

<ul style="list-style-type: none"> Auteur principal : BERODIER Antoine Comité Interprofessionnel du Comté - Av. de la Résistance BP26 - 39801 Poligny Cedex Tel: 03 84 37 13 18 Courriel: ab-ctc@wanadoo.fr 	Crée le : 01/06/2005	Modifiée le : 30/08/2005
<ul style="list-style-type: none"> Ont participé à cette fiche : CASALTA Eric INRA Corte MONTEL Marie-Christine INRA 		

Quelles sont les évolutions de la flore microbienne dans les laits et les fromages ?

1- Contexte

La flore microbienne du lait cru est très diversifiée. Selon son intérêt et ses conséquences en fromagerie, on peut la scinder en 3 groupes :

- La flore utile ou technologique : lactocoques, lactobacilles, leuconostocs, flore de surface (levures, microcoques, etc.) ;
- La flore indésirable : coliformes, Pseudomonas ;
- La flore potentiellement pathogène : *E. coli*, staphylocoques à coagulase positive, salmonelles, *Listeria monocytogenes*.

Les équilibres bactériens présents dans le lait en fin de traite sont la conséquence des pratiques en amont : méthodes d'élevage, méthodes de traite et méthode de nettoyage du matériel en contact avec le lait.

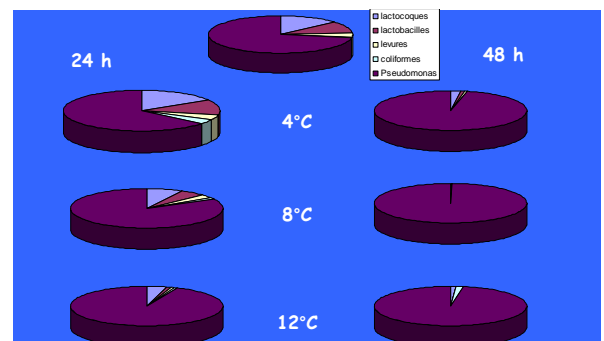
Cette flore microbienne, dite naturelle ou indigène, joue un rôle important dans la qualité des fromages au lait cru, en particulier sur le plan gustatif. Elle permet de préserver la typicité et une certaine diversité sensorielle des fromages.

Dans cette fiche, sont présentés les évolutions de flores bactériennes d'une part dans le lait au cours de son report, d'autre part, dans les fromages. Puis un test d'appréciation de la qualité du lait est décrit.

2- Evolution de la flore bactérienne pendant la conservation

Les recherches réalisées à l'Université de Caen Basse-Normandie démontrent l'impact du couple température/temps de conservation sur la microflore du lait de vache.

La figure ci-contre montre l'évolution des proportions de différentes flores bactériennes au cours d'un report de lait selon plusieurs conditions de température et de durée.



Évolution de la proportion de flores bactériennes au cours du report de lait à trois températures différentes et deux durées

Dans un lait conservé à 4°C pendant 24h, il n'existe pas d'évolution significative de flore. Par contre, à 4°C pendant 48 h, le niveau des Pseudomonas augmente.

Si le lait est conservé à 8°C pendant 24h, il n'y a pas d'évolution significative de flore. A 8°C pendant 48h, on observe une augmentation de la flore utile (lactocoques, levures) mais également aussi de la flore indésirable (coliformes et Pseudomonas).

À 12°C pendant 24h, la flore utile (lactocoques) augmente ainsi que la flore indésirable (coliformes et Pseudomonas). A 12°C pendant 48h, on constate une augmentation de la flore utile (lactobacilles, levures).

Ainsi, la température et la durée de report du lait vont modifier les équilibres bactériens originels.

Contacts : Nathalie Desmasures ; Université Caen ; nathalie.desmasures@ibfa.unicaen.fr

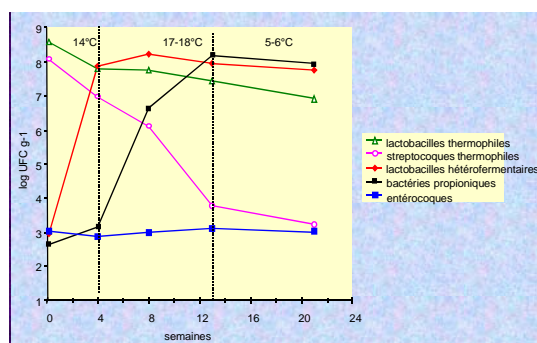
3- Evolution de la flore bactérienne dans les fromages

Des études concernant plusieurs fromages décrivent le comportement des flores bactériennes pendant l'affinage.

En Comté :

L'évolution d'espèces bactériennes a été suivi pendant toute la durée d'affinage qui dure au minimum 4 mois, sur des meules issues de différentes fruitières.

Le schéma ci-contre illustre les évolutions moyennes de 5 groupes bactériens au cours de l'affinage.



Évolution de 5 groupes bactériens dans la pâte du Comté au cours de l'affinage (Grappin et al., 1999).

On observe que la flore lactique acidifiante (streptocoque thermophile et lactobacille thermophile), qui a servi à la fabrication et apportée majoritairement par les levains du fromager, est largement majoritaire en début d'affinage mais régresse très vite, dès les premières semaines d'affinage.

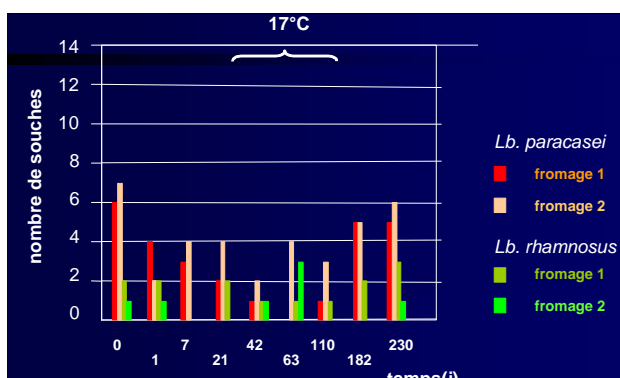
À l'opposé, la flore indigène du lait très peu présente dans le caillé en début d'affinage croit très rapidement, pour devenir en ce qui concerne les lactobacilles hétérofermentaires, majoritaire après 4 semaines d'affinage. Seule la flore entérocoques subsiste à un faible niveau.

Selon l'origine des fromages, très peu d'écarts autour de ces cinétiques moyennes ont été observés.

Par contre, lorsque l'on s'intéresse aux souches composant chaque espèce, une forte diversité est constatée.

Ainsi, les fromages issus de différentes fruitières présentent une plus grande diversité des souches bactériennes que des espèces bactériennes.

Mais, la proportion de ces différentes souches varie au cours de l'affinage. Ainsi, certaines souches sont présentes tout au long de l'affinage, alors que d'autres se succèdent au fil du temps.



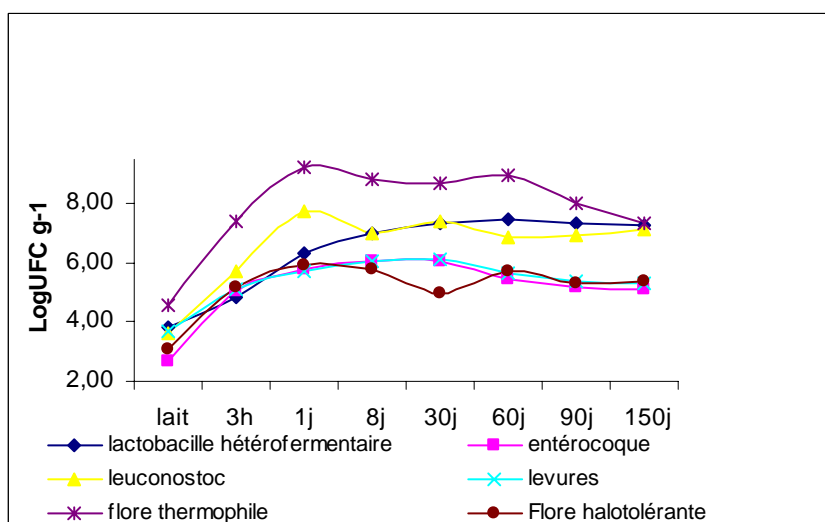
Évolution du nombre de souches de 2 espèces de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs dans 2 Comtés d'origine différente au cours de l'affinage (Berthier et al., 2004).

Contacts : Yvette Bouton ; CIGC-INRA Poligny ; y.bouton@comte.com et Eric Beuvier; INRA-URTAL Poligny; beuvier@poligny.inra.fr.

En Salers :

La dynamique des populations caractérisant le fromage d'AOC Salers est présentée dans la figure ci contre. Elle est marquée par l'importance quantitative des populations de levures, de Leuconostoc, de flores thermophiles et de lactobacilles hétérofermentaires facultatives dont la croissance se poursuit pendant toute la durée de l'affinage. La traite dans une « gerle » de bois enrichirait le lait en ces micro-organismes d'intérêt technologique car leur niveau est important dès le lait en absence d'ensemencement exogène. Ces populations sont composées d'une grande diversité d'espèces bactériennes ou levuriennes.

Par exemple, des souches de levures appartenant aux espèces ont été systématiquement inventoriées dans les 3 productions étudiées *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida zeylanoides* et *Debaryomyces hansenii* alors que certaines souches appartenant aux espèces *Candida parapsilosis*, *Candida silvae*, *Candida intermedia*, *Candida rugosa*, *Saccharomyces unisporus*, and *Pichia guilliermondii* ne sont isolées que dans certaines productions.



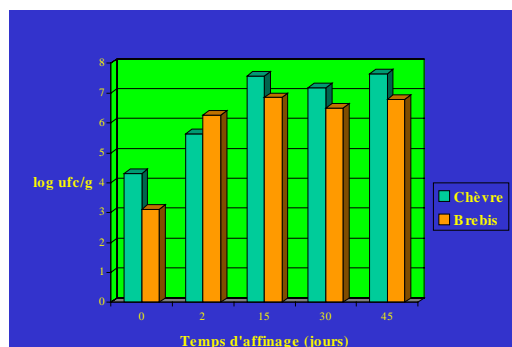
Évolution des populations microbiennes d'intérêt technologique dans le fromage Salers

Contacts : Marie Christine Montel ; INRA ; cmontel@clermont.inra.fr

En Venaco :

L'étude de la microflore du Venaco, pâte molle à croûte lavée de Corse fabriquée à partir de lait cru de chèvre ou de brebis, a été réalisée à l'Inra de Corté. Les dénombrements portant sur des fromages fabriqués sans ajout de ferments, les flores dénombrées proviennent exclusivement de la microflore naturelle.

Les lactocoques, présents dans les laits à hauteur de 10^5 germes/mL se développent rapidement pour atteindre environ 10^9 germes/g après 2 jours. Ce genre représente le principal agent acidifiant du Venaco. Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs sont 10 fois plus nombreux dans les laits de chèvre (2×10^4) que dans ceux de brebis (10^3). De par leur équipement en protéases, ces bactéries vont être actives pendant l'affinage en s'attaquant aux caséines.



Évolution de la population de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs au cours de l'affinage du Venaco

Les leuconostocs sont 100 fois plus nombreux dans le lait de chèvre (4×10^4) que dans le lait de brebis (5×10^2). Pendant l'affinage, ces bactéries vont fermenter le citrate du lait en composés d'arômes comme le diacétyle. Elles vont également produire du gaz carbonique qui est à l'origine de petites ouvertures dans la pâte.

La population d'entérocoques est environ 30 fois plus élevée dans le lait de brebis (environ 5×10^4) que dans le lait de chèvre (1.7×10^3). Ces bactéries vont agir pendant l'affinage. Leurs enzymes protéolytiques vont hydrolyser les caséines et leurs lipases vont transformer la matière grasse.

Concernant la flore non lactique, les levures-moisissures sont plus nombreuses dans le lait de chèvre. Étant des germes acidophiles, leur croissance est permise par l'acidification de la pâte dans les premiers jours qui suivent le caillage. En consommant l'acide lactique, ces germes de surface vont désacidifier la pâte. Elles participent également à la protéolyse et à la lipolyse.

Les bactéries halotolérantes (microcoques, bactéries corynéformes) sont présentes dans les laits (3×10^3 germes/mL). Elles vont se développer en surface pendant l'affinage, grâce notamment à la désacidification de la pâte et aux soins de croûte prodigués par le fromager. La composition et l'action de la microflore sont schématisées sur le tableau ci dessous :

Composition	Action enzymatique	Effet sur les plans technologique et sensoriel
Lactocoques	Acidification	Protection acide, égouttage
Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs	Protéolyse	Consistance, goût
Leuconostocs	Fermentation du citrate, production de CO ₂	Goût, ouvertures
Entérocoques	Protéolyse et lipolyse	Consistance, goût, odeur
Levures-moisissures (surface)	Désacidification de la pâte, Protéolyse et lipolyse	Consistance, goût, odeur
Bactéries halotolérantes (surface)	Protéolyse et lipolyse	Coloration de la croûte, goût, odeur

Ces résultats montrent la diversité de la flore naturelle du Venaco et son rôle dans l'élaboration des caractéristiques du fromage.

L'écosystème microbien d'un fromage au lait cru est donc complexe. Chaque composante a une fonction majeure dans l'élaboration du fromage. De plus, de nombreuses interactions existent entre ces composantes microbiennes comme par exemple l'installation des levures moisissures permise par l'acidification produite par les lactocoques.

Contacts : Érick Casalta ; INRA Corte ; eca@corte.inra.fr

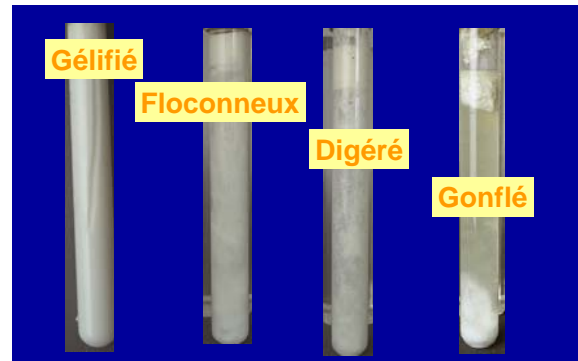
4- Test de lactofermentation

Test empirique, le test de lactofermentation a le mérite d'évaluer globalement la qualité microbienne fromagère du lait. Ce test permet en effet de juger le comportement de l'écosystème microbien du lait dans des conditions données.

Test de lactofermentation

- Conditionnement d'un échantillon de lait en tube verre de 20 ml stérile.
- Incubation à une température donnée pendant un temps fixé.
- Appréciation visuelle du gel obtenu.
- Mesure éventuelle du pH et examen microscopique.

Qualitatifs des gels obtenus



Une étude a d'abord tenté d'évaluer la signification de ce test et son intérêt fromager. Il ressort tout d'abord de cette étude que :

- Les conditions de réalisation du test sont déterminantes et influent son résultat.
- Des laits très semblables sur le plan de leur contenu en espèces bactériennes peuvent donner des résultats de test très différents.

Pour évaluer par ailleurs l'intérêt fromager du test, des laits, bien différenciés par le test de lactofermentation (Liquides – Gélifiés et Digérés) ont été mis en fabrication (mini fabrication de type pâte cuite).

Les fromages obtenus avec chaque lait (4 répétitions) se différencient nettement :

- Les fromages fabriqués à partir des laits de type Gélifié au test de lactofermentation sont globalement de meilleure qualité, car bien typés en goût et riches en arômes. Cependant, de forts écarts de qualité sont observés.
- Les fromages fabriqués à partir des laits de type Digéré présentent systématiquement des anomalies de qualité, en particulier en goût.
- Enfin, les fromages fabriqués à partir des laits de type Liquide présentent peu d'anomalies mais sont très peu typés en goût. En effet, l'évolution biochimique de ces meules montre une protéolyse modérée et une faible fermentation propionique.

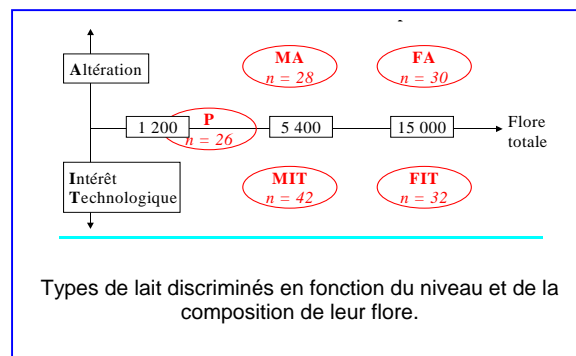
	Types de gel			
	L	G	D	écarts
pH	5,17	5,19	5,16	NS
HFD	56,6	56,2	56,8	NS
LAP	34	29	42	*
• Fromages à 4 mois				
	L	G	D	écarts
HFD	56,1	55,4	56,2	*
C2+C3	105	343	223	*
C6	3	4,7	3,2	*
IM	835	938	895	NS

Caractéristiques physico-chimiques des fromages (à 2 stades : 20h et 4 mois) fabriqués à partir de laits différenciés au test de lactofermentation.

Dans une autre étude, le test de lactofermentation a été confronté aux résultats de dénombrements d'espèces bactériennes (16 groupes) sur 158 laits.

Avec les dénombrements bactériens, 5 types de laits on pu être discriminés :

- Laits peu peuplés (P)
- Laits moyennement peuplés soit avec une dominante en flore d'altération (MA) ou en flore d'intérêt technologique (MIT)
- Laits assez peuplés soit avec une dominante en flore d'altération (FA) ou en flore d'intérêt technologique (FIT)



L'examen des résultats de test de lactofermentation pour chacun de ces types de laits montre que le résultat "Gélatineux" au test de lactofermentation est plus fréquent pour les laits de type FIT.

Par contre, le test ne paraît pas discriminant pour les autres types de lait.

Contacts : Valérie Michel ; GIS Alpes du Nord Chambéry ; vmichel@suacigis.com
Antoine Bérodiér ; CTC Poligny ; ab-ctc@wanadoo.fr

Références bibliographiques :

■ Berthier, F., Depouilly A., Dufrene F., Palme R. & Beuvier E. (2004). Diversity of dominant microflora of Comté cheese. IDF Symposium on cheese: ripening, characterization and technology, March 21-25 2004, Prague, République Tchèque (communication orale).

■ Callon et al. 2004.

■ Casalta E. 2003. Bases scientifiques de la qualité du Venaco, fromage traditionnel au lait cru. Mise au point de ferments sélectionnés spécifiques. Thèse, Université de Bourgogne.

■ CTC. 1999 – 2000. Validation du test de lactofermentation. Étude interne.

■ Grappin R., Beuvier E., Bouton Y. & Pochet S. (1999). Advances in the biochemistry and microbiology of Swiss-type cheeses. *Lait*, 79, 3-22.

■ Michel V, Hauwuy A., Chamba JF. 2001. La flore microbienne des laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *Le lait*, vol 81- p575-592.