

Caractérisation de la flore microbienne et de l'aptitude technologique des laits paucimicrobiens

L. SOMMELLIER (1), V. HEUCHEL (2), D. LEQUENNE (2), Y. LE ROUX (3), J.F. CHAMBA (4)

(1) Institut de l'Elevage, 2 avenue de la Forêt de Haye, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy

(2) Institut de l'Elevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

(3) Laboratoire de Sciences animales ENSAIA-INRA, 2 avenue de la Forêt de Haye, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy

(4) Institut Technique du Gruyère, BP 30, 74801 La Roche sur Foron Cedex

RÉSUMÉ - Différents groupes de bactéries (acidifiantes, microcoques, propioniques, coliformes, thermorésistantes et psychrotrophes) ont été dénombrés dans 749 échantillons de lait, prélevés dans 105 exploitations sélectionnées en fonction de leurs résultats « Germes totaux » (GT). En parallèle, une enquête sur les conditions d'hygiène dans ces exploitations a été réalisée. Des épreuves d'acidification et de coagulation par la présure ont été effectuées sur 3 types de lait de compositions bactériennes différentes.

Une variabilité a été constatée dans la composition microbienne de ces laits faiblement contaminés (93 % des échantillons contenant moins de 50 000 GT/ml). Par contre, il n'a pas été observé de corrélations entre les dénombrements en Germes totaux et ceux des différents groupes bactériens étudiés. De même, alors que les résultats « Germes totaux » sont régulièrement inférieurs à 20 000 GT/ml dans les élevages appliquant les mesures d'hygiène classiquement recommandées, les variations de composition microbienne des laits ne peuvent s'expliquer par des différences d'application de ces mesures. Enfin, on n'a pratiquement pas observé de différences entre les aptitudes à la coagulation et à l'acidification des 3 types de laits caractérisés par des compositions microbiennes distinctes.

Bacterial flora and technological aptitude of lowly total bacterial count raw milk

L. SOMMELLIER (1), V. HEUCHEL (2), D. LEQUENNE (2), Y. LE ROUX (3), J.F. CHAMBA (4)

(1) Institut de l'Elevage, 2 avenue de la Forêt de Haye, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy

SUMMARY - Different groups of bacterial flora (acid producing, micrococci, propionic acid, coliform, thermotolerant and psychrotroph bacteria) were counted in 749 raw milk samples taken from 105 farms which had been selected on the basis of their total bacterial count. Surveys about hygiene practices were done in these farms. Acidification and rennet coagulation tests were carried out on 3 types of raw milk differing by their microbial composition.

Different bacterial compositions were observed in these lowly contaminated milk samples (93 % of the samples have total bacterial count below 50 000 cfu/ml). There was no correlation between the colony counts of total bacteria and of the studied specific bacteria. Total bacterial counts were frequently below 20 000 cfu/ml in farms which followed hygiene recommendations, but it was not possible to explain the different microbial compositions of milk samples by different applications of hygienic practices. Finally, only few significant differences of the acidification and coagulation aptitude was observed between the 3 different types of raw milk.

INTRODUCTION

La contamination bactériologique des laits de vache, évaluée à partir du dénombrement de la flore mésophile aérobie revivifiable, plus communément appelée « flore totale » ou « germes totaux » (GT), a considérablement diminué depuis la prise en compte de ce critère dans le paiement du lait aux producteurs. Aujourd'hui, environ 80 % des laits collectés en France présentent régulièrement un niveau de contamination inférieur à 50 000 GT / ml (laits dits « ultra-propres » ou « paucimicrobiens »).

Or, le critère GT est un indicateur quantitatif de la contamination bactérienne du lait et il semble d'autant moins corrélé aux différentes flores présentes que son niveau est bas (ITG et Centre d'écopathologie, 1987). On peut donc s'interroger sur l'intérêt de viser des seuils inférieurs à 50 000 GT/ml.

En général, l'augmentation des durées de stockage et l'abaissement des températures de conservation à la ferme favorise la sélection de la flore psychrotrophe au détriment des autres flores dont la flore lactique (Lund et Soogard, 1981 ; Piton et Richard, 1986). Mais il n'existe que très peu de données sur la composition de la flore bactérienne des laits « ultra-propres », sur les éventuelles variations de cette composition et le cas échéant sur l'origine de ces variations.

D'autre part, les industriels font état de certaines difficultés rencontrées avec des laits « ultra-propres », notamment pour les fabrications de pâte molle au lait cru. Les temps de coagulation de ces laits seraient allongés et les caillés fragiles au tranchage (Lidberg et Bredahl, 1990). En technologie de pâte cuite, du fait de la forte réduction dans ces laits de la flore impliquée dans l'affinage, l'utilisation de laits paucimicrobiens peut avoir une incidence sur l'ouverture et les caractéristiques sensorielles des fabrications (Khalid et Marth, 1990). Mais peu de travaux ont été conduits jusqu'à présent pour quantifier ces problèmes et préciser leurs origines.

Cette étude a pour objectifs de caractériser la variabilité de la flore microbienne des laits faiblement contaminés tels qu'ils sont collectés aujourd'hui, d'identifier les facteurs de production liés à cette variabilité et d'évaluer l'incidence de la composition microbienne de ces laits sur leurs aptitudes technologiques.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. CARACTÉRISATION MICROBIOLOGIQUE DES LAITS PAUCIMICROBIENS ET ÉTUDE DE LEURS FACTEURS DE PRODUCTION

1.1.1. sélection des exploitations supports des prélèvements

L'analyse de la flore microbienne a été réalisée sur des laits prélevés pendant l'année 1995 dans 105 exploitations laitières des régions Rhône-Alpes, Bourgogne et Auvergne. Cet échantillon a été constitué par sondage aléatoire dans une population de référence de plus de 700 élevages répartis en zones de plaine et de montagne.

1.1.2. échantillonnage et analyses microbiologiques des laits de troupeau

Trois séries de 2 à 3 prélèvements de lait ont été effectuées en hiver, printemps et été dans chacune des 105 exploitations. Sur chacun des 749 échantillons ainsi obtenus, six types de flore microbienne ont été dénombrés :

- 3 flores indésirables, indicatrices de contamination : bactéries thermorésistantes, psychrotrophes et coliformes.

- 3 flores d'intérêt technologique : bactéries acidifiantes, propioniques et microcoques.

De plus, les résultats des dénombrements en GT réalisés pour le paiement du lait à la qualité ont été recueillis pendant toute la durée de l'étude dans les 105 exploitations.

1.1.3. enquêtes en élevage

Afin d'étudier les relations entre les conditions de production et la flore bactérienne du lait, une enquête a été réalisée dans les 105 exploitations. Cette enquête a porté sur : - les conditions d'hygiène dans les bâtiments, lors de la traite et pendant la conservation du lait à la ferme, - les pratiques de nettoyage des équipements de traite et de réfrigération du lait, - les conditions de réfrigération, - l'état sanitaire du cheptel et son alimentation.

1.1.4. traitement des données

Afin de décrire la variabilité de la composition microbienne des échantillons prélevés et les associations les plus fréquentes entre les flores, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur la matrice des corrélations entre flores et une typologie des laits a été construite par classification automatique des échantillons sur toutes les composantes de l'ACP.

Selon les mêmes méthodes, les 105 exploitations ont été classées selon les profils de distribution de l'ensemble de leurs résultats en GT, en flores acidifiante, coliforme, thermorésistante et psychrotrophe.

Enfin, une analyse factorielle des correspondances multiples suivie d'une classification automatique des élevages portant d'une part, sur le degré d'application des pratiques d'hygiène relative à la traite, au logement et au matériel de traite et de stockage, et d'autre part, sur la distribution des teneurs en GT dans chaque élevage a été réalisée.

1.2. ÉVALUATION DE L'APTITUDE TECHNOLOGIQUE DES LAITS PAUCIMICROBIENS

L'aptitude à l'acidification et à la coagulation a été mesurée sur trois types de laits de compositions bactériennes distinctes, produits régulièrement dans 6 élevages identifiés lors de la première partie de l'étude :

Type 1 : lait caractérisé par des faibles teneurs sur l'ensemble des flores étudiées.

Type 2 : lait caractérisé par des fortes teneurs sur l'ensemble des flores étudiées.

Type 3 : lait caractérisé par de faibles teneurs en flores sauf en psychrotrophes.

La variabilité intra-type des paramètres mesurés a été estimée sur dix répétitions, effectuées à partir d'échantillons prélevés entre Juin et octobre 1996.

Sur chaque échantillon, les analyses suivantes ont été réalisées :

- Composition microbiologique : GT, thermorésistants, psychrotrophes, coliformes, acidifiants, microcoques, propioniques.
- Paramètres physico-chimiques : TB, TP, comptage cellulaire, lactose, antibiotiques, fractions azotées, profil des différentes caséines, activité de type plasmine.
- Suivi de la coagulation par la présure au Formagraph : mesures du temps de prise R et du temps d'obtention de la fermeté standard K 20.
- Suivis des cinétiques d'acidification au pH-mètre. Sur chaque échantillon, 2 types d'acidification ont été étudiés :
 - L'acidification naturelle, afin d'évaluer l'activité de la flore d'origine. Deux températures d'incubation ont été étudiées pour chaque échantillon : 30 °C et 42 °C.
 - L'acidification des laits après ensemencement. Trois types de ferments ont été étudiés : un mélange commercial de Lactocoques, une souche de *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* et un mélange de deux souches uréases négatives de *Streptococcus thermophilus*.

Une analyse de variance a été réalisée sur les paramètres physico-chimiques afin de tester leur homogénéité sur les 3 types de lait. Les effets du type de lait sur les résultats des épreuves de coagulation par la présure et d'acidifications ont aussi été comparés par analyses de variance monofactorielles.

2. RÉSULTATS

2.1. DÉNOMBREMENT ET VARIABILITÉ DES FLORES MICROBIENNES

Sur l'ensemble des échantillons analysés, 93 % contiennent moins de 50 000 GT/ml, pour une teneur moyenne de l'ordre de 16 000 GT/ml. La flore psychrotrophe reste généralement dominante (3 000 bactéries/ml). Les flores acidifiantes, microcoques et thermorésistantes sont présentes à des niveaux moyens de l'ordre de 1 000 bactéries/ml. Enfin, les teneurs moyennes en flores propioniques et coliformes sont inférieures à 500 bactéries/ml (tableau 1).

Tableau 1
Teneur moyennes des différentes flores étudiées (bactéries/ml)

	Germes totaux	Thermo-résistants	Psychro-trophes	Coli-formes	Acidi-flants	Propio-niques	Micro-coques
Effectif	565	749	749	748	746	745	748
Moyenne arithmétique	30 000	3 931	8 663	180	4 160	1 320	2 267
Minimum	12 000	10	10	5	5	5	50
Maximum	1 251 000	30 000	30 000	1 500	30 000	30 000	30 000
Moyenne géométrique	16 000	837	2 893	36	1 380	314	1 053

Les corrélations entre teneurs en GT et en flores spécifiques sont très faibles. Les flores acidifiantes, psychrotrophes et

coliformes sont relativement bien corrélées aux autres flores, alors que la flore thermorésistante ne l'est que très peu (tableau 2).

Tableau 2
Corrélations entre flores (Log UFC/ml)

	Germes totaux	Thermo-résistants	Psychro-trophes	Coli-formes	Acidi-flants	Propio-niques	Micro-coques
Germes totaux	1						
Thermorésistants	0,09	1					
Psychrotrophes	0,15	0,21	1				
Coliformes	0,14	0,14	0,43	1			
Acidifiants	0,17	0,24	0,46	0,41	1		
Propioniques	0,08	0,30	0,27	0,23	0,37	1	
Microcoques	0,11	0,14	0,21	0,19	0,49	0,26	1

n=561 individus

La classification des échantillons de lait en fonction de leur composition microbienne a permis de déterminer les 8 types de lait suivants :

Type 1 : teneurs faibles (moins de 500 bactéries / ml en moyenne) pour toutes les flores étudiées.

Type 2 : teneurs faibles sauf pour la flore psychrotrophe (4 000 à 8 000 bactéries / ml en moyenne).

Type 3 : teneurs faibles en bactéries indésirables et moyennes en bactéries d'intérêt technologique.

Types 4 et 5 : teneurs moyennes sauf fortes en psychrotrophes et coliformes (Type 4), en psychrotrophes et thermorésistants (Type 5).

Types 6 et 7 : teneurs élevées sauf en psychrotrophes et coliformes (Type 6), en thermorésistants et propioniques (Type 7).

Type 8 : teneurs élevées pour toutes les flores étudiées.

Les laits de types 4, 7 et 8, qui présentent des teneurs élevées en flore coliforme ont été majoritairement prélevés en période estivale. Les laits de types 1, 3 et 6 peu ou moyennement contaminés par la flore psychrotrophe ont été principalement prélevés en hiver. Enfin les laits de types 2 et 5 ont été produits plutôt au printemps et en été.

2.2. VARIABILITÉ DES FLORES MICROBIENNES ET CONDITIONS DE PRODUCTION

L'analyse factorielle des correspondances multiples portant sur les pratiques d'hygiène et la distribution des teneurs en GT dans chaque élevage a fait apparaître une bonne concordance entre ces critères : les laits les plus régulièrement faiblement contaminés sont effectivement produits dans les élevages où l'ensemble des pratiques d'hygiène est systématiquement et correctement mis en oeuvre. Six groupes d'élevages ont été ainsi distingués selon ces critères mais cette typologie s'est avérée difficile à relier aux huit types de laits précédemment décrits.

Hormis les flores psychrotrophes et coliformes qui présentent en tendance des teneurs plus élevées dans les groupes d'élevages caractérisés soit par des pratiques hygiéniques moyennes à la traite ou au niveau du logement des animaux, soit par des pratiques de lavage et d'entretien des équipements de traite et de réfrigération défectueuses, aucune autre flore n'a pu être nettement associée au degré d'application de ces différentes pratiques.

2.3. APTITUDES TECHNOLOGIQUES DES LAITS PAUCIMICROBIENS

Les compositions microbiennes moyennes des 3 types de lait testés sur leurs aptitudes à la coagulation et à l'acidification sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3
Composition microbienne moyenne
des trois types de lait évalués
(moyennes géométriques en bactéries/ml)

	Germes totaux	Thermo- résistants	Psychro- trophes	Coli- formes	Acidi- fiants	Propio- niques	Micro- coques
1. Lait faiblement contaminé n = 10	6 000	64	920	9	257	47	520
2. Lait fortement contaminé n = 10	129 000	23 143	69 343	68	8 441	2 325	780
3. Lait contaminé en psychrotrophes n = 10	10 000	183	13 386	23	286	60	284

Le temps d'obtention de la fermeté standard (K 20) est apparu significativement moins élevé pour le lait de type 3 (faiblement contaminé sauf en psychrotrophes) que pour les laits des deux autres types : 9 minutes en moyenne contre 12 minutes.

Aucune différence significative n'est apparue dans la mesure du temps de prise (R).

En l'absence d'ensemencement : - l'acidification à 30 °C des laits de type 2 (fortement contaminé) est en moyenne plus rapide et plus importante que celle des laits de type 3. On n'observe pas de variation significative du pH des laits de type 1 (faiblement contaminé) pendant la période d'enregistrement (20 heures). - à 42 °C, l'acidité des trois types de lait augmente, après une phase de latence d'autant plus longue que les laits sont faiblement contaminés (10 à 11 heures pour les laits de type 1 et 3, contre 6 heures pour le lait de type 2).

En revanche, après ensemencement, les courbes d'acidifications moyennes des trois types de lait ne diffèrent pas significativement quels que soient la température d'incubation et le type de ferment utilisé

3. DISCUSSION

La flore psychrotrophe reste la flore dominante dans les laits paucimicrobiens. En comparaison avec d'autres études (ITG et Centre d'écopathologie, 1987 - Villar et al, 1996) portant sur des laits plus fortement contaminés (respectivement 126 000 GT/ml et 76 000 GT/ml en moyenne géométrique), le critère « germes totaux » n'est que très faiblement corrélé aux autres flores.

Différents types de laits ont pu être mis en évidence démontrant ainsi une certaine variabilité dans la composition microbienne des laits paucimicrobiens. Cette variabilité a pu en partie être reliée à des variations saisonnières et à des zones de production. Cette étude confirme notamment les résultats de O'Mahony et Austin (1991) et de Lund et Sogaard (1981) concernant le risque accru de présence de psychrotrophes en été. Les résultats d'une étude en cours à l'université de Caen, montrent que la teneur et la répartition des levures ou des lactobacilles permettent de caractériser le lait de chaque exploitation (Blanchart, 1997). Dans la pré-

sente étude, les exploitations suivies n'ont produit qu'exceptionnellement le même type de lait pendant l'année et la variabilité de composition microbienne observée n'a pu être reliée aux critères usuels d'évaluation des pratiques d'hygiène dans les élevages.

Les temps d'obtention de la fermeté standard (K20) sont en moyenne plus faibles avec des laits faiblement contaminés sauf en flores psychrotrophes (type 3) qu'avec des laits faiblement contaminés en toutes flores ou à l'inverse fortement contaminés en toutes flores. Cependant, les niveaux en flores et les mesures du K20 n'apparaissent pas significativement corrélés. Par contre, si certains des paramètres physico-chimiques contrôlés dans cette étude ne sont pas significativement différents entre les types de lait (cas notamment du TB, du taux cellulaire, des pourcentages des différentes caséines et du pH), on peut observer que le taux protéique, variable très corrélée avec le K20, est en moyenne significativement plus élevé dans les laits de type 3 (35.1 g/l contre 32.8 g/l et 33.5 g/l respectivement pour les laits de type 1 et 2). D'autre part, selon différents auteurs cités par Colin (1990), le K20 peut aussi être lié à différents paramètres qui n'ont pas été mesurés dans cette étude comme le calcium, l'alphalactalbumine et la taille micellaire. Les résultats obtenus ne permettent donc pas de conclure à une incidence de la composition microbienne sur le K20.

Les résultats des tests d'acidifications montrent que le niveau de contamination et la composition microbienne des laits ont une influence sur les cinétiques d'acidification naturelle. Cependant, après ensemencement par des ferments classiquement utilisés en transformation laitière, on n'observe pas de différence significative d'aptitude à l'acidification entre des laits faiblement (moins de 20 000 GT/ ml) ou moyennement contaminés (50 000 à 100 000 GT/ ml) et de compositions microbiennes très différentes.

CONCLUSION

Dans les laits faiblement contaminés, le critère « Germes totaux » n'est pas un traceur de la contamination par les différents groupes microbiens étudiés et la variabilité de la composition microbienne de ces laits n'est pas liée aux critères usuels d'évaluation des pratiques d'hygiène. Si la faible contamination de ces laits se traduit par une moins bonne aptitude à l'acidification naturelle, cette étude n'a par contre pas permis de mettre en évidence des différences dans les cinétiques de coagulation ou d'acidification après ensemencement. D'autres travaux portant sur les laits faiblement contaminés, actuellement en cours, devraient permettre d'évaluer plus précisément leurs aptitudes technologiques et l'éventuelle incidence sur la qualité des produits transformés.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié d'un financement dans le cadre de l'enveloppe de recherche de l'ACTA et de la collaboration du LIRCL Ceyzériat, de Chambourcy St Agrève, de Cooplait et de la Fédération des coopératives à Comté de l'Ain

Bibliographie disponible auprès des auteurs.