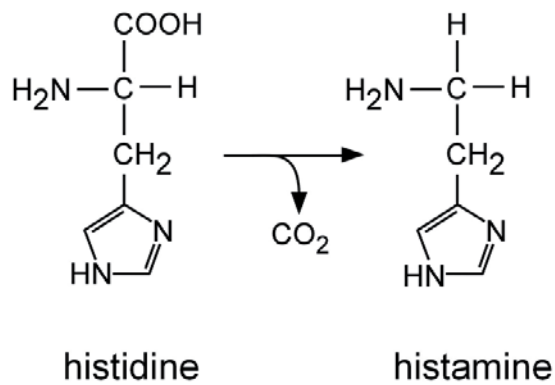


IMPORTANCE DES AMINES BIOGÈNES DANS L'ALIMENTATION ET PRÉSENCE DANS LES DIFFÉRENTS FROMAGES

Groupes de discussion Gruyère



Tables des matières

1	Introduction.....	4
2	Amines biogènes dans l'alimentation et santé	4
2.1	Formation et métabolisme.....	4
2.2	Effets physiologiques des amines biogènes.....	5
2.3	Absorption d'amines biogènes	6
2.4	Problèmes de santé	7
2.4.1	Histamine	7
2.4.2	Tyramine	8
3	Présence d'amines biogènes dans le fromage	8
3.1	Exemples d'échantillons avec une teneur élevée en amines biogènes	9
3.2	Emmentaler AOC.....	11
3.3	Gruyère AOC	15
3.4	Sbrinz.....	16
3.5	Fromage d'alpage bernois et fromage à rebibes.....	17
3.6	Appenzeller	18
3.7	Tilsiter	20
3.8	Raclette.....	21
3.9	Schabziger.....	21
3.10	Autres sortes de fromages	22
3.11	Possibilités d'analyse d'ALP pour la consultation.....	22
3.12	Résumé des facteurs d'influence	24
4	Littérature	25

Résumé

Le terme „amines biogènes“ englobe environ 20-30 composés NPN d'origine biologique qui se forment dans les tissus chez l'homme, des animaux et des plantes mais qui peuvent aussi être contenues dans divers aliments protéagineux. Certains de ces amines participent à des fonctions biologiques, représentent d'importants précurseurs de vitamines ou d'autres substances et provoquent en partie des réactions physiologiques. Dans les aliments, des amines biogènes se forment à partir de la dégradation microbienne d'acides aminés, les éléments constitutifs des protéines des aliments. C'est la raison pour laquelle on trouve des teneurs élevées en amines biogènes surtout dans des aliments avariés mais aussi parfois dans des aliments fermentés tels que le fromage, les saucisses, le vin ou la choucroute. En général, les amines biogènes absorbés au travers de la nourriture n'engendrent pas de problèmes car ils sont dégradés dans les muqueuses de l'intestin grêle par des enzymes correspondants (monoamine oxidase, diamine oxidase). C'est pourquoi il faut s'attendre à avoir un impact négatif uniquement lors de situations particulières: un apport très élevé au travers d'aliments, une hypersensibilité individuelle ainsi qu'une prise de médicaments qui ralentissent la dégradation des amines. Dans les aliments, ce sont surtout les amines histamine et tyramine qui sont indésirables car les deux peuvent provoquer un large spectre de problèmes de santé.

Le fromage affiné peut lui aussi constituer une source importante d'amines biogènes. En règle générale, les fromages suisses contiennent des teneurs peu élevées en amines biogènes

(moins de 500 mg/kg). Il existe toutefois des exceptions principalement parmi les fromages présentant des défauts et qui ont eu une durée de maturation plus longue que la moyenne. Dans les fromages à pâte mi-dure, on a trouvé sporadiquement des concentrations pouvant atteindre 1000-1500 mg/kg et des teneurs allant jusqu'à 3300 mg/kg dans des fromages à pâte dure ou extra-dure. Souvent, l'ensemble de la production d'un établissement présente une teneur élevée en amines biogènes sur une longue période. Avec de telles productions, il faut s'attendre à une forte augmentation des amines biogènes au cours de la maturation, raison pour laquelle la durée de maturation de ce genre de fromages devrait être aussi courte que possible. Des analyses réalisées par ALP montrent que les fromages présentant une mauvaise conservabilité, des défauts d'ouverture (lainure) et des écarts au niveau du goût (brûlant, âcre) ont souvent des teneurs élevées en amines biogènes. L'absence de germes formant des amines dans le lait cru constitue une condition importante pour fabriquer un fromage doté d'une qualité irréprochable. Etant donné que le problème n'est perceptible dans le fromage qu'après plusieurs mois de maturation et que la mise en évidence de certaines amines biogènes dans le lait cru est difficile, la détermination des sources de contamination nécessite souvent beaucoup de travail. Dans le cadre des travaux de recherche d'ALP, on essaie de développer des méthodes plus sensibles pour la consultation et permettant de mettre en évidence des germes formant des amines dans les échantillons de lait des fournisseurs et dans le fromage.

1 Introduction

Toujours plus de consommateurs se plaignent d'allergies dues à l'alimentation, de pseudoallergies et d'incompatibilités. Qui n'a pas déjà ressenti des maux de tête après la consommation de vin rouge ? Ces maux de tête peuvent être provoqués par l'histamine contenue dans le vin, laquelle est un sous-produit de la fermentation. Tous les aliments fermentés peuvent contenir de l'histamine et d'autres amines biogènes, le fromage également. Bien qu'aujourd'hui, il n'existe aucune valeur limite légale pour les amines biogènes dans le fromage, les consommateurs exigent de plus en plus que des indications concernant la teneur en amines biogènes figurent sur les spécifications du produit.

En 2008, un nouveau programme de recherche visant à diminuer la teneur en amines biogènes dans les denrées alimentaire fermentées a été lancé dans l'UE. Le thème „amines biogènes dans le fromage“ représente aussi depuis 2006 une des priorités des travaux de recherche d'ALP. L'objectif du présent ALP forum est de résumer les connaissances dont on dispose actuellement au sujet de l'importance des amines biogènes dans l'alimentation et de sa présence dans les différentes sortes de fromages suisses. Des sondages au niveau pratique et des études de cas doivent permettre de présenter les possibles causes de teneurs élevées en amines biogènes dans le fromage. Ils doivent également proposer des approches de solution pour les établissements touchés.

2 Amines biogènes dans l'alimentation et santé

2.1 Formation et métabolisme

Les amines biogènes sont issues de la dégradation enzymatique du groupe acide (groupe carboxyle) des acides aminés. Ce processus est appelé décarboxylation. En raison de leur formation, la structure des amines biogènes est étroitement liée à celle des acides aminés. C'est pourquoi quelques amines portent le nom de leur acide aminé

d'origine. Ainsi par ex., l'histamine provient de l'acide aminé histidine (voir figure) et la tyramine de la tyrosine. D'autres amines biogènes telles que la cadavérine et la putrescine peuvent être issues de la décomposition microbienne de tissu mort. Du point de vue chimique, il s'agit d'un groupe d'environ 20 liaisons azotées basiques.

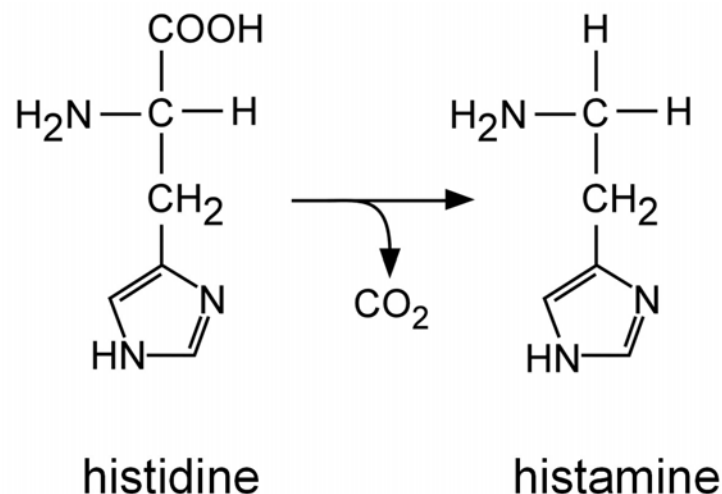


Figure 1 formation d'histamine à partir de l'acide aminé histidine au travers de la dégradation enzymatique du groupe acide (décarboxylation)

Les amines biogènes sont des produits naturels du métabolisme que l'on trouve dans presque tous les organismes vivants. La propre formation par l'organisme s'effectue manière analogue à celle des acides aminés, principalement dans le foie. En outre, des amines se forment également dans des cellules nerveuses, dans la médullosurrénale, dans les cellules sanguines ainsi que dans d'autres tissus et organes ou sont absorbées directement au travers de la nourriture. La flore intestinale constitue une autre source car elle est capable de former des quantités considérables de cadavérine, de putrescine et d'agmatine. La formation d'amines dépend des conditions du milieu. La température idéale est comprise entre 26 et 37°C. Le pH optimal pour les bactéries est situé dans un milieu acide,

légèrement acide à basique pour les tissus. Les amines sont stockées en partie dans le corps et libérées à nouveau en cas de besoin. Ce processus a été le mieux analysé dans le cas de l'histamine stockée dans des cellules de l'immunité personnelle (mastocytes). Elle est également liée à des protéines muqueuses (mucines) dans le canal intestinal.

La dégradation d'amines biogènes se fait au travers de l'oxydation en acides carboxyliques. La dégradation des amines biogènes, absorbées au travers de la nourriture, s'effectue d'habitude dans la muqueuse intestinale par les enzymes monoamine oxydase (MAO) et la diamine oxydase (DAO). Ce mécanisme protège le corps contre une absorption excessive d'amines biogènes.

2.2 Effets physiologiques des amines biogènes

Les amines biogènes sont des substances physiologiquement actives qui exercent une fonction importante dans le corps, mais qui peuvent aussi, à hautes doses, avoir des effets nuisibles pour la santé voire toxiques. Du point de vue de la toxicité alimentaire, ce sont surtout les intoxications à l'histamine et les crises d'hypertension provoquées par la tyramine qui sont significatives. Les fonctions des amines propres à l'organisme sont multiples (voir tableau). La sérotonine, la dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline font partie des monoamines les plus importantes. Ces amines font office de neurotransmetteurs, c'est-à-dire des substances messagères chimiques transmettant les informations d'une cellule nerveuse à d'autres. La dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline sont également qualifiés „d'hormones du stress“. Lors de situations de stress et d'effort, elles déclenchent de nombreux processus (par ex. augmentation de la fréquence cardiaque, de la tension artérielle, libération rapide de réserves énergétiques). La sérotonine et la dopamine participent aussi à la régulation de l'ingestion de nourriture. Alors que la dopamine accroît la sensation de faim, la sérotonine est coresponsable de la création de la sensation de satiété. En cas de dépression,

la diminution du taux de sérotonine dans le cerveau provoque une atténuation des symptômes, raison pour laquelle on la qualifie également „d'hormone du bonheur“ dans le langage populaire.

L'histamine est la diamine la plus connue. Elle revêt de nombreuses fonctions dans l'organisme humain dont la participation aux réactions de défense. Chaque fois qu'une cellule du corps est endommagée, il se produit un dégagement d'histamine. Ce processus engendre une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins, les cellules des défenses immunitaires (par ex. globules blancs) de la circulation du sang parviennent dans le tissu endommagé et peuvent y combattre une possible infection. Outre cet effet souhaitable, la réaction immunologique provoque aussi une libération d'histamine face à des protéines étrangers (allergènes). En cas d'allergies, ceci peut également engendrer des symptômes indésirables telles que des démangeaisons, des gonflements ou un resserrement des voies respiratoires (asthme). Le venin des abeilles, des guêpes et des frelons contient aussi de l'histamine et peut également provoquer un effet similaire.



Figure 2 Rougeur et formation d'une enflure suite à une piqûre d'insecte

Tableau 1 Occurrence et importance des amines biogènes dans l'organisme

Amine biogène	Origine	Occurrence et importance
Agmatine	Arginine	Bactéries (flore intestinale), précurseur de la putrescine dans certains organismes
Aminocétone	2-amino acide acétoacétique	Précurseur des cobalamines (vitamine B12)
Cadavérine	Lysine	Ribosomes, bactéries, précurseur de l'alcaloïde
Cystéamine	Cystéine	Composant de la coenzyme A
Dopamine	DOPA	Neurotransmetteur, précurseur des catécholamines, de la noradrénaline et de l'adrénaline ainsi que de l'alcaloïde
Ethanolamine	Sérine	Phosphatide, précurseur d'hormones, neurotransmetteur
Histamine	Histidine	Hormone tissulaire
Phénéthylamine	Phénylalanine	Présence dans le cerveau
Putrescine	Ornithine	Ribosomes, bactéries, précurseur pour des polyamines
Sérotonine	5-hydroxytryptophane	Neurotransmetteur, précurseur de l'hormone mélatonine, du poison de crapeau, la bufoténine
Tryptamine	Tryptophane	Provoque une contraction de la musculature lisse, favorise la croissance chez les plantes
Tyramine	Tyrosine	Provoque une contraction de la musculature lisse
Noradrénaline	DOPA	Neurotransmetteur, catécholamine, provoque un rétrécissement des vaisseaux et une augmentation de la pression artérielle

2.3 Absorption d'amines biogènes

L'absorption d'amines biogènes au travers des aliments dépend de différents facteurs tels que leur type et leur composition (les aliments liquides agissent plus rapidement) mais également de la combinaison des aliments. Ainsi, on pense que l'alcool augmente la vitesse de résorption des amines. Le corps dispose d'autre part de différents mécanismes pour diminuer l'absorption d'amines biogènes. La formation de mucus dans la muqueuse de l'estomac et dans la muqueuse intestinale ralentit la résorption, par exemple au travers de

la liaison d'histamine à des mucoprotéines. Dans les cellules épithéliales de l'intestin et dans d'autres organes, les enzymes monoaminooxidase (MAO) et les diaminoxydases (DAO) régulent les concentrations en amines biogènes. C'est la raison pour laquelle, lors de conditions normales, seule une partie des amines biogènes absorbée au travers de la nourriture parvient dans le sang. La diaminoxydase dissocie surtout la putrescine et la cadavérine. La dégradation de l'histamine est nettement

plus lente. C'est pourquoi la durée de l'effet toxique de doses élevées d'histamine dépend de la concentration d'autres diamines (inhibition

compétitive de l'enzyme DAO). Cela explique aussi pourquoi la durée de l'effet de l'histamine peut varier considérablement.

2.4 Problèmes de santé

Bien que diverses barrières limitent l'absorption d'amines biogènes administrés oralement, des aliments fortement contaminés peuvent engendrer des problèmes de santé. Ceci est en particulier le cas lorsque la régulation propre à l'organisme est perturbée par la prise de médicaments (inhibiteurs MAO et DAO) ou

d'affections chroniques de l'intestin (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa). Dans la plupart des cas, les symptômes peuvent s'expliquer avec les effets de l'histamine et de la tyramine. On connaît peu de choses au sujet des effets nocifs pour la santé d'autres amines biogènes (cadavérine et putrescine par ex.).

2.4.1 Histamine

L'histamine peut même être classée parmi les poisons étant donné que, lors d'un apport très important, elle peut provoquer des états de choc et avoir ainsi un effet mortel. Le seuil de tolérance pour l'histamine est d'environ 10 mg, les écarts pouvant être très importants selon les personnes. C'est pourquoi on différencie entre intolérance à l'histamine et intoxications graves à l'histamine par rapport aux problèmes de santé engendrés:

Intolérance à l'histamine

L'histamine est une hormone tissulaire propre à l'organisme et est connue en tant que substance messagère (neuro-médiateur) lors d'allergies. Chez environ 1 % de la population (surtout des femmes), la consommation d'aliments contenant de faibles quantités d'histamine provoque déjà des réactions pseudo-allergiques en raison d'une intolérance individuelle à l'histamine. La cause de l'apparition de problèmes de santé est un taux d'histamine élevé dans le plasma ou les tissus qui peut provoquer, selon les personnes, des troubles très différents et comparables à des allergies, tels que des crampes abdominales, de la diarrhée, des flatulences, un sentiment d'état fiévreux, une rougeur de la peau, une éruption cutanée, des démangeaisons, un nez qui coule, des maux de tête, une grande fatigue, un état d'épuisement, de l'asthme, des états de confusion voire un comportement agressif. Dans la plupart des cas, les symptômes apparaissent environ 45 minutes après l'ingestion d'aliments contaminés et ne disparaissent qu'après quelques heures. La

valeur standard pour un taux d'histamine normal dans le sang est de 1 mg/ml. Des concentrations plus importantes indiquent une absorption d'histamine accrue ou une dégradation d'histamine amoindrie. Les problèmes de régulation du taux d'histamine peuvent être de différentes origines:

- Absorption élevée d'histamine par le biais de l'alimentation
- Inhibition de la dégradation de l'histamine par des médicaments qui réduisent l'activité de l'enzyme diaminoxydase (DAO).
- Troubles de la fonction intestinale lors d'affections intestinales chroniques (perméabilité accrue, carence en DAO).
- Libération pseudo-allergique d'histamine à partir des cellules des défenses immunitaires lors d'intolérance à des aliments déterminés.
- Inhibition compétitive de l'enzyme diaminoxydase par d'autres amines biogènes qui sont dégradées par le même enzyme.
- Consommation simultanée d'alcool qui pourrait accélérer l'absorption d'histamine et/ou réduit l'activité de l'enzyme DAO.

Intoxication à l'histamine:

L'absorption de grandes quantités d'histamine (100-1000 mg) peut, aussi auprès de personnes avec une tolérance à l'histamine normale, provoquer en l'espace de 30-60 minutes des symptômes aigus d'intoxication et des nausées, des vomissements, des

diarrhées, des migraines, de l'asthme, une faible tension artérielle, des étourdissements, des vertiges voire un collapsus. Chez les personnes souffrant d'une intolérance à l'histamine, les réactions peuvent être violentes alors que chez celles tolérant bien l'histamine des symptômes moins marqués sont possibles.

2.4.2 Tyramine

La tyramine est considérée comme le principal déclencheur des crises d'hypertension dues à l'alimentation. Le fait que de telles crises soient aussi qualifiées de « Cheese Effect » montre clairement qu'elles sont souvent déclenchées par une consommation de fromage. L'élévation de la tension artérielle est couplée à des maux de tête, des vertiges, des troubles de la vue, des nausées et plus rarement des diarrhées et des vomissements. Dans les cas extrêmes, une élévation massive de la pression artérielle peut provoquer des ruptures de vaisseaux déjà endommagés et déboucher sur une hémorragie cérébrale mortelle. Les personnes en bonne santé supportent en général sans problème une dose de tyramine de 25-250 mg. L'absorption de quantités plus élevées de tyramine est problématique en particulier lors

Les enfants sont eux aussi plus menacés car leur système enzymatique n'est pas encore entièrement formé. Les intoxications à l'histamine sont provoquées la plupart du temps par la consommation de poissons ou de fruits de mer mais également par celle de fromage, de volaille, de choucroute, de saucisse, de bière ou de vin.

de traitement simultané avec des médicaments inhibiteurs de la MAO, car, dans ce cas, la dégradation enzymatique dans la muqueuse intestinale est freinée et davantage de tyramine parvient dans la circulation sanguine. Lors de la prise de tels médicaments, il faut éviter de consommer des aliments à risque (fromages affinés, saucissons, choucroute, produits fermentés à base de soja). La consommation simultanée de boissons alcoolisées renforce les symptômes étant donné que l'alcool favorise vraisemblablement l'absorption de tyramine et retarde sa dégradation. Vu que les symptômes, en comparaison d'une intoxication à l'histamine, n'apparaissent qu'après 3 heures et durent souvent jusqu'à 24 heures, on n'établit pas forcément une relation avec l'ingestion d'aliments.

3 Présence d'amines biogènes dans le fromage

Quelques denrées alimentaires d'origine végétale présentent des concentrations naturelles élevées en amines biogènes. Ainsi par exemple, les bananes, les noix, les ananas et les avocats ont des teneurs élevées en sérotonine et les tomates en tryptamine. La teneur en amines biogènes des denrées alimentaires fraîches d'origine animale est faible. Cependant, en raison de l'influence de microorganismes, au cours du traitement, du stockage et de l'affinage, des quantités considérables peuvent se former. Les aliments fermentés (fromages, saucisses, vin, bière, choucroute par ex.) sont spécialement concernés mais aussi les denrées alimentaires contenant des protéines (poisson, viande fraîche par ex.) et qui sont facilement périssables. Dans ces produits, des germes de

la flore secondaire et de la flore d'accompagnement mais également des organismes de fermentation peuvent former des quantités considérables d'amines biogènes, surtout de la putrescine, de la cadavérine, de la tyramine et de l'histamine. Le genre et la quantité d'amines biogènes formées sont influencés avant tout par le produit lui-même (acides aminés disponibles), la flore microbienne et la flore d'altération, cultures de fermentation) et le procédé de fabrication (pasteurisation par ex.). C'est pourquoi la plupart des aliments présente un spectre relativement spécifique en amines biogènes. Les amines biogènes résistent assez bien à la chaleur et demeurent ainsi dans les plats chauffés (par ex. fondue, raclette).

3.1 Exemples d'échantillons avec une teneur élevée en amines biogènes

En raison de sa composition, le lait offre à la plupart des bactéries de bonnes conditions pour se multiplier et favoriser leurs activités métaboliques. En raison de la dégradation microbienne des protéines lactiques, des acides aminés libres se forment rapidement. Ils peuvent être ensuite transformés en amines biogènes par des bactéries à l'aide d'enzymes appropriées. Cependant, les teneurs en amines biogènes du lait de consommation, de la crème et du yaourt se situent toujours dans un domaine acceptable. Dans les fromages affinés, selon le degré de maturation, la part d'acides aminés libres est de 5-15 %. Les teneurs élevées en acides aminés libres et le processus de maturation relativement long offrent des conditions idéales pour la formation des amines biogènes. Outre de l'histamine et de la tyramine, les fromages présentant des problèmes de qualité peuvent aussi contenir des quantités importantes de cadavérine et de putrescine. La bêta-phénylétylamine, l'isopentylamine et la tryptamine par ex. sont présentes, la plupart du temps, seulement en faible concentration. Dans les fromages avec une formation marquée d'amines biogènes, on observe une augmentation permanente et linéaire de celles-ci au cours de l'ensemble de la durée de maturation.

Le prétraitement du lait spécifique à la sorte, la transformation, la composition et la durée de

maturation influencent fortement les teneurs en amines biogènes. Des sondages au sujet de la teneur en amines biogènes de quelques sortes de fromages suisses ont déjà été réalisés dans les années 80 par l'ancienne Station fédérale de recherches laitières (FAM) avec des Emmentaler de 4-5 mois et des Gruyère de 6-7 mois. En général, de tels jeunes fromages contiennent seulement de faibles quantités d'amines biogènes. L'amélioration de la stabilité au stockage de différentes sortes de fromages permet d'avoir aujourd'hui des durées de maturation nettement plus longues. Ainsi, dans le segment des fromages de la meilleure qualité, on propose de plus en plus de fromages à longue durée de maturation. Lors d'études récentes portant sur les fromages ayant une longue durée de maturation, on a constaté que les cas avec des concentrations élevées en amines biogènes constituent plutôt une „exception“. On peut rencontrer de telles exceptions dans pratiquement toutes les sortes de fromages. Comme le montrent les tableaux 2 et 3, dans les échantillons de fromage présentant des concentrations élevées en amines biogènes, en général les teneurs en histamine et en tyramine sont très élevées. Seul le Schabziger, dont la fabrication est très différente du point de vue technologique, présentait aussi des teneurs élevées en cadavérine, putrescine, bêta-phénylétylamine et tryptamine.

Tableau 2 Echantillons de Schabziger glaronnais et de différents fromages à pâte mi-dure avec une teneur très élevée en amines biogènes (indications en mg/kg)

Substances	Schabziger glaronnais (cône)	Tilsiterer rouge	Appenzeller extra	Raclette (issu de lait thermisé)
Age	2 mois	4 mois	> 6 mois	10 mois
Cadavérine	1413	72	36	21
Histamine	760	765	340	945
Isopentylamine	< 2	< 2	< 2	< 2
Putrescine	414	< 2	5	< 2
Bêta-phényléthylamine	491	12	60	86
Tryptamine	219	< 2	< 2	< 2
Tyramine	713	169	744	454
Somme des amines biogènes	4010	1018	1185	1506
Remarques relatives à la qualité du fromage	Fabrication normale	Fabrication normale	Fabrication normale	Défauts d'ouverture; piquant; déclassé

Tableau 3 Echantillons de différents fromages à pâte dure et extra-dure avec une teneur très élevée en amines biogènes (indications en mg/kg)

Substances	Fromage d'alpage bernois AOC	Fromages à rebibes bernois AOC	Emmentaler AOC	Emmentaler AOC	Gruyère AOC	Sbrinz AOC
Age	13 mois	33 mois	5,5 mois	12 mois	12 mois	12 mois
Cadavérine	7	< 2	4	< 2	178	< 2
Histamine	304	1823	630	1364	2265	1289
Isopentylamine	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Putrescine	214	134	481	< 2	67	< 2
Bêta-phényléthylamine	108	15	17	< 2	30	< 2
Tryptamine	< 2	< 2	< 2	47	< 2	< 2
Tyramine	720	566	505	< 2	744	42
Somme des amines biogènes	1353	2538	1637	1411	3283	1332
Remarques relatives à la qualité du fromage	Piquant, brûlant	De moindre qualité	Gonflé, lainure, piquant	Pas spectaculaire	Pas spectaculaire	lainure, brûlant, piquant



Figure 3 Raclette déclassé de 10 mois avec des défauts d'ouverture, un goût piquant et une teneur très élevée en amines biogènes (1506 mg/kg).

Dans les fromages à pâte mi-dure arrivés à maturation, les teneurs maximales en amines biogènes peuvent atteindre 1000-1500 mg/kg alors que pour les fromages à pâte dure et extra-dure des concentrations jusqu'à 3300 mg sont possibles en raison d'une durée de maturation plus longue. Dans le fromage français à pâte persillée (Bresse bleu) ont a trouvé, selon la littérature des concentrations d'histamine pouvant atteindre 4093 mg/kg et 2271 mg/kg pour la cadavérine. On rencontre souvent des teneurs élevées en amines biogènes dans les fromages avec une mauvaise aptitude à la conservation (exemple voir figure 3). Une grande partie des fromages des tableaux 2 et 3 ont été analysés auprès d'ALP en raison de défauts de qualité. De nombreux fromages présentaient des défauts d'ouverture (lainure) ou se distinguaient par des goûts atypiques (souvent goût brûlant, piquant). De tels défauts sont normalement perçus lors de la taxation. La vente de fromages présentant

des défauts et la sélection de fromages de première qualité pour l'affinage de longue durée permettent d'empêcher que l'on trouve des teneurs élevées en amines biogènes dans les fromages commercialisés. On dit souvent que les fromages au lait cru sont problématiques par rapport aux amines biogènes. Ceci n'est cependant valable que dans le cas d'une mauvaise gestion de la qualité. Lors d'un tel cas, l'élimination de la flore du lait cru au travers d'une pasteurisation n'offre pas une garantie suffisante, étant donné que des réinfections ou l'utilisation de cultures inadéquates peuvent aussi engendrer des teneurs trop élevées en amines biogènes. Les indications suivantes concernant différentes sortes de fromages suisses montrent que, dans des fromages d'excellente qualité au lait cru ou thermisé, on trouve en général des teneurs peu élevées en amines biogènes malgré une longue maturation.

3.2 Emmentaler AOC

Dans les tableaux 4 et 5, les résultats de deux enquêtes portant sur l'Emmentaler doux sont présentés. Lors des deux enquêtes, on a trouvé de faibles teneurs en histamine dans l'Emmentaler doux alors que sporadiquement les concentrations de tyramine pouvaient

atteindre 600 mg/kg. Cependant, les données concernant des fromages à grosses ouvertures étrangers montrent qu'après une durée d'affinage de 2,5 à 4 mois déjà, on peut trouver des teneurs très élevées en histamine. Les teneurs plus élevées en amines biogènes des

fromages à grosses ouvertures étrangers sont vraisemblablement dues à des différences de la flore du lait cru issues de l'affouragement ainsi qu'à la maturation accélérée. Cependant, des

différences au niveau de la recette et de la transformation (prétraitement du lait, cultures, teneur en eau) jouent également un rôle important.

Tableau 4 Teneur en amines biogènes dans un Emmentaler suisse de 4-5 mois (n = 20, indications en mg/kg)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	< 2	2	5	6
Histamine	< 2	5	22	46	60
Putrescine	< 2	< 2	1	2	5
Tyramine	< 2	21	42	281	600

Sieber et al., Schweiz. Milch. Forsch. 17, 9-16, (1988)

Tableau 5 Comparaison de la teneur en amines biogènes dans l'Emmentaler suisse et dans des fromages à grosses ouvertures étrangers (indications en mg/kg)

	Allgäu (N=3) 4 mois		Bretagne (N=3) 2,5 mois		Suisse (N=6) 4 mois		Finlande (N=2) 3 mois		Savoie (N=3) 3 mois		Vorarlberg (N=3) 3 mois	
	Ø	s _x	Ø	s _x	Ø	s _x	Ø	s _x	Ø	s _x	Ø	s _x
Cadavérine	44.0	35.0	5.6	7.0	0.2	0.3	25.0	15.0	8.6	6.7	1.1	0.8
Histamine	672.0	376.0	123.0	149.0	12.3	7.4	59.0	26.0	478.0	434.0	205.0	105.0
Putrescine	15.0	21.0	2.3	1.2	<2.0	-	<2.0	-	24.0	19.0	<2.0	-
Tyramine	178.0	121.0	8.6	8.4	54.0	123.0	220.0	45.0	403.0	269.0	117.0	91.0
Somme des amines biogènes	920.0	420.0	142.0	165.0	81.0	134.0	325.0	14.0	948.0	709.0	325.0	195.0

Pillonel et al., Ital. J. Food Sci. 15, 53-62, (2003)

L'Emmentaler AOC se distingue par sa très bonne aptitude à l'affinage. On sait toutefois aussi que la teneur en amines biogènes augmente au cours de la maturation. C'est pourquoi en 2006, un sondage a été réalisé en collaboration avec l'interprofession Emmentaler Switzerland. Dans 16 fromageries fabricant de l'Emmentaler de diverses régions (TG/SG, Suisse centrale, BE/FR) on a analysé des meules de la fabrication hivernale et estivale 2006 et âgées de 3-4, 7-8 et 11-12 mois par rapport à la teneur en amines biogènes. Afin de reconnaître les impacts spécifiques aux

établissements, on a analysé 3 meules de mars et de juin de 9 fromageries au cours d'une période de 3 semaines. Au total, on a analysé les données relatives à 66 meules et près de 200 échantillons de fromage. Comme on peut le voir dans le tableau 6 et la figure 4, la teneur en amines biogènes est très différente selon la fromagerie. On peut en conclure que des contaminations lors de la production du lait, de sa collecte ou de sa transformation sont responsables des différences de teneurs en amines biogènes entre les fromageries.

Tableau 6 Différences selon les établissements par rapport à la teneur en amines biogènes moyenne dans l'Emmentaler AOC (indications en mg/kg). Les meules examinées sont issues des fabrications d'été et d'hiver et ont été analysées après 3-4, 7-8 et 11-12 mois.

Fromageries	L	J	H	O	Q	G	A	N	C	I	B	M	P	S	R	K
Nombre d'échantillons (N)	18	18	18	6	6	18	5	18	5	15	23	18	6	5	6	12
Ø Age des échantillons	7.2	7.2	7.2	8	8	7.2	11.4	6.2	11.4	7.1	8.1	7.2	8	7.2	8	6.3
Cadavérine	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Histamine	269	109	86	84	64	67	75	47	40	34	39	28	4	9	5	4
Putrescine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tyramine	139	16	22	20	34	28	19	32	34	31	21	25	37	25	24	21
Somme des amines biogènes	411	125	108	104	97	95	94	78	74	62	57	53	41	32	29	23

Source: Monitoring de la teneur en amines biogènes dans l'emmental (Essai 06-32-50)

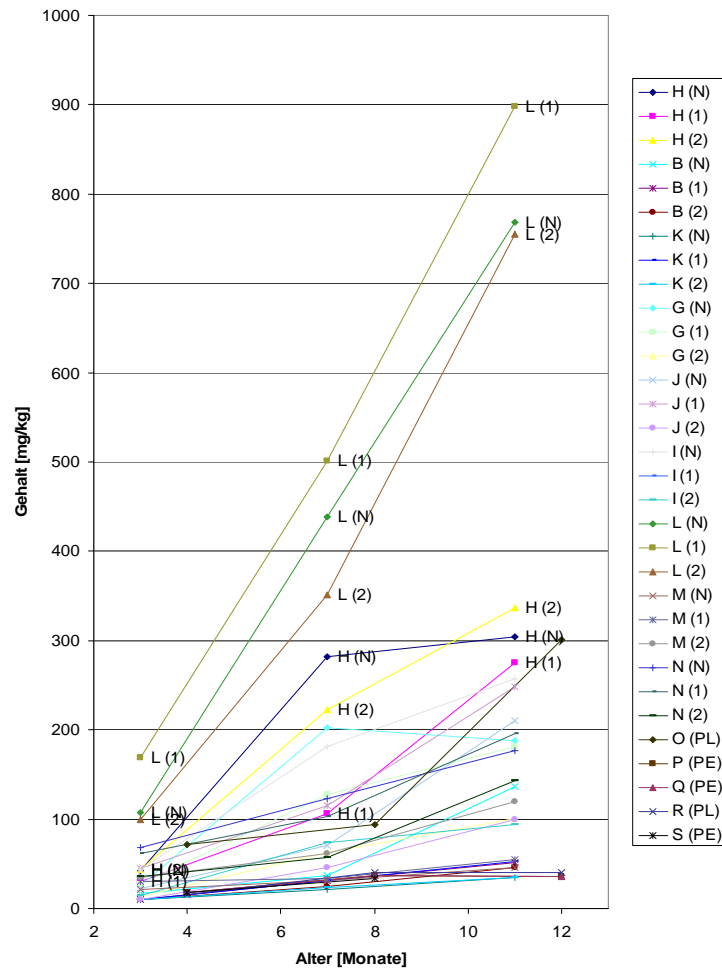


Figure 4 Evolution (individuelle) de la somme des amines biogènes dans l'Emmentaler de différents établissements au cours d'une durée de maturation de 11-12 mois. En ce qui concerne les fromages L (N), L (1) et L (2), il s'agit de trois meules provenant de la même fromagerie (L), qui ont été fabriquées en l'espace de 3 semaines.

Les principales conclusions peuvent être résumées de la façon suivante:

- En général, la teneur en amines biogènes de l'Emmentaler AOC après une maturation de 12 mois ne dépasse pas 200 mg/kg. Il existe cependant des „cas d'exception“ pouvant présenter des teneurs en amines biogènes 10 fois plus élevées.
- Selon le type de fabrication, la teneur en amines biogènes dans le fromage est très différente. Si l'on se trouve face à un „cas d'exception“, il faut s'attendre à ce que l'ensemble de la production de cet établissement présente des teneurs élevées en amines biogènes sur une longue période. Par exemple, les trois meules de la fabrication d'hiver et de celle d'été de l'établissement L présentaient toutes des teneurs très élevées en histamine et en tyramine (voir figure 4).
- L'augmentation des amines biogènes dans l'Emmentaler est due principalement à celle de l'histamine et de la tyramine. Le développement différent de l'histamine et de la tyramine indique que des germes différents sont responsables de leur formation. Par exemple, dans les fromages de l'établissement L, on a trouvé des teneurs élevées en entérocoques parmi lesquels de nombreux sont en mesure de former de la tyramine. En outre, on a décelé *Lactobacillus buchneri*. Il s'agit d'un genre de bactéries lactiques hétérofermentaires strictes dont une partie des souches forment

beaucoup d'histamine. *Lactobacillus buchneri* est également présente dans les ensilages.

Lors d'une autre enquête réalisée en 2008, on a analysé les teneurs en amines biogènes dans l'Emmentaler affiné pendant 12 mois. 2 fromages des 10 fromageries présentaient des teneurs en histamine très élevées avec 576 et 911 mg/kg (voir tableau 7). Par la suite, on a analysé quatre autres échantillons de l'établissement avec les teneurs les plus élevées. Les quatre contrôles subséquents couvraient une période de fabrication de 6 mois. Les échantillons contenaient tous des teneurs élevées en histamine (400, 530, 725 et 1364 mg/kg). Cet exemple également confirme que l'origine peut être spécifique à la fromagerie et n'est pas d'ordre aléatoire. Le choix des fournisseurs pour les fromages affinés en grotte s'effectue lors de la taxation. Outre les critères arôme et goût, il s'agit de prendre également en considération la teneur en amines biogènes. Grâce à un examen périodique des fromages arrivés à maturation, les affineurs peuvent détecter à temps les fromageries problématiques. Les fromages de ces dernières devraient être commercialisés jeunes dans la mesure du possible. Ils ne sont pas appropriés pour être affinés. En outre, cette enquête confirme qu'en général l'Emmentaler AOC présente des teneurs en amines biogènes modérées après 12 mois de maturation.

Tableau 7 Enquête relative à la teneur en amines biogènes dans l'Emmentaler AOC issu de différentes fromageries, après 12 mois de maturation (indications en mg/kg, N=10)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	< 2	< 2	< 2	3
Histamine	< 2	35	65	191	911
Putrescine	< 2	< 2	< 2	< 2	3
Tyramine	28	29	31	35	77
Somme des amines biogènes	34	85	98	221	945

Généralement, les deux amines cadavérine et putrescine ne sont pas décelables dans l'Emmentaler AOC. Dans les fromages italiens, la formation de ces amines est attribuée à la présence d'entérobactériacées et de

pseudomonades. Comme le montre l'exemple qui suit, il faut s'attendre à une teneur élevée en putrescine ou en cadavérine dans l'Emmentaler uniquement lors de problèmes de qualité d'ordre microbiologique (indicateur de

lacunes au niveau de la qualité du lait ou de l'hygiène dans la fromagerie). La photo de la figure 8 montre un Emmentaler de 5,5 mois qui présentait des défauts tels qu'un goût piquant atypique, des signes de gonflement et une teneur élevée en amines biogènes (1637 mg/kg). Outre l'histamine (630 mg/kg) et la tyramine (505 mg/kg), on a relevé une teneur élevée atypique en putrescine (481 mg/kg). Dans le fromage, on n'a pas constaté de

fermentation secondaire propionique. La formation d'amines biogènes engendre aussi une libération de CO_2 , ce qui a vraisemblablement provoqué le gonflement dans ce cas pratique. Dans d'autres échantillons de fromage, on a observé que le fromage avec un goût brûlant et piquant présente souvent une teneur élevée en amines biogènes.



Figure 5 Emmentaler avec défauts après 5,5 mois de maturation présentant un goût piquant atypique, des signes de gonflement et une teneur élevée en amines biogènes (histamine 630 mg/kg, tyramine 505 mg/kg, putrescine 481 mg/kg).

3.3 Gruyère AOC

Lors de trois enquêtes, on a analysé la teneur en amines biogènes dans le Gruyère de 6-7 mois, de 8 mois et de 12 mois (voir tableaux 8, 9, 10). En moyenne, les teneurs en amines biogènes du Gruyère sont moins élevées que dans les autres fromages. Ceci est vraisemblablement dû à la diminution de la flore du lait cru en raison d'une température de chauffage plus élevée. En général, c'est la tyramine qui domine et on trouve de faibles concentrations de cadavérine, d'histamine et de putrescine. On trouve aussi rarement chez le Gruyère des „cas d'exception“ présentant des teneurs élevées atypiques en amines biogènes. Ainsi, lors de l'enquête portant sur les échantillons de fromages ayant subi une durée de maturation de 8 mois, un des échantillons présentait des teneurs très élevées en

histamine (2265 mg/kg), en tyramine (744 mg/kg) et en cadavérine (307 mg/kg). Il faut s'attendre à ce que de tels fromages présentent un goût atypique voire des défauts d'ouverture.

Contrairement aux attentes, les teneurs les plus faibles en amines biogènes ont été constatées dans le Gruyère ayant subi une durée de maturation de 12 mois (tableau 10). Les expériences faites jusqu'ici indiquent qu'au cours de la maturation, les amines biogènes augmentent la plus part du temps et sont peu dégradées. Le choix ciblé de fromages d'excellente qualité pour être affinés 12 mois et plus, a un effet favorable sur les teneurs en amines biogènes. En général, le Gruyère misalé et le Gruyère doux présentent des teneurs en amines biogènes de moins de 300 mg/kg.

Tableau 8 Amines biogènes dans un Gruyère âgé de 6-7 mois (N=50, indications en mg/kg)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	10	15	25	79	400
Histamine	< 2	55	66	123	200
Putrescine	< 2	2	5	75	200
Tyramine	10	19	37	232	500

Sieber et al., *Schweiz. Milch. Forsch.* 17, 9-16, (1988)

Tableau 9 Teneur en amines biogènes dans un Gruyère de 8 mois (indications en mg/kg, N=10, enquête de 2006)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	27	45	96	307
Histamine	< 2	30	35	37	2265
Putrescine	< 2	3	16	26	67
Tyramine	66	99	129	138	744
Somme des amines biogènes	66	156	234	275	3283

Tableau 10 Teneur en amines biogènes dans un Gruyère de 12 mois (indications en mg/kg, N=12, enquête de 2008)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	6	11	19	82
Histamine	< 2	< 2	< 2	12	34
Putrescine	< 2	< 2	< 2	5	11
Tyramine	30	37	44	48	237
Somme des amines biogènes	30	58	65	104	294

3.4 Sbrinz

Les teneurs en amines biogènes dans le Sbrinz sont comparables à celles du Gruyère. La plupart du temps, on décele aussi des traces de tryptamine. Bien que l'affinage de ce fromage au lait cru dure au minimum 16 mois, mis à part certains „cas d'exception“, les teneurs en amines biogènes sont très faibles (tableau 11). Cet exemple montre lui aussi que l'on peut s'attendre à des teneurs peu élevées en amines biogènes dans les fromages à pâte dure issus du lait cru et fabriqués avec des températures de chauffage élevées. Mis à part dans un cas, l'ensemble des 45 échantillons de Sbrinz analysés présentait une somme d'amines biogènes < 100 mg/kg. En ce qui

concerne le cas d'exception, il s'agissait d'un échantillon, qui se démarquait déjà à 12 mois au travers d'une lainure ainsi que d'un goût brûlant et piquant, qui a été déclassé. Le pH de cet échantillon était très élevé (5.73) par rapport à un échantillon de bonne qualité (pH 5.52). Dans des conditions anaérobies, *Lactobacillus buchneri* dégrade l'acide lactique en acide acétique, propanédiol 1,2 et CO₂. La teneur élevée en histamine (1289 mg/kg), la formation de lainure ainsi que le goût piquant sont peut-être des signes que les problèmes de qualité de ce cas d'exception sont dus à ce germe.

Tableau 11 Teneur en amines biogènes dans le Sbrinz (indications en mg/kg, N=45, réception des échantillons de 1997-2009)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	2	4	4	6	15
Histamine	4	24	27	30	1289
Putrescine	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Tyramine	2	9.5	14	27.5	47
Somme des amines biogènes	12	20	37	50.5	1332

3.5 Fromage d'alpage bernois et fromage à rebibes

Conformément au cahier des charges AOC, le fromage d'alpage bernois et le fromage à rebibes doivent être fabriqués à partir de lait cru. Cependant, une température de chauffage du caillé d'au moins 50°C est prescrite. En 2006, à l'occasion du Championnat des fromages d'alpage, on a prélevé des échantillons sur les dix fromages à rebibes

bernois les mieux classés et on les a analysés par rapport à leur teneur en amines biogènes. Comme le montre le tableau 12, les fromages à rebibes de bonne qualité présentaient tous des teneurs très faibles en amines biogènes. La plupart du temps, seules des traces de tyramine ont été décelées.

Tableau 12 Teneur en amines biogènes d'un fromage à rebibes bernois de bonne qualité et affiné pendant 25 mois (indications en mg/kg, N=10, enquête de 2006)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	< 2	< 2	< 2	6
Histamine	< 2	< 2	< 2	7	18
Putrescine	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Tyramine	17	21	29	34	78
Somme des amines biogènes	17	26	34	38	84

Jakob et al., Agrarforschung 14(3), 69-101, 2007

Au cours de la période 2007-2008 on a également analysé de manière ciblée des fromages d'alpage bernois de 13-14 mois présentant des défauts d'ouverture (lainure) et de goût (souvent brûlant, piquant). Les résultats rassemblés au sein du tableau 13 montrent que les fromages ont aussi souvent des teneurs élevées en amines biogènes. C'est la raison pour laquelle la teneur en amines biogènes est également un indicateur de la qualité du fromage. On pense que des teneurs élevées en

amines biogènes sont responsable du goût brûlant et piquant. Les amines biogènes peuvent aussi être à l'origine des lainures car le processus enzymatique libère du CO₂. Pour l'affinage des fromages à rebibes, on sélectionne sciemment de bons fromages d'alpage. Malgré cela, certains fromages présentant des défauts sont affinés en fromages à rebibes. Ces „cas d'exception“ peuvent présenter des teneurs élevées en amines biogènes. Par exemple, dans un

fromage à rebibes affiné pendant 33 mois et qualifié par le fabricant de „ pas très digeste“, on a trouvé des teneurs en histamine, tyramine et putrescine de 1823, 566 et 134 mg/kg (somme des amines biogènes: 2538 mg/kg). Cet

exemple montre que, lors de l'affinage de fromages présentant des défauts de qualité, il faut s'attendre à trouver des teneurs extrêmes en amines biogènes.

Tableau 13 Teneur en amines biogènes dans un fromage d'alpage bernois présentant des défauts (indications en mg/kg, N=19, enquêtes de 2007-2008)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	0	0	2	13	138
Histamine	0	16	119	557	1434
Putrescine	0	7	11	20	581
Tyramine	29	68	101	261	720
Somme des amines biogènes	66	136	521	887	1487

3.6 Appenzeller

Dans le fromage à pâte mi-dure, la teneur en eau plus élevée engendre une protéolyse accélérée, ce qui favorise également la formation précoce d'amines biogènes. Une première enquête portant sur la teneur en amines biogènes d'un Appenzeller de 4½-5½ mois a été publiée en 1988 déjà (tableau 14). Lors de cette enquête, on a relevé des concentrations très élevées d'amines biogènes et on a également mesuré des teneurs particulièrement élevées en cadavérine, au-dessus du troisième quartile (75%). Lors d'une enquête réalisée récemment sur l'évolution de la maturation de l'Appenzeller, on a analysé les teneurs en amines biogènes de fromages avec

des degrés de maturation différents (tableaux 15, 16 et 17). Au cours de ces enquêtes récentes, on a enregistré des teneurs nettement moins élevées surtout pour la cadavérine et la tyramine. Ces deux amines sont formées principalement par des entérobactériacées et des entérocoques. Les raisons de cette diminution sont dues principalement à l'amélioration de la qualité du lait cru et de l'hygiène dans la fromagerie ainsi qu'à l'utilisation de la thermisation (lait du soir et lait du matin). Les résultats des enquêtes sur l'Appenzeller montrent que la thermisation n'est pas suffisante pour réduire le nombre de germes formant des amines.

Tableau 14 Teneur en amines biogènes dans un fromage d'Appenzell surchoix de 4½-5½ mois (indications en mg/kg, N=50, enquête de 1988)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	10	28	18	521	1300
Histamine	10	68	173	357	500
Putrescine	0	2	2	45	100
Tyramine	10	26	57	372	800

Sieber et al., Schweiz. Milch. Forsch. 17, 9-16, (1988)

Tableau 15 Teneur en amines biogènes d'un Appenzeller classic de 3-4 mois (indications en mg/kg, N=10, enquête de 2001)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	2	19	24	56	90
Histamine	60	92	105	207	435
Putrescine	< 2	< 2	< 2	5	8
Tyramine	< 2	10	25	53	68
Somme des amines biogènes	91	173	227	280	473

Source: *Der Appenzeller und seine Charakterisierung, ALP Interner Bericht 4 /2003*

Tableau 16 Teneur en amines biogènes d'un Appenzeller surchoix de 4-6 mois (indications en mg/kg, N=10, enquête de 2001)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	5	28	56	89	121
Histamine	50	76	103	216	456
Putrescine	< 2	< 2	2	8	18
Tyramine	11	31	53	117	174
Somme des amines biogènes	137	196	281	356	572

Source: *Der Appenzeller und seine Charakterisierung, ALP Interner Bericht 4 /2003*

Tableau 17 Teneur en amines biogènes d'un Appenzeller extra de plus de 6 mois (indications en mg/kg, N=22, enquêtes de 2002 et 2007)

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	13	35	80	383
Histamine	46	95	186	278	571
Putrescine	< 2	< 2	5	7	30
Tyramine	16	54	93	207	744
Somme des amines biogènes	134	268	420	652	1185

Source: *Der Appenzeller und seine Charakterisierung, ALP Interner Bericht 4 /2003 und Versuch 07-32-15*

Il n'est donc pas étonnant que le fromage à pâte mi-dure présente, par rapport au fromage à pâte dure, des teneurs en amines biogènes plus élevées, lors d'une durée de maturation équivalente. En général, dans l'Appenzeller, c'est l'histamine qui domine, suivie par la tyramine et la cadavérine. Il contient très peu

de putrescine. L'augmentation des amines biogènes au cours de la maturation est due avant tout à une formation important de tyramine. Ceci laisse supposer que différents groupes de germes sont responsable de la formation de cadavérine, d'histamine et de tyramine.

3.7 Tilsiter

Le spectre et la teneur en amines biogènes dans le Tilsiter vert (tableau 18) et le Tilsiter rouge (tableau 19) montrent des différences claires. La pasteurisation du lait réduit considérablement l'impact de la flore du lait cru. Par conséquent, les teneurs en amines biogènes du Tilsiter vert sont moins élevées globalement. Lors de l'enquête réalisée en 2009, les teneurs en histamine de la majorité des fromages se situaient au-dessous du seuil de détection. On a surtout trouvé de la cadavérine et de la putrescine. De faibles recontaminations (entérobactériacées, pseudomonades) peuvent expliquer ceci.

Dans le Tilsiter rouge, selon le fromage, ce sont la tyramine, l'histamine ou la cadavérine qui dominaient. Les teneurs enregistrées se situaient dans un domaine comparable au fromage d'Appenzell surchoix et extra, ce qui n'est pas étonnant vu le procédé de fabrication technologiquement semblable. Par rapport à l'Appenzeller, dans le Tilsiter du même âge, les teneurs en amines biogènes sont légèrement plus élevées en raison de la maturation plus rapide.

Tableau 18 Teneur en amines biogènes d'un Tilsiter vert de 5-8 semaines issu de différentes fromageries (indications en mg/kg, N=7, enquête de 2009).

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	3	35	63	126	133
Histamine	< 2	< 2	< 2	8	26
Putrescine	< 2	3	17	37	49
Tyramine	< 2	15	22	32	35
Somme des amines biogènes	22	65	127	181	217

Tableau 19 Teneur en amines biogènes d'un Tilsiter rouge de 13-18 semaines issu de différentes fromageries (indications en mg/kg, N=23, enquête de 2009).

Substances	Minimum	Quantile 25%	Médiane	Quantile 75%	Maximum
Cadavérine	< 2	< 2	32	102	657
Histamine	10	26	53	112	765
Putrescine	< 2	< 2	< 2	< 2	59
Tyramine	17	38	91	169	578
Somme des amines biogènes	48	197	275	490	1018

Les données relatives au Tilsiter rouge et au Tilsiter vert montrent que la thermisation ou la pasteurisation du lait peuvent engendrer des teneurs en amines biogènes très différentes dans le fromage. Des germes connus pour former des amines tels que par ex. les

entérocoques (tyramine) et *Lactobacillus buchneri* (histamine) se démarquent par une thermorésistance relativement élevée et une thermisation ne permet pas de les inactiver de manière suffisante.

3.8 Raclette

On dispose de peu de données au sujet des teneurs en amines biogènes du fromage à raclette. Selon l'origine, le fromage à raclette est fabriqué à partir de lait cru (par ex. Raclette du Valais), de lait thermisé ou aussi de lait pasteurisé (industrie). En raison de l'écoulement dépendant fortement de la saison, la durée de maturation du fromage à raclette varie elle aussi considérablement. Normalement, la durée d'affinage du Raclette Suisse est d'environ 12-16 semaines. En outre on trouve sur le marché, des fromages affinés pendant 5-6 mois ou encore plus longtemps. Selon le prétraitement du lait et l'affinage, il faut s'attendre à des teneurs en amines biogènes comparables au Tilsiter rouge au Tilsiter vert. Contrairement aux autres fromages à pâte mi-

dure, le fromage à raclette est consommé en général dans des quantités nettement plus importantes (200 - 300 g), raison pour laquelle des teneurs élevées en amines biogènes sont particulièrement problématiques. Les amines biogènes sont thermorésistantes et ne sont ainsi pas détruites lors de la fonte du fromage. L'analyse de la teneur en amines biogènes de deux fromages à raclette au lait thermisé ayant engendré des réclamations de clients a révélé des valeurs de 820 et 1010 mg/kg. Les deux échantillons contenaient surtout de l'histamine (227 et 532 mg/kg) et de la tyramine (541 et 407 mg/kg). Dans un des cas, on a pu imputer les problèmes (diarrhée) à une intolérance à l'histamine.

3.9 Schabziger

Le Schabziger glaronnais est produit à partir d'une acidification/précipitation par la chaleur des protéines lactiques de lait maigre. Le sérac ainsi obtenu est affiné pendant environ 3-12 semaines. Puis, après l'ajout de sel, il est mûri dans un silo pendant 3-6 mois. A cette occasion, le Schabziger subit une fermentation lactique et une fermentation butyrique. Après l'ajout d'herbes aromatiques lors du broyage, la pâte du Schabziger prend la forme d'un cône ou est séchée pour en faire de la poudre. La teneur en eau du cône est d'environ 58 g/100 g, alors que la poudre de Schabziger n'en contient plus que 27 g/100 g. Le Schabziger glaronnais présente souvent des teneurs élevées en amines biogènes (tableau 20). Lors de l'acidification/précipitation par la chaleur, les germes végétatifs sont entièrement éliminés. Ce qui restreint le risque de „fermentations spontanées“ et oblige à ajouter des cultures spécifiques. Celles-ci permettent d'améliorer la

sécurité de la production du Schabziger. Néanmoins, il est très difficile d'éviter les contaminations indésirables lors de la transformation du sérac et du sérac en silo. La charge élevée en cadavérine laisse penser que ce sont surtout les contaminations par des entérobactériacées qui sont problématiques. La faible teneur en sel du sérac favorise le développement de germes indésirables. En outre, la teneur élevée en eau du sérac et du sérac en silo accélère la protéolyse et ainsi la libération d'acides aminés libres. Ceux-ci sont dégradés en amines biogènes par des germes de la flore de contamination. En raison de ses propriétés sensorielles, le Schabziger est un produit qui, contrairement au fromage à raclette, n'est consommé qu'en petites quantités. Ainsi, la consommation de Schabziger n'engendre pratiquement pas de problèmes, malgré une teneur élevée en amines biogènes.

Tableau 20 Teneur en amines biogènes du Schabziger glaronnais (cône et poudre; indications en mg/kg, N=11, échantillons de 2000-2003).

Substances	Minimum	Quantile 25 %	Médiane 50 %	Médiane 75 %	Maximum
Cadavérine	123	503	1126	1295	1712
Histamine	71	267	511	625	760
Putrescine	90	288	351	396	552
Tyramine	135	305	392	574	867
Somme des amines biogènes	490	1449	2613	3341	4010

3.10 Autres sortes de fromages

On ne sait pratiquement rien au sujet de la teneur en amines biogènes des autres sortes de fromages suisses. Sur la base des données relevées pour les fromages suisses à pâte extra-dure, dure et mi-dure les plus connus, il est possible d'estimer les teneurs pour la plupart des sortes de fromages. La plupart du temps, les teneurs en amines biogènes du fromage à pâte molle ne sont pas problématiques en raison des courtes durées de maturation. Une enquête portant sur des

fromages espagnols a montré que les fromages issus de lait de brebis ou de chèvre présentaient tendanciellement des teneurs élevées en amines biogènes. Le nombre total de germes dans le lait de brebis et de chèvre est souvent nettement plus élevé que dans le lait de vache. Ceci est dû d'une part à une production de lait moins importante et, d'autre part, au fait que le lait de fabrication est plus âgé.

3.11 Possibilités d'analyse d'ALP pour la consultation

Les expériences pratiques réalisées jusqu'ici avec l'Emmentaler montrent que des teneurs élevées en amines biogènes sont souvent dues à des spécificités de la fromagerie. Si dans une fromagerie des échantillons présentent des teneurs très élevées en histamine ou en tyramine, on peut supposer que l'ensemble de la production sera touchée pendant une longue période. Si l'on admet que les germes responsables ont été introduits au travers du lait cru d'un producteur, pour résoudre le problème, on ne pourra pas faire autrement que de rechercher le producteur qui a fourni le lait et la source de contamination. Le problème n'est perceptible dans le fromage qu'après plusieurs mois de maturation. De plus, le

nombre de germes de microorganismes formant des amines dans le lait cru se situe en général au-dessous du seuil de détection. Il est donc difficile de résoudre le problème avec des analyses microbiologiques classiques. Néanmoins, lors d'une première étape, il est recommandé d'analyser le nombre de germes entérocoques et de lactobacilles hétérofermentatifs obligatoires du lait de l'ensemble des producteurs. Le nombre de germes peut déjà fournir de premières indications concernant les laits de fournisseurs problématiques.

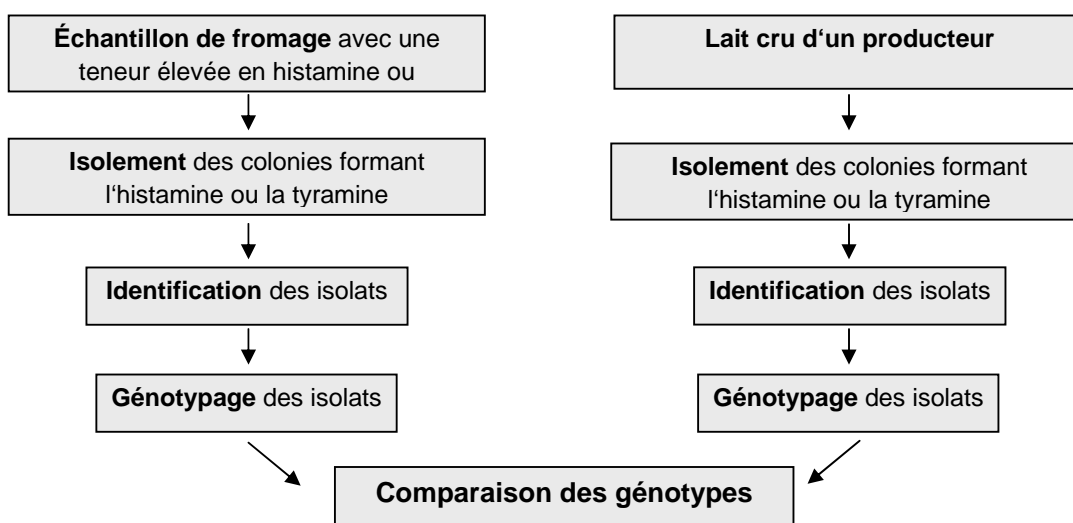


Figure 6 Marche à suivre pour l'identification des fournisseurs dont la flore du lait cru engendre des teneurs trop élevées en histamine et/ou en tyramine dans le fromage.

ALP essaie, dans le cadre de travaux de recherche, de développer des méthodes plus sensibles permettant de mettre en évidence de manière fiable des germes formants des amines dans le lait des fournisseurs et dans le fromage. A l'aide de deux exemples pratiques, on a essayé d'identifier la source de contamination en utilisant la marche à suivre décrite dans la figure 6. Si, dans un échantillon de lait d'un fournisseur, on trouve les mêmes génotypes que dans le fromage, il est possible de découvrir lors des étapes suivantes la source de contamination chez le fournisseur

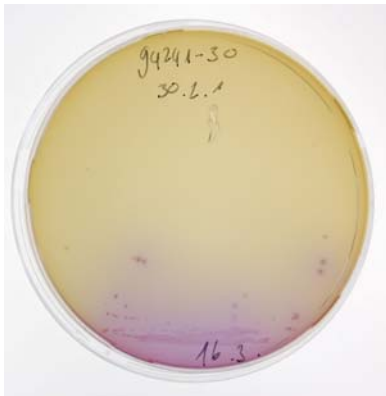


Figure 7 Isolement de germes formant de l'histamine (colonies teintées en violet) dans un Emmentaler de 3 mois avec une teneur en histamine de 31 mg/kg.

Afin de tester les cultures d'ALP, on a également utilisé des méthodes de biologie moléculaire pour la mise en évidence du gène responsable de la formation des enzymes histamine décarboxylase et tyramine décarboxylase. Ces deux enzymes sont responsables de la transformation de l'histidine en histamine et de la tyrosine en tyramine. Si le gène pour ces deux enzymes n'est pas présent dans l'extrait d'ADN d'une culture fromagère, les souches de culture ne sont pas en mesure de former de l'histamine ou de la tyramine. L'utilisation des méthodes de biologie moléculaire a montré que les cultures d'ALP ne disposent pas des prédispositions génétiques nécessaires à la formation d'histamine et de

L'utilisation de milieux de culture spécifiques (Tyr-DC Agar et His-DC Agar) permet à l'aide d'une coloration rouge de reconnaître et d'isoler des colonies formant de l'histamine ou de la tyramine. L'isolement des formateurs d'histamine et de tyramine a déjà été utilisé avec succès en prenant l'Emmentaler pour exemple (voir figure 7). Les isolats obtenus sont ensuite identifiés à l'aide de méthodes de biologie moléculaire (séquençage de la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal). L'identification fournit des indications au sujet du type de bactéries (*par ex. Lactobacillus buchneri, Enterococcus faecium*). Pour différencier les isolats, lors d'une prochaine étape, il faut procéder à un génotypage. A cette occasion, on conçoit des „empreintes génétiques“ avec lesquelles on peut différencier diverses souches du même type de bactéries.

tyramine. Dans aucune des cultures starter d'ALP on a pu mettre en évidence des gènes pour l'histidine décarboxylase et la tyramine décarboxylase.

En outre, on a développé une méthode de détection de biologie moléculaire pour *L. buchneri*. Grâce à cette méthode, on a pu mettre en évidence *L. buchneri* dans des échantillons de fromage de deux fromageries, qui ont présenté à plusieurs reprises des teneurs élevées en histamine. Cependant, la formation d'histamine est spécifique à une souche de *L. buchneri*. On peut donc très bien avoir un résultat positif, sans qu'aucune histamine n'ait été formée.

3.12 Résumé des facteurs d'influence

Facteurs d'influence	Effet	Remarques
Nombre total de germes	↗	Même si le nombre de germes est peu élevé, des contaminations par des germes formant des amines ne sont pas exclues. La composition de la flore du lait cru est déterminante.
Contamination du lait cru par des entérocoques	↑↑	Thermorésistante, croissance pendant la maturation. Souvent, nombre de germes entérocoques élevé dans les fromages avec une teneur élevée en tyramine.
Contamination du lait cru par <i>Lactobacillus buchneri</i>	↑↑	Des souches de <i>L. buchneri</i> forment parfois de l'histamine et ont été isolées à partir de fromages présentant des teneurs très élevées en histamine. Présence naturelle dans les ensilages ainsi qu'utilisation en tant que cultures dans des agents d'ensilage.
Contamination du lait cru par des entérobactériacées	↑	Des entérobactéries forment souvent surtout de la cadavérine et de la putrescine. On trouve ces amines presque uniquement dans des fromages présentant d'importants défauts (→ lait de mauvaise qualité ou mauvaise hygiène au sein de l'établissement).
Contamination du lait par des pseudomonades	↑	Des pseudomonades montrent en partie une forte formation de putrescine. Multiplication lors de basses températures lors du stockage sous réfrigération du lait.
Lait de différentes espèces animales	↗	Le lait de chèvre et de brebis présentent tendanciellement un nombre total de germes plus élevé. Le stockage intermédiaire du lait relativement long pour la fabrication de fromages a un effet défavorable sur la teneur en amines biogènes.
Thermisation	↘	La thermisation permet de réduire la flore du lait cru mais ne permet pas d'éliminer les germes formant des amines.
Pasteurisation	↓↓	La pasteurisation permet de réduire fortement la teneur en histamine et en tyramine dans le fromage. Lors de recontaminations, il faut plutôt s'attendre à rencontrer de la cadavérine et de la putrescine.
Cultures fromagères	↓↑	Les cultures destinées à la fabrication du fromage ne devraient pas contenir de souches pouvant produire des amines biogènes. Les cultures d'ALP sont testées à cet effet.
Températures de chauffages	↘	Des températures de chauffage élevées permettent tout comme la thermisation de diminuer le risque de teneurs élevées en amines biogènes dans le fromage (des cas d'exception sont possibles).
Teneur en eau, tefd	↑	Une teneur en eau élevée accélère la protéolyse et favorise la croissance de germes formant des amines biogènes et a aussi un effet défavorable sur la maturation. La formation d'amines biogènes est beaucoup plus rapide dans les fromages à pâte mi-dure que dans les fromages à pâte dure.
Acides aminés libres	→	Ils sont le substrat pour la formation d'amines biogènes. Dans les fromages arrivés à maturation, 5-15 % de la protéine totale sont des acides aminés libres (→ pas de facteur limitatif).
Teneur en sel	↘	Des teneurs en sel élevées réduisent l'activité microbologique au cours de l'affinage du fromage, mais des teneurs élevées en amines biogènes ne sont tout de même pas exclues.
Durée de maturation	↑↑↑	Facteur d'influence le plus important. Si un fromage contient des germes formant des amines, qui demeurent actifs au cours de la maturation, il faut s'attendre à une augmentation continue des amines biogènes. C'est pourquoi la sélection de fromages de première qualité est prioritaire pour une longue maturation. La vente de fromages présentant des défauts et à des stades de maturation précoces permet de diminuer énormément le risque d'intoxication par des amines biogènes.
Température d'affinage	↗	Des températures d'affinage élevées accélèrent la formation d'amines biogènes. Il faut compter avec un arrêt de la formation d'amines qu'à partir d'une température de < 2° C.

4 Littérature

- [1] Beutling D.M., Askar A.A., Barolin G.S., Bergmann H.W., Dross A.S.Ch., Kielwein G., Schlenker G.R., Wittkowski R., Biogene Amine in der Ernährung, Beutling, D. M., Springer Verlag, 2009.
- [2] Binder E., Brandl E., Ueber das Vorkommen und die Bedeutung biogener Amine in Lebensmitteln, Österreichische Milchwirtschaft 38 (1983) 257–259.
- [3] Crnoglavac M., Lietha R., Biogene Amine - Ihre Rolle in Gesundheit und Krankheit und orthomolekulare Behandlungsmöglichkeiten (2004) 1-31.
- [4] Santos M.H.S., Biogenic amines: their importance in foods, Int. J. Food Microbiol. 29 (1996) 213–231.
- [5] Täufel K., Forschungsergebnisse auf dem Gebiet von Nahrung und Ernährung, ausgewählt aus dem neueren Schrifttum. 11. Mitt. Biogene Amine in Lebensmitteln und ihre Auswirkung bei der Ernährung, Nahrung - Food 14 (1970) 229–240.
- [6] Weiss C., Biogene Amine, Ernährungs-Umschau (2009) 172–179.
- [7] Sieber R. & Bilic N., Über die Bildung der biogenen Amine im Käse. Schweizer Landwirtschaftliche Forschung (1992), 31, 33-58.