

Teneurs maximales autorisées en résidus de pesticides dans les aliments des animaux

Substances et produits	Aliments pour animaux	Teneur maximale (mg/kg d'aliment ramené à 12 % d'humidité)
Isolément ou ensemble, exprimé en dieldrine	Tous les aliments	0,01
	à l'exception des : - graisses	0,2
Camphéchloré (toxaphène)	Tous les aliments	0,1
Chlordane (somme des isomères cis et trans et de l'oxychlordane exprimés en chlordane)	Tous les aliments	0,02
	à l'exception des : - graisses	0,06
DDT (somme des isomères du DDT du TDE et DDC exprimés en DDT)	Tous les aliments	0,05
	à l'exception des : - graisses	0,5
Endosulfan (somme des isomères alpha et beta et du sulfate d'endosulfan exprimés en endosulfan)	Tous les aliments	0,1
	à l'exception des : - maïs	0,2
	- graines oléagineuses	0,5
Endrine (somme de l'endrine et de la delta cétoendrine exprimés en endrine)	Tous les aliments	0,01
	à l'exception des : - graisses	0,05
Heptachlore (somme de l'heptachlore et de l'heptachlore-époxyde exprimés en heptachlore)	Tous les aliments	0,01
	à l'exception des : - graisses	0,2
HCB	Tous les aliments	0,01
	à l'exception des : - graisses	0,2
HCH α	Tous les aliments	0,02
	à l'exception des : - graisses	0,2
HCH β	Aliments composés pour le bétail laitier	0,005
	Aliments simples à l'exception de : - graisses	0,01 0,1
HCH γ ou lindane	Tous les aliments	0,2
	à l'exception des : - graisses	2,0

• Remarque importante

Il faut être également très attentif aux sources de contamination possibles après la livraison du lait, notamment au cours de la transformation et du stockage des produits fabriqués (attention par exemple aux peintures fongicides, dont la matière active présente toujours une certaine volatilité).

• Aspects réglementaires

En France, les dispositions nationales en matière de résidus relèvent à la fois du Code de Santé Publique (par la loi du 29/05/1975 sur la pharmacie vétérinaire) et de la loi du 01/08/1905.

Trois arrêtés restreignent l'emploi des pesticides organochlorés :

- L'arrêté du 15.10.1969 : interdit l'utilisation pour la désinsectisation des locaux d'élevage et de tout local servant au stockage ou à la préparation d'aliments destinés au bétail du DDT, de l'aldrine

(HHDN), de la dieldrine (HEOD) et de l'hexachlorohexane (HCH).

- L'arrêté du 02.10.1972 : interdit l'utilisation en agriculture de l'aldrine (HHDN), de la dieldrine (HEOD), de l'heptachlore et du chlordane.

- L'arrêté du 05.04.1982 : interdit le traitement au lindane des vaches en lactation et en gestation.

Dès 1969, des mesures de lutte contre la mauvaise utilisation des pesticides furent prises par les Services de la Protection des Végétaux, de la Répression des Fraudes, et les Services Vétérinaires.

Les produits de traitement après récolte ne sont autorisés qu'après examen par la Commission des Toxiques et éventuellement par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France.

Teneurs maximales de résidus de pesticides :

Au niveau national, les teneurs maximales de résidus de pesticides dans le lait et les produits laitiers destinés à la consommation

humaine sont énoncées dans l'arrêté du 5 décembre 1994.

Cet arrêté résulte de la transcription partielle de la directive européenne N° 86/363/C.E.E. du 24 juillet 1986 modifiée par les directives N° 93/57/C.E.E. du 29 juin 1993 et N° 94/29/C.E. du 23 juin 1994. Tout dépassement de ces seuils doit entraîner le retrait des produits concernés de la consommation humaine.

Les teneurs maximales en résidus de pesticides dans le lait et les produits laitiers.

Ces seuils, au niveau européen, concernent :

- le lait et la crème de lait, concentrés ou non, additionnés ou non de sucre ou d'autres édulcorants,
- le beurre et les autres matières grasses de lait,
- les fromages et caillebottes.

Spécificité concernant l'expression des résultats analytiques lorsque les teneurs maximales définies ne corres-

Teneurs maximales en résidus de pesticides dans le lait et les produits laitiers

Critères transcrits dans le droit national	Teneurs maximales en mg/kg (ppm)
HCB	0,01
Heptachlore (somme de l'heptachlore et de l'heptachlore époxyde exprimés en heptachlore)	0,004
Aldrine-Dieldrine (isolément ou ensemble exprimés en dieldrine)	0,006
HCH α	0,004
HCH β	0,003
HCH γ	0,008
Chlordane (somme des isomères cis et trans et de l'oxychlordane exprimés en chlordane)	0,002
Endrine	0,0008
DDT (somme des isomères de p, p'-DDT, o, p-DDT, p,p'-TDE, p, p'-DDE, exprimés en DDT)	0,04
Chlorpyrifos	0,01 *
Chlorpyrifos-méthyl	0,01 *
Cyperméthrine (somme des isomères)	0,02
Fenvalérate (somme des isomères)	0,05
Permethrine (somme des isomères)	0,05
Acéprazine	0,02 *
Bénoxy + Carben-dazime + Thiphonate-méthyl (somme exprimée en carbendazime)	0,1 *
Chlorfénionil	0,01 *
Glyphosate	0,1 *
Mancozèbe + Manèbe + Métirame + Proninèbe + Zinèbe (somme exprimée en CS2)	0,05 *
Métathiofos	0,01 *
Iproprone + Procymidone + Vinclozoline (somme de tous les composés et de tous les produits métabolites contenant la fraction 3,5-dichloroaniline exprimés en 3,5 dichloroaniline)	0,05 *
Imazalil	0,02 *

Critères définis au niveau européen entrant en vigueur le 30/06/1995

	Teneurs maximales en mg/kg (ppm)
(non encore transcrits au niveau national)	
Cyfluthrine (somme des isomères)	0,02 *
Lambda-cyhalothrine (somme des isomères)	0,05
Fénarimol	0,02 *
Métalaxyl	0,05 *
Bénalaxyl	0,05 *
Daminozide (somme du diaminozide et de la 1,1-diméthylhydrazine exprimés en damidizone)	0,05 *
Ethéphon	0,05 *
Propiconazole	0,01 *
Carbofuran (somme du carbofuran et du 3-hydroxy-carbofuran exprimé en carbofuran)	0,1 *
Carbosulfan	0,05 *
Benfuracarbe	0,05 *
Furathiocarbe	0,05 *
* seuil de détection analytique	

pondent pas au seuil de détection analytique.

Pour exprimer la teneur en résidus pour le lait de vache cru et le lait de vache entier, il convient de baser le calcul sur une teneur en matière grasse égale à 4 % du poids.

Pour le lait cru et le lait entier d'une autre origine animale, les résultats sont exprimés sur la base de matière grasse.

Pour les autres laits, pour la crème de lait, pour le beurre et les autres matières grasses, pour les fromages et les caillottes :

- si la teneur en matière grasse est inférieure à 2 % du poids, la teneur maximale est égale à la moitié de celle fixée pour le lait cru et le lait entier ;

- si la teneur en matière grasse est égale ou supérieure à 2 % du poids, la teneur maximale est exprimée en mg/kg de matière grasse. Dans ce cas, la teneur maximale est égale à 25 fois celle pour le lait cru et le lait entier.

Ces seuils sont fixés à partir des DJA (Dose Journalière Admissible), des LMR (Limites Maximales de Résidus) et d'un régime alimentaire «type».

La DJA qui représente la dose qu'un individu peut ingérer quotidiennement sans risque pour sa santé, reflète la toxicité d'un pesticide. Elle est calculée en appliquant un facteur de sécurité supérieur ou égal à 100 à la dose sans effet déterminée expérimentalement sur des animaux de laboratoire (rat, souris, lapin...). Son unité est exprimée en fonction du poids corporel de l'individu : mg/kg de poids corporel.

La LMR correspond à la quantité maximale de résidus pouvant être retrouvée dans les produits après des traitements anti-parasitaires appliqués selon les bonnes pratiques agricoles. Pour chaque pesticide étudié, un Apport Journalier Maximal Théorique (AJMT) est ensuite calculé à partir d'un régime alimentaire «moyen» et des LMR fixées pour chacun des aliments consommés.

La fixation des teneurs maximales admises résulte de la comparaison entre l'AJMT et la LMR.

- Si LMR < AJMT : le seuil retenu est égal à la LMR.

- Si LMR > AJMT : des études plus fines sont menées.

L'arrêté du 16 mars 1989 fixe des teneurs pour les aliments des animaux (cf. tableau précédent).

Organismes

Le Service de la Protection des Végétaux : chargé de l'expérimentation physique, chimique et biologique des produits proposés comme pesticides.

La Commission d'Étude des Emplois des Toxiques en Agriculture : chargée de formuler toutes les recommandations de prudence en ce qui concerne l'emploi, les doses maximales d'utilisation et les dates d'application, de manière à éviter tout risque, tant au stade de l'utilisation qu'au niveau du consommateur.

La Commission Nationale de Pharmacopée.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

• ACTA, 1994

Index phytosanitaire. 30^e édition.

• ACTA, 1995

Résidus de pesticides et process alimentaires.

• ALAIS Ch., 1984

Science du lait. Ed. SEPAIC Paris, 48^e édition.

• CHATELIN, 1973

La qualité du lait. I.T.E.B., F.N.P.L., F.N.C.L., F.N.I.L.

• Codex Alimentarius, 1976

Limites maximales internationales recommandées pour les résidus de pesticides. FAO/ OMS.

• Conseil Européen, 1980

Directive du conseil N° 86/363/CC.E.E. du 24 juillet 1986 concernant la fixation de teneurs maximales pour

les résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale. JOCEE N° L 221, p. 43-47.

• **Conseil Européen, 1993**

Directive N° 93/57/C.E.E. du Conseil modifiant les annexes de la directive 86/362/C.E.E. JOCEE N° L 211, p. 1-5.

• **Conseil Européen, 1994**

Directive N° 94/29/C.E. du conseil modifiant les annexes des directives 86/362/C.E.E. JOCEE N° L 189, p. 67-69.

• **DEHOVE, 1984**

Réglementation des produits et services. Commerce Éditions.

• **DOUSSIN J.P., 1994**

Les procédures internationales d'évaluation des risques en matière de résidus de pesticides. Option qualité. N° 121, sept. 1994, p. 15-19.

• **DELATOUR P. LONGIN C. MAGE C. PARGUEL P. CHAILLET B. CASSARD S., 1990 - Institut de l'Élevage**

Étude de la localisation des résidus du Levamisole et du Fenbendazole dans le lait et les produits finis et de leur fixation aux protéines lactiques

• **F.I.L., 1979**

Chemical residues in milk and milk products. Bull. FIL, Doc. 113.

• **F.I.L., 1990**

Norme internationale provisoire F.I.L. 144 : 1990. Détermination des teneurs en composés organophosphorés dans le lait et les produits laitiers.

• **F.I.L., 1992**

Norme Internationale définitive F.I.L. 75 C : 1991. Méthodes recommandées pour la détermination des composés organochlorés (pesticides) dans le lait et les produits laitiers.

• **GOURSAUD J., 1972**

Les résidus des pesticides en alimentation du bétail et leurs conséquences sur la pollution du lait. Technicien du lait (mars).

• **GOURSAUD J. 1976**

Excrétion de l'hexachlorobenzène dans le lait de vache. Technicien du lait (déc.).

• **HASCOET H. et KERHOAS L., 1972**

Étude expérimentale de la contamination du lait par les insecticides organochlorés présents dans la nourriture de l'animal. C.R. Acad. Agric. Fr., 12, 9981005.

• **Institut de l'Élevage, E.N.V. de Lyon, I.T.G., E.D.E. 70, 1990**

Étude de la localisation des résidus de levamisole et du fenbendazole dans le lait et les produits finis et de leur fixation aux protéines lactiques - Compte rendu vert n°90071 - Institut de l'Élevage.

• **LUQUET F.M., 1973**

Contribution à la connaissance de la pollution. Les résidus de pesticides organochlorés dans les laits français. Laits : vache brebis, chèvre, femme. Thèse Université de Caen.

• **MAGE C., 1993**

La gestion des traitements antiparasitaires externes chez les bovins et les ovins. Bulletin G.T.V. 93, 5B, 469, 133-144.

• **MAGE C., 1994**

Le point sur le parasitisme en troupeau laitier. Institut de l'Élevage

• **MAHIEU H., LUQUET F.M., MOUILLET L., 1977**

A propos de l'évolution de la contamination du lait par des résidus de pesticides organochlorés. I.T.E.B. (mai).

• **MAHIEU H., 1981**

La composition du lait. Éléments pratiques sur les facteurs de variation. I.T.E.B.

• **MAHIEU H., 1983**

Résidus de produits de traitements dans le lait (1974-1982). La situation de 1974 à 1982 à partir du réseau de correspondance de l'I.T.E.B. I.T.E.B.

• **MILHAUD G., BECHADE A. et PINAULT L., 1971**

Contamination du lait par des résidus de ronnel et de malathion utilisés pour la désinsectisation des étables. Rec. Méd. Vét., tome CXLVII, n° 10 (oct.).

• **Ministère de l'Agriculture, 1983**

Bilan des plans de surveillance des produits laitiers. BIMA n° 1044 (5.12 au 11.12).

• **Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 1994**

Arrêté du 5 décembre 1994 relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par les résidus de pesticides. JORF du 23 décembre 1994 (p. 18280-18282).

• **Ministère de l'Économie, des finances et du budget, 1989**

Arrêté du 16 mars 1989 fixant les teneurs maximales pour les substances et produits indésirables dans l'alimentation des animaux - JORF du 13 avril 1989 (p. 4672-4676).

• **PITTOIS M. et BIBARD G., 1971 a**

Étude des résidus de la matière grasse du lait provenant de vaches hébergées dans des étables traitées avec une préparation à base de chlorfenvinphos. Rec. Méd. Vét. (Quin).

• **PITTOIS M. et BIBARD G., 1971**

Étude sur les résidus de crotoxyphos détectables dans le lait de vaches traitées par poudrage dans des conditions expérimentales. Rec. Méd. Vét., tome CXLVII (mai).

• **PITTOIS M. et BOSTO P., 1972**

Étude sur les résidus décelables dans le lait des vaches pâturant sur des prairies traitées avec le trophenmorph. Rec. Méd. Vét., tome CXLVII (mars).

• **PLACE M. et DUTREMÉE C., 1971**

Les résidus de pesticides dans le lait, tome 1. Projet fin études I.S.A., Lille.

• **RICHOUBAC L., 1981**

Critères et résidus. Problème des pesticides. R.T.V.A. 166 (mars), 3234.

• **VAN RENTERGHEM R., 1976**

Quelques aspects de l'hygiène chimique du lait et des produits laitiers. Revue de l'Agriculture n° 2 (mars-avril).

• **VEISSEYRE R., 1975**

Technologie du lait. Maison Rustique, Paris, 3e édition.

• **VENANT A. et RICHOUBAC L. 1981**

Contamination des produits laitiers français par les résidus de composés organochlorés. 1 Niveaux résiduels. Mise au point 1980. Le Lait, 61, 619-633.

• **VENANT A. et RICHOUBAC L. 1984**

Emploi actuel des pesticides organochlorés en France. Toxicité Résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale. Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 68 (janv.), 3159.

• **VENANT A. et RICHOUBAC L., 1984 a**

Les résidus d'insecticides dans les denrées d'origine animale. Mise au point 1983. Rev. Fr. Santé Publ., 25, 418.

□ Présence de résidus de PCB (Polychlorobiphényles)

□ Définition

□ Détection

□ Conséquences

□ Causes et prévention

□ Aspects réglementaires

□ Références documentaires

Les PCB sont des organochlorés à usage industriel dont l'emploi incontrôlé pendant des décennies a favorisé la dispersion et l'accumulation dans l'environnement.

Malgré la restriction de leur emploi depuis les années 1970, les PCB posent encore un problème d'hygiène publique lié à la contamination de la chaîne alimentaire par leurs résidus.

• Définition

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des produits obtenus par chloration plus ou moins poussée du biphényle ; il s'agit en fait de mélanges de composants à 1 à 10 atomes Cl, dont la teneur moyenne en chlore (20 à 70 %) détermine les caractéristiques physiques (les PCB utilisés industriellement peuvent être des mélanges de polychlorobiphényles et polychloroterphényles).

Ce sont des produits dont la **grande stabilité** (inertie chimique insolubilité dans l'eau, faible volatilité, résistance à la décomposition thermique et à l'inflammation) et les **propriétés thermiques et diélectriques** justifient leurs principales utilisations : fluides de refroidissement dans les appareillages électriques de grande puissance (transformateurs, condensateurs), fluides caloporteurs pour les échanges thermiques à haute température, fluides de transmission dans les systèmes hydrauliques à haute pression.

Mais à côté de ces emplois en système clos (relativement contrôlables quant au risque de dispersion dans l'environnement), les PCB ont également été utilisés comme **additifs lubrifiants haute pression** (dans les huiles de lubrification et de coupe) ou

plastifiants (dans les peintures, vernis, laques, encres, adhésifs, mastics, caoutchoucs et matières plastiques), favorisant ainsi leur **dispersion et leur accumulation dans l'environnement**.

La restriction de leur emploi aux systèmes clos avec contrôle de la récupération et de la destruction des déchets (arrêté du 08-07-1975) devrait à moyen terme limiter très sensiblement leur présence dans l'environnement.

La contamination du lait par les résidus de PCB résulte essentiellement de leur ingestion par la vache dans sa ration alimentaire.

En raison de leur grande stabilité et de leur lipophilie, les résidus de PCB sont partiellement accumulés dans les graisses de l'animal et partiellement excrétés dans la matière grasse du lait.

(Les PCB sont d'autant moins dégradés qu'ils sont plus chlorés ; leur métabolisation conduit à des dérivés hydroxylés, excrétés par l'urine et le lait en fonction de leur solubilité).

Les ratios de contamination par ingestion à faible dose sur longue durée sont comparables à ceux des pesticides organochlorés :

- **Taux d'excrétion (%)** : 21 % (excrétion lait/apport ration).

- **Facteur d'accumulation** : 5 (teneur MG lait/teneur MS ration).

(Ordres de grandeur pour un PCB à 54 % de chlore, d'après VENANT et coll., 1984).

Évolution de la situation française : les résultats des enquêtes menées depuis 1976 font apparaître que **les teneurs en résidus de PCB des laits de grand mélange sont tombés en moyenne au-dessous des LMR (limites maximales de résidus) recommandées**, soit 300 µg/kg MG lait.

Cependant, une grande vigilance doit continuer à s'exercer jusqu'à disparition complète de ces résidus.

• Détection

Les méthodes de détermination (détection et dosage) des résidus de PCB dans le lait (et les produits laitiers) repose essentiellement sur la **chromatographie en phase gazeuse (CPG)** avec détecteur à capture d'électrons.

Mais en présence d'organochlorés de la famille du DDT, leur séparation (lors de la purification de l'extrait sur colonne) exige d'éluer avec deux solvants successifs.

La chromatographie sur couche mince (CCM) est également adaptée ; par ailleurs, la CPG sur colonnes capillaires s'avère parti-

culièrement efficace pour séparer les isomères des PCB.

Pour l'expression des résultats (en mg/kg MG), on peut convenir d'exprimer l'ensemble des résidus de PCB sous forme de biphenyle (après hydrogénation totale) ou sous forme de décachlorobiphenyle (après chloration totale), ou bien retenir les pics majeurs (comparés à l'étalon). (Cf. norme définitive FIL 75C : 1991).

• Conséquences

La présence de résidus de PCB dans le lait (et dans les produits laitiers fabriqués avec ce lait) constitue un **risque pour la santé du consommateur en raison de la toxicité de ces résidus**.

Le mécanisme de leur action toxique est mal connu et dépend probablement de la teneur en chlore de ces résidus (qui influe sur leur métabolisme).

La toxicité aiguë des PCB est faible, mais les effets sont cumulatifs.

Il n'a pas été encore fixé, à notre connaissance, de dose journalière acceptable (DJA) pour les résidus de PCB.

En l'absence de LMR (limite maximale de résidus) autorisée officiellement, certains cahiers des charges comportent une teneur maximale qui peut constituer une **contrainte pour la commercialisation des produits laitiers**.

Les conséquences pour le producteur se situent essentiellement au niveau du **risque d'intoxication des animaux** par l'ingestion de doses excessives de résidus de PCB (risque d'affections hépatiques, d'effets sur la fécondité).

• Causes et prévention

La cause principale de contamination du lait par des résidus de PCB est l'ingestion d'aliments contaminés par la vache.

Sur base d'une LMR (limite maximale de résidus) de 30 µg/kg MG dans le lait et d'un taux d'excrétion de 21 %, on peut estimer

(pour une vache produisant 500 g de matière grasse par jour) la **limite maximale de contamination de la ration journalière à 70 µg/j**.

Or, si l'enquête réalisée par l'I.T.E.B. (LUQUET et coll., 1979) en 1977 a révélé une **contamination généralement modérée des aliments** :

- moins de 10 µg/kg dans l'herbe,
- 10 à 100 µg/kg dans le foin,
- 10 à 200 µg/kg dans les aliments concentrés,

(déjà suffisante dans certains cas pour atteindre ou dépasser la limite maximale de contamination de la ration journalière), elle a également révélé des **niveaux de contamination quelquefois très élevés**, atteignant :

- 100 à 500 µg/kg dans des bottes de foin,

- jusqu'à 1 000 µg/kg et plus dans certains prélèvements d'herbe, (suffisants pour expliquer des teneurs élevées dans le lait).

Les revêtements intérieurs des silos ont été signalés comme une source possible de contamination (FIL, 1979), pouvant entraîner des contaminations atteignant 7.10⁶ µg/kg dans l'ensilage au contact de la paroi.

Mais l'enquête I.T.E.B. réalisée en 1977-1978 dans un certain nombre d'exploitations a mis en évidence d'autres sources de contamination par les résidus de PCB (malgré l'interdiction des utilisations en système ouvert depuis 1975), notamment :

- les huiles et graisses de récupération,
- les ficelles de liage,
- les sacs d'emballage en matière plastique.

Si les huiles et graisses vierges de marque présentent en général une teneur en résidus inférieure à 100 µg/kg (avec certaines exceptions), **les huiles et graisses de récupération** souvent mélangées en plus ou moins grande proportion aux huiles et graisses vierges pour l'entretien des moteurs, machi-

nes, barres de coupe, etc... sont généralement chargées en PCB, avec des teneurs pouvant atteindre 10⁴ et 10⁵ µg/kg. On imagine qu'elles puissent être à l'origine de contaminations locales importantes en cas de négligences et notamment de rejets sur le sol (les bords de parcelles sont quelquefois souillés par des huiles de vidange).

Les ficelles en sisal utilisées pour le liage des bottes de foin étaient souvent traitées et pouvaient contenir des doses de PCB s'échelonnant entre 1 000 et 50.10⁶ µg/kg.

Il faut noter que ces teneurs élevées pouvaient résulter également de la pratique de l'ensilage (huilage des ficelles pour faciliter leur passage dans la faucheuse-lieuse), souvent réalisé avec des huiles de récupération.

Or, il a été constaté une migration importante de résidus de PCB de la ficelle dans la botte de foin très marquée à la périphérie et pouvant entraîner des teneurs de 100 à 500 µg/kg de foin au cœur des bottes.

Les sacs d'emballage en matière plastique (sacs d'engrais par exemple) peuvent contenir des quantités importantes de PCB (jusqu'à 50 000 µg/m² et plus), et leur récupération constitue un risque de contamination. Il en est de même des sacs usagés de jute (réparés avec des colles chargées en PCB).

Enfin, il ne faut pas perdre de vue que la destruction par **incinération de débris contenant des résidus de PCB** (sacs plastique, pneus usagés) entraîne une volatilisation de ceux-ci, contribuant à leur dispersion à proximité des lieux d'incinération (parcelles, locaux).

Le lait après la traite peut subir également des contaminations (généralement plus limitées) par des résidus de PCB :

- volatilisation des PCB éventuellement contenus dans l'huile utilisée pour la pompe à vide de

l'installation de traite (si l'échappement est à proximité du bac ouvert) ;

- utilisation des seaux en plastique non alimentaire pour le transport du lait.

Il ne faut pas oublier enfin les **possibilités de contamination du lait ou des produits laitiers en aval**, notamment par les **matériaux de conditionnement des produits** (films, encres...) ; ces contaminations sont cependant très limitées généralement.

• Aspect réglementaires

L'arrêté du 8 juillet 1975 limite l'emploi des PCB à certaines utilisations industrielles en système clos avec obligation de récupération et traitement des déchets.

Il interdit leur emploi dans les systèmes clos caloporteurs ou hydrauliques dans les installations destinées au traitement des denrées pour l'alimentation animale ou humaine.

Il interdit toute autre utilisation (notamment les peintures) et inscrit ces produits au tableau C (section 1) des substances vénéneuses.

Aucune LMR (limite maximale de résidus) n'est fixée dans le lait ou les produits laitiers.

Notons cependant que des LMR provisoires ont été fixées dans certains pays : USA (1 500 µg/kg MG), Japon (300 µg/kg MG).

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

• **F.I.L., 1979.**

Chemical residues in milk and milk products. Bull. FIL, Doc. 113.

• **F.I.L., 1991.**

Norme internationale définitive FIL 75C : 1991 Détermination des pesticides organochlorés dans le lait et les produits laitiers.

• **LUQUET F.M., MAHIEU H., MOUILLET L. et BOUDIER J.F., 1979.**

A propos de l'origine de la contamination des laits en biphényles polychlorés. Le Lait, 589590 (nov.déc.), 553570.

• **MAHIEU H., 1983.**

Résidus de produits de traitement dans le lait (1974/1982). I.T.E.B.

• **O.M.S., 1978.**

Critères d'hygiène de l'environnement. 2 Polychlorobiphényles et polychloroterphényles. Genève.

• **RICHOUBAC L., CUMONT G., MOLLET M.F. et PANTALEON J., 1972.**

Contamination de l'environnement et de la faune par des polluants industriels : les diphényles polychlorés (P.C.B.). Bull. Acad. Vét., 148 Quin), 293.

• **VENANT A. et RICHOUBAC L., 1984.**

Emploi actuel des pesticides organochlorés en France. Toxicitérésidus dans les denrées alimentaires d'origine animale. Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 68,1 (janv.), 3159.

□ Teneurs excessives en métaux lourds

□ **Teneur excessive en cadmium**

□ **Teneur excessive en plomb**

□ **Teneur excessive en cuivre**

□ **Teneur excessive en fer**

□ **Références documentaires.**

Parmi les oligo-éléments potentiellement présents dans le lait à l'état d'infimes traces ou à très faibles concentrations, certains métaux lourds ont retenu l'attention des hygiénistes et/ou des technologues en raison d'une possible contamination provenant de l'environnement :

Après un bref aperçu concernant l'arsenic, le mercure et l'étain, peu préoccupants en laiterie, nous examinons plus spécialement :

– le cadmium et le plomb, en raison de leur toxicité ;

– le cuivre et le fer, en raison de leurs effets possibles sur la qualité organoleptique des produits de la transformation du lait.

Arsenic Cadmium Mercure Plomb	hautement toxiques (poisons à effet cumulatif)
Etain	élément sans doute essentiel, toxique seulement à doses très élevées, mais contient souvent du plomb comme impureté.
Cuivre	élément essentiel, toxique seulement à doses très élevées, mais catalyseur d'oxydation de la matière grasse.
Fer	élément essentiel, carences plus à craindre que doses excessives toxiques, mais catalyseur d'oxydation de la matière grasse.

L'ARSENIC, beaucoup moins utilisé aujourd'hui comme insecticide ou raticide, ne constitue plus un sujet de préoccupation pour le lait, dans lequel les teneurs sont généralement inférieures à 50 µg/kg (le poisson de mer en contient 500 à 1 000 fois plus).

Certains pays ont fixé une LMR (limite maximale de résidus) de 100 à 500 µg/kg pour le lait, de 40 à 50 µg/kg pour l'eau potable.

LE MERCURE est relativement inoffensif à l'état métallique, mais sa métabolisation en méthylmercure (notamment par fermentation anaérobie, dans les eaux) le rend hautement toxique.

La contamination de l'environnement par le mercure est essentiellement d'origine industrielle; elle ne constitue pas un sujet de préoccupation pour le lait, dans lequel **les teneurs sont pratiquement toujours inférieures à 1 µg/kg** (c'est le poisson qui constitue la principale source d'apport dans l'alimentation humaine).

La DJA (Dose Journalière Acceptable) est évaluée à 0,5-0,7 µg/kg PC (Poids Corporel de l'homme).

En France, il n'a pas été fixé de LMR pour le lait ; pour l'eau potable, la LMR a été fixée à 1 µg/kg (*Décret Français 89-3*).

L'ETAIN est sans doute un élément essentiel, toxique seulement à dose très élevée. **La teneur dans le lait** (depuis la disparition des bidons en fer étamés) **est généralement de l'ordre de 100 à 1 000 µg/Kg.**

Certains pays ont fixé une LMR de 40.000 à 250.000 µg/kg pour le lait, et de 250.000 µg/kg pour l'eau potable.

La principale source de contamination pour les produits laitiers est constituée par les boîtes en étain non verni utilisées pour le conditionnement du lait concentré.

La contamination par l'étain n'est en fait un sujet de préoccupation pour les hygiénistes qu'en raison du plomb qui l'accompagne comme impureté.

• **Teneur excessive en cadmium**

Le cadmium est un élément très toxique : DJA (Dose Journalière Acceptable rapportée au Poids Corporel) évaluée à 1 µg/kg PC

Les teneurs observées dans le lait ne dépasseraient pas 1 µg/kg lait.

Les valeurs nettement plus élevées (jusqu'à 20 µg/kg et plus) fréquemment citées dans la littérature seraient dues à un manque de fiabilité des techniques analytiques utilisées antérieurement (FIL, 1978).

Origine d'une teneur excessive en cadmium

Le cadmium, essentiellement extrait des minerais de zinc, accompagne celui-ci à l'état d'impureté dans les produits commerciaux à base de zinc et connaît par ailleurs un développement de ses usages industriels.

Il est utilisé dans la fabrication des peintures (stabilisant, anti-

rouille), des batteries automobiles, des câbles électriques ...

La contamination de l'atmosphère peut se faire au cours de son extraction, de son utilisation industrielle, du stockage ou de l'incinération des déchets.

La teneur en cadmium de l'air (0,001 µg/m³ en moyenne) et de l'eau (1 µg/kg en moyenne) est sensiblement plus élevée en zone minière ou industrielle.

L'ingestion par la vache d'aliments et d'eau contaminés constitue la principale source de contamination du lait, mais celle-ci reste limitée car la glande mammaire constitue une barrière à l'excrétion dans le lait.

Détection

Les méthodes actuelles de détection reposent sur la Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA) ou la Voltamétrie d'Extraction Anodique (VEA), et permettent de mesurer des teneurs sensiblement inférieures à 1 µg/kg.

Conséquences d'une teneur excessive en cadmium

Le cadmium est très toxique et s'accumule dans l'organisme. L'intoxication par le cadmium peut être à l'origine d'hypertension, de cancer, d'emphysème pulmonaire, de néphropathie.

Il est à noter que le cadmium dans le lait se combine aux protéines et, de ce fait, se retrouve préférentiellement dans les fromages et les laits secs, tandis que le beurre n'en contient pratiquement pas.

Toutefois, les très faibles teneurs observées dans le lait ne constituent pas un risque pour la santé du consommateur.

Il a par ailleurs été noté un effet inhibiteur du cadmium sur les fermentations lactiques, à partir de 40 µg/kg vis-à-vis de *Streptococcus thermophilus* et seulement à partir de doses très élevées vis-à-vis de *Lactobacillus bulgaricus*.

Causes et prévention

Comme déjà indiqué, c'est essentiellement l'ingestion par la vache d'aliments fortement contaminés qui peut provoquer une contamination du lait (le taux d'excrétion dans le lait est très faible).

Il ne faut pas perdre de vue que le stockage d'aliments dans des récipients contenant du cadmium peut être à l'origine de leur contamination.

• Teneur excessive en plomb

Le plomb est un élément très toxique :

DJA (Dose Journalière Acceptable rapportée au Poids Corporel) évaluée à 7 µg/kg PC

Les teneurs observées dans le lait seraient de l'ordre de 2 à 3 µg/kg.

Les valeurs nettement plus élevées (jusqu'à 100 µg/kg et plus) fréquemment citées dans la littérature seraient dues à un manque de fiabilité des techniques analytiques utilisées antérieurement (FIL, 1978).

Origine d'une teneur excessive en plomb

Largement répandu dans la nature, le plomb est très utilisé (tuyauteries, peintures, émaux, alliages).

L'ingestion par la vache d'aliments et d'eau contaminés constitue la principale source de contamination du lait, mais celle-ci reste limitée car la glande mammaire constitue une barrière à l'excrétion dans le lait.

Détection

Les méthodes actuelles de détection reposent sur la spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) ou la Voltamètre d'Extraction Anodique (VEA), et permettent de mesurer des teneurs de l'ordre du µg/kg.

Conséquences d'une teneur excessive en plomb

Le plomb provoque le saturnisme. Les principaux symptômes

de cette maladie sont l'anémie et des troubles gastro-intestinaux, rénaux et neuro-musculaire. Chez l'enfant, le saturnisme atteint le système nerveux central. Le plomb ingéré s'accumule dans le squelette et peut provoquer des intoxications des années plus tard, au moment du catabolisme osseux chez les personnes âgées.

Toutefois, les très faibles teneurs observées dans le lait ne constituent pas normalement un risque pour la santé du consommateur.

La toxicité du plomb s'exerce évidemment également vis-à-vis des animaux qui en consommeraient des doses excessives régulièrement dans leur alimentation.

Causes et prévention

Comme déjà indiqué, c'est essentiellement l'ingestion par la vache d'aliments fortement contaminés qui peut provoquer une contamination du lait (le taux d'excrétion dans le lait est très faible).

Il faut se méfier des peintures contenant du plomb, des aliments conservés ou distribués dans du matériel contenant du plomb.

L'eau peut se trouver anormalement chargée en plomb, notamment par suite de sa stagnation dans des tuyauteries en plomb.

La présence d'autoroutes ou de grands axes de circulation à proximité des cultures et surtout des pâtures contribue à la contamination de la ration de la vache, par suite du dépôt sur le sol et les plantes de résidus de **plomb tétraéthyle** (utilisé comme additif antidétonant dans l'essence). Toutefois, ce phénomène ne concerne que le premier hectomètre depuis le bord de la chaussée.

Enfin, il ne faut pas oublier la contamination importante qui peut résulter des **soudures** (alliage plomb-étain) au contact des denrées (conditionnement de produits laitiers en boîtes métalliques).

• Aspects réglementaires

Arrêté du 28.06.1912 modifié par l'arrêté du 05.07.1956 :

L'emploi d'alliages d'étain et de plomb est autorisé pour la soudure faite à l'extérieur des récipients.

Il est interdit de placer toutes boissons ou denrées servant à l'alimentation au contact direct de récipients, ustensiles et appareils étamés ou soudés avec de l'étain contenant plus de 0,5 % de plomb.

Le Décret Français 89-3 limite à 50 µg/kg la teneur en plomb de l'eau de consommation.

• Teneur excessive en cuivre

Le cuivre est un élément essentiel :

Besoins journaliers (rapportés au Poids Corporel) évalués à :

- 80 µg/kg PC pour le nourrisson
- 40 µg/kg PC pour l'enfant
- 30 µg/kg PC pour l'adulte

Mais un apport excessif de cuivre dans la ration est toxique :

DJA (Dose Journalière Acceptable rapportée au Poids Corporel) inférieure à 500 µg/kg PC.

Une teneur excessive du lait en cuivre favorise l'oxydation de la matière grasse et est à l'origine de défauts organoleptiques.

Toutefois une teneur minimale en cuivre semble nécessaire à certains processus fermentaires (fromages à pâte cuite).

La teneur originelle du lait reste toujours de l'ordre de 20-40 µg/kg. Mais les teneurs observées dans le lait livré peuvent atteindre 500 µg/kg et plus par suite d'une contamination ultérieure du lait au contact de surfaces métalliques contenant du cuivre.

Présence de cuivre dans le lait

Le cuivre originel (apporté par l'alimentation de la vache) est éliminé par voies biliaire et fécale et,

Recommandations internationales concernant la teneur limite en plomb (exprimée en µg/kg) pour certains produits

	OAA/OMS	FIL
Matières grasses et huiles	100	
Caséine acide de qualité alimentaire	2 000	2 000
Caséinates de qualité alimentaire	2 000	5 000
Lactose	2 000	

dans une moindre mesure, par voies urinaire et mammaire.

L'excrétion du cuivre dans le lait est plus forte en début de lactation et est sans doute influencée par le régime alimentaire.

Le cuivre originel du lait se retrouve pour 10 à 35 % lié aux protéines de la membrane du globule gras, le reste étant lié aux autres protéines.

Par contre, le **cuivre de contamination** n'est lié que pour 2 à 3 % aux protéines de la membrane des globules gras.

Détection

La détermination du cuivre dans le lait et les produits laitiers repose essentiellement sur des méthodes spectrophotométriques.

La Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA) et la Voltamétrie d'Extraction Anodique (VEA) permettent de mesurer des teneurs de l'ordre du µg/kg.

• Conséquence d'une teneur excessive en cuivre

Pour le consommateur

Les teneurs observées dans le lait ne constituent normalement pas un risque pour la santé du consommateur.

Par contre, les défauts organoleptiques (goûts oxydés) provoqués par une teneur excessive en cuivre, en particulier dans le beurre, entraînent une insatisfaction du consommateur.

Pour le transformateur

En raison de son action catalytique vis-à-vis de l'oxydation de la matière grasse, **une teneur excessive en cuivre provoque des défauts caractéristiques de cette oxydation** (goûts oxydé, suiffeux, gras, métallique) dans le beurre et plus généralement dans tous les produits laitiers gras (matière grasse de lait anhydre, lait entier en poudre, etc.).

Ces défauts d'oxydation vont se manifester particulièrement au cours de la conservation (beurres stockés à basse température).

C'est ainsi que la contamination du lait par le cuivre conduit à des entraves au niveau de la commercialisation, les cahiers des charges prévoyant de plus en plus souvent une teneur limite en cuivre dans l'huile de beurre notamment.

• Cause de contamination par le cuivre

La contamination du lait par le cuivre résulte essentiellement d'actions corrosives exercées sur des surfaces métalliques en cuivre ou en alliages contenant du cuivre.

Il peut s'agir d'une contamination directe : action corrosive du lait lui-même au contact de telles surfaces métalliques (ustensiles, équipement ou parties de l'équipement).

Il peut s'agir d'une contamination indirecte : action corrosive des solutions de nettoyage ou désinfection ou d'une eau de rinçage ayant transité sur des surfaces contenant du cuivre (canalisations d'eau, robinets...). Il résulte de cette

action corrosive un dépôt de cuivre sur les parois des canalisations et des cuves et ensuite un entraînement de ce dépôt par le lait.

Il va de soi que les mêmes causes de contamination du lait interviennent également au niveau de la collecte, des pré traitements en usine et de la transformation et peuvent contribuer à la contamination en cuivre des produits laitiers.

(C'est d'ailleurs par l'utilisation de cuves en cuivre, qu'une certaine teneur en cuivre est assurée dans les laits des fromageries traditionnelles de pâtes cuites).

Prévention

Pour éviter toute source de contamination par le cuivre au niveau de l'exploitation ou de l'usine, il faut :

- utiliser de préférence l'acier inoxydable pour tous les équipements (éviter les tamis en cuivre, les machines à traire comportant des éléments avec du cuivre, les équipements de réfrigération en cuivre, etc.);

- éliminer les éléments en cuivre ou en alliages à base de cuivre des circuits du lait, de nettoyage et désinfection, d'eau (eau de rinçage, eau de traitement, eau destinée à la chaudière, etc.);

- utiliser des solutions de nettoyage et désinfection ne favorisant pas l'absorption du cuivre sur les parois des canalisations, cuves, etc..

Aspects réglementaires

L'arrêté du 13.01 1976 fixe à 4 % la teneur maximale en cuivre des matériaux et objets en acier inoxydable destinés à être mis au contact des denrées alimentaires.

• Teneur excessive en fer

Le fer est un élément essentiel : besoins journaliers (rapportés au Poids Corporel) évalués à environ :

- 1 500 µg/kg PC pour le nourrisson
- 500 µg/kg PC pour l'enfant et la femme enceinte
- 300 µg/kg PC pour l'adolescent
- 150 µg/kg PC pour l'adulte.

Recommandations internationales concernant la teneur limite en cuivre exprimée en µg/kg pour certains produits :

Matières grasses et huiles (norme générale)	100 (OAA/OMS)
Matière grasse de lait anhydre (MGLA) Beurre fondu liquide anhydre Beurre fondu liquide	50 (FIL)
Caséine acide de qualité alimentaire Caséinates de qualité alimentaire	5 000 (OAA/OMS, FIL)
Lactose	2 000 (OAA/OMS)

D'après F.I.L., 1891

Le risque de carence est plus à craindre que le risque d'intoxication par un apport excessif dans la ration.

Une teneur excessive du lait en fer peut, à doses très élevées, favoriser l'oxydation de la matière grasse et être à l'origine de défauts organoleptiques.

Mais un tel risque est négligeable par comparaison avec le cuivre.

La teneur originelle du lait reste **toujours de l'ordre de 200-300 µg/kg.**

Les teneurs observées dans le lait livré peuvent atteindre 1 000 µg/kg et plus, par suite d'une contamination ultérieure du lait au contact de surfaces métalliques contenant du fer.

Présence de fer dans le lait

Le fer originel (apporté par l'alimentation de la vache) est surtout éliminé par voies fécale et urinaire.

La teneur du lait en fer varie avec l'animal et le stade de lactation (le colostrum est très riche en fer : jusqu'à 2 000 µg/kg), mais elle est indépendante de l'apport de fer dans la ration de la vache.

Le fer originel du lait est principalement lié aux protéines de la membrane du globule gras et à la lactoferrine (capable d'en retenir des quantités très supérieures à celles normalement présentes dans le lait).

Contrairement au cuivre, le fer lié aux protéines n'a aucun pouvoir catalytique vis-à-vis de l'oxydation de la matière grasse.

Il faudrait des teneurs très élevées en fer de contamination pour observer une activité catalytique vis-à-vis de l'oxydation de la matière grasse.

Détection

La détermination du fer dans le lait et les produits laitiers repose essentiellement sur la Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA).

Conséquence d'une teneur excessive en fer

Elle ne peut normalement constituer un risque pour la santé du consommateur (celle-ci doit au contraire chercher dans d'autres aliments le fer nécessaire à la satisfaction de ses besoins journaliers).

Par ailleurs, seule une contamination importante dans les produits laitiers pauvres en protéines (notamment beurre et MGLA) peut provoquer des phénomènes d'oxydation et conduire à des défauts organoleptiques comparables à ceux provoqués par le cuivre.

Cause et prévention

Les principales sources de contamination par le fer sont:

- l'action corrosive du lait (ou des solutions de nettoyage et désinfection et de l'eau de rinçage) sur les surfaces métalliques contenant du fer;
- l'utilisation d'une eau particulièrement chargée en fer.

C'est au niveau de la transformation, et en particulier en beurrerie, qu'il sera prudent d'utiliser de l'eau déferrisée.

RÉFÉRENCE DOCUMENTAIRES

Ann. Fals. Exp. Chim., fév.mars 1972, 65 (698).

AUZA N., 1983

Le cuivre chez les ruminants: une revue. Ann. Rech. Vét. 14 (1), 21-37

BEIRENS P. et JAMOTTE P., 1972

Dosage du cuivre dans les produits laitiers. Le Technicien du Lait, déc.

BETHMONT J.L., 1981

Données récentes sur les effets biologiques du cadmium. Cah. Nutr. Diet., XVI, 1.

BONNEFOY X. et DUC M., 1987

L'eau aliment - incidence de certains constituants chimique sur la santé, Sci. Aliments, 7 (1987) n° hors-série VIII, pp 253-271.

Cahiers de Médecine Vétérinaire, 1972

Toxicologie. Intoxication par le plomb chez les bovins. Fiche technique vétérinaire no 48 (janv. .)

DEHOVE, 1984

Réglementation des produits et services. Commerce Éditions.

F.I.L., 1978

Metal contaminants in milk and milk products. Bull. FIL, Doc. 105.

F.I.L., 1991

Residues and Contaminants in milk and milk products - monography

GODFRAIN J.C. et coll, 1977

Aspects actuels de la pollution par le cadmium. Rev. Méd. Vét., 1 28 (4).

IMPENS R., 1974

Présence du plomb dans l'environnement. Ann. Gembloux 80, 1 73-1 85.

I.S.O., 1980

Lait et produits laitiers. Détermination de la teneur en cuivre. Méthode photométrique de référence. Norme internationale ISO 5738-1980, 1^{er} éd. 1980, t 015.

KECK G. et PUYT D., 1980

Toxicologie du plomb. Le Point Vétérinaire, 10 (47) (fév.).

KUZDZAL-SAVOIE S., 1966

Le cuivre et les produits laitiers. Rev. Lait. Fr., décembre.

MENGER J.W., 1962

Bibliographie analytique. Le Lait, 418 (sept. oct.).

NGUYEN PHU LICH, 1971

Effets toxiques de certains oligo-éléments. Alim. et Vie, oct.nov.

ROH J.K. et coll, 1976

Distribution and removal of cadmium from the milk. J. of Dairy Sci., mars.

VAN DUIN H., 1974

Contamination par le cuivre dans les techniques modernes de production du lait. FIL, Doc. 81.

VERON C. 1990

Les mécanismes de contamination de la chaîne alimentaire par le Cadmium. Ann. Fals. Exp. Chim., juillet 1990, n° 888, pp 201-224.

ZOLLIKOFER E. et HOFFMANN J. 1962

Der Einfluss des Kupfers auf die Garung, insbesondere auf den Sauerungsverlauf im Emmentalerkase. XVIe Congrès International de Laiterie.

□ Présence de radioéléments

La contamination du lait par des radioéléments artificiels est loin d'atteindre les limites de sécurité communément admises, mais elle fait cependant l'objet

d'une surveillance rigoureuse en raison du très grave danger qu'elle pourrait représenter pour l'hygiène publique.

• Définition

L'homme a toujours été soumis à une **irradiation naturelle** d'intensité très variable selon les régions, du fait de la présence de radioéléments naturels irrégulièrement répartis à la surface de l'écorce terrestre.

L'exploitation de la radioactivité artificielle à des fins guerrières ou pacifiques a conduit, depuis 1945, à la dispersion et à l'accumulation éventuelle de **radioéléments artificiels dans l'environnement**.

Sous l'effet conjugué de la rotation de la terre, des vents et des pluies, les poussières radioactives libérées par les explosions nucléaires retombent sur terre dans les années qui suivent, contaminant plus ou moins localement le sol et la végétation ainsi que les eaux.

Des précautions extrêmes sont prises pour éviter une contamination accidentelle provenant des utilisations pacifiques de l'atome (centrales nucléaires, usines de traitement) ; une surveillance systématique s'exerce régulièrement aux alentours des sites nucléaires, pour contrôler l'innocuité des rejets.

La vache se contamine par ingestion d'herbe ou de fourrages radioactifs (présence de radioéléments contaminant la surface pour l'essentiel).

La plupart des radioéléments ingérés sont rejetés sans être absorbés, mais **certains d'entre eux sont absorbés et métabolisés** d'une façon comparable à leurs isotopes stables et **partiellement excrétés dans le lait**.

Les seuls radioéléments artificiels ayant une signification réelle du

point de vue de la contamination du lait sont :

- **l'iode I 131** (période ou demi-vie de 8 jours)
- **le strontium Sr 90** (période ou demi-vie de 28 ans)
- **le césium Cs 137** (période ou demi-vie de 30 ans).

(la période physique, ou demi-vie, est le temps au bout duquel la moitié du radioélément a disparu par désintégration de ses atomes).

Ces radioéléments confèrent au lait une certaine **radioactivité**.

La radioactivité mesure le nombre de désintégrations par unité de temps et est **classiquement exprimée en Bq/kg lait (Becquerel)**. 1 Bq = 1 désintégration par seconde).

Autrefois la radioactivité était exprimé en Curie ou en picoCurie (pCi). 1 Bq = 27 pCi

Cette désintégration provoque des **rayonnements ionisants**. Ces rayonnements sont de différentes natures (alpha, bêta ou gamma) et de différentes énergies (exprimées en Joules).

Un corps est dit «**exposé**» lorsqu'il est traversé par un rayonnement ionisant. **Le Gray (Gy) est l'unité de mesure de la dose absorbée**. C'est le rapport de l'énergie absorbée par le poids. On utilise aussi le Rad ; 1 Gy = 100 Rad.

Suivant la nature du radioélément et la partie du corps soumise au rayonnement, les effets sont différents. On parle d'**équivalent de dose exprimé en Sievert (Sv)**. On utilise aussi le rem ; 1 Sv = 100 rem.

Du fait que les durées de demi-vie, les types de rayonnement et les organes sensibles sont différents, il convient d'analyser l'I-131, le SR-90 et le CS-137 à part.

• Détection

Les radioéléments et leur dose sont analysés par mesure des émetteurs de rayonnement à l'aide d'un spectromètre. C'est une mesure nécessitant un matériel adapté et un personnel très qualifié.

La détermination de l'iode peut également se faire sur lait liquide; le seuil de détection est de 5-10 pCi iode/kg lait.

Le strontium 90, émetteur B exclusivement, implique une extraction chimique (laborieuse) pour sa détermination.

• Conséquence de la présence de radioéléments dans le lait

Les effets pathologiques des radioéléments peuvent être déterministes (ou à seuil) ou aléatoire (stochastiques).

Les effets déterministes se déclenchent avec certitude au delà d'un certain seuil ; ils peuvent atteindre les poumons (6 000 Sv), le système nerveux (10 000 Sv) ou entraîner la mort (20 000 Sv).

Les effets à seuil sont des dommages dont la probabilité d'apparition augmente en fonction de la dose de radioactivité reçue, comme le cancer.

Le strontium 90, dont le métabolisme est comparable à celui du calcium, se fixe sur le squelette et irradie de façon permanente la matrice protéique de l'os et la moelle osseuse, menaçant la fonction hématopoïétique. La situation est aggravée par la durée de vie très grande de ce radioélément, qui pourrait jouer un rôle dans l'initialisation des cancers osseux et des leucémies.

L'iode 131, malgré sa durée de vie limitée (période physique de 8 jours), est également très dangereux : en effet, il se fixe sélectivement sur la thyroïde où il se concentre, risquant de déclencher un cancer de la thyroïde.

Circulant dans le sang sous forme d'hormone thyroïdienne, il est partiellement éliminé par le rein ou les voies biliaires et partiellement réabsorbé par l'intestin.

Le césium 137, dont le métabolisme est comparable à celui du potassium, se fixe dans les muscles et les organes génitaux; il peut être à l'origine de mutations génétiques.

Ces radioéléments, et en particulier le strontium 90 et l'iode 131, sont importants en premier lieu pour le nourrisson et le jeune enfant, dont le lait est la nourriture principale et qui construit son squelette à partir du calcium du lait.

Répartition des radioéléments dans les produits fabriqués

Comme leurs homologues, ces éléments se retrouvent principalement dans la phase aqueuse (10 % seulement se retrouvent dans le beurre).

De même, en fromagerie, se comportant comme le calcium, le strontium 90 se retrouvera à 90 % dans un caillé présure, 10-15 % seulement dans un caillé lactique.

Réglementation

Le J.O. de la CEE du 22/07/89 précise les niveaux maximaux admissibles dans les denrées alimentaires (en Bq/Kg) :

	Sr-90	I-131	Cs-134 et Cs-137	Pu-239 et Am-241
Aliments pour nourrissons	75	150	400	1
Produits laitiers	125	500	1 000	20
Autres denrées alimentaires à l'exception de celles de moindre importance	750	2 000	1 250	80
Liquides destinés à la consommation	125	500	1 000	20

Conduite à tenir en cas d'accident

Les sites nucléaires Français sont équipés de dispositifs de surveillance de leurs propres rejets (et des radioéléments éventuellement envoyés dans l'atmosphère par un autre site).

Cette surveillance déclenche des organisations particulières pour les personnes et les activités (y compris agricoles) présentes à proximité d'un site.

Pour l'ensemble de la population, c'est FRANCE INTER qui serait chargé de la diffusion de messages sur la conduite à tenir en cas d'accident.

C'est bien sûr la population qu'il convient de sauvegarder en priorité. Pour limiter les effets concernant le bétail et le lait, il est envisageable le confinement des animaux (rentrée à l'étable) et l'utilisation d'eau souterraine ou de l'eau du réseau pour l'abreuvement et de fourrages stockés en grange pour l'alimentation.

Organismes d'étude et de contrôle

Le Service Central de Protection contre les Rayonnements Ionisants (SCPRI), rattaché au Ministère de la Santé Publique, dispose de stations réparties sur le territoire et permettant de contrôler le lait des 90 départements métropolitains ; ces stations sont chargées d'effectuer des mesures régulières de la contamination radioactive. Les résultats peuvent être consultés en permanence sur le serveur Minitel 3614 MAGNUC.

Sont rattachés à cet organisme des Services de recherches fondamentales et appliquées étudiant les problèmes de radioanalyse, radiologie et radiotoxicologie.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **ALAIS Ch., 1984**
Science du lait. Ed. SEPAIC, 4^e ed.
- **FNSEA CNIEL 1992**
Agriculture environnement et nucléaire, manuel de base 207 pages (édition FNSEA)
- **CNIEL FNSEA CEA 1992**
Fiches de consignes pour les producteurs (édition CNIEL)
- **Institut de l'Élevage 1993**
A propos de la contamination radioactive du lait
- **MOCQUOT G. et DUCLUZEAU R., 1968**
Contamination radioactive.
- **Bull. FIL no 5 VEISSEYRE R., 1975**
Technologie du lait. La Maison Rustique, Paris, 3- éd.

□ Mouillage et point de congélation

• Définition

Le mouillage est une dilution du lait par apport d'eau.

Le point de congélation (P.C.) est la température à laquelle le lait gèle.

Sa mesure est utilisée pour détecter l'apport «d'eau étrangère» après la traite :

Le point de congélation du lait est normalement compris entre - 0,520 et - 0,530° Celcius.

En cas d'apport «d'eau étrangère» le point de congélation se rapproche de 0 °C, point de congélation de l'eau pure.

Le lait est en équilibre osmotique avec le sang. Les concentrations en éléments solubles du lait et du sang sont équivalentes.

Les principaux solutés de la phase aqueuse du lait responsables de l'abaissement de son point de congélation sont :

- le lactose (pour environ 50%)
- les chlorures (pour environ 20 %)

Le Point de Congélation Authentique (P.C.A.), c'est à dire en l'absence d'eau étrangère au lait, peut varier d'une vache à l'autre, mais les causes de ces variations sont mal connues. Les mammites subcliniques ne semblent pas avoir un effet important (la composition en éléments solubles du lait est modifiée, mais pour se rapprocher de celle du sang). Il n'a pas été démontré non plus d'effet de l'alimentation et de la complémentation minérale.

La race «jersiaise» produirait un lait présentant un P.C.A. proche de - 0,530 °C.

En fonction de la saison, on observe des variations de l'ordre de 0,002 °C.

Il est observé un écart important entre le lait du matin et le lait du soir pouvant atteindre 0,010°C sans que cet écart soit toujours au détriment du lait du matin ou du lait du soir. Pour mesurer le P.C.A. d'une vache ou d'un troupeau il convient donc d'analyser le lait de 2 ou 4 traites consécutives.

Le stockage au froid tend à augmenter légèrement le P.C.A. (augmentation de 0,002 °C environ résultant du dégazage du CO₂).

• Mesure

La mesure du Point de Congélation est généralement effectuée à l'aide d'un cryoscope à thermistance (répétabilité de 0,002°C). La mesure consiste à abaisser la température du lait en dessous de la température de congélation (surfusion) puis à provoquer une cristallisation par agitation du lait. Il s'établit alors un équilibre entre la température du bain et la chaleur de cristallisation. La mesure est plus précise avec des appareils qui analysent le palier de température, qu'avec des appareils qui enregistrent la température de l'échantillon après un temps fixe.

Le taux de mouillage (TM % : pourcentage d'eau apportée au lait) est estimée par la relation :

$$TM\% = ((P.C.A - P.A.E.) : 100) \times (100 - EST)$$

où :

- P.C.A. = Point de Congélation Authentique,
- P.C.E. = Point de Congélation de l'Échantillon,
- E.S.T. = Extrait Sec Total en % (le P.C.A. est une caractéristique de la phase soluble du lait) - la formule (100 -EST) peut être remplacée par la valeur 90.

La mesure du P.C.A. peut se faire

sur à partir de prélèvements de lait à la sortie de la mamelle, sur au moins deux traites consécutives.

Les échantillons doivent être prélevés, transportés et préparés pour l'analyse avec les mêmes précautions que pour une analyse bactériologique.

• Conséquences

La valeur du Point de Congélation du lait fait partie de cahiers des charges de vente de lait en France comme à l'exportation.

Un lait avec un Point de Congélation supérieur à - 0,520°C ne pourra pas être utilisé pour la fabrication d'un lait de consommation.

Les conséquences pour le transformateur sont comparables à celles des laits excessivement pauvres : coûts supplémentaires engendrés par le transport, la manipulation...

Enfin, le mouillage du lait est une falsification, passible de peines correctionnelles.

• Causes et prévention

Les causes d'apport d'eau étrangère au niveau de l'exploitation sont essentiellement liées à la négligence.

Avant d'entreprendre la traite, le producteur doit veiller à la vidange complète de l'ensemble de son installation (canalisations, pots, pompe, cuve de réfrigération) pour éliminer tout résidu d'eau de rinçage résultant du lavage précédent.

Après la traite, la récupération du lait restant dans l'installation doit se faire par vidange dans un seau propre et non par "pousse à l'eau" vers la cuve de réfrigération.

La même attention doit être apportée pour éviter tout mouillage du lait au cours de la collecte (parfaite vidange de la citerne avant le ramassage) et au cours des pré-traitements à l'usine (notamment surveillance très stricte de la pousse à l'eau).

• **Aspects réglementaires**

Décret du 25.03.1924: l'addition au lait, en quelque proportion que ce soit, d'eau potable (et a fortiori non potable) est considérée comme une falsification.

L'Union Européenne considère qu'un lait (en citerne ou conditionné) dont le point de congélation est inférieur à $-0,52^{\circ}\text{C}$ est conforme. En dessus de ce seuil, des mesures complémentaires et notamment celle du point de congélation authentique doivent être réalisées pour confirmer un éventuel mouillage.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

• **FIL, 1983**

Measurement of extraneous water by the freezing point test. Bull. FIL, Doc. 154.

• **Institut de l'Élevage 1993,**
Le Point de Congélation du lait

• **Institut de l'Élevage 1995,**
Diagnostic du risque d'apport d'eau étrangère par les équipements de traite et de stockage du lait, brochure 21 p, collection Lignes.

CHAPITRE 5

CONTAMINATIONS ET ALTÉRATIONS D'ORIGINE MICROBIENNE

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Introduction | <input type="checkbox"/> Flore thermorésistante |
| <input type="checkbox"/> Flore totale | <input type="checkbox"/> Flore butyrique |
| <input type="checkbox"/> Flore lactique | <input type="checkbox"/> Flore coliforme |
| <input type="checkbox"/> Flore psychrotrophe | <input type="checkbox"/> Germes pathogènes |

Introduction

On désigne communément sous le nom de **flore microbienne du lait l'ensemble des germes** (micro-organismes) **présents dans le lait à un instant donné.**

Cette flore microbienne du lait résulte :

- de la présence d'une flore responsable des infections mammaires : germes provenant de l'intérieur des quartiers infectés (culture pure d'une bactérie, quelquefois deux) et dont la présence peut être constatée sur des échantillons de lait prélevés en conditions aseptiques. Par contre, **en l'absence d'infection mammaire, le lait ainsi prélevé est stérile ;**

- de l'apport d'une flore de contamination : germes apportés par le milieu extérieur lors de la traite ou des manipulations ultérieures ;

du développement de la flore d'infection et/ou de la flore de contamination : le lait est en effet un excellent milieu nutritif permettant la multiplication plus ou moins rapide de la plupart des germes (selon que les conditions du milieu sont plus ou moins favorables à

leur développement : température, pH, potentiel redox, etc.).

La détermination du nombre de germes par millilitre de lait ne suffit pas toujours pour apprécier les risques que constitue cette flore vis-à-vis de la sécurité hygiénique, des aptitudes technologiques du lait ou de la qualité des produits fabriqués.

En effet, les germes constituant la **flore microbienne** du lait sont très divers. Il s'agit essentiellement d'une flore bactérienne, dont les principaux groupes rencontrés dans le lait sont indiqués dans le tableau suivant. Les conséquences de leur présence et/ou de leur développement dans le lait dépendent de leurs caractéristiques physiologiques et métaboliques, et éventuellement de leur pouvoir pathogène.

En pratique, l'appréciation de la qualité du lait, vis-à-vis des contaminations et des risques d'altérations d'origine microbienne, repose sur la **prise en considération d'un certain nombre de flores spécifiques**, c'est-à-dire de catégories de germes possédant en commun certaines propriétés jugées importantes, notamment :

la flore acidifiante, capable de se développer lorsque le lait n'est pas conservé à basse température et de l'acidifier en produisant de l'acide lactique (fermentation lactique). Il s'agit essentiellement de la flore lactique, ainsi que *Bifidobacterium*.

la flore psychrotrophe, capable de se développer dans le lait conservé à basse température et de sécréter des enzymes lipolytiques et protéolytiques responsables d'altérations du lait et des produits laitiers.

Appartiennent à la flore psychrotrophe : les *Pseudomonadacées*, en particulier *Pseudomonas*, ainsi que certaines *Entérobactéries* et certains *Bacillus*.

la flore thermorésistante, capable de résister aux traitements thermiques usuels d'assainissement et, par conséquent, de se développer ensuite (lait pasteurisés notamment). Appartiennent à la flore thermorésistante : les *Bacilles sporulés* (*Bacillus* et *Clostridium*) et les *Microbacterium*, ainsi que certains *Microcoques*, *Streptocoques* et *Lactobacilles*.

Principales bactéries rencontrées dans le lait (fréquemment ou occasionnellement)

			Flore lactique	Flore psychrotrophe	Flore thermorésistante	Flore butyrique	Flore coliforme	Flore pathogène
COQUES GRAM +		Micrococcaceae	Micrococcus Staphylococcus		/			/
		Streptococcaceae	Streptococcus Enterococcus Leuconostoc Lactococcus Pediococcus		/ / / /			/ / / /
BACILLES GRAM +	non sporulés	Lactobacillaceae	Lactobacillus					/
		Brevibactériaceae	Brevibacterium Microbacterium					/
		Actinomycétaceae	Bifidobacterium Corynebacterium Listeria		/ /	++		/ /
		Mycobactériaceae	Mycobacterium					
			Coxiella					
		Propionibacterium						
	sporulés	Bacillaceae	Bacillus Clostridium		/			
BACILLES GRAM -	Pseudomonadaceae	Pseudomonas Alcaligenes Acinetobacter Flavobacterium Aeromonas						
	Parvobactériaceae	Pasteurella Brucella						
	Entérobactériaceae	Escherichia Citrobacter Klebsiella Enterobacter		/ / /			+++	
		Serratia Proteus Salmonella Shigella Yersinia		/ /				
		Campylobacter						

- la **flore butyrique**, responsable de fermentations butyriques entraînant de graves problèmes en fromagerie, notamment de pâtes cuites (défauts de goût, gonflements tardifs). La flore butyrique est essentiellement constituée de *Clostridium tyrobutyricum*.

- la **flore coliforme**, responsable de défauts en fromagerie, mais aussi et surtout indicatrice d'un risque hygiénique. Les coliformes, qui ont en commun la propriété de dégrader le lactose avec production de gaz, appartiennent à la famille des Entérobactéries, dont un certain nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme.

- les **germes pathogènes**, dont la présence éventuelle dans le lait constitue un risque pour la santé du consommateur (risque d'infection et/ou d'intoxication). On trouve des espèces pathogènes dans la plupart des familles de bactéries citées, mais un petit nombre d'entre elles constituent un risque effectif pour le consommateur, ce qui justifie les mesures d'hygiène et d'assainissement imposées par la réglementation.

Enfin, la **flore totale** est intéressante à considérer, car elle donne une indication utile sur l'importance globale de la flore microbienne du lait et le risque de défauts qui peut en résulter.

Un bref rappel sur les cinétiques de croissance et de destruction des germes est utile pour préciser la signification d'un certain nombre de termes et éclairer la définition des flores psychrotrophe et thermorésistante.

• Cinétique de croissance des germes. Définition des psychrotrophes

Lorsqu'on maintient une population d'un germe donné, dans un milieu nutritif favorable, à une température comprise dans l'**intervalle de croissance** ($T_{min} < T < T_{max}$), le nombre de germes augmente progressivement dans le temps.

La vitesse de croissance est mesurée par le **temps de génération G** (temps nécessaire pour doubler le nombre de germes) et l'effet de la croissance est mesuré par le **nombre de générations n** ou par le **taux de multiplication** (graphique ci-dessous).

On appelle **température optimale de croissance** (dans un milieu donné) la température à laquelle la croissance est la plus rapide.

En fonction de leur **température optimale de croissance**, on distingue classiquement les germes :

- **psychrophiles** : température optimale inférieure à 20°C,

- **mésophiles** : température comprise entre 25 et 45°C,
- **thermophiles** : température optimale supérieure à 50°C.

Indépendamment de leur température optimale de croissance, et en fonction de leurs possibilités de croissance (zones de température où la vitesse de croissance n'est pas nulle), on distingue aussi les germes :

- **psychrotrophes** : vitesse de croissance significative au dessous de 10°C,

- **mésotrophes** : vitesse de croissance significative entre 25 et 35°C,

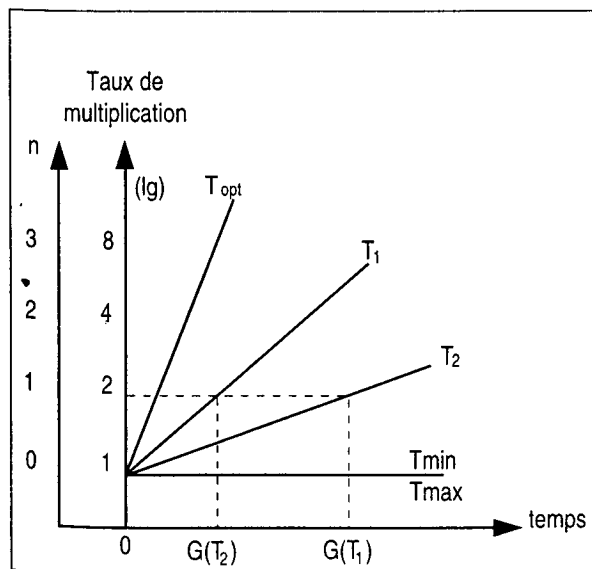
- **thermotrophes** : vitesse de croissance significative au dessus de 50°C.

Le dénombrement de ces différents germes se fait respectivement à 7°C, 30°C et 55°C.

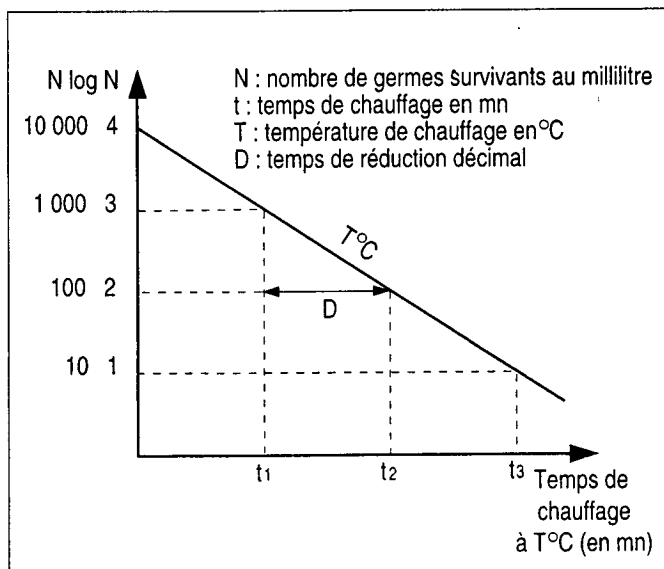
• Cinétique de destruction thermique des germes. Notion de thermorésistance

Lorsqu'on maintient une population d'un germe donné à une température supérieure au **seuil des températures létales**, lui-même supérieur à la température maximale de croissance de ce germe, la proportion de germes survivants à la destruction ther-

Vitesse de croissance d'une population bactérienne selon la température.



Courbe de survie d'une espèce microbienne chauffée à une température de $T^\circ C$



mique (**taux de survie**) diminue progressivement dans le temps. La vitesse de destruction est mesurée par le **temps D de réduction décimale** : temps nécessaire pour réduire de 10 fois le nombre de survivants (graphique page précédente).

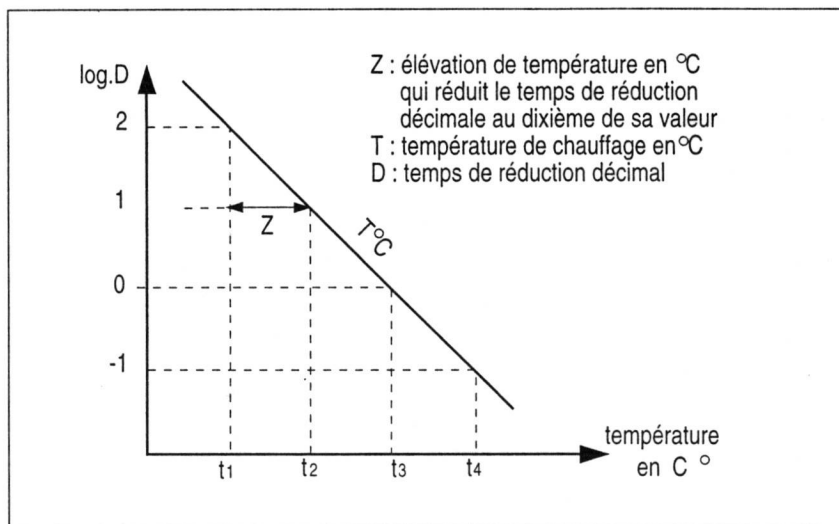
La destruction thermique s'accélère quand on élève la température, et on appelle **coefficient Z de température** l'élévation de température nécessaire pour réduire de 10 fois le temps de réduction (graphique ci-contre).

La plus ou moins grande thermorésistance d'un germe (résistance à la destruction thermique) est liée à des valeurs plus ou moins élevées :

- du seuil des températures létales, souvent plus élevé pour les germes thermophiles ou thermotrophes ;
- du temps de réduction décimale D ;
- du coefficient de température Z.

Les spores sont des formes particulièrement résistantes.

Courbe du temps de réduction thermique



Si l'on définit la flore thermorésistante comme étant la flore survivante à un traitement thermique donné, on comprend qu'elle inclut aussi bien des germes fortement thermorésistants présents en petit nombre que des germes faiblement thermorésistants présents en très grand nombre.

□ Flore totale

Le lait est payé au producteur en fonction de sa **qualité bactériologique**, appréciée par la mesure de sa **flore totale**.

Bien que la détermination des flores spécifiques soit nécessaire pour apprécier la qualité hygiénique et les aptitudes technologiques du lait, le **critère de la flore totale est un bon indicateur global des conditions de récolte et de stockage du lait sur l'exploitation**.

La détermination de la **flore totale sur le lait des citernes arrivant à l'usine fournit un terme de comparaison utile pour apprécier les conditions de collecte**.

• Principales sources de contamination du lait

La **flore totale** du lait, à un instant donné, est la résultante :

- d'une flore présente dans la mamelle en cas d'infection,
- d'une flore de contamination apportée par le milieu extérieur au cours des manipulations,
- du développement de ces flores, qui dépend de la cinétique de croissance des différents germes, du temps et de la température.

En l'absence d'infection mammaire, le lait à l'intérieur de la mamelle ne contient aucun germe. Dans une mamelle saine, seul l'extrémité du canal du trayon est en général colonisé par des bactériens qui contamineront le lait des premiers jets. Leur élimination participe très faiblement à la diminution de la contamination du lait en germes totaux. Ainsi, le lait traité dans d'excellentes conditions d'hygiène, contient moins de 1 000 germes par ml.

En cas d'infection mammaire, une seule espèce bactérienne est le plus souvent isolée du lait des

quartiers prélevé en condition aseptique, l'association de deux espèces est rare. Plus exceptionnellement, la mamelle peut excréter des bactéries responsables d'une infection générale de l'organisme, par exemple en cas de brucellose.

Les laits provenant d'animaux présentant des troubles apparents en cas de mammite clinique par exemple, ne doivent pas être livrés (Arrêté du 18 Mars 1994) et ne sont donc pas censés contaminer le lait de troupeau. En revanche, le lait provenant d'animaux atteints d'infections sans symptômes cliniques (en particulier les mammites subcliniques) ne sont généralement pas écartés et peuvent contaminer le lait collecté. Le niveau de contamination est alors très variable d'une traite à l'autre, et selon l'agent responsable de la pathologie. Chez la vache par exemple, les infections subcliniques à *Staphylococcus aureus* ou à *Listeria monocytogenes* peuvent conduire à des contaminations de lait de quartier variant entre 100 et 100 000 bactéries par ml. Quantitativement, ces contaminations endogènes n'entraînent généralement pas d'élévation conséquente du niveau de germes totaux dans le lait de troupeau. Cependant, même diluée dans le lait de l'ensemble du troupeau, cette contamination est loin d'être négligeable pour des collectes destinées à la fabrication de produits au lait cru.

Finalement, la **flore totale résulte en pratique des contaminations et de leur développement ultérieur dans le lait**.

L'animal et son environnement (locaux, litières, atmosphère, etc.) ne sont pas à l'origine de contaminations importantes en général, sauf ponctuellement en cas d'introduction dans le lait de **souillures macroscopiques** (poils, particules de bouse, particules de fourrages, poussières diverses).

Des mamelles sales ou mal lavées peuvent contaminer fortement le lait et élever sa flore totale de 10 000 à 100 000 germes par ml de lait et plus.

Il s'agit surtout d'une **flore mésophile banale** (*Staphylocoques* et *Streptocoques* notamment), mais aussi :

- de germes psychrotrophes (*Pseudomonas* en particulier),
- de germes thermorésistants, surtout sporulés : *Bacillus*, ainsi que *Clostridium* si les vaches sont nourries avec des ensilages ou des balles rondes enrubbannées mal conservés.

Par contre, l'apport de **Coliformes** (et autres Entérobactéries) reste généralement limité si les litières sont convenablement renouvelées, et si les conditions de logement sont correctes (ambiance, propreté des animaux).

Les équipements de traite et de stockage du lait constituent la principale source de contamination en cas de nettoyage et désinfection insuffisants : les résidus de lait dans les recoins ou anfractuosités mal nettoyés constituent un excellent milieu de culture pour un développement intense des germes et forment de véritables "nids microbiens" qui contamineront massivement le lait mis en contact ultérieurement, au point d'élever sa flore totale de plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions de germes par ml de lait.

Si ce défaut de nettoyage est dû essentiellement à une insuffisance d'efficacité des solutions utilisées (par défaut de dosage des produits, de durée ou de température) ou à une difficulté de pénétration dans les anfractuosités de surfaces mal entretenues (surfaces métalliques corrodées, parties en caoutchouc fissurées), la flore dominante sera une **flore thermorésistante** (*Microcoques*, *Micro-*

bactéries), sélectionnée par le traitement à chaud.

Si l'insuffisance de nettoyage et de désinfection est due essentiellement à un défaut de conception ou de montage de l'installation, comportant des zones mortes peu accessibles aux solutions, les psychrotrophes et surtout les **Coliformes** pourront contribuer de façon importante à la contamination.

L'eau utilisée pour le rinçage des équipements peut également contribuer à la contamination du matériel et du lait, par apport de psychrotrophes et de coliformes notamment.

La température et la durée de conservation ainsi que la nature de la flore de contamination conditionnent le développement ultérieur de la flore totale.

En l'absence de réfrigération, le lait étant conservé entre 15 et 25°C environ, la quasi totalité de la flore se développe, mais plus particulièrement la **flore mésophile acidifiante** (flore lactique, coliformes), qui tend ainsi à prédominer.

La réfrigération du lait à des températures inférieures à 10°C tend à bloquer la flore lactique et à per-

mettre sélectivement le développement de la **flore psychrotrophe**, qui peut devenir prédominante dans les laits réfrigérés.

Lorsque le lait est strictement maintenu à une température ne dépassant pas 4°C, cette flore psychrotrophe est essentiellement constituée de **Pseudomonadacées** (notamment *Pseudomonas*), qui sont pratiquement les seuls germes conservant une vitesse de croissance significative au-dessous de 4°C.

Par contre, **en cas de refroidissement insuffisant** (températures intermédiaires entre 4 et 10°C), le développement de cette flore psychrotrophe est plus rapide et **d'autres germes faiblement psychrotrophes se développent également** de façon sensible : c'est le cas de **certaines thermorésistants** (notamment *Bacillus*) et **Coliformes**.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue que la flore totale du lait de mélange soumis au traitement thermique à l'usine est la résultante :

– **des flores totales des laits pris en charge par le collecteur et mélangés dans la citerne de ra-**

massage (avec pondération des flores totales et des flores spécifiques, pondération des températures),

– **de l'évolution de la flore totale du lait de mélange** sous l'effet conjugué :

- **des nouvelles contaminations éventuelles** (en cas d'insuffisance de nettoyage et désinfection des équipements de collecte, de réception et de stockage à l'usine),

- **de l'élévation de la température** au cours de la collecte et du stockage à l'usine,

- **de l'allongement des délais** liés à la durée des tournées de collecte et au stockage éventuel à l'usine.

• **Détermination de la flore totale**

La détermination de la flore totale constitue le moyen officiel d'appréciation de la qualité bactériologique du lait à deux niveaux :

- **qualité bactériologique des livraisons de chaque producteur**, en application de la loi Godefroy (loi 6910 du 03.01.1969) sur le paiement du lait à la qualité (cf encadré).

BASES DU PAIEMENT EN FONCTION DE LA QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE :

Ces bases sont définies dans l'**Arrêté du 2 Mai 1985** définissant les modalités techniques selon lesquelles sont prélevés et analysés les échantillons de laits livrés par les producteurs aux fins de la détermination de leur composition et de leur qualité.

Deux à quatre prélèvements par mois sont effectués **lors de la prise en charge** par le collecteur, sur un lait de 48 heures au maximum (sauf dispositions particulières pour les collectes de 6 traites). Ces prélèvements sont refroidis à 0°C et analysés au plus tard le lendemain par un laboratoire agréé (laboratoire interprofessionnel).

Les critères d'appréciation d'une livraison sont les suivants :

- bon (note 3) : moins de 100 000 germes,
- moyen (note 2) : 100 000 à 500 000 germes,
- mauvais (note 1) : plus de 500 000 germes.

Le tableau suivant permet de répartir les laits des 3 classes suivant les résultats obtenus au cours du mois.

Définition des classes A, B, C selon les notes obtenues lors des contrôles mensuels.

Notes obtenues pour :			
Classes	Quatre contrôles mensuels	Trois contrôles mensuels	Deux contrôles mensuels
Classe A	3.3.3.3 3.3.3.2 3.3.3.1 3.3.2.2	3.3.3 3.3.2	3.3 3.2
Classe B	3.3.2.1 3.3.1.1 3.2.2.2 3.2.2.1 3.2.1.1 2.2.2.2 2.2.2.1	3.3.1 3.2.2 3.2.1 2.2.2	3.1 2.2
Classe C	3.1.1.1 2.2.1.1 2.1.1.1 1.1.1.1	3.1.1 2.2.1 2.1.1 1.1.1	2.1 1.1

Actuellement, dans le cadre des accords interprofessionnels, la note 2 est attribuée pour un résultat compris entre 100 000 et 300 000 germes par ml et la note 1 pour un résultat supérieur à 300 000 germes par ml. De plus, les laits régulièrement inférieurs à 50 000 germes par ml bénéficient d'un prix du lait supérieur.

- **qualité bactériologique des laits de citernes lors de la réception à l'usine**, dans le cadre du plan de surveillance mis en place par le ministère de l'Agriculture depuis 1983. Chaque usine est tenue d'effectuer un contrôle quotidien sur 2 à 10 citernes (selon la quantité collectée) et d'enregistrer pour chaque citerne contrôlée la flore totale et la température du lait. Les Services Vétérinaires effectuent par ailleurs un contrôle trimestriel selon les mêmes modalités. La confrontation des résultats avec les proportions de laits livrés en classes A, B et C permet d'apprécier si les conditions de collecte sont satisfaisantes quant à la conservation de la qualité bactériologique.

De nombreuses méthodes sont utilisées ou ont été expérimentées pour la détermination de la flore totale d'un lait.

La méthode de référence reconnue officiellement pour l'appréciation de la qualité bactériologique repose sur le "Dénombrement de la flore aérobie mésotrophe" par comptage de colonies après culture sur plaques de gélose nutritive ensemencées et incubées en aérobiose pendant 3 jours à 30°C.

La composition du milieu doit permettre la croissance de la plus grande diversité des germes composant la flore du lait, mais certaines catégories de germes seront exclues (*Clostridium*, anaérobies stricts) ou sous-estimées (psychrophiles ou thermophiles faiblement mésotrophes).

Cette méthode apparaît cependant comme la plus fiable et est utilisée comme méthode de référence.

L'ensemencement à l'aide d'une anse calibrée de 1 µl montée sur une seringue délivrant 1 ml de diluant a permis d'automatiser la méthode.

Le dénombrement des germes totaux est réalisé en routine avec une méthode directe reposant sur un comptage électronique par fluorescence après séparation des bactéries par filtration sur membrane (technique DEFT) ou par centrifugation à gradient de saccharose (technique Bactoscan). Les résultats sont obtenus en moins d'une heure. Ces techniques ne comptent que les germes vivants. Les appareils utilisant ces techniques sont étalonnés à partir de la méthode de référence.

D'autres **méthodes indirectes** peuvent être citées. Elles reposent sur le dosage de constituants spécifiques des cellules microbiennes :

– **test LAL**, dosant certains constituants de la membrane cellulaire des bactéries Gram -, prédominantes dans la flore psychrotrophe,

– **ATPmétrie par bioluminescence** (l'adénosine triphosphate ou ATP est présent seulement chez les organismes vivants et disparaît rapidement quand le métabolisme s'arrête),

ou sur le dosage de métabolites microbiens exocellulaires :

– dosage de l'ammoniac,

– dosage du pyruvate

Ces dernières méthodes ont l'inconvénient d'être insuffisamment corrélées à la méthode de référence lorsque la flore totale est inférieure à 100 000 germes.

• Conséquences d'une flore totale excessive

Les conséquences d'une flore totale excessive sont celles des flores spécifiques qui la composent et seront de ce fait étudiées par ailleurs.

Nous verrons que ces conséquences sont plus ou moins importantes selon la nature des flores spécifiques prédominantes et selon la destination du lait.

Les difficultés technologiques et les défauts de qualité des produits laitiers obtenus par transformation auront toujours pour effet une **moindre valorisation du lait, au détriment du transformateur et du producteur.**

Le paiement du lait en fonction de sa qualité bactériologique depuis la mise en application en 1970 de la loi Godefroy et le rejet des laits régulièrement trop chargés en germes ont incité et incitent le producteur à livrer un lait dont la flore totale soit aussi basse que possible.

Le plan de surveillance mis en place en 1983 au niveau de la réception des usines a incité et incite le collecteur à prendre toutes

les mesures nécessaires pour limiter l'évolution de la flore totale au cours de la collecte.

• Prévention

Au niveau de l'exploitation

Par une hygiène rigoureuse visant à supprimer tout risque de contamination et par un stockage du lait à basse température (au maximum 4°C), il est possible (et de nombreux producteurs le démontrent en le réalisant) de livrer régulièrement un lait dont la flore totale ne dépasse pas 10 000 germes à 48 heures.

La propreté des animaux, et en particulier de la mamelle, **et de l'environnement** lors de la traite est la première condition à réaliser pour **éliminer tout risque d'introduction de souillure dans le lait.**

Cela implique des locaux et des abords correctement conçus et bien entretenus.

Les allées et aires d'exercice doivent être rabotées tous les jours ; l'aire de couchage en stabulation libre (minimum 6 m²/vache) doit être paillée tous les jours, les logettes doivent être assez grandes et bien entretenues.

La salle de traite doit être lavée au jet après chaque traite. Si la traite s'effectue à l'étable, celle-ci doit être maintenue en parfait état de propreté ; le paillage et la distribution de fourrages secs ne doivent pas être réalisés pendant ni juste avant la traite, pour éviter de charger l'atmosphère en poussière.

Enfin, il va de soi que le trayeur doit porter des bottes et une blouse propres, et se laver les mains et les avant-bras avant de commencer la traite.

L'hygiène de la traite elle-même implique des gestes attentifs.

Avant la pose des gobelets trayeurs, les trayons doivent être soigneusement lavés à l'eau tiède propre, puis essuyés.

On pourra utiliser une lavette par vache, servant pour le lavage et, après essorage, pour le séchage des trayons. Les lavettes doivent être bien entretenues et désinfectées entre chaque traite. Le lavage peut être encore réalisé à l'aide d'une douchette à jet dirigé, les trayons étant alors essuyés avec une serviette en papier jetable. Le prétrempage est une technique nouvelle basée sur l'application d'un produit désinfectant sur les trayons avant la traite. En cas de souillure importante, un lavage préalable est nécessaire. Suite à l'application du produit et après un temps de contact minimum de 30 secondes, les trayons sont essuyés soigneusement avec une serviette en papier, afin de compléter le nettoyage et d'éliminer le produit désinfectant.

Cette opération de **lavage et d'essuyage** des trayons est très importante pour éliminer la plus grande partie des germes contaminant la peau des trayons, afin de limiter les risques des infections mammaires et de contamination du lait.

Les premiers jets, chargés en germes d'origine externe retenus dans le canal du trayon, seront éliminés dans un récipient réservé à cet usage.

Enfin, après la traite, on procédera à **la désinfection des trayons** avec une solution antiseptique (par trempage ou par pulvérisation), en vue de limiter leur contamination ultérieure.

Indépendamment de leur intérêt pour réduire la contamination du lait, ces opérations de lavage préalable et de désinfection ultérieure des trayons sont essentielles pour réduire les risques de propagation des infections mammaires dans le troupeau.

En l'absence de négligences caractérisées sur les points précédents, **ce sont les équipements de traite, et de stockage du lait qui constituent souvent la source principale de contamination : un parfait entretien, un nettoya-**

ge et une désinfection efficaces de toutes les surfaces en contact avec le lait sont des conditions essentielles pour éviter les contaminations par les équipements.

- **Le nettoyage** a pour but d'éliminer tout résidu de lait sur les surfaces des équipements. Ces résidus seraient alors le siège de développements microbiens intenses et ensemenceraient massivement le lait circulant ensuite à leur contact. La première condition pour un nettoyage efficace est un **rinçage abondant à l'eau froide ou tiède dès la fin de la traite** pour éliminer la plus grande partie du film de lait adhérent à la paroi avant qu'il ne se dessèche. Ensuite, on utilise généralement une solution détergente alcaline qui solubilise les résidus et les décolle du support où ils sont fixés. Le nettoyage doit se faire aussitôt après la traite ou la vidange de la cuve de réfrigération car les souillures qui sèchent sur les parois du matériel deviennent très difficiles à décoller. Elles deviennent alors des sources potentielles de contaminations.

- **La désinfection** a pour but de détruire les germes qui restent adhérents sur les surfaces et de limiter ainsi les risques de développement ultérieur. Les principaux désinfectants utilisés sont des produits chimiques à activité bactéricide, mais l'eau bouillante est également très efficace contre de nombreuses familles de bactéries (psychrotrophes, coliformes, pathogènes...). Théoriquement, la désinfection doit être précédée d'un nettoyage car la matière organique déposée sur le support peut protéger les bactéries de l'action du désinfectant. En pratique, on emploie généralement des produits combinant détergent et désinfectant.

- **Le détartrage** consiste à éliminer les dépôts minéraux accumulés lors du passage du lait et de l'eau. Ceux-ci sont plus ou moins importants selon la dureté de l'eau utilisée qui conditionne la fréquen-

ce de détartrage. Les produits utilisés sont des acides.

- Le nettoyage et la désinfection seront suivis d'un **rinçage final** à l'eau froide afin d'éliminer toute trace des produits utilisés et de ne pas introduire de résidus chimiques dans le lait. **Cette eau doit être potable** pour ne pas apporter de germes de contamination en quantité significative. Il est prudent de faire contrôler périodiquement la qualité bactériologique de l'eau des réseaux privés.

- **L'égouttage** après le dernier rinçage consiste à évacuer toutes les eaux résiduelles du matériel avant une nouvelle utilisation. Des purges correctement disposées sont normalement prévues à cet effet.

L'efficacité du nettoyage, du détartrage ou de la désinfection est fonction de :

- la durée de contact avec le matériel,
- la concentration du produit,
- la température d'utilisation,
- l'action mécanique au contact du support.

Les modes d'emploi des produits de nettoyage tiennent compte de ces quatre facteurs. Il est très important de les respecter scrupuleusement, car ils correspondent à une utilisation optimale des produits.

- **La canalisation à vide** doit également être nettoyée périodiquement et chaque fois que du lait y a pénétré : lavage alcalin, rinçage, séchage.

L'efficacité de ces opérations de nettoyage et désinfection implique un bon accès et une bonne circulation des solutions en tout point de l'installation (grâce à une conception et un montage corrects de cette installation), les parties moins accessibles devront être fréquemment démontées et brossées.

Il est donc essentiel **d'entretenir soigneusement les équipements et de changer les pièces usagées ou abîmées** ; notamment les

manchons doivent être changés **au moins une fois par an.**

Le développement de dispositifs automatiques de nettoyage désinfection dans les exploitations spécialisées permet de simplifier le travail du producteur tout en assurant une bonne efficacité de ces opérations grâce au contrôle automatique des paramètres. Il faut cependant s'assurer périodiquement de leur bon fonctionnement.

- Par ailleurs, si les composants de l'installation de traite ont été conçus pour résister à des températures élevées (95°C), la méthode de nettoyage à l'eau bouillante acidifiée en circuit ouvert, garantissant que tout point de l'installation est porté au moins à 77°C pendant 2 minutes, constitue une solution particulièrement efficace, mais coûteuse en énergie.

- Dès son arrivée dans la cuve de stockage, le lait doit être refroidi aussi rapidement que possible à une température inférieure à 4°C et maintenu à cette température jusqu'à la livraison.

Le bon fonctionnement du refroidisseur implique une bonne aération du condenseur du groupe frigorifique placé près d'une grille d'aération et régulièrement dépoussiéré.

Dès que le niveau du lait a atteint la sonde thermostatique, le refroidisseur doit toujours être maintenu en position de fonctionnement automatique.

La conception du refroidisseur et la puissance de son groupe frigorifique doivent assurer dans tous les cas :

- un refroidissement du lait à moins de 4°C en 2 heures au maximum,
- une remontée de température qui ne dépasse pas 10°C lors de l'apport de la traite suivante.

Au niveau de la collecte et de la réception à l'usine

La comparaison de la flore totale des livraisons de la majorité des

producteurs et de la flore totale des laits reçus dans les usines fait apparaître une dégradation quelquefois très importante de la qualité bactériologique des laits au cours de la collecte et de la réception.

Le Centre National de Coordination des Etudes et de Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation (CNERNA, 1981) a analysé les principales causes de cette dégradation et recommandé un certain nombre de mesures pour y remédier.

• Les usines qui collectent systématiquement le lait tous les 2 jours (et a fortiori tous les 3 jours) ne doivent pas ramasser de lait non réfrigéré : **la collecte à 48 heures ne peut être appliquée que sur des tournées entièrement équipées de refroidisseurs** sur les exploitations.

Une grande attention doit également être apportée à la température des laits réfrigérés au moment de la prise en charge par le collecteur : elle ne devrait jamais dépasser 4°C.

Un contrôle périodique ou systématique de la température dans les cuves lors de la collecte est éminemment souhaitable ; il permet de détecter les défauts de réglage ou de fonctionnement et d'entreprendre les actions de conseil et d'assistance permettant d'améliorer la situation.

La prise en charge du lait ne devrait pas intervenir avant le refroidissement complet de la dernière traite. Ceci implique un aménagement concerté des horaires de traite et de collecte, a priori rendu possible par la souplesse apportée par la réfrigération du lait.

Enfin, il est souhaitable de ne pas introduire dans les citernes de laits de très mauvaise qualité.

La réglementation, en déclarant impropres à la consommation les laits de très mauvaise qualité bactériologique, permet aujourd'hui de refuser la livraison des plus mauvais parmi les laits de classe C.

• **Le nettoyage et la désinfection des équipements de collecte comme des équipements de réception et de stockage du lait cru doit être aussi rigoureux que pour les installations de transformation après traitement thermique dans l'usine.**

Un nettoyage et une désinfection correctes des citernes nécessitent l'installation d'une station de nettoyage assurant :

- la circulation réelle des solutions de nettoyage et de rinçage sous pression,
- la régulation des températures et des durées des opérations,
- la maîtrise de la concentration des produits : contrôle de la concentration du produit alcalin tous les trois camions, renouvellement complet du bac de produit tous les trois jours ; contrôle de la concentration du produit acide, renouvellement du bac tous les deux jours.

Les citernes doivent être pourvues de rampes et de boules de pulvérisation fixes et démontables, avec un positionnement optimal des buses pour assurer la répartition des solutions sur toutes les surfaces.

Il est recommandé un nettoyage après chaque tournée, avec alternance des nettoyages alcalins et acides, et un lavage de longue durée tous les mois.

La canne suceuse est sans doute l'un des éléments qui risque le plus de contaminer massivement le lait en l'absence de précautions particulières : un dispositif de rinçage automatique à l'eau javellisée entre chaque ferme doit être installée sur les camions.

Les accessoires tels que pompes, compteurs, préleveurs automatiques d'échantillons, doivent être régulièrement nettoyés, ainsi que la canalisation de vide (cas des citernes sous vide).

Le nettoyage doit être sous la responsabilité d'un personnel

spécialisé et faire l'objet de contrôles périodiques.

• **L'allongement des délais est toujours préjudiciable à la qualité des laits.**

Cet allongement des délais concerne :

- la durée de conservation à la ferme,
- la durée des tournées de collecte,
- la durée d'attente éventuelle à l'usine avant vidange des citernes,
- la durée de stockage à l'usine du lait à l'état cru.

La durée de conservation du lait sur l'exploitation est directement commandée par la fréquence des ramassages.

La règle générale reste la collecte tous les 2 jours (ramassage 4 traites), mais de nombreuses usines ont mis en place une collecte tous les 3 jours (ramassage 6 traites).

Le ramassage 6 traites ne peut être raisonnablement envisagé que si toutes les livraisons de lait sont de qualité irréprochable (5 à 20 000 germes à 48 h) et conservées à très basse température (2-3°C).

La durée des tournées est un facteur important d'évolution de la flore totale des laits, en relation avec l'importance de cette flore et la température.

Si les laits collectés sont de bonne qualité bactériologique et effectivement réfrigérés à 4°C, et si les citernes sont correctement nettoyées et désinfectées, la flore totale du lait de mélange reste pratiquement identique à la moyenne pondérée des flores des laits livrés **à condition que la durée des tournées n'excède pas 2 heures.** Dans ces conditions, il n'est pas nécessaire d'isoler thermiquement les citernes ; on veillera toutefois à ne rien faire qui puisse contribuer à l'élévation de la température (rinçage à l'eau chaude avant le départ de l'usine, séjours inutiles au soleil).

En cas d'utilisation de remorques en période de forte production, celles-ci devront être isolées thermiquement, car elles restent quelquefois plusieurs heures à la température ambiante (en saison chaude) avant d'être ramenées à l'usine. Cette pratique doit être limitée autant que possible.

Le lait arrivant à l'usine, sauf conditions exceptionnellement favorables, contient une flore microbienne en pleine prolifération et doit être stabilisé par traitement thermique dès sa réception.

S'il n'est pas traité immédiatement, il est impératif de le refroidir à très basse température (autour de 1°C), le stockage à l'état cru ne devant

en tout état de cause jamais dépasser quelques heures (même à 1°C), car la flore psychrotrophe n'est pas entièrement bloquée.

• Aspects réglementaires

Loi 6910 du 03.01.1969 relative au paiement du lait en fonction de sa composition et de sa qualité.

Arrêté du 02.05.1985 relatif aux modalités techniques selon lesquelles sont prélevés et analysés les échantillons de lait livrés par les producteurs aux fins de détermination de leur composition et de leur qualité.

Arrêté du 21.11.1983 : le lait cru destiné à la transformation en lait stérilisé ou en lait UHT ne doit pas contenir plus de 500 000 bactéries aérobies mésophiles par millilitre avant le premier traitement thermique.

Arrêté du 17.09.1984 : le lait livré par les producteurs est déclaré impropre à la consommation si chacun des 4 derniers prélèvements (à 15 jours d'intervalle) révèle un nombre de germes supérieur à 500 000 germes.

Arrêté du 18.03.94 relatif à l'hygiène de la production et de la collecte du lait. Le tableau ci-dessous présente les normes applicables à la production de lait cru.

*Normes microbiologiques applicables à la production de lait cru
(teneurs maximales admises - par millilitre de lait)
(Arrêté français du 18/03/94 - J.O. du 19/04/94 - p. 5743-5745)*

	Lait de vache				Lait de chèvre, brebis	
	Destiné à la fabrication de lait de consommation traité thermiquement, de lait fermenté, emprésuré, gélifié, aromatisé et de crèmes	Destiné à la fabrication de produits «au lait cru»	Destiné à la fabrication des autres produits à base de lait		Destiné à la fabrication de produits «au lait cru»	Destiné à la production de lait traité thermiquement ou à la fabrication de produits à base de lait traité thermiquement
Entrée en vigueur	01/01/94	01/01/94	01/01/94	01/01/98	01/01/94	01/01/94
Teneur en germes à 30°C	100 000	100 000	400 000	100 000	500 000	1 000 000
<i>Staphylococcus aureus</i>						
- seuil «normal»		500	-	-	500	-
- tolérance pour 2 prélèvements sur 5	-	2 000	-	-	2 000	-

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **ALAIS CH. (1984)**
Sciences du lait. Ed. SEPAIC Paris, 4^e éd.
- **Journée d'Études ASSOCIATION SESIL IESIEL. (1979)**
L'évolution de la qualité du lait pose des problèmes difficiles aux fabricants: producteurs de lait et transformateurs ont leur part de responsabilité. La technique Laitière. 934 (Juillet)
- **BARATON Y. (1995)**
Le Point sur la contamination du lait par les spores butyriques. Institut de l'Élevage, Technipel, 1986. 32 pages
- **BERTIN C. (1983)**
Évolution de la qualité bactériologique du lait réfrigéré lors de sa collecte. LABILAIT, Boisguillaume.
- **BERTRAND F. (1981)**
La qualité bactériologique des laits collectés et son amélioration. B.T.I., 361, 447461.
- **CEPIL**
Les groupes microbiens d'intérêt laitiers. CEPIL. 1992
- **CEPIL-INRA**
Le lait, matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, 1987. 394 pages
- **C.N.E.R.N.A. (1981)**
Recommandations pour l'amélioration de la qualité bactériologique du lait au niveau des laiteries. La Technique Laitière 955 (Juin), 3944
- **COGITORE A. (1983)**
Traité pratique de réglementation laitière. Ed. Sapin d'Or, 3^e éd., mise à jour (1984)
- **ECK A. (1984)**
Le Fromage. C.N.I.E.L.
- **F.I.L. (1980)**
Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. Fil, Doc .120
- **I.T.E.B. (1984)**
Qualité du lait. Amélioration de la qualité bactériologique du lait à la ferme : de nouvelles perspectives. Annuel pour l'éleveur bovins.
- **JOERGENSEN J. (1979)**
Bacteriological contamination from the surface of the teat and udder. FIL, ADoc 47, 1014
- **LABILAIT. (1983)**
Étude de l'incidence de l'allongement du délai entre la traite la plus ancienne et le prélèvement. Laboratoire Interprofessionnel du Lait de HteNormandie.
- **MENARD S.L., MOULIN C., HEUCHEL V. (1996)**
Le point sur la qualité bactériologique du lait à la ferme - Institut de l'élevage - TECHNIPÉL Eds.
- **TEC & DOC Lavoisier. 1990**
Microbiologie alimentaire - Tome 1 «Aspects microbiologiques de la sécurité et de la qualité alimentaire». 2^e tirage revu.
- **REGNAULT J.P. (1990)**
Microbiologie générale. Éditions DECARIE-VIGOT, 1990. 859 pages
- **RICHARD J. (1983)**
Nature de la flore microbienne dominante et sousdominante des laits crus très pollués. Le Lait, 63 (mars-avril), 148.170
- **SERIEYS F. (1995)**
Le Point sur les mammites des vaches laitières. Institut de l'Élevage, Technipel. 3^e Edition 1995

□ Flore lactique

La flore lactique est une **flore utile**, exploitée dans de nombreux processus de transformation du lait utilisant la fermentation lactique, **pour ses propriétés acidifiantes et aromatisantes**.

Mais elle se développe rapidement dans les laits non réfrigérés, entraînant une acidification qui compromet les possibilités de traitement thermique du

lait et le rend impropre à de nombreuses fabrications dès qu'un certain niveau d'acidité est atteint.

Les laits non réfrigérés, dont la température de conservation est trop élevée pour permettre le blocage de la flore lactique, **doivent impérativement être collectés tous les jours voire deux fois par jour en saison chaude**.

• Définition

En l'absence de réfrigération, le lait étant conservé à température ambiante (ou vers 12-15°C si le producteur dispose d'eau suffisamment fraîche), **l'ensemble de la flore microbienne tend à se développer** en particulier la flore mésophile.

Une fraction plus ou moins importante de cette flore est représentée par des **bactéries lactiques (flore**

lactique), qui constituent l'essentiel de la flore acidifiante du lait.

Fermentant le lactose avec production d'acide lactique, cette flore acidifie progressivement le lait et **devient rapidement prédominant dans les laits non réfrigérés**.

Par contre, les germes psychrotrophes, dont le développement devient prédominant dans les laits réfrigérés à basse température et à

un moindre degré les Entérobactéries (notamment les Coliformes) sont inhibés par l'acidification du milieu résultant du développement de cette flore lactique.

Le tableau suivant indique les **principales espèces de bactéries lactiques rencontrées dans le lait et les produits laitiers**. Elles appartiennent à 6 genres différents : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* et *Enterococcus*.

Principales espèces de bactéries lactiques rencontrées dans le lait

	Mésophiles	Thermophiles
	Lactobacillus (Lb.)	
	Lb. casei Lb. plantarum	Lb. helveticus Lb. bulgaricus Lb. acidophilus
HOMO-FERMENTAIRES	Lactococcus (Lc.) Lc. cremoris Lc. lactis	Bifidobacterium (Bd.) Bd. bifidus
	Enterococcus (Ec.) Ec. faecalis Ec. faecium	Streptococcus (Sc.) Sc. thermophilus
HETERO-FERMENTAIRES	Leuconostoc (Ln.) Ln. cremoris Ln. lactis	
	Lactobacillus (Lb.)	
	Lb. brevis Lb. buchneri	Lb. fermentum

Il s'agit de germes Gram + **anaérobies facultatifs, mésophiles** ou thermophiles, dont les activités protéolytique et surtout lipolytique sont généralement réduites, **capables de fermenter le lactose** en produisant :

– soit presque exclusivement de l'acide lactique (environ 90 %) : ce sont les bactéries lactiques **homofermentaires** ;

– soit environ 50 % d'acide lactique accompagné d'autres produits de fermentation, notamment gaz carbonique, éthanol et acide acétique : ce sont les bactéries lactiques **hétérofermentaires**.

Les habitats naturels

Les bactéries lactiques ont plusieurs habitats : lait et produits laitiers, produits végétaux (ensilages, graines, etc.), tractus alimentaire et cavités naturelles (bouche, vagin) de l'homme et des animaux. On peut considérer schématiquement que :

– **les streptocoques sont plutôt liés à la vie animale**, la plupart

comme saprophytes, quelques-uns comme pathogènes (streptocoques des mammites, certaines souches d'entérocoques) ;

– **les lactobacilles sont plus ubiquistes et plus fréquents dans les produits végétaux**, pratiquement toujours saprophytes.

Autrefois empiriquement, aujourd'hui plus rationnellement, grâce à l'utilisation de levains, les propriétés de nombreuses bactéries lactiques sont exploitées dans les processus de transformation de l'industrie laitière, notamment :

– acidification et production d'arômes résultant de la fermentation lactique (beurre, crème, laits fermentés, fromages),

– activité lipolytique et surtout protéolytique (affinage des fromages),

– diverses propriétés particulières (production de gaz, production de substances visqueuses, sécrétion de substances inhibitrices vis-à-vis d'autres germes, etc.).

La flore lactique acidifiante du lait cru

Elle est essentiellement une **flore lactique mésophile**, dans laquelle prédominent :

– **les Lactocoques** (Lc. lactis et Lc. cremoris), **principaux responsables de l'acidification spontanée du lait non réfrigéré** ;

– **les Leuconostoc** (Ln. lactis et Ln. cremoris), **moins acidifiants et plus aromatisants**, en raison de leur caractère hétérofermentaire.

Les lactobacilles mésophiles, moins abondants et se développant plus lentement que les Lactocoques dans le lait cru, contribuent peu à son acidification spontanée.

Dans les laits non réfrigérés, conservés aux environs de 15-20°C, cette flore mésophile se développe rapidement :

– temps de génération de l'ordre de 2 à 4 heures

– taux de multiplication de l'ordre de 10 à 60 au bout de 12 h, de

l'ordre de 60 à 4 000 au bout de 24 h conduisant, pour des flores initiales de quelques 10^4 , à des flores finales pouvant atteindre :

10^5 à 10^6 au bout de 12 h de conservation

10^6 à 10^8 au bout de 24 h de conservation.

Les substances inhibitrices sécrétées par un certain nombre de souches de bactéries lactiques et l'acidification du lait résultant de la fermentation lactique tendent à inhiber sensiblement le développement de nombreux germes indésirables :

- protéolytiques et lipolytiques tels que *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, etc. (principaux représentants de la flore psychrotrophe) ;

- coliformes (responsables notamment de fermentations gazeuses conduisant à des gonflements précoces en fromagerie) ;

- certains germes pathogènes (*Staphylocoques*, *Salmonelles*, *Clostridium*, *Mycobactéries*, *Listeria monocytogenes*...).

Détection d'une flore lactique excessive

Des méthodes de détermination de la flore lactique totale et des différents germes qui la composent ont été mises au point, reposant sur un **dénombrement de colonies après culture** sur des milieux et dans des conditions qui rendent cette culture sélective.

Mais il est plus logique et plus simple de détecter un développement excessif de la flore lactique dans les laits crus par l'acidification qui en résulte et ses effets sur la stabilité du lait (stabilité de la dispersion micellaire à différentes températures).

Détection reposant sur l'abaissement de la stabilité thermique du lait

Elle fait appel à des épreuves simples et peu coûteuses, mais non spécifiques de l'acidification du lait.

En effet, les laits présentant une teneur originelle élevée en calcium ionisé et les laits anormaux (laits de mammité, laits colostraux) présentent une moindre stabilité de la dispersion micellaire.

Ces épreuves doivent donc être interprétées avec prudence pour les laits de petit mélange (laits de troupeaux).

L'épreuve de l'ébullition consiste à porter 2 ml de lait au bain-marie bouillant pendant 5 minutes et à observer s'il y a coagulation (lait instable).

L'épreuve à l'alcool est la plus simple : elle consiste à mélanger 2 ml d'éthanol à 68 °GL à 2 ml de lait et à observer s'il y a floculation nette (lait instable).

On peut ajouter un indicateur de pH à l'alcool pour rendre l'interprétation plus significative.

Le seuil de détection par ces épreuves peut être déplacé en modifiant la température ou la durée de maintien dans le test de l'ébullition, la concentration de la solution alcoolique dans le test à l'alcool.

Détection reposant sur la mesure du pH du lait

Le pH originel du lait est normalement compris entre 6,6 et 6,8 et ses fluctuations, en relation avec le stade de lactation, l'alimentation..., restent très limitées.

On peut considérer que seuls des laits anormaux présentent un pH originel inférieur à 6,5 (laits colostraux) ou supérieur à 6,9 (laits de mammité).

En l'absence d'une proportion sensible de lait colostrale (dans un lait de petit mélange), **un pH inférieur à 6,6 révèle un début d'acidification lactique** et a des conséquences sur la stabilité du lait.

La mesure au pH mètre pour le tri des laits mal réfrigérés (panne de fonctionnement de la cuve de réfrigération par exemple) pose quelques problèmes en raison de la tendance à la formation sur les

électrodes d'un film gras qui les isole de la phase aqueuse, ce qui implique un lavage assez fréquent des électrodes.

C'est pourquoi il est fait appel plus volontiers à la **mesure colorimétrique du pH**, à l'aide d'un papier indicateur ou par addition de quelques gouttes d'une solution d'indicateur coloré : il s'agit d'une épreuve moins précise mais simple, rapide et peu coûteuse.

Les principaux indicateurs utilisés, ayant leur zone de virage autour du pH normal de 6,6-6,8, sont le pourpre de bromocrésol, le bleu de bromothymol et l'alizarine sulfonate de sodium (Alais 1984).

Détection reposant sur la mesure de l'acidité titrable du lait

L'acidité titrable est **conventionnellement** mesurée par la quantité de solution alcaline titrée à ajouter au lait pour l'amener à pH 8,4 (point de virage, de l'incolore au rose, de la phénolphthaléine).

En fonction du mode opératoire couramment utilisé, on définit traditionnellement selon les pays :

- **l'acidité Dornic, exprimée en degré Dornic (°D)**, définie par le nombre de dixièmes de millilitres de soude N/9 nécessaires pour 10 ml de lait (usuel en France) ;

- **l'acidité Soxhlet-Henkel, exprimée en degré SH (°SH)**, définie par le nombre de millilitres de soude N/4 nécessaires pour 100 ml de lait (usuel en Allemagne).

On tend cependant de plus en plus à exprimer **l'acidité titrable du lait en équivalent acide lactique** (masse molaire 90 daltons) exprimée en g/kg :

$$\begin{aligned} \text{acidité lactique (g/kg)} &= 0,1 \times \\ \text{acidité Dornic (°D)} &= 0,225 \times \text{acidité SH (°SH)} \end{aligned}$$

La mesure de l'acidité n'est pas très précise (difficulté d'une bonne appréciation visuelle du virage) et exige le respect d'un standard opératoire constant.

Par effet tampon dû pour la plus grande part aux caséines et aux phosphates, le lait présente une acidité originelle normale de l'ordre de 1,6 à 1,8 g/kg, avec des extrêmes pouvant atteindre 1,4 g/kg pour les laits très pauvres et 2,2 g/kg pour les laits très riches.

Les laits anormaux présentent également des valeurs extrêmes : inférieures à 1,5 g/kg pour des laits de mammites et supérieures à 1,9 g/kg pour des laits colostraux.

Malgré les certaines réserves concernant la reproductivité de la méthode (écarts possibles de 0,2 à 0,3 g/kg) et l'interprétation des résultats pour les laits de troupeau, la mesure de l'acidité reste largement utilisée en raison de sa commodité.

On retiendra que, sauf pour des laits très riches, une acidité supérieure à 1,9 g/kg révèle un début d'acidification lactique et a des conséquences sur la stabilité du lait.

• Conséquences d'une flore lactique excessive

Une fermentation lactique spontanée du lait, si elle reste limitée, n'a généralement pas de conséquences fâcheuses sur ses qualités organoleptiques et notamment sur sa saveur, dans la mesure où ce type de fermentation est à la base de nombreux processus de transformation dans l'industrie laitière. Elle est même préférable, de ce point de vue, à d'autres fermentations susceptibles de conduire à des modifications désagréables sur le plan organoleptique et qu'elle a un effet de protection vis-à-vis du développement de nombreux germes indésirables.

Cependant, elle résulte d'un ensemencement incontrôlé par contamination, risquant d'apporter de nombreux autres

germes indésirables, dont la présence et le développement peuvent avoir des conséquences au cours de la conservation du lait ou ultérieurement.

De plus, et il s'agit là d'une conséquence très grave, l'instabilité provoquée par l'acidification du lait réduit les possibilités de traitement thermique du lait, le rendant impropre à un certain nombre de fabrications, voire à toute fabrication au-delà d'un certain degré d'acidification (tableau suivant).

Limites aux possibilités de traitements thermiques du lait selon son pH et son acidité lactique

pH	Acidité lactique (g/kg)	
6,4	2,0	Le lait ne supporte pas la stérilisation à 110-120°C
6,3	2,2	Le lait ne supporte pas l'ébullition à 100°C
6,1	2,4	Le lait ne supporte pas la pasteurisation à 72°C
5,2	5,5 à 6,0	Le lait coagule spontanément à température ambiante

La conservation du lait à basse température ayant pour effet de bloquer la flore lactique, le risque d'acidification par développement de cette flore se trouve exclu ; mais l'effet protecteur de cette flore lactique est également supprimé et d'autres altérations sont à craindre en cas de fortes contaminations.

C'est la raison pour laquelle la conservation au froid exige une qualité bactériologique initiale irréprochable, d'autant plus que la durée de conservation est importante.

• Causes et prévention d'une flore lactique excessive

Une flore lactique excessive, conduisant à l'acidification du lait, résulte de la conservation d'un lait contaminé et non réfrigéré (conservation à plus de 12-15°C).

La généralisation de la réfrigération du lait dès la traite a justement eu pour objet d'empêcher cette altération.

En l'absence de réfrigération, le lait doit être impérativement collecté tous les jours : durée de conservation limitée à 12 heures et, dans la mesure du possible, à une température inférieure à 12°C. En saison chaude, la collecte bi-quotidienne (après chaque traite) s'impose pour limiter l'acidification due à un développement excessif de la flore lactique.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- Actes du colloques LACTIC 91 - ADRIA Normandie - Centre de publication de l'Université de Caen - Caen, 12-13 Septembre 1991, 480 pages. «Les bactéries lactiques»
- ALAIS Ch., 1984. Ed. Sepaic Paris, 4e éd. Sciences du lait.
- CEPIL, 1992 CEPIL éd. Les groupes microbiens d'intérêt laitier -
- CHATELIN Y.M., 1973. I.T.E.B., F.N.P.L., F.N.C.L., F.N.I.L. Principes généraux de la qualité hygiénique et bactériologique du lait.
- VEISSEYRE R., 1975. La Maison Rustique, Paris, 2e éd. Technologie du lait.

□ Flore psychrotrophe

La généralisation de la réfrigération du lait à la ferme a permis de freiner le développement de la flore microbienne, autorisant un allongement des délais entre la traite et le traitement à l'usine.

Cette évolution technique permet une organisation moins contraignante des opérations de collecte tout en assurant une amélioration de la qualité des laits reçus à l'usine.

Mais le blocage par le froid de la flore lactique acidifiante laissait le champ libre aux germes capables de se développer à basse température, dits germes psychrotrophes.

Or ceux-ci sécrètent des quantités importantes de lipases et protéases thermorésistantes et responsables de l'apparition de graves défauts organoleptiques dans le lait et les produits laitiers.

• Définition

La flore psychrotrophe est essentiellement constituée par des bacilles Gram - aérobies mésophiles appartenant à la famille des **Pseudomonadacées** (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*) ainsi qu'à la famille des **Entérobactériacées** (notamment certains coliformes, tels que *Enterobacter*). Appartiennent également à la flore psychrotrophe certains thermorésistants sporulés du genre **Bacillus**, et quelques pathogènes (**Listeria**, **Yersinia**).

Il s'agit de germes largement répandus dans la nature (sol, eaux, végétation) et véhiculés par les animaux, les fourrages, l'eau, etc.

La vitesse de croissance aux basses températures permet de distinguer :

- des germes fortement psychrotrophes, dont la vitesse de crois-

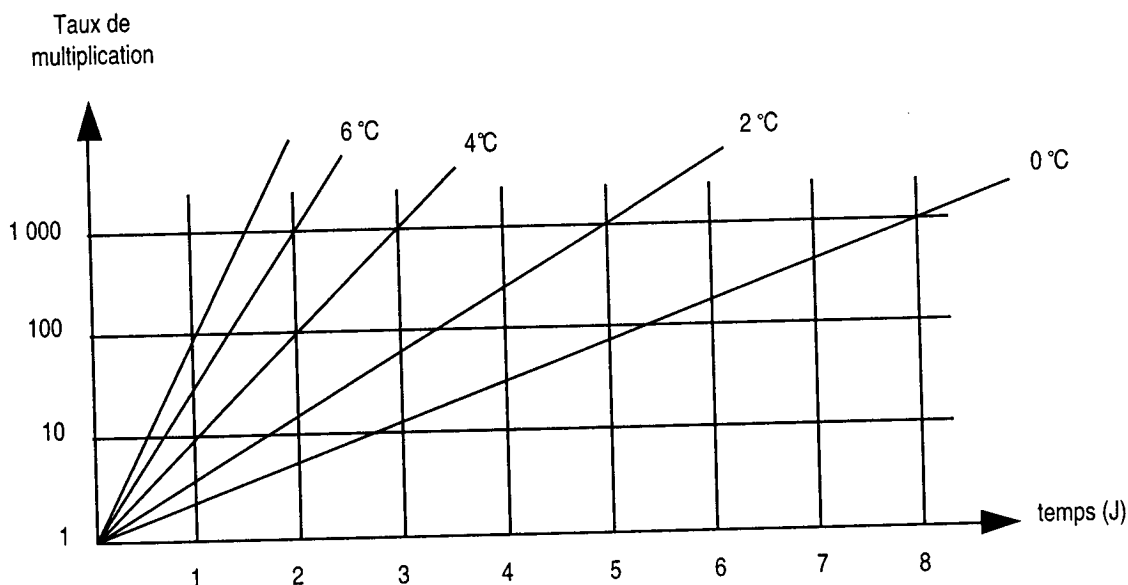
sance reste encore significative à des températures inférieures à 4°C. Il s'agit essentiellement des **Pseudomonas** (notamment *P. fluorescens*, *P. fragi*), dont le temps de génération à 4°C est de l'ordre de 7 à 8 heures.

Le graphique suivant fournit une évaluation du taux de multiplication d'une population de *Pseudomonas* en fonction de la température et de la durée de conservation (notamment, multiplication par 100 au bout de 48 h à 4°C).

- des germes faiblement psychrotrophes, dont la vitesse de croissance ne devient significative qu'à des températures supérieures à 4°C. C'est le cas des autres représentants de la famille des **Pseudomonadacées** et de certains coliformes.

C'est le cas également de **Bacillus**, dont le temps de génération est de l'ordre de 12 h à 8°C, ainsi que de **Listeria**.

Taux de multiplication d'une population de *pseudomonas* en fonction de la température et de la durée de conservation

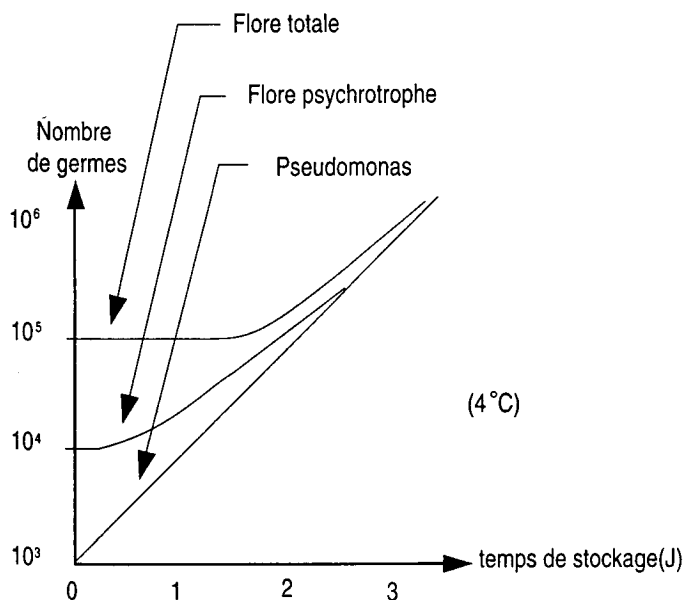


La proportion initiale de psychrotrophes dans la flore totale, juste avant refroidissement, dépend largement de l'importance et de l'origine des contaminations.

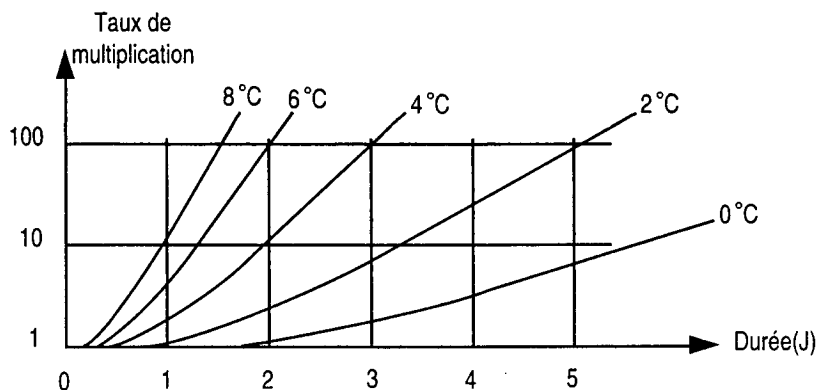
Elle ne dépasse généralement pas 1 % dans les laits très peu contaminés (flore totale inférieure à 5-10 000 germes), mais peut atteindre et dépasser 10% dans les laits plus ou moins fortement contaminés (flore totale supérieure à 50-100 000 germes).

L'évolution de cette flore psychrotrophe dépend de sa composition et en particulier de **l'importance relative des Pseudomonas, dont la vitesse de croissance commande pour une large part l'évolution de la flore psychrotrophe, et par conséquent de la flore totale**, comme le souligne le graphique suivant. Aux températures supérieures à 4°C, le développement des germes faiblement psychrotrophes contribue également, mais de façon secondaire, à l'évolution de la flore totale.

Évolution comparée (schématique) au cours d'un stockage à 4°C de la flore totale, de la flore psychrotrophe et des Pseudomonas
(Modèle: flore totale initiale 100 000 germes, dont 10 000 psychrotrophes dont 1 000 Pseudomonas)



Évolution de la flore psychrotrophe dans le lait en fonction du temps et de la température de conservation



Si l'on admet que les **Pseudomonas** représentent environ 10 % de la flore psychrotrophe, on peut construire le graphique ci-dessus donnant le **taux de multiplication de la flore psychrotrophe du lait au cours de sa conservation au froid.**

On constate que la flore psychrotrophe et en particulier les **Pseudomonas** tendent à prédominer dans la flore totale d'autant plus rapidement que leur proportion initiale est élevée et que la température de conservation dépasse 4°C.

Ce schéma d'évolution de la flore au cours de la conservation ne prend pas en compte un certain nombre de phénomènes dont les effets se compensent partiellement :

- le refroidissement à basse température provoque la mort d'une

petite fraction (évaluée à 10-15 %) de la flore mésophile non psychrotrophe ;

- l'addition des traites successives tend à diluer la flore déjà développée dans la cuve, mais tend par ailleurs à accélérer la croissance de cette flore du fait des réchauffements temporaires qui en résultent.

D'une façon générale, **la flore psychrotrophe n'est pas thermorésistante et est facilement détruite par la pasteurisation conventionnelle (72°C pendant 15 s) et même par une simple thermisation à 65°C pendant 15 s.** Certains psychrotrophes sont cependant thermorésistants voire hautement thermorésistants (*Bacillus*), et pourront se développer ultérieurement dans les produits fabriqués dont ils réduiront la durée de vie (Cf. Ch. 5, § Flore thermorésistante).

Mais, contrairement à la lipase originelle du lait par exemple, les protéases et lipases sécrétées par les psychrotrophes sont souvent thermorésistantes.

Il apparaît que si les protéases sont sécrétées dès le début de la croissance, les lipases sont sécrétées surtout en fin de phase de croissance exponentielle et pendant la phase stationnaire.

En conséquence, **l'allongement de la durée de conservation au froid est particulièrement dangereux vis-à-vis du risque de lipolyse d'origine microbienne.**

• Détermination de la flore psychrotrophe

Conventionnellement, la détermination de la flore psychrotrophe repose sur le **dénombrement de la flore aérobique psychrotrophe par comptage des colonies après culture sur plaques de gélose nutritive ensemencées et incubées en aérobiose pendant 10 jours à 7°C.**

Le milieu de culture est le même que celui utilisé pour la détermination de la flore totale.

On peut considérer que **la détermination de la flore totale constitue un indice généralement suffisant pour juger de la qualité du lait vis-à-vis de la flore psychrotrophe.**

Les risques d'altération ne sont pas liés seulement à l'importance quantitative de la flore psychrotrophe, mais aussi dans une large mesure au **stade de croissance de cette flore.** La sécrétion des lipases microbiennes notamment est beaucoup plus active en fin de phase exponentielle de croissance et pendant la phase stationnaire : **l'âge de la flore, liée à la durée de conservation,** est peut-être, de ce point de vue, plus important que son importance numérique.

• Conséquences d'une flore psychrotrophe excessive

Les conséquences d'une flore psychrotrophe excessive sont essentiellement **la lipolyse et la protéolyse dues à l'action des lipases et protéases thermorésistantes sécrétées dans le lait par cette flore avant sa destruction.**

L'action des protéases et lipases d'origine microbienne est comparable à celle des enzymes originelles du lait (Cf Ch. 6) ; quelques particularités méritent cependant d'être signalées.

Les protéases microbiennes sont particulièrement actives vis-à-vis

de la **caséine K** et peuvent contribuer de façon plus marquée à la **déstabilisation micellaire** dans les laits de longue conservation. D'autre part, elles restent encore actives en milieu acide ($\text{pH} < 5$), et leur action peut se manifester en fromagerie, dans les laits fermentés, dans les crèmes acides et les beurres de crème maturée...

Les lipases sont essentiellement associées aux globules gras : 80 % de l'activité lipasique microbienne se retrouve dans la crème.

Mais surtout **de nombreux germes psychrotrophes sécrètent également des phospholipases,** qui provoquent une hydrolyse partielle de la membrane des globules gras et favorisent ainsi l'accès des lipases aux triglycérides. C'est ainsi que la flore psychrotrophe active la lipolyse (qu'elle soit d'origine endogène ou d'origine microbienne) même en l'absence d'induction physique (mécanique ou thermique). On pourrait parler **d'induction microbienne de la lipolyse.**

Ces altérations d'origine microbienne peuvent se développer :

- **dans le lait cru avant destruction de la flore psychrotrophe par traitement thermique :** les lipases et protéases microbiennes exercent leur activité au même titre que les enzymes originelles du lait ; de plus, les phospholipases microbiennes peuvent contribuer à l'induction de la lipolyse ;

- **dans le lait après traitement thermique et dans les produits résultant de sa transformation** en particulier au cours de leur conservation, d'autant plus que celle-ci est de longue durée.

Ces altérations tardives peuvent avoir deux origines :

- **les lipases et protéases microbiennes, souvent thermorésistantes,** dont une proportion appréciable n'a pas été inactivée par le traitement thermique (c'est d'ailleurs également le cas de la protéase originelle du lait), et qui resteront en contact avec leur substrat ;

- **les germes psychrotrophes ayant survécu au traitement thermique** en raison de leur thermorésistance propre (*Bacillus* notamment) ou en raison de leur nombre très élevé dans le lait. Il ne faut pas exclure également, a priori, les possibilités de contamination par de tels germes après le traitement thermique. Si les conditions sont favorables à leur développement, ces germes sécréteront encore des enzymes et contribueront à l'altération.

La lipolyse d'origine microbienne contribue à l'apparition du défaut de **rancidité**, qui se manifeste particulièrement dans les produits riches en matière grasse.

La protéolyse d'origine microbienne peut entraîner une instabilité du lait vis-à-vis des traitements thermiques lorsqu'elle est très prononcée, et surtout contribue à la **déstabilisation** progressive de la dispersion micellaire dans les produits laitiers ayant subi un traitement UHT en vue d'une longue conservation, entraînant l'apparition de phénomènes d'épaississement et de gélification du lait, ainsi que de goûts amers.

• Causes et prévention d'une flore psychrotrophe excessive

L'essentiel de ce qui a été exposé dans le paragraphe Flore totale concernant les sources et les mécanismes de contamination ainsi que les moyens de prévention **s'applique à la flore psychrotrophe.**

Une hygiène correcte de la traite (notamment lavage et essuyage des trayons avec des lavettes propres), **une conduite rigoureuse des opérations de nettoyage et désinfection des équipements** (d'autant plus importante que les *Pseudomonas* sont des germes particulièrement résistants aux produits chimiques désinfectants), ainsi **qu'un contrôle périodique de la qualité bactériologique de l'eau utilisée**

pour les rinçages, doivent permettre de limiter la contamination initiale à quelques dizaines ou quelques centaines de psychrotrophes.

La réfrigération immédiate du lait après la traite et son strict maintien à une température ne dépassant pas 4° C limitera le taux de multiplication de cette flore psychrotrophe aux environs de 10 au bout de 2 jours de stockage conduisant à une flore psychrotrophe de quelques centaines à quelques milliers au moment de la livraison. Une température de 6°C au lieu de 4°C conduirait à une flore psychrotrophe 10 fois plus élevée.

Toutes les mesures doivent être prises ensuite au niveau de la collecte et de la réception à l'usine pour limiter le développement de la flore psychrotrophe dans le lait de mélange jusqu'à son traitement thermique :

- s'assurer que les équipements de collecte et de réception sont nettoyés et désinfectés rigoureusement ;

- éviter le réchauffement du contenu des citernes par l'introduction de laits dont la température dépasse 4°C ;

- éviter la contamination du contenu des citernes par l'introduction de laits de mauvaise qualité bactériologique ;

- éviter les tournées de durée supérieure à 2 heures en citernes non isolées ;

- éviter la collecte 6 traites si toutes les livraisons de lait ne sont pas de qualité irréprochable et réfrigérées à 2°C ;

- éviter tout stockage de lait cru à l'usine.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **AUCLAIR J. et LENOIR J. (1980)**
Influence de la réfrigération à la ferme sur la transformation ultérieure du lait et la qualité des produits fabriqués. Génie Rural, mai
- **BARBIER J.P. (1980)**
Les problèmes de transformation et la qualité du lait : problèmes de fabrication des fromages à pâte molle et qualité du lait. GIE LaitViande de Bretagne, Colloque sur la qualité du lait, Pontivy 5 novembre.
- **BERTRAND F. (1981)**
La qualité bactériologique des laits collectés et son amélioration. B.T.I., 361, 447461.
- **CEPIL (1992)**
Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CEPIL éd.
- **CHAMPAGNE C.P., LAING R.R., ROY D., MAFU A.A. (1994)**
Psychrotrophs in Dairy Products : their effects and their control. Critical review. Food Science and Nutrition, 34 (1), 1-30
- **C.N.E.R.N.A. (1981)**
Recommandations pour l'amélioration de la qualité bactériologique du lait au niveau des laiteries. La technique Laitière, 955 (juin), 3944.
- **COLLINS S.J., BESTER B.H., MCGILL E.J. (1993)**
Influence of Psychrotrophic bacterial growth in raw milk on the sensory. Acceptance of UHT skim milk. J. of Food Prot., vol. 56, n° 5, 418-425
- **CROMIE S. (1992)**
Psychrotrophs and their enzyme residues in cheese milk. Australian J. of Dairy Tech., vol. 47, 96-100
- **DAIRY RECORD. (1981)**
Raw milk psychrotrophs and the importance of their control. Dairy Record, août, 106108.
- **DOUSSET X., LEVESQUE A. (1986)**
Action des protéases des bactéries psychrotrophes du lait sur la qualité des produits laitiers. IAA, Mai 1986. 325-333
- **DUMONT J.P. et coll. (1977)**
Influence des bactéries psychrotrophes sur les qualités organoleptiques de fromages à pâte molle. Le lait, nov.déc., 619630.
- **FAIRBAIRN D.J., LAW B.A. (1986)**
Proteinase of psychrotrophic bacteria : their production, properties, effect and control, Review article. Journal of Dairy Research, 53, 139-177
- **F.I.L. (1980)**
Anomalies du goût du lait et des produits laitiers dus à la lipolyse. Bulletin FIL, Doc 118.
- **F.I.L. (1980)**
Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. Bulletin FIL, Doc 120.
- **HEUCHEL V., CHILLIARD Y. (1988)**
Le point sur la lipolyse du lait de vache - ITEB-RNED, Technipel, 35 pages
- **MOTTAR J. (1984)**
Influence de la durée de conservation sous réfrigération du lait sur la conservabilité du lait UHT. Le Lait, 64, 2945.
- **THOMAS S.B. (1970)**
Psychrotrophic microorganisms in market cream. A review. Part 1 and 2 Dairy Industries (février).
- **VEISSEYRE R. (1975)**
Technologie du lait. La Maison Rustique, Paris, 3è éd.
- **WEBER F. (1985)**
Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Étude FAO Production et santé animales, n° 47, 126 pages

□ Flore thermorésistante

• Définition

La plupart des processus de transformation du lait comportent un **traitement thermique visant à détruire plus ou moins complètement la flore microbienne** : il s'agit d'**assainir le lait** (destruction des germes pathogènes), mais aussi d'**améliorer la maîtrise de la fabrication des produits et de leur conservation**.

D'un point de vue pratique, les **thermorésistants** sont les germes capables de résister aux traitements thermiques usuels et dont le développement ultérieur peut être à l'origine de perturbations dans la transformation et d'altérations des produits.

Conventionnellement, la flore thermorésistante est définie comme étant la flore résiduelle après un traitement à 63°C pendant 30 min. Ce traitement de pasteurisation basse est comparable au traitement de pasteurisation à 72°C pendant 15 s.

En fonction de leur nombre dans la flore du lait et surtout de leur thermorésistance propre, on pourra trouver dans cette flore :

– **des germes moyennement thermorésistants** capables de résister à une pasteurisation, appartenant essentiellement aux genres :

- **Micrococcus** (*M. candidus*, *M. caseolyticus*, *M. luteus*),
- **Streptococcus** (*Sc. thermophilus*),
- **Enterococcus** (*Ec. durans*, *Ec. faecium*),
- **Lactobacillus** (*Lb. thermophilus*, *Lb. lactis*) ;

– **des germes fortement thermorésistants**, capables de résister à un traitement à 75°C pendant 12 min, appartenant au genre **Microbacterium** (*M. liquefaciens* notamment) ;

– **des germes sporulés hautement thermorésistants**, capables de résister à un traitement à 80°C

pendant 10 min, appartenant aux genres :

- **Clostridium** (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*),
- **Bacillus** (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. megatherium*, *B. circulans*).

Le nombre de thermorésistants doit rester inférieur à 1 000 par ml. **A partir d'un seuil de 4 à 5 000, les thermorésistants constituent un risque pour les laits de consommation.**

• Détermination de la flore thermorésistante

La méthode usuelle de détermination de la flore thermorésistante repose sur les 2 étapes successives :

– **l'épreuve de thermorésistance** (traitement thermique de 30 min à 63°C) ;

– **le dénombrement de la flore aérobie mésotrophe résiduelle** par comptage des colonies sur plaques de gélose nutritive ensemencées et incubées en aérobiose pendant 3 jours à 80°C.

Des épreuves de thermorésistance plus sévères peuvent être utilisées s'il s'agit de déterminer spécifiquement **la flore très thermorésistante** (traitement de 12 min à 75°C) ou seulement **la flore thermorésistante sporulée** (traitement de 10 min à 80°C).

Il faut noter que cette méthode de détermination exclut ou sous-estime certains groupes de thermorésistants, notamment les *Clostridium* (anaérobies stricts) et les thermophiles non mésotrophes (vitesse de croissance négligeable à 30°C).

Le nombre de thermorésistants dans le lait cru doit être aussi faible que possible, en particulier pour les laits destinés à la consommation après un simple traitement thermique (pasteurisation ou stérilisation).

• Conséquences d'une flore thermorésistante excessive

Le traitement thermique des laits a pour effet de sélectionner la flore thermorésistante, dont le développement ultérieur peut être à l'origine d'altérations plus ou moins graves dans les produits laitiers, et en particulier dans les **laits de consommation (laits pasteurisés, laits stérilisés)**.

Il en résulte **un raccourcissement de la durée de conservation et une insatisfaction du consommateur**.

Ces altérations sont dues surtout à l'activité protéolytique de cette flore thermorésistante résiduelle, constituée :

– exclusivement de sporulés (notamment *Bacillus subtilis*) dans le cas des laits stérilisés ;

– également de *Microbacterium* et de germes moins thermorésistants (*Micrococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) dans le cas des laits pasteurisés.

La protéolyse au cours de la conservation entraîne l'apparition de **saveurs amères** (produits de dégradation des protéines) et de saveurs impropres diverses.

Certains germes protéolytiques (notamment *Micrococcus caseolyticus*) sécrètent des enzymes coagulants et peuvent provoquer le **caillage non acide** du lait pasteurisé.

Ces altérations sans acidification sont plus dangereuses pour la santé que les altérations par acidification, et peuvent provoquer des troubles notamment chez les nourrissons.

Cas du lait pasteurisé (conservation à 8°C) : les thermorésistants acidifiants sont pratiquement bloqués, et seuls les thermorésistants psychrotrophes peuvent se développer. C'est le cas notam-

ment des *Bacillus* (temps de génération de 12 h à 8°C), et à un moindre degré des *Microbacterium* et des *Micrococcus*.

• Causes et prévention

L'habitat naturel de la plupart des germes thermorésistants contaminant le lait (notamment *Streptococcus*, bacilles sporulés) est constitué par le sol et les eaux, les litières et les fourrages.

Ces germes prolifèrent particulièrement sur les surfaces des ustensiles et équipements souillés et dont le nettoyage et la désinfection sont mal contrôlés. **Les surfaces corrodées et surtout les parties en caoutchouc mal entretenues**

(fissurées) favorisent le développement de ces germes et interdisent une désinfection efficace.

Le développement de cette flore dans les anfractuosités de telles surfaces est sans doute à l'origine des contaminations massives en thermorésistants quelquefois rencontrées.

La prévention repose essentiellement sur un bon entretien des équipements (et le changement périodique des parties en caoutchouc notamment) **et un contrôle rigoureux des opérations de nettoyage et désinfection :**

– au niveau de l'exploitation : manchons trayeurs, joints, et ensemble des circuits ;

– au niveau de la collecte : citerne et surtout circuit de pompage (notamment tuyauterie flexible et joints) ;

– au niveau de la réception et du prétraitement du lait cru à l'usine.

La présence d'une flore thermorésistante élevée (plus de 2 000 par ml) doit orienter la recherche des causes de contamination vers le manque d'efficacité du nettoyage et de la désinfection.

Il ne faut cependant pas négliger l'apport possible de thermorésistants accompagnant la flore mésophile si le lait est contaminé par des mamelles sales et mal lavées lors de la traite.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

ALAIS Ch., 1984

Science du Lait. Ed. SEPAIC Paris, 4^e éd.

BERTRAND F., 1981

La qualité bactériologique des laits collectés et son amélioration. B.T.I., 361. 447461

CEPIL (1992)

Les groupes microbiens d'intérêt laitier - CEPIL éd.

CHATELIN Y.M., et RICHARD J., 1981

Étude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait. Le Lait, 61, 8094.

C.N.E.R.N.A., 1981

Recommandations pour l'amélioration de la qualité bactériologique du lait au niveau des laiteries. La Technique Laitière, 955 (juin) 3944

ECALARD J.P., 1981

Les problèmes de transformation et la qualité du lait : le lait de consommation. GIE Lait-Viande de Bretagne, Colloque sur la qualité du lait, Pontivy, 5 novembre.

F.I.L., 1978

Methods for improving the quality of heat treated milk. FIL, B-Doc. 60

F.I.L., 1980

Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. FIL, Doc. 120.

F.N.P.L., F.N.C.L., F.N.I.L., I.T.E.B., 1980

Lait. Objectif : qualité.

I.T.E.B., F.N.P.L., F.N.C.L. et F.N.I.L., 1973

Principes généraux de la qualité hygiénique et bactériologique du lait.

VEISSEYRE R., 1975

Technologie du lait. Maison rustique, Paris, 3^e éd.

□ Flore butyrique

- **Définition**
- **Origine de la contamination butyrique**
- **Détection d'une flore butyrique excessive**
- **Conséquences**

Les fourrages verts sont inévitablement contaminés par des **spores butyriques** provenant du sol.

Les ensilages mal préparés (fourrages trop lentement ou insuffisamment acidifiés) sont le siège d'une fermentation et **s'enrichissent en bactéries butyriques**.

En l'absence de très strictes précautions de propreté et d'hygiène, **le lait peut être contaminé** par ces bactéries (véhiculées notamment par les animaux et leurs déjections).

Or il suffit d'un nombre très faible de spores butyriques dans le lait de fromagerie (seuil de l'ordre de 200 à 500 spores/l soit 0,2 à 0,5 spore/ml) pour initier dans les fromages en cours d'affinage une fermentation butyrique et provoquer avec une fré-

• Définition

On appelle communément **BUTYRIQUES** les **bacilles sporulés anaérobies (genre Clostridium) fermentant le lactate** avec production d'acide butyrique (fermentation butyrique), acide acétique et gaz (dioxyde de carbone et hydrogène).

Originaires du sol et véhiculés à l'état de spores, les butyriques peuvent contaminer le lait.

La contamination butyrique du lait constitue un risque très grave pour les laits destinés à la fabrication de fromages (notamment à pâte dure et demi-dure).

En effet, les spores butyriques hautement thermorésistantes se retrouvent dans le fromage où elles peuvent trouver des conditions favorables à leur germination et à leur croissance.

Elles y provoquent une fermentation butyrique qui se manifeste par

un **rancissement de la pâte et un gonflement du fromage** (pouvant aller jusqu'à l'éclatement).

Parmi les Clostridium dont les spores peuvent contaminer le lait et se retrouver dans le fromage **l'espèce Clostridium tyrobutyricum apparaît comme l'agent privilégié (sinon exclusif) du gonflement butyrique.**

REMARQUE : A côté des butyriques, **certaines Clostridium protéolytiques** peuvent contaminer le lait cru et être à l'origine d'altérations dans les produits laitiers, notamment *C. perfringens* (dont certaines souches produisent des entérotoxines), *C. sporogenes* (qui peut provoquer le défaut de pourriture blanche dans l'emmental et les fromages fondus).

Les butyriques sont des anaérobies stricts qui ne fermentent pas le lactose mais fermentent le lactate en présence d'acétate. Ils sporulent relativement peu mais

- **Causes et prévention des défauts d'origine butyrique**
- **Lutte contre le développement de la fermentation butyrique en fromagerie**
- **Aspects réglementaires**
- **Références documentaires**

quence significative de graves défauts (gonflement butyrique et rancissement).

Les fromages à pâte dure et demi-dure sont particulièrement exposés à cette fermentation butyrique et peuvent subir une dévalorisation de 10 à 40 % (voire 100 %) selon l'intensité des défauts.

Des moyens existent en fromagerie pour réduire les effets de la contamination butyrique. Mais ils sont souvent coûteux et leur efficacité est généralement limitée.

La prévention la plus efficace aujourd'hui se situe au niveau de la production. Elle repose principalement sur l'utilisation d'ensilages d'excellente qualité associée à des mesures rigoureuses de propreté et d'hygiène.

leurs spores sont particulièrement thermorésistantes (temps de réduction décimale de l'ordre de 3 h à 80° C et de 15 min à 90° C).

La germination des spores nécessite des inducteurs spécifiques (dont le plus important est l'acétate). Leurs conditions optimales de croissance se situent à pH 5,8 et 37° C.

Leur développement est pratiquement stoppé aux températures inférieures à 10° C.

***C. tyrobutyricum* est moins sensible à l'abaissement du pH que les autres butyriques : il faut abaisser le pH à 4,6 pour freiner significativement la germination et la croissance qui ne sont bloquées qu'à partir de pH 4,0.**

Les tyrobutyriques sont également **particulièrement résistants au sel (NaCl)** : il faut 2 à 3 % de sel pour inhiber la germination à pH 5,2 et 2,5 à 4 % de sel pour inhiber la croissance à pH 5,4.

Enfin, certains germes stimulent ou inhibent le développement des butyriques ; notamment les streptocoques nisinogènes (par l'action antibiotique de la nisine sécrétée) et certains lactobacilles (par divers mécanismes plus ou moins connus) qui exercent une action inhibitrice indépendamment de l'acidification du milieu.

D'un point de vue pratique, de la ferme au fromage, les bactéries butyriques peuvent être présentes sous deux formes en fonction essentiellement des conditions d'oxygénation et de pH du milieu : la forme sporulée (inactive) dans les ensilages bien conservés et dans le lait, la forme végétative (responsable des fermentations butyriques) dans les fromages (surtout pâtes pressées) et les ensilages mal conservés.

• Origine de la contamination butyrique du lait

Les butyriques, et plus généralement les Clostridium, sont des hôtes normaux du sol (la terre contient couramment quelques milliers à quelques dizaines de milliers de spores par gramme).

Les plantes, et par conséquent les fourrages, sont inévitablement contaminés par ces spores (en l'absence d'épandage de lisier les fourrages verts contiennent quelques dizaines à quelques milliers de spores par gramme). Le niveau de contamination en spores dans la ration alimentaire des animaux dépend des conditions de production de récolte de manipulation et de conservation des fourrages.

Un foin de bonne qualité contient quelques dizaines de spores par gramme avec une faible proportion de tyrobutyriques.

Par contre, un ensilage de mauvaise qualité peut contenir plusieurs centaines de milliers ou plusieurs millions de spores par gramme avec une large prédominance de tyrobutyriques.

Les spores butyriques ingérées avec la ration traversent le tractus digestif de l'animal et se retrouvent concentrées dans les déjections

La contamination des bouses est variable selon le fourrage consommé. Elle est significativement corrélée à celle des ensilages. On trouve généralement 10 fois et parfois jusqu'à 1 000 fois plus de spores butyriques dans les bouses que dans l'ensilage qui a été consommé. Les bouses sont donc le vecteur principal de la contamination du lait.

Cette contamination s'effectue au moment de la traite lorsque des particules de bouses présentes sur le trayon passent dans le lait par « lessivage ».

Compte tenu de la contamination parfois considérable des bouses, une très faible quantité peut conduire à des teneurs en butyriques très élevées dans le lait : seulement 2 grammes de bouse contenant 100 000 spores/gramme introduits dans 100 litres de lait, conduisent à un niveau de contamination de 2 000 spores/litre (un tel niveau est responsable de très graves défauts de fabrication sur l'emmental).

Des mesures très strictes de propreté et d'hygiène sont donc essentielles pour limiter le risque de contamination du lait par des spores butyriques provenant des animaux et de l'environnement.

Mais, compte tenu du seuil très faible de contamination qui doit être respecté, ces mesures ne pourront constituer une barrière suffisamment efficace si l'environnement immédiat de la traite (animaux, locaux, atmosphère) est fortement contaminé.

C'est pourquoi, comme le soulignent le schéma et le tableau ci-après, il est également essentiel de prendre toutes mesures pour réduire la contamination de la ration alimentaire en spores butyriques.

Les données figurant dans ce tableau (toutes exprimées en

spores/g ou ml) ne sont évidemment que des ordres de grandeur mais peuvent constituer des repères utiles pour le raisonnement.

Les valeurs adoptées pour le facteur de réduction bouses \Rightarrow lait traduisent la plus ou moins grande efficacité de la « barrière » propreté et hygiène (très efficace : 10^{-5} ; peu efficace : 10^{-3}).

• Origine de la contamination des fourrages

Les fourrages récoltés peuvent se trouver plus ou moins contaminés par la terre (temps pluvieux, coupe au ras du sol, manipulations sur le sol) et atteindre des teneurs en spores de plusieurs milliers à plusieurs dizaines de milliers de spores par gramme.

Il s'agit a priori de spores des différents Clostridium présents dans le sol parmi lesquelles les tyrobutyriques ne représentent qu'une proportion réduite.

La pratique de l'épandage du lisier, en particulier lorsque les déjections des animaux sont chargées en butyriques (animaux nourris à l'ensilage), contribue à accentuer sensiblement la contamination du sol et de l'herbe sur pied ; cet effet ne s'estompe qu'au bout de un à plusieurs mois (l'effet sur le sol tend à être cumulatif).

Mais c'est la pratique de l'ensilage qui constitue le risque majeur de contamination de la ration.

En effet, en l'absence d'une parfaite maîtrise de l'ensilage, celui-ci peut être le siège d'une multiplication des butyriques avec sélection des tyrobutyriques.

L'ensilage est une méthode de conservation des fourrages par acidification, en anaérobiose.

Le fourrage vert étant tassé dans un silo fermé de façon étanche, le processus naturel comporte essentiellement :

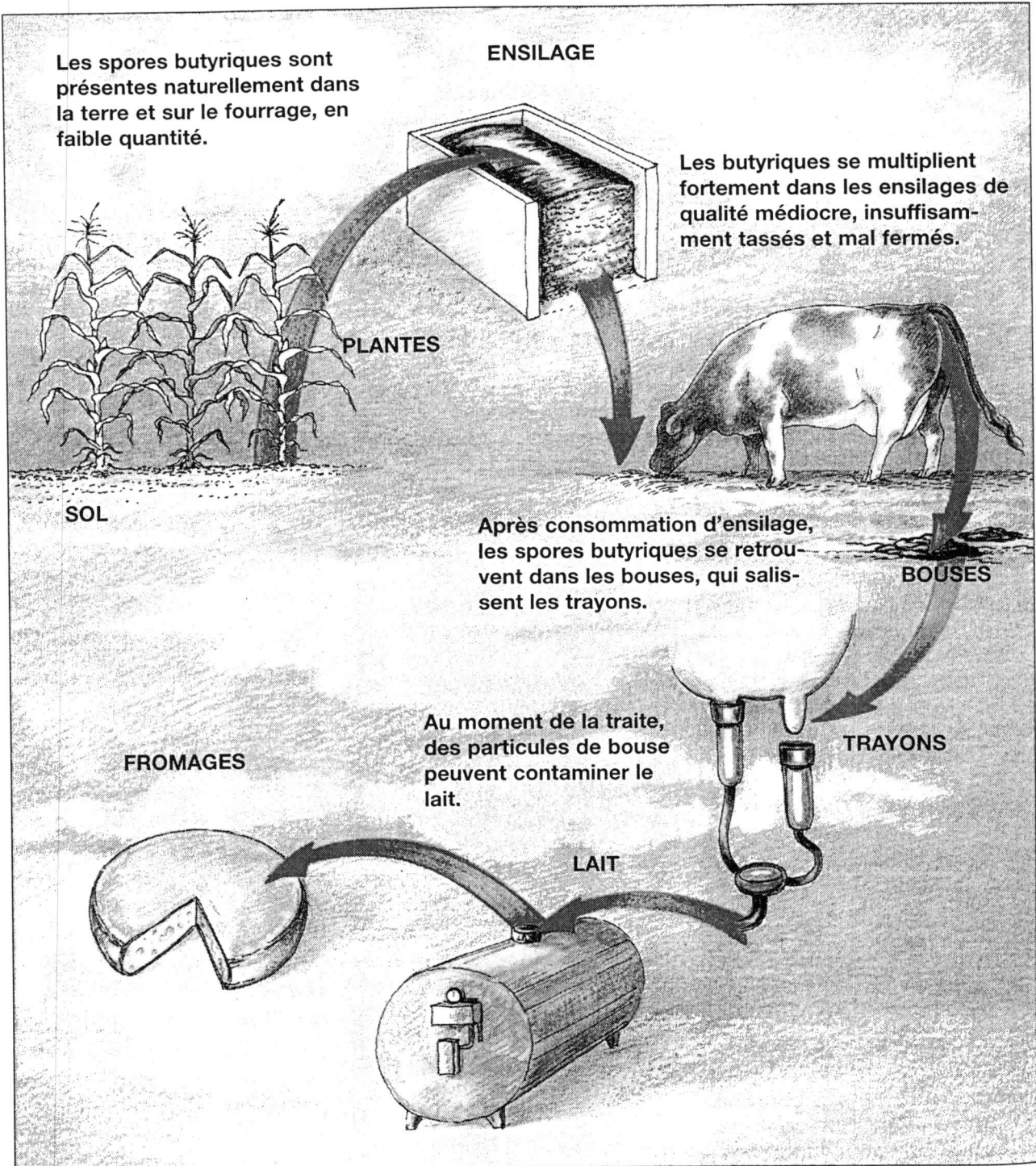
- Une phase de respiration jus-

fr.
tes
p. 138

Repères pour les relations entre contamination de la ration, des bouses et du lait :

	x 10	x 10 ⁵ à 10 ³
rations	→ bouses	→ lait
10	100	0,0 à 0,1
100	1 000	0,0 à 1
1 000	10 000	0,1 à 10
10 000	100 000	1 à 100

Les étapes de la contamination



qu'à épuisement de l'oxygène présent dans la masse, **suivie d'une phase d'hydrolyse enzymatique** (sucres hydrolysés en oses simples, protides hydrolysés jusqu'au stade acides aminés), qui se poursuit jusqu'au pH de stabilisation au-dessous duquel l'activité microbienne et enzymatique est stoppée

Pour les ensilages de maïs, le pH de stabilité est inférieur à 4. Pour les ensilages d'herbe, il dépend de la teneur en matière sèche du fourrage et varie de 4,0 à 4,8 pour des matières sèches allant de 15 à 40 %.

– Une fermentation lactique qui se développe en anaérobiose transformant les sucres en acide lactique principalement et abaissant le pH jusqu'au pH de stabilité si les conditions sont favorables.

L'aptitude des fourrages à une fermentation lactique rapide et poussée implique une richesse assez grande de la matière sèche en sucres solubles et un faible pouvoir tampon.

Si l'acidification est trop lente ou insuffisamment poussée, les spores de Clostridium présentes peuvent, en anaérobiose, germer et se développer.

Jusqu'à des pH voisins de 4,0 les butyriques dégradent l'acide lactique (avec formation d'acide butyrique) ; **cette fermentation butyrique tend à élever le pH et ainsi à s'auto-entretenir.**

Si le pH est resté ou s'est élevé au-dessus de 5, les protéolytiques dégradent les protéines et les acides aminés (avec formation d'ammoniac notamment).

Ce sont les tyrobutyriques les moins sensibles à l'acidité qui se développent préférentiellement : **l'ensilage insuffisamment acidifié se comporte alors comme une véritable fabrique de spores tyrobutyriques.**

Pour limiter les risques de fermentation butyrique dans l'ensilage, il est possible d'ajouter des « conservateurs » lors de sa confection.

Il peut s'agir de **produits ayant pour objet de favoriser l'acidification par les processus naturels :**

– Addition d'acides (principe de la méthode AIV) ayant pour effet d'amener rapidement le pH au-dessous de 4 et de supprimer ainsi les aléas des processus naturels. Cette acidification présente l'avantage de réduire la perte de valeur nutritive de l'ensilage résultant de l'hydrolyse enzymatique et de la fermentation lactique.

– Ensemencement par des bactéries lactiques pour favoriser un développement rapide et intense de la fermentation lactique.

– Addition de sucres pour compenser la pauvreté en sucres de certains fourrages (légumineuses par exemple).

REMARQUE : il est recommandé d'utiliser des produits homologués, ayant fait la preuve de leur efficacité sur l'amélioration de la valeur nutritive de l'ensilage. Cette efficacité varie selon les produits et dépend beaucoup du type de fourrages sur lesquels ils sont appliqués.

– Un ensilage correct doit contenir moins de 1 000 spores/g (un très bon ensilage en contient de 10 à 100).

Un ensilage mal préparé et conservé peut contenir plusieurs millions, voire plusieurs dizaines de millions, de spores par gramme, et conduira inévitablement à des laits fortement contaminés en spores tyrobutyriques.

D'autres critères déterminés par analyse permettent de juger de la qualité des ensilages : un excellent ensilage contient moins de 50 % d'azote soluble, moins de 5 % d'azote ammoniacal, moins de 20 g/kg d'acide acétique et une teneur en acide butyrique nulle.

– Ce sont les ensilages d'herbe et, à un moindre degré, les ensilages de maïs (plante entière) qui comportent les plus grands risques. Les ensilages d'épis de maïs sont généralement satisfaisants.

• Autres fourrages

– pulpes de betteraves surpressées : les niveaux de contamination sont en moyenne plus importants que dans les ensilages traditionnels, ces niveaux étant fortement influencés par la technologie de fabrication des pulpes.

Pour obtenir un produit de bonne qualité, il faut des pulpes présentant, à la mise en silo, un taux de matière sèche d'au moins 23 %, un taux de calcium maximum de 10 à 12 g/kg de MS, un pH supérieur à 6,0 et une température encore élevée (> 45° C). Il est primordial de réduire le plus possible le délai entre la production des pulpes et leur mise en silo. Enfin, la confection du silo doit faire l'objet des mêmes soins que celle des ensilages de maïs ou d'herbe.

En revanche, les betteraves entières ne constituent pas une source importante de contamination à condition qu'elles soient propres et que les auges soient nettoyées régulièrement.

– balles rondes enrubannées : ce mode de conservation se développe en France depuis 3-4 ans. Le risque de contamination butyrique dépend principalement de la teneur en matière sèche des balles. Un minimum de 50 % de matière sèche permet de limiter fortement ce risque. Les précautions prises lors de la récolte (faible incorporation de terre) constituent le second facteur important de réduction de ce risque.

• Détection d'une flore butyrique excessive

La détermination de la flore butyrique repose actuellement sur le dénombrement des spores butyriques (Clostridium fermentant le lactate en présence d'acétate) en milieu liquide par la méthode du nombre le plus probable (NPP).

Le milieu utilisé est le milieu de BRYANT et BURKEY modifié par BERGÈRE, désaéré avant ense-

mencement et recouvert d'une couche de paraffine stérile dès ensemencement.

Une interprétation satisfaisante par la méthode NPP implique d'ensemencer au moins 2 dilutions à raison de 5 tubes par dilution.

Les tubes ensemencés sont chauffés à 75° C pendant 15 minutes pour détruire toutes les formes végétatives, puis incubés pendant 7 jours à 37° C.

Sont considérés comme positifs les tubes dans lesquels le soulèvement du bouchon de paraffine met en évidence une croissance avec dégagement gazeux.

Cette méthode classique reste la seule utilisée malgré un certain nombre d'inconvénients :

- **c'est une méthode lourde :** grand nombre de tubes à ensemencer, précautions très strictes pour assurer l'anaérobiose ;

- **son temps de réponse est long :** en plus du temps nécessaire à la germination des spores (rendue plus difficile par le chauffage préalable) la croissance reste lente (temps de génération de 1,5 h imposant un délai de 30 à 40 h pour obtenir un tube positif à partir d'une cellule) ;

- **la méthode NPP est peu précise** et n'est pas spécifique des *C. tyrobutyricum*.

Ce manque de spécificité est cependant **peu grave pour la détection d'une flore tyrobutyrique excessive dans le lait** dans la mesure où elle est essentiellement due à l'utilisation d'ensilages dans lesquels cette flore tend à être sélectionnée.

En revanche, l'interprétation est plus incertaine dans les laits relativement peu chargés, dans les fourrages ou dans les déjections (la flore tyrobutyrique n'est a priori pas prédominante dans les fourrages non ensilés).

Il ne faut pas oublier par ailleurs que **cette méthode ne dénombre que les spores** ; elle peut conduire de ce fait à de faibles dénombrements dans un milieu où s'est développée

une fermentation butyrique (ensilage, fromage) si la sporulation est restée très réduite.

Pour pallier certains de ces inconvénients, de nombreux travaux ont été entrepris pour la mise au point de nouvelles méthodes, notamment des méthodes de détection et de dénombrement spécifiques à *C. tyrobutyricum*.

Parmi les voies explorées, les plus prometteuses actuellement sont sans doute :

- le dénombrement sur une membrane de filtration qui concentre les spores, suivi d'une culture sur un milieu spécifique. Cette méthode est plus précise que la méthode NPP et donne une réponse dans les 48 heures.

- le dénombrement par utilisation d'anticorps ou de sondes nucléiques directement sur des spores sans passer par une phase de germination.

La détection pourrait être réalisée après amplification et analyse d'image, ce qui permettrait un délai de réponse de 12 heures.

Ces méthodes sont très spécifiques mais sont complexes à mettre en œuvre, ce qui entraîne un coût élevé. D'autre part, le développement d'anticorps spécifiques de spores semble difficile à cause du manque de structure immunogène sur les spores. Cette dernière méthode nécessite encore des travaux importants de recherche.

• **Conséquences d'une flore butyrique excessive**

Pour le consommateur

Les butyriques sont des **germes non pathogènes** dont la présence dans le lait et les produits laitiers **ne constitue pas un risque pour la santé du consommateur.**

Mais la présence de spores butyriques dans le lait est à l'origine de graves défauts d'aspect et de flaveur dans les fromages et plus particulière-

ment dans les fromages à pâte dure et demi-dure.

Si le risque est prévisible ou si ces défauts commencent à se manifester, le transformateur n'a d'autre ressource que de réduire l'affinage et de mettre en vente les fromages très jeunes. Cela se traduit par exemple, dans le cas de l'Emmental, par une pâte caoutchouteuse, dépourvue de qualité gustative et tendant à présenter une flaveur désagréable (rance, piquant) plus ou moins prononcée.

L'insatisfaction du consommateur l'amènera à se tourner vers d'autres produits.

Pour le transformateur

Il suffit d'un nombre très faible de spores tyrobutyriques dans le lait de fromagerie (seuil de l'ordre de 0,2 à 0,5 spore/ml) pour initier dans certains fromages en cours d'affinage ou de conservation une fermentation butyrique qui est à l'origine de graves défauts d'aspect et de flaveur :

- le dégagement de gaz (dioxyde de carbone et hydrogène) provoque l'apparition et/ou le développement d'une ouverture anormale et le gonflement du fromage (**gonflement butyrique** encore appelé gonflement tardif).

- la production d'acide butyrique et d'acide acétique au-delà d'une certaine concentration confère à la pâte **un goût et une odeur désagréables (rance, piquant).**

La manifestation de ces défauts et leur ampleur dépend du type de fromage et de l'importance de la contamination butyrique ; elle peut être influencée par la technologie de fabrication.

- **Les fromages les plus sensibles sont les fromages à pâte dure et demi-dure** caractérisés notamment par :

- une acidification moins poussée du caillé et un pH de fin d'affinage voisin du pH optimal de croissance des tyrobutyriques ;

- une température d'affinage souvent plus favorable au développement des butyriques ;
- un format souvent plus important et un croûtage qui favorisent l'anaérobiose et ralentissent la pénétration du sel ;
- une durée d'affinage longue.

De plus, dans le cas des pâtes cuites, le chauffage peut être un élément favorisant (abaissement du potentiel redox, destruction de germes antagonistes etc).

C'est pour les fromages à pâte cuite que le problème des butyriques se pose avec le plus d'acuité en raison de la durée de leur affinage : fromages de type gruyère (Emmental, Comté, Beaufort, Gruyère), fromages de type grana (Parmesan).

S'il a pu être pour une grande part résolu par l'interdiction de l'ensilage dans certaines zones traditionnelles de fabrication (Est Central français, Suisse, Bavière), il reste posé et tend à s'aggraver avec la généralisation de l'ensilage dans les régions où la fabrication des pâtes cuites s'est développée plus récemment : c'est notamment le cas pour l'Emmental dans l'Ouest français.

Le gonflement butyrique peut se manifester (lorsqu'il reste limité) par une **ouverture excessive** (distension des yeux qui deviennent irréguliers : forme allongée ou en coquille de noix) ou la **présence de « cuites »** localisées (gros trous de 5 à 15 cm de diamètre souvent à proximité du talon) ; il peut être assez violent pour désorganiser la structure du fromage (formation de fentes dans la pâte de faible élasticité) et provoquer **l'éclatement de la meule** sur les arêtes ou sur une face.

De tels défauts peuvent rendre la meule invendable même pour la fonte.

Même en l'absence de gonflement butyrique caractérisé, on peut observer le développement de la fermentation butyrique au détriment de la fermentation propionique, le rapport des teneurs

acide butyrique/acide propionique pouvant passer de 12 % (normal) à 15-20 % et plus, avec **apparition d'un défaut de flaveur** caractérisé qui ne peut que s'amplifier en cas de poursuite de l'affinage ou en cas de conservation (même à température relativement basse).

Pour limiter les risques d'apparition de ces défauts, le transformateur est contraint de réduire la durée d'affinage et de mettre sur le marché des fromages très jeunes dont la pâte, insuffisamment protéolysée, n'a pas acquis ses qualités organoleptiques normales.

Les défauts dus à la fermentation butyrique affectent également les fromages à pâte semi-dure : type SaintPaulin, type Hollande (Edam Gouda Mimolette ; le Gouda est particulièrement sensible), Cantal, Cheddar (rancissement sans gonflement), Tome de Savoie, Morbier, Saint Nectaire, Raclette, Fontal, etc...

De plus en plus, on constate la sensibilité à la fermentation butyrique des **pâtes persillées et de certaines pâtes molles** (notamment les pâtes solubilisées et les fromages de grand format destinés à la coupe).

Enfin, les **fromages fondus** peuvent également être affectés, notamment en cas de chauffage modéré des matières premières (en vue de conserver plus de goût) et en cas de conservation sous climat chaud.

La fréquence, la vitesse d'apparition et la gravité des défauts dépendent essentiellement du niveau de contamination butyrique des laits. Par exemple, en technologie de type pâte pressée cuite, on retient généralement les seuils suivants :

< 0,2 spore/ml	Défauts exceptionnels ou peu graves
> 2 spores/ml	Défauts quasi généralisés et très graves

La contamination butyrique des laits constitue un risque grave pesant sur plus de la moitié de la production fromagère française, en raison de la dépréciation importante des fromages présentant des défauts dus à la fermentation butyrique. Selon l'intensité du défaut, la dépréciation d'une meule d'Emmental peut atteindre 10 à 40 % (et même 100 % lorsqu'elle est invendable pour la fonte).

Encore faut-il ajouter à ce manque à gagner le coût des moyens spécifiques mis en œuvre par le transformateur pour atténuer les risques d'apparition des défauts dans les fromages fabriqués à partir de laits contaminés ; ces moyens dont aucun n'est totalement efficace, seront examinés brièvement plus loin (Cf Prévention).

Pour le producteur

Les difficultés technologiques, les entraves à la commercialisation (sur le marché intérieur comme à l'exportation) et les entraves à la conservation et au report (pour les fromages de garde notamment) résultant de la contamination butyrique des laits entraînent une **baisse sensible de la valorisation des produits qui est répercutée sur le prix du lait payé au producteur** dans de nombreuses régions.

Si l'importance du risque a justifié **l'interdiction de l'ensilage** dans certaines régions dont les productions traditionnelles étaient particulièrement vulnérables, la tendance à la généralisation de ce risque doit inciter le producteur à **entreprendre des efforts importants, fussent-ils contraignants, pour réduire la contamination butyrique.**

• Causes et prévention des défauts d'origine butyrique

Comme il a déjà été souligné, les défauts d'origine butyrique trouvent leur origine principale dans la **contamination butyrique des**

laits mis en œuvre en fromagerie, et la lutte contre cette contamination, reposant sur l'analyse des mécanismes et des facteurs favorisant, **reste le pilier essentiel de la prévention.**

Toutefois, l'ampleur et la fréquence des problèmes posés par une maîtrise insuffisante de cette contamination, ont amené le transformateur à chercher **des remèdes pour lutter contre le développement de la fermentation butyrique en fromagerie.**

Ces remèdes sont souvent coûteux et s'avèrent peu efficaces lorsque les laits sont fortement contaminés. Bien que leur étude dépasse le cadre du présent manuel, il nous a semblé nécessaire de les évoquer en raison de leur contribution à la prévention des défauts.

Nous examinerons donc successivement :

- **la lutte contre la contamination butyrique des laits à la production,**
- **le tri des laits à la collecte,**
- **la lutte contre le développement de la fermentation butyrique en fromagerie.**

Lutte contre la contamination butyrique des laits

Celle-ci s'exerce essentiellement dans le cadre de l'exploitation et repose sur :

- **la réduction des sources de contamination**, en particulier au niveau des ensilages ;
- **un barrage efficace contre la contamination du lait** par des mesures rigoureuses de **propreté et d'hygiène** ;

La réduction des sources de contamination ; les ensilages.

L'origine de la contamination est **le sol. Les fourrages entrant dans la ration**, qu'ils soient consommés sur pied, conservés par séchage (foin) ou conservés par ensilage, **constituent le véhicule essentiel des spores butyriques** (directement ou par l'inter-

médiaire des bouses qui concentrent les spores ingérées) **vers l'environnement susceptible de contaminer le lait.**

L'ensilage, lorsqu'il n'est pas parfaitement maîtrisé, a pour effet de multiplier la charge en spores butyriques du fourrage : c'est alors une **véritable fabrique de spores butyriques et tyrobutyriques.**

Dans ces conditions, il représente la principale source de la contamination butyrique excessive.

Toute amélioration de la situation à court terme comme à long terme passe par l'acquisition d'une parfaite maîtrise de ce mode de conservation des fourrages.

A la suite des enquêtes réalisées par l'I.T.E.B. et l'I.T.G. (F.N.P.L. 1983), un certain nombre de **recommandations** peuvent être faites, qui toutes concourent à l'obtention d'un bon ensilage et à la limitation des risques de contamination.

Conception du silo

- Sol du silo, plateforme de déchargement et abords bétonnés (pour **limiter les risques d'apport de terre** par les roues du tracteur).

- Rigoles et pente de 1 à 3 % vers l'arrière du silo pour l'évacuation des jus (éviter le drainage en direction des locaux de traite).

- Dimensions adaptées à l'importance à ensiler (pour plusieurs coupes, préférer plusieurs petits silos à un seul grand silo) et au rythme de consommation de l'ensilage.

Choix des fourrages à ensiler

- Envisager **l'ensilage des fourrages les plus aptes** à ce mode de conservation (notamment maïs, ray-grass) et récoltés à la période optimale (épiaison).

Conditions de récolte

- **Limiter au maximum l'incorporation de terre dans le fourrage** : éviter une coupe trop rase ; éviter la récolte à l'autochargeuse (sour-

ce de contamination importante) ainsi que le ramassage par ensileuse à fléaux.

- Récolter avec une **machine à coupe fine** (le hachage est favorable à un bon tassement dans le silo et favorise une fermentation rapide en libérant les sucres).

- Si possible, préfaner pour élever le taux de matière sèche (par beau temps et sans toucher les andains pour éviter d'incorporer de la terre).

Confection du silo

- Assurer un **tassement maximal et homogène** du fourrage, en particulier sur les bords du silo.

- **Remplir le silo le plus vite possible et le fermer rapidement** aussi hermétiquement que possible (avec une bâche neuve doublée d'une bâche usagée) ; recouvrir le silo avec du sable, de la sciure ou des sacs de sable en chargeant davantage les bords (ne pas recouvrir avec de la terre ou du fumier).

- Retendre la bâche après l'affaissement consécutif à la fermentation (au bout de 2 à 3 semaines).

- **L'emploi d'un conservateur homologué est conseillé lorsque les conditions sont défavorables** : conditions météorologiques difficiles, espèces pauvres en sucres solubles (luzerne, dactyle, fétuque, raygrass trop humide).

Reprise et utilisation de l'ensilage

- Opérer sur **sol bétonné.**

- **Trier les parties altérées, notamment en périphérie du silo**, souvent moins bien acidifiées et donc plus contaminées et les donner aux non laitières (génisses et vaches taries).

- **Éliminer tous les jours les refus** dans les auges (en cas de distribution) ou au bas du front d'attaque (en cas de libre service).

- Éviter la fourche à tracteur en cas de reprise mécanique (risque d'ébranlement du tas), préférer une désileuse fraise ou cube pour maintenir net le front d'attaque.

- Assurer une vitesse d'avancement suffisante du front d'attaque (au moins 20 cm par jour) par l'adaptation de la taille du silo à la consommation journalière.

Un barrage efficace contre la contamination du lait : propreté des animaux et hygiène de la traite

Il y a inévitablement une certaine dispersion dans l'environnement des spores butyriques présentes dans la ration et concentrées dans les bouses.

Les animaux constituant le principal véhicule de ces spores, leur propreté (très dépendante des conditions de logement et de stabulation) apparaît comme la première condition nécessaire pour éviter de contaminer l'environnement immédiat de la traite.

Mais des précautions très strictes concernant **l'hygiène de la traite sont aussi indispensables compte tenu du niveau très bas de contamination admissible pour le lait.**

La propreté des vaches dépend de la conception de l'étable et de son entretien quotidien

Quel que soit le type de logement (stabulation libre, entravée ou à logettes), il est possible d'avoir des animaux propres lorsque celui-ci est correctement conçu et correctement entretenu. Il existe des recommandations sur les surfaces et sur les quantités de litière pour chaque type de logement : pour une stabulation libre on recherche 6 m² de surface paillée et 4 m² d'aire bétonnée avec au moins 6 kg de paille par vache et par jour. L'aire bétonnée doit être raclée 2 fois par jour. Dans les étables entravées, les stalles doivent être adaptées au gabarit des vaches, le curage se fait avant chaque traite. En système fumier, on recommande de l'ordre de 3 kg de paille par vache et par jour ; avec un système lisier, un demi kilo. Pour les systèmes logettes, les quantités de paille préconisées sont les mêmes qu'en étables entravées. Les aires bétonnées y sont raclées 2 fois par jour.

L'hygiène de la traite doit faire l'objet d'une attention particulière

- Opérer dans un endroit peut contaminant

Si la traite est effectuée en salle de traite, l'aire d'attente doit être suffisante (au moins 1 m² par vache) et nettoyée tous les jours ; les quais de traite doivent être nettoyés après chaque traite (et pendant la traite si nécessaire).

Si la traite est effectuée à l'étable avec pot trayeur, le lait ne doit jamais être laissé sans protection vis-à-vis de l'atmosphère.

- Le trayeur doit être propre (vêtements mains)

Une hygiène de traite rigoureuse permet de réduire la contamination butyrique du lait de 50 à 60 %. Cependant, lorsque les bouses sont très contaminées, il reste difficile d'obtenir régulièrement de bons résultats.

Actuellement, les deux méthodes recommandées pour le nettoyage des trayons sont la **lavette individuelle** ou l'utilisation de la **douchette suivie d'un essuyage avec des serviettes en papier.**

La technique de pré-trempage (trempage des trayons avec un produit désinfectant, suivi d'un essuyage papier avant la traite) donne également des résultats équivalents à ceux des deux méthodes précédentes, sous réserve que les animaux soient propres. Cependant, son utilisation doit faire l'objet d'autorisation particulière, compte tenu des risques de résidus de produits désinfectants dans le lait.

Il est à noter que l'élimination des premiers jets ou la filtration du lait pendant la traite ne permettent pas de réduire la contamination butyrique du lait.

Il est prudent de **faire contrôler périodiquement la qualité de l'eau** utilisée pour le lavage des mamelles et le rinçage des équipements car celle-ci peut être contaminée par des spores de butyriques.

Tri des laits collectés

Le tri des laits au niveau de la collecte, en vue de ramasser séparément les laits les plus contaminés (**collecte séparative**), constitue **une étape importante dans la réduction de la contamination butyrique des laits de mélange.**

Il est important de rappeler que, les spores butyriques ne se développant pas dans le lait, la teneur en spores d'une citerne correspond à la moyenne pondérée des teneurs en spores des livraisons.

Ainsi, il suffit d'une livraison de 500 litres contenant 20 spores/ml pour élever de 1 spore/ml la teneur en spores d'une citerne de 10 000 litres.

En l'absence de méthodes instantanées de détermination de la contamination butyrique des laits, **le tri ne peut reposer que sur les données historiques concernant la qualité des livraisons des producteurs** (niveau moyen de contamination butyrique et variabilité de cette contamination).

Le critère d'utilisation ou non d'ensilage peut également servir de base au tri des livraisons (lorsque les exploitants utilisant l'ensilage sont minoritaires).

Lutte contre le développement de la fermentation butyrique en fromagerie

La mise en œuvre en fromagerie d'un lait contenant plus de 0,2 à 0,5 spore/ml risque de conduire au développement d'une fermentation butyrique dans les fromages en cours d'affinage ou de conservation (surtout lorsqu'il s'agit de fromages à pâte dure ou demi-dure).

La destruction des spores par traitement thermique du lait n'est pas envisageable en raison de leur thermorésistance : il faudrait un traitement UHT à 110-115° C pour obtenir 3 réductions décimales ce qui entraînerait de graves difficultés de caillage et d'égouttage lors de la fabrication.

Les moyens d'action au niveau du processus de fabrication sont très limités :

– éviter tout ce qui pourrait favoriser le développement de la fermentation butyrique grâce à :

- **une acidification rapide et poussée du caillé** assurant un bon égouttage,

- **un salage suffisant (voire renforcé)** dans les limites de l'acceptable) dont l'effet se limitera d'ailleurs à la périphérie en raison de la lenteur de pénétration du sel dans le fromage ;

– utiliser des souches lactiques connues pour leur action inhibitrice vis-à-vis des butyriques (*Streptocoques nisinogènes*, certains *Lactobacilles*), dans la mesure où elles n'entraînent pas de perturbations du processus d'acidification.

En pratique, deux catégories de moyens se sont avérées présenter une certaine efficacité pour limiter les conséquences d'une contamination butyrique atteignant 2 à 5 spores/ml dans le lait de fromagerie :

- la **séparation des spores du lait par voie mécanique** (dégermage centrifuge, crémage) ;

- l'**addition d'inhibiteurs dans le lait** (dans les limites autorisées par la réglementation).

- **La séparation des spores du lait par voie mécanique :**

- **Le dégermage centrifuge** (bactofugation Alfa-Laval) consiste à entraîner une grande partie des spores, plus denses que le lait dans le bactofugat. Ce traitement est **relativement coûteux et son efficacité limitée** (de l'ordre de une réduction décimale : élimination de 80 à 95 % des spores).

L'opération est effectuée à 35–40° C pour les fabrications à partir de lait cru, à 60–65° C pour les fabrications à partir de lait thermisé.

Fréquemment utilisé pour la fabrication des pâtes demi-dures, ce traitement est **souvent insuffisant pour la fabrication de l'Emmental** (plus sensible) et présente **certains inconvénients** : élimination de 90 % des propioniques (nécessaires à l'ouverture du fromage),

baisse de 1 à 3 % de la teneur en caséine du lait (entraînement des plus grosses micelles) et par conséquent du rendement, modifications indésirables de la consistance de la pâte.

Ce traitement pose par ailleurs le problème de l'utilisation du bactofugat (éventuellement réincorporé dans le lait après stérilisation UHT).

- **Le crémage** repose sur les propriétés agglutinantes à basse température de certaines globulines originelles du lait : dans le lait (cru ou thermisé) maintenu au repos à basse température, les globules gras et les bactéries s'agglutinent en amas qui remontent à la surface.

Le soutirage des deux tiers inférieurs du volume après un crémage de 12–14 h à 8° C fournit un lait partiellement écrémé très appauvri en germes (et notamment en spores), mais ce lait doit ensuite être standardisé par addition de crème non contaminée (qui pourrait être obtenue par écrémage à 35–40° C de la couche supérieure constituée de lait enrichi : à cette température, l'activité agglutinante ne se manifeste plus).

L'adaptation industrielle du crémage (dont l'emploi était traditionnel dans les fabrications artisanales de fromages à pâte dure, notamment le parmesan) n'est pas encore généralisée en France et ne semble pas permettre d'obtenir plus de 1 à 2 réductions décimales sans introduire de contraintes excessives.

- **L'addition d'inhibiteurs dans le lait est limitée par la réglementation :**

- **parmi les inhibiteurs interdits en France** (mais autorisés dans certains pays), nous citerons **le nitrate (et le nitrite) et le peroxyde d'hydrogène ;**

- **parmi les inhibiteurs autorisés en France**, nous citerons **la nisine et le lysozyme.**

Le nitrate (ajouté à la dose de 0,1 à 0,2 g/kg de lait) exerce son

action inhibitrice **après réduction en nitrite** et son effet est limité à quelques semaines. L'addition directe de nitrite est exclue en raison de son effet inhibiteur sur les bactéries lactiques.

Le nitrate est progressivement réduit en nitrite par la xanthine oxydase originelle du lait (résistante à la thermisation mais partiellement inactivée par la cuisson du caillé dans la fabrication des pâtes cuites).

L'addition de nitrate est un moyen assez efficace de prévention de la fermentation butyrique pour les pâtes semi-dures, couramment utilisé aux Pays-Bas, **mais interdit en France en raison de sa toxicité pour le consommateur.**

Elle est moins efficace pour les pâtes cuites (réduction plus lente à cause de la cuisson) et des doses plus élevées inhiberaient la fermentation propionique nécessaire à l'ouverture.

Elle est inefficace pour les fromages fondus (pas de réduction à cause du chauffage), mais l'addition de nitrite à la dose de 0,01 g/kg inhibe la fermentation butyrique.

Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée), autorisé dans certains pays pour assainir les laits très chargés en germes, doit être détruit par addition de catalase avant ensemencement du lait. Mais son action oxydante sur certains composants (thioaminoacides, vitamines) expliquerait le ralentissement ultérieur des fermentations butyrique et propionique ; il ne peut être utilisé en fabrication d'Emmental. Il est interdit en France.

La nisine est un antibiotique sécrété par certaines souches de streptocoques lactiques et possédant une activité bactéricide vis-à-vis des formes végétatives des *Clostridium*. Elle exerce malheureusement un effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries lactiques dont certaines souches nisinorésistantes ont cependant pu être sélectionnées.

Bien qu'autorisée (antibiotique alimentaire), **elle n'est pas utilisée**

en fromagerie en raison des difficultés de maîtriser l'acidification.

Le lysozyme (ou muramidase) est une enzyme originellement présente dans le lait de vache (0,13 mg/kg) et en grande quantité dans le blanc d'œuf de poule (3 à 5 g/kg).

Il possède la faculté de détruire la paroi de certaines bactéries et notamment celle des formes végétatives des butyriques. Ajouté au lait à la dose de 25 mg/kg il se retrouve à 90 % environ dans le caillé et **réduit fortement la fermentation butyrique** mais ne la stoppe pas.

Son emploi dans la fabrication de l'Emmental permet de réduire de 50 % environ la production d'acide butyrique et donc d'atténuer les défauts de flaveur ainsi que les accidents de gonflement. Le

lysozyme a un effet limité sur les bactéries lactiques.

La réglementation française autorise son emploi depuis 1981.

Comme on peut le constater, le **transformateur ne dispose d'aucun moyen totalement efficace pour empêcher le développement de la fermentation butyrique dans les fromages fabriqués à partir d'un lait fortement contaminé.**

Par l'utilisation combinée des principaux moyens utilisables (en pratique la bactofugation et l'addition de lysozyme), il peut cependant obtenir l'équivalent de 1 à 2 réductions décimales de la contamination butyrique du lait mis en œuvre. Mais il ne faut pas perdre de vue que ces remèdes sont coûteux et ne peuvent constituer qu'un pis-aller.

Aspects réglementaires

La teneur du lait en butyriques ne fait l'objet d'aucune réglementation. Cependant, face aux graves problèmes posés par la contamination butyrique des laits, en particulier dans les régions fromagères, un paiement du lait en fonction de son niveau de contamination butyrique fait l'objet d'accords interprofessionnels dans de nombreuses régions en France.

Décret du 30.03.1976 relatif à l'appellation d'origine « Gruyère de Comté » ou « Comté » : le lait utilisé pour la fabrication de ces fromages doit provenir de vaches ayant une **alimentation exempte d'ensilage.**

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **A.G.P.M., I.T.C.F., INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, 1991**
Le maïs ensilage - Objectif qualité - Objectif quantité.
Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **ALAIS Ch., 1984**
Science du lait. Ed. SEPAIC Paris, 4e éd.
- **BARATON Y., CORROT G., MORVAN Y., PFLIMLIN F., 1985**
Le point sur la contamination du lait par les spores butyriques. Institut de l'Élevage. R.N.E.D. bovin.
Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **BERGERE J.L., SYS T. et VASSAL L., 1978**
Bactéries lactiques susceptibles d'inhiber la croissance de clostridium tyrobutyricum en culture et dans les fromages. Le lait, mai-juin.
- **CEMAGREF, INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, I.N.R.A., I.T.C.F., 1993**
Entre foin et ensilage : l'enrubannage. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **COGITORE A. 1983**
Traité de réglementation laitière. Ed. Sapin d'Or, Epinal, 36e éd.
- **F.N.P.L., 1983**
Ensilage et qualité fromagère du lait. Les butyriques.
Journée nationale d'information FNPL, 15 février 1983.
- **F.N.P.L. I.T.G., 1982**
Les butyriques. Synthèse bibliographique. Sept.
- **INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, R.N.E.D. Bovin, 1984**
Le point sur la pulpe surpressée. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, R.N.E.D. Bovin, 1985**
Le point sur l'ensilage d'herbe récolté à l'autochargeuse. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, R.N.E.D. Bovin, 1986**
Le point sur l'ensilage d'herbe coupe fine ressuyé ou préfané pour le troupeau laitier. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, ADEME, COMITÉ DES SOUS PRODUITS, R.N.E.D. bovin, 1992**
Les sous-produits - 10 synthèses. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **INSTITUT DE L'ÉLEVAGE, 1995**
Le point sur l'ensilage de maïs pour les vaches laitières. Technipel 149, rue de Bercy 75595 Paris cedex 12.
- **I.T.G., 1983**
Le crémage comme moyen de lutte contre la fermentation butyrique. I.T.G., Étude ZO 83/04/A.
- **KREULA M., 1979**
Ensilage AIV. Valio Laboratory Publications, n° 4 (Traduction GUNSETT O. et coll., publiée par ITG groupe Ouest).
- **VEISSEYRE R., 1975**
Technologie du lait. La Maison Rustique, Paris.

□ Flore coliforme

Les coliformes sont des germes d'origine fécale dont la présence dans le lait **révèle un manque d'hygiène. Les hygiénistes tolèrent un très petit nombre de coliformes dans les produits alimentaires** (protection de la santé du consommateur). Ces normes hygiéniques, très sévères dans certains pays, constituent une **contrainte pour la commercialisation**.

Une flore coliforme excessive est à l'origine de **défauts de gonflement et de mauvais goûts dans les fromages** plus particulièrement dans les fromages à pâte molle et les fromages fabriqués à partir de lait cru.

• Définition

La famille des **Entérobactériacées** regroupe un ensemble de germes dont la majorité sont des hôtes normaux de l'intestin des mammifères et dont **certaines espèces sont gravement pathogènes pour l'homme** (notamment parmi les Salmonelles et certaines E.Coli).

Éliminés par les fèces, ces germes peuvent persister plus ou moins longtemps dans le sol et les eaux et contaminer l'environnement.

Leur présence dans les aliments, résultant d'un manque d'hygiène, **révèle une contamination d'origine fécale** (récente ou lointaine) **et par conséquent un risque sanitaire**.

Les quatre genres de cette famille (Escherichia, Citrobacter, Klebsiella et Enterobacter) sont communément regroupés sous le nom de **coliformes**.

Possédant en commun la propriété de **fermenter le lactose avec production de gaz et d'acides** (lactique et acétique notamment), les Coliformes sont les Entérobactériacées **les plus fréquemment rencontrées dans le lait et les produits laitiers**.

Le développement des Coliformes s'accommode d'un large intervalle de température : croissance significative entre 10 et 45°C, optimum à 37°C. **Mais il est freiné par l'abaissement du pH** ; la croissance n'est plus possible à pH < 4,5. Si le lait n'est pas trop chargé en coliformes et contient suffisamment de streptocoques lactiques, ces derniers prennent rapidement le dessus.

Pas ou peu thermorésistante, la **flore coliforme est détruite par la pasteurisation conventionnelle** (72°C pendant 15 s).

Certains coliformes (en particulier E. coli) sont peu sensibles aux antibiotiques ; la présence dans le lait de résidus d'antibiotiques modifie l'équilibre normal de la flore microbienne au profit des coliformes.

Les coliformes sont très faiblement psychrotrophes ; dans le lait conservé à 4°C, la flore coliforme n'évolue pratiquement pas pendant les deux premiers jours mais son développement devient significatif ensuite, même lorsqu'elle est quantitativement peu importante.

• Détermination de la flore coliforme

Le **dénombrement de la flore coliforme du lait cru** est un moyen d'apprécier les conditions d'hygiène de la traite et l'efficacité du nettoyage et de la désinfection des équipements en contact avec le lait (depuis la traite jusqu'à la réception à l'usine).

Appliqué au lait pasteurisé et aux produits laitiers, le dénombrement de la flore coliforme est un des estimateurs les plus significatifs pour apprécier l'efficacité des traitements d'assainissement et la qualité hygiénique des produits : la présence de coliformes dans le lait pasteurisé est l'indice d'une pasteurisation insuffisante

ou d'une contamination postérieure au traitement de pasteurisation.

Le dénombrement des coliformes repose sur la mise en évidence de la production de gaz ou d'acide après culture pendant 48 h à 30°C sur un milieu lactosé rendu sélectif par addition de substances inhibant la plupart des autres espèces :

- **culture en tubes de bouillon lactosé** contenant du vert brillant et des sels biliaires, mise en évidence du dégagement gazeux dans une cloche renversée immergée dans le milieu (cloche de Durham) ;

- **culture sur plaques de gélose nutritive lactosée** contenant du désoxycholate et un indicateur (rouge neutre), mise en évidence de la production d'acide par virage de l'indicateur au niveau des colonies.

Pour détecter plus spécifiquement une contamination fécale récente, on dénombre les Escherichia coli sur milieux sélectifs mettant en évidence la β glucuronidase (milieux PTX, Rapid'E.coli, chromagat, pétrifilm, VRBL + MUG).

• Conséquences d'une flore coliforme excessive

Pour le consommateur

D'une façon générale, **les coliformes ne sont pas pathogènes** et ne constituent donc pas un risque pour la santé du consommateur. Cependant **une contamination massive** en certaines espèces peut être à l'origine d'intoxications alimentaires :

- **certaines souches de colibacilles** (E. coli) ont un effet entéropathogène chez le nourrisson (diarrhées) et, plus rarement, chez l'adulte ("maladie du voyageur") ;
- il ne faut pas perdre de vue que

la présence de coliformes, et notamment *Escherichia Coli*, est **un indicateur de la présence possible d'Entérobactéries pathogènes.**

Ces germes ne résistent pas aux traitements usuels d'assainissement du lait, et les réserves ci-dessus ne concernent par conséquent que le lait cru et les produits à base de lait cru, ou les produits contaminés au cours de leur fabrication.

Il va de soi que les **défauts d'aspect et de flaveur** provoqués dans certains produits (fromages en particulier, notamment à pâte molle) entraîneront une **insatisfaction du consommateur**, qui tendra à se détourner de ces produits.

Pour le transformateur

C'est en fromagerie qu'une flore coliforme excessive est le plus à craindre, le lait étant mis en œuvre à l'état cru ou après une thermisation insuffisante pour détruire complètement cette flore.

Très tolérante à la température (croissance entre 10 et 45°C), cette flore se développe dans les premières phases de la fabrication, avant d'être inhibée et partiellement détruite par l'acidification lactique.

La présence de résidus d'antibiotiques dans le lait peut favoriser ce développement en freinant l'acidification.

Lorsque le pH remonte au cours de l'affinage, la flore coliforme survivante peut se développer à nouveau de façon intense et être à l'origine de défauts plus ou moins marqués dans les fromages :

- la fermentation gazogène du lactose a pour effet l'apparition d'une **multitude de petits trous dans la pâte** et peut entraîner un gonflement important (pâtes molles prenant l'allure d'éponges), dit **gonflement précoce** par opposition au gonflement tardif

provoqué par la fermentation butyrique ;

- l'activité lipolytique et protéolytique de ces germes, ainsi que les autres produits de la fermentation du lactose, peuvent conférer au produit fini des **défauts de goût et de texture.**

Indépendamment de la dépréciation des produits qui en résulte, et même en l'absence de défauts organoleptiques très sensibles, l'importance de la flore coliforme dans le produit peut constituer une **sérieuse entrave à la commercialisation dès lors qu'elle dépasse les normes d'hygiène imposées par l'acheteur ou par la réglementation.**

• **Causes et prévention d'une flore coliforme excessive**

D'origine fécale et dispersés dans l'environnement, les coliformes sont véhiculés par la terre, les eaux (risque de pollution des puits par infiltration), le fumier, les poussières, les fourrages, les mouches, les mains du trayeur, la vaisselle laitière, etc.

Ils peuvent également se multiplier sur ces supports lorsque les conditions sont favorables : c'est notamment le cas lorsque des résidus de lait subsistent dans des équipements mal nettoyés, laissés à température ambiante (cas des installations de traite).

La limitation de la contamination du lait par les coliformes à la ferme repose sur :

- **une bonne hygiène de la traite et du logement**, notamment une préparation correcte des trayons avant la traite avec des animaux propres. **Un lavage insuffisant des mamelles**, surtout lorsqu'elles sont sales, peut apporter au lait quelques dizaines de coliformes par millilitre.

- **un nettoyage et une désinfection soignés des équipements :**

installation de machine à traire, matériels annexes (pots trayeurs, compteurs à lait...), canalisations, cuves de conservation... L'application de températures correctes lors des opérations de nettoyage doit permettre de se débarrasser des coliformes, qui sont thermosensibles.

Ce sont surtout les **défauts de conception ou de montage de l'installation de traite** qui sont à craindre, dans la mesure où ils peuvent conduire à l'existence de zones mortes peu accessibles aux solutions de nettoyage et à l'effet de la chaleur : c'est là que peuvent subsister des résidus de lait et se former de véritables levains de coliformes qui ensemençeraient ultérieurement le lait.

Un manque d'efficacité du nettoyage et de la désinfection, surtout par défaut de conception ou de montage, peut apporter au lait plusieurs milliers ou dizaines de milliers de coliformes par millilitre.

- **l'utilisation d'eau potable pour les opérations de nettoyage.** Il est important de vérifier la potabilité des eaux de réseaux privés (puits, forages).

- **une maîtrise des infections mammaires** qui peuvent contaminer le lait de troupeau ponctuellement, lors de mammites cliniques colibacillaires, ou de mammites subcliniques dues à des bactéries coliformes (très rare).

Un lait d'excellente qualité bactériologique ne contient pratiquement pas de coliformes.

• **Aspects réglementaires**

L'arrêté du 30 Mars 1994 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché, précise notamment les valeurs seuils et maximales en coliformes mesurées à 30°C et/ou en *Escherichia coli*.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **ALAIS Ch., 1984**
Science du lait. Ed. SEPAIC Paris, 4^e éd.
- **BERTIN C., 1983**
Évolution de la qualité bactériologique du lait réfrigéré lors de sa collecte. Labilait, Boisguillaume.
- **BIRO G., KATONA F., SZITA G., 1986**
Studies on the source of coliform, Escherichia coli and total bacteria contamination of machine milked milk. Microbiologie-Aliments-Nutrition, Oct-Déc 86, 265-269.
- **BRANDL E., 1978**
Enterobacteriaceae. Their significance for the bacteriological assessment of foods. Bull. FIL, doc. 108
- **CEPIL, 1992**
Les groupes microbiens d'intérêt laitier.
- **CNERNA**
Synthèse des rapports des groupes " Difficultés de fabrication et conservation du lait au froid „ et " Attitudes „ et des discussions de la commission. Commission qualité du lait.
- **COGITORE A., 1983**
Traité de réglementation laitière. Ed. Sapin d'Or, Epinal, 3e éd.
- **Comité Mixte FAO/OMS d'experts de l'hygiène du lait 1969**
3e rapport, Genève, 2228 avril .
- **GIRAUDET C., 1978**
Étude et prophylaxie des accidents de fromagerie dus à une contamination du lait à la ferme par des germes de souillure. Thèse Dr Vétérinaire, ENV Toulouse.
- **JACQUET J., COIFFIER O., 1984**
Coliformes et fromages à pâte molle. Microbiologie Aliments Nutrition, 1984, vol. 2, 165-169.
- **RICHARD J., GRATADOUX J.J., 1986**
Facteurs affectant la croissance des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. Science des Aliments, 6 (1986) n° H.S. VI, 33-42.
- **RONDININI G., GARZAROLI C., ZAMPIERI C., OTTOGALLI G., 1987**
Different characteristics of coliforms in dairy environment and dairy products. Microbiologie - Aliments - Nutrition, 1987, vol. 5, 101-104.
- **VEISSEYRE R., 1975**
Technologie du lait. Maison Rustique, Paris, 3e éd.
- **VIGNAIS G.V.F., 1978**
Flore coliforme dans les camemberts pasteurisés. Thèse Dt Vétérinaire, ENV Toulouse.

□ Germes pathogènes

Le lait peut être le véhicule de divers germes pathogènes, dont la persistance ou le développement dans le lait et les produits laitiers peut constituer un risque pour la santé du consommateur : risque d'infections ou d'intoxications, responsables de maladies ou de troubles plus ou moins graves.

La pasteurisation du lait, visant à détruire les germes pathogènes, a constitué un progrès décisif sur le plan hygiénique et **permet de livrer au consommateur des produits sains**. En France, la pasteurisation est fréquemment réalisée avec le couple temps-température de 15 s à 72°C.

Les responsables de la santé publique restent toutefois très vigilants, car :

- le lait cru est encore utilisé pour la consommation en nature et pour la fabrication de certains produits laitiers (fromages traditionnels notamment) ;

- le lait utilisé pour la fabrication des fromages subit souvent une simple **thermisation** (10-15 s vers 60-68°C), moins efficace que la pasteurisation ;

- il existe toujours un **risque de contamination** par des germes pathogènes postérieurement au traitement de pasteurisation.

L'examen des risques de contamination du lait ou des produits après le traitement thermique d'assainissement (pasteurisation) dépasse le cadre du présent manuel, et ils ne seront pas traités ici.

• **Origine de la contamination du lait par des germes pathogènes**

Les germes pathogènes peuvent être **présents dans le lait à l'intérieur de la mamelle** (vaches infectées) ou être **introduits par**

contamination (en provenance de l'environnement ou de l'homme) au cours de la traite et des manipulations du lait.

Présence dans le lait de vaches infectées

Les mammites conduisent au développement de germes pathogènes en grand nombre dans la mamelle et à leur présence dans le lait. C'est le cas fréquemment de staphylococcus aureus et des streptocoques, de certaines entérobactéries (E. coli) et beaucoup plus rarement Pseudomonas aeruginosa, Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes...

Plus rarement, la mamelle peut excréter des bactéries responsables d'une infection générale de l'organisme causée par Mycobacterium tuberculosis, Brucella, Coxiella burnetii, ou Salmonella notamment.

Contamination par l'environnement

Le sol, les litières, les aliments, les eaux, les déjections, ... peuvent constituer des réserves de germes pathogènes et contaminer le lait **par l'intermédiaire de l'animal** (poils, mamelles sales) **des poussières, des gouttelettes d'eau** (condensation, aérosols) etc.

C'est ainsi que les sporulés (B. cereus, C. perfringens) peuvent être apportés par **le sol et les litières** en particulier, les Salmonella et les sporulés par **les aliments**, les E. coli, Yersinia et Campylobacter par **les eaux ; les déjections** sont à l'origine de la contamination par de nombreux germes pathogènes (Salmonella, Campylobacter, Yersinia, Entérocoques, E. coli, C. perfringens, Listeria monocytogenes, etc).

Les équipements et la vaisselle laitière, s'ils sont mal nettoyés et désinfectés après usage, conser-

vent des résidus de lait permettant la croissance de nombreux germes.

Contamination par l'homme

Par les mains, les expectorations et les vêtements souillés, ou indirectement par la contamination de l'environnement, l'homme peut être l'agent de transmission de nombreux germes pathogènes.

• **Développement et persistance des germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers**

A l'exception de Mycobacterium bovis, de Brucella et des virus, de **nombreuses espèces de germes pathogènes peuvent se développer dans le lait (et les produits laitiers) si les conditions sont favorables**, et leur croissance peut être quelquefois très rapide.

L'abaissement de la température freine leur développement, qui est pratiquement stoppé au-dessous de 10°C en général. Mais la conservation à basse température (4°C) n'entraîne pas de destruction appréciable de ces germes. D'autre part, certains germes pathogènes sont psychrotrophes : Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica.

La pasteurisation assure la destruction des germes pathogènes (à l'exception des sporulés), à condition toutefois que le lait ne soit pas massivement contaminé, initialement ou par un développement important avant le traitement thermique.

Compte tenu de l'effet de dilution dans les laits de mélange, il faudrait des conditions exceptionnellement favorables pour permettre un développement tel que la pasteurisation n'assure pas une destruction complète de ces germes pathogènes.

L'acidification lactique inhibe le développement de nombreux germes pathogènes, notamment les colibacilles, les staphylocoques, les salmonelles, grâce à l'abaissement du pH et à l'action inhibitrice propre de certaines bactéries lactiques avec la production de substances bactériostatiques ou bactéricides telles que la nisine ou des bactériocines.

Une acidification rapide et poussée est toutefois nécessaire pour arrêter la croissance des germes pathogènes. Elle s'accompagne alors souvent d'une réduction progressive et quelquefois très sensible du nombre de germes.

Enfin, en fromagerie de lait non pasteurisé (lait cru ou lait thermisé), la plupart des germes pathogènes sont bloqués ou subissent une réduction importante à condition que l'acidification lactique se développe normalement : levains actifs, non ralentis par la présence de résidus d'antibiotiques ou de phages.

Par contre, certains pathogènes, notamment staphylococcus aureus, Escherichia coli, peuvent se développer de façon importante au cours de la fabrication si l'acidification est trop lente ou insuffisante.

Au cours de l'affinage, en fonction du pH, du taux de salage (jusqu'au cœur du fromage) et de la durée de l'affinage, les germes pathogènes subissent généralement une réduction plus ou moins marquée de leur nombre, mais leur disparition totale est rare.

On peut cependant considérer qu'un affinage long réduit le risque de persistance de germes pathogènes dans les fromages.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue que certains pathogènes produisent des toxines, souvent thermostables et qui, par conséquent, se retrouvent dans les produits même après destruction des germes par la pasteurisation. Les plus importantes sont les exotoxines sécrétées par les

staphylocoques à coagulase positifs ; la conservation du lait à basse température constitue une protection efficace contre ce risque.

Certaines entérobactéries renferment des endotoxines, d'ailleurs moins toxiques, qui ne sont libérées qu'après la lyse du germe ; elles peuvent être à l'origine d'intoxications en cas d'ingestion massive.

• La prévention et les principaux risques dus aux pathogènes

La prévention repose avant tout sur :

- un bon état sanitaire du troupeau et du personnel manipulant le lait ;
- une bonne hygiène générale sur l'exploitation et en particulier au niveau de la traite ;
- la conservation du lait au froid jusqu'à son utilisation.

C'est la pasteurisation du lait qui constitue pour le consommateur la meilleure garantie de sécurité hygiénique, à condition que les mesures les plus rigoureuses soient prises pour éviter toute contamination ultérieure.

En cas de fabrication de produits (fromages notamment) à partir de lait non pasteurisé, tout doit être mis en œuvre dans le processus de transformation pour éviter tout facteur susceptible de favoriser le développement des pathogènes éventuellement présents. Le pH et la température notamment jouent un rôle important de ce point de vue.

Les principaux risques pour le consommateur en l'absence de recontamination après pasteurisation sont associés à la consommation :

- de lait cru ou de produits à base de lait cru ;
- de fromages dont la fabrication a comporté des difficultés d'acidification ;

- de poudres de lait riches en toxines staphylococciques.

Un certain nombre de maladies dont les agents sont essentiellement disséminés par l'homme lui-même ne présentent plus guère qu'un intérêt historique en raison des progrès de l'hygiène et de la médecine humaines. C'est le cas notamment :

- des fièvres typhoïde et paratyphoïde dues à des salmonelles (S. typhi et S. paratyphi),
- des infections à streptocoques du groupe A (érysipèle, scarlatine, angines, etc.) ;
- de la diphtérie (due à Corynebacterium diphtheriae) ;
- de la tuberculose humaine (due à Mycobacterium tuberculosis) ;
- des dysentéries bactériennes (dues à des Shigella).

Il en est de même pour les maladies contagieuses telles que :

- la tuberculose bovine (due à Mycobacterium bovis)
- la brucellose (due à des Brucella)

qui sont en voie de disparition à la suite des plans de prophylaxie mis en place depuis de nombreuses années pour leur éradication.

Le risque d'infection par *Coxiella burneti* (agent de la fièvre Q et responsable d'avortements infectieux chez la vache) retient aujourd'hui l'attention des hygiénistes. Ce germe pathogène, détruit par la pasteurisation, peut être à l'origine d'un syndrome grippal chez l'homme. L'absence de cas clinique récent dans l'exploitation fait partie des conditions exigées pour la vente de lait cru destiné à la consommation en l'état.

Les risques actuels sont essentiellement des risques de gastroentérites dues à des infections et/ou à des intoxications se traduisant généralement par des diarrhées, nausées et vomissements, céphalées, etc., quelquefois par des symptômes plus graves (en particulier chez le jeune enfant, le nourrisson, les personnes âgées ou immunodéprimées).

La plupart des germes incriminés produisent des toxines, dont l'accumulation dans le lait ou les produits laitiers résulte d'un développement important du germe responsable : la population de ce germe doit avoir atteint quelques 10^5 voire 10^6 pour provoquer une entérotoxémie chez le consommateur.

Lorsque le lait est soumis à la pasteurisation, l'accident ne peut provenir que d'une prolifération du germe avant sa destruction (les toxines sont généralement thermostables et persistent dans le milieu) ou d'une contamination ultérieure suivie de conditions favorables à la prolifération. Il s'agit alors de mauvaises pratiques de manipulation et/ou de conservation à l'usine, dans le commerce ou chez l'utilisateur (ménage ou collectivité).

Lorsque le lait n'est pas assaini par la pasteurisation la contamination initiale prend une grande importance.

C'est le cas notamment en fromagerie de lait cru ou thermisé, où des difficultés d'acidification dues à la présence de résidus d'inhibiteurs, à la contamination par des phages ou à l'utilisation de souches trop lentes peuvent maintenir des conditions favorables au développement de certains pathogènes (au voisinage de leur température optimale de croissance en général).

Actuellement, les hygiénistes accordent une attention particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des cas, à certains pathogènes, en particulier *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*.

• *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Risque pour la santé publique et réglementation

Certaines souches de *S. aureus* produisent des **entérotoxines thermostables** qui peuvent entraîner des **toxi-infections**

alimentaires, caractérisées par des vomissements violents ou des coliques survenant rapidement (30 minutes à 8 heures) après l'ingestion de l'aliment contaminé. Une hospitalisation est parfois nécessaire en cas de complication. **Les produits laitiers font partie des aliments souvent impliqués dans ce type de toxi-infection.**

La réglementation actuelle, découlant de la Directive sanitaire C.E.E. 92/46, fixe les critères auxquels doivent satisfaire les laits collectés et les produits laitiers lors de leur mise sur le marché (voir tableau en fin de paragraphe). Pour les fromages au lait cru ou thermisé, et pour toutes les pâtes molles, le dépassement de la norme M implique une recherche de souches entérotoxigènes ou de toxines staphylococciques, dont la mise en évidence conduit au retrait du marché de tous les lots incriminés.

Caractéristique de la bactérie

Ces bactéries ne se multiplient pas à basse température et à des pH très faibles. Par contre, la production de toxines, en phase exponentielle de croissance de *S. aureus*, demande des conditions plus favorables (températures et pH plus élevés). Les fromages qui ont des pH au démouillage élevés ou présentent des remontées de pH au cours de l'affinage sont donc très sensibles au développement des staphylocoques.

Conditions de croissance de *S. aureus* et de production de toxines

	Croissance	Production de toxines
température optimale	37°C	40 à 45°C
température minimale	6°C	10°C
pH minimum	4	6,5

D'autre part, les staphylocoques peuvent se développer dans des milieux hostiles à de nombreuses bactéries : faible humidité, milieu très salés (jusqu'à 10 %).

La croissance des staphylocoques, peu compétitifs, est inhi-

bée par le développement des bactéries lactiques qui acidifient le milieu et produisent des substances inhibitrices des staphylocoques. Il est donc très important de bien maîtriser le processus de fabrication utilisant les levains lactiques.

Principales sources de contamination du lait et des fromages

***S. aureus* est typiquement une bactérie à réservoir mammaire**, persistant dans les quartiers infectés et sur les trayons crevasés (voir chapitre 2, paragraphe sur les mammites). Son transfert des vaches infectées aux vaches saines s'opère essentiellement pendant la traite ; par les manchons trayeurs ou le lait lui-même (contamination croisée), par les lavettes uniques ou non désinfectées, ou par les mains du trayeur.

Les infections mammaires à *S. aureus* représentent donc la principale source de contamination du lait à la production : un lait de quartier infecté contient en moyenne 10^3 à 10^4 , voire 10^5 bactéries/ml. La prévalence de ces infections détermine donc une part très importante du niveau de contamination du lait de troupeau. La contamination et les infections superficielles des trayons constituent également des sources épisodiques de contamination du lait dont l'importance quantitative est mal connue. Normalement, on n'ob-

serve pas de développement pendant le stockage du lait refroidi, *S. aureus* ne se multipliant pas au-dessous de 6°C.

Pendant la transformation, outre la contamination de la matière

première, l'homme est le principal vecteur de la bactérie : 10 à 40 % de la population est porteuse de *S. aureus* (abcès, furoncle, acné, angine, rhinite, plaie suppurée...). Cela impose donc une très grande vigilance en matière d'hygiène dans les ateliers. Les autres sources de contamination de l'environnement (matériel, air...) semblent n'avoir qu'un rôle mineur.

Les paramètres de fabrication de certains types de fromages (vitesse et niveau d'acidification, température, teneur en sel, humidité...) peuvent être assez favorables au développement de *S. aureus*. Lorsqu'il s'agit de fromages au lait cru, la maîtrise de la contamination de la matière première est alors primordiale pour obtenir des produits conformes à la réglementation.

Moyens de maîtrise de la contamination du lait à la production

Surveillance des laits collectés : Selon l'arrêté du 18 Mars 1994, le contrôle du respect du critère *S. aureus* sur le lait peut être effectué à partir de prélèvements réalisés soit lors de la collecte à l'exploitation de production, soit lors de l'admission à l'établissement de transformation (article 15). Dans le cas de collectes essentiellement destinées à la fabrication de fromages sensibles au développement de *S. aureus*, il est nécessaire d'identifier les livraisons régulièrement contaminées, afin de mettre en place des mesures d'assainissement adaptées dans les élevages concernés. Un plan de surveillance reposant sur des contrôles réalisés au niveau de chaque exploitation est alors justifié. Pour estimer correctement la variabilité et le niveau de contamination des laits de troupeau, la fréquence minimale de ces contrôles est mensuelle, et il faut disposer d'au moins trois résultats consécutifs par élevage.

Intervention dans les élevages livrant un lait régulièrement contaminé : Lorsque le lait de

troupeau, destiné à la fabrication de lait cru, est fortement contaminé par *S. aureus*, il est nécessaire d'identifier les animaux infectés afin de compléter le plan de lutte préventif et curatif classiquement recommandé contre les mammites (cf chapitre 2, paragraphe mammites). Le contrôle des numérations cellulaires, peu coûteux mais non spécifique, permet de détecter les mammites subcliniques. Il peut être utilisé pour un premier repérage des animaux susceptibles d'être infectés par *S. aureus*, dont le lait devra par la suite faire l'objet d'analyses bactériologiques. Les analyses bactériologiques sont coûteuses et contraignantes (réalisation de prélèvement de laits de quartier en conditions aseptiques), mais elles constituent actuellement la seule méthode fiable pour identifier les animaux excréteurs. Ainsi, des mesures de lutte pourront être mises en place de manière plus ciblée sur les animaux atteints d'infections mammaires à *S. aureus*, comme la réforme d'animaux considérés incurables, la mise en place d'un ordre de traite, la possibilité d'écarter le lait d'animaux infectés sur plusieurs quartiers, un tarissement anticipé de certains animaux...

• *Listeria monocytogenes*

Risque pour la santé publique

Le genre *Listeria* comprend plusieurs espèces : *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovi*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*... **Seule *Listeria monocytogenes* peut provoquer la listériose, maladie relativement rare** (on recense environ 700 à 800 cas de listérioses humaines en France par an), **mais souvent mortelle** (environ 30 % des cas). Son caractère pathogène est particulier, elle est capable de coloniser certains organes cibles (encéphales, organes reproducteurs...) via le sang ou le système lymphatique.

Chez l'homme, la listériose n'af-

fecte pratiquement pas l'adulte en bonne santé, mais une population «à risque» (femmes enceintes, nouveau-nés, personnes âgées ou immunodéprimées). La listériose se caractérise par des méningites, encéphalites, et plus rarement des septicémies. Elle provoque aussi des avortements, et pour les nouveau-nés des séquelles neurologiques graves.

***Listeria* peut être transmise à l'homme par des produits alimentaires consommables en l'état :** charcuteries, coquillages, fromages, légumes crus... Pour cette raison, la réglementation exige l'absence de *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers mis sur le marché.

Caractéristique de la bactérie

***Listeria monocytogenes* est une bactérie aérobie, anaérobie facultative. Elle peut se développer à des températures basses, inférieures à 4°C.** Il est donc primordial de bien maîtriser la chaîne du froid, de la production jusqu'au consommateur, et d'accompagner cette chaîne du froid par des mesures d'hygiène draconiennes.

Sa croissance est bloquée à des pH inférieurs à 5,5. La coagulation lactique des fromages assure dans une certaine mesure une forme de protection contre *Listeria*. Mais certains fromages ne bénéficient pas totalement d'une telle protection, comme par exemple les fromages à pâte molle. De plus, les fromages qui font l'objet de manipulations au cours de l'affinage (fromages à croûte lavée, par exemple) présentent plus de risques de recontaminations.

En dehors des conditions de multiplication, ***Listeria monocytogenes* résiste à de nombreux facteurs physiques** (températures basses...), **chimiques** (pH faibles...) ou **biologiques**. Par exemple, elle survit en présence de 10 % de sel, ce qui explique que les bains de saumure peu-

vent être des vecteurs de *Listeria* et qu'il faut prendre des précautions lors des renouvellements et du filtrage de la saumure, et sur la concentration en sel.

Sources de contamination du lait et des fromages

La contamination des fromages par *Listeria monocytogenes* résulte de trois origines principales :

- la contamination du lait cru entrant dans la fromagerie :

cette source de contamination est à prendre en compte pour les fabrications au lait cru, *Listeria* étant détruite par une pasteurisation bien réalisée ;

- la recontamination et le développement des *Listeria* au cours de la fabrication des fromages ;

- des contaminations possibles par l'environnement de l'atelier.

Au niveau de la production, deux sources de contamination du lait peuvent exister :

- les sources extramammaires liées notamment à la contamination des ensilages mal conservés, aux animaux excréteurs de *Listeria* par les fèces, à l'eau.

Ces vecteurs contaminent l'environnement proche de l'animal et du lait, où *Listeria* peut se multiplier. La contamination du lait est alors possible notamment au cours de la traite,

- les sources intramammaires existent sous forme de mammites subcliniques clairement identifiées chez la vache. Cette source de contamination du lait de troupeau, peu fréquente, est durable tant que les animaux infectés sont en production.

Au niveau de la fabrication, *Listeria* peut être présente dans l'environnement interne et externe de la fromagerie, aussi tous les éléments de transit entre l'extérieur et l'intérieur seront particulièrement concernés. Une autre source potentielle est constituée par le lactosérum lorsque celui-ci provient d'une fabrication elle-même contaminée, et qu'il est uti-

lisé comme levain. Les vecteurs de contamination sont nombreux et d'origine diverses, comme les vecteurs animés (hommes, animaux, véhicules...) ou inanimés (eau, air, lait, terre, caquettes, bidons...).

Maîtrise de la contamination du lait à la ferme

Les moyens de maîtrise de la contamination du lait par *Listeria monocytogenes* sont les suivants :

- une bonne conservation de l'ensilage en respectant les règles de confection et de reprise des ensilages (propreté, tassement, herméticité de la fermeture...),

- un respect des conditions d'hygiène du logement (entretien journalier des litières et des aires d'exercice par exemple) permettant d'avoir constamment des animaux très propres,

- une hygiène de traite rigoureuse (lavage essuyage des trayons, désinfection des lavettes entre les traites, désinfection des trayons après la traite...),

- un nettoyage et une désinfection rigoureuse du matériel en contact avec le lait, en utilisant de l'eau potable,

- si le lait de troupeau est régulièrement contaminé par *Listeria monocytogenes*, on peut suspecter une origine intramammaire. Il faut alors identifier l'animal excréteur par des analyses bactériologiques et réformer l'animal ainsi identifié.

• *Salmonella*

Risque pour la santé publique

Dans les pays développés, la salmonellose est une des toxoinfections alimentaires les plus fréquentes. Environ 8000 foyers de toxoinfections alimentaires collectives (TIAC) causées par les salmonelles sont détectés annuellement en France. Ils ne recouvrent vraisemblablement pas la totalité des infections, la plupart des cas familiaux n'étant

pas recensés. Les salmonelles, autres que *S. typhi* et *S. paratyphi*, provoquent des gastroentérites, après une incubation de 24 heures en moyenne (6 à 48 heures). Par ordre de fréquence, les symptômes sont des coliques, diarrhées, nausées, fièvres qui durent en moyenne 2 à 4 heures. Bien que la salmonellose ne nécessite généralement pas une hospitalisation, elle peut cependant être très grave, voire fatale, pour les individus faibles ou affaiblis (nourrissons, personnes âgées, immuno-déprimés...). Les produits alimentaires les plus souvent en cause dans les cas recensés sont d'abord les ovoproduits, mais également la viande de volaille, les produits carnés provenant des autres espèces et les produits laitiers.

Quelques caractéristiques de la bactérie

Les salmonelles sont résistantes à de nombreux antibiotiques, ce qui rend la prophylaxie médicale chez l'homme comme chez l'animal pratiquement inefficace. Une bonne acidification lactique ainsi que la maîtrise de la chaîne du froid (températures inférieures à 8°C) entraîne une inhibition de la croissance des salmonelles. Elles sont assez sensibles au sel, cependant leur présence est possible dans les bains de saumure jusqu'à une concentration de 3,2 %.

Dissémination des salmonelles en élevage

Au sein d'un élevage, les principales sources de salmonelles sont les fèces des animaux malades ou porteurs asymptomatiques (voir chapitre 2 paragraphe salmonellose). L'excrétion est particulièrement élevée en période péripartum. En dehors de cette période, les connaissances sur la fréquence, la cinétique et les facteurs déterminants de l'excrétion par les porteurs chroniques sont très limitées. Les vecteurs essentiels sont les aliments souillés (eau des abreuvoirs, four-

rages) et surtout les prairies ou les cultures fourragères consommées après épandage de déjections contaminées. La contamination des aliments concentrés a également été observée.

D'un élevage à l'autre, la dissémination des salmonelles s'effectue par l'eau ou par les aliments solides. Enfin, la contamination inter-espèces est possible.

La survie des salmonelles dans les effluents d'élevages dépend avant tout de leur température. Les bactéries peuvent subsister après l'excrétion pendant une durée très longue, parfois jusqu'à six mois. Mais la persistance d'une quantité suffisante (103 bactéries/ml) pour représenter un risque pour les animaux n'excède généralement pas deux à trois mois.

Moyens de maîtrise de la contamination

Les mesures strictes d'hygiène appliquées pendant la transformation, ainsi que le respect de la chaîne de froid, permettent de limiter les risques de contamination des produits laitiers par les salmonelles. Une pasteurisation bien conduite détruit les salmonelles présentes dans les laits crus. Mais le problème de la contamination de la matière première reste entier pour la filière «lait cru». Il n'existe pas de données publiées sur la fréquence de cette contamination dans les laits collectés en France, mais des plans de surveillance sont mis en place par les entreprises fabriquant des produits sensibles, afin de trier les exploitations livrant régulièrement un lait sain.

Très peu d'études ont été conduites sur les facteurs de risque de la contamination du lait à la production, qui dépendent vraisemblablement de l'incidence de la présence d'animaux excréteurs par les fèces dans les troupeaux, et plus généralement des conditions d'hygiène dans les exploitations. La présence d'animaux excréteurs par le lait est possible mais semble très rare.

• *Escherichia coli*

(E. coli) (voir aussi paragraphe coliformes)

Risque pour la santé publique

Les E. coli sont des hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. E. coli regroupe des agents infectieux très hétérogènes aux potentialités pathogènes multiples. Certaines souches sont virulentes, d'autres appartiennent à la flore commensale et peuvent être responsables d'infections opportunistes chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies.

Parmi les souches qui provoquent des entérites, on peut classer selon le mécanisme d'infection :

- les souches entéropathogènes (EPEC),
- les souches entéroinvasives (EIEC),
- les souches entérotoxigènes (ETEC),
- les souches entérohémorragiques (EHEC).

Les produits laitiers doivent satisfaire à des seuils de contamination en E. coli au-delà desquels les produits incriminés sont retirés du marché.

Principales sources et moyens de maîtrise de contamination

Les matières fécales animales sont contaminées par des bactéries coliformes (entre 100 000 et 1 million par gramme) **avec une grande majorité d'E. coli** (environ 90 %). Dans les élevages, cette contamination entraîne une souillure inévitable des litières. Il sera alors important de limiter leur multiplication dans les litières grâce à la maîtrise de l'ambiance et de la ventilation dans les bâtiments, afin d'éliminer l'humidité, la chaleur. L'hygiène de la traite et des bâtiments est aussi un moyen d'éliminer des E. coli autant pour lutter contre les infections mammaires que pour éviter la contamination du lait.

E. coli est responsable de mammites graves, avec signes cliniques, qu'il est nécessaire de traiter rapidement, faute de quoi, on risque une perte de la capacité de production (perte de quartiers fréquent chez la vache), voire de l'animal. Dans ce cas, le lait n'est pas mis dans la cuve de réfrigération, il n'est donc pas a priori une source de contamination du lait de fabrication, sauf éventuellement dans la phase initiale de l'infection.

Le matériel en contact avec le lait peut être une source importante de bactéries coliformes dans le lait, lorsqu'il est mal nettoyé (présence de lait dans les canalisations, caoutchouterie poreuse, mauvaise conception du matériel). Dans ce cas, la proportion d'E. coli est beaucoup plus faible que dans les matières fécales (de l'ordre de 10 à 20 %).

L'eau utilisée pour l'abreuvement et le nettoyage des installations est aussi un vecteur non négligeable de coliformes. Lorsque la pollution est d'origine fécale, la présence d'E. coli est importante.

Enfin, **le maintien du lait** en dessous de 4°C doit être bien maîtrisé, sinon les coliformes peuvent se développer rapidement en particulier lors de gros défauts de réfrigération avec des températures supérieures à 10°C.

• *Autres germes pathogènes d'intérêt actuel*

- **Les Yersinia**, notamment *Y. enterocolitica*, responsable de l'entérocologie chez le jeune enfant, dont le caractère psychrotrophe permet le développement dans les laits conservés à basse température, peuvent constituer un risque pour les consommateurs de lait cru.

- **Les Campylobacter** bien que ne se développant pas à basse température, peuvent être à l'origine de gastroentérites aiguës (*C. jejuni*) chez les consommateurs de lait cru.

- Des gastroentérites dues aux toxines de sporulés tels que *Bacillus cereus* ou *Clostridium perfringens* ont été signalées ; elles impliquent (comme pour les staphylocoques) un développement important du germe dans le milieu et résultent de mauvaises pratiques concernant le produit.

• Détection

A côté des méthodes quantitatives de référence évoquées précédemment, des méthodes qualitatives ou quantitatives rapides sont actuellement en cours de développement. Elles reposent principalement sur l'immunologie et la biochimie moléculaire.

1 - Applications microbiologiques de l'immunologie

Les réactions antigène-anticorps, utilisées dans le domaine de la pathologie infectieuse et de plus en plus dans celui de la microbiologie alimentaire, ont connu un essor important grâce à la mise au point et la production par différents laboratoires d'anticorps monoclonaux dirigés contre des fractions antigéniques spécifiques de microorganismes, notamment pathogènes, ou de leurs toxines.

Selon la nature de l'antigène et la technique de marquage, on distingue les méthodes suivantes :

- **La précipitation** lorsque l'antigène est soluble (donc invisible) et forme avec les anticorps spécifiques un complexe insoluble qui apparaît sous forme d'un précipité. C'est une réaction très simple à mettre en œuvre mais souvent assez peu sensible. La réaction de précipitation peut être réalisée en milieu liquide (détermination des groupes de Lancefield des streptocoques par exemple) ou solide (mise en évidence de toxines de clostridium).

- **L'agglutination** lorsque les antigènes forment entre eux, grâce aux anticorps qui leurs sont spécifiques, des ponts qui de proche en proche constituent un réseau, l'ensemble se traduisant par l'apparition d'un agglutinât visible à l'œil

nu. La détermination des sérotypes de certaines bactéries, Salmonelles en particulier, est réalisée grâce à des réactions d'agglutination sur lame ou en tube.

- **L'immunofluorescence** qui consiste à coupler quelquefois l'antigène, mais le plus souvent l'anticorps, à une substance fluorescente afin de détecter sa présence dans le prélèvement.

- **L'ELISA** (Enzyme Linked Immuno Sorbent-Assay) qui permet de visualiser une réaction immunologique grâce à une enzyme. Le substrat spécifique de cette enzyme libère en sa présence un composé coloré. L'apparition d'une couleur signe donc une réaction positive, et l'intensité de coloration obtenue est fonction de la quantité d'anticorps ou d'antigène ayant réagi. Parmi ce type de réactions, la technique «sandwich» (antigène pris en sandwich entre deux anticorps) est la plus utilisée. La technique ELISA présente de nombreux avantages : grande sensibilité, automatisation par lecture de la densité optique, relative simplicité... Cependant, sa spécificité est liée à celle du ou des anticorps utilisé(s) (risques de croisement avec des antigènes d'autres bactéries que celles recherchées) et toutes ces techniques n'interviennent qu'après des étapes d'extraction (cas des toxines bactériennes comme celles de *S. aureus*) ou de culture (Salmonelles, *Listeria*...).

2 - Identification des micro-organismes par hybridation des sondes nucléiques

Cette identification est basée sur la constitution des acides nucléiques (ADN ou ARN) constituant le génome. La spécificité de cette méthode d'hybridation moléculaire repose sur la propriété des chaînes d'acides nucléiques simple brin de ne s'hybrider qu'avec des fragments de séquences complémentaires. Pour réaliser l'identification, il faut disposer de l'ADN de la souche inconnue et de l'ADN d'une souche de référence. Ce dernier constituant la sonde est

marqué pour permettre la détection de l'hybride formé. Sa révélation est réalisée par autoradiographie ou dans le cas de sondes «froides» par une réaction enzymatique colorée, cette dernière étant la plus utilisée.

Les différentes étapes de la manipulation sont les suivantes :

- préparation de la sonde : extraction de l'ADN de la souche connue et marquage ;

- préparation de l'ADN cible : extraction et dépôt sur une membrane ;

- hybridation par mise en contact de la sonde avec la membrane pour la formation d'un hybride stable ;

- révélation de la membrane : lavage pour éliminer la sonde en excès, les hybrides non spécifiques et mise en évidence de l'hybride recherché.

Pour développer cette technique, des progrès importants ont été obtenus grâce à l'amplification d'ADN par PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle consiste en la synthèse répétée (jusqu'à 40 fois) d'une portion d'ADN que l'on veut détecter. A partir de quantités extrêmement faibles d'ADN, jusqu'à une molécule, l'amplification des sondes spécifiques est suffisante pour permettre une détection sensible même par sondes «froides».

Des kits d'analyse actuellement opérationnels pour des analyses en routine sont disponibles par exemple pour l'identification des bactéries lactiques, la détection d'*E. coli* entérotoxigène ou de *Listeria monocytogenes*.

• Aspects réglementaires

Décret 77-1026 du 07.09.1977

Il est interdit de détenir sans motifs légitimes, d'exposer, de mettre en vente ou de vendre sous la dénomination de «lait pasteurisé» du lait qui n'a pas été débarrassé de tous ses microbes

pathogènes par un procédé ayant reçu l'approbation du conseil supérieur d'hygiène publique de France.

Arrêté du 18 Mars 1994 relatif à l'hygiène de la production et de

la collecte du lait. En plus des prescriptions de santé animale, d'hygiène de l'exploitation de production et d'hygiène de la traite, de l'entreposage et de la collecte du lait, cet arrêté définit les critères

auxquels doit satisfaire le lait lors de la collecte à l'exploitation de production. Le lait collecté destiné à la fabrication de produits au lait cru doit satisfaire aux critères précisés dans les tableaux suivants.

Arrêté du 30 Mars 1994 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché .

1 - Laits de consommation

	Listeria monocytogenes dans 25 g (1)	Salmonella spp. dans 25 g (1)	Staphylococcus aureus (par ml) (1)	Coliformes 30°C (par ml) (1)	Streptocoques β -hémolytiques (dans 0,1 ml) (1) (2)	Teneur en germes (par ml)	
						à 21°C (1)	à 30°C
Lait cru de vache destiné à la consommation en l'état	-	Absence n = 5 c = 0	m = 100 M = 500 n = 5 c = 2	m = 100 M = 1000 n = 5 c = 2	Absence n = 5 c = 0	-	< 50 000 (3)
Lait pasteurisé	Absence n = 5 c = 0	Absence n = 5 c = 0	-	m = 0 M = 5 n = 5 c = 1	-	m = 5×10^4 M = 5×10^6 n = 5 c = 1	-

(1) n = nombre d'unités dont se compose l'échantillon :

m = valeur seuil pour le nombre de bactéries par millilitre : le lot est acceptable ou considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans toutes les unités d'échantillon ne dépasse pas m.

M = valeur maximale admissible pour le nombre de bactéries par millilitre : le lot est déclaré non satisfaisant si le nombre de bactéries est égal ou supérieur à M dans une ou plusieurs unités de l'échantillon.

c = nombre d'unités de l'échantillon dont la teneur en bactéries peut être comprise entre m et M, le lot étant considéré comme acceptable si la teneur en bactéries des autres unités de l'échantillon est égale ou inférieure à m.

(2) Sont retenus comme streptocoques β -hémolytiques ceux appartenant aux groupes A, B, C, G et L de Lancefield.

(3) Moyenne géométrique constatée sur une période de deux mois avec au moins deux prélèvements par mois ; en tant que de besoin, l'aptitude à la conservation peut être estimée après incubation à 55°C.

2 - Fromages

	Listeria monocytogenes (1)	Salmonella spp. (1)	Staphylococcus aureus (par g) (1) (2)	Escherichia coli (par g) (1)	Coliformes à 30°C (par g) (1)
Fromages à pâte dure au lait traité thermiquement	Absence dans 1 gramme (g) n = 5 c = 0	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	-	-	-
Fromages à pâte dure au lait cru et au lait thermisé	Absence dans 1 gramme n = 5 c = 0	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	m = 1 000 M = 10 000 n = 5 c = 2	m = 10 000 M = 100 000 n = 5 c = 2	-
Autres fromages au lait cru et au lait thermisé	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	m = 1 000 M = 10 000 n = 5 c = 0	m = 10 000 M = 100 000 n = 5 c = 0	
Fromages à pâte molle au lait traité thermiquement	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	m = 100 M = 1 000 n = 5 c = 2	m = 100 M = 1 000 n = 5 c = 2	m = 10 000 M = 100 000 n = 5 c = 2
Fromages à pâte persillée au lait traité thermiquement	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	m = 100 M = 1 000 n = 5 c = 0	m = 10 000 M = 100 000 n = 5 c = 0	-
Fromages non affinés au lait traité thermiquement	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	Absence dans 5 grammes n = 5 c = 0	m = 10 M = 100 n = 5 c = 0		

(1) voir légende tableau précédent.

(2) Pour les fromages au lait cru et au lait thermisé et fromages à pâte molle, tout dépassement de la norme M pour Staphylococcus aureus doit entraîner une recherche de la présence éventuelle de toxines staphylococciques dans ces produits. La mise en évidence d'entérotoxines staphylococciques entraîne le retrait du marché du lot concerné, qui est considéré comme impropre à la consommation en l'état.

3 - Autres produits laitiers

	Listeria monocytogenes	Salmonella spp. (1)	Staphylococcus aureus (1)	Coliformes 30°C (1)	Teneur en germes à 21°C (1)	Teneur en germes à 30°C (1)
Poudre de lait	-	Absence dans 25 grammes n = 10 c = 0	m = 10 M = 100 n = 5 c = 2	m = 0 M = 10 n = 5 c = 2	-	-
Autres produits en poudre à base de lait	Absence dans 1 gramme	Absence dans 25 grammes n = 5 c = 0	-	m = 0 M = 10 n = 5 c = 2	-	-
Produits liquides à base de lait traités thermiquement et non fermentés	Absence dans 1 gramme	idem	-	m = 0 M = 5 n = 5 c = 2	m = 50 000 M = 100 000	-
Produits liquides à base de lait traités thermiquement et fermentés	idem	idem	-	m = 0 M = 5 n = 5 c = 2	-	-
Produits glacés à base de lait	idem	idem	m = 10 M = 100 n = 5 c = 2	m = 10 M = 100 n = 5 c = 2	-	m = 100 000 M = 500 000 n = 5 c = 2
Beurre à base de lait ou crème pasteurisés	idem	idem		m = 0 M = 10 n = 5 c = 2		

(1) voir légende tableau précédent.

RÉFÉRENCES DOCUMENTAIRES

- **ARILAIT-INSTITUT DE L'ÉLEVAGE (1992)**
Journée thématique «Listeria» du 20 Octobre 1992 - Résumés des interventions - 87 pages
- **ARILAIT-INSTITUT DE L'ÉLEVAGE (1995)**
Journée thématique «Filière laitière et staphylocoques dorés - Bilan des recherches» du 30 Mars 1995 - Résumés des interventions, 89 pages
- **BIND J.L. (1989)**
La listériose. Bull. GTV, 5, 59-77
- **BRYAN F.L. (1982)**
Epidemiology of milkborne diseases. J. of Food Protection 46, 7 (juill.), 637649
- **DELMAS C.L. et VIDON D.J.M. (1982)**
Contamination du lait par Yersinia enterocolitica en Alsace. Le Lait, 62, 688704.
- **DOYLE M.P. et ROMAN D.J. (1982)**
Prevalence and survival of Campylobacter jejuni in unpasteurized milk. Applied and Environmental Microbiology, 44, 5 (nov.), 11541158
- **DURAND M.P. (1992)**
Listeria - Listeriose et produits laitiers. Bull. Soc. Vet. Prat. de France, 1^{re} partie : T76, n° 10, 517-539 - 2^e partie : T77, n° 1, 15-37
- **F.I.L. (1978)**
Bacteria pathogenic to man in milk and cheese. FIL, FDoc 70
- **F.I.L. (1980)**
Behaviour of pathogens in cheese. Bull. FIL, Doc 122 (revised)
- **FIL-IDF (1992)**
Bacillus cereus in milk and milk products. Bulletin of the International Dairy Federation, n° 275, 48 pages
- **FIL-IDF (1993)**
Bacillus cereus in milk and milk products. Bulletin of the International Dairy Federation, n° 287, 59 pages
- **FIL-IDF (1994)**
The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. FIL-IDF - S.I. 9405, 215 pages.
- **HILL B.M. (1983)**
Enterotoxin producing Staphylococcus aureus isolated from milk and dairy products. New Zealand J. of Dairy Sci. and Technology, 18, 5962

- **KIODIS P. et DOYLE M.P. (1984)**
Procedure for increased recovery of *Campylobacter jejuni* from inoculated unpasteurized milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 47, 3 (mars), 455-460
- **KORNACKI J.L. et MARTH E.H. (1982)**
Foodborne illness caused by *Escherichia coli* : a review. *J. of Food Protection*, 45, 11 (nov), 1 051-1 067
- **LABIE CH. (1983)**
Hygiène dans les industries des aliments d'origine animale-RTVA, 189 (juin)
- **LOVETT J. BRADSHAW J.G. et PEELER J.T. (1982)**
Thermal inactivation of *Yersinia enterocolitica* in milk. *Applied and Environmental Microbiology*, août, 517-519
- **MARSHALL B., PIGNAULT A., LE QUERREC E., CLUZAN S. et LEPOUTRE A. (1992)**
Les toxi-infections alimentaires collectives en 1991. *ZEH*, 32, 153-156
- **MARTEL J.L., SAVEY M. (1992)**
Salmonellose des ruminants et santé humaine. *Point Vétérinaire*, 24 (145), 201-206
- **MORISSE J.P., COTTE J.P., ARGENTE G. et DANIEL L. (1992)**
Approche épidémiologique de l'excrétion de salmonelles dans un réseau de 50 exploitations bovines laitières avec ou sans antécédents cliniques. *Ann. Méd. Vét.* 136, 403-409
- **MORISSE J.P., HUONNIE D. et COTTE J.P. (1984)**
Salmonellose des bovins laitiers infectés chroniques : étude de l'environnement et des chaînes de contamination. *Point Vétérinaire*, 16 (80), 143-149
- **OLSVIK O. et KAPPERUD G. (1982)**
Enterotoxin production in milk at 22 and 4°C by *Escherichia coli* and *Yersinia enterocolitica*. *Applied and Environmental Microbiology*, mai, 997-1000
- **RICHTER R. (1981)**
Microbiological problem in dairy foods in the 1980s. *J. of Food Protection*, 44, 6 (juin), 471-475
- **ROCOURT J., GOULET V., LEPOUTRE A., DEHAUMONT P., VERLT P. (1994)**
Épidémiologie de la listériose. *Cab. Nutr. Prêt.*, XXIX, 2, 98-101
- **SANAA M. (1993)**
Épidémiologie de la contamination du lait à la ferme par *Listeria monocytogenes*. Thèse de doctorat de l'Université Paris XI - Faculté de Médecine Paris Sud. 207 pages
- **SANAA M., MENARD J.L. (1994)**
Contamination du lait cru par *Listeria monocytogenes* : origines, facteurs de risque, prévention. *Recueil de Médecine Vétérinaire. Spécial Qualité du Lait* - 170 (6/7), 437-442
- **SANAA M., POUTREL B., MENARD J.L., SERIEYS F. (1993)**
Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms - *J. Dairy Sci.*, 76, 2891-2898.
- **SCHLECHER F., et al. (1992)**
Listériose des ruminants et santé humaine. *Le point vétérinaire*, vol. 24, n° 145, 215-227
- **SHARMA V.D. (1992)**
Salmonella contamination of foods of animal origin. *Salmonella and salmonellosis, Symposium*, Sept. 15-17 th, Ploufragan, France
- **SILLIKER J.H. (1982)**
The Salmonella problem : current status and future direction. *J. of Food Protection*, 45, 7 (juillet), 661-666
- **SIMOUSEN B., BRIAN E.L., CHRISTIAN J.H.B., ROBERTS T.A., TOMPKINS R.B. and SILLIKER J.H. (1988)**
Prevention and control of foodborne salmonellosis through application of HACCP. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 227-247
- **SMITH J.L., BUCHANAN R.L. et PALUMBO S.A. (1983)**
Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis : a review. *J. of Food Protection*, 46, 6 (juin), 545-555
- **STELMA G.N., WIMSATT J.C., KAUFFMAN P.E et SHAH D.B. (1983)**
Radioimmunoassay for *Clostridium perfringens* enterotoxin and its use in screening isolates implicated in foodpoisoning outbreaks. *J. of Food Protection*, 46, 12 (déc.), 1069-1073
- **WORLD HEALTH ORGANISATION (1988)**
Lutte contre les salmonelloses : le rôle de l'hygiène appliquée aux animaux et aux produits. Genève, Suisse, WHO/WHP/774

Chapitre 6

ALTÉRATIONS D'ORIGINE ENZYMATIQUE (NON MICROBIENNE)

- **Introduction**
- **Lipolyse**
- **Protéolyse**

□ Introduction

La consommation en l'état et la transformation en produits plus stables tels que le beurre et le fromage constituent les principaux modes de valorisation traditionnels du lait et de ses composants majeurs (matière grasse, protéines).

Une des particularités importantes de la composition du lait, liée au mécanisme de sa sécrétion, est la présence concomitante de certains composants et des enzymes endogènes capables de les dégrader par hydrolyse, notamment:

- lipases, capables de dégrader la matière grasse (lipolyse),

- protéases, capables de dégrader les protéines (protéolyse).

Avant la généralisation de la réfrigération du lait, l'évolution spontanée du lait était une acidification (résultant du développement de bactéries lactiques), tendant à inactiver ces enzymes (et à masquer plus ou moins leurs effets).

Le problème était de raccourcir le plus possible les délais entre la production et l'utilisation du lait, tout simplement pour éviter sa perte ou pour mettre à profit cette acidification dans les processus de transformation (beurrerie, fromagerie, ...).

L'évolution des techniques a permis de limiter et mieux maîtriser les développements microbiens, notamment grâce à:

- un refroidissement du lait autorisant un certain délai de stockage avant son utilisation,

- des traitements thermiques permettant de détruire partiellement ou totalement la flore microbienne des laits mis en œuvre, autorisant une meilleure maîtrise des fabrications, et un allongement de la durée de vie des produits.

La durée de vie du lait avant utilisation étant augmentée, et l'effet inhibiteur de l'acidification étant supprimé ou réduit, les enzymes originelles du lait peuvent exercer leur activité (lipolyse et protéolyse).

De plus, le maintien au froid d'un lait contaminé favorise le développement de germes psychrotrophes, dont la plupart ont pour propriété de sécréter des enzymes généralement thermorésistantes (non détruites par les traitements thermiques), qui pourront exercer leur activité non seulement dans le lait (si la durée de stockage est suffisante), mais encore dans les produits fabriqués au cours de leur conservation (lipolyse et protéolyse d'origine microbienne).

Initialement l'attention a été focalisée en priorité sur ces altérations d'origine microbienne en raison de leurs conséquences manifestes sur la transformation et sur l'aptitude à la conservation des produits fabriqués (apparition de graves défauts organoleptiques), et les efforts d'hygiène entrepris pour améliorer la qualité bactériologique des laits ont contribué à réduire l'importance de ces défauts (Cf. C. 5, & Psychrotrophes).

Parallèlement, les altérations provoquées par les enzymes originelles du lait ont dû être prises en compte de plus en plus sérieusement dans la mesure où elles contribuent également à l'apparition de défauts et peuvent devenir le facteur limitant dans l'obtention de produits de bonne qualité et/ou de longue conservation.

La lipolyse est l'altération susceptible d'avoir le plus d'impact, car elle a été favorisée par l'évolution des techniques.

Même si l'impact réel de la protéolyse sur les produits laitiers est plus difficile à cerner, il semble que son rôle ne puisse plus être négligé. Nous l'analyserons donc également de façon détaillée.

□ Lipolyse

- **Introduction**
- **Définition (origine et caractérisation)**
- **Détection**
- **Conséquences de la lipolyse**
- **Causes de la lipolyse**
- **Prévention de la lipolyse au niveau :**
 - de l'animal et des conditions de production
 - de la récolte et du stockage du lait sur l'exploitation
 - de la collecte
 - de la réception et du prétraitement à l'usine
- **Références documentaires**

La lipolyse est une hydrolyse de la matière grasse (plus précisément des triglycérides, qui constituent 98 % de la matière grasse du lait), sous l'action d'enzymes lipolytiques ou lipases.

La lipolyse a pour effet de libérer des acides gras et, par conséquent, d'élever la teneur du milieu en acides gras libres (AGL).

La teneur en AGL constitue un indicateur du degré de lipolyse. Au-delà d'un certain degré de lipolyse, les AGL accumulés (et en particulier les AGL à courte chaîne, C4 à C12) sont responsables de l'apparition d'un défaut de flaveur caractéristique appelé rancidité qui risque de dévaloriser particulièrement les produits laitiers riches en matière grasse (beurre et huile de beurre, crème, poudre de lait entier, etc.).

L'évolution vers le stockage du lait à basse température après la traite (depuis le début des années 1960) a eu pour effet de bloquer la flore lactique acidifiante et l'inconvénient de favoriser le développement d'une flore psychrotrophe dont les effets néfastes sur la qualité du lait et des produits laitiers (protéolyse et lipolyse d'origine microbienne) ont conduit à mettre l'accent sur la nécessité de réduire les contaminations microbiennes par une hygiène stricte (Cf. Ch. 5, § Psychrotrophes).

Alors que la très nette amélioration de la qualité bactériologique des laits a réduit l'importance de la lipolyse d'origine microbienne, le développement des salles de traite mécanisées (traite mécanique et transferts par canalisations) et la tendance à l'allongement des durées de stockage et à la multiplication des manipulations des laits et des crèmes (centres de collecte, échanges interusines) a au contraire favorisé une lipolyse d'origine endogène dont l'ampleur devenait préoccupante dès les années 1970, incitant à une étude approfondie des causes et des moyens de prévention.

Les facteurs et les mécanismes agissant sur la lipolyse d'origine endogène sont aujourd'hui bien connus et les progrès enregistrés dans la conception et l'entretien du matériel comme dans la technique de traite permettent une meilleure prévention de cette altération du lait, dès la production.

• Introduction

Il est usuel de distinguer la lipolyse d'origine endogène et la lipolyse d'origine microbienne :

La lipolyse due à l'action de la lipase originelle du lait, peut se manifester dès la traite et dépend

fortement de la susceptibilité du lait et des conditions de manipulation et de stockage.

En raison de la thermosensibilité de la lipase originelle du lait (facilement détruite par la pasteurisation), la lipolyse qu'elle provoque se développe essentiellement dans le lait cru avant transformation.

Mais les AGL résultant de cette lipolyse précoce se retrouvent partiellement ou totalement dans les produits obtenus par la transformation du lait et peuvent leur communiquer des défauts de flaveur.

La lipolyse d'origine microbienne, est due à l'action des lipases microbiennes (sécrétées surtout

par les bactéries psychrotrophes qui constituent l'essentiel de la flore des laits refroidis).

En cas de contamination importante et/ou de stockage prolongé, la lipolyse d'origine microbienne peut contribuer à la lipolyse dans le lait cru avant transformation. En raison de leur thermorésistance élevée, les lipases microbiennes ne sont pas détruites par les traitements thermiques courants et se retrouvent partiellement ou totalement dans les produits obtenus par la transformation du lait, où elles peuvent développer une lipolyse tardive responsable d'altérations du goût au cours de la conservation des produits.

La lipolyse d'origine endogène sera seule examinée ici.

La lipolyse d'origine microbienne est examinée au Ch. 5 (Contaminations et altérations d'origine microbienne, § Psychrotrophes).

Par opposition à la lipolyse d'origine microbienne, la lipolyse d'origine endogène est essentiellement une altération précoce affectant le lait cru avant transformation, favorisée par le développement des techniques modernes de traite et de manipulation et de conservation du lait (au niveau de l'exploitation, de la collecte et de la réception à l'usine).

• Définition (origine et caractérisation)

La lipolyse endogène est une hydrolyse des triglycérides (qui constituent l'essentiel de la matière grasse du lait) due à l'action de la lipase originelle du lait et ayant pour effet d'augmenter la teneur en AGL (acides gras libres) du lait.

Compte tenu de cette définition et de la diversité des acides gras libérés par la lipolyse (qu'elle soit endogène ou d'origine microbienne), il est usuel et logique d'exprimer globalement la teneur en AGL du lait (ou des produits laitiers) en meq/100 g MG (quantité d'AGL exprimée en meq = milléquivalents = millimoles d'AGL, et rapportée à la matière grasse).

On ne perdra pas de vue qu'avant toute lipolyse, le lait présente une teneur originelle en AGL de 0,2 à 0,4 meq/100 g MG ; il s'agit d'acides gras prélevés dans les triglycérides sanguins et ayant échappé aux processus de synthèse dans les cellules sécrétrices de la glande mammaire.

Par conséquent, seules des valeurs supérieures à 0,5 meq/100 g MG pourront être considérées comme pouvant être significatives d'une lipolyse dans le lait.

La lipase originelle du lait

Le lait normal contient une seule lipase majeure, la lipoprotéine lipase (LPL) que nous désignerons généralement plus simplement sous le nom de lipase du lait.

Sécrétée par la glande mammaire pour prélever dans les triglycérides sanguins les acides gras nécessaires à la synthèse de la matière grasse du lait, cette LPL passe en partie dans le lait, qui en contient 12 mg/kg ; cette teneur est suffisante, en l'absence de tout facteur limitant, pour provoquer une lipolyse très étendue dans le lait.

La concentration en lipase du lait n'est donc pas un facteur déterminant du degré de lipolyse.

Maximale à pH 8,9 et à 30-35°C, l'activité de la lipase du lait reste notable au pH du lait et à basse température (laits réfrigérés).

L'activité de la lipase du lait est influencée par la présence dans le lait d'effecteurs de nature protéique ou lipoprotéique, agissant comme activateurs ou comme inhibiteurs.

Contrairement aux lipases microbiennes, la lipase du lait est thermolabile. Elle est facilement détruite par la pasteurisation, voire par une simple thermisation.

La cinétique de la lipolyse naturelle

Il s'agit d'une réaction enzymatique, impliquant une liaison préalable entre l'enzyme (la lipase) et son substrat (les triglycérides).

Or, dans le lait originel :

- la matière grasse (les triglycérides) se trouve sous forme d'émulsion dans des petits globules de 2 à 10 microns de diamètre finement dispersés. Chaque gouttelette (globule gras) est stabilisée et protégée par une membrane de nature lipoprotéique (phospholipides et polypeptides), qui constitue une barrière naturelle contre l'accès de la lipase aux triglycérides et limite ainsi les possibilités de liaison lipase/triglycérides.

- la lipase elle-même est associée aux micelles de caséine (par des liaisons ioniques et sans doute des interactions hydrophobes), ce qui réduit très fortement sa disponibilité dans la phase aqueuse pour la liaison avec les globules gras.

De nombreux facteurs physiologiques et biochimiques, et notamment les effecteurs d'origine sanguine, agissant de façon complexe et interdépendante, influent :

- sur la migration de la lipase des micelles de caséine vers les globules gras (et la liaison lipase/globule gras) ;

- sur la liaison lipase/triglycérides ;

- sur l'activité catalytique de la lipase sur les triglycérides.

L'ensemble de ces facteurs (essentiellement liés à l'animal) concourt à conférer au lait une plus ou moins grande susceptibilité originelle à la lipolyse.

La cinétique de la lipolyse peut être par ailleurs inhibée par l'élévation de la concentration en AGL et leur accumulation, une fois libérés, à l'interface entre la phase grasse et la phase aqueuse.

Ce phénomène de blocage interfacial peut aboutir à un ralentissement, voire pratiquement à l'arrêt de la lipolyse.

Tout facteur tendant à s'opposer à l'accumulation des AGL à l'interface apparaît alors comme un facteur d'activation de la lipolyse :

– c'est le cas de l'agitation du lait, qui favorise leur dispersion dans la phase aqueuse ;

– c'est aussi le cas de certains composants du lait (sérumalbumine, calcium), qui se comportent comme accepteur d'AGL.

Cependant, en l'absence de toute manipulation du lait qui puisse porter atteinte à l'intégrité de la membrane des globules gras, l'accès de la lipase aux triglycérides reste difficile et il semble admis aujourd'hui que la lipolyse spontanée, si elle existe, n'est probablement pas significative (Chilliard et coll., 1984).

En d'autres termes, la lipolyse serait essentiellement une lipolyse induite par des altérations de la membrane des globules gras, provoquées par des actions physiques (mécaniques et/ou thermiques) avant tout.

Ces actions physiques peuvent également avoir un effet d'activation en favorisant la migration de la lipase des micelles de caséine vers les globules gras.

La lipolyse induite par une action physique donnée sera généralement plus accentuée si le lait présente une susceptibilité originelle élevée.

Les inductions thermiques sont liées à des phénomènes de cristallisation (détérioration mécanique des membranes par les cristaux de triglycérides).

Les effets des inductions mécaniques dépendent de la température et de l'histoire thermique du lait (ces effets sont plus importants après un stockage au froid).

L'incorporation d'air, (aération et surtout moussage) éventuellement associée aux traitements mécaniques provoquent des tensions de surface suffisantes pour entraîner des déformations, des dislocations et des remaniements membranaires.

En conclusion, la cinétique de la lipolyse endogène dépend de deux catégories de facteurs :

– les facteurs physiologiques déterminant la susceptibilité originelle du lait ;

– les facteurs d'induction et d'activation résultant des manipulations et traitements subis par le lait.

Il faut enfin noter que la lipolyse peut se développer très rapidement, dans les minutes suivant l'induction .

Les produits de la lipolyse et le défaut de rancidité

Hydrolysant préférentiellement les liaisons esters situées en position externe sur la molécule de triglycéride, la lipase du lait libère en plus forte proportion des acides gras à chaîne très courte (C4 à C8), qui sont estérifiés surtout en position sn3.

L'accumulation des AGL entraîne l'apparition de mauvais goûts (rance, savon, piquant, etc.) qui caractérisent le défaut de rancidité.

Tous les AGL contribuent à l'apparition du défaut de rancidité, mais la contribution des AGL à courte chaîne (C4 à C12) est largement prédominante en raison de leur flaveur prononcée.

Remarque : les di- et monoglycérides résultant de la lipolyse peuvent aussi contribuer à l'apparition de goûts défectueux (amertume, ...).

Remarque importante :

Dans de nombreux processus de transformation (beurre et huile de beurre, crèmes, fromages), la séparation d'une fraction plus ou moins importante de la phase aqueuse (écrémage du lait, barattage de la crème, égouttage du caillé, etc.) a pour effet d'éliminer partiellement les AGL à chaîne courte (les plus aromatiques) en raison de leur plus grande hydro-solubilité.

En l'absence de développement d'une lipolyse d'origine microbienne dans le produit après fabrication, le seuil de perception dans ces produits (où prédominent alors les AGL à chaîne longue, moins aromatiques) devrait logiquement être plus élevé que dans le lait.

C'est sans doute une des raisons pour lesquelles il n'y a pas de

large consensus sur les seuils admissibles pour la teneur en AGL dans ces produits: il serait en effet souhaitable de prendre en compte l'importance relative des AGL à courte chaîne résultant principalement d'une lipolyse tardive.

Il faut enfin noter que le seuil de perception du défaut de rancidité dans un produit laitier est influencé par les autres saveurs du produit.

Sous réserve des observations qui précèdent, et sans distinction sur l'origine de la lipolyse, les seuils de perception se situeraient autour de 1,7 à 2,1 meq/100 g MG dans la crème ou crème glacée et 1,5 à 2 meq/100 g MG dans le beurre. (F.I.L.-1991)

• Détection de la lipolyse

L'appréciation du degré d'altération lipolytique dans le lait et les produits laitiers repose sur la détermination des AGL (acides gras libres).

Il est important de souligner ici que la proportion relative des différents AGL résultant de la lipolyse est pratiquement indépendante du degré de lipolyse, ce qui autorise la détermination globale de la teneur en AGL pour apprécier par exemple le degré de lipolyse naturelle dans le lait.

Par contre, l'élimination partielle des AGL à courte chaîne (plus solubles) dans certains processus de fabrication et le développement d'une lipolyse d'origine microbienne dans les produits fabriqués peuvent modifier sensiblement la proportion relative des différents AGL et rendre discutable l'interprétation d'une teneur globale vis-à-vis du risque d'altération organoleptique.

C'est pourquoi le besoin s'est fait sentir de disposer de méthodes de détermination individuelle des différents AGL.

Les méthodes utilisées en pratique pour déterminer la lipolyse dans le lait comportent toutes deux étapes :