

Gestion de la flore microbienne des laits crus par les pratiques des producteurs

V. MICHEL (1), A HAUWUY (1), J.F. CHAMBA (2)

(1) SUACI - GIS Alpes du Nord - 40 rue du Terraillet - 73190 Saint Baldoph

(2) Institut Technique Français des Fromages - BP 30 - 74801 La Roche sur Foron cedex

RESUME - Les producteurs de laits peuvent être caractérisés par leurs pratiques liées à l'hygiène de traite : type de soins apportés aux trayons, méthodes de lavage de la machine à traire, environnement des vaches laitières. Différentes combinaisons sont possibles : elles sont alors plus ou moins fortement associées à la production de laits crus de composition microbienne différente (niveau de flore totale, de staphylocoques à coagulase positive, proportion de flore d'altération) indiquant la possibilité de gestion de cette composition par les pratiques de traite. La détermination de la population microbienne des éléments en contact direct avec le lait lors de la traite (surface des trayons, machine à traire, air du lieu de traite) montre que la surface des trayons constitue l'un des réservoirs de flore à préserver car des trois éléments étudiés, il présente la plus grande diversité de groupes microbiens et les flores d'intérêt fromager sont largement dominantes. Des essais de changements de pratiques visant à préserver cette flore sont présentés.

Raw milk microbial composition: differences in links with microbial practices

V. MICHEL (1), A HAUWUY (1), J.F. CHAMBA (2)

(1) SUACI - GIS Alpes du Nord - 40 rue du Terraillet - 73190 Saint Baldoph

SUMMARY - The practices linked to hygiene of milking cows are diverse since milk producers can use different methods of washing teats or washing the milking system. The producers also differ by way they maintain the cleanliness of the cows environment. The combination of hygiene practices used is then associated with different raw milk microbial composition (level of total bacterial count, of coagulase-positive staphylococci, range of spoilage flora). It indicates that it is possible to influence the microbial composition of milk by the producer's practices. The enumeration of the microbial load of elements in direct contact with milk during milking (teat surfaces, milking pipeline, air of milking parlour) reveals that, among them, the teat surfaces are characterised by the greatest diversity of microbial flora and by the highest proportion of useful-cheese making microflora compared to spoilage flora. Practice changes in order to increase the useful cheese making microflora of milk have been led and are presented.

INTRODUCTION

Pour les fabrications fromagères au lait cru, la composition microbienne du lait mis en transformation est très importante : elle doit répondre à la fois à des exigences fromagères et sanitaires. En effet, en participant à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des fromages, les flores originelles (ou naturelles) des laits crus leur confèrent diversité sensorielle et intensité de goûts (Buchin et Beuvier, 2000). Sur le plan sanitaire, l'absence de traitement avant fabrication impose l'absence de germes potentiellement pathogènes dans les laits crus, de nombreuses technologies fromagères (pâtes pressées non cuites, pâtes molles) permettant leur développement lors de la transformation. Depuis de nombreuses années, on observe une diminution du niveau de flore totale présente dans les laits. Cette diminution interroge les responsables des filières fromagères au lait cru qui craignent une perte de typicité de leur produit. Elle interroge aussi certains scientifiques sur le maintien des écosystèmes microbiens, ces écosystèmes pouvant participer au contrôle du développement de certains pathogènes (Millet *et al.*, 2006).

Néanmoins, malgré cet appauvrissement global, les laits non dépourvus de flore totale (> 5 000 et 50 000 ufc/ml) conservent une diversité de composition microbienne, en particulier à travers les proportions entre groupes d'intérêt

fromager et groupes d'altération (Michel *et al.*, 2001). Cette diversité a des conséquences directes sur les aptitudes des laits à la lactofermentation, traduisant ainsi un potentiel fromager des laits différent selon leur composition microbienne. Par ailleurs, ces différences ont pu être associées à un ensemble de pratiques de traite des producteurs, suggérant l'existence de moyens de gestion de la composition microbienne des laits dès le stade de la production. Avec comme objectif de produire à terme des recommandations à destination des producteurs de lait, les filières fromagères au lait cru des Alpes du Nord (Abondance, Beaufort, Reblochon, Tomme de Savoie...) se sont engagées, dans le cadre du programme de Recherche et Développement du GIS Alpes du Nord, à préciser les moyens de gestion de la flore microbienne des laits crus par les pratiques des producteurs. Le travail engagé s'articule autour de plusieurs axes techniques dont 1/ l'identification des associations existant entre combinaisons de pratiques de traite et composition microbienne des laits, 2/ l'appréciation de la population microbienne des principaux éléments en contact direct avec le lait lors de la traite, 3/ la mise en place de changements de pratiques de traite. Une meilleure connaissance du raisonnement des pratiques de traite par les producteurs a également été initiée (Michel et Lemery, 2006). Les principaux résultats techniques obtenus sont présentés ici.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. ASSOCIATIONS ENTRE PRATIQUES DE TRAITE ET COMPOSITION MICROBIENNE DES LAITS

Trois groupes d'une trentaine de producteurs se différenciant par les caractéristiques des laits de leur exploitation (niveau de flore F, niveau de *S. aureus* (assimilés aux staphylocoques à coagulase positive (SCP)) ont été sélectionnés à partir des résultats obtenus dans le cadre du paiement du lait à la qualité (données issues des Fédérations Départementales des Coopératives Laitières de Savoie et de Haute-Savoie) (tableau 1).

Tableau 1 : caractéristiques des laits des 3 groupes d'exploitation sélectionnées

Caractéristiques des laits	Niveau de flore totale* (en ufc/ml)	Niveau de SCP (ufc/ml)	Nombre d'exploitations retenues
F- S-	< 5 000	40 à 120	35
F+ S-	15 à 30 000	40 à 120	35
F+S+	15 à 30 000	350 à 600	20

* : niveaux dans lesquels se situent 75 % des résultats obtenus sur une année dans le cadre des résultats paiement du lait à la qualité (année 2001) (quartile 3 des résultats obtenus)

Les laits des exploitations pré-ciblées ont ensuite été caractérisés selon leur proportion de flore d'altération (essentiellement *Pseudomonas* et coliformes totaux), afin de distinguer les laits à proportion de flore d'altération faible (1 à 2 % de la flore totale) et forte (supérieure à 2 % de la flore totale).

Les pratiques de traite ont été renseignées par enquêtes lors d'un suivi de traite. Ces suivis, réalisés au cours de deux saisons consécutives (été 2002/hiver 2002-2003) pour prendre en compte les changements de pratiques liées aux conditions extérieures, ont porté sur la description des pratiques mises en œuvre et sur leur efficacité. Les pratiques appréhendées tenaient compte des aspects liés directement à la traite (hygiène des trayons, lavage du matériel de traite) mais aussi des aspects liés à l'hygiène globale (conditions de logement des animaux, entretien du matériel) sans oublier ceux liés à la maîtrise des facteurs de risques de mammites. Les pratiques mises en œuvre au sein des exploitations ont été analysées par classification automatique (typologie par itération (logiciel Statbox)) afin de dégager des groupes d'itinéraires techniques utilisés par les producteurs.

1.2. DETERMINATION DES RESERVOIRS DE FLORE MICROBIENNE A LA TRAITE

La population microbienne des principaux éléments en contact avec le lait (trayons, machine à traire et air du lieu de traite) a été quantifiée dans 30 exploitations dont les laits se caractérisaient par un haut niveau de flore totale et un bas niveau de SCP(F+S-). Les prélèvements microbiens ont été répétés au cours de la saison estivale puis hivernale, pour tenir compte des différences de condition de logement des animaux. Une dizaine de groupes microbiens a été dénombrée appartenant soit à des groupes pouvant présenter un intérêt sur le plan technologique (flore acidifiante mésophile, flore halophile, entérocoques, lactobacilles hétérofermentaires, bactéries propioniques...) soit à des groupes pouvant être à l'origine d'altération (bactéries coliformes, *Pseudomonas*, *Clostridia* fermentant le lactate, levures, moisissures) ou potentiellement pathogènes (SCP) (Michel *et al.*, 2001).

Les flores en surface de trayons étaient prélevées par frottis au moyen de lingettes stériles humidifiées. Les frottis ont été effectués sur les trayons d'1/4 des vaches laitières (VL), avant préparation et après préparation. La flore mobilisable du système de traite était récupérée par rinçage du lactoduc maintenu en position fermé pendant 5 minutes. Les flores en suspension dans l'air du lieu de traite étaient impactées sur un filtre en cellulose stérile (\varnothing 0,45 μ m), relié à une pompe à vide fonctionnant pendant toute la traite. Le filtre était positionné à hauteur des trayons et situé derrière les vaches laitières en milieu de rangées. Les flores récupérées sur les supports de prélèvements étaient maintenues dans une solution de sérum physiologique contenant 5 % de lait G et 0,1 % de Tween20, puis conservées à +4°C.

Le lien entre la population microbienne des éléments prélevés et les pratiques mises en œuvre au sein des exploitations a été également étudié de manière à révéler l'existence ou non de moyens de gestion de ces réservoirs.

1.3. EFFET DE CHANGEMENTS DE PRATIQUES SUR LA FLORE MICROBIENNE DES LAITS

Des changements de pratiques visant à modifier la technique de préparation des trayons ont été mis en place, à titre pilote, dans 4 exploitations laitières des Savoie produisant des laits de type F-S-. Les effets de ces changements ont été suivis mensuellement au niveau de la composition microbienne fine du lait produit (analyse de la dizaine de groupes microbiens cités ci-dessus) et de la population microbienne des trayons et ce, pendant 12 mois.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. ASSOCIATIONS ENTRE PRATIQUES DE TRAITE ET COMPOSITION MICROBIENNE DES LAITS

Les pratiques liées à la traite dans les 90 exploitations enquêtées se différencient par leurs combinaisons, qui peuvent être qualifiées de plus ou moins "sécuritaires". Les combinaisons identifiées se différencient sur trois critères principaux : hygiène des trayons, lavage de la machine à traire et hygiène générale (tableau 2). Ainsi, le premier type de pratiques (A) se caractérise par un nettoyage des trayons avant la traite à l'aide de produits désinfectants ou de douchettes. Après la traite, les trayons sont systématiquement désinfectés. Le matériel de traite, entretenu de façon scrupuleuse, est lavé après chaque traite en réalisant une alternance systématique entre les produits détergents et détartrants. Ce type de combinaisons de pratiques se caractérise par de bonnes conditions d'hygiène : vaches laitières ayant des notes de propreté correctes, litières jugées satisfaisantes, sol du lieu de traite maintenu propre. Le second type de pratiques (B) est aussi basé sur un nettoyage des trayons individualisé pour chaque vache mais il est réalisé au moyen d'une lavette, les trayons étant également désinfectés après la traite. Par contre, il se distingue par les fréquences du lavage de la machine à traire : celui-ci n'est fait qu'une fois par jour, la traite du soir étant suivie d'un simple rinçage à l'eau. Les critères permettant de juger l'hygiène générale sont satisfaisants mais à un degré moindre que pour le type A. Les combinaisons de type C se caractérisent principalement par une hygiène minimale des trayons : absence de préparation avant la traite ou réalisation d'un simple essuyage à sec, pas

de désinfection après la traite. Le matériel de traite est le plus souvent lavé une fois par jour ; lorsqu'il est biquotidien, il se différencie alors de celui du type A par une fréquence moindre d'utilisation d'acide. L'hygiène générale dans ces exploitations est voisine de celle du type B. Enfin, les combinaisons de pratiques de type D sont caractérisées par la réalisation d'un lavage des trayons avant la traite mais non individualisé, une même lavette servant pour plusieurs vaches laitières. Les trayons sont désinfectés après la traite. Comme pour la typologie de type B, le matériel de traite n'est lavé qu'une fois par jour. Par contre, ce type de combinaisons de pratiques se distingue des autres par des critères d'hygiène générale jugés non satisfaisants.

Tableau 2 : différentes combinaisons de pratiques de traite mises en œuvre

Combinaison	A	B	C	D
type				
<i>Effectif</i>	56	42	33	49
Hygiène des trayons				
Préparation avant traite	Désinfection ou douchettes	Lavettes individuelles	Nulle ou essuyage à sec	Lavettes collectives
Désinfection après traite	oui	oui	non	oui
Lavage machine à traire				
Nb lavages par jour	2	1	1 ou 2	1
Utilisation d'acide	quotidienne	1 à 2 fois par semaine		
Efficacité lavage ¹	S	S	S	N S
Hygiène générale				
Lieu de traite	propre	correct	correct	N S
Propreté VL	S	S	S	N S
Qualité des litières	S	S	S	N S

Nb : nombre ; S : Satisfaisant ; N S : Non Satisfaisant ; 1 : S = température finale de l'eau de lavage > 45°C.

La mise en association entre ces différentes combinaisons de pratiques et la qualité microbienne des laits (niveau de flore, de SCP) est présentée dans le tableau 3. Les pratiques de types A et B sont principalement associées à la production de laits avec de faibles niveaux de flore totale (F-) et à bas niveau de SCP (S-) : ces derniers représentent entre 50 % et 60 % des types de laits produits avec ces combinaisons de pratiques. Les pratiques de types C et D sont quant à elles plus fortement associées aux laits de type F+S-, ces derniers représentant 67 % et 56 % des laits produits.

Tableau 3 : type de laits produits selon les combinaisons de pratiques

Combinaison	A	B	C	D
type				
<i>effectif</i>	56	42	33	49
Laits produits				
F-S-	29	25	3	7 ***
F+ S-	15	10	22	29
F+S+	12	7	8	13

Analyse de répartition des fréquences par test du chi², ***P<0,001

Il n'existe pas d'associations fortes entre les différentes combinaisons de pratiques (de A à D) et les niveaux plus ou moins forts de SCP, ou les proportions de flore d'altération. La comparaison des pratiques opposant les groupes S- au groupe S+ montre que les pratiques associées à de hauts niveaux de SCP révèlent des facteurs de risque connus : non isolement des animaux potentiellement contagieux, problèmes d'intégrité de la muqueuse des trayons (présence

de blessures, boutons, gerçures, trayons très rugueux) (Poutrel, 1992). Ainsi, par exemple, dans les exploitations produisant des laits à haut niveau de SCP, les VL ayant vèlées depuis peu (à fort risque de mammites) ou les VL pour lesquelles il peut y avoir suspicion d'infection (haut niveau cellulaire) ne bénéficient d'aucune mesure pouvant limiter la propagation de l'infection d'une VL à l'autre par l'utilisation de matériel spécifique.

La caractérisation des pratiques des exploitations produisant des laits à haut niveau de *Pseudomonas* (niveau représentant plus de 10 % de la flore totale) fait apparaître des utilisations importantes de quantité d'eau à la traite (lavage des trayons au moyen de douchettes), ainsi qu'un entretien non satisfaisant du matériel de stockage (le tank pouvant être lavé plusieurs heures après son ramassage ou de manière non satisfaisante). Ceci est en accord avec des résultats récents montrant que l'eau est souvent une source majeure de contamination des laits par les *Pseudomonas* (Leriche F., 2004).

2.2. DETERMINATION DES RESERVOIRS DE FLORE A LA TRAITE

La détermination de la population microbienne des éléments en contact direct avec le lait à la traite (tableau 4) a révélé l'importance du trayon comme réservoir potentiel de flore : en effet, avant préparation, la surface des trayons (surface en contact avec le manchon) abrite une forte diversité de groupes microbiens : parmi les 11 groupes microbiens recherchés, 9 étaient systématiquement détectés dans 75 % des prélèvements. De plus, les groupes d'intérêt technologique (dont la flore acidifiante mésophile et la flore halophile) sont largement prédominants : leur niveau est en moyenne 100 fois plus élevé que ceux des groupes d'altération (coliformes et *Pseudomonas*). Il existe une variabilité de population microbienne de la surface des trayons en lien avec la saison, traduisant les conditions de logement des animaux. Cependant, pour une même saison, une variabilité subsiste : en hiver, les litières de type "paille" sont associées à des surfaces de trayons abritant des niveaux de flore significativement plus élevés, à plus forte teneur en flore acidifiante mésophile et peu de lactobacilles hétérofermentaires facultatifs.

Les groupes microbiens mobilisés par rinçage du matériel de traite sont moins diversifiés : seuls six groupes microbiens sont isolés dans 75 % des cas. Les niveaux des groupes microbiens restent dans la majorité des cas relativement faibles (<100 ufc/ml d'eau), les niveaux des groupes d'altération (*Pseudomonas*, coliformes) étant fréquemment voisins de ceux définis comme présentant un intérêt sur le plan technologique (cf. §1.2). Dans quelques cas (13 sur 58), le rinçage du matériel de traite s'est traduit par une mobilisation importante de germes (élévation de la population microbienne de l'eau utilisée pour le rinçage d'un facteur 1 000) : des défauts d'entretien du matériel et/ou un lavage inefficace du matériel de traite avaient alors été notés.

L'air du lieu de traite peut être qualifié de réservoir intermédiaire, à la fois dans la diversité des groupes microbiens détectés (seuls 3 groupes microbiens sont présents dans 75 % des prélèvements) et dans le rapport entre flore d'intérêt et flore d'altération. L'effet saison se traduit par un niveau significativement plus élevé de moisissures dans les échantillons prélevés en hiver.

Tableau 4 : niveaux de divers groupes microbiens des différents prélèvements réalisés

	n ¹	d ²	fam ³	halo ⁴	prop ⁵	ps ⁶	coli ⁷
Surface des trayons avant préparation ⁹							
<i>n>s det</i> ⁸			60	58	14	55	57
moy	60	9	6,39	7,34	2,85	4,42	3,69
E.T.			0,85	0,66	0,54	0,95	0,92
Surface des trayons après préparation ⁹							
<i>n>s det</i> ⁸			46	46	16	45	43
moy	48	9	6,19	6,18	2,54	3,56	2,52
E.T.			0,79	0,91	0,76	0,95	0,91
Eau de rinçage ¹⁰							
<i>n>s det</i> ⁸			50	54	43	52	21
moy	58	6	1,71	1,81	1,95	1,48	0,85
E.T.			1,29	1,56	1,25	1,44	1,48
Air du lieu de traite ¹¹							
<i>n>s det</i> ⁸			48	50	18	45	17
moy	58	3	3,64	4,64	2,59	3,52	2,40
E.T.			0,61	0,64	0,52	0,75	0,40

1 : nombre total de prélèvements réalisés, 2 : nombre de groupes microbiens détectés simultanément dans 75 % des prélèvements, 3 : flore acidifiante mésophile, 4 : flore halophile, 5 : bactéries propioniques, 6 : *Pseudomonas*, 7 : bactéries coliformes, 8 : nombre de résultats supérieurs au seuil de détection, résultats exprimés en log₁₀ d'ufc par surface de trayons (9), ml d'eau (10), m³ d'air (11).

Moy : moyenne, ET : écart-type

Ces dénombrements ont permis de situer l'importance des éléments en contact direct avec le lait lors de la traite : la surface des trayons, de par la diversité des germes abrités (9 des 11 groupes microbiens recherchés sont présents simultanément dans 75 % des cas) et par la forte prépondérance des groupes d'intérêt technologique apparaît comme un réservoir à privilégier. Par contre, l'apport du matériel de traite semble à minimiser dans la mesure où parmi les groupes microbiens mobilisés, les groupes d'altération atteignent des niveaux équivalents de ceux des groupes d'intérêt technologique.

2.3. EFFET DES CHANGEMENTS DE PRATIQUES SUR LA COMPOSITION MICROBIENNE DES LAITS

Les associations entre combinaisons de pratiques et composition microbienne des laits identifient certaines pratiques comme discriminantes pour le type de lait produit, et notamment pour son niveau de flore totale. Il s'agit en particulier des techniques de préparation des trayons, de la fréquence de lavage de la machine à traire. La modification de ces pratiques devrait entraîner des modifications de flore. Par ailleurs, le trayon apparaissant comme le réservoir de flore à privilégier, il semble intéressant de privilégier les modifications portant sur ceux-ci. Pour en appréhender l'effet (délai d'apparition, intensité), des changements de pratiques ont été mis en place dans 4 exploitations laitières. Les changements effectués ont consisté au remplacement de la désinfection des trayons avant la traite par une technique basée sur une action uniquement détergente (emploi de savon moussant non désinfectant) ou mécanique (lavettes individuelles, essuyage papier). Ces changements

permettent de continuer à réduire les niveaux de flore présents en surface de trayons avant la traite, mais à un degré moindre en particulier pour la flore acidifiante mésophile. Cette conservation plus importante de flore acidifiante mésophile en surface de trayons ne se traduit cependant pas par un niveau plus important dans les laits et ce, quelle que soit la saison. Ce résultat peut s'expliquer par les niveaux de flore présents en surface de trayons dans ces exploitations, particulièrement bas avant préparation. Après préparation, malgré une diminution moindre engendrée par la pratique alternative, leur niveau en surface de trayons n'est plus suffisant pour entraîner de manière détectable un ensemencement du lait. Des travaux préliminaires (non présentés ici) réalisés dans des exploitations caractérisées par des laits F+S- avaient montré l'existence d'un seuil en dessous duquel la mobilisation de la flore de surface des trayons n'était plus détectable dans le lait. Cette hypothèse pourrait être vérifiée en menant des changements de pratiques similaires dans des exploitations présentant des niveaux de flore en surface de trayons plus importants.

CONCLUSION

Les travaux réalisés ont permis de préciser les associations existant entre combinaisons de pratiques de traite (hygiène des trayons, lavage du système de traite, environnement des vaches laitières) et composition microbienne des laits (niveaux de flore totale, de SCP et proportion de flore d'altération). La population microbienne des éléments en contact direct avec le lait lors de la traite a été évaluée permettant d'identifier la surface des trayons comme l'élément hébergeant la plus grande diversité de groupes microbiens avec une forte prépondérance des flores d'intérêt technologique.

Les essais de changements de pratiques mis en place concernant l'arrêt de la désinfection des trayons avant la traite, restent à poursuivre pour confirmer les conditions de gestion de la flore microbienne par le biais de l'hygiène mammaire. D'autre part, d'autres types de changements, portant sur la maîtrise des proportions de flore d'altération, ou le lavage de la machine à traite sont à tester.

Ce programme a été mené en partenariat avec les Fédérations Départementales des Coopératives Laitières de Savoie et de Haute-Savoie et avec le Pôle Fromager AOC Massif Central, avec le soutien financier de l'ONILAIT.

Buchin S., Beuvier E., 2000. Renc. Rech. Ruminants, 7, 361-363

Poutrel B., 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Eds : CEPIL (Paris). 415-453

Leriche F., 2004. Bulletin Pôle Fromager AOC Massif Central. 41.5-8

Millet L., Saubusse S., Didienne R., Tessier L., Montel MC. 2006. International Journal of Food Microbiology, 108, 105-114

Michel V., Hauwuy A., Chamba J.F., 2001. Le lait, 84, 565-572

Michel V., Lemery B., 2006. Renc. Rech. Ruminants. 13, 326