

<ul style="list-style-type: none"> • Auteur principal : MICHEL Valérie GIS Alpes du Nord 11 rue Métropole – 73000 CHAMBERY Tel: 04 79 70 77 77 Courriel: vmichel@suacigis.com 	Crée le : 25/04/2005	Modifiée le : 30/11/2005
<ul style="list-style-type: none"> • Ont participé à cette fiche : BARRAL Julie Centre Fromager de Carmejane LAITHIER Cécile Institut de l'Élevage Lyon PARGUEL Pierre Institut de l'Élevage Besançon 		

Peut-on agir sur la flore microbienne du lait ?

CONTEXTE

Dans le cadre des fabrications fromagères au lait cru, de nombreuses interventions techniques en élevage ont pour objectif de réduire la quantité de germes indésirables présents au niveau du lait. Ces germes indésirables nuisent à la qualité finale du produit, soit parce qu'ils sont sources d'altération (défauts d'aspects, gonflements, goûts indésirables), soit parce qu'ils peuvent présenter un danger pour le consommateur (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*...).

Des solutions techniques existent pour réduire ces germes indésirables, mais on peut s'interroger à propos de leurs effets sur les autres flores du lait, et en particulier sur les flores utiles en fabrication fromagère. Peu de références existent dans ce domaine, de même que l'on ne dispose que de peu d'informations sur leur localisation à la traite : y-a-t'il des réservoirs de flores à préserver lors de la traite, au niveau des trayons ou de la machine à traire ? L'emploi de produits lessiviels dont les propriétés évoluent (composition, action) a-t-il une influence sur la flore des laits ? Est-il possible de trouver des méthodes de nettoyage sélectives, qui privilégieraient les flores d'intérêt ?

LES RESERVOIRS DE FLORE A LA TRAITE

Le lait qui sort de la mamelle est stérile, sauf en cas d'infection mammaire. Les germes sont donc apportés dès la sortie de la mamelle et peuvent avoir diverses origines lors de la traite : le trayon (canal et surface), le matériel de traite au sens large (de la machine au tank) et l'environnement (eau, poussières véhiculées par l'air du lieu de traite, etc...). Ces sources de contamination ou d'ensemencement sont alimentées par les réservoirs de bactéries que constituent les litières, les fèces, les fourrages (dont les ensilages), le sol, l'eau, les matériaux, les bâtiments...

Les données ci-dessous font état des résultats obtenus en milieux bovin et caprin.

Les réservoirs de flore en bovin

Des prélèvements microbiens réalisés à la traite dans 30 exploitations laitières de Savoie et Haute-Savoie durant l'été 2002 puis durant l'hiver 2002-2003 ont montré que :

- c'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieurs à ceux des groupes d'altération ou pathogène (staphylocoques à coagulase positive).
- Au niveau du lactoduc et de l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents. Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles.

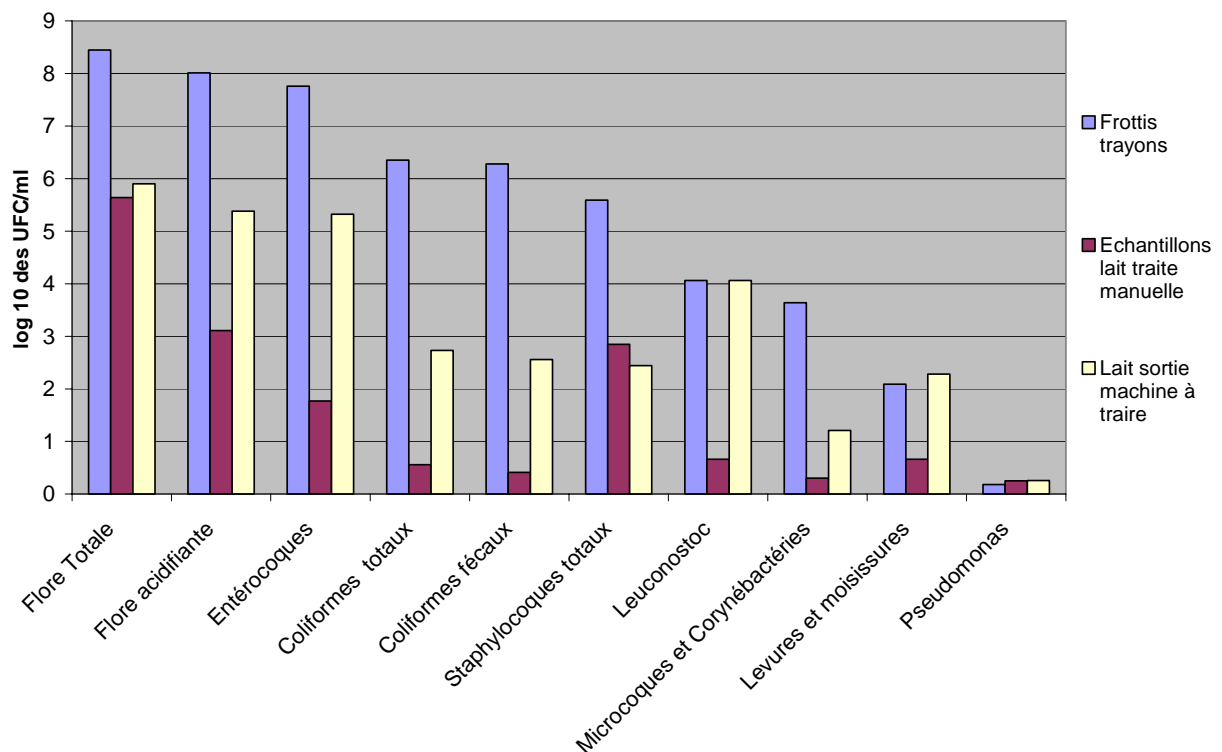
Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, au niveau des lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus importants de *Pseudomonas* (germes d'altération). Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre. Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance.

Les réservoirs de flore en caprins

Différents prélèvements ont été réalisés chez des producteurs fromagers fermiers de la région PACA : frottis sur les trayons des chèvres, laits de traite manuelle sur quelques chèvres (il ne s'agissait pas de traites manuelles complètes), et laits en sortie machine à traire. Ces prélèvements étaient accompagnés d'enregistrement des pratiques d'élevage, de traite et de fromagerie des producteurs.

Ces prélèvements ont tous été mis en lactofermentation (30°C, 24h) et les flores développées ont été dénombrées (figure 1).

Figure 1 : Flores développées à 30°C, pendant 24h, à partir des différents prélèvements
(n=36 pour chaque type de prélèvement)



➤ Ces résultats montrent que **les trayons constituent un réservoir primaire de flores en élevage caprin**. Ces flores des trayons, qui contribuent enrichir le lait peuvent être utiles en transformation fromagère (flore acidifiante, entérocoques) mais certaines peuvent entraîner des altérations de l'aspect et du goût des fromages (coliformes). L'activité acidifiante des flores des trayons a été correcte : pH 4,66 en 24h.

La recherche d'un « effet élevage » sur ces flores a mis en évidence des différences significatives sur les coliformes, allant du simple au double entre les producteurs. On peut faire le lien avec des états d'entretien des litières qui peuvent être différents d'une exploitation à une autre.

➤ **La machine à traire constitue un réservoir secondaire de flores** qui sont essentiellement des bactéries lactiques (flore acidifiante mésophile, entérocoques et leuconostocs) mais également des flores d'altération (coliformes). L'étude des activités acidifiantes de ces flores a montré une bonne activité acidifiante : en moyenne pH 4,45 en 24h.

L'étude de l'effet élevage a mis en évidence des différences significatives entre élevages sur toutes les flores dénombrées (hormis la flore totale). Ce résultat n'est pas surprenant et illustre bien l'influence d'un ensemble de facteurs liés à la conduite de l'élevage, à l'état sanitaire du troupeau, à la contribution des flores des trayons, à l'influence des pratiques de nettoyage de la machine à traire, à la contamination par l'air...

➤ Cette étude a également mis en évidence que les échantillons issus de traite manuelle étaient peu chargés en flores, et qu'ils contenaient comme flores majoritaires de la flore acidifiante mésophile et des staphylocoques totaux.

La comparaison de ces laits à ceux en sortie machine a confirmé, **que la machine à traire contribue très fortement à l'enrichissement du lait en flores** (flores lactiques et d'altération) (Pucet et al. 2002¹). Cet enrichissement lié à la machine à traire a été retrouvé dans des proportions parfois très différentes, chez tous les producteurs suivis. Ce résultat est à mettre en relation avec des pratiques de nettoyage de la machine à traire différentes.

Sur ces aspects réservoirs de flores en élevage caprin certaines questions méritent encore d'être éclaircies : quelle est la part relative de chacun de ces réservoirs dans l'apport de flores dans le lait ? Quelles sont les flores apportées par l'ambiance ? Celles apportées par les litières ?....

Nature des biofilms

Des prélèvements de biofilms réalisés pendant un an à différentes périodes dans 5 exploitations laitières caprines, dont la ferme expérimentale du Pradel, ont permis de mieux connaître la composition microbienne de ces biofilms en fonction de leur localisation. Diverses méthodes de prélèvements ont été employées :1/le rinçage du lactoduc avec du lait UHT pour avoir une vision globale de contamination possible du lait par les biofilms de la machine à traire : 2/ des frottis avec des chiffonnettes en divers points du matériel de traite et au niveau des bacs de caillage;3/ l'emploi d'ultrasons pour extraire les biofilms des moules et des clips placés dans le lactoduc de la machine à traire. Des dénombrements de flores utiles, d'altération et potentiellement pathogènes ont été réalisés sur ces différents échantillons.

Des tests de lactofermentation (24h à 30°C) et des aptitudes au repiquage à 20°C ont été réalisés sur les laits UHT ayant circulé dans la machine pour évaluer le rôle des bactéries des biofilms prélevés sur l'acidification.

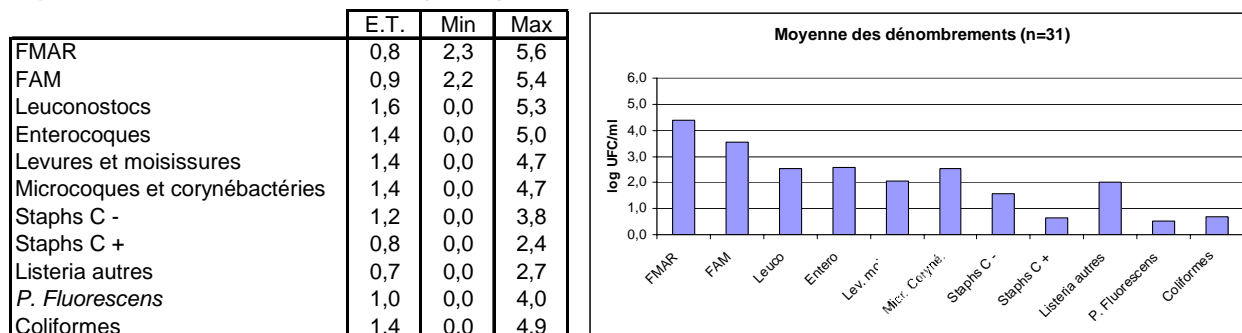
Profils microbiens des biofilms.

Les biofilms sont présents sur tous les supports. Dix grands types de biofilms ont pu être mis en évidence quelle que soit la technique d'extraction employée. **Ceux-ci diffèrent selon le niveau de flores en présence mais aussi suivant la variété de flores présentes. Le niveau et la variété de flores semblent par ailleurs liés.** Avec une augmentation importante du niveau de flore des biofilms, les flores d'altération sont davantage présentes et ***S. aureus* peut être détecté même si les flores utiles constituent toujours la flore majoritaire. *Listeria monocytogenes* n'a jamais été détectée dans les biofilms analysés (n=338).**

Les flores des laits circulant dans la machine à traire dont le profil moyen est en **figure 2** caractérisent 2 classes de biofilms mises en évidence. Dans celles-ci, les flores sont en quantités élevées et variées, ces laits récupérant une partie des biofilms des différents endroits de la machine à traire. Ainsi, la machine à traire est source de flores utiles qui restent majoritaires mais elle peut apporter aussi une quantité non négligeable de flores d'altération. Par ailleurs, la distinction entre ces deux classes se fait par la présence ou non des staphylocoques à coagulase positive.

¹ Pucet S. - 2002 - " Influence de la flore indigène du lait cru de chèvre sur son acidification et sur sa population microbienne. Validation de la méthode de constitution d'un lactosérum fermier" - rapport de stage -ENILBio de Poligny

Figure 2 : Profil microbien des laits UHT mis en circulation dans la machine à traire après incubation 24h à 30°C (n=31)



⇒ **Appartenance à deux classes différentes de biofilms se distinguant suivant la présence ou non de staphylocoques à coagulase positive.**

Cas des biofilms prélevés par chiffonnettes :

Huit types distincts de biofilms ont pu être distingués à partir des prélèvements effectués par chiffonnettes. Le niveau et la variété de la flore sont en étroite liaison. Certains types de biofilms peuvent être associés à des sites de prélèvements (manchons, bocal de réception du lait, transfert du lactoduc, vanne du tank) et à des matériaux : caoutchouc, verre, plastique des bacs de caillage.

Globalement, les biofilms les plus chargés se situent au niveau de la machine à traire. Les prélèvements au niveau de l'intérieur du tank sont moins chargés et encore moins ceux au niveau du bac de caillage. Ceci est à nuancer selon le type de matériau et le site précis de prélèvement. Ainsi, les zones peu accessibles au nettoyage (ex : vanne du tank) ont des biofilms aux niveaux de flore très élevés (utiles comme altération). En revanche, les bocal de réception du lait en verre caractérisent un type de biofilms peu chargés en flores à profil positif et ne présentant pas de flore d'altération. Le risque de présence de *S. aureus* existe, même si certaines classes se caractérisent par la modalité « absence de *S. aureus* ».

Le transfert du lactoduc peut présenter des profils de biofilms avec des niveaux hauts de flores, contrairement au tank à lait. Ceci peut s'expliquer par des conditions différentes entre les 2 sites de prélèvements (turbulence du flux de lait, temps de contact, température..),

Au niveau des manchons, le type de support a une incidence. Ainsi, ceux en silicone (une exploitation) présentent de très bas niveaux de flores avec uniquement des levures et moisissures, microcoques et corynébactéries (flores d'affinage), staphylocoques à coagulase négative. L'élevage peut avoir une incidence sur le type de biofilms indépendamment du site de prélèvement. Cependant, il apparaît clairement que ce n'est pas le facteur le plus important.

Activité acidifiante et aptitude au repiquage des flores des biofilms :

En général, pour l'ensemble des périodes, une durée de lactofermentation de 48 heures est nécessaire pour obtenir un pH inférieur à 5. Ainsi, en moyenne, les flores des biofilms ont

présenté une bonne aptitude à l'acidification de même qu'au repiquage, ce qui est cohérent avec la présence majoritaire de flore acidifiante dans les biofilms.

Conclusion sur les biofilms :

Ces résultats mettent en évidence la présence de biofilms au niveau des différents matériaux de traite et de la fromagerie. Globalement, les biofilms les plus chargés se situent au niveau de la machine à traire, mais le site de prélèvement a une incidence importante sur le type de biofilms obtenus.

Les laits UHT ayant circulé dans la machine à traire donnent une vision de la contamination possible du lait de mélange par les biofilms lors de la traite. Ces résultats montrent que le niveau de récupération des flores n'est pas négligeable. Les biofilms vont concourir à une « contamination du lait » lors de la traite des chèvres. Les procédures de nettoyage et désinfection mises en place ne permettent pas de s'affranchir de contaminations de flores et d'une activité fermentaire importante en cohérence avec la dominance de flores acidifiantes dans les profils microbiens des biofilms. L'évaluation de la contamination de la machine à traire a été effectuée plusieurs heures après la procédure de nettoyage et désinfection et peu de temps avant la traite du soir. Ceci met aussi en évidence la notion de « flore développée » au cours de la journée.

Même si les flores utiles (en particulier acidifiantes) sont majoritaires dans les profils des biofilms, les flores d'altération et même *S. aureus* peuvent être très présentes, en particulier au niveau des laits que l'on fait circuler dans la machine à traire. Ainsi, le développement de méthode de nettoyage/désinfection sélectives, permettant de détruire les flores pathogènes et d'altération tout en préservant les flores utiles est une voie intéressante (développée ci-après).

MACHINE A TRAIRE ET NETTOYAGE

Efficacité des rinçages

Une étude menée en Savoie en 2000 dans une trentaine d'exploitations équipées de programmeurs automatiques de lavage a mis en évidence la présence de résidus de produits lessiviels à la fin du procédé de nettoyage de la machine à traire (présence de produits lessiviels dans l'eau du dernier rinçage de la machine, révélée par un écart important de pH entre cette eau et l'eau du robinet) et en proportion importante (13 exploitations sur 32). La présence de ces résidus traduisant un rinçage insuffisant n'a été observée que pour des lessives alcalines (19 cas sur 32). Elle provient alors :

- de défauts de conception du matériel (purge non totale du bac de lavage, 7 cas sur 19),
- de l'emploi d'un volume d'eau insuffisant pour le lavage (bien en dessous de la recommandation des 7,5 litres d'eau par m² de surface, 6 cas sur 19).

L'emploi d'un volume insuffisant d'eau ne se traduit pas par une modification du niveau de flore totale des laits mais par une modification de sa composition (diminution du niveau de certains germes utiles tels les entérocoques). L'aptitude à la lactofermentation des laits est diminuée : 21 % des laits coagulent lorsque les volumes de rinçage sont insuffisants alors que 60% des laits des mêmes exploitations coagulent lorsque les volumes de rinçage sont suffisants.

Lessives chlorées et non chlorées

En zone Laguiole, des essais comparatifs portant sur l'utilisation de lessives chlorées et non chlorées dans 12 exploitations laitières bovines ont été effectués (Pôle AOC Massif Central, 2002). Le travail réalisé, qui confirme le lien entre différentiel de pH et résidus de produits lessiviels dans les eaux de fin de rinçage du circuit de lavage, a également mis en évidence un effet du type de lessives sur certaines flores utiles. Les laits contiennent des niveaux plus élevés d'entérocoques lors de l'emploi de lessives non chlorées, et des niveaux plus élevés de lactobacilles hétérofermentaires et de levures lors de l'emploi de lessives chlorées, sans pour autant observer de modification du niveau de flore totale.

Méthode de nettoyage sélectif

Des essais de décontamination sélective ont été effectués en laboratoire sur des biofilms reconstitués composés par des groupes microbiens utiles, d'altération et pathogènes en testant leur sensibilité à des solutions de nettoyage de composition chimique différente. Les résultats obtenus montrent que la sensibilité des groupes microbiens varie selon la nature des produits testés : ainsi, par exemple, toutes les souches se révèlent sensibles au produit alcalin chloré ou aux produits de nature acide. Seul le produit alcalin en présence de 10% de sel (Na_2SO_4) se révèle sélectif en préservant un peu la flore lactique et altérant les flores d'altération (*Pseudomonas*) et pathogènes. Ces résultats, qui restent du domaine du laboratoire, sont encourageants dans la mesure où ils laissent entrevoir l'existence de procédés sélectifs permettant de préserver la flore d'intérêt tout en limitant les flores indésirables. Des essais en fermes sont prévus pour valider ces résultats obtenus en laboratoire.

CONCLUSIONS

Les résultats présentés ci-dessus apportent une part d'information sur les réservoirs à privilégier lors de la traite. Ils interrogent également les services techniques dans la mesure où certaines des recommandations faites pour maintenir la qualité hygiénique du lait se retrouvent alors en contradiction avec la préservation des groupes microbiens utiles, en particulier au niveau du trayon (exemple, instauration de désinfection avant ou après traite pour maîtriser les mammites...). D'autres interrogations sont soulevées vis-à-vis de la machine à traire : efficacité de rinçage, réservoirs de germes à maintenir selon les cas, existence de méthode de décontamination sélective....

D'autre part, la flore utile, et notamment fromagère, des laits crus n'est pas un paramètre pris en compte dans les systèmes actuels de paiement du lait, même pour les filières fromagères au lait cru ; c'est plutôt la présence de germes indésirables qui est recherchée et sanctionnée. Le niveau de flore totale (ou FMAR) n'est par non plus un indicateur de la qualité fromagère des laits. Le technicien peut alors avoir des difficultés à établir un dialogue avec le producteur car ils manquent de repères communs. D'une part, pour le suivi de la qualité fromagère du lait, seul le test de lactofermentation est un indicateur tangible de cette qualité et permet l'appropriation de cette notion de flore utile..

De manière générale, ceci pose également la question du positionnement du conseil technique entre des producteurs de lait (payés sur le critère de la flore totale) et les fromagers (à la recherche de flore utile).

Ref : Pucet et al, 2002.