

Flore microbienne des laits crus de chèvre destinés à la transformation fromagère et pratiques des producteurs

TORMO H. (1), ALI HAIMOUD LEKHAL D. (1), LOPEZ C. (2)

(1) Ecole d'Ingénieurs de Purpan, département Agriculture et Agroalimentaire, BP 57611, 75 voie du TOEC, 31076 Toulouse Cedex 3

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

RESUME – La tendance à l'appauvrissement de la flore des laits de vache constatée à l'heure actuelle interroge les professionnels de la filière caprine. En effet, ce constat peut conduire à des défauts d'acidification en technologie fromagère de type lactique ainsi qu'à une perte de spécificité des fromages. A ce sujet, les syndicats des AOC Rocamadour, Pélardon et le GIE caprin de Franche Comté se sont mobilisés pour engager des travaux portant sur l'analyse des flores microbiennes des laits crus de chèvre. Ce premier travail réalisé en 2006 porte sur quarante-huit élevages issus des trois régions et ayant des conditions d'élevage et de production bien différenciées. Les résultats obtenus sur cent quarante-quatre laits révèlent des profils particuliers. 40 % des laits analysés ont des niveaux de flores totales bas (< 5 000 germes / ml) avec moins de 5 % de flores acidifiantes. Le traitement statistique des données fait apparaître quatre grands types de profils de flores se différenciant notamment par leur niveau de flores totales, de staphylocoques et de bactéries lactiques. Les pratiques de nettoyage de la machine à traire (fréquences du nettoyage et de l'alternance des produits alcalins et acides) ainsi que la fréquence de nettoyage des quais semblent être des pratiques qui influent sur les niveaux de flores des principaux groupes microbiens dénombrés.

Microorganisms of raw goat milk used for cheese making and producer practices

TORMO H. (1), ALI HAIMOUD LEKHAL D. (1), LOPEZ C. (2)

(1) Ecole d'Ingénieurs de Purpan, département Agriculture et Agroalimentaire, BP 57611, 75 voie du TOEC, 31076 Toulouse Cedex 3

SUMMARY – Nowadays, goat track professionals wonder why the number of raw milk microorganisms is decreasing. Indeed, this can lead to defects of acidification in lactic cheese-making technology, as well as to a loss of specificity of the cheeses. The AOC Rocamadour, Pélardon, and the goat GIE of Franche Comté have been working together on the analysis of raw milk microbial flora. The first 2006 work concerned 48 goat herds from well differentiated breeding and production conditions of those three areas. The results obtained from 144 milks revealed characteristic profiles. Forty percent of the milks showed low levels of total flora (< 5000 microorganisms /mL). The statistical data processing distinguished four flora profiles. They presented different total flora, negative coagulase staphylococcus and LAB (Lactic Acid Bacteria) levels. The cleaning practice of the milking machine (frequency of cleaning, frequency of the alternation of acid and basic products) and the frequency of cleaning of the milking place impacted the levels of the major microorganism groups.

INTRODUCTION

La connaissance des flores des laits crus ainsi que les principaux facteurs jouant sur leur variabilité sont des questions particulièrement importantes pour la maîtrise des transformations fromagères fermières au lait cru.

En effet, l'analyse des propriétés sensorielles des fromages au lait cru a montré que les microflores indigènes des laits sont des éléments déterminants dans la spécificité sensorielle de ces fromages (Demarigny *et al.*, 1997, Buchin et Beuvier, 2000, Verdier-Metz *et al.*, 2002). La diversité et l'équilibre entre les différentes flores des laits sont également des éléments majeurs de la réussite technologique des fromages ainsi que de leur qualité sanitaire. En outre, pour les technologies lactiques au lait de chèvre, le lait cru est une source d'ensemencement en flores lactiques du lactosérum, levain naturel complexe. Ce dernier contribue à la spécificité de ces fromages.

Depuis quelques années, les techniciens fromagers constatent des défauts croissants d'acidification entraînant l'abandon du lactosérum.

Des études récentes menées en lait de vache tendent à montrer que les laits crus sont de moins en moins chargés en flores. L'équilibre entre les flores d'intérêts et les flores d'altérations pour les laits crus de vache, serait lié aux pratiques d'hygiène autour de la traite (Michel *et al.*, 2005). Il semblerait que des pratiques trop drastiques tendraient à diminuer les flores en général, et plus particulièrement les flores d'intérêts technologiques (flores acidifiantes, flores

d'affinage). Ces constats interrogent la filière caprine et en particulier les syndicats d'AOC Rocamadour et Pélardon, ainsi que des éleveurs de Franche Comté.

Ainsi, des travaux ont été engagés afin de mieux connaître la variabilité ainsi que la nature des flores microbiennes des laits et d'expliquer l'origine de cette variabilité. Il s'agit en particulier d'évaluer dans quelles mesures les caractéristiques et pratiques d'élevage influent sur la flore microbienne du lait cru

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. CHOIX DES EXPLOITATIONS

Quarante-huit exploitations caprines ont été sélectionnées sur trois zones géographiques : vingt-deux exploitations dans la zone de l'AOC Rocamadour (Lot, Aveyron et Tarn), dix-huit exploitations dans la zone de l'AOC Pélardon (Gard, Lozère, Hérault) ainsi que huit exploitations fromagères fermières caprines de Franche Comté. Ces exploitations ont été choisies comme étant représentatives des zones concernées. L'échantillon pour chacune des zones représente au minimum 25 % de la population.

1.2. CARACTERISATION MICROBIOLOGIQUE DES LAITS ET TRAITEMENT DES DONNEES MICROBIOLOGIQUES

1.2.1. Caractérisation microbiologique des laits

Pour chacune des exploitations, trois laits provenant du mélange de la traite du soir ont été prélevés à quatre jours

d'intervalle au printemps 2006. Ces laits ont été pré-refroidis puis congelés à - 25°C et analysés dans le mois suivant le prélèvement. L'évaluation des grands groupes de flores a été réalisée par dénombrement sur milieux de culture. Les flores microbiennes dénombrées sont les suivantes : Flore Mésophile Aérobique Revivable (FMAR), Flore Acidifiante Mésophile (FAM), Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN), Staphylocoques à Coagulase Positive (SCP), Microcoques et Corynébactéries (MCY), Entérocoques, Coliformes totaux, *Pseudomonas spp.*, Lactobacilles du Groupe II, *Leuconostocs spp.*, levures et moisissures. Des tests phénotypiques complémentaires réalisés pour les FAM ont permis de préciser la nature de cette flore.

1.2.2. Traitement des données microbiologiques

A partir des résultats des dénombrements des laits, une mise en classe des laits a été effectuée par Analyse en Composante Principale (ACP), puis classification ascendante hiérarchique (CAH) sur les facteurs de l'ACP et choix de la partition offrant une discrimination optimale des cent quarante-quatre laits (R^2 élevé et nombre de partitions inférieur à 5). Afin de vérifier et quantifier la discrimination des flores dénombrées par les classes de lait, une analyse statistique a été réalisée selon un modèle mixte d'analyse de variance. Cette analyse permet d'évaluer également les parts de variabilité des flores dénombrées expliquées par la zone géographique ainsi que par l'effet aléatoire « exploitation » ajusté de la région et de la classe de lait. Les parts de variabilité expliquées par la région et les classes de lait (ajustées de l'effet région) sont estimées par les R^2 respectifs (estimés par le rapport de la somme des carrés des écarts des facteurs sur la somme des carrés des écarts total), celle fixée par l'exploitation par le coefficient de corrélation intra-classe (équivalent au R^2 de la partie fixe). Les données microbiologiques sont traitées en échelle log (10) des UFC (Unités Formant Colonies) par ml de lait.

1.3. TRAITEMENT DES DONNEES CONCERNANT LES CARACTERISTIQUES ET PRATIQUES D'ELEVAGE

Les caractéristiques des élevages portent essentiellement sur le cheptel (taille, niveau de production, conduite alimentaire et sanitaire), la conception des bâtiments d'élevage, de traite et du matériel (machine à traire). Les pratiques portent majoritairement sur l'entretien des matériaux et matériel en contact avec les chèvres et le lait (renouvellement des litières, nettoyage des quais et fosses, nettoyage et entretien de la machine à traire ...). Une typologie des caractéristiques et pratiques d'élevage a été réalisée. Pour cela, quarante-trois variables nominales (de deux à quatre modalités) relatives aux caractéristiques et pratiques d'élevage ont été mises en classe. Nous avons réalisé une Analyse en Composante Multiple (ACM), puis CAH sur les facteurs de l'ACM et choix de la partition offrant une discrimination optimale. On obtient alors des groupes de caractéristiques et pratiques d'élevage. Les classes de lait établies à partir du traitement décrit en 1.2.2 sont positionnées sur l'ACM comme variables illustratives afin d'avoir une première évaluation des associations classes – groupes de pratiques et caractéristiques d'élevage. Ces premières observations permettront de valider ces groupes et poursuivre l'analyse (cf. 1.4).

1.4. LIENS ENTRE LES CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET LES CARACTERISTIQUES ET PRATIQUES D'ELEVAGE

1.4.1. Première étape : mise en évidence d'associations entre typologie d'élevage et typologie des laits

Il s'agit de dégager les associations significatives entre classe de lait (définies en 1.2.2) et les groupes de caractéristiques et pratiques d'élevage (définies en 1.3.) par juxtaposition des tableaux de contingence et test Chi- 2.

1.4.2. Deuxième étape : facteurs d'élevage expliquant la variabilité des flores dénombrées

Cette étape permet de déterminer les facteurs d'élevage qui expliqueraient la variabilité des flores dénombrées. Elle vient compléter et valider les résultats issus du traitement décrit dans la première étape.

Pour cela, les variations des flores des laits ont été décrites en fonction des pratiques d'élevages ressortant comme étant les plus significatives d'après le traitement 1.4.1 ajustées de l'effet aléatoire « exploitation » selon un modèle mixte de variance. La part de variabilité expliquée par les pratiques a été estimée par le coefficient R^2 .

2. RESULTATS

2.1. CARACTERISATION MICROBIOLOGIQUE DES LAITS

2.1.1. Profil moyen des flores microbiennes des laits de chèvre analysés

Le niveau moyen en FMAR des cent quarante-quatre laits analysés est de 8 511 UFC / ml. La flore majoritaire est représentée par les SCN (3 019 UFC / ml), suivis des microcoques et corynébactéries (550 UFC / ml), des flores acidifiantes mésophiles (540 UFC / ml) et des coliformes (354 UFC / ml). Certaines flores sont ponctuellement présentes à des niveaux très faibles : *pseudomonas spp.* (14 UFC / ml) moisissures (7 UFC / ml) et les SCP (8 UFC / ml). La caractérisation phénotypique des FAM confirme leur appartenance au groupe des bactéries lactiques.

2.1.2. Mise en classe des laits

L'analyse typologique révèle quatre classes de lait. Cette mise en classe explique 40 % de l'inertie totale. Les caractéristiques qui discriminent ces classes sont les suivantes :

- **Classe F-** : contient des laits qui ont des niveaux en flores cinq à dix fois plus faibles que les niveaux moyens notamment pour la FMAR, les FAM, les entérocoques, les SCN et les coliformes. Cette classe contient soixante-et-un laits répartis dans trente-deux exploitations.

- **Classe SCP+** : identique au profil moyen des flores exceptés pour les SCP qui sont dix fois plus élevés que la moyenne. Cette classe contient quarante et un laits répartis dans vingt-cinq exploitations.

- **Classe F+ SCP-** : les laits de cette classe ont des niveaux significativement plus faibles en SCP que la moyenne (2,5 fois moins de SCP) et des niveaux significativement plus élevés en flores (quatre à dix fois plus que la moyenne) notamment pour les FAM, les coliformes, les *Leuconostocs spp.*, les SCN, les entérocoques. Cette classe, par son profil s'oppose au profil des flores de la classe F-. Elle contient trente-huit laits répartis dans vingt et une exploitations.

- **Classe F++** : ce sont des laits cent à cinq mille fois plus chargés en flores, en particulier pour les SCN, les entérocoques, les microcoques et corynébactéries et les FAM. Cette classe ne contient que quatre laits répartis dans trois exploitations différentes. On peut supposer que cette classe est issue de laits accidentellement « sur contaminés ». Les autres laits issus des exploitations de cette classe se retrouvent en classe F+SCP-.

Afin d'associer classe de lait et pratiques d'élevage, la classe de lait choisie au sein de chacun des élevages est la classe majoritaire sur les trois prélèvements effectués (au moins deux mêmes classes pour trois prélèvements). Deux exploitations seulement sont exclues du traitement (pas de classe majoritaire). La classe F++ n'est alors plus représentée.

2.1.3. Aptitude des classes de lait à expliquer les niveaux de flores dénombrées

Le tableau 1 résume les principales caractéristiques de l'analyse de variance décrite en 1.2.2. La variabilité des niveaux de flores pour la FMAR, la FAM, entérocoques et SCP est expliquée à 50 % par les classes de lait pour une région considérée. Pour ces flores, on peut considérer que le pouvoir discriminant des classes de lait est correct. Globalement, la région influe peu sur la variabilité des niveaux de flores exceptées pour les coliformes où environ un tiers du modèle est expliqué par la zone géographique. Pour les flores MCY, *leuconostocs spp*, levures, SCN, les classes de lait expliquent seulement un tiers de leur variabilité. Quant aux *Pseudomonas spp*, les classes de lait n'expliquent en rien la variabilité des niveaux de ces flores. On constate une variabilité importante à l'intérieur d'un même élevage, à classe et région fixées, pour les flores dénombrées suivantes : levures, coliformes, MCY, SCN et SCP (plus de 45 % de la variance totale). Pour les lactobacilles du groupe II, la majorité de la variance est expliquée par une variabilité entre élevage (à classe de laits et régions fixées).

Tableau 1 : Représentation des principales caractéristiques de l'analyse de variance (le R² « classe de flores », est ajusté de l'effet région, les variances (V) des facteurs aléatoires sont ajustées de la région et de la classe des laits)

Flores dénombrées	V Totale	Facteurs à effet fixe (%)			Facteurs aléatoires	
		R ² région	R ² classe flores	R ² total	V entre élevage	V intra élevage
FMAR	0,52	20,30	43,40	63,70	0,04	0,16
FAM	1,04	7,00	52,06	59,06	0,20	0,26
Entérocoques	1,10	14,80	47,70	62,50	0,17	0,27
Lactobacilles	0,91	1,7	17,4	19,1	0,62	0,21
Coliformes	1,20	31,50	21,30	52,80	0,03	0,55
SCN	0,60	24,60	32,10	56,70	0,00	0,29
SCP	0,94	4,40	47,60	52,00	0,08	0,39
MCY	0,60	10,70	29,70	40,40	0,02	0,34
Leuconostocs	0,86	3,20	34,10	37,30	0,14	0,44
Pseudomonas	1,06	8,30	2,20	10,50	0,49	0,51
Levures	0,97	0,60	31,30	31,90	0,10	0,59

2. 2. MISE EN EVIDENCE D'ASSOCIATION ENTRE CLASSES DE LAITS ET CARACTERISTIQUES / PRATIQUES D'ELEVAGE

2.2.1. Typologie des caractéristiques et pratiques d'élevage

L'analyse typologique révèle quatre groupes de caractéristiques et pratiques d'élevage expliquant un tiers de l'inertie totale. Les caractéristiques qui discriminent ces groupes sont les suivantes :

- le groupe « **GC (grand cheptel) 0 pât, hyg +** » représenté par dix exploitations issues majoritairement de la zone Rocamadour (huit exploitations). Ce sont des exploitations de grandes tailles (plus de 132 chèvres) plutôt en zéro pâturage (sept exploitations) avec une conception MAT (Machine à Traire) en conséquence : lactoduc de plus de 12 m, nettoyage automatique, ainsi qu'un nettoyage MAT après chaque traite de type alternance alcalin / acide journalier (sept exploitations) et un nettoyage de la MAT bi journalier (huit exploitations). Les quais de traite sont nettoyés journalièrement.

- le groupe « **hyg +** » : représenté par dix-neuf exploitations dont les deux tiers sont issues de la zone Rocamadour. Ce sont des exploitations de taille moyenne avec une MAT dont la longueur du lactoduc est inférieure à 12 m, plutôt en pâturage (quatorze exploitations) et qui ont les mêmes pratiques de nettoyage que le groupe « **GC 0 pât, hyg +** ».

- le groupe « **Mat. Hyg +** » : six exploitations issues de la zone Pélardon qui ont les tuyaux et manchons en caoutchouc de la MAT neuf (âge maximum de trois mois au moment du prélèvement).

- le groupe « **PC, Pât, hyg -** » : onze exploitations dont six issues de la zone Franche Comté. Ces exploitations sont de petites tailles (moins de 132 chèvres), sont en pâturage, ne pratiquent pas pour la majorité (dix sur onze) une alternance alcalin, acide journalière. Plus de la moitié (six) rince uniquement la MAT le soir et nettoie la MAT après la traite du matin.

2.2.2 Associations entre classes de lait et groupes de pratiques

Le croisement des classes de lait et des groupes de pratiques met en évidence des liaisons significatives ($p < 0,001$) entre la classe de flores F+ SCP- et le groupe « PC, pât, hyg- ». En effet, huit exploitations sur les onze appartenant à cette classe de pratique se retrouvent en classe de flores F+ (tableau 2).

Pour les autres groupes de pratiques, aucune classe de flores ne leur est associée préférentiellement. Cependant, quatre exploitations seulement sur les trente-cinq appartenant à ces groupes sont associées à la classe de flores F+. De plus, lorsque l'on regroupe les deux groupes de pratiques GC, 0 pât, hyg + et hyg + (somme HYG + dans le tableau 2) caractérisés par un nettoyage de la MAT plus intensif, plus de 80 % des individus de ces deux groupes sont répartis dans les classes de lait F- et SCP+.

Tableau 2 : Répartition des élevages en fonction des groupes des pratiques et des classes de lait

PRATIQUES		Classe de lait			Ensemble
		F-	SCP+	F+SCP-	
HYG +	GC, Hyg+, 0 pâturage	5	4	1	10
	Hyg+	10	6	3	19
	somme HYG +	15	10	4	29
	Mat. Hyg+	4	2	0	6
HYG -	PC, Hyg -	3	0	8	11
	ensemble	22	12	12	46

Les liens entre groupe de caractéristiques / pratiques et classe de lait étant établis, l'analyse a été poursuivie afin de mettre en évidence les facteurs d'élevage à l'intérieur des groupes de pratiques qui peuvent être à l'origine de la variabilité des flores dénombrées.

2.3. LIENS ENTRE LES NIVEAUX DE FLORES DENOMBREES ET LES CARACTERISTIQUES / PRATIQUES D'ELEVAGE

La part de variabilité des flores dénombrées expliquée par les facteurs d'élevage représente un tiers de la variabilité totale, ce qui est relativement faible. Cependant, l'analyse de variance des principaux facteurs à l'origine de la variabilité des flores des laits met en évidence un effet significatif des pratiques d'hygiène autour de la traite (tableau 3). Par contre, les données structurelles (taille du cheptel, système alimentaire, conception de la MAT) n'expliquent pas la variabilité des flores dénombrées.

D'après nos résultats, le nettoyage journalier de la MAT ainsi qu'un nettoyage non journalier des quais favoriseraient significativement le niveau de coliformes et de SCN (multipliés respectivement en moyenne par douze et six suite à l'application de ces pratiques). Ces pratiques constituent donc plutôt un risque. Par contre, l'alternance alcalin acide non journalière (réalisée une fois par semaine en moyenne) comparée à une fréquence journalière favoriserait la FAM (flore d'intérêt technologique) ainsi que les entérocoques (facteur multiplicatif respectif de 6,3 et 5,5). Il est à noter que le niveau de SCP n'est pas influencé par les pratiques d'hygiène autour de la traite.

Tableau 3 : Moyenne des flores dénombrées en fonction des différentes modalités des pratiques d'élevage

FLORES moy log UFC/ml	Fréq alcalin/acide		Fréq nett MAT		Fréq net quais	
	J (n=25)	NJ (n=21)	J (n=10)	BIJ (n=36)	1fj (n=38)	<1fj (n=8)
FAM	3,76	4,1	4,36*	3,79*	3,82	4,35
FAM	2,34*	3,14*	3,16	2,58	2,62	3,12
Entérocoques	1,54*	2,28*	2,49	1,71	1,78	2,55
MCY	2,56*	2,94*	3,15*	2,61*	2,65	3,1
SCN	3,27	3,69	4,07**	3,29**	3,33*	4,07*
SCP	1,07	0,72	0,66	0,18	1,01	0,42
Coliformes	2,31	2,78	3,41**	2,28**	2,34*	3,40*

(* : différence significative entre les moyennes (P<0,01) ** différence hautement significative (P<0,001), J : journalier, BIJ : bi journalier, NJ : non journalier, 1fj : une fois par jour)

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les laits crus de chèvre issus d'un mélange d'une traite sont très peu chargés en microorganismes. En effet, 40 % des laits analysés ont des niveaux inférieurs à 5 000 UFC / ml.

Ce niveau moyen de flores est comparable à ce qui est observé pour le lait de vache (Michel *et al.*, 2005).

Les laits analysés sont, en moyenne, dix à cent fois moins chargés en flores que les laits refroidis de mélange de deux traites (résultats autocontrôles 2005 des exploitations suivies). Bien que les laits analysés soient peu chargés, de nombreux groupes microbiens sont présents quelles que soient les caractéristiques et pratiques d'élevage des exploitations suivies. Les flores majoritaires sont constituées essentiellement de flores commensales de la peau des trayons (SCN, microcoques et corynébactéries) et des bactéries lactiques, flores présentant un intérêt technologique en transformation fromagère. Malgré une variabilité importante des niveaux de flores intra et inter élevages, il est possible de réaliser une typologie des laits qui explique en moyenne 50 % de la variance totale des flores dénombrées. Ainsi, trois classes majoritaires ont été mises en évidence. Une des classes présente un intérêt technologique et sanitaire : elle contient des laits dont le niveau des flores d'intérêts technologiques est particulièrement plus élevé tout en contenant moins de SCP. Cette classe est associée à des exploitations de petites tailles et ayant des pratiques d'hygiène autour de la traite modérée. L'analyse des facteurs d'élevage expliquant la variabilité des flores confirme cette tendance. Ainsi, une alternance journalière des produits alcalin / acide tendrait à appauvrir les laits en flores, et en particulier les flores d'intérêts (bactéries lactiques, microcoques et corynébactéries). Ce constat va dans le sens des observations menées dans les exploitations bovines (Chatelin et Richard, 1983, Michel *et al.*, 2005). Par contre, la fréquence de nettoyage de la MAT et du quai de traite favorise les flores considérées comme étant plutôt défavorables (coliformes) ou commensales (SCN). Ces premiers résultats montrent qu'il est possible d'identifier, à terme, des leviers en élevage pour une meilleure qualité technologique et sanitaire des laits. Ils méritent cependant d'être confirmés sur une autre saison et sur une autre année. D'autre part, pour aller plus loin dans l'analyse, il est nécessaire de préciser les pratiques en mettant en place des descripteurs permettant de les qualifier. Il serait également nécessaire de caractériser plus précisément ces flores (identification par tests phénotypiques et génotypiques, caractérisation des aptitudes technologiques). Ces différents points feront l'objet de travaux futurs.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec les logiciels SAS (9.1) et SPAD (5.5).

Ce programme a été mené en partenariat avec les syndicats des AOC Rocamadour et Pélardon, le GIE Franche Comté. Il bénéficie d'un soutien financier de l'association GALA. Les auteurs remercient Pierre Parguel (Institut de l'Elevage) pour sa contribution à l'étude.

Buchin S., Beuvier E. 2000. 7^{mes} Rencontres Recherches Ruminants, 361-363

Chatelin Y.M., Richard, J., 1983. Lait, 63, 87-101

Demarigny Y., Beuvier E., Buchin S., Pochet S., Grappin R., 1997. Lait, 77, 151-167

Michel V., Hauwuy A., Montel MC., Coulon JB., Chamba JF., 2005. Symposium International « Territoires et Enjeux du développement régional », Lyon, 9-11 Mars 2005

Verdier-Metz I., Martin B., Hulin S., Ferlay A., Pradel P., Coulon J-B., 2002. CIDIL, 26th IDF World dairy Congress Congrilaït, Paris