores bactériennes présentes au sein de chaque entreprise, un plan d'échantillonnage, incluant également des mesures de pH, a été défini (Figure 1). La finalité visait à dénombrer et surtout à constituer, après isolement, une collection de souches persistantes de différentes espèces bactériennes issues des stades clés du procédé. Selon les normes microbiologiques en vigueur, le panel de groupes bactériens qui a été recherché est listé ci-après :

- la flore totale pour avoir une estimation de la charge microbienne globale,
- la flore lactique totale et les germes lactiques plus spécifiques : les *Leuconostoc* (bactéries hétérofermentaires potentiellement responsables de défauts sur le jambon cuit : gonflements des barquettes, apparition de mucus filamenteux,...), les streptocoques,

- les entérocoques : germes réputés résistants au procédé de cuisson,
- les entérobactéries en tant qu'indicateur de l'état d'hygiène des denrées,
- les *Pseudomonas* : flore d'altération majoritaire des viandes et produits carnés. Ce sont des bactéries protéolytiques qui attaquent les protéines des aliments en induisant la libération de dérivés soufrés, ammoniacés, qui donnent une odeur caractéristique « d'œuf pourri » et des verdissements.
- les *Clostridium* : genre bactérien anaérobie et sporulé résistant au procédé de cuisson.

Après purification des colonies retenues, isolement et mise en cryobilles (méthode de conservation des souches), une identification des isolats par deux techniques de biologie moléculaire complémentaires (discrimination par RAPD M13 et séquençage d'ARN 16S) a été effectuée pour caractériser finement cette flore persistante.

**Figure 1 : Plan d'échantillonnage effectué sur les produits de jambon cuit (barres et tranches)**

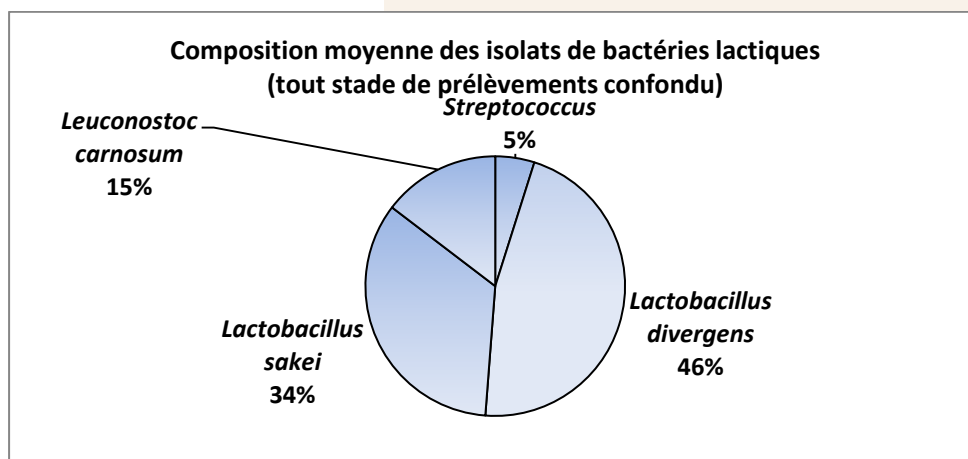
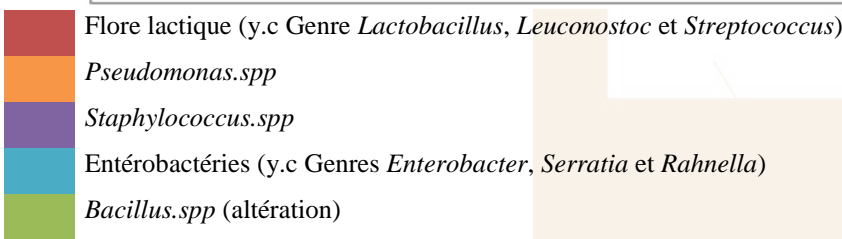
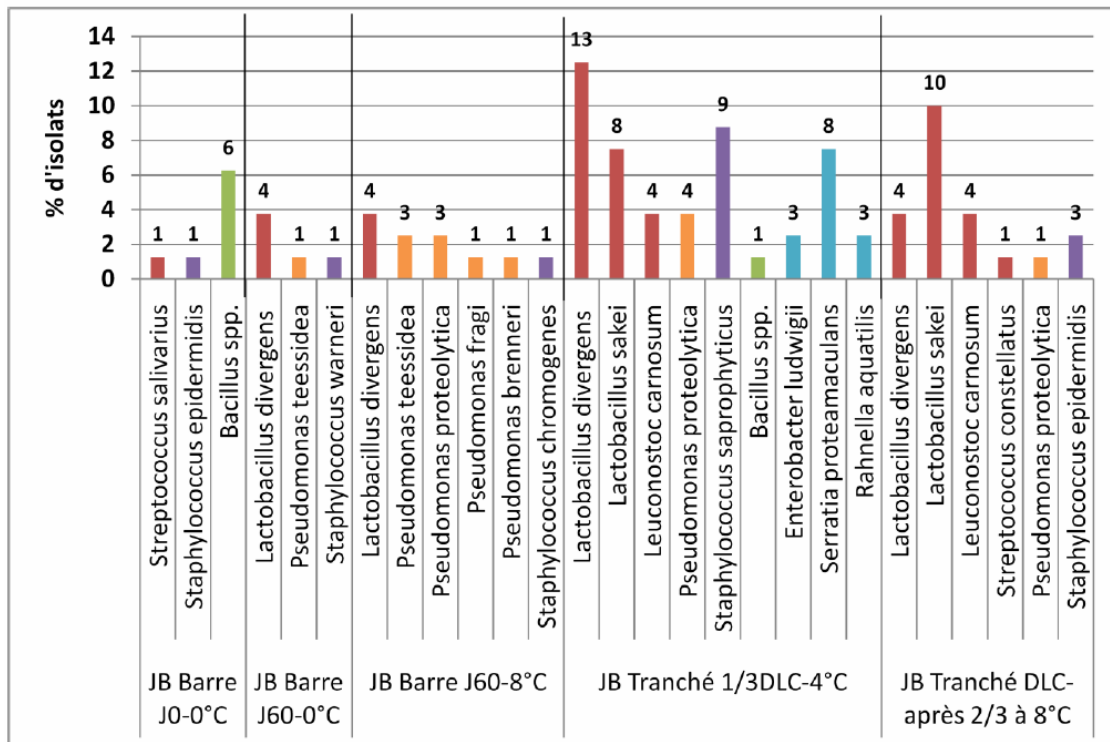


## RESULTATS OBTENUS (DISCUSSION)

Au total, un souchier de 80 isolats a été constitué. Une absence totale en entérocoques et en *Clostridium* a pu être soulignée quels que soit l'industriel et l'étape du procédé ; ces germes étant réputés résistants au procédé de cuisson (*ils servent d'ailleurs de référence pour le calcul de valeurs pasteurisatrices*), on peut

supposer leur absence également sur les matières premières employées initialement dans ces lots. Après identification des colonies par la technique de séquençage de l'ARN 16S, la **Figure 2a** rend compte de la répartition des 80 isolats (%) issus des 3 entreprises en fonction du stade de prélèvement.

**Figure 2:** Composition et répartition moyenne des isolats bactériens obtenus après identification par biologie moléculaire (séquençage ARN 16S) (2.a) + Focus sur la composition globale relative aux isolats de bactéries lactiques (2.b)



Dans le graphique de la **Figure 2.a**, 50% des isolats renvoient soit à des genres bactériens altérants (*Pseudomonas* (14%), *Bacillus* (8%)), soit à des genres bactériens indicateurs de problèmes d'hygiène/de recontamination (Entérobactéries (14%), Staphylocoques d'origine humaine peau, main (15%)). Pour le genre bactérien *Pseudomonas* qui est la flore d'altération majoritaire de la viande, deux cas de figure apparaissent : certaines souches ont été détectées sur barre, supposant une résistance à la cuisson, alors que l'espèce *P. proteolytica* a uniquement été identifiée après l'étape de tranchage. Ce dernier constat sur *P. proteolytica* est cohérent avec d'autres études menées par l'ADIV. Il est donc probable que cette espèce s'accoutume à certains désinfectants chimiques employés sur les surfaces de travail, mais les travaux de recherche restent encore trop peu nombreux pour l'affirmer. Les staphylocoques à coagulase négative (non pathogènes) peuvent avoir pour origine la saumure (bactéries halotolérantes qui s'adaptent à de fortes concentrations en sel – 15%) ou le personnel (main, peau...) par contamination croisée. D'après la littérature scientifique, l'espèce *Staphylococcus epidermidis* est une espèce largement présente sur la peau de la population humaine (de 80% à 100% notamment sur les mains). Les entérobactéries (*Enterobacter*, *Serratia*, ...) ont été identifiées uniquement sur les produits tranchés, supposant ainsi une contamination croisée via le matériel et les surfaces. La prévalence de *Bacillus* étant relativement faible dans la viande, leur détection a sans doute comme origine le mix d'épices déshydratées ajouté dans la saumure pour aromatiser le jambon. En effet, la capacité des *Bacillus* à passer sous forme sporulée leur permet de résister d'une part au procédé de déshydratation pratiqué sur ce type d'ingrédients et d'autre part à l'étape de cuisson des jambons qui fait

appel à une cuisson pasteurisatrice et non stérilisatrice.

Comme mentionné auparavant, un pourcentage non négligeable de souches de Staphylocoques coagulase négative et de *Bacillus* a été noté alors que ces genres bactériens n'ont pas été recherchés par microbiologie pasteurienne. Grâce à la traçabilité interne au laboratoire, il a été montré que les isolats de staphylocoques ont été prélevés sur les milieux relatifs aux germes lactiques (MRS, Mayeux ou encore M17) alors que les *Bacillus* ont été isolés sur le milieu M17, théoriquement spécifique aux streptocoques lactiques, mais pouvant permettre la croissance de ce genre bactérien. Ce constat montre les limites de la microbiologie conventionnelle, d'où le recours à des techniques de biologie moléculaire, basée sur l'ADN des microorganismes.

Le graphique souligne aussi que sur l'ensemble des temps d'analyses, plus de 50% des isolats concernent de la flore lactique ; la **Figure 2.b** détaille la composition des germes lactiques identifiés post-cuisson. On note ainsi une très large majorité (80%) de bactéries « positives » (*L. divergens* et *L. sakei*) connues pour leur rôle conservateur et leur capacité à limiter le développement d'autres espèces bactériennes indésirables dans le produit (par différents mécanismes). 15% des isolats ont concerné *Leuconostoc carnosum* mais aucun gonflement de barquettes lié au CO<sub>2</sub> rejeté par cette bactérie hétérofermentaire n'a été observé du fait de la faible concentration de départ.

Les espèces lactiques détectées sur barre (et qui se sont éventuellement implantées au cours de la conservation) sont probablement des bactéries endogènes à la viande « thermotolérantes » au barème de cuisson alors que celles qui sont apparues après tranchage sont sans doute liées à une recontamination du produit.

## CONCLUSION (Réponse au problème posé en introduction : résultats acquis et points qui restent dans l'ombre)

De manière générale, la caractérisation de la flore résiduelle post-cuisson a souligné des variations sur les taux de contamination entre les lots de jambon cuit des partenaires industriels ; cette phase a également montré une grande diversité d'espèces bactériennes à la fois inter et intra-entreprises selon le stade du procédé et/ou de la conservation des produits tranchés. Il a une fois de plus été mis en évidence que la cuisson du jambon cuit, aux barèmes de cuisson appliqués, ne permet pas une destruction totale des bactéries initialement présentes dans les matières premières.

A titre informatif, deux voies d'action visant à limiter les bactéries altérantes ont été étudiées dans un second temps: l'influence de la variation de la composition des **mélanges gazeux** à base d'azote (N<sub>2</sub>) et de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et les **ferments bioprotecteurs** pour lesquels des essais ont été menés avec ajout du ferment au niveau de la saumure ou au niveau de l'étape de tranchage.